

Oxidační stres a antioxidanty

Tomáš Zima



Ústav klinické biochemie
1. LF UK a VFN Praha



Olomouc 22. října 2011



radikál

anion

O

2

molekula

Volné radikály jsou chemické látky schopné nezávislé existence (molekula, atom nebo iont) obsahující jeden nebo více nepárových elektronů. To je příčinou jejich reaktivity s řadou biologicky významných látek (DNA, lipidy, proteiny).

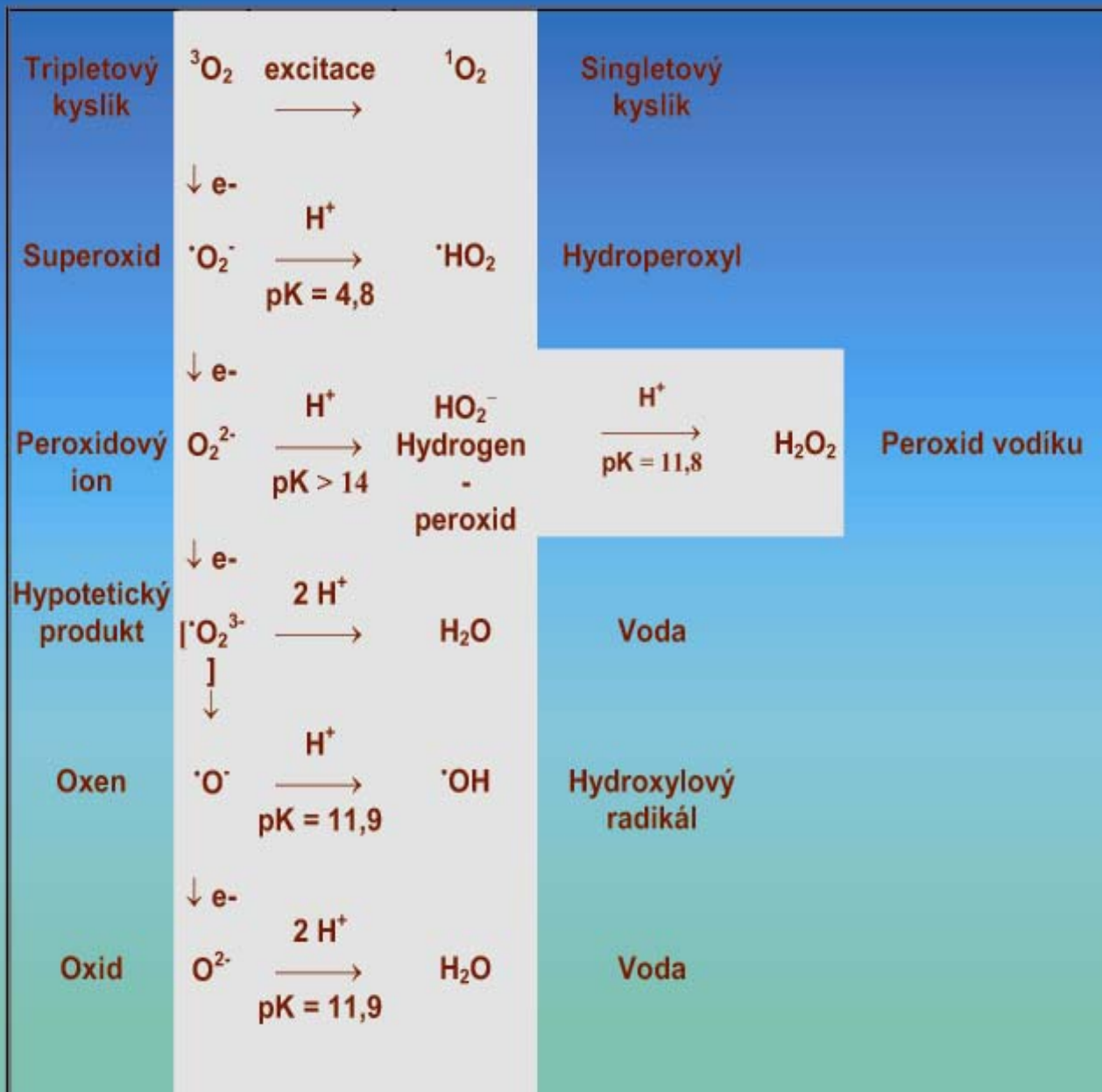
Reaktivní formy kyslíku a dusíku zahrnují kromě radikálů součeniny kyslíku a dusíku spojené s tvorbou jejich radikálů.

Oxidativní stres je poškození tkáně buď zvýšenou tvorbou reaktivních forem kyslíku a dusíku a/nebo poklesem anti-oxidační ochrany organismu.

Reaktivní formy kyslíku (ROS)

- radikály
 - superoxidový anion (superoxid) $O_2^{\cdot -}$
 - hydroxylový $\cdot OH$
 - alkoxylový $R-O\cdot$
 - peroxylový $R-OO\cdot$
 - hydroperoxylový $HO_2\cdot$
- reaktivní formy, které nejsou radikály
 - peroxid vodíku H_2O_2
 - ozon O_3
 - kyselina chlorná $HClO$
 - singletový kyslík 1O_2

Reaktivní formy kyslíku



Reaktivní formy dusíku (RNS)

Reaktivní formy sloučenin dusíku a kyslíku (RONS)

- radikály
 - oxid dusnatý $\text{NO}^\bullet$
 - oxid dusičitý $\text{NO}_2^\bullet$
- reaktivní formy, které nejsou radikály
 - nitrosyl NO^+
 - nitroxid NO
 - kyselina dusitá HNO_2
 - oxid dusitý N_2O_3
 - oxid dusičitý NO_2
 - nitronium NO_2^+
 - peroxynitrit ONOO
 - alkylperoxynitrit R-OONO

Vznik volných radikálů

1/ homolytickým štěpením kovalentní vazby molekuly, kdy každý fragment ponechá si jeden elektron



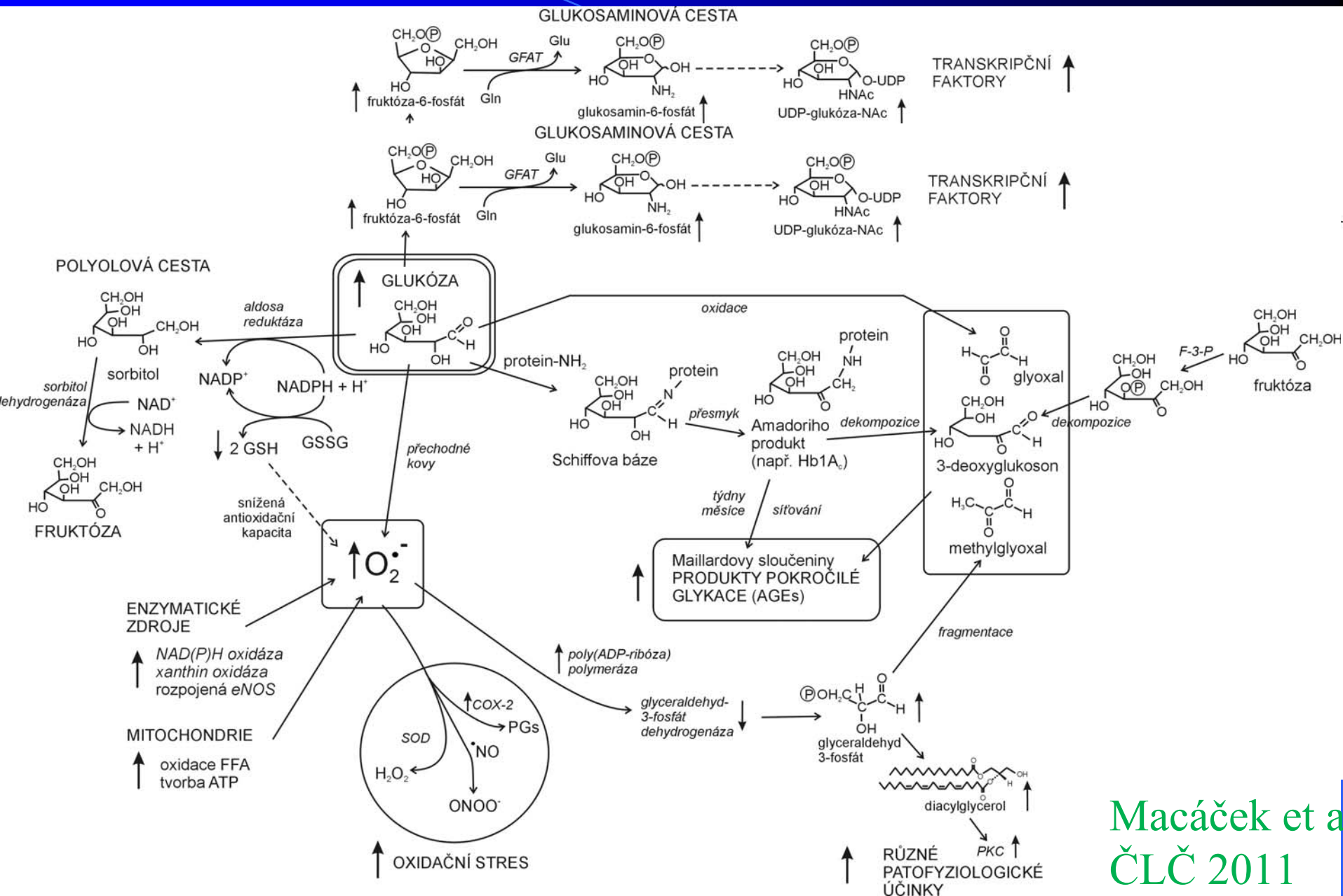
2/ ztrátou jednoho elektronu



3/ adicí jednoho elektronu

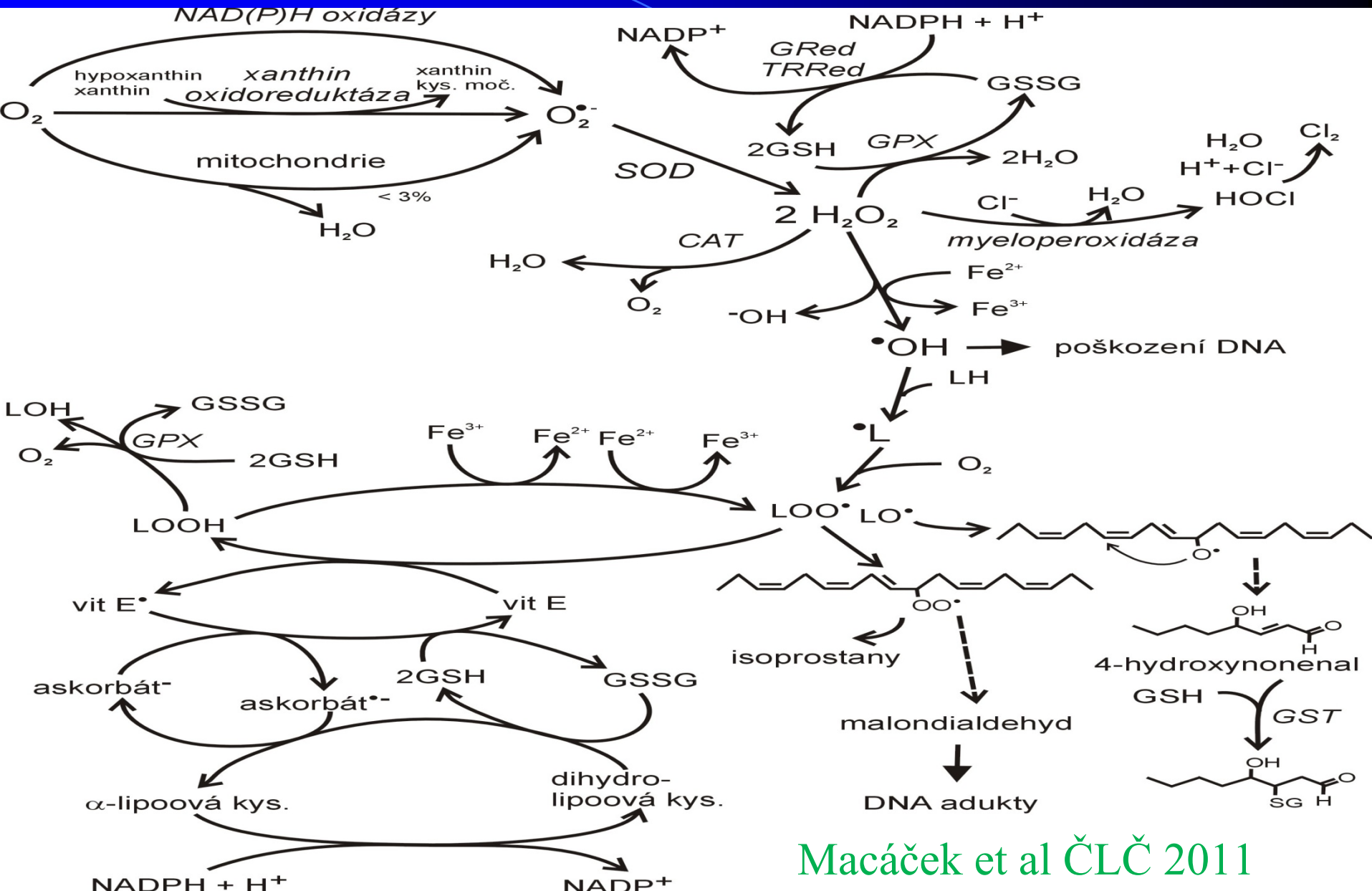


● Oxidační stres - hyperglykémie – diabetes mellitus

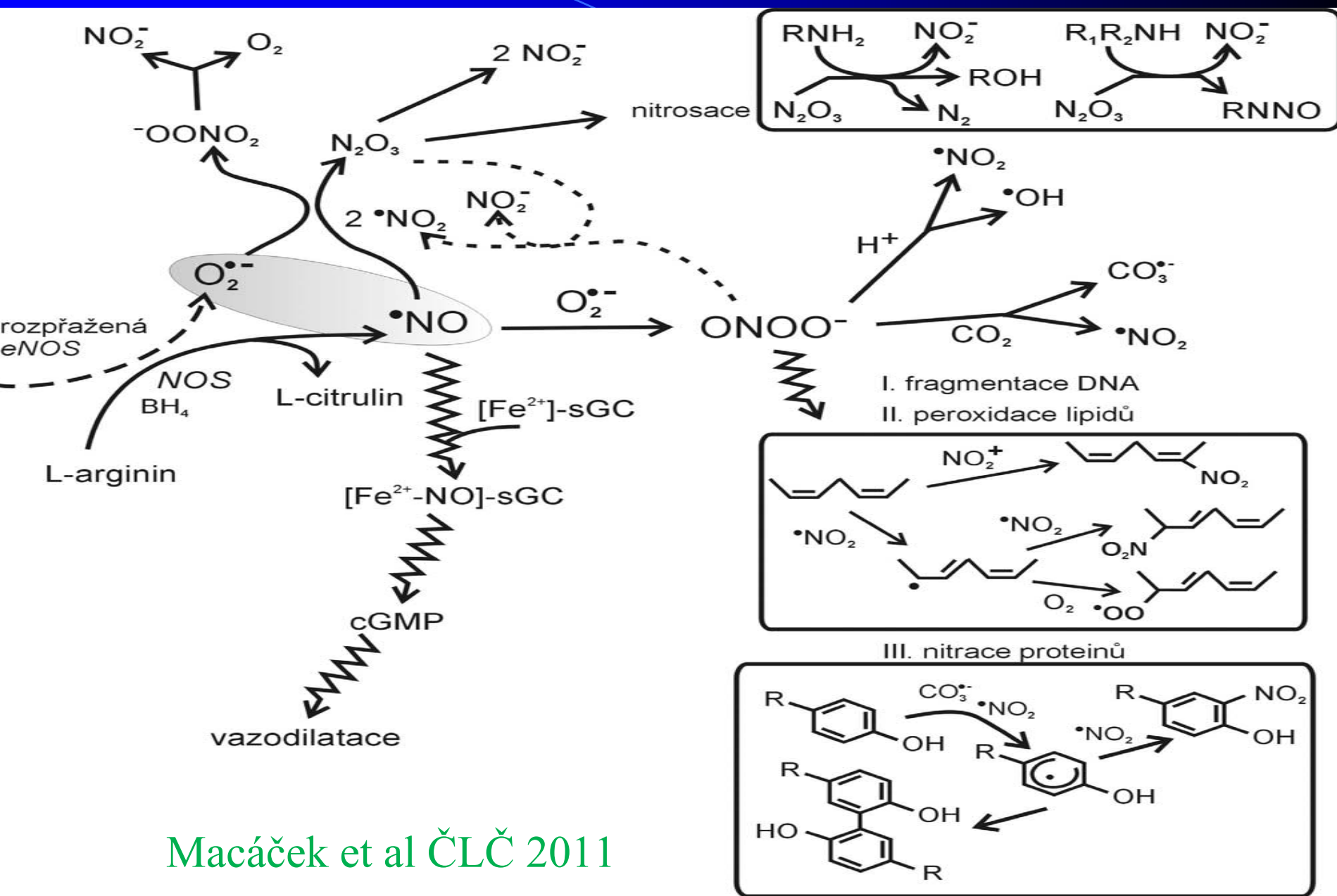


Macáček et al. ČLČ 2011

• Vznik ROS v lidském organismu



● Vznik a působení RNS



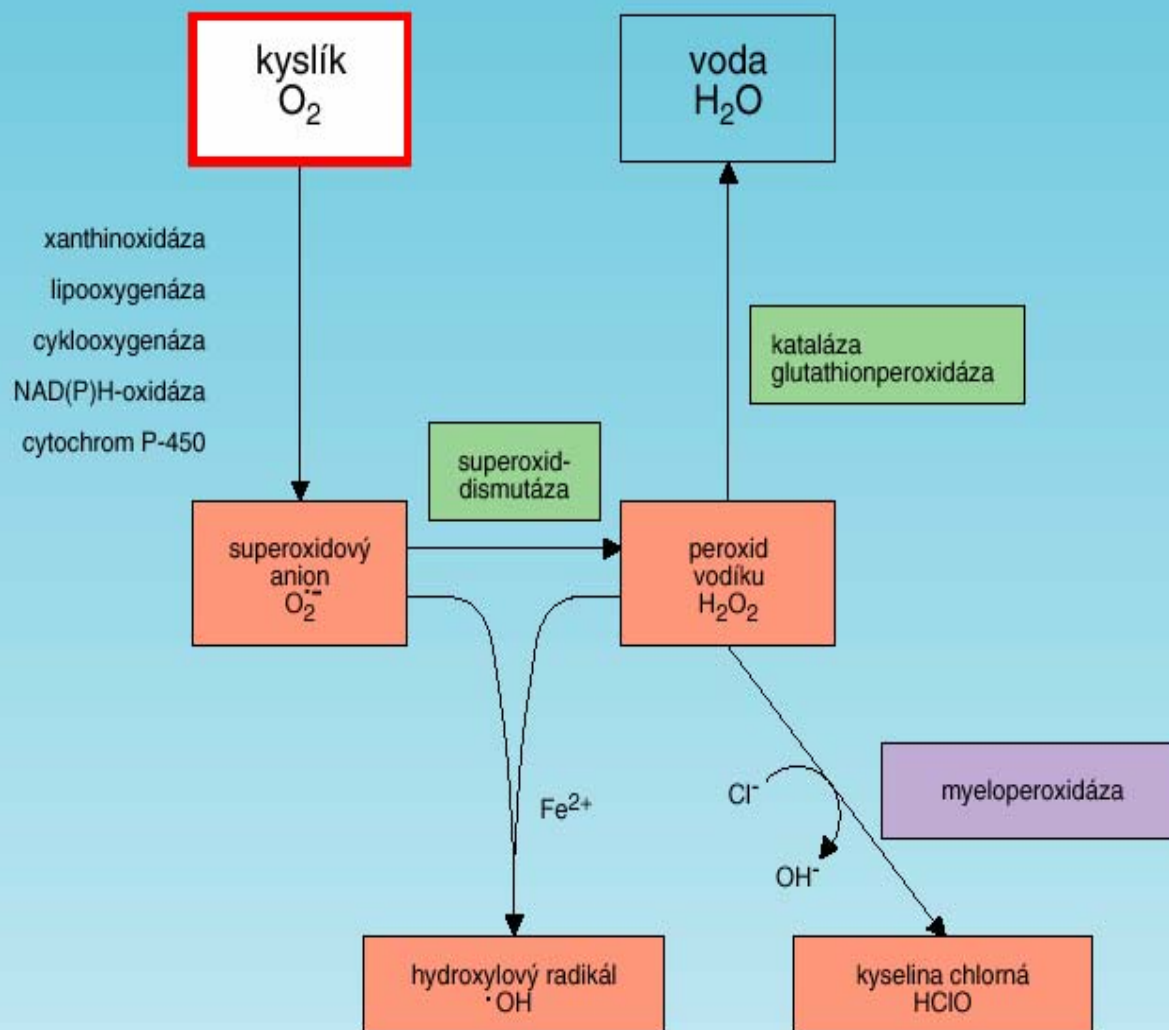
Zdroje volných radikálů

- Dýchací řetězec
- Monooxygenázy
- NADPH-oxidáza a myeloperoxidáza
- Xanthinoxidáza
- NO-syntáza
- ...

Reaktivní formy sloučenin kyslíku a dusíku (RONS)

- Fyziologická role
 - mechanismy reakcí, katalýza
 - signalizace, kontrola
- Oxidativní stres (nerovnováha mezi tvorbou a odbouráváním RONS) nebo špatná mezibuněčná signalizace

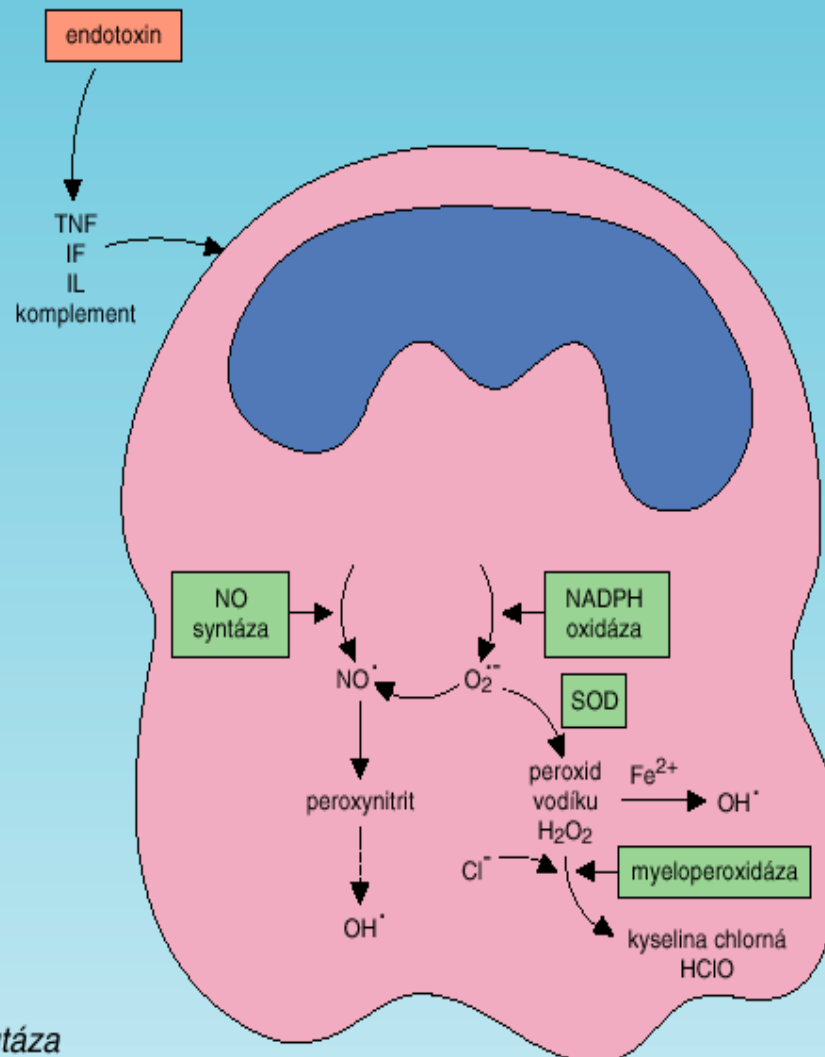
HLAVNÍ REAKCE VEDOUcí KE VZNIKU REAKTIVNíCH FOREM KYSLíKU V BUŇCE



FYZIOLOGICKÁ FUNKCE ROS/RNS

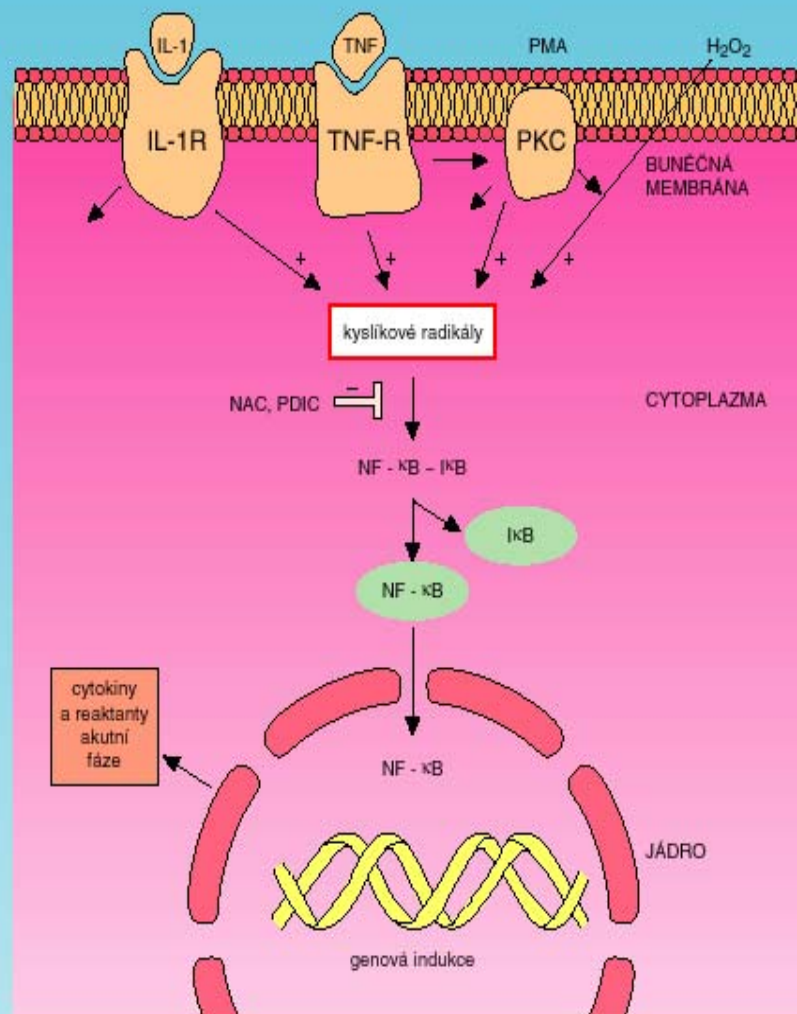
1. Tvorba superoxidu v aktivovaném neutrofilním leukocyту
2. Tvorba NO
3. Úloha druhého posla v signální transdukci (transkripční faktor NF- κ B.NF-B)
4. Syntéza prostaglandinů
5. Vznik při metabolismu a detoxikaci xenobiotik
6. Vznik superoxidu v dýchacím řetězci

TVORBA SUPEROXIDU NADPH - OXIDÁZOU V AKTIVOVANÉM NEUTROFILNÍM LEUKOCYTU



Vysvětlivky: SOD superoxiddismutáza

ÚLOHA VOLNÝCH RADIKÁLŮ JAKO „DRUHÉHO POSLA“ V BUŇCE

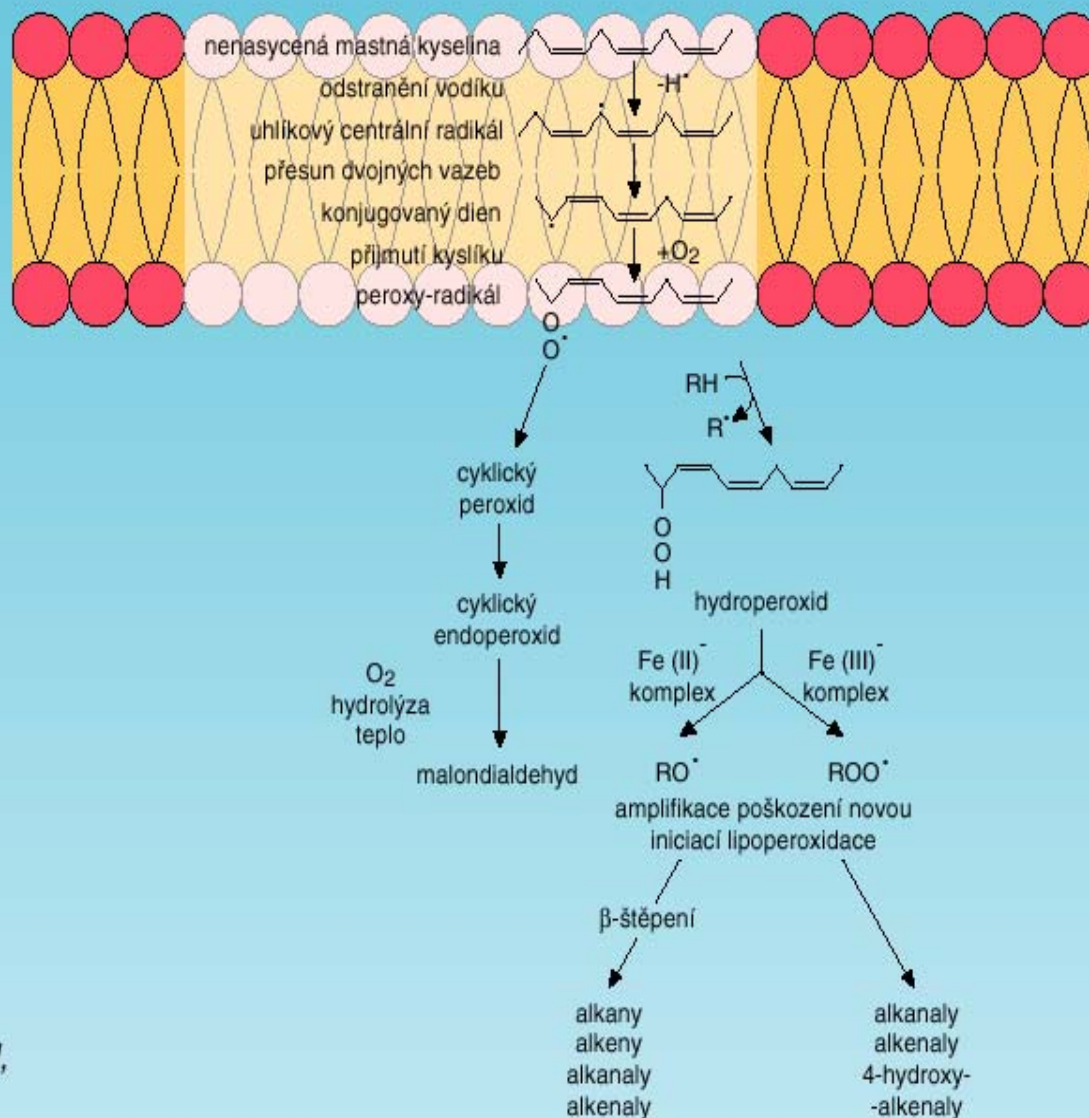


Vysvětlivky: PMA phorbol-12-myristat-13-acetát, PKC proteinkináza C,
NAC N-acetyl-L-cystein, PDIC pyrrolidinový derivát dithiokarbamátu

PATOLOGICKÉ PŮSOBENÍ RADIKÁLŮ

- * **lipidy** - lipoperoxidace (neenzymová, nespecifická peroxidace nenasycených mastných kyselin)
- * **DNA, RNA** - možná aktivace protoonkogenu nebo inaktivace nádorového supresorového genu, mutace
- * **proteiny** - změny vlastností, crosslinking, addukty

SCHÉMA LIPOPEROXIDACE

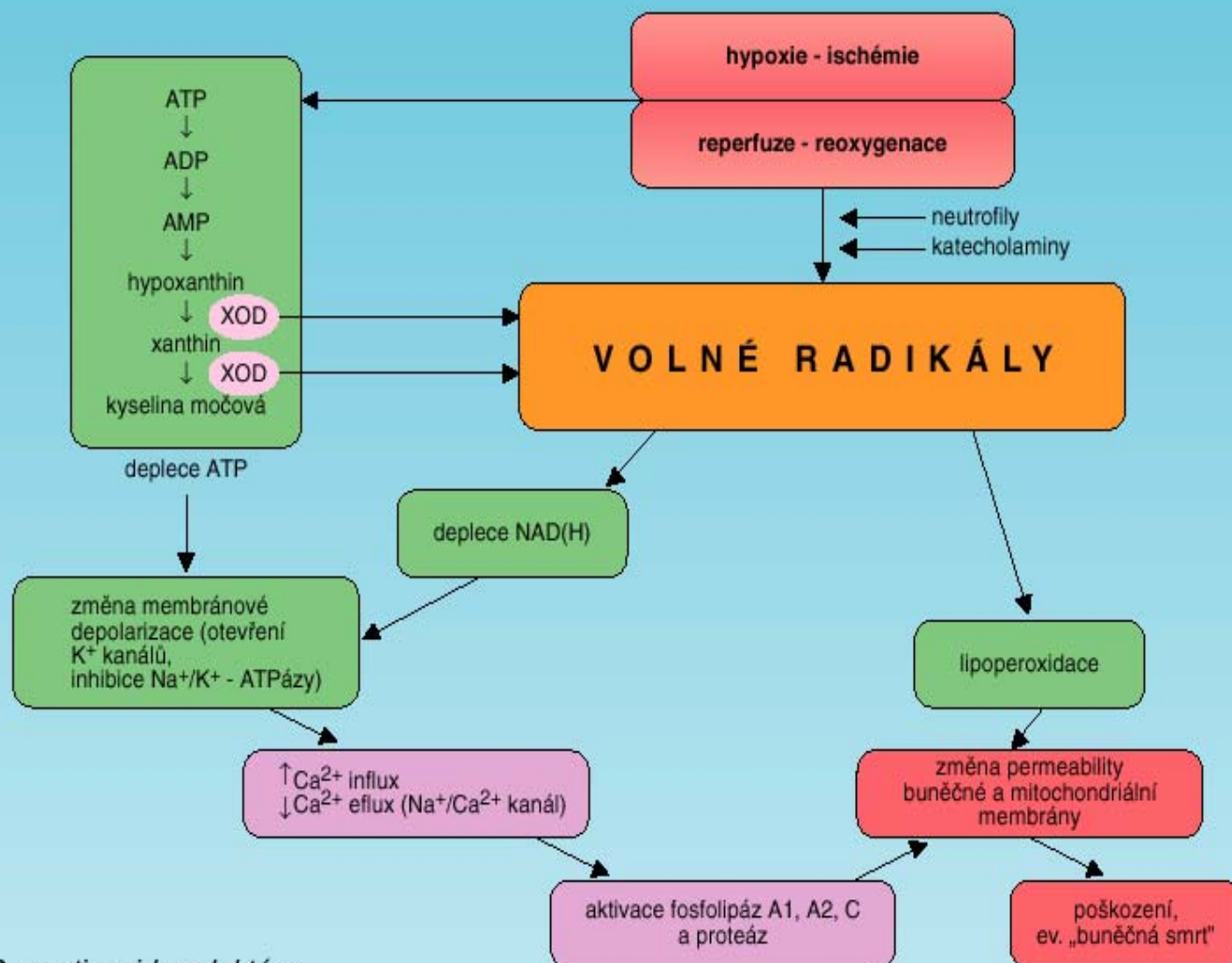


Vysvětlivky:

ROO $^\bullet$. peroxylový radikál,

RO $^\bullet$. alkoxylový radikál

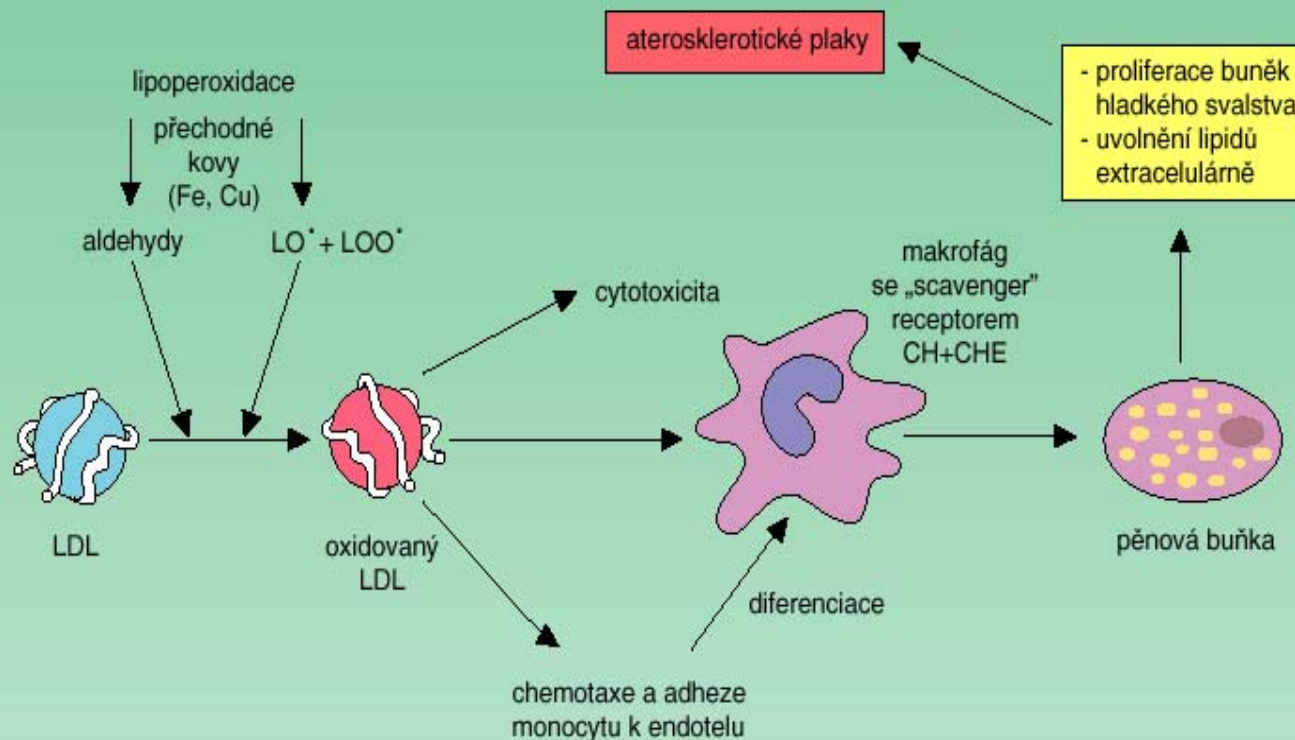
REAKCE PROBÍHAJÍCÍ PŘI ISCHEMICKO-REPERFUZNÍM POŠKOZENÍ



Vysvětlivky: XOD xantinoxidoreduktáza

VOLNÉ RADIKÁLY V PROCESU ATEROGENEZE

(upraveno podle 65, 66)



Vysvětlivky:

CH cholesterol, CHE estery cholesterolu,
 $LOO^{\bullet}$ peroxylový radikál mastných kyselin,
 $LO^{\bullet}$ alkoxylový radikál mastných kyselin

AGEs

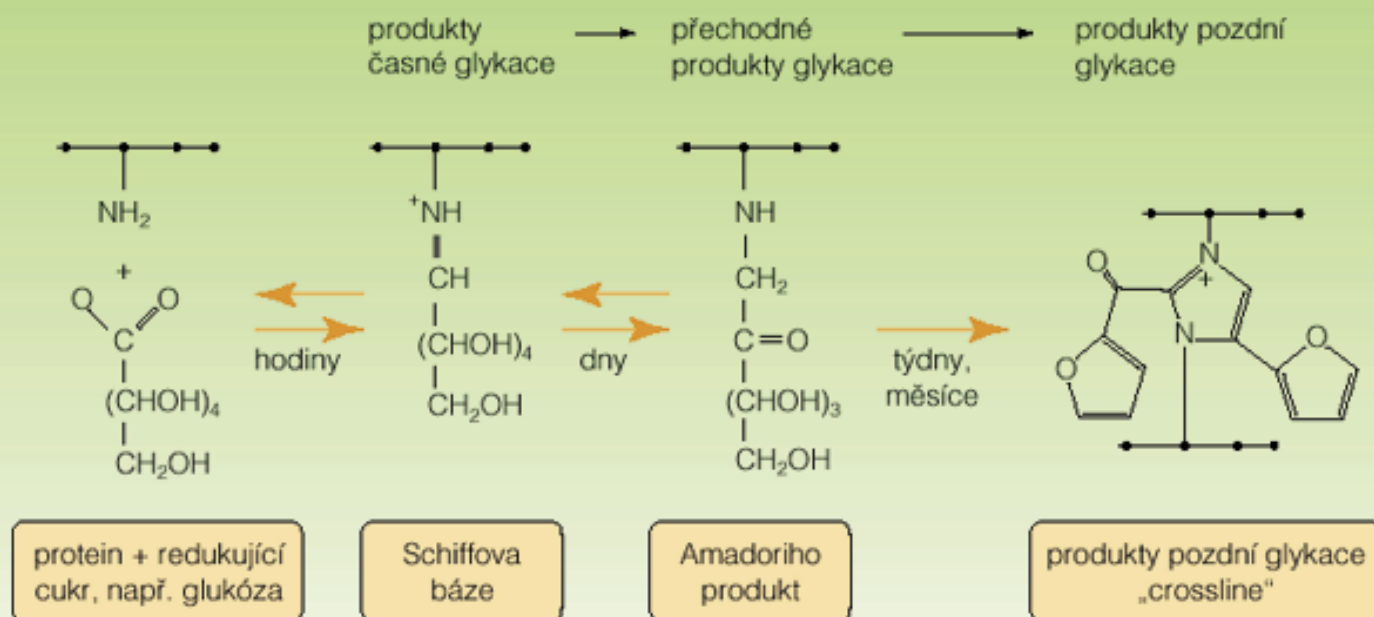
advanced glycation end products
(produkty pokročilé glykace)

- heterogenní skupina látek
- žlutohnědá pigmentace a fluorescence
- schopnost zesíťení - crosslinking
- reakce se specifickým receptorem - RAGE
- význam v patogenezi chronických onemocnění a jejich komplikací

Neenzymatická glykace

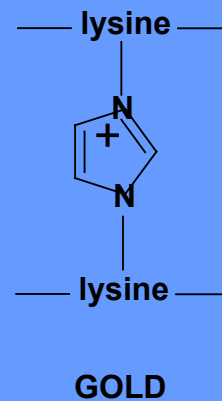
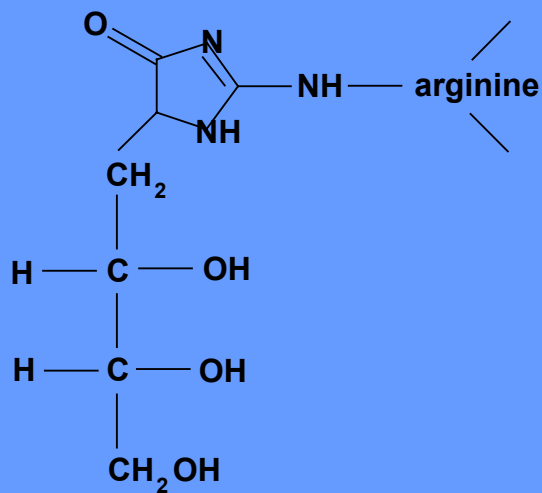
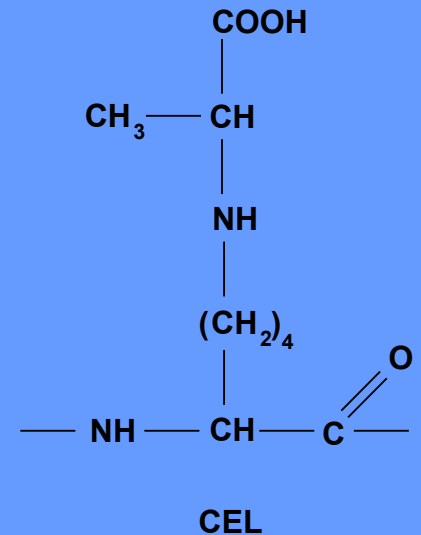
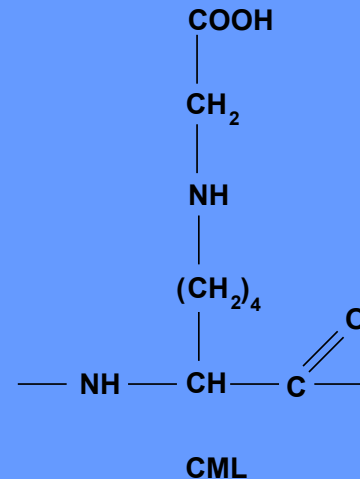
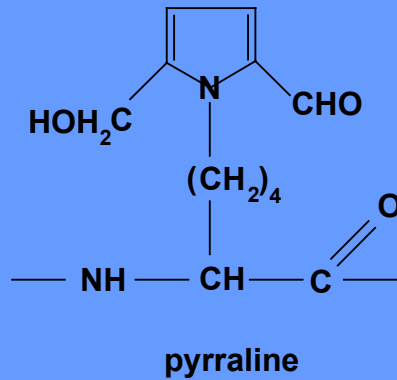
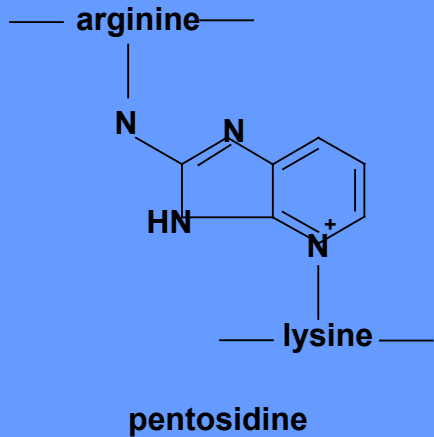
Maillardova reakce

NEENZYMATICKÁ GLYKACE (MAILLARDOVA REAKCE)

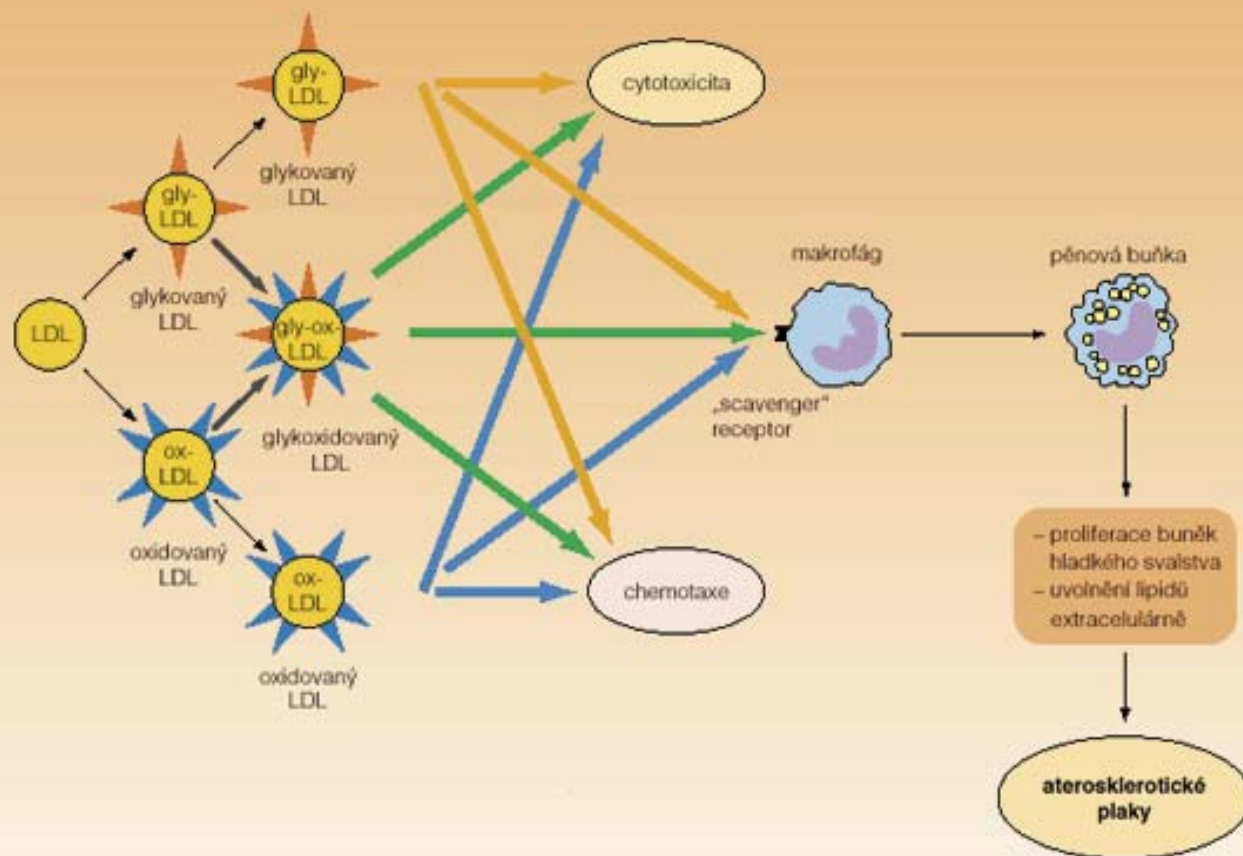




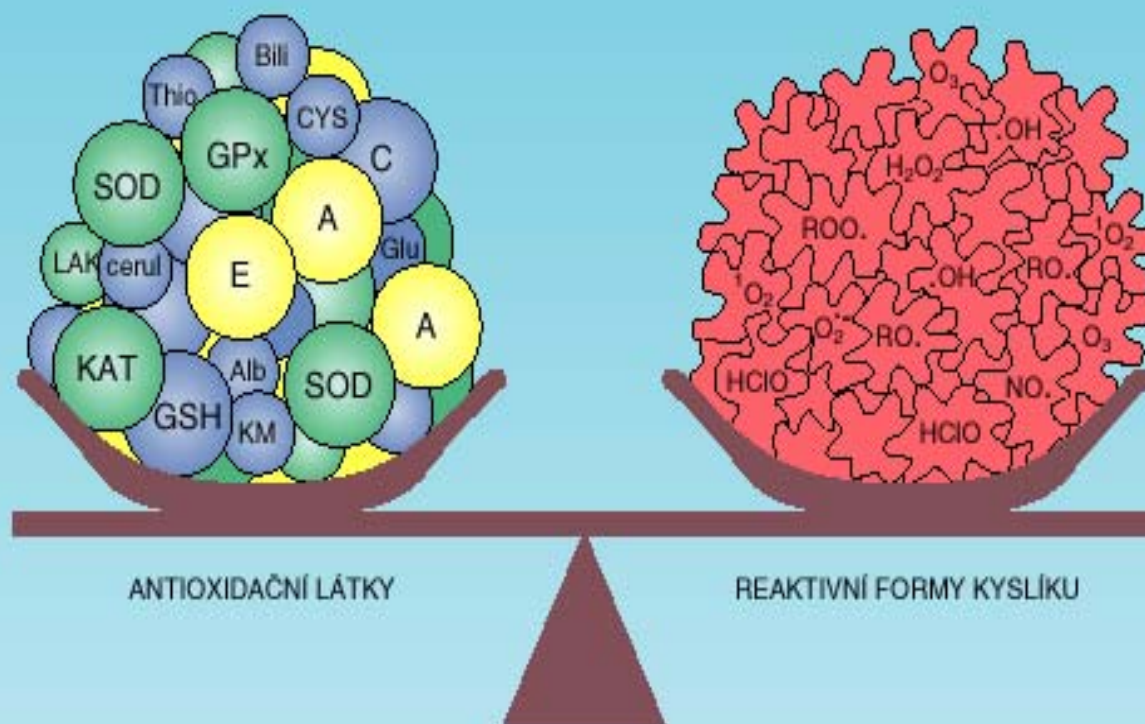
Struktura AGEs



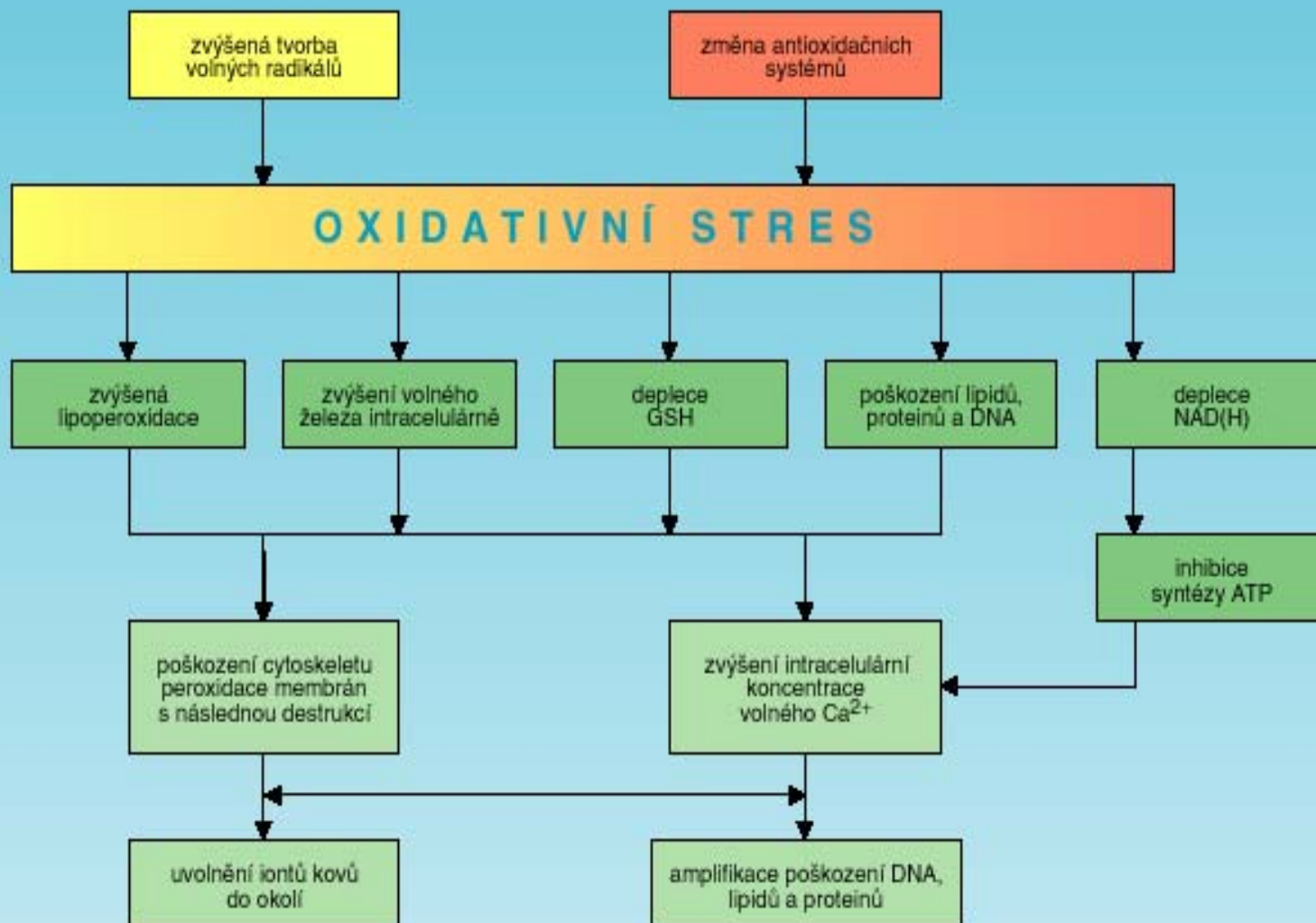
GLYKACE LDL V PROCESU ATEROGENEZE



ROVNOVÁHA MEZI TVORBOU VOLNÝCH RADIKÁLŮ A ANTIOXIDAČNÍMI SYSTÉMY ORGANISMU



OXIDATIVNÍ STRES A NÁSLEDNÁ KASKÁDA REAKCÍ PROBÍHAJÍCÍCH V BUŇCE



Antioxidační systém

Nízkomolekulární složky

- **Kyselina askorbová (vitamin C)**
- **Tokoferoly (vitamin E)**
- **Karotenoidy (vitamin A)**
- **Koenzym Q (ubichinol)**
- **Thioly a disulfidy**
- **Kyselina lipoová**
- **Urát**
- **Billirubin**
- **Flavonoidy**

Antioxidační enzymy

- **Superoxiddismutázy (SOD)**
- **Glutathionperoxidázy (GPX)**
- **Glutathiontransferázy (GST)**
- **Katalázy (CAT)**

Ostatní antioxidační proteiny

- **Transferrin**
- **Ferritin**
- **Ceruloplasmin**
- **Haptoglobin a hemopexin**

Antioxidační enzymy

Superoxiddismutáza



Peroxidáza



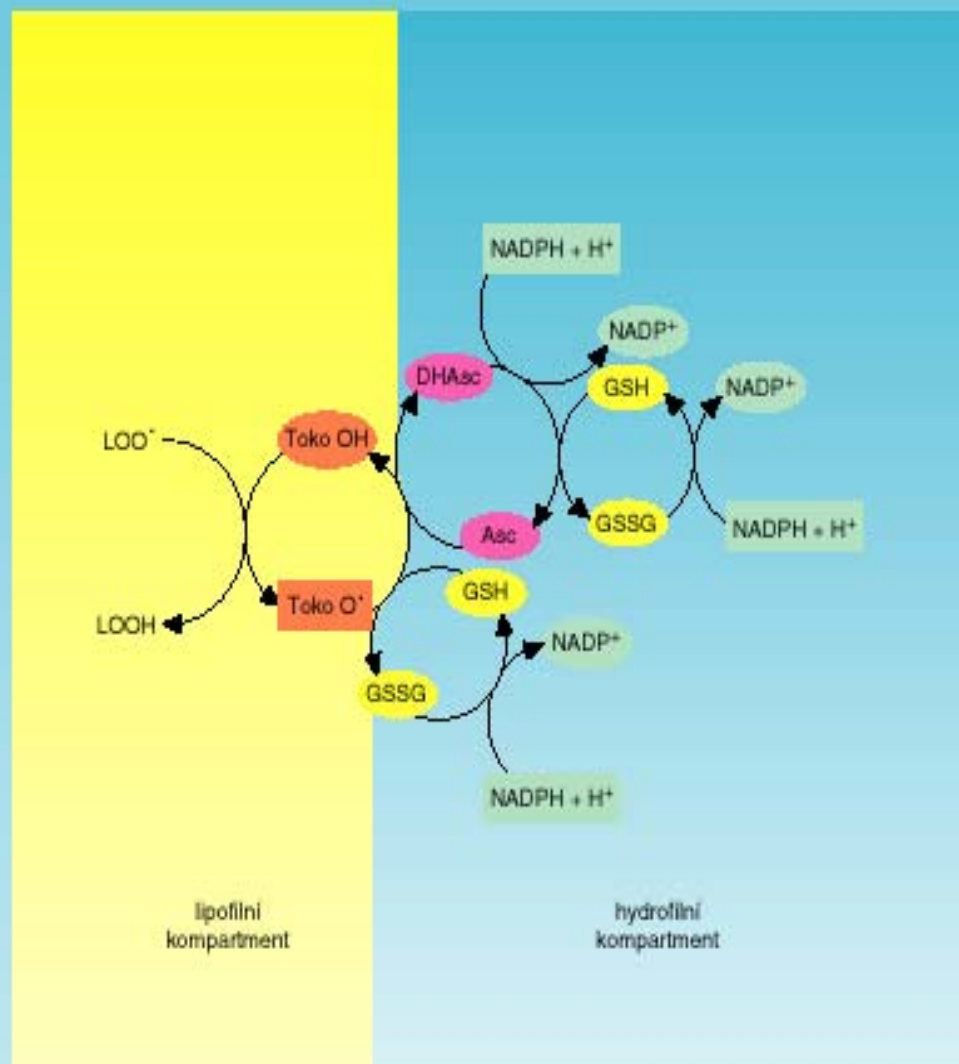
Kataláza

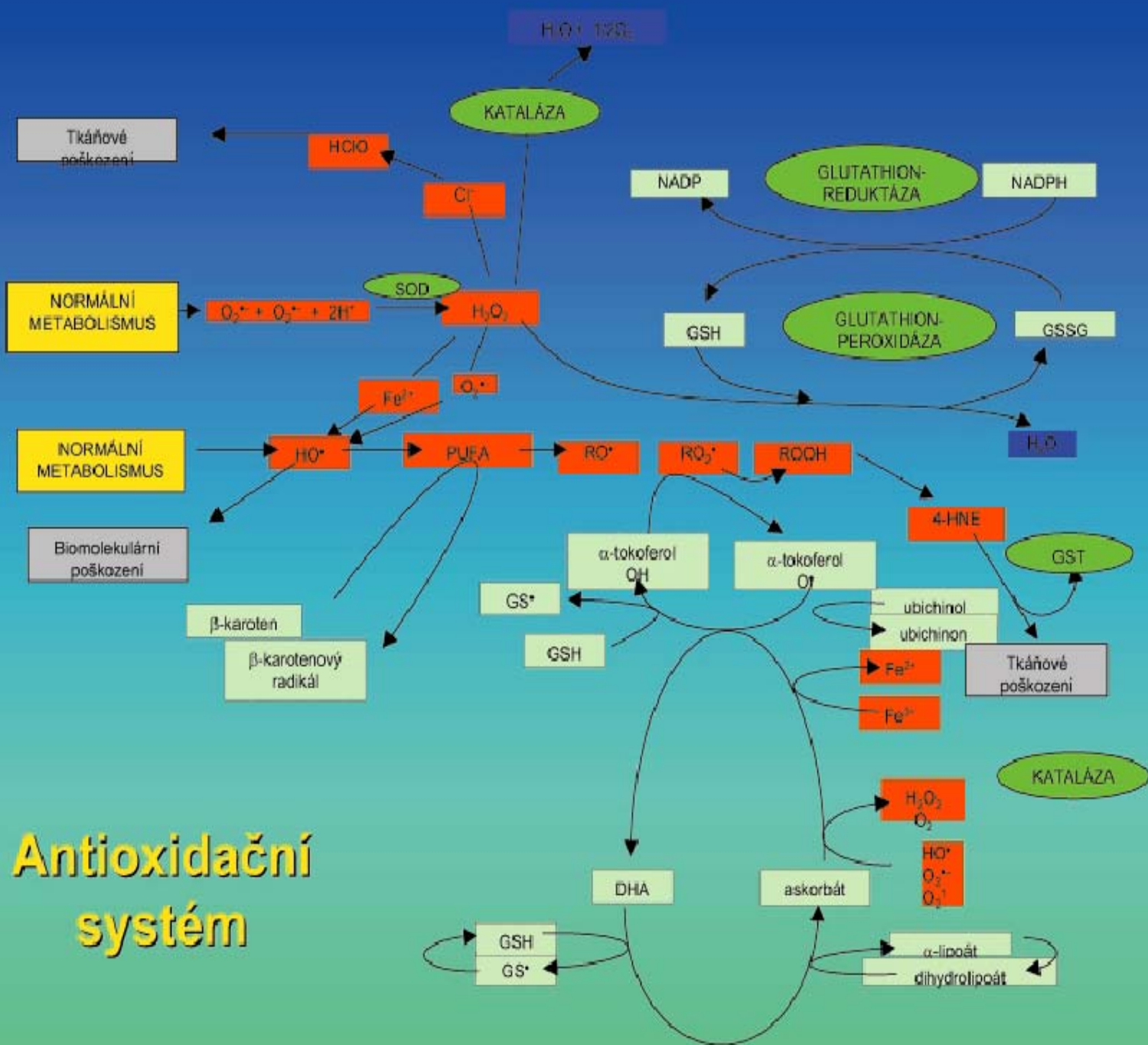


MECHANISMY PŮSOBENÍ ANTIOXIDAČNÍCH LÁTEK

1. lapat reaktivní radikály (SOD přeměna $O_2^{\cdot-}$)
2. inhibovat jejich tvorbu (blokování aktivace fagocytů)
3. reparovat poškození (tokoferol se váže na peroxy radikál)
4. vázat přechodné kovy (cheláty)
5. kombinovaný účinek
6. regulovat endogenní antioxidační systémy

ANTIOXIDAČNÍ PŮSOBENÍ TOKOFEROLU A JEHO NÁSLEDNÁ REGENERACE ASKORBÁTEM NEBO GLUTATHIONEM





Antioxidační terapie – velká neznámá?!

Faktory podílející se na nejednoznačných závěrech klinických studií:

- Oxidativní stres se vyskytuje téměř u všech nemocí, ale v patogenezi není ve všech případech významný.
- Antioxidanty nebyly podávány dostatečně dlouho, v potřebném množství a ve správném čase.

V antioxidační terapii existují dva extrémní přístupy

- podávat antioxidanty vždy a všude, protože zvýšená tvorba radikálů je u zánětu, ischemicko-reperfuzního poškození, nádorů, ve stáří nebo,
- nepodávat je vůbec, protože se většinou jedná o vitaminy a další látky, kterých je ve vyvážené potravě dostatek, a hypovitaminózami u nás nikdo netrpí.

Oba tyto přístupy jsou špatné a nevědecké.

Antioxidační terapie

- závisí na stupni poznání role volných kyslíkových radikálů v patogenezi nemocí
- cílem by mělo být v rámci prevence snížení incidence onemocnění a při léčbě nemocí pozitivní ovlivnění průběhu a rekonvalescence

Podání antioxidantů není a nebude kauzální léčbou chorobných stavů, ale terapií upravující a vyrovňávající redoxní prostředí buněk.

Kauzální terapie některých onemocnění

- retinopatie nedonošenců
- hemolytický syndrom nedonošenců
- Keshanská kardiomyopatie
- neurologická degenerace při deficitu tokoferolu

- Nedostatečná distribuce antioxidantů do patřičných kompartmentů, kde jsou potřebné. Jedná se nejen o množství, ale především o biologickou dostupnost dané látky.
- Použití „adekvátních“ antioxidantů. Inhibitory lipoperoxidace nezabrání radikálovému poškození DNA. Je nutná vyváženost antioxidantů při jejich kombinovaném podání, odpovídající mechanismu jejich účinku.

Významné antioxidační látky používané v terapii

1. Antioxidační enzymy

SOD

2. Antioxidační vitaminy

tokoferol

askorbát

beta-karoten a retinol

3. Antioxidační substráty

cystein

kyselina lipoová

4. Stopové prvky

selen

zinek

5. Rostlinné antioxidanty

flavonoidy

silibinin

extrakt z Ginkgo biloby

6. Syntetické antioxidanty

N-acetylcystein

probucol

desferoxamin

dexrazoxan

penicilamin

alopurinol

5-aminosalicyláty

Vliv antioxidační terapie na vybrané nemoci

Antioxidant	Úspěšnost
-------------	-----------

Kardiovaskulární onemocnění

- | | |
|---------------|---|
| ● karotenoidy | — |
| ● askorbát | ± |
| ● tokoferoly | ± |

Nádory

- | | |
|---------------|---|
| ● karotenoidy | — |
| ● tokoferoly | ± |

Intravaskulární hemoragie

- tokoferoly +
- askorbát +

Fotosenzibilizující nemoci

- karotenoidy ++

UV záření

- tokoferoly ++

Katarakta

- tokoferoly +

Nachlazení

- askorbát ±

Parkinsonismus

- tokoferoly ±

Retrolentální fibroplazie

- tokoferoly +

Bronchopulmonární dysplazie

- askorbát +

Antioxidanty

- nezbytné pro život, ale nejsou to elixíry života
- klinickými studiemi ověřeno málo údajů
- v budoucnosti cílené kombinace antioxidantů pro jednotlivé klinické situace a ne paušální kombinování nejčastěji tokoferolu, askorbátu, beta-karotenu a selenu