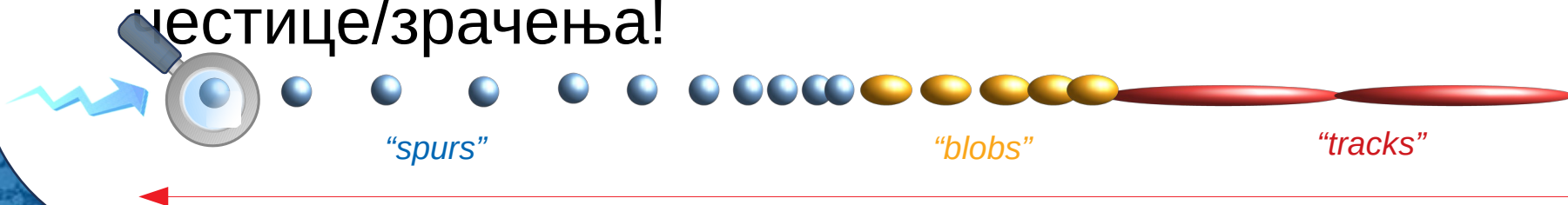
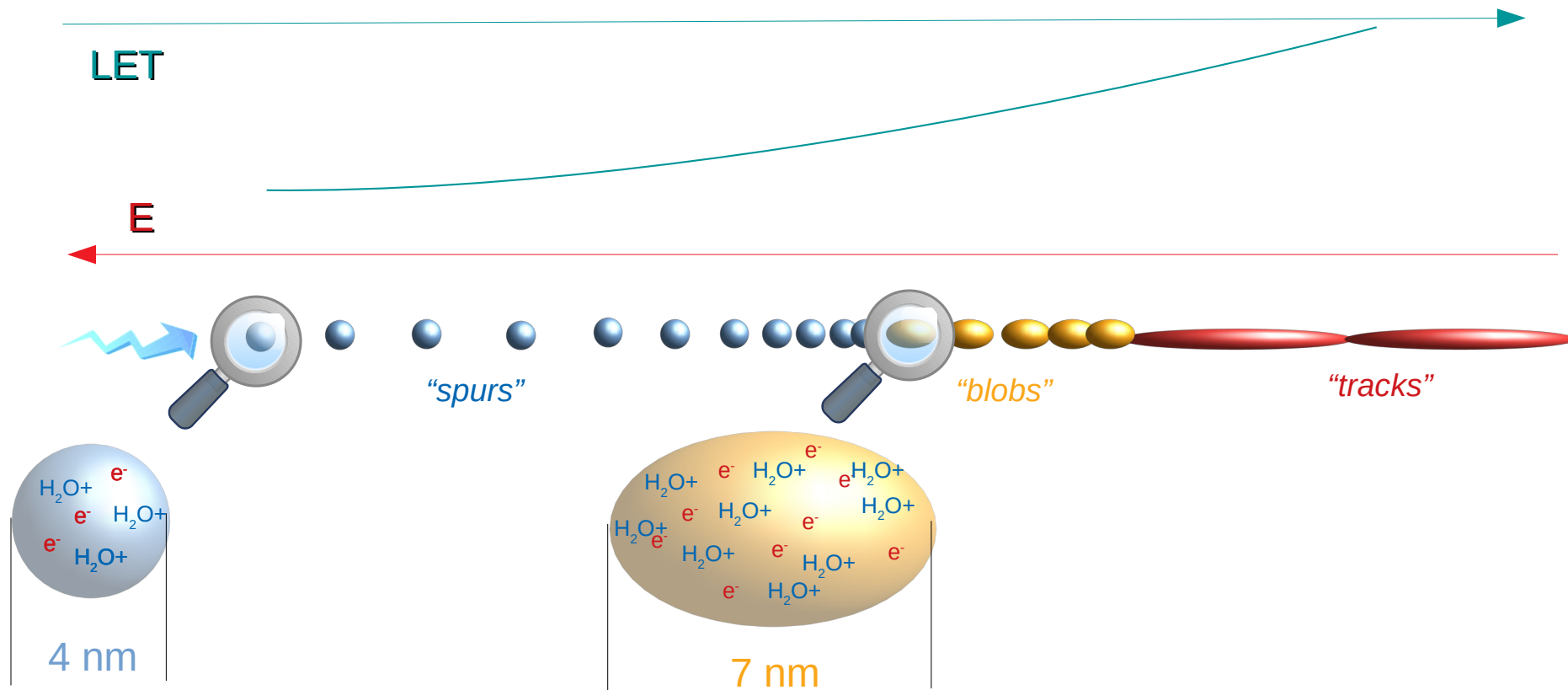


Интеракција јонизућег зрачења са биомолекулима

ИНТЕРАКЦИЈА СА ВОДОМ

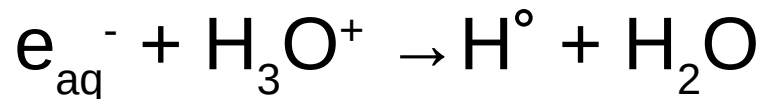
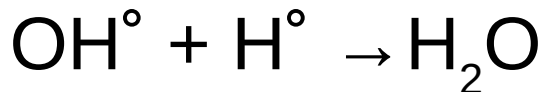
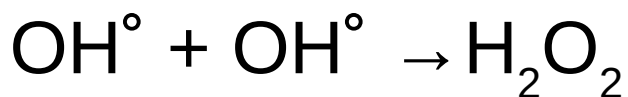
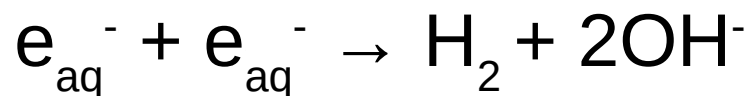
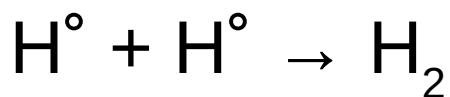
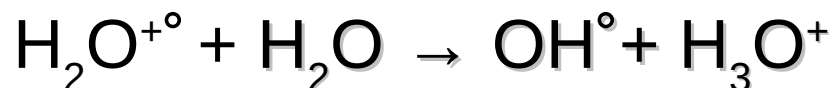
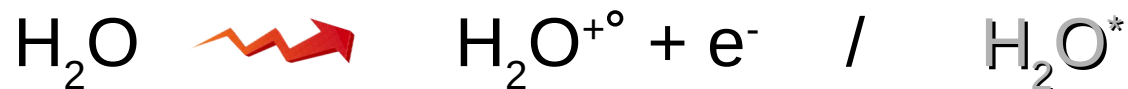
- Вода са 60-75% улази у састав свих живих организама
- Иницијални догађај $M \xrightarrow{\text{radiation}} M^{\bullet+} + e^-$
- Зрачење се неселективно распоређује – број насталих јона дате врсте зависи од њеног удела у медијуму → растварач је доминатно јонизован.
- Динамика стварања секундарних електрона и иницијалних радиохемијских процеса зависи од LET. Међутим LET зависи од енергије честице/зрачења!



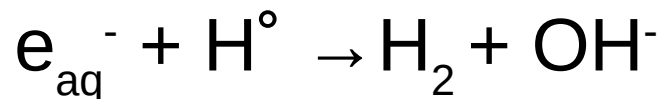


РАДИЈАЦИОНА ХЕМИЈА ВОДЕ

Нехомогена кинетика



+ реакције са
растворком/хватачем



t

10⁻¹⁶

10⁻¹⁴

10⁻¹³

10⁻¹²

10⁻⁷



Радијациони приноси при радиолизи воде

- Низак LET ($\sim 0,2$ eV/nm)

0,28 e_{aq}^- , 0,062 H° , 0,28 OH° , 0,047 H_2 , 0,073 H_2O_2 , 0,28 H_3O^+

- Висок LET (~ 100 eV/nm)

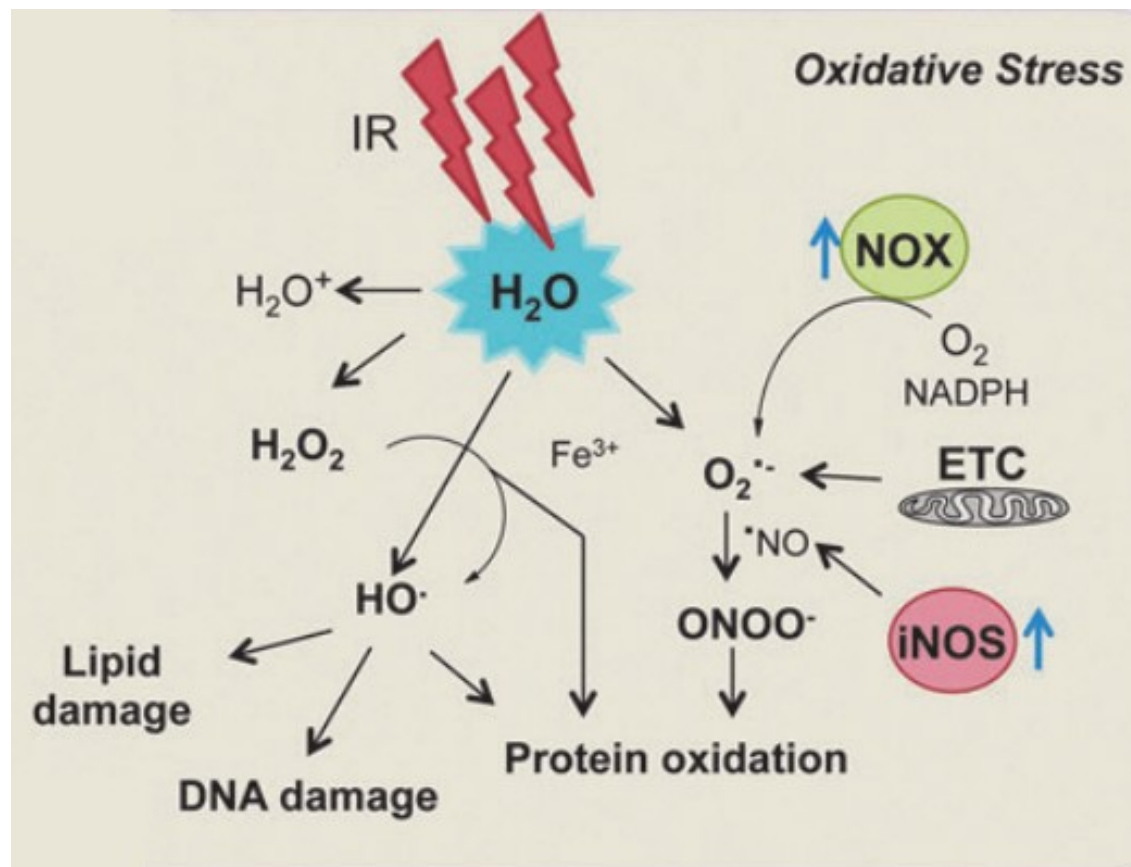
0,044 e_{aq}^- , 0,028 H° , 0,056 OH° , 0,11 H_2 , 0,11 H_2O_2 , 0,044 H_3O^+

-

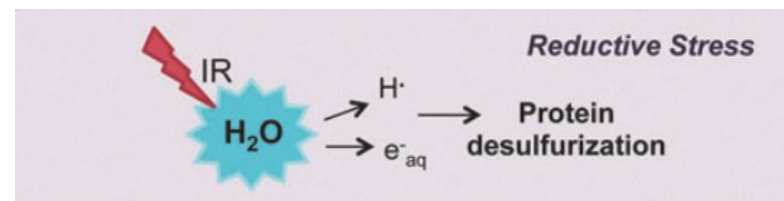


ИНТЕРАКЦИЈА ПРИМРНИХ СА ЕНДОГЕНИМ РАКТИВНИМ ВРСТАМА

Оксидујуће реактивне врсте

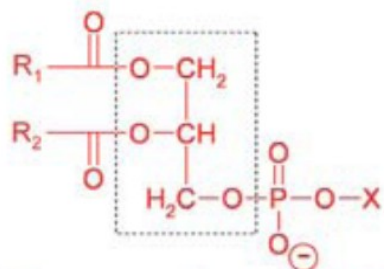


Редукујуће реактивне врсте

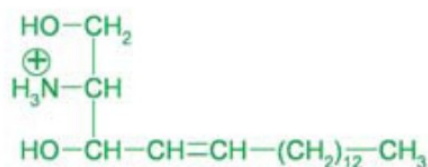


ИНТЕРАКЦИЈА ЈОНИЗУЈУЋЕГ ЗРАЧЕЊА СА ЛИПИДИМА

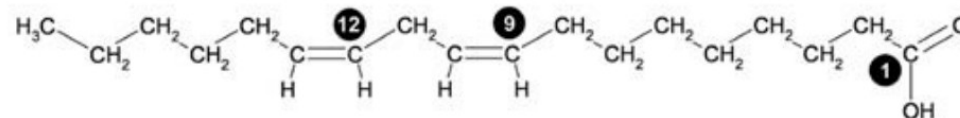
Палмитолеинска киселина	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
Олеинска киселина	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
Линолеинска киселина	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_2(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$
Гама-линолеинска киселина	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_3(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$
Арахидонична киселина	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_4(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$
Палмитинска	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$
Стеаринска киселина	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$



фосфолипид



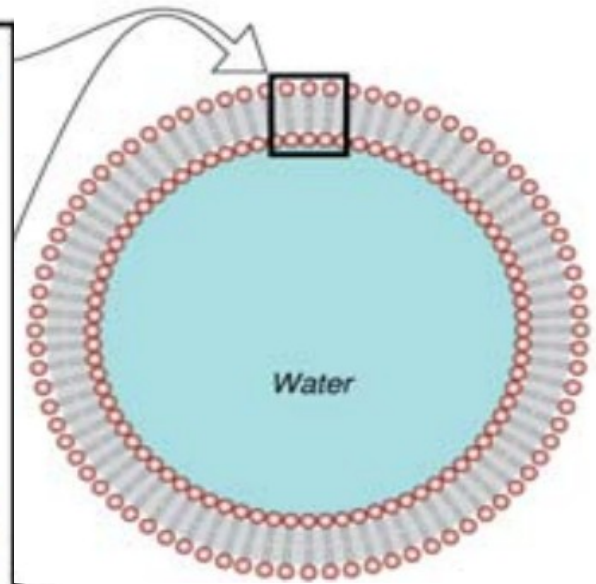
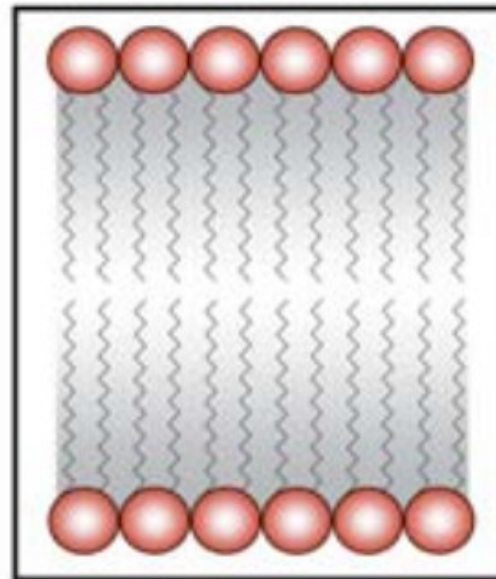
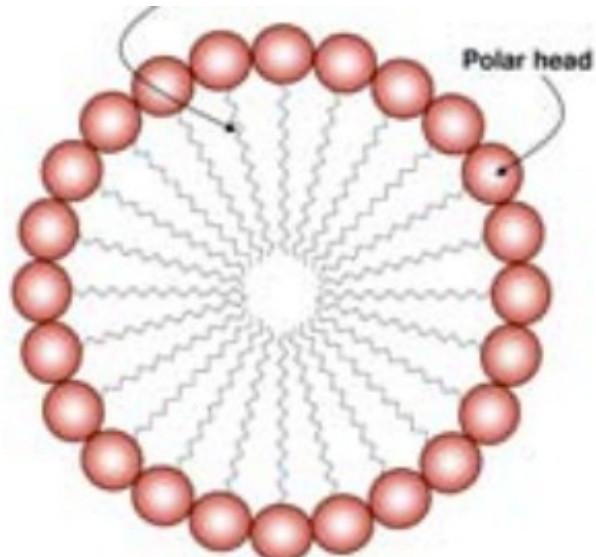
сфингозин



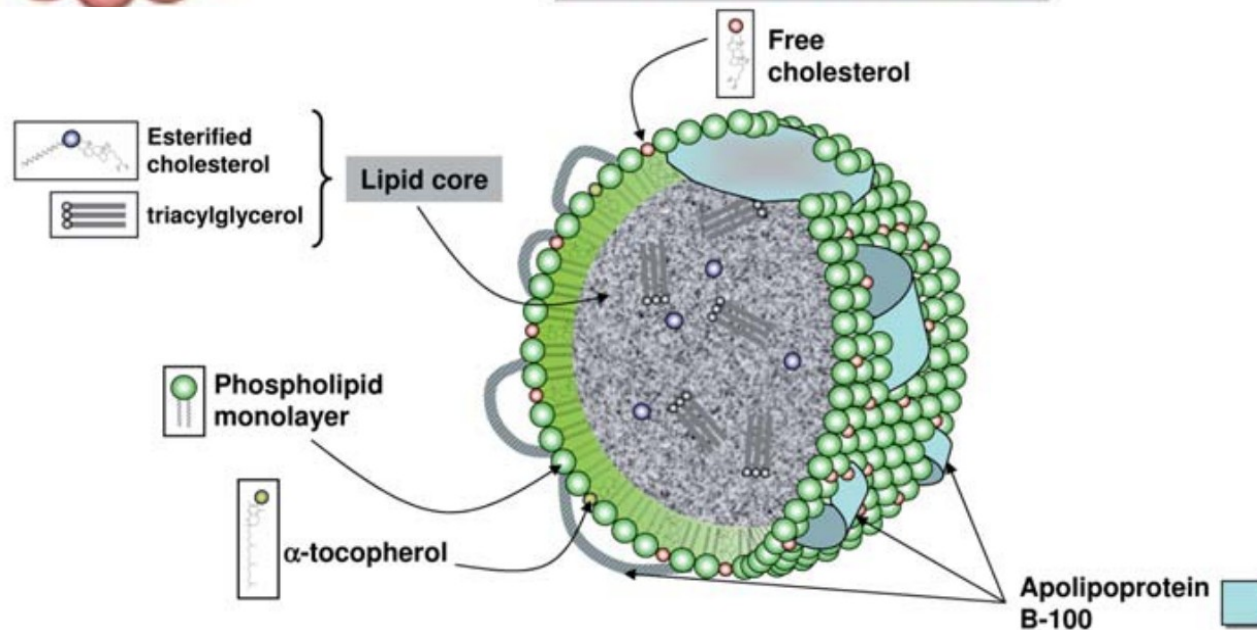
Линолеинска киселина

ЛИПИДНЕ СТРУКТУРЕ

МИЦЕЛА



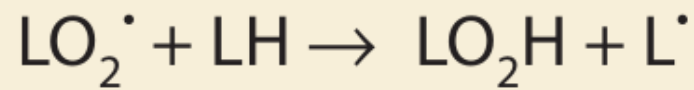
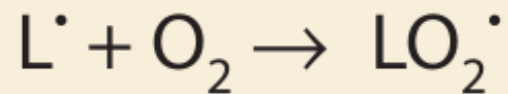
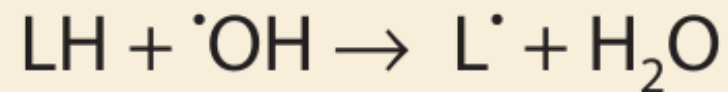
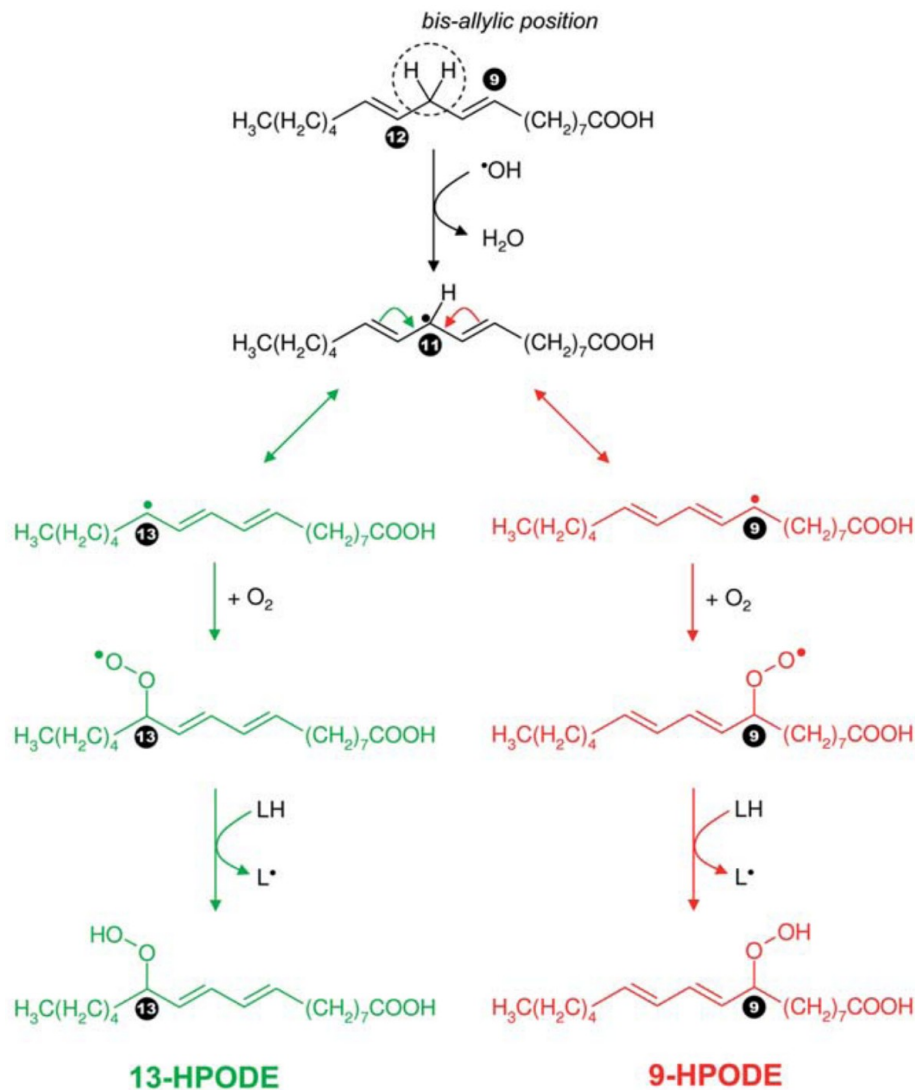
ЛИПОЗОМ



РАДИКАЛИ ГЕНЕРИСАНИ У ФИЗИОЛОШКОМ ОКРУЖЕЊУ

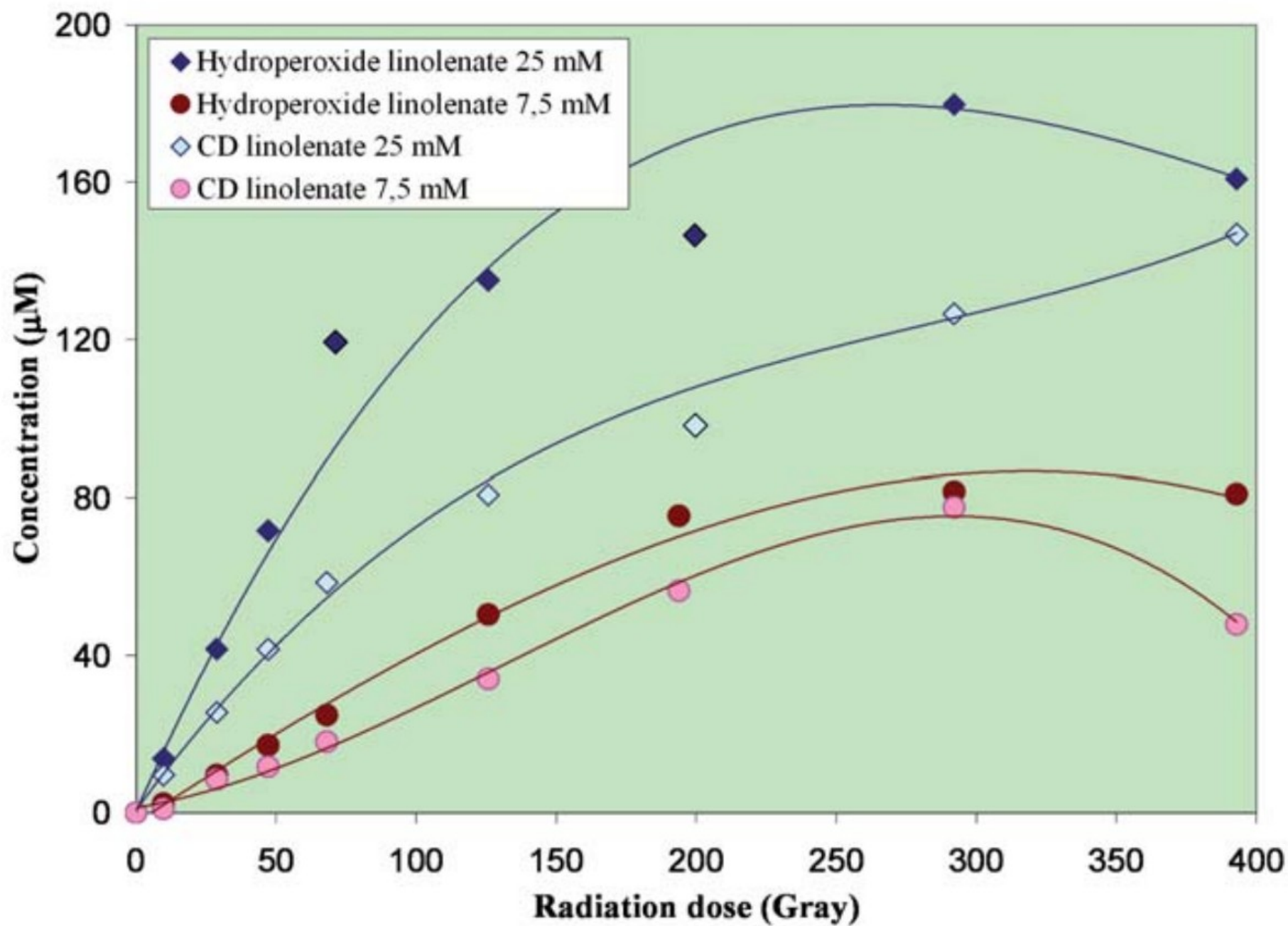
- У присуству кисеоника $\text{H}\cdot$ и e_{solv} конвертују се у супероксид радикал O_2^-
- OH радикал веома брзо реагује са липидима, а O_2^- споро ($k=10^2$),
- Протоновани облик HO_2 $k=10^2$, али га има мало.
-
- Главне реакције су са OH радикалом.
-
-

ИНТЕРАКЦИЈА ОН РАДИКАЛА СА ЛИПИДИМА

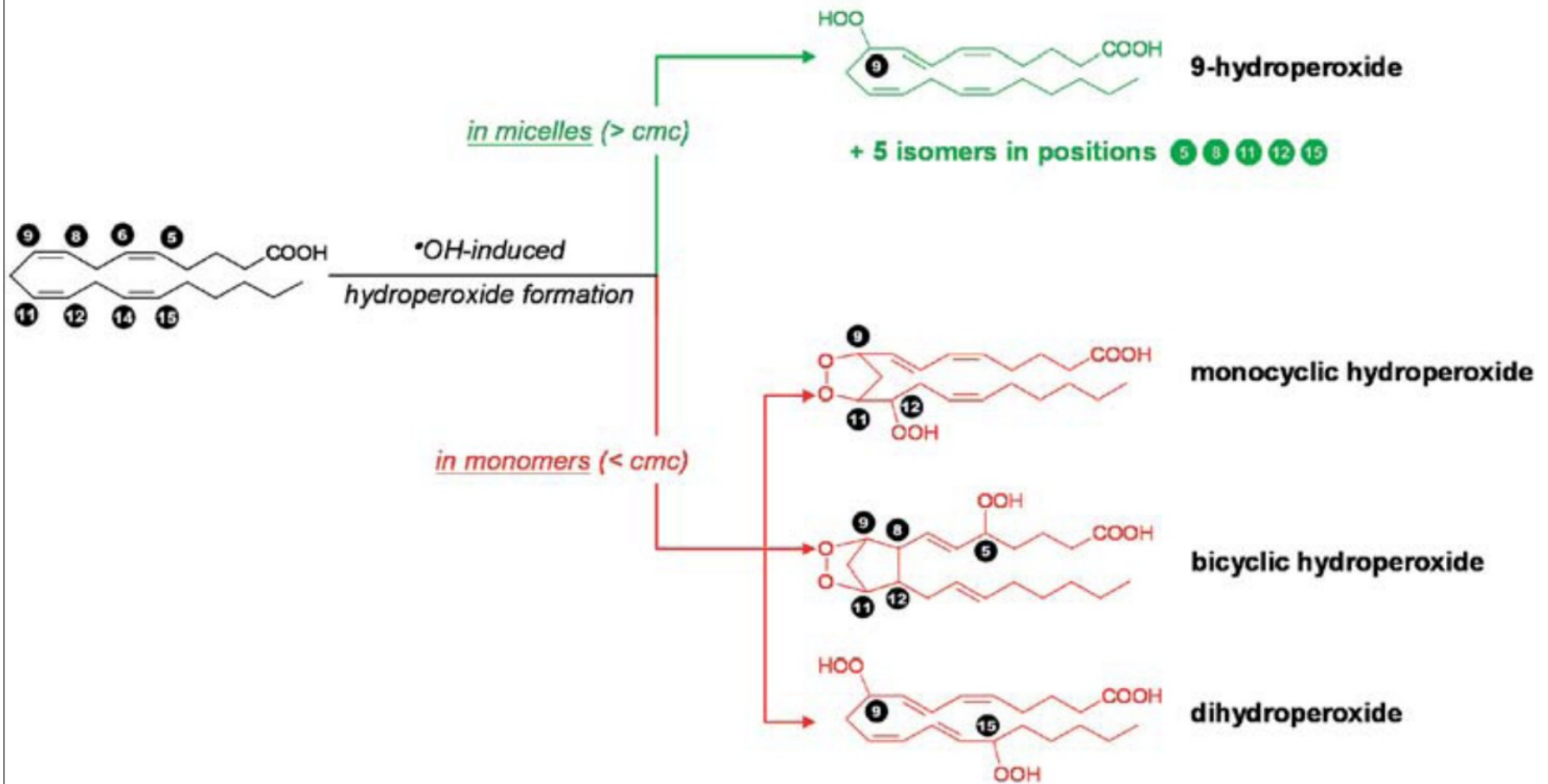


ИНТЕРАКЦИЈА СА МИЦЕЛАМА

- -Врсте које се прате: ROOH и генерисање коњуговане (диенске) везе
- -Концентрација ROOH се може одредити помоћу HPLC
- -CH=CH-CH=CH- помоћу UV-VIS спектрометрије ($\lambda=234$ nm)
- -Концентрације обе врсте зависе од примљене дозе зрачења и концентрације полинезасићених масних киселина



РАЗЛИЧИТЕ ВРСТЕ ПЕРОКСИДА

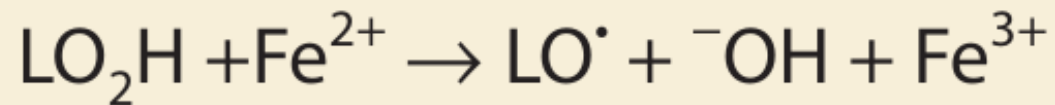


ИНТЕРАКЦИЈА СА ЛИЗОЗОМИМА

- -У липозомима због густог паковања липида, могуће су и реакције са акохолном или холинском групом везаном за фосфатну групу.
- -Код липозома <math>< 50\text{ nm}</math> реакције су одвијају истовремено.
- -Код липозома >math>100\text{ nm}</math> кинетика формирања пероксида у ланцима масних киселина је знатно спорија него за формирање холинског перокси радикала

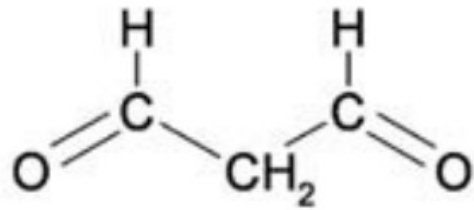
РЕАКЦИЈЕ ЛИПИДНИХ ПЕРОКСИДА И ФРАГМЕНТАЦИЈА ЛИПИДА

Органски пероксиди су нестабилни и учествују у реакцијама Фентоновог типа

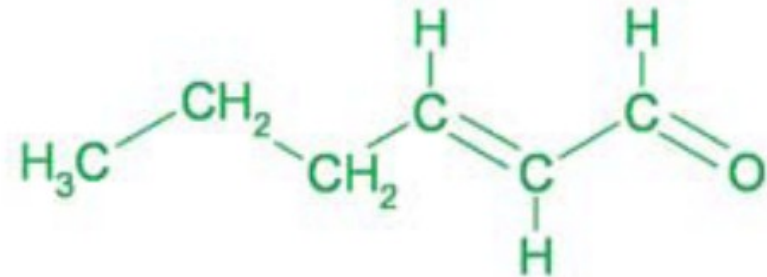


-Настали алкокси радикал може абстраховати водоник или извршити адицију на двоструку везу или изазвати прекид ланца дајући алдехиде

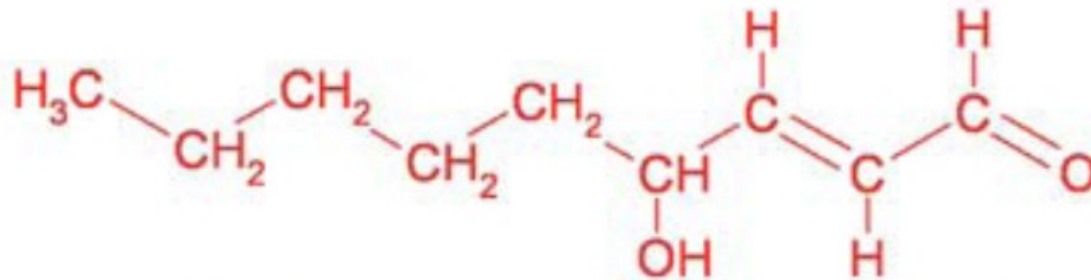
ФИНАЛНИ ПРОИЗВОДИ РЕАКЦИЈА ОРГАНСКИХ ПЕРОКСИДА



MDA (malondialdehyde)



2-hexenal



HNE (4-hydroxy-2-nonenal)

ИНТЕРАКЦИЈА СА LDL

- Механизам реакција одређен на основу редукције концентрације ендогених антиоксиданаса у ЛДЛ токоферола и бета каротена.
-
- При ниским дозама зрачења АТФ и БКАР штите ЛДЛ од пероксидације, при већим дозама добијају се продукти слични као код излагања липозома зрачењу.
-
-
-

Утицај Ј.З. на протеине

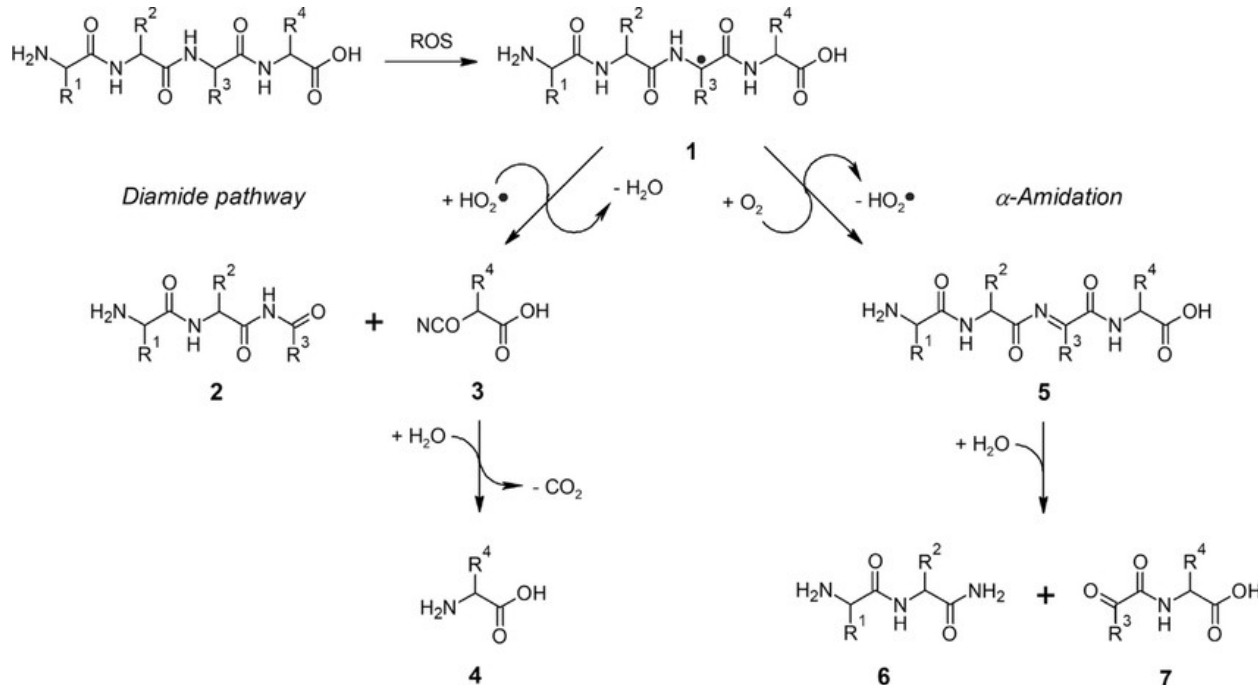
- Пре експеримената који су укључивали циљано озрачивање цитоплазме ћелије сматрало се да дозе Ј.З. мање од 10 Gy не доводе до модификације протеина.
-
- Установљено је да се ефекти код неких протеина испољавају чак и при дозама мањим од 1 Gy
-
- Потврђено присуство *in vivo* модификације протеина у јетри и мозгу експерименталних животиња
-
- Ефекти на протеине су:
 - Постранслациона модификација
 - Конформационе промене
 - Деградација
 - Модулација ензимске активности.
 - Инактивација редокс-сензитивних ензима
 - Промене у трансмембранском транспорту
 - Модулација експресије протеина

ИНТЕРАКЦИЈА ЈОНИЗУЈУЋЕГ ЗРАЧЕЊА СА ПРОТЕИНИМА

- Због комплексне структуре протеина све “потенцијалне мете” за примарно и секундарно створене радикале нису доступне.
- Ова разлика омогућава добијање информација о структури протеина.
- Техника радијационог циљања користи корелацију између броја измењених а.к. остатака и степена инактивације протеина да би се проценила величина протеина.
- Техника “радијационог отиска” користи релативну неселективност ОН радикала при нападу на а.к. остатке на површини протеина, да би проценила које а.к. учествују при “докинг” за други протеин.
- Варијанта је и озрачивање комплекса ензим+супстрат да би се одредило које а.к. налазе у активном центру а које на површини протеина

Хемијске промене на протеинима

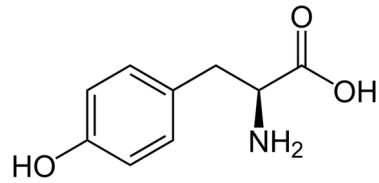
- Више од 35 типова оксидативних модификација протеина, укључујући:
 - Прекид протеинског ланца
 - Оксидацију
 - Директну модификацију метионинских и цистеинских остатака
 - Карбонилација
 -
- Прекид протеинског ланца је директан напад ОН радикала



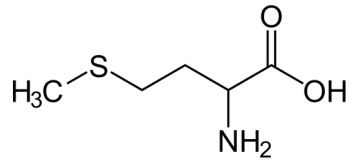
Хемијске промене на протеинима

- Алтернативно, у присуству кисеоника може доћи и до формирања органског пероксида.
-
- Оксидујуће реактивне врсте као што је ОН радикал преференцијално нападају амидну везу.
-
- Оксидација бочних група аминокиселинских остатка, преферирани остаци цистеина, метионина, те ароматичних аминокиселина.
-
- Код осталих бочних група АК настају угљенично центрирани радикали који се у присуству кисоника конвертују у перокси-радикале ROO^\bullet

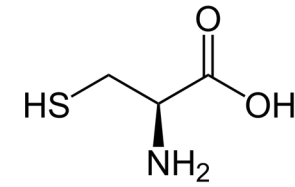
ОКСИДАТИВНА МОДИФИКАЦИЈА АК ОСТАТАКА



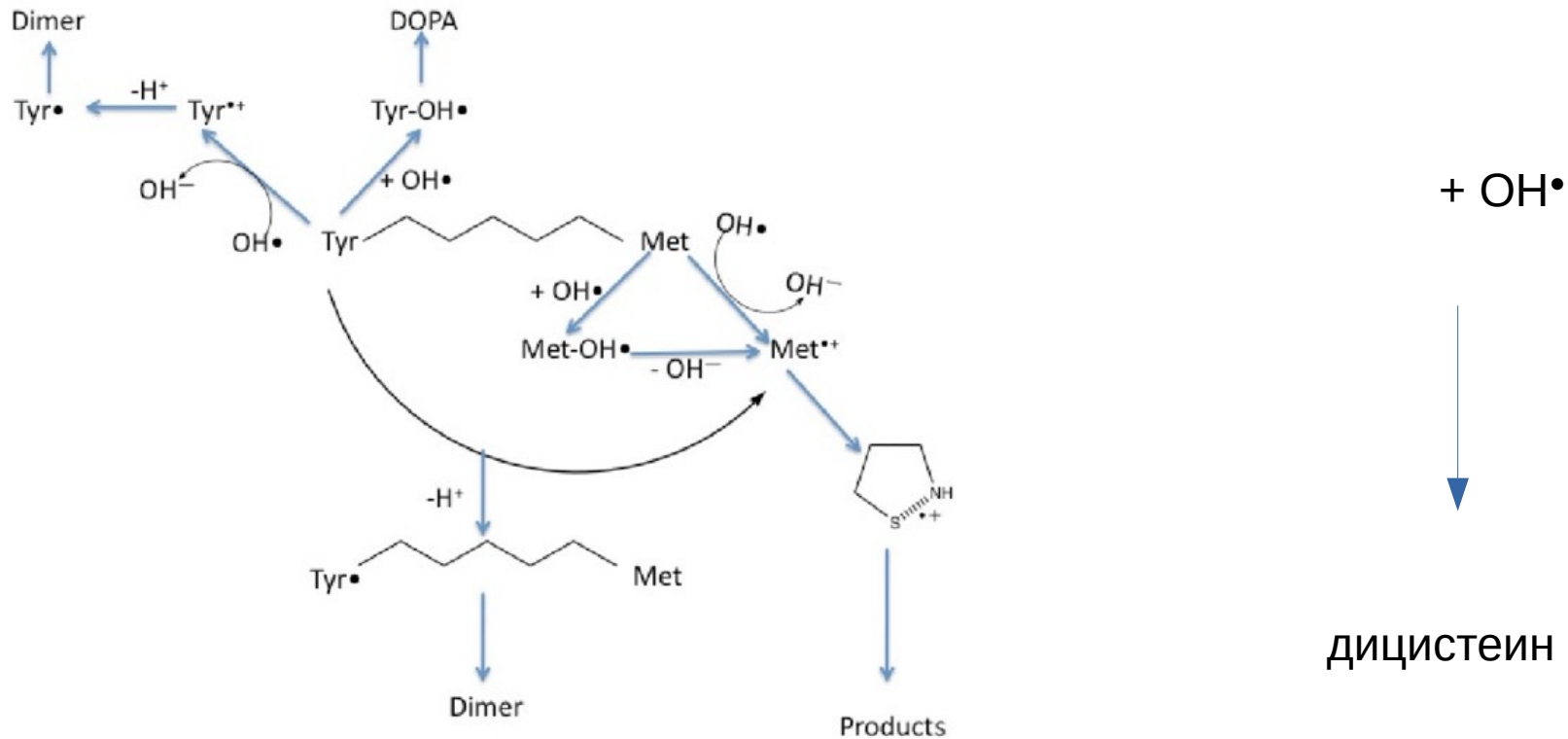
Tyr



Met

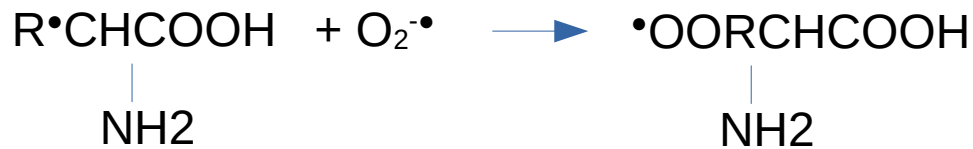
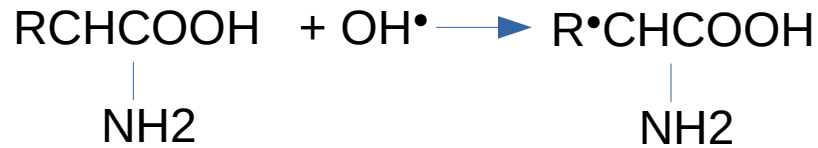


Cys

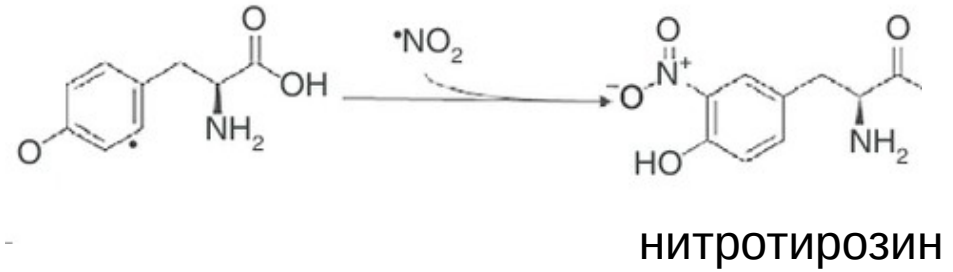
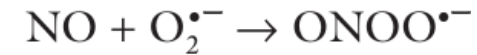


ОКСИДАТИВНА МОДИФИКАЦИЈА АК ОСТАКА

пероксидација



нитрозилација

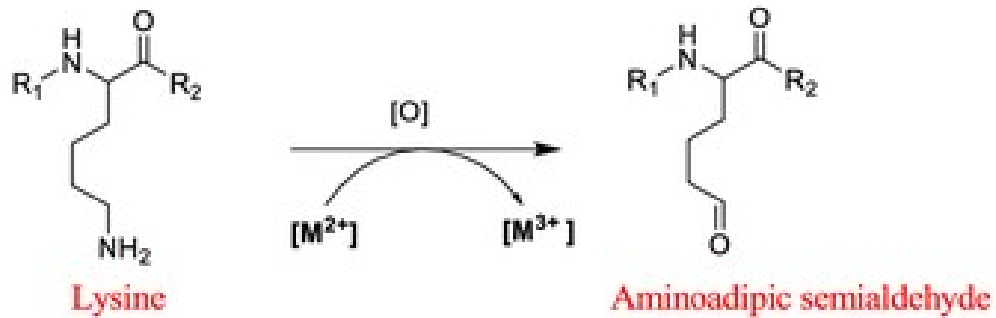


Слична реакција са триптофаном

- Карбонилација (увођење карбонилне групе, иреверзибилан процес):
Катализована металима (на Lys, Thr, Pro, Glu, Asp и Arg остацима).
У реакцијама са производима липидне оксидације (горе наведни АК остаци + хистидин)
У реакцијама са реактивним шећерима (Cys, His, Lys)

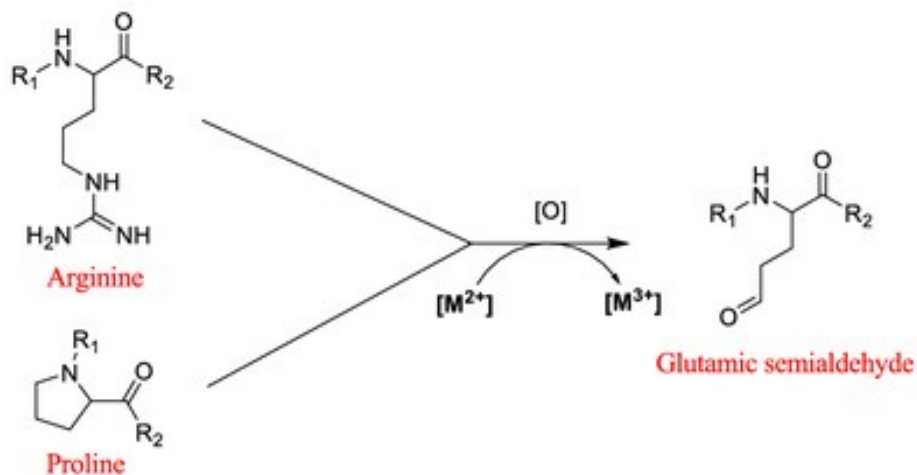
РЕАКЦИЈЕ КАРБОНИЛАЦИЈЕ

Катализирана металним јонима

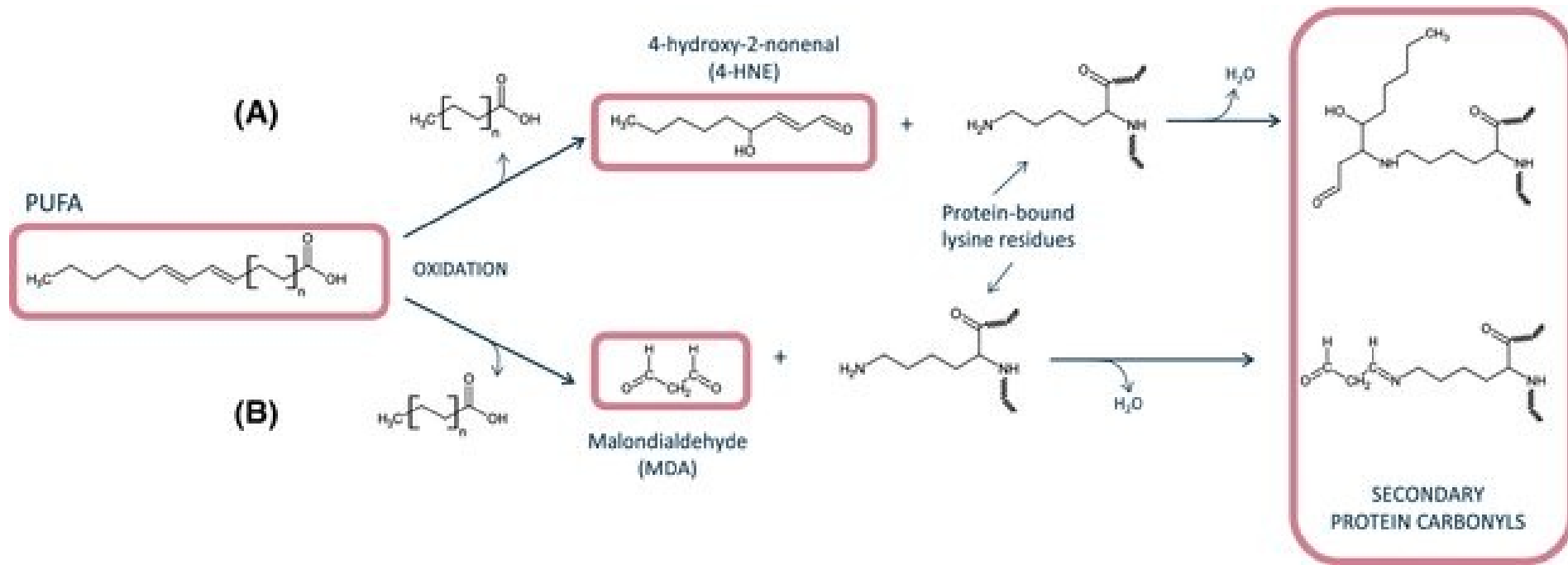


*Интеракција са финалним производима
липидне оксидације*

Малон диалдехиде и 4-хидрокси-2-
ноненал регулишу са АК остацима

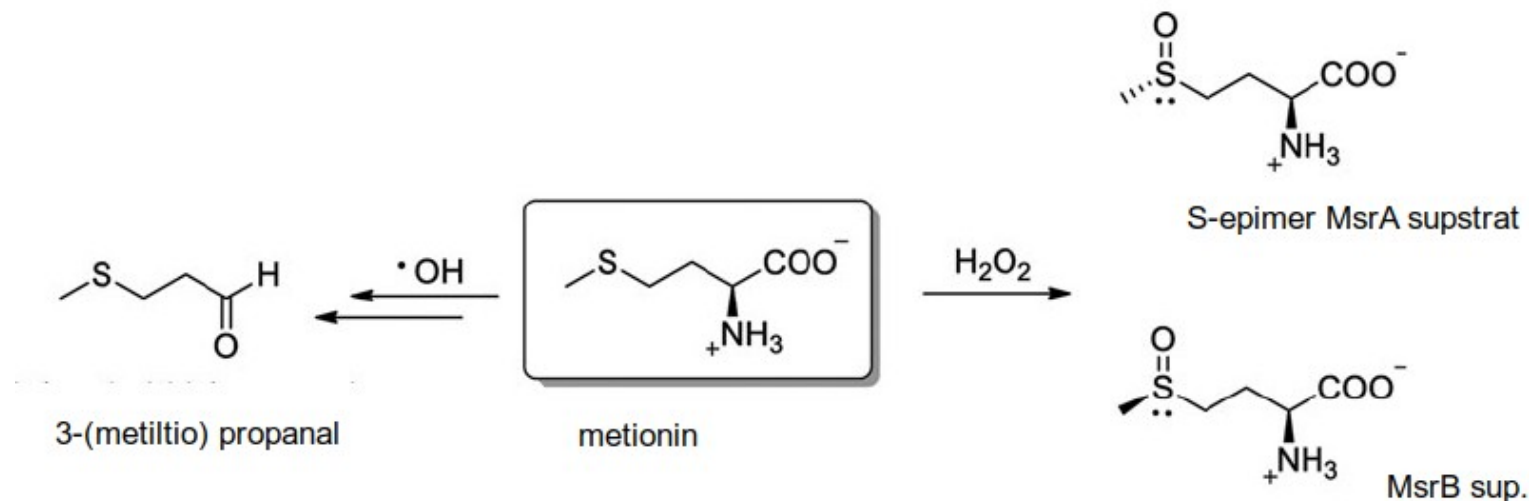


МЕХАНИЗАМ КАРБОНИЛАЦИЈЕ



РЕАКЦИЈЕ СА МЕТИОНИНСКИМ ОСТАТКОМ

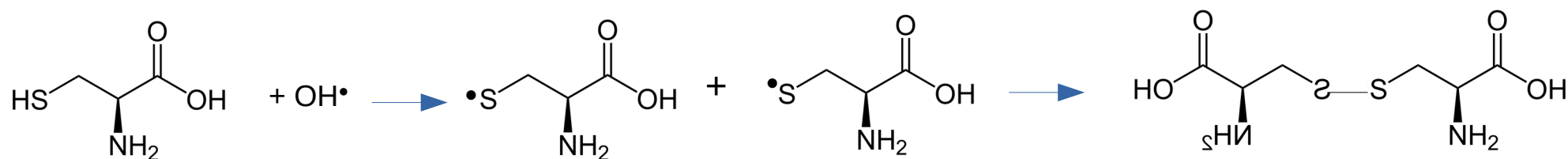
- Доминантне реакције:
 - Са OH^\bullet у присуству кисеоника долази до формирања 3-метилтио-пропанала. Ређе долази до формирања метионин сулфоксида.
 - Са водоник пероксидом у присуству кисеоника долази до формирања метил сулфоксида
 - Са нитроксидом се такође добија метионин сулфоксид. Последњи се оксидацијом конвертује у метионин сулфон



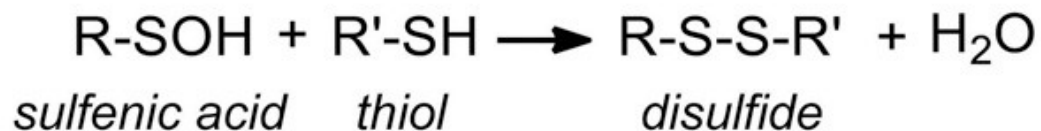
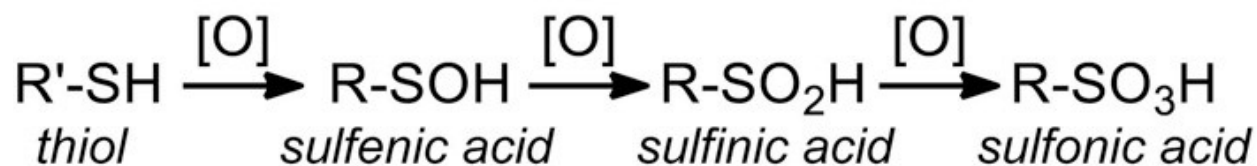
Формирање метионин сулфоксида у протеинима након *in vitro* излагања J3 примећено у цитохрому С, хемоглобину и говеђем кристалину. Формирање ове модификације у камодулину утиче на транспорт Ca^{2+} кроз ћелијску мембрану

РЕАКЦИЈЕ СА ЦИСТЕИНСКИМ ОСТАТКОМ

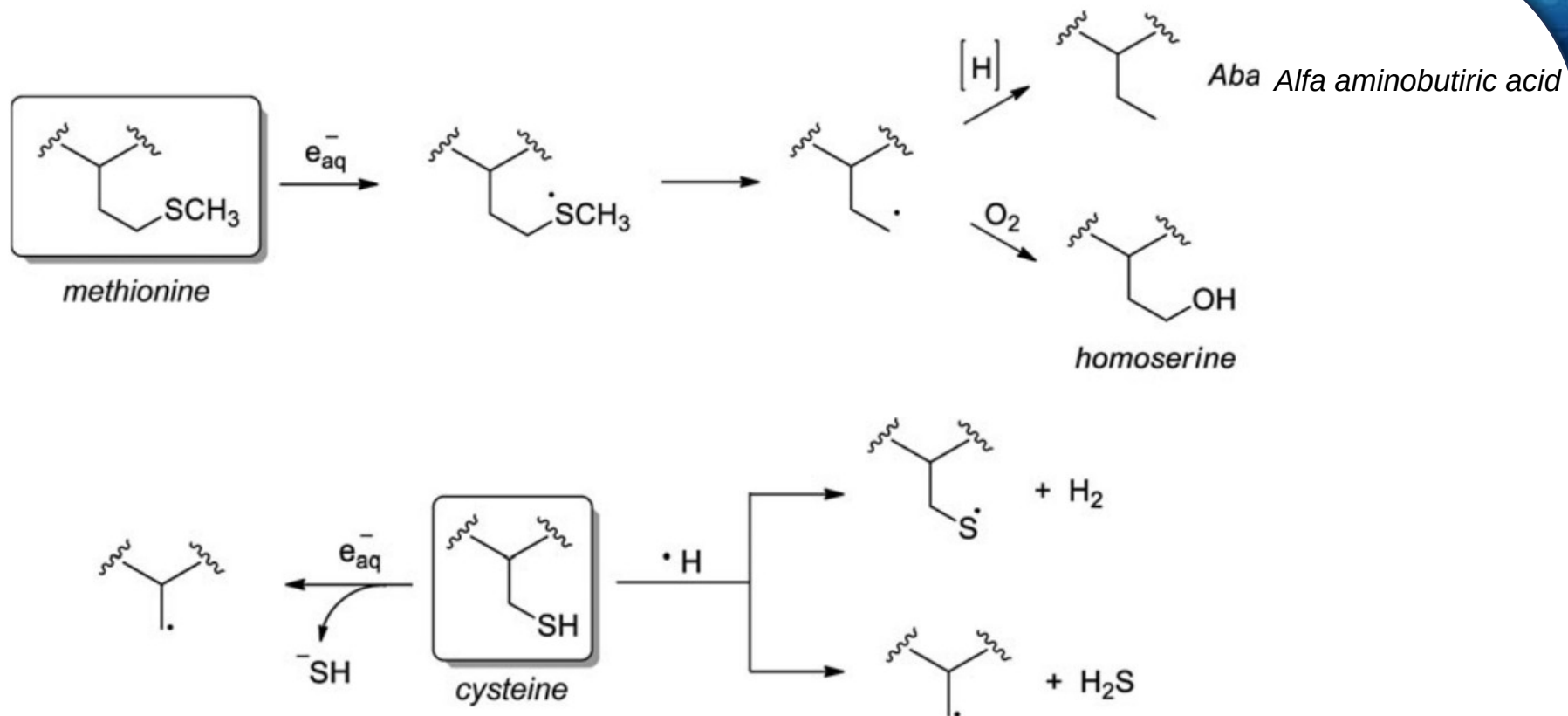
Цистеински остатак регује са OH^\bullet радикалом, при чему долази до абстраховања водоника из SH групе и настанка тиол радикала. Уколико се у близини налази још један цистеински остатак доћи ће до формирања дисулфида или дисулфидног моста.



Са водоник пероксидом, органским пероксидом, пероксинитритом [O] даје сулфенску, сулфинску и сулфинску киселину



Модификација од стране редукујућих реактивних врста (H[•] и e_{solv}⁻)



Утицај на стабилност и експресију протеина

Подаци о *in vivo* променама на протеинима углавно потичу из радијационе терапије. Код излагања различитих делова тела примећене су промене у дужини мишићних влакана (њихово скраћење) што се повезује са променама које зрачење индукује на миозину. Поред тога је примећена повећана експресија MuRF1 (мишићно специфични прстенести протеин). Повећана мишићна атрофија је повезана са повећаном експресијом овог протеина.

Тешко је предвидети у експресији протеина услед излагања јонизујућем зрачењу јер у једном ткиву експресија може бити повећана, док је у другом ткиву то обрнут случај.

Тако се код радијационог третмана карцином плућа у осталом здравог ткиву уочава се пораст експресије ксантин-дехидрогеназе, док су нивои глутатион-S-трансферазе и пероксиредоксина-2 смањени.

По излању јонизујућем зрачењу примећене су и промене у гликозилацији протеина која је битан процес у имуном одговору и инфламацији. Примећено је да се ради о променама које трају више недеља по излагању.