

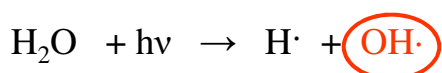
Antioxidační ochrana

Antioxidanty v potravě

MUDr. Jan Pláteník, Ph.D.
Ústav lékařské biochemie a
laboratorní diagnostiky 1.LF UK

Ionizační záření:

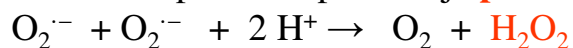
Hydroxylový radikál vzniká ionizací vody:



Reaktivní formy kyslíku v organismu:

Jednoelektronovou redukcí kyslíku (mitochondrie, NADPH oxidasa) vzniká **superoxid** $\text{O}_2^{\cdot-}$

Dismutace superoxidu produkuje **peroxid vodíku**:



Fentonova reakce s Fe nebo Cu vytvoří z peroxidu

hydroxylový radikál:



Oxidační stres

- Hladina reaktivních forem kyslíku je udržována v určitých mezích mechanismy antioxidační ochrany
- Oxidační stres nastává při vychýlení této rovnováhy směrem k oxidaci

Antioxidační ochrana

- prevence tvorby ROS/RNS (regulace produkujících enzymů, sekvestrace přechodných kovů)
- vylučování, lapání a zhášení radikálů
- reparační systémy (fosfolipasy, proteasom, enzymy opravující DNA)

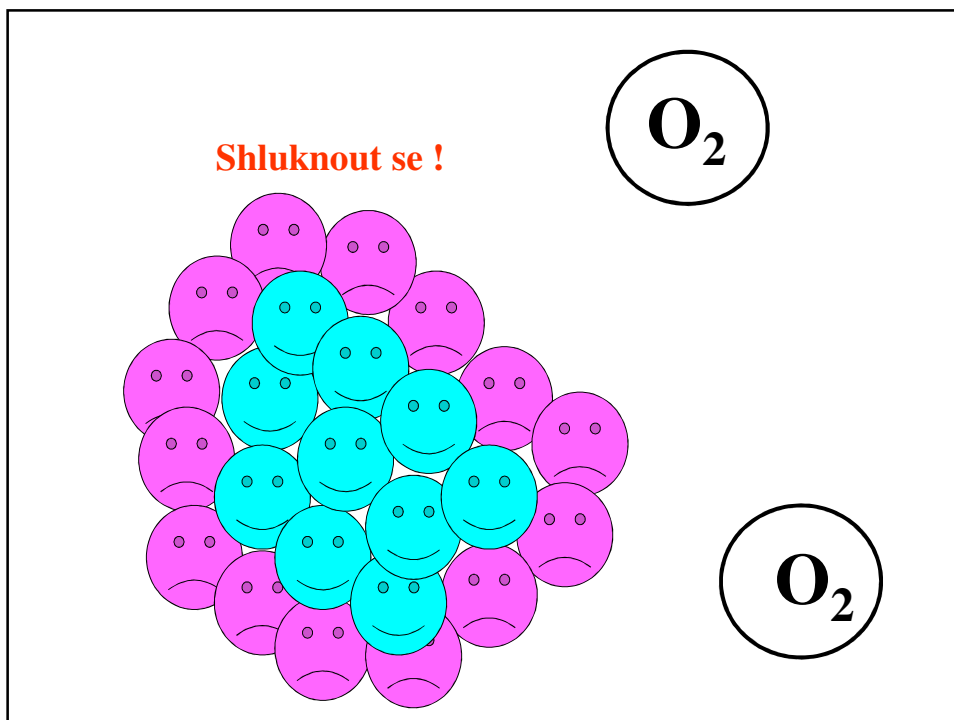
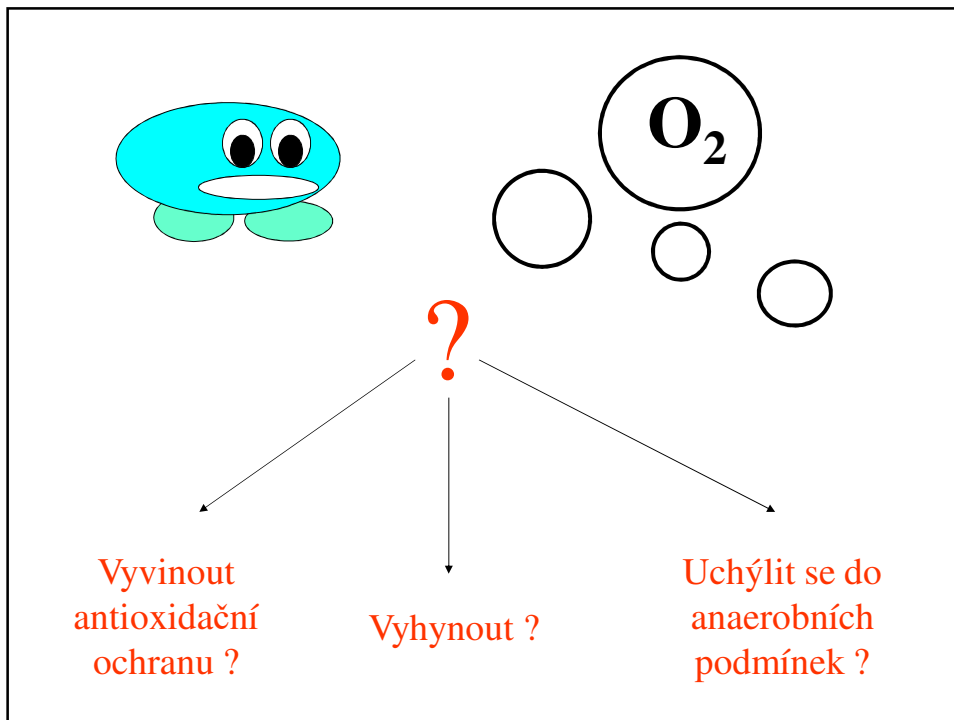
Nezbytná pro život v přítomnosti kyslíku

...ale takhle jednoduché to není!

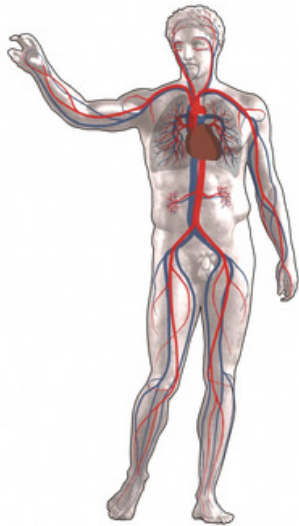


Antioxidační ochrana lidského těla

- Anatomické uspořádání regulující hladinu kyslíku ve tkáních
- Antioxidační enzymy
- Sekvestrace redoxně aktivních kovů
- Antioxidační substráty
- Stresová reakce
- (Reparace oxidačního poškození DNA, proteinů a lipidů)



Antioxidační ochrana I Regulace O₂ ve tkáních

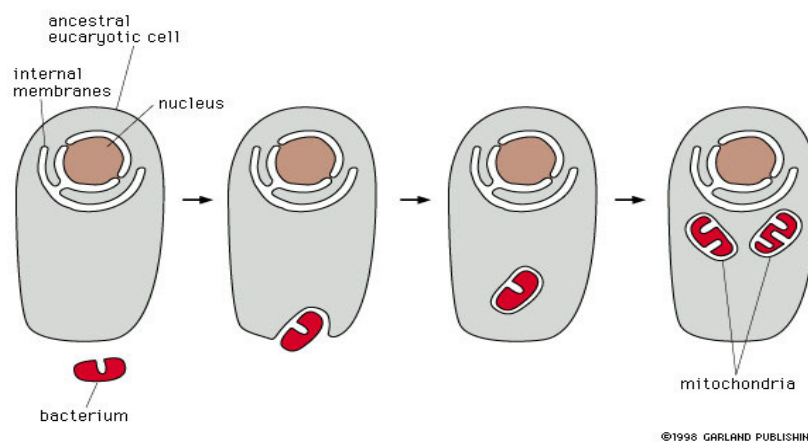


Vdechovaný vzduch:	160 mmHg O ₂
Plicní kapiláry:	100 mmHg O ₂
Arteriální krev:	85 mmHg O ₂
Arterioly:	70 mmHg O ₂
Kapiláry:	50 mmHg O ₂
Buňky:	1-10 mmHg O ₂
Mitochondrie:	< 0,5 mmHg O ₂



Obr: Wikipedie

Mitochondrie jsou původně fagocytované/parazitující bakterie ...



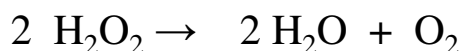
Antioxidační ochrana II

Antioxidační enzymy

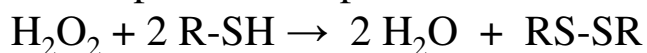
- Superoxiddismutasa:



- Katalasa:

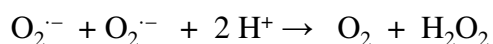


- Glutathionperoxidasa, peroxiredoxin:



Superoxiddismutasy (SOD)

- Katalyzují dismutaci superoxidu:



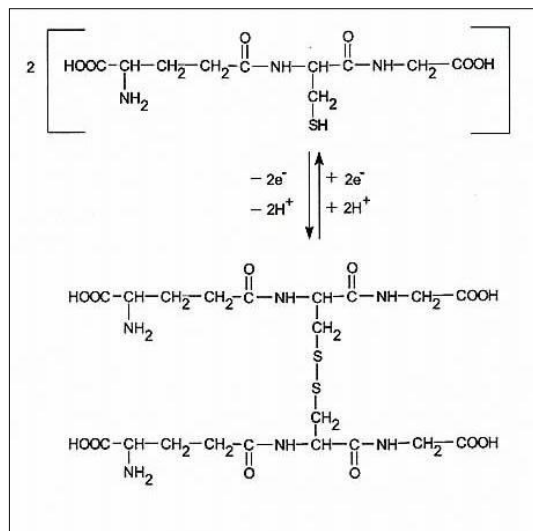
- Naprosto nezbytné pro život s kyslíkem
- SOD1: Cu+Zn (cytosol)
- SOD2:
 - Mn (mitochondriální matrix)
 - Fe (prokaryotická)
- EC-SOD: extracelulární, Cu+Zn,
 - MW 135000, vazba na heparansulfát na povrchu cévního lumen

Glutathionperoxidasy (GPX)

- Redukce peroxidů spojená s oxidací glutathionu:
$$2 \text{GSH} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{GS-SG} + 2 \text{H}_2\text{O}$$
(glutathion je následně regenerován glutathionreduktasami)
- Obsahují selenocystein v aktivním místě
- Cytosolová glutathionperoxidasa:
 - redukuje H_2O_2 a LOOH po uvolnění z fosfolipidů
- Fosfolipidhydroperoxid-GSH-peroxidasa:
 - redukuje LOOH i v membránách

Glutathion (GSH/GSSG)

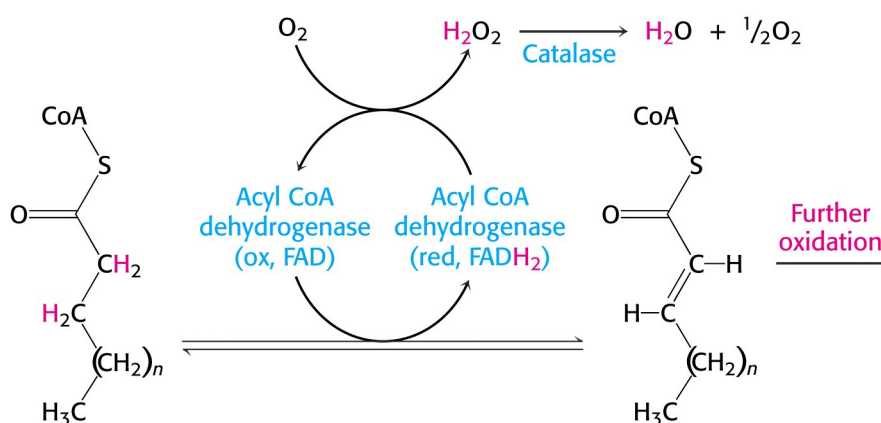
- tripeptid, v každé buňce 1-10 mM
- udržuje redukční prostředí ICT
- substrát pro GPX, GST
- neenzymové reakce s ROS... produkty oxidace GSH jsou toxické pro buňku
- při oxidačním stresu export GSSG z buňky

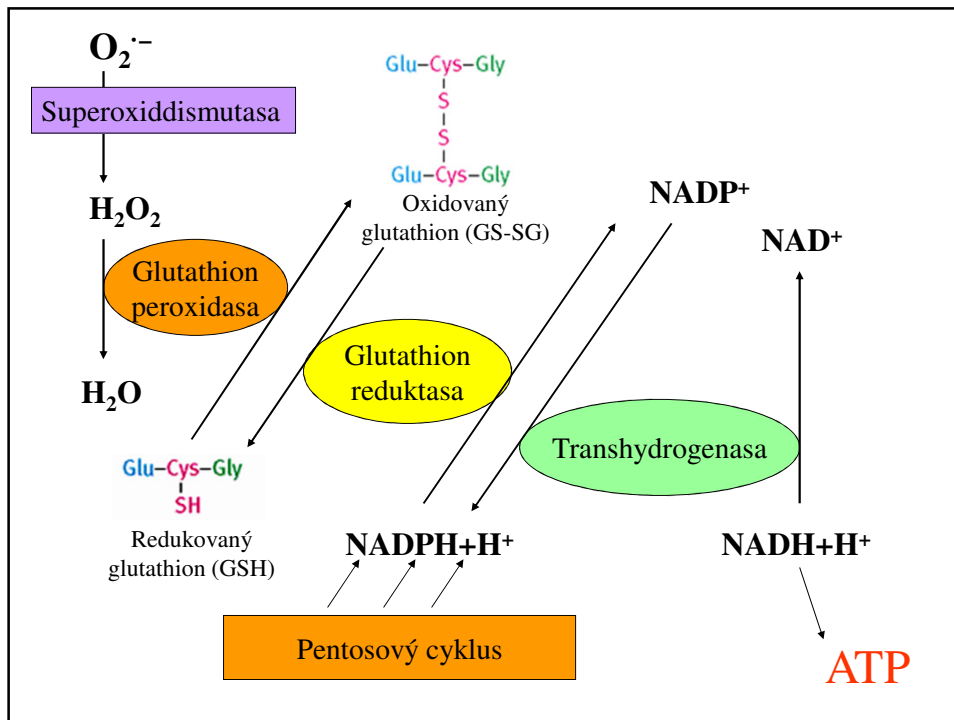


Katalasa

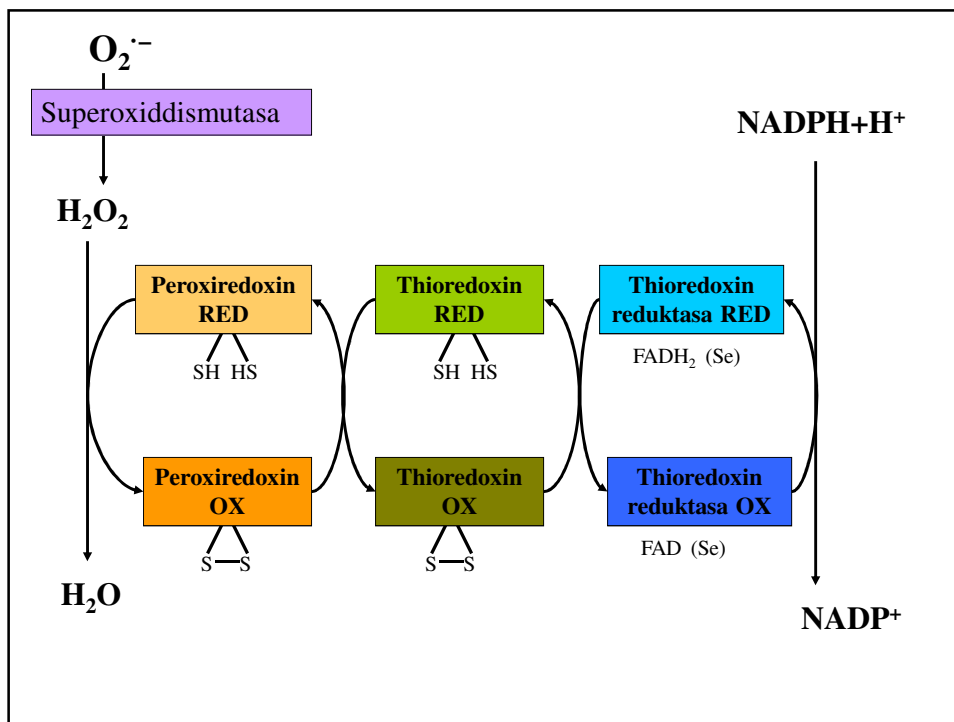
- Tetramer, každá podjednotka obsahuje hem s Fe
- Dismutace peroxidu vodíku:
 $2 \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$
- Peroxisomy, erytrocyty
- Těž peroxidasaová aktivita:
 $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{ROOH} \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{ROH} + \text{O}_2$
(ve srovnání s GPX nevýznamná)

Oxidace dlouhých mastných kyselin v peroxisomech:



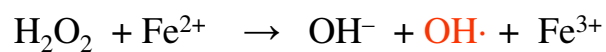


Základní systém pro odstraňování peroxidu vodíku v lidském těle není glutathionperoxidasa, ale:
Peroxiredoxin/thioredoxin



Antioxidační ochrana III Sekvestrace železa a mědi

- Redoxně aktivní přechodné kovy (Fe, Cu) přijímají/dávají jeden elektron snadno
 - ... obcházejí spinovou restrikcí kyslíku
 - ... kovy jsou v aktivních centrech všech proteinů pracujících s kyslíkem
- Ale, tytéž vlastnosti Fe, Cu jsou škodlivé pokud nejsou kontrolovány
 - Fentonova reakce:



oxidativní poškození biomolekul

Antioxidační ochrana III

Sekvestrace železa a mědi

- Proteiny zacházející s železem a/nebo mědí:
 - **transferin**: váže 2 atomy Fe^{3+} (transport)
 - **laktoferin**: analogický transferinu, ale Fe neuvolňuje (... jen sekvestrace), leukocyty
 - **feritin**: H a L podjednotky, H je ferroxidasa, skladování Fe (až 4500 atomů Fe^{3+})
 - **haptoglobin**: váže hemoglobin v cirkulaci
 - **hemopexin**: váže hem v cirkulaci
 - **ceruloplasmin**: obsahuje Cu, funkce: ferroxidasa (export Fe z buněk)
 - **albumin**: transport Cu

Superoxid Peroxid ICT	Fe/Cu	Superoxid Peroxid	Fe/Cu ECT
Superoxiddismutasa Glutathionperoxidasa Katalasa		<i>Antioxidační enzymy & hladiny glutathionu velmi nízké</i>	
Glutathion Tokoferol Askorbát		Tokoferol Askorbát Karotenoidy, kyselina močová, albumin, glukosa, bilirubin...	
Redoxně aktivní Fe přítomno (LIP, labile iron pool')		Sekvestrace železa a mědi: - transferin, laktoferin - hemopexin - haptoglobin - ceruloplasmin (ferroxidasa) - Cu vázáno na albumin	

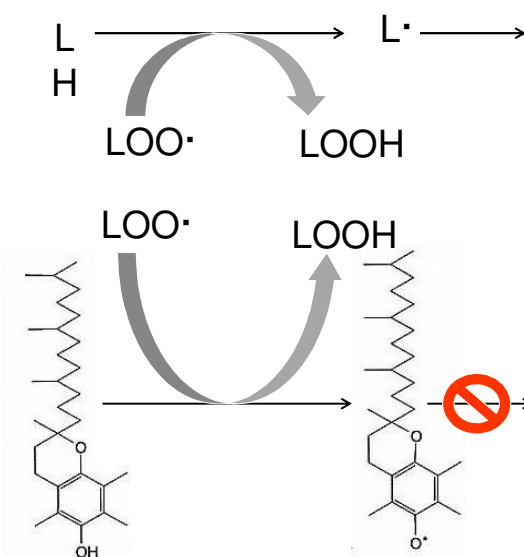
Antioxidační ochrana IV

Nízkomolekulární antioxidační substráty

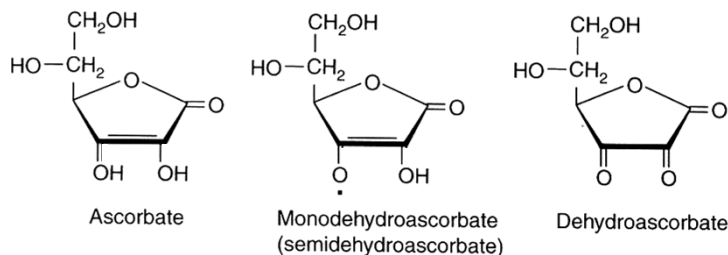
- ENDOGENNÍ:
 - Glutathion
 - Bilirubin
 - Kyselina močová
- Z DIETY:
 - Askorbát (Vitamín C)
 - α -Tokoferol (Vitamín E)
 - Karotenoidy
 - Rostlinné fenoly

Tokoferoly (Vitamín E)

- skupina 8 isomerů, nejúčinnější α -tokoferol
- antioxidant membrán (lipofilní)
- “chain-breaking” ... zastavuje řetězovou reakci lipoperoxidace



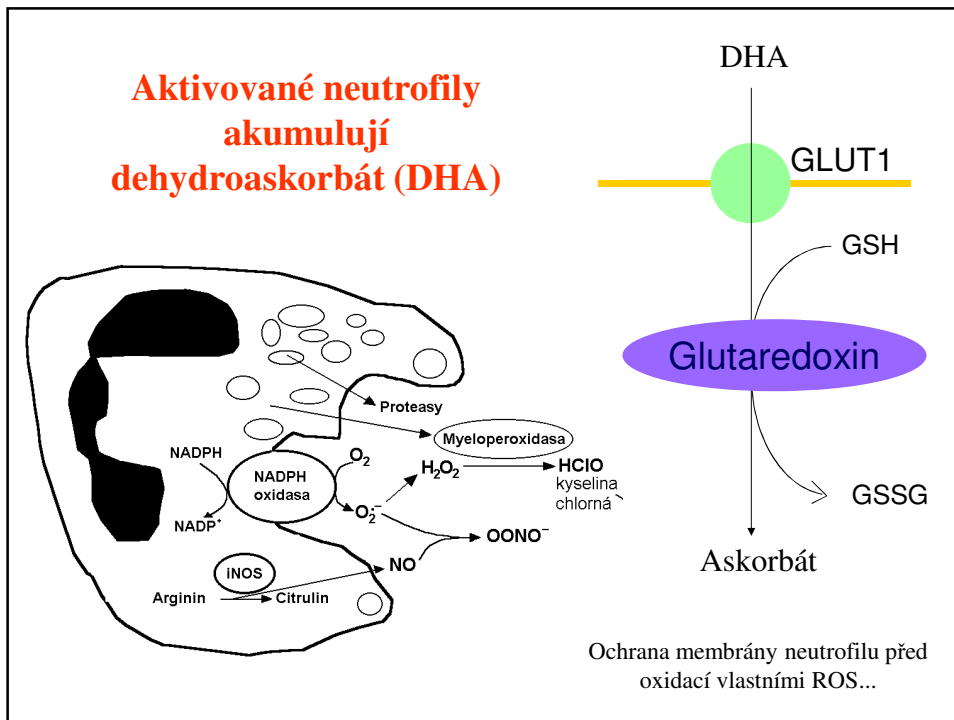
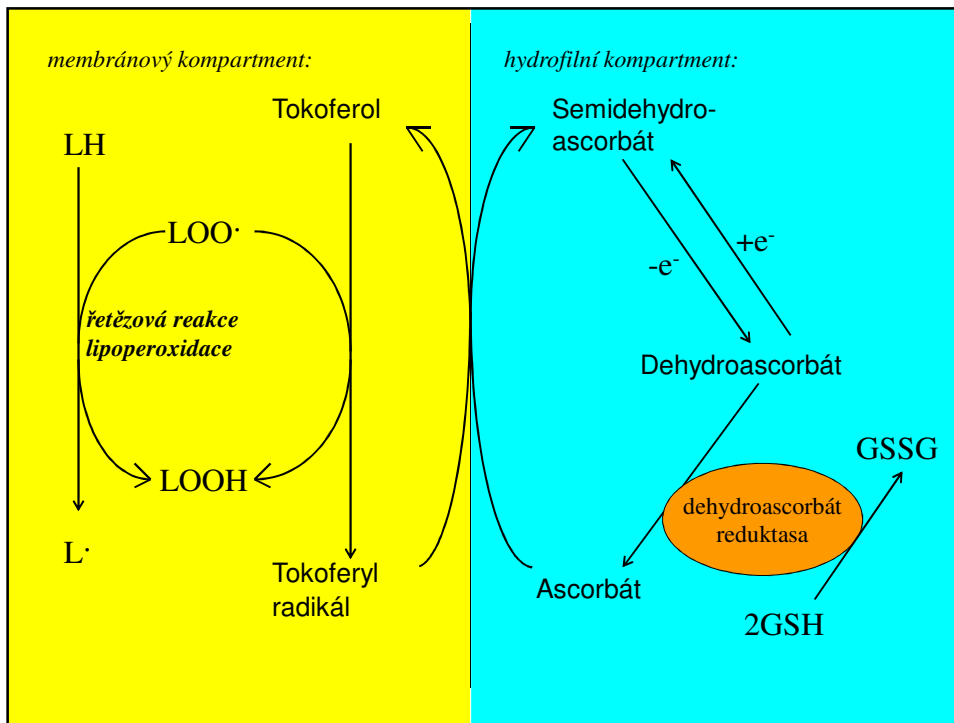
Askorbát (Vitamín C)



- Redoxně aktivní derivát sacharidů
- U většiny živočichů syntetizován z kyseliny glukuronové
- Pro člověka, primáty, netopýry a morčata vitamín
- Deficit způsobuje onemocnění zvané kurděje (skorbut)

Askorbát v těle:

- Hlavní funkce je pro-oxidační: kofaktor hydroxylas
 - Hydroxylace Pro a Lys při syntéze kolagenu
 - Syntéza noradrenalinu z dopaminu
 - Syntéza karnitinu (... úloha v oxidaci tuků)
 - Aktivace hypotalamických peptidových hormonů amidací (CRH, GRH, oxytocin, vasopresin, substance P)
- Reduktant pro železo: podpora jeho vstřebávání
- Při poruše sekvestrace Fe (hemochromatosa) může být nebezpečný pro-oxidant
- Denní potřeba 70-100 mg, vyšší dávky p.o. se vyloučí močí (renální práh cca 200 mg/24 hod.)



- **Selen:**

- stopový prvek (denní potřeba 55 µg), možnost deficitu i intoxikace
- Součást řady antioxidantních enzymů (glutathionperoxidasy, thioredoxinreduktasy) a také např. 5'-dehydrogenasy (T4→T3)

- **Karotenoidy:**

- β-karoten (provitamin A) je prekursor pro syntézu:
 - Retinal ... vidění
 - Kyselina retinová ...regulátor genové exprese, růstu a diferenciace buněk
- Antioxidační ochrana kůže a oka

Rostlinné (poly)fenoly

- Tisíce látek (quercetin, resveratrol, katechiny...)
- Ovoce, zelenina, čaj, červené víno, sojová omáčka, káva, čokoláda, koření...
- Výborné antioxidanty (reduktanty) in vitro
- In vivo situace složitější:
 - Resorpce v trávicím traktu?
 - Konverze na jiné deriváty?
 - Další specifické biologické účinky?



Obr.: <http://www.justaboutskin.com>

Antioxidační ochrana V Stresová reakce

Oxidace nebo nitrosylace kritických -SH skupin



Transkripční faktory (NFκB, Nrf-2...):
aktivace, translokace do jádra



Indukce genové exprese:

- chaperony (heat shock proteiny)
- enzymy antioxidační ochrany
- metalothionein
- hemoxygenasa 1

... → vyšší odolnost vůči
dalšímu oxidačnímu stresu

**Regulovaná buněčná smrt jako
“extrémní antioxidační ochrana”?**

Volné radikály v patogenezi lidských onemocnění

- **Příčina chorobného stavu, např.:**
 - cancerogeneze v důsledku expozice ionizačnímu záření
 - retinopatie novorozenců (fibroplasia retrolentalis)
- **Významný podíl na patogenezi, např.:**
 - aterosclerosa
 - diabetes mellitus
 - hypertenze
 - některé typy rakoviny
 - mozkové trauma/hemoragie
 - ischemicko-reperfusní poškození srdce a jiných orgánů
 - Parkinsonova nemoc
 - Alzheimerova nemoc
 - stárnutí
- **Jen epifenomenon** (obecný důsledek tkáňového poškození)

Antioxidanty jako elixíry mládí ?

- Vitamín E (tokoferol)
- Vitamín C (askorbát)
- β -karoten
- Selen



Obr.: <http://www.osel.cz>

Antioxidační potravní doplňky mohou dokonce škodit !

- Velká meta-analýza celkové mortality v 68 studiích s podáváním antioxidačních potravních doplňků (232 606 účastníků, 385 publikací):
 - β -karoten, vitamín A a vitamín E signifikantně **zvyšují** mortalitu
 - Vitamín C a selen nemají vliv

(Bjelakovic G et al., JAMA 2007; 297: 842-857)

Proč antioxidanty nepomáhají nebo dokonce škodí ???

- Ve vyšších dávkách už nedělají nic
- Působí tam kde nemají
 - Inhibice stresové reakce
 - Brání boji proti infekci, nádorovým buňkám, oprávněné apoptose ?
- Mají i jiné účinky než antioxidační
 - tokoferoly: protizánětlivé
 - β -karoten: ko-karcinogen (dohromady s kouřením nebo environmenálními toxiny)



Dieta bohatá na ovoce a zeleninu (optim. 5x 80 g denně) je spojena s nižším rizikem kardiovaskulárních chorob, diabetu a některých typů rakoviny (plíce, ústa/hltan)

(ale nevíme proč)



HORMESIS

- Mírný stres (teplo, chlad, ozáření, ischemie, oxidanty...) zvyšuje odolnost k dalšímu stresu (...**co tě nezabije, to tě posílí**...)
- Mechanismy: adaptivní homeostáza/stresová reakce
- Příklad u lidí: **fyzická aktivita**
 - ↑ ROS → stresová reakce
 - ↓ ATP → stimulace biogeneze a obnovy svalových mitochondrií
 - ...