



JAGIELLONIAN UNIVERSITY
IN KRAKOW

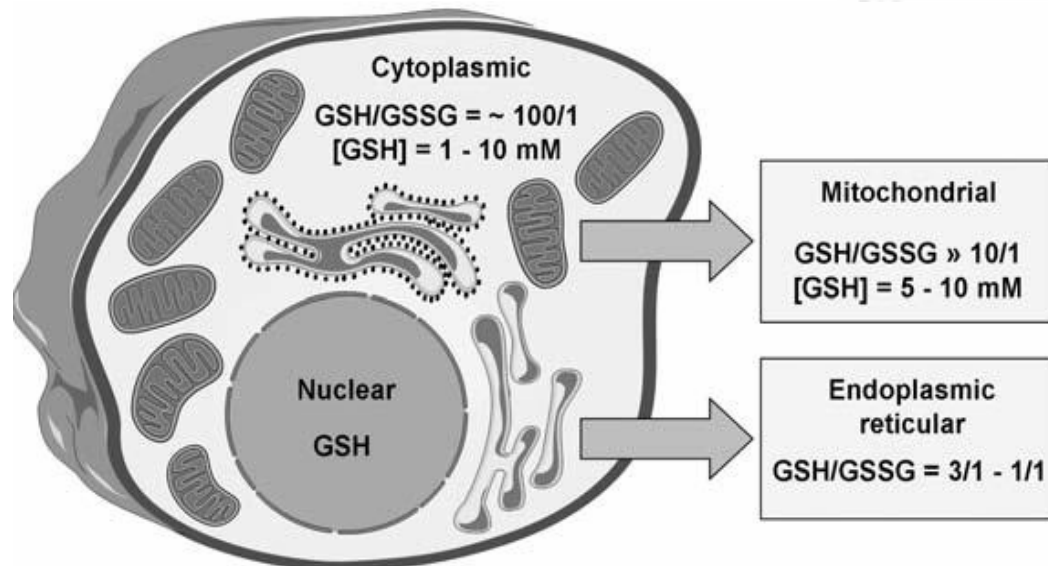
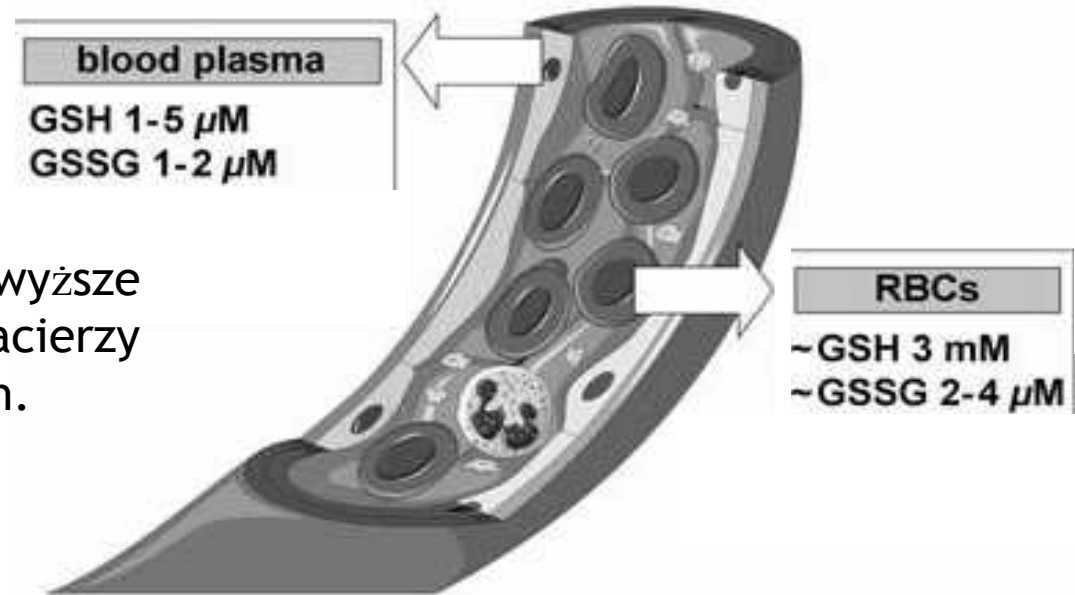
Biochemia stresu oksydacyjnego

Wykład 8
Metabolizm glutationu.
Antyoksydanty drobnocząsteczkowe.



Stężenia glutationu

- Stężenie glutationu jest znacznie wyższe w komórkach (w cytozolu i macierzy organelli) niż w płynach ustrojowych.



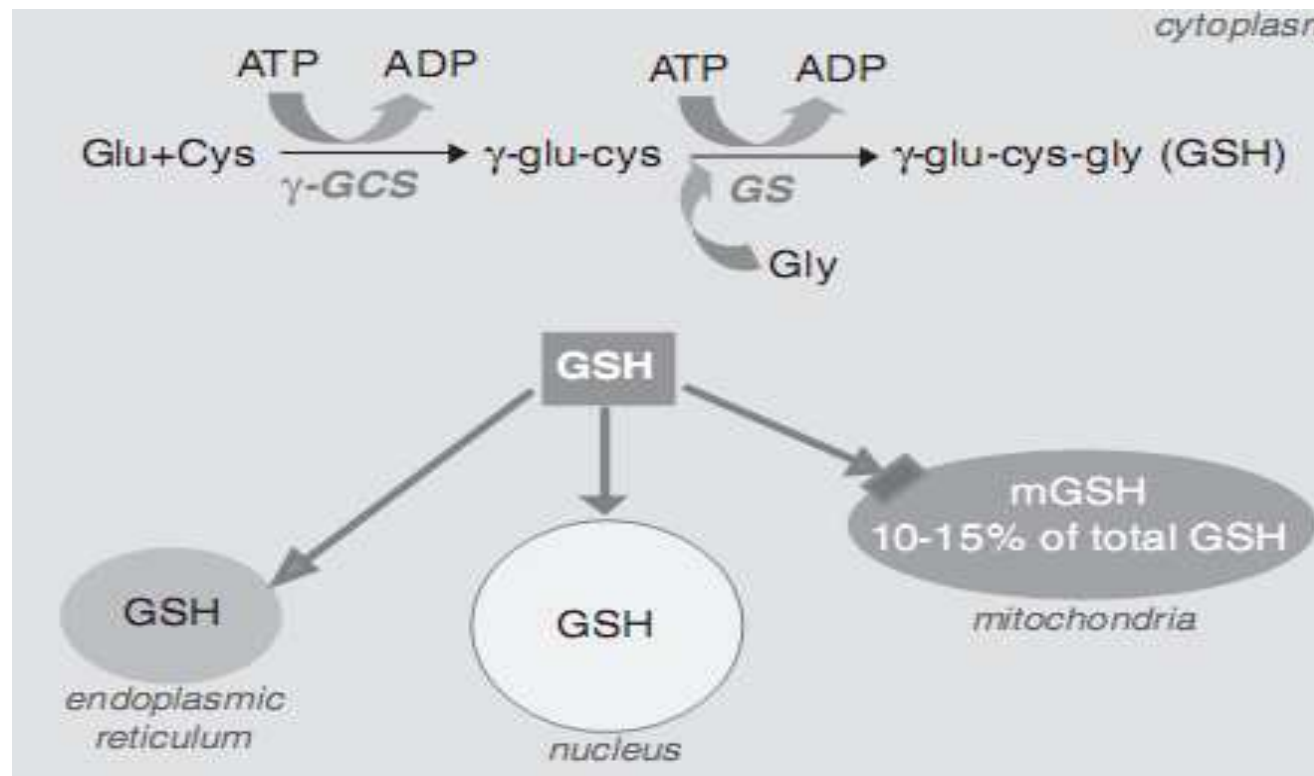
- Stosunek GSH:GSSG jest różny w poszczególnych kompartmentach komórki





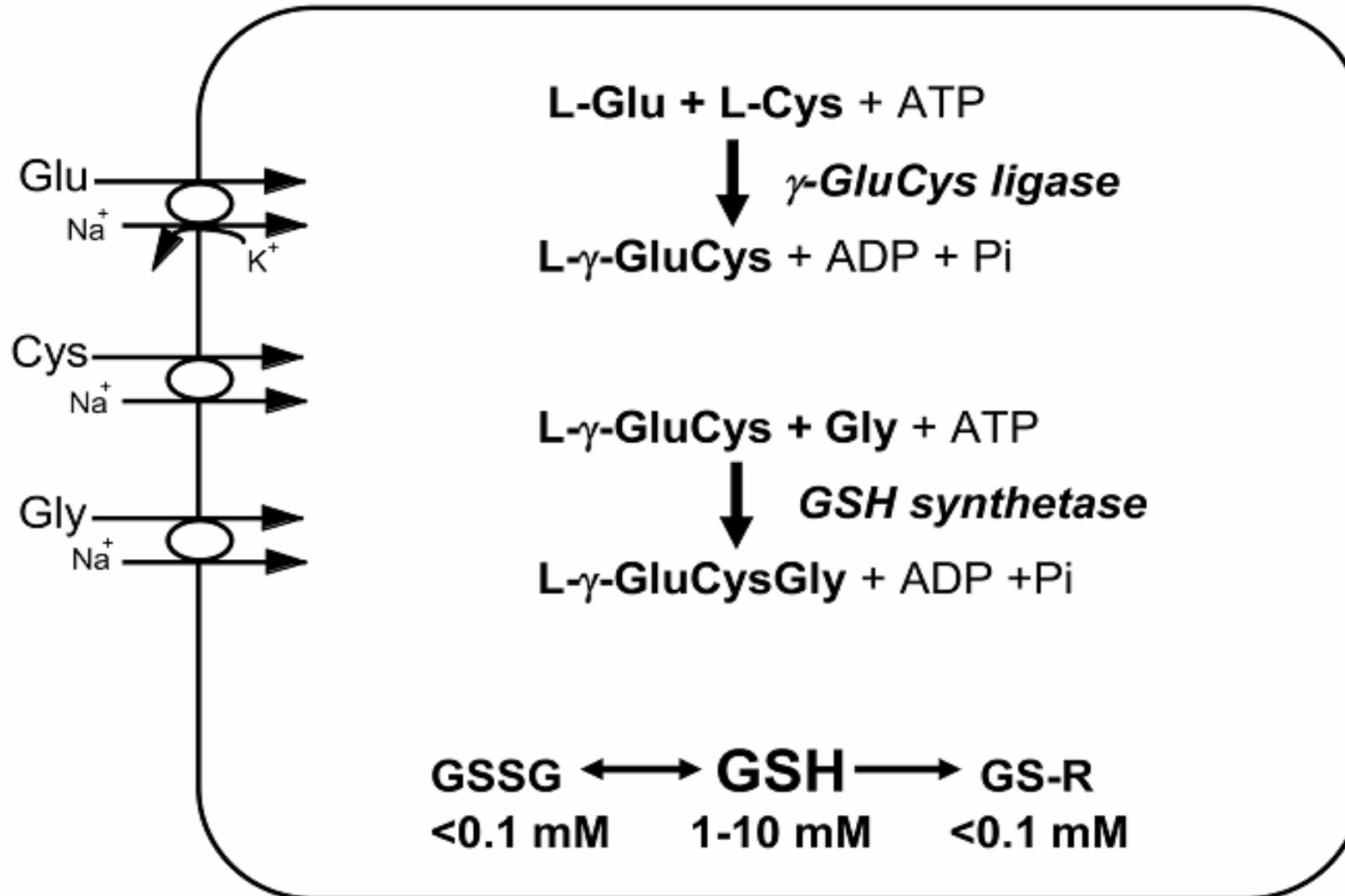
Glutation w komórce

- GSH syntetyzowany jest w cytoplaźmie, a następnie transportowany do mitochondriów i retikulum (przez nośniki oksoglutazarowe i dikarboksyłowe) oraz do jądra (pasywnie przez pory);
- Degradacja GSH zachodzi zewnątrzkomórkowo przy udziale GTT (γ -glutamylotranspeptydazy)



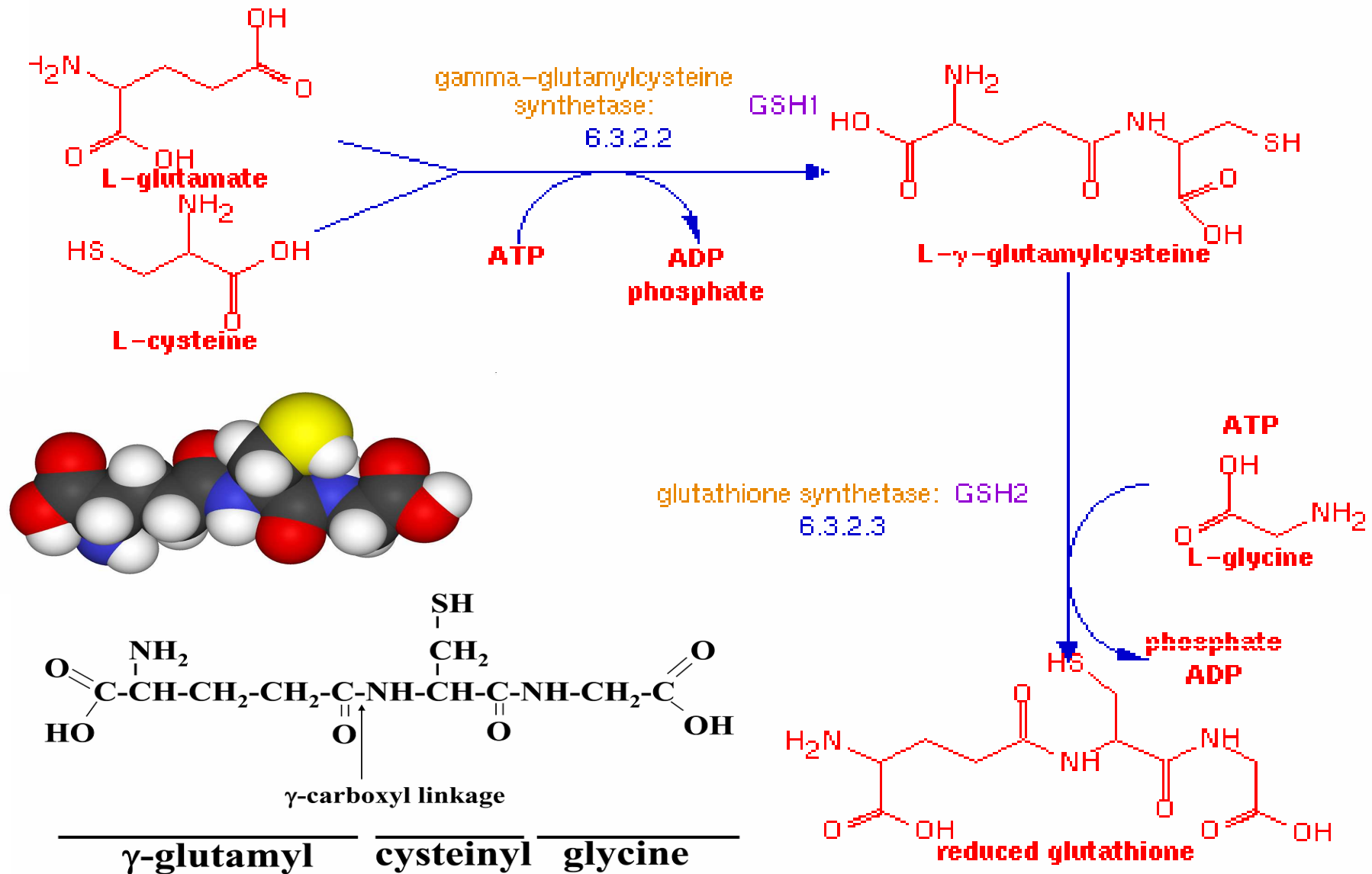


Synteza glutationu





Synteza glutationu





Syntetazy glutationowe

- Synteza glutationu obejmuje 2 etapy:

* Synteza γ -glutamyl-L-cysteiny jest katalizowana przez ligazę γ -glutamyl-L-cysteinową (**GCL**) i stanowi w wątrobie **etap regulujący szybkość procesu**.

* Przyłączenie glicyny do γ -glutamyl-L-cysteiny jest katalizowane przez syntetazę GSH

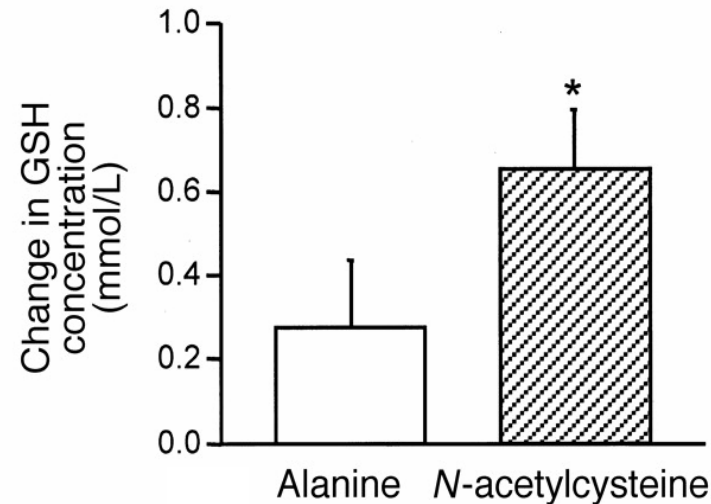
- Wydajność syntezy GSH zależy od:

* dostępności cysteiny (zależna od wydajności transportu przez błonę komórkową cysteiny, cystyny i metioniny)

* aktywności GCL

* w wątrobie - od wydajności metabolizmu metioniny, stanowiącej prekursor cysteiny

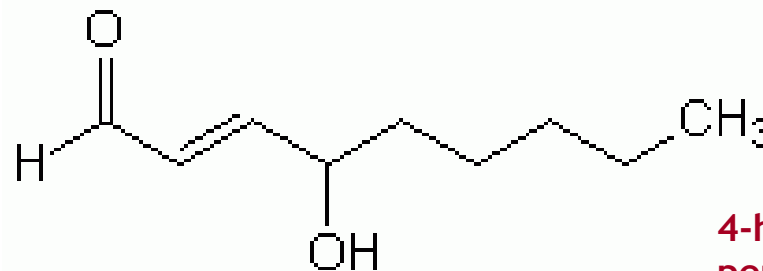
Suplementacja N-acetylocysteiną zwiększa poziom syntezy GSH w erytrocytach niedożywionych dzieci





Syntazy glutationowe

- GCL wymaga obecności Mg^{2+} lub Mn^{2+} . Jest heterodimerem składającym się z dwóch podjednostek kodowanych przez odrębne geny:
 - * katalitycznej (łańcuch ciężki, GCLC)
 - * regulatorowej (łańcuch lekki, GCLM)
- Regulacja aktywności GLC odbywa się na kilku poziomach:
 - * transkrypcji (np. indukcja przez Nrf2, HGF; hamowanie przez GSH)
 - * stabilności mRNA (np. stabilizacja przez 4-hydroksy-nonenal)
 - * proteolizy (hydroliza do krótszej, mniej aktywnej formy przez indukowna np. przez $TGF\beta$)
- Syntetaza GSH jest homodimerem. W wątrobie jej aktywność nie wpływa na poziom syntezy GSH. Być może w innych narządach jej ekspresja jest niewystarczająca i może stanowić czynnik ograniczający produkcję GSH.

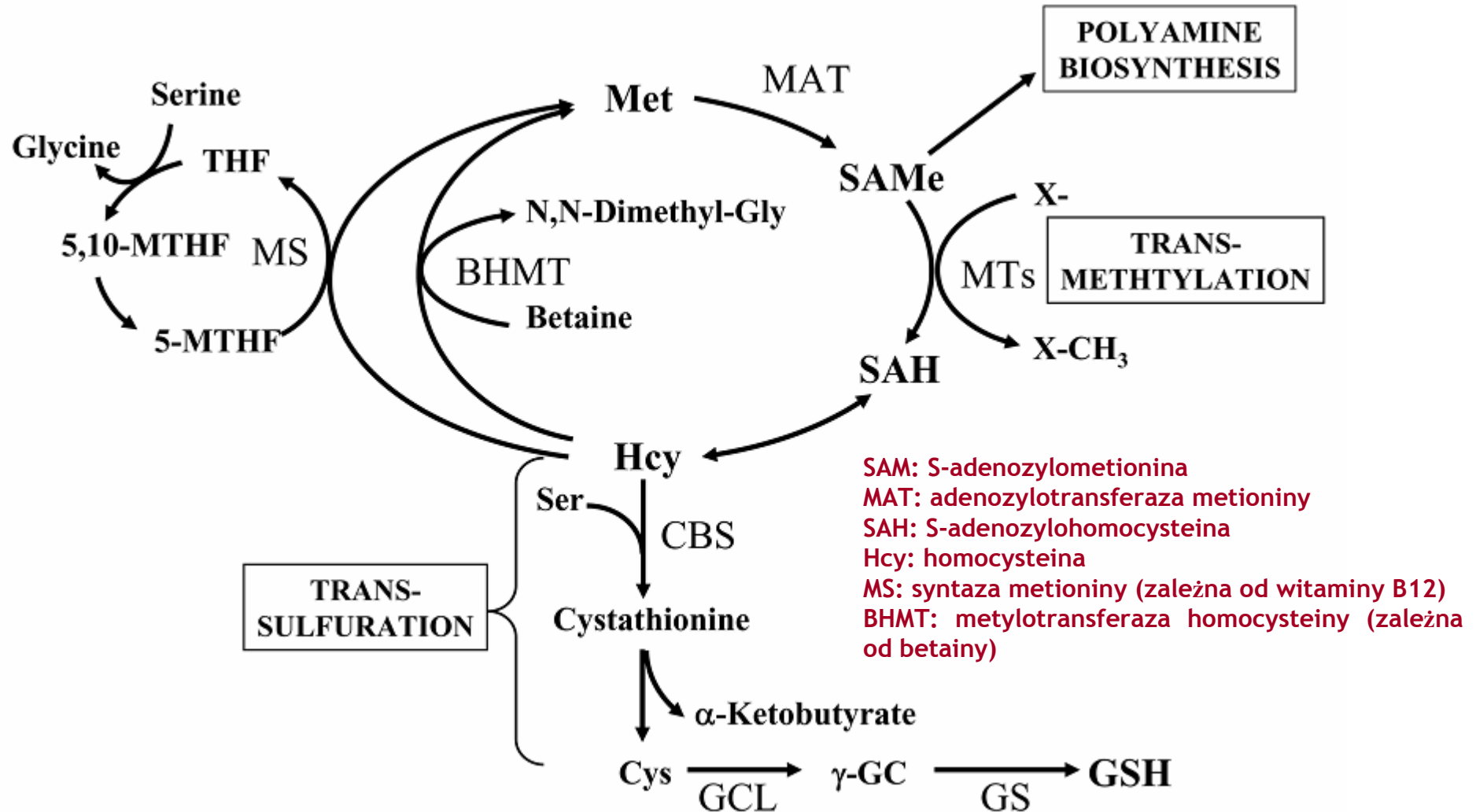


4-hydroksynonenal (produkt i marker peroksydacji lipidów)





Synteza glutationu w wątrobie



THF: tetrahydrofolian

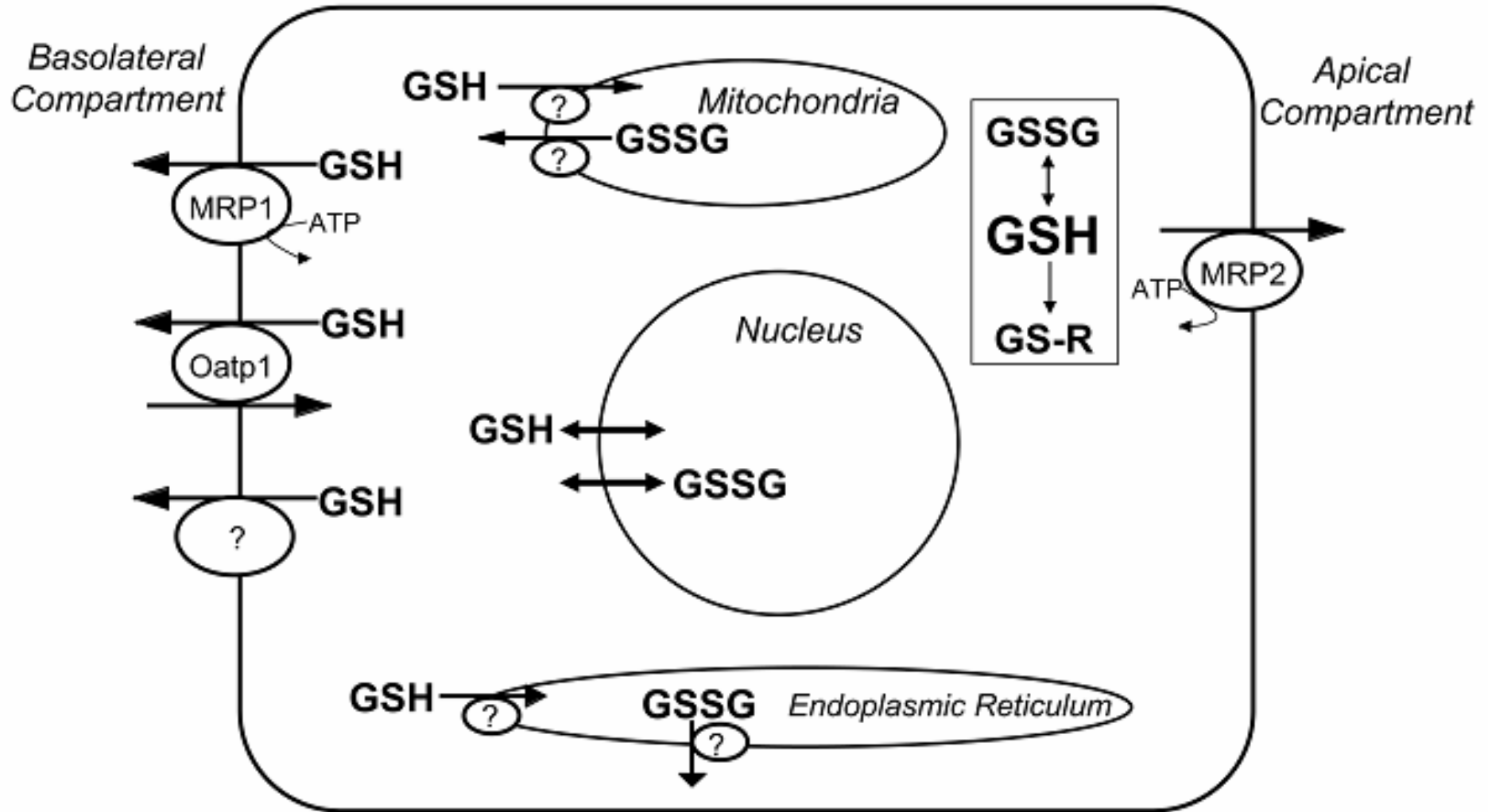
MTHF: metylenotetrahydrofolian

CBS: β -syntaza cystationiny (zależna od witaminy B6)





Transport GSH w obrębie komórki



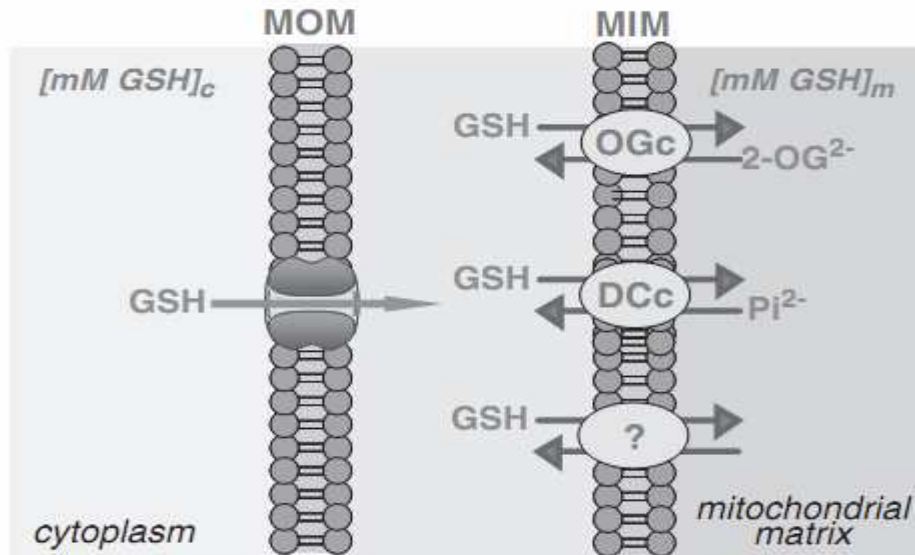
MRP: multidrug resistance-associated protein; Oatp: organic anion transporting polypeptide





GSH w mitochondriach

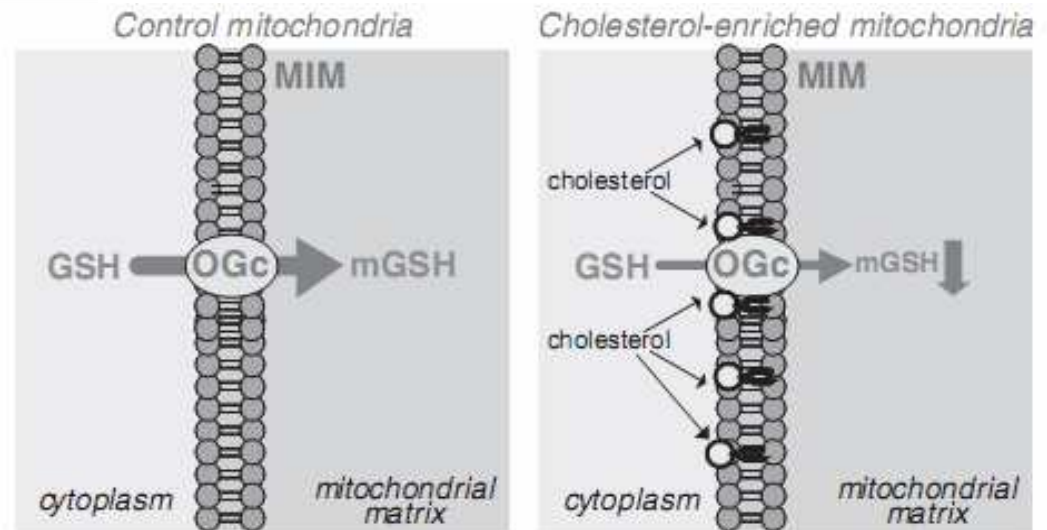
Mitochondrial GSH transport



- GSH przemieszcza się łatwo przez zewnętrzną błonę mitochondrialną (MOM), ale przez błonę wewnętrzną (MIM) musi być przenoszony aktywnie przez nośniki:

- * DCc (nośnik dwukarboksylowy)
- * OGc (nośnik oksogluutaranowy)

- Zmniejszenie płynności błony (wzrost stosunku cholesterol/fosfolipidy) np. u alkoholików utrudnia transport GSH przez nośnik oksogluutaranowy i zmniejsza poziom mitochondrialnego GSH

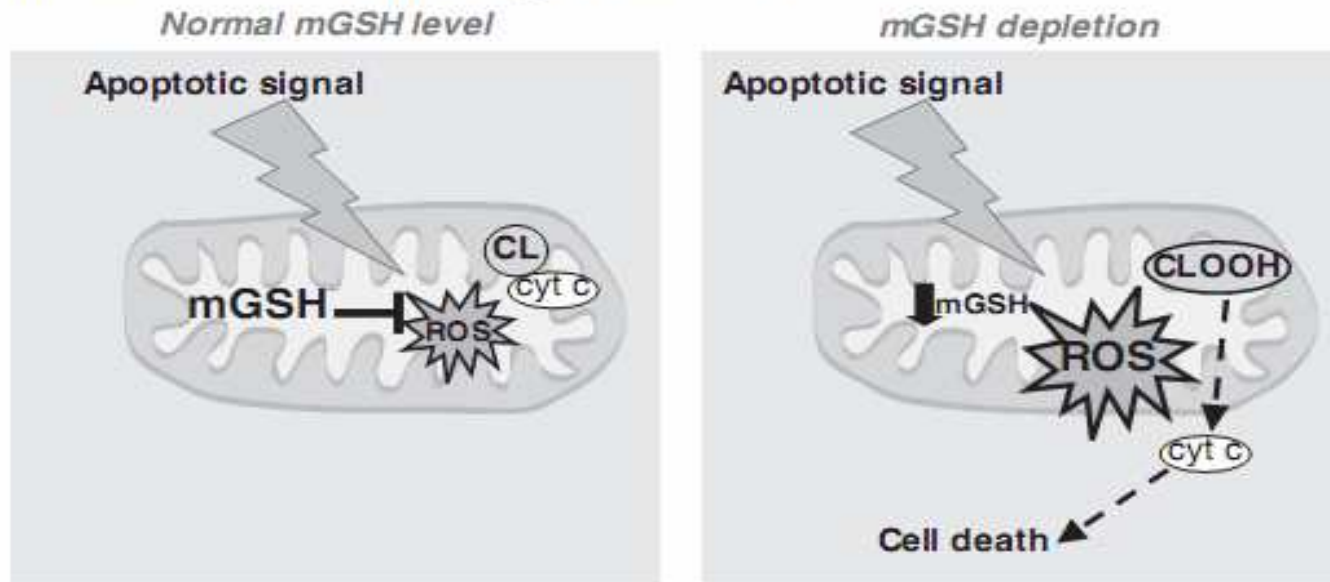




GSH w mitochondriach

- Spadek poziomu mitochondrialnego GSH prowadzi do utlenienia kardiolipiny i w konsekwencji indukuje apoptozę.
- Kardiolipina jest fosfolipidem występującym wyłącznie w mitochondriach, kluczowym dla utrzymania właściwości błon mitochondrialnych (zwłaszcza MIM). W błonie połączona jest z cytochromem c. Utlenienie kardiolipiny prowadzi do uwolnienia cytochromu c.

mGSH controls cardiolipin oxidation





GSH i apoptoza

Too much apoptosis:

GSH Levels

Neurodegenerative disorders

Parkinson's Disease

Low

Alzheimer's Disease

Low

Ischemic

Myocardial Infarction

Low

Immune

AIDS

Low

Rheumatoid Arthritis

Low

Insulin-dependent diabetes mellitus

Low

Multiple Sclerosis

Low

Too little apoptosis:

GSH Levels

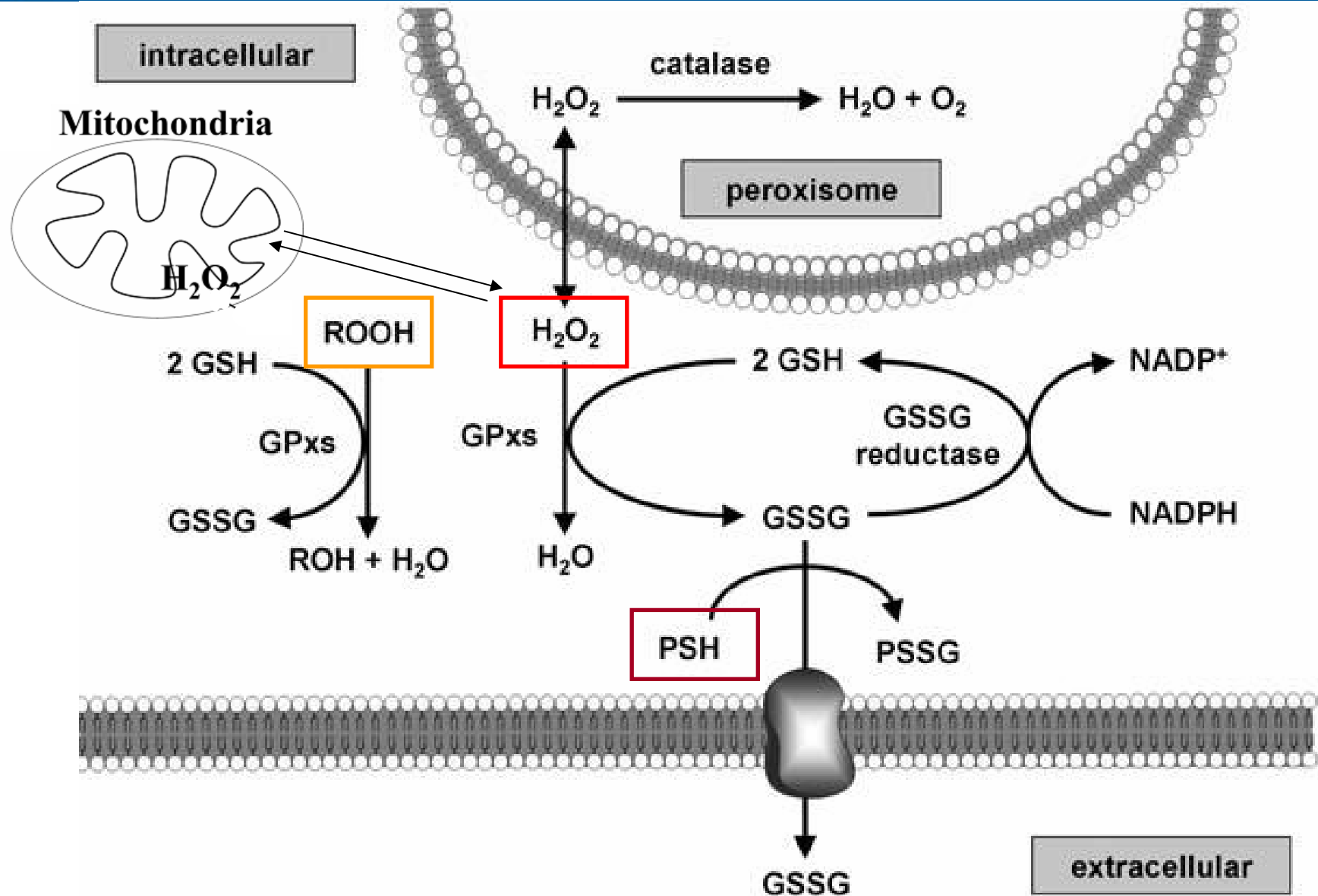
Cancer

High





Antyoksydacyjne działanie glutationu





Modyfikacje oksydacyjne białek

- Modyfikacje mogą zmieniać funkcje białek zawierających cysteiny w centrach aktywnych lub w miejscach regulatorowych
- Większość modyfikacji jest odwracalna. Mogą tworzyć się:
 - * w obrębie jednej cząsteczki (zmiany konformacyjne)
 - * między cząsteczkami (agregacja)
- Wiązania są redukowane przez:
 - * tioredoksyny
 - * glutaredoksyny
 - * peroksyredoksyny



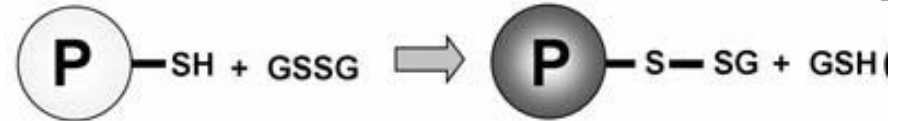
często nieodwracalne uszkodzenia oksydacyjne



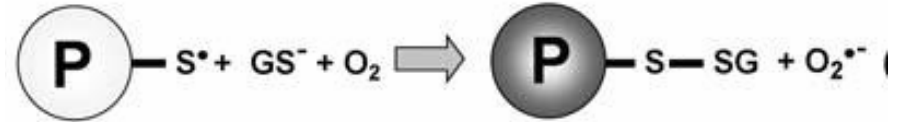


S-glutathionylacja białek: możliwe mechanizmy

reakcja reszty sulfhydrylowej z GSSG

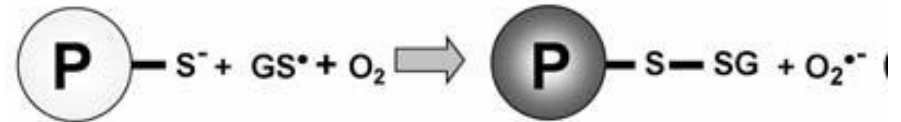


reakcja aktywowanej grupy tiolowej białka z GSSG

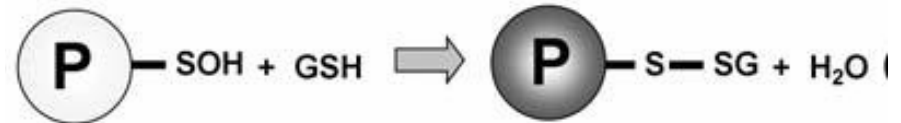


reakcja wolnorodnikowa lub utlenianie jednoelektronowe

reakcja grupy tiolowej białka z aktywowanym GSSG



reakcja pochodnej sulfenowej białka (wynik utlenienia dwuelektronowego grupy -SH) z GSH



reakcja grupy S-nitrozowej z GSH



reakcja grupy sulfhydrylowej z S-nitrozotiolami



reakcja grupy sulfhydrylowej z kwasem sulfinowym



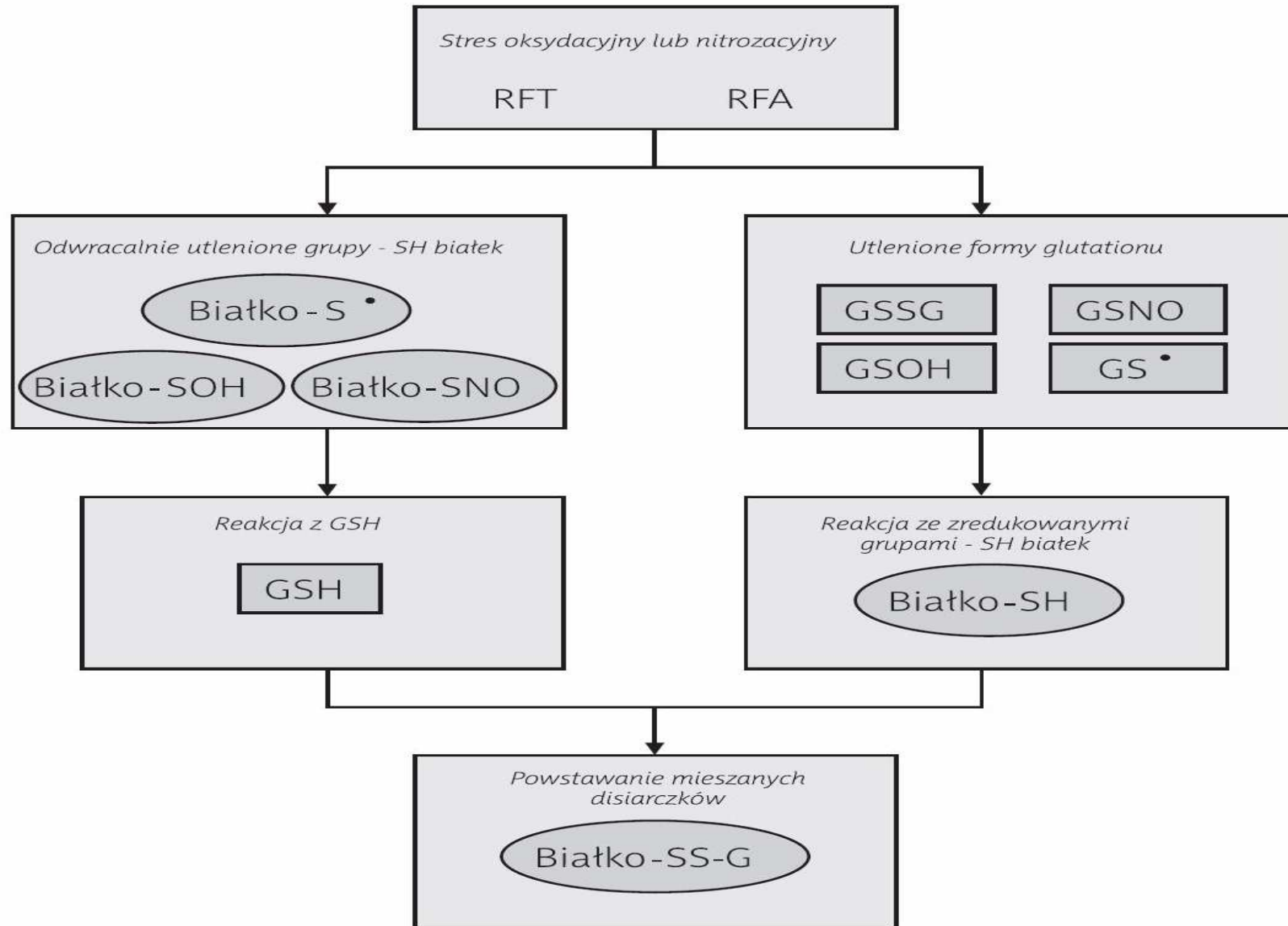
protein with reduced
cysteinyl thiol

S-glutathionylated
protein





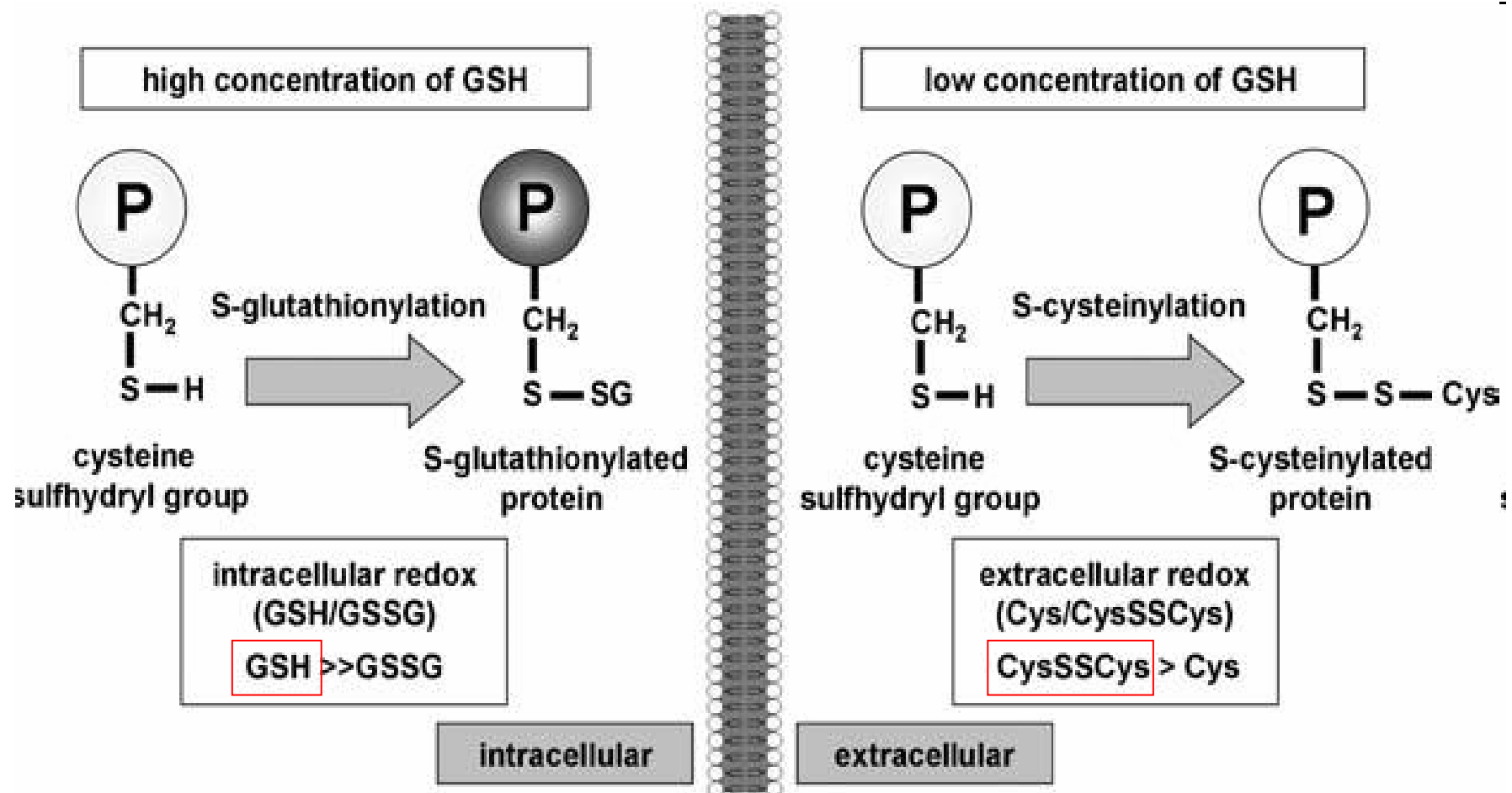
S-glutathionylacja białek





Glutation wewnątrz- i zewnątrzkomórkowy

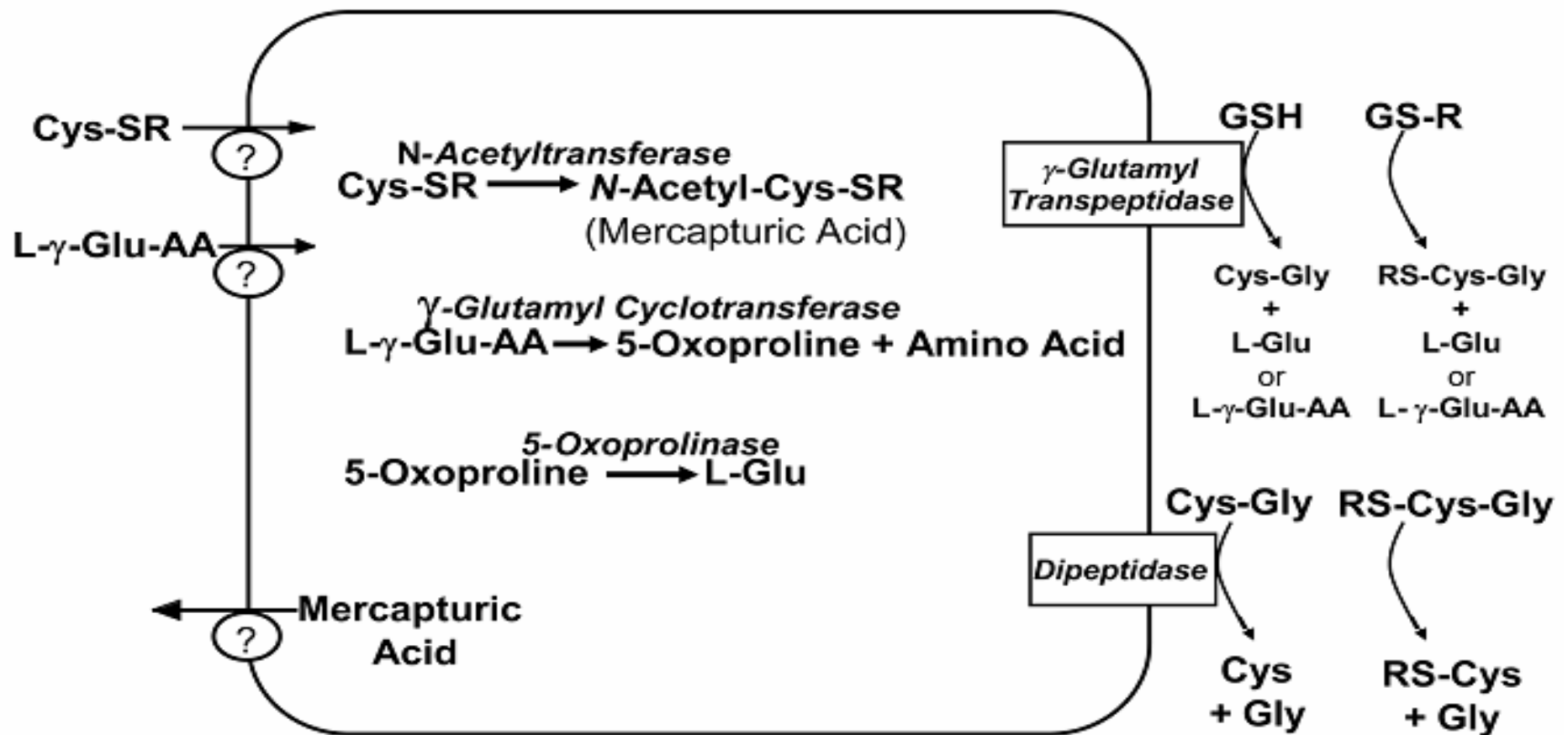
- W cytoplaźmie dominuje glutationylacja, a w płynach ustrojowych cysteinyłacja





Degradacja glutationu

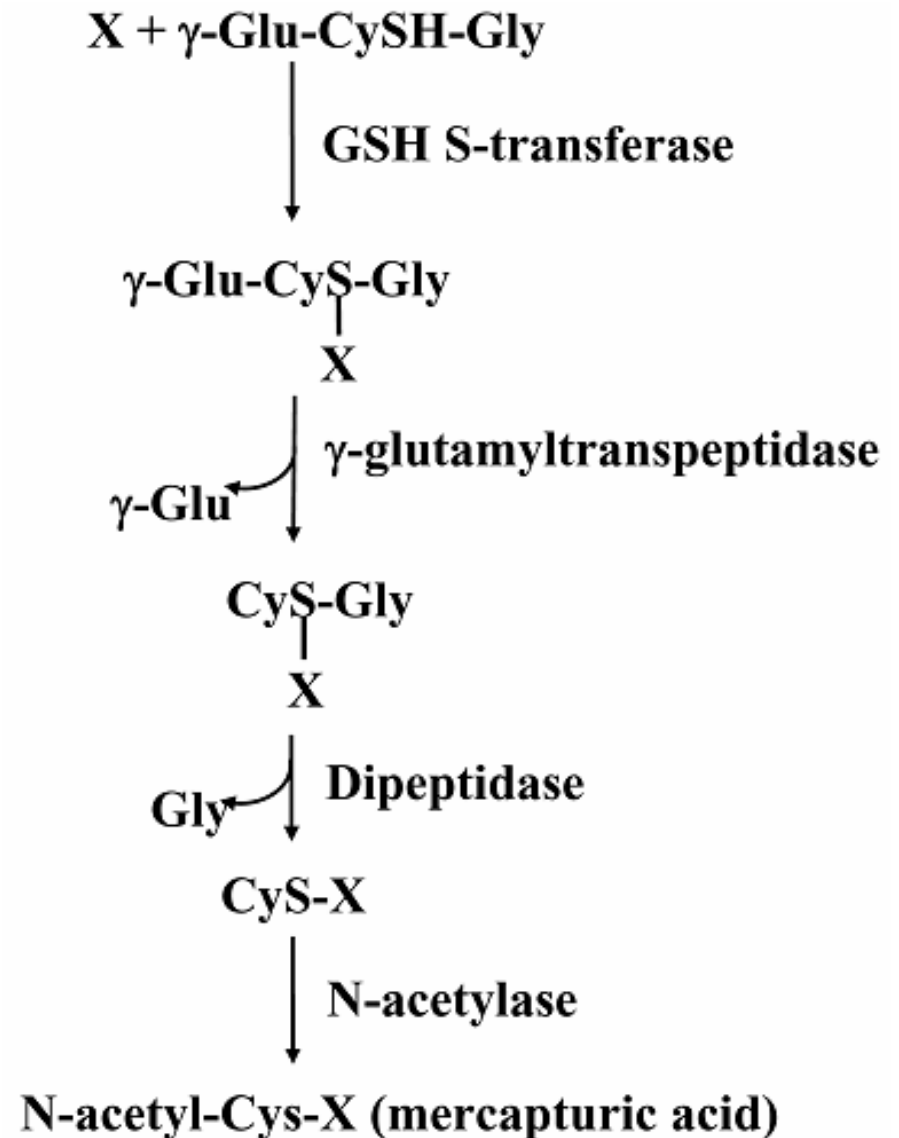
- Wiązanie między resztą γ -karboksylową glutaminianu i cysteiną jest hydrolizowane jedynie przez γ -glutamylotranspeptydazę (GGT), obecną na powierzchni komórek. Dlatego glutation jest oporny na degradację wewnątrz komórek, a metabolizowany jest wyłącznie zewnątrzkomórkowo.





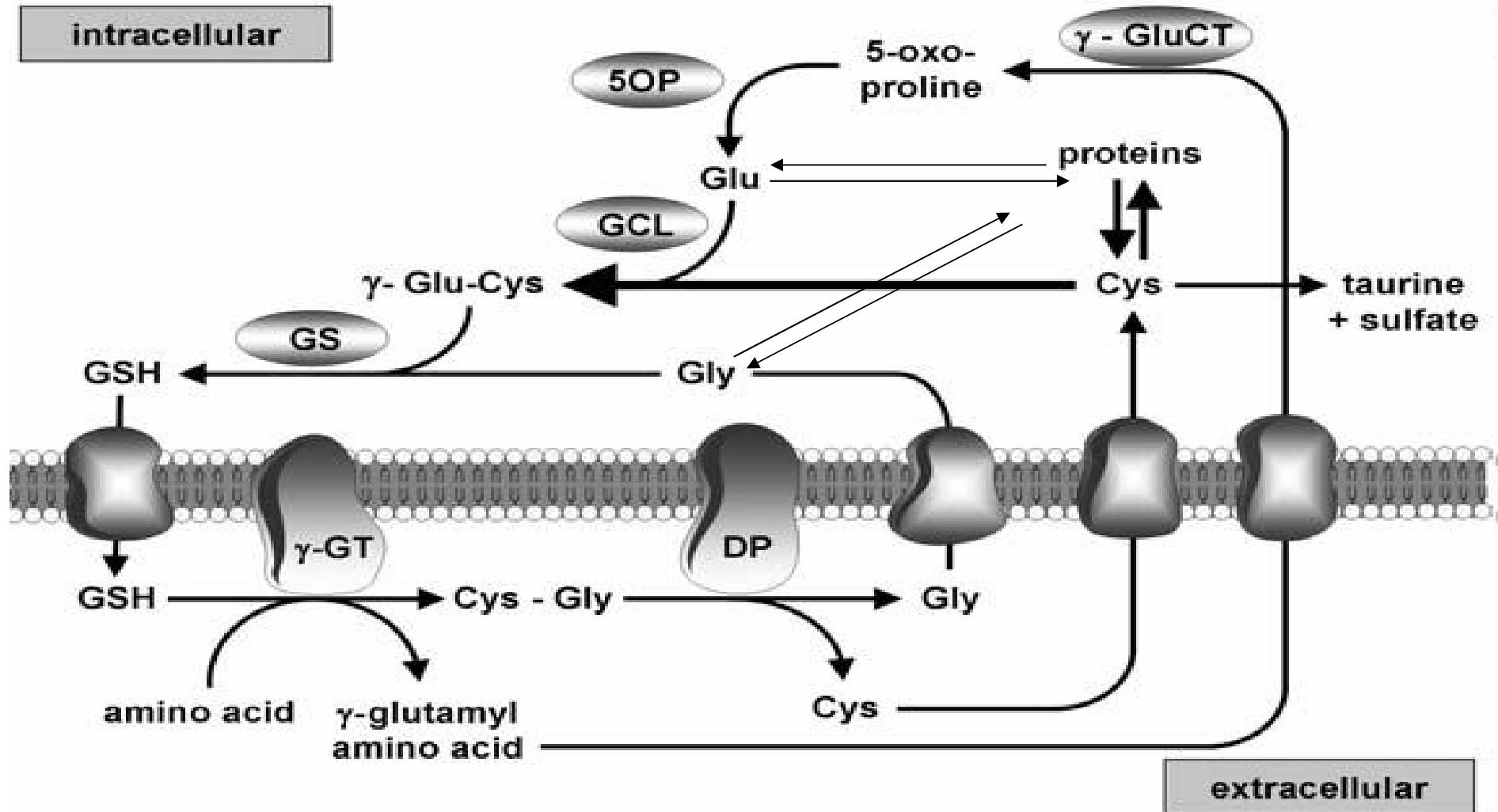
Glutation a detoksyfikacja ksenobiotyków

- Ksenobiotyk (X) lub endogenny związek elektrofilowy wiąże się z GSH spontanicznie lub pod wpływem S-transferazy glutationowej. Koniugaty są następnie usuwane z komórki (np. do żółci).
- Reszta γ -glutamylowa jest odcinana przez GTT, a pozostała cysteinyloglicyna jest rozkładana przez dipeptydazy, uwalniając koniugaty cysteinyłowe.
- Koniugaty cysteinowe są N-acetylowane przez N-acetylazę tworząc kwas merkapturowy.
- Tworzenie koniugatów z elektrofilami nieodwracalnie zużywa wewnątrzkomórkowy GSH.



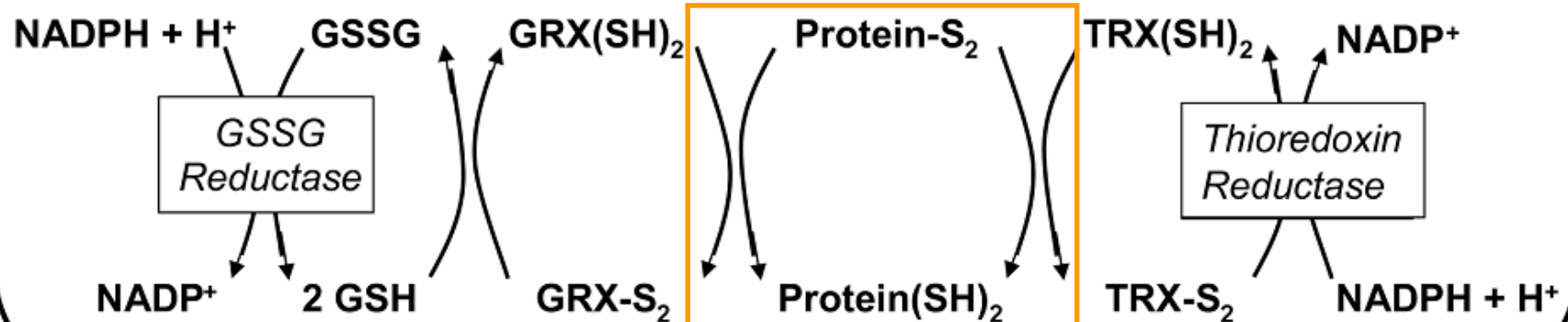


Degradacja glutationu





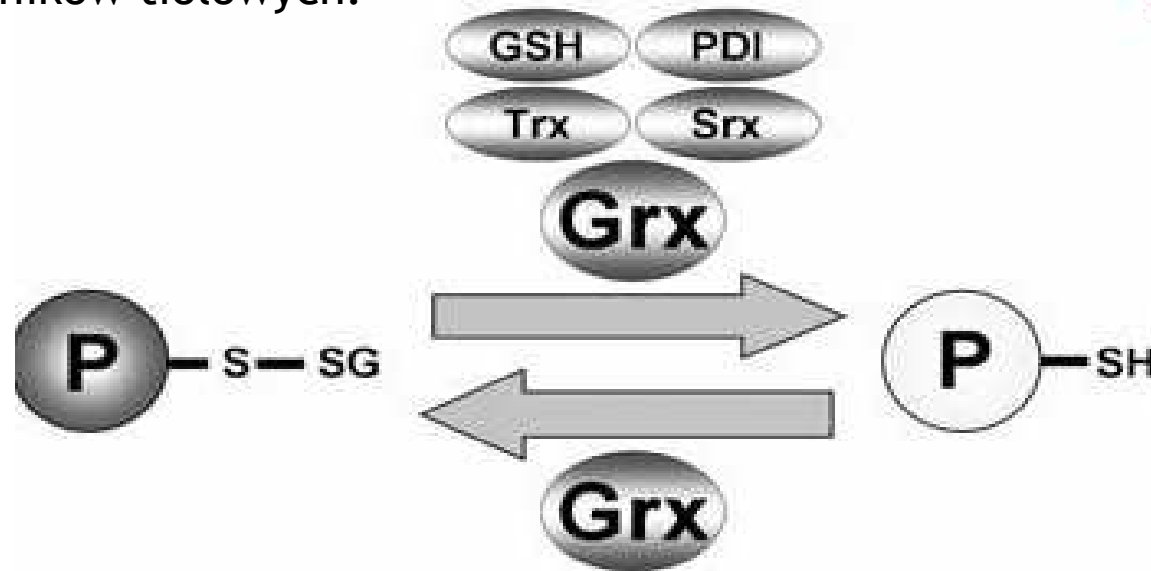
Reakcije glutationu





Deglutonylacja białek

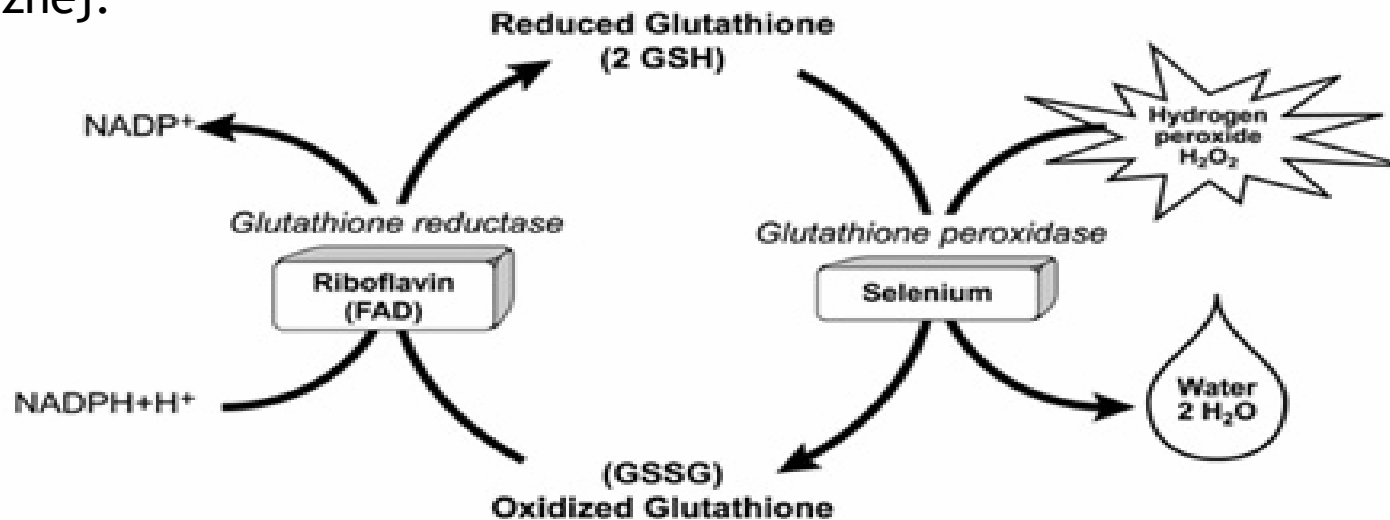
- Deglutonylacja białek (odtworzenie grup tiolowych) może zachodzić dzięki:
 - * bezpośredniej reakcji wymiany z GSH (po przywróceniu właściwego stosunku GSH:GSSG w komórce)
 - * reakcjom katalizowanym przez glutaredoksy Grx)/reduktazy glutationowe
 - * reakcjom katalizowanym przez tioredoksy (Trx)/reduktazy tioredoksynowe
 - * reakcjom katalizowanym przez izomeryzy dwusiarczkowe (PDI) i sulfiredoksy (Srx) - enzymy z rodziny tioredoksyn.
- Glutaredoksy mogą także katalizować S-glutonylację niektórych białek w obecności rodników tiolowych.





Reduktaza glutationowa (GR)

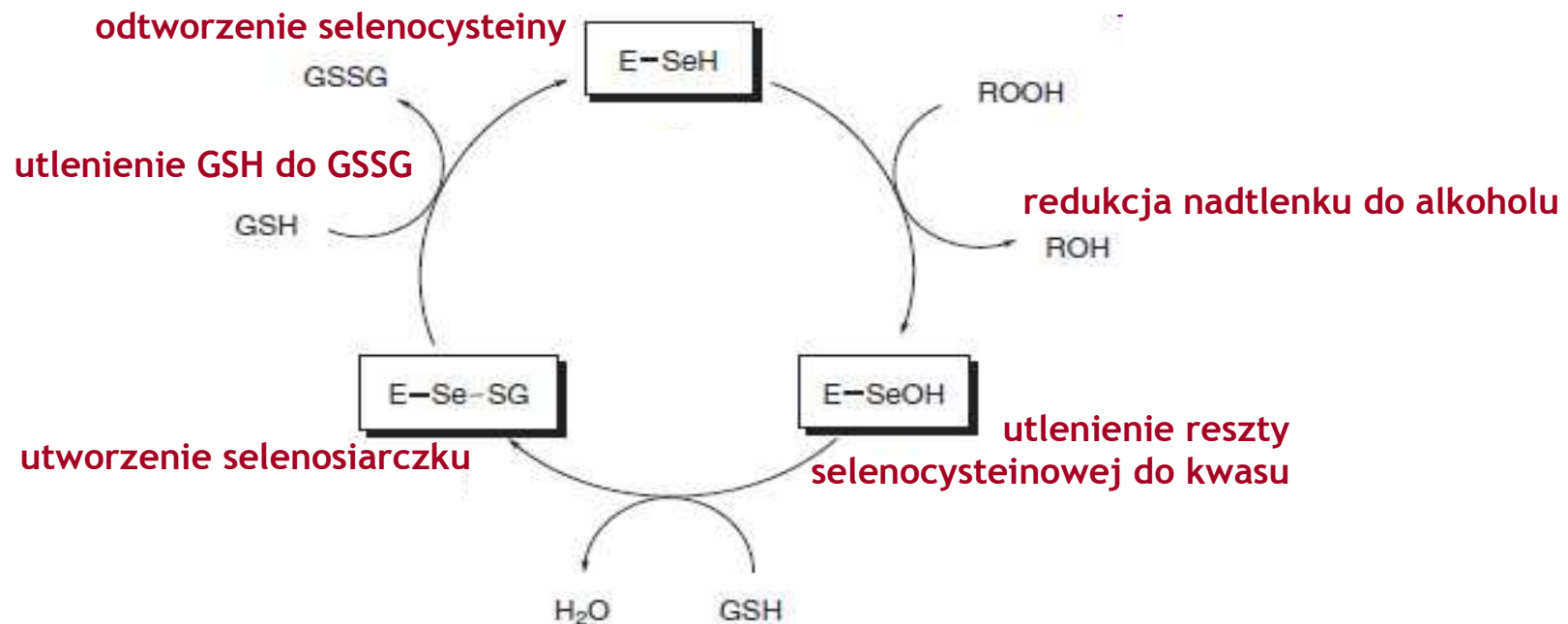
- Reduktaza glutationowa to homodimeryczna flawoproteina (52.4 kDa) wykorzystująca NADPH jako źródło elektronów. Monomery nie są aktywne enzymatycznie.
- Białko jest bardzo konserwatywne ewolucyjnie. Forma jądrowa i cytoplazmatyczna różni się na skutek wykorzystania różnych miejsc startu transkrypcji.
- Jej rola jest szczególnie istotna w erytrocytach, które chroni przed hemolizą. W przypadku niedożywienia niedobór ryboflawiny może prowadzić do spadku aktywności GR, a co za tym idzie nasilenia stresu oksydacyjnego i anemii hemolitycznej.





Peroksydazy glutationowe (GPx)

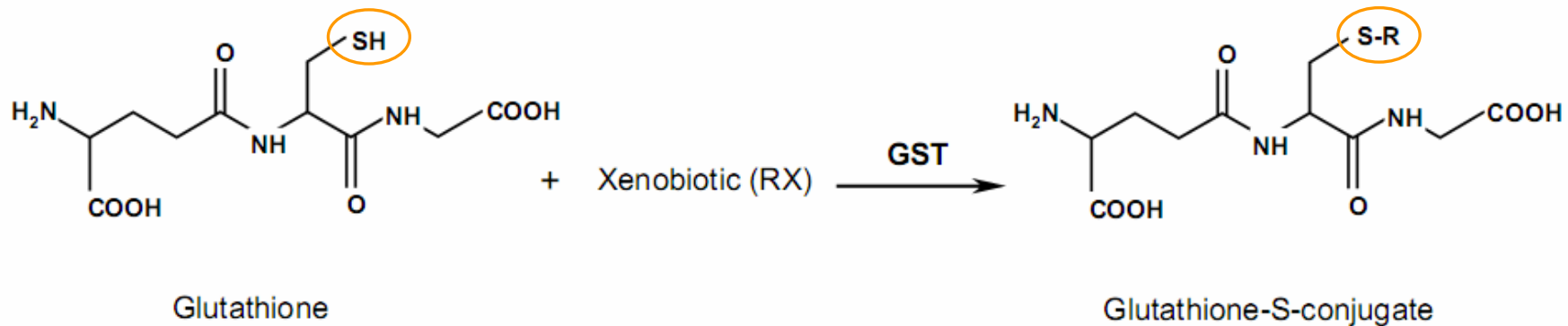
- Enzymy zawierające selen. W ich centrum aktywnym znajduje się analog cysteiny, w którym siarka została zastąpiona selenem.
- Spośród różnych izoform GPx, **GPx1** jest głównym enzymem, zlokalizowanym przede wszystkim w cytozolu (jednak myszy GPx1 są żywotne). **GPx4** natomiast jest najważniejszym enzymem w ochronie błon komórkowych (myszy GPx4^{-/-} umierają w okresie płodowym, a GPx4^{+/-} są bardzo wrażliwe na stres oksydacyjny)
- Aktywność GPx jest stosunkowo niska w komórkach β -trzustki i nie jest nasilana (jak w innych typach komórek) przez wysoki poziom glukozy.





S-transferazy glutationowe

- Rodzina enzymów katalizujących tworzenie wiązań tioeterowych między ksenobiotykami (lub związkami endogennymi takimi jak prostaglandyny czy steroidy) a GSH.



- Znane są dwie podrodziny GST

- * Białka rozpuszczalne (dzielone na klasy A, K, M, Π, Σ, T, Z, Ω): dimery występujące głównie w cytoplazmie, ale także w jądrze, mitochondriach i peroksosomach.

- * Białka błonowe (MAPEG, membrane associated proteins in eicosanoid and glutathione metabolism): trimery odgrywające ważną rolę w metabolizmie kwasu arachidonowego. Wykazują też aktywność peroksydaz glutationowych, niezależną od selenu.





Tioredoksyny

- Tioredoksyna została opisana po raz pierwszy w 1964 roku jako donor wodorów dla reduktazy rybonukleotydowej u bakterii.
- Trx-1 to małe (12 kDa), powszechnie występujące wielofunkcyjne białko cytozolowe z pięcioma (u ssaków) aktywnymi resztami cysteinowymi. Występuje we wszystkich typach komórek. Dysfunkcja genu jest letalna dla embrionów.
 - * Bierze udział w transdukcji sygnału, wpływa na proliferację i apoptozę komórek.
 - * Może ulegać translokacji do jądra.
- Trx-2 jest małym (12.2 kDa) białkiem mitochondrialnym z dwoma aktywnymi resztami cysteinowymi. Dysfunkcja genu jest letalna dla embrionów.
 - * Jej aktywność hamuje uwalnianie cytochromu c z mitochondriów (hamuje apoptozę).
- Inni członkowi rodziny tioredoksyn:
 - * TRP-14 (Trx-related protein of 14 kDa) - białko cytozolowe, reaktywujące PTEN,
 - * TRP-32 (Trx-related protein of 32 kDa) - białko cytozolowe,
 - * Txl-2 (TRX-like protein-2) - białko związane z mikrotubulami nabłonka płucnego,
 - * TRX-80 - produkt modyfikacji posttranslacyjnej, 10 kDa fragment Trx-1,
 - * nukleoredoksyna (w jądrze) - wpływająca na aktywność NF κ B, AP-1, CREB,
 - * wiele białek w retikulum.



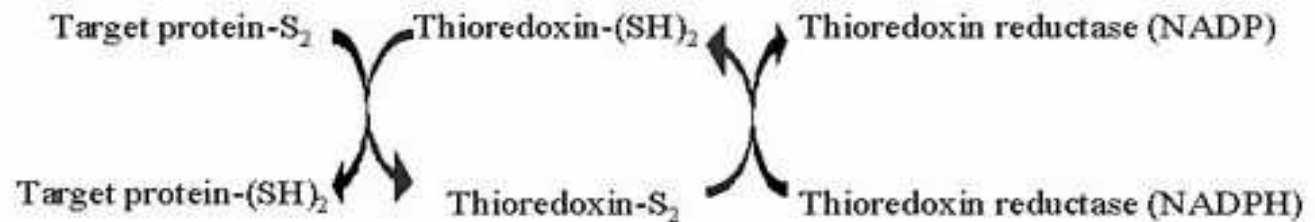


Reduktazy tioredoksynowe

- Białka tworzące homodimery. Znane są 3 formy (i kilka izoform splicingowych):
 - * TrxR1: białko cytozolowe,
 - * TrxR2: białko mitochondrialne,
 - * TGR: białko występujące jedynie w gonadach męskich.

- Centra aktywne reduktaz tioredoksynowych są bardzo podobne do centrów aktywnych reduktaz glutationowych. Ich substraty to między innymi:

- * Glutaredoksyny
- * GSSG,
- * H₂O₂,
- * lipoaminy,
- * alloksan.





Glutaredoksyny (Grx)

- Małe białka z rodziny tioredoksyn opisane w roku 1976 jako donory wodorów dla reduktazy rybonuklotydowej bakterii ze zmutowana (nieaktywną) tioredoksyną. Mają wiele cech wspólnych z tioredoksynami, ale są bardziej uniwersalne i mogą wykorzystywać więcej substratów.
- Glutaredoksyny, zależne od GSH oksydoreduktazy dwusiarczkowe, katalizują redukcję dwusiarczków białkowych i odtwarzają grupy tiolowe.
- Znane są 4 izoformy Grx u człowieka:
 - * Grx-1: białko cytozolowe, które może ulegać translokacji do jądra. Jest też obecne w przestrzeni międzybłonowej mitochondriów.
 - * Grx-2: zlokalizowana głównie w jądrze i matriks mitochondrialnej, znanych jest kilka wariantów splicingowych
 - * Grx-3 (PICOT): białko cytozolowe oddziałujące między innymi z PKC θ
 - * Grx-5: białko mitochondrialne

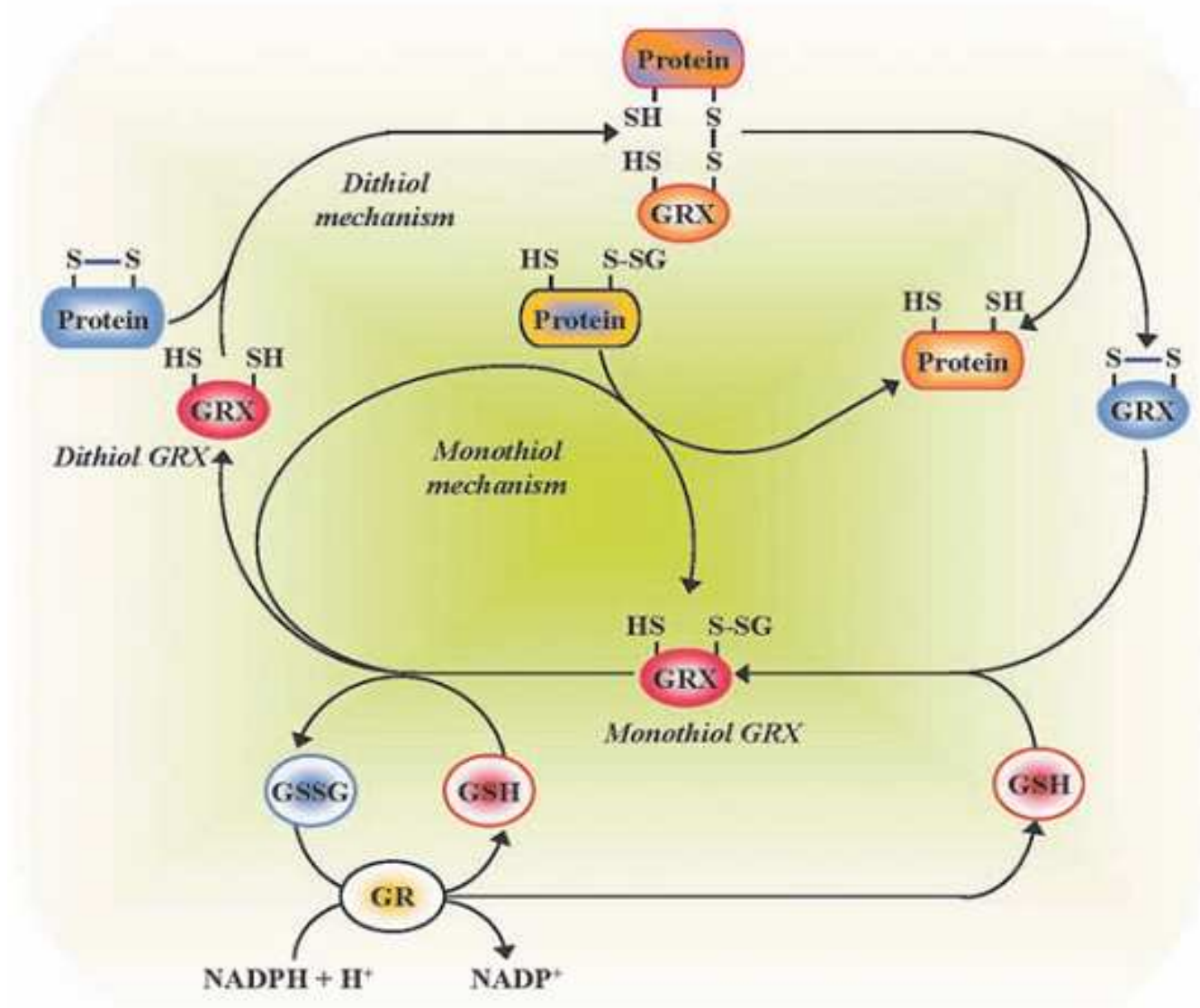


ekspresja Grx w zdrowej aorcie wieńcowej





Glutaredoksyiny





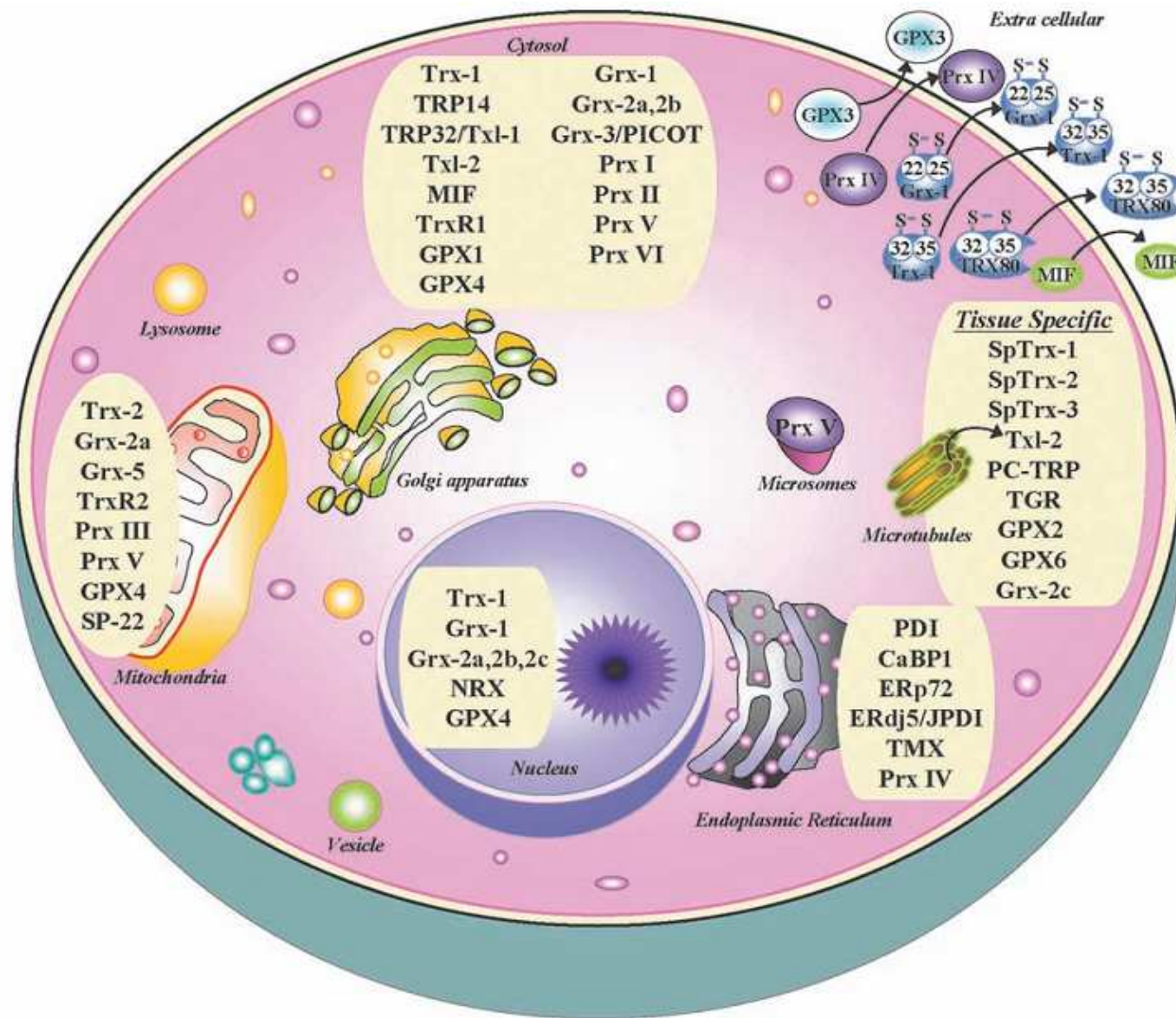
Peroksyredoksy (Prxs)

- Peroksydazy grup tiolowych wykorzystujące Trx jako donory wodoru. Redukują:
 - * nadtlenek wodoru
 - * wodoronadtlenki lipidowe
- Znane formy typowych Prxs (z dwoma aktywnymi cyteinami):
 - * Prx-I: białko cytozolowe
 - * Prx-II: białko cytozolowe
 - * Prx-III: białko mitochondrialne
 - * Prx-IV: białko cytozolowe, wydzielane z komórki
- PrxIII jest homodimerem występującym wyłącznie w mitochondriach. Jej cysteina w centrum aktywnym jest utleniana do Cys-SOH, następnie tworzy dwusiarczek z sąsiednią cysteiną, który jest redukowany przez Trx2.
- Formy nietypowe Prxs:
 - * Prx-V: białko mitochondrialne i mikrosomalne, z jedną aktywną cysteiną
 - * Prx-VI: białko z jedną aktywną cysteiną używające GSH zamiast tioredoksy jako donora wodoru.





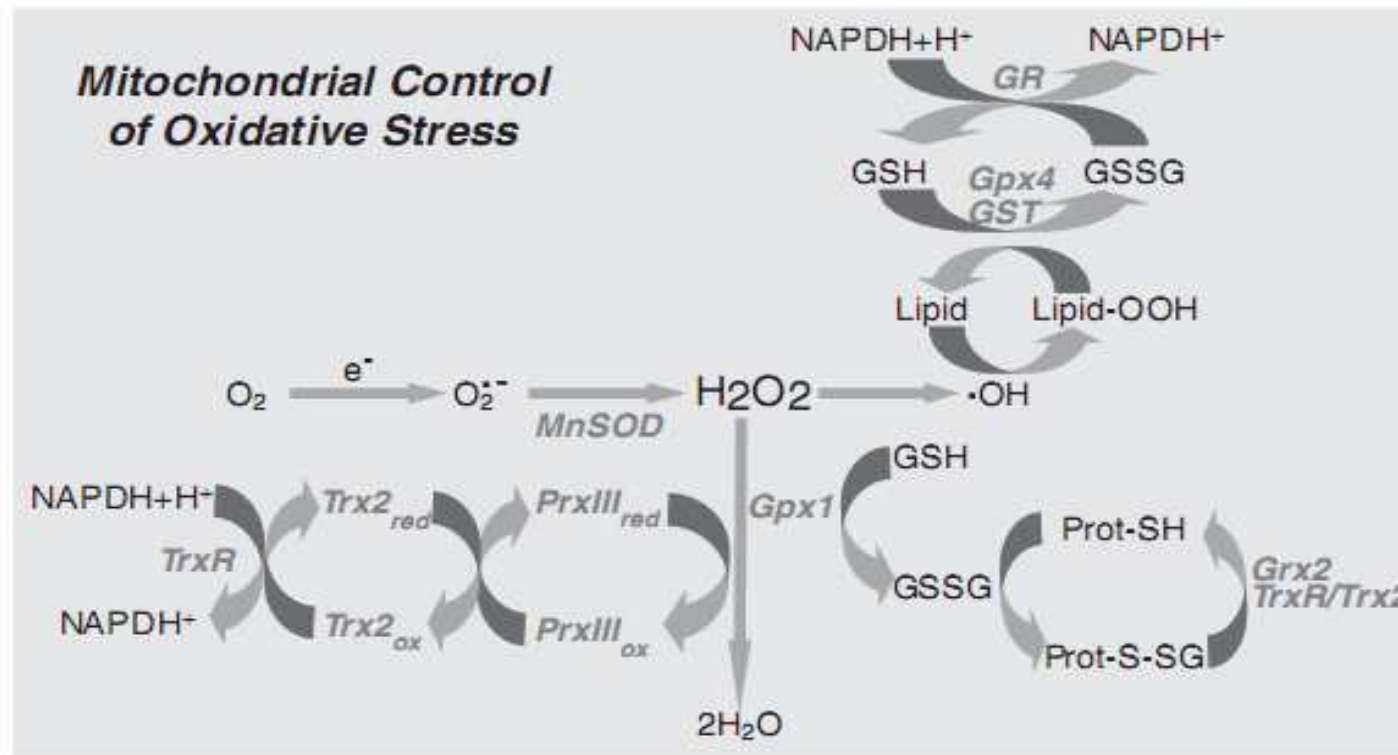
Tioredoksyny i glutaredoksyny





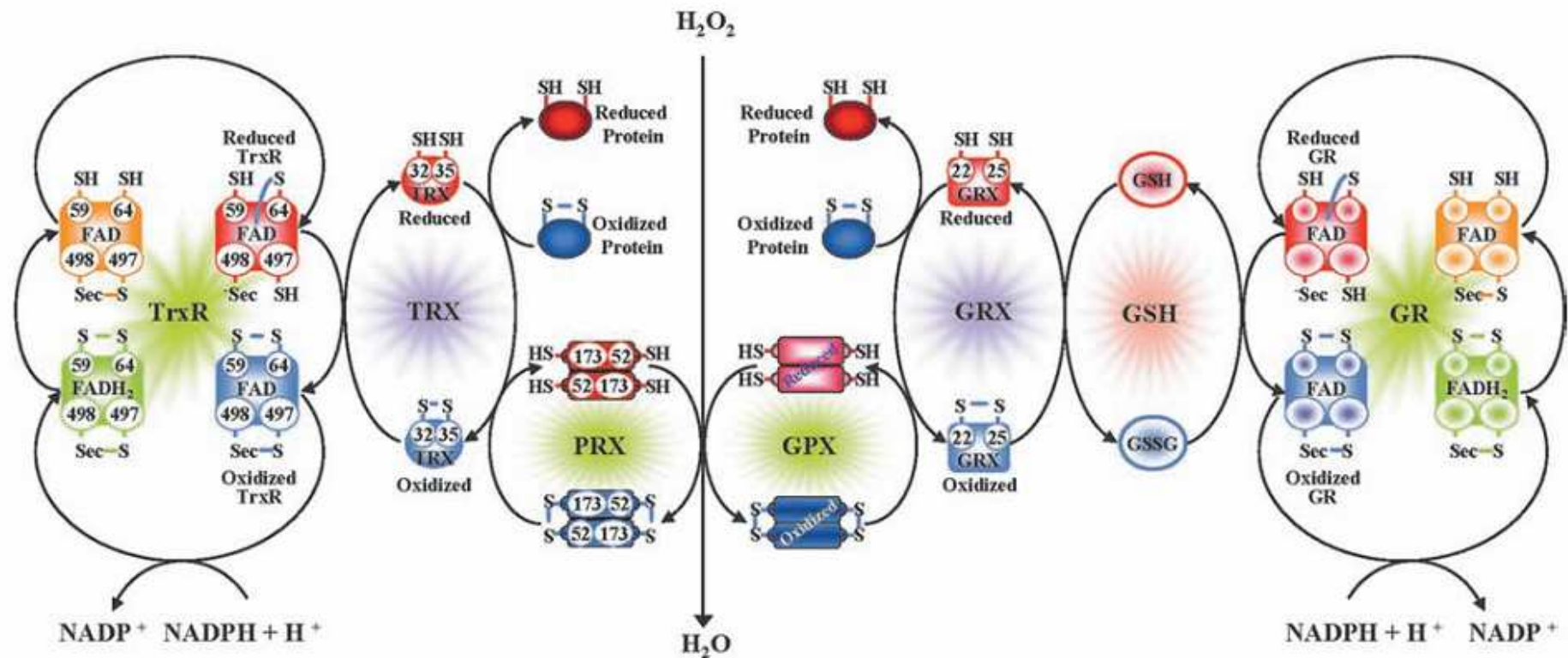
Systemy antyoksydacyjne w mitochondriach

- Najważniejsze układy antyoksydacyjne w mitochondriach to:
 - * peroksydazy glutationowe (GPx), reduktazy glutationowe (GR), transferazy S-glutationowe
 - * glutaredoksyny (Grx)
 - * manganowa dysmutaza ponadtlenkowa (MnSOD)
 - * tioredoksyna-2 (Trx2) i reduktaza tioredoksyny (TrxR)
 - * peroksyredoksyna III (PrxIII)



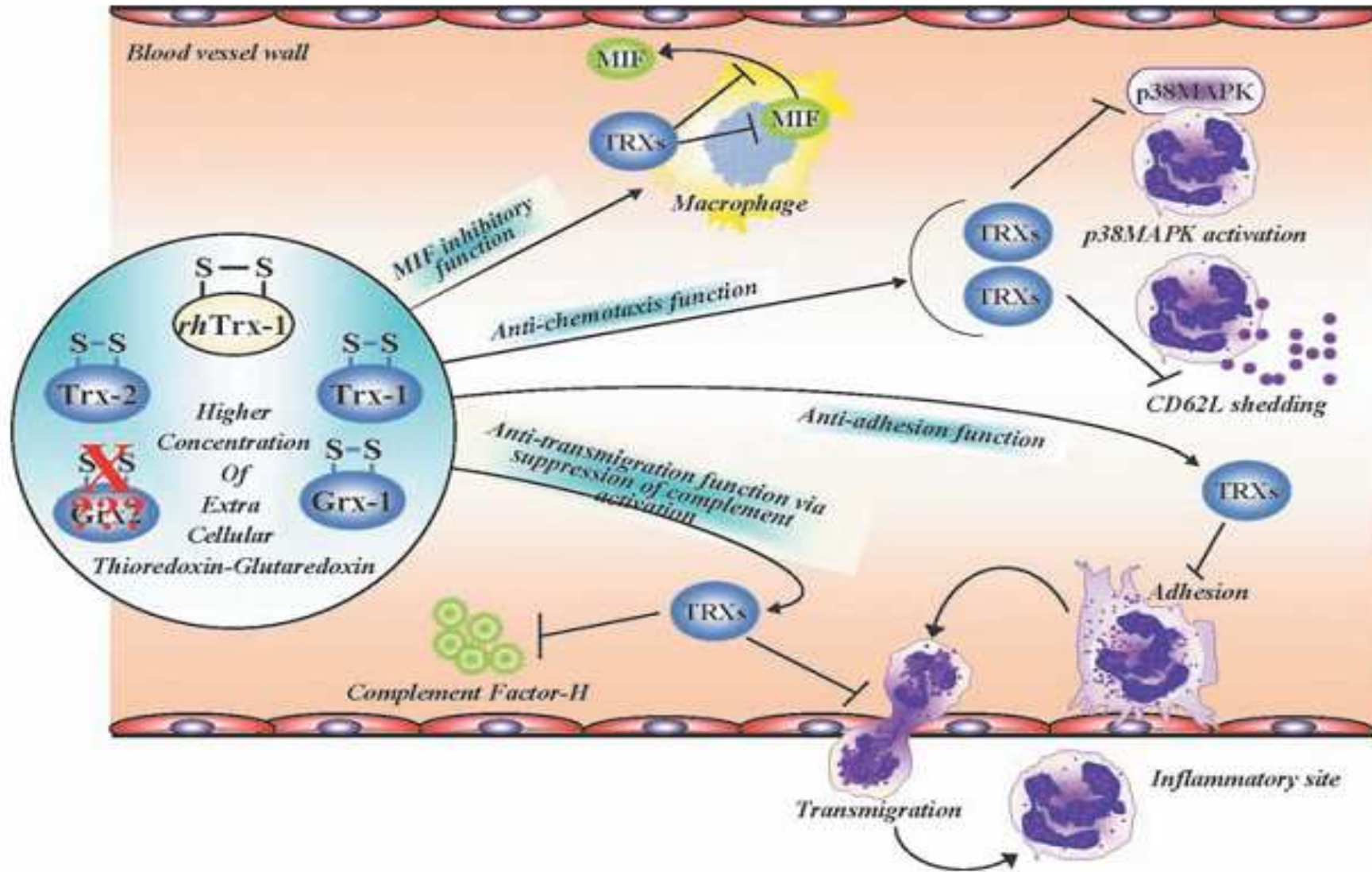


Współdziałanie tioredoksyn i glutaredoksyn





Przeciwzapalne działanie tioredoksyn i glutaredoksyn

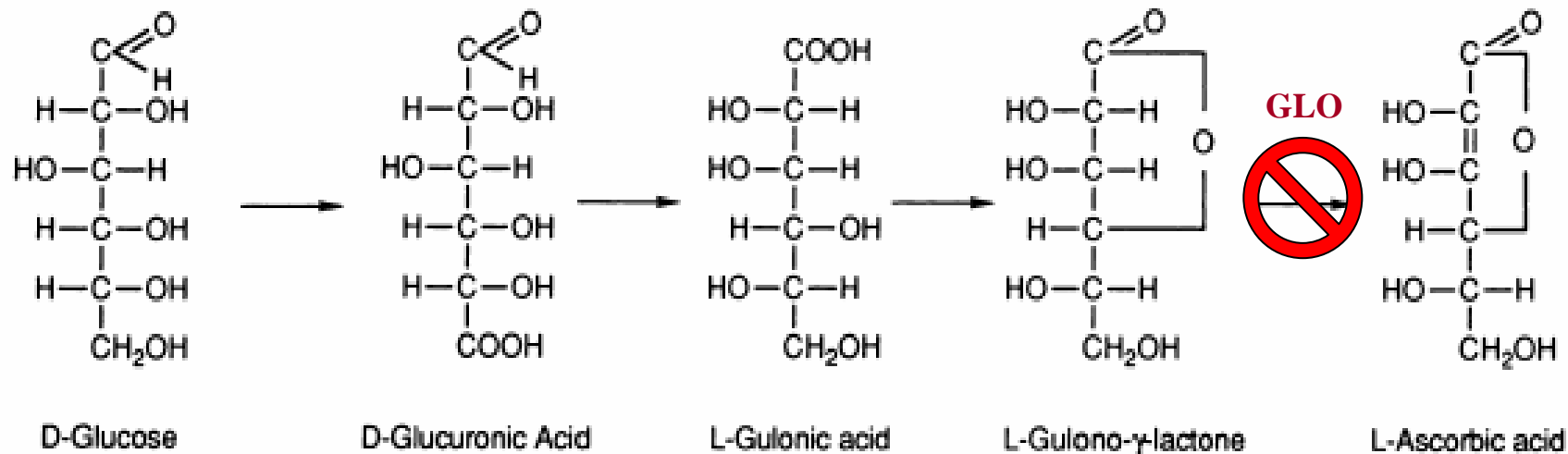




Witamina C

- Witamina C (kwas askorbinowy, w fizjologicznym pH występujący jako askorbinian) działa w komórkach jako:

- * przeciwutleniacz
- * kofaktor enzymów (zwłaszcza hydroksylaz)
- * naczelnie (i świnki morskie) nie mogą syntetyzować witaminy C z powodu braku oksydazy gulonolaktonowej (GLO)





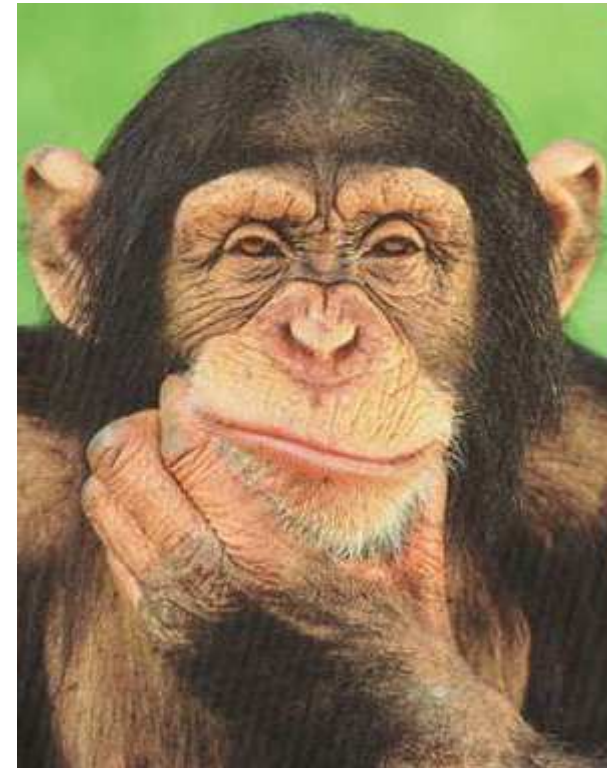
Witamina C u naczelnych

- Wydajna synteza askorbinianu jest uważana za mechanizm ochronny przed zwiększonym poziomem tlenu w atmosferze między środkowym i górnym paleozoikiem (przed wymieraniem permskim). Hipotezy tłumaczące utrzymywanie się zaniku GLO (wynikające prawdopodobnie z retrowirusowej insercji sekwencji Alu) u naczelnych:

- * środowisko życia i dieta naczelnych były bogate w askorbinian (głównie owoce) - brak presji selekcyjnej

- * niedobór witaminy C prowadził do wcześniejszej śmierci osobników starych, poprawiając warunki życia osobników młodych w okresach niedoboru pokarmu

- * syntezie askorbinianu towarzyszy produkcja H_2O_2 ; pobieranie askorbinianu z pokarmu nie jest związane z produkcją H_2O_2 .



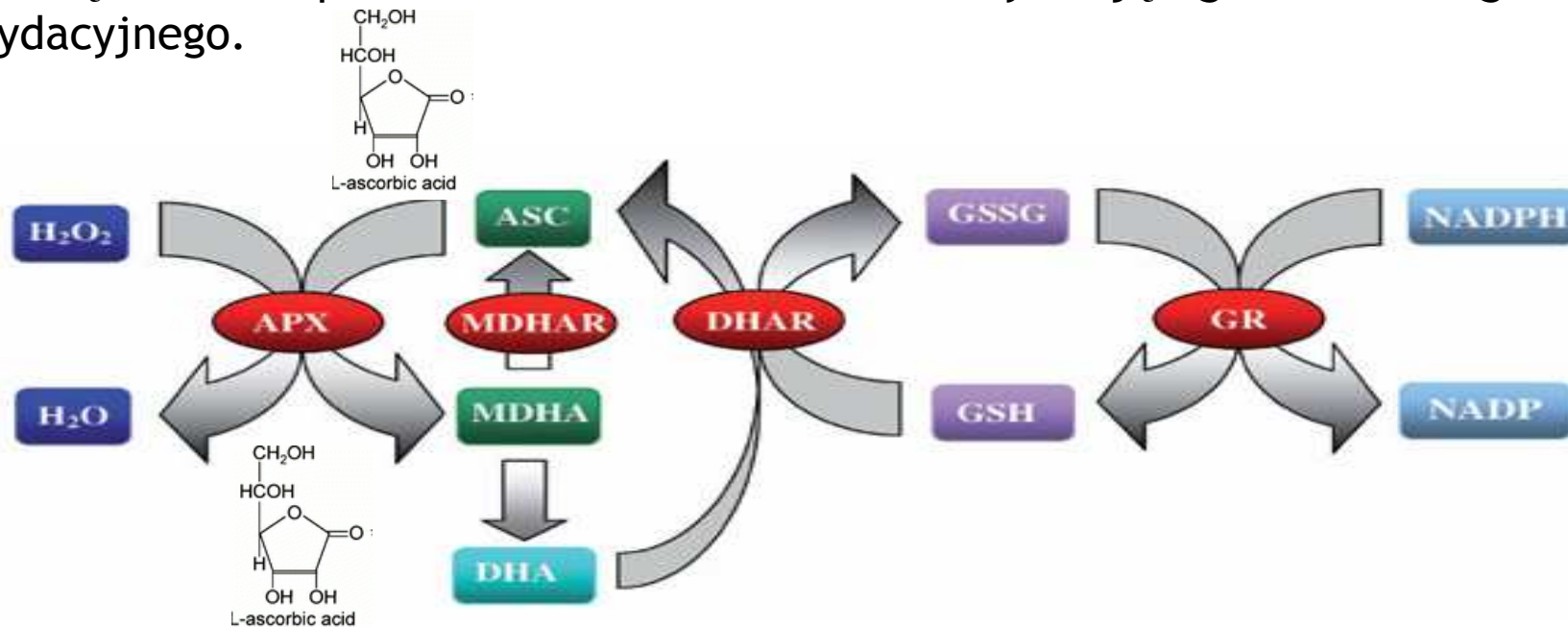


Witamina C

- Bardzo niskie stężenia witaminy C w surowicy i leukocytach stwierdza się u chorych w stadiach terminalnych (zwłaszcza karmionych pozajelitowo), oraz u pacjentów z posocznicą. Możliwe to wynikać z:

* niewystarczającego dostarczania witaminy C w przypadku żywienia pozajelitowego (łatwo rozkłada się podczas przygotowywania i przechowywania roztworu).

* zwiększenia zapotrzebowania na askorbinian wynikającego z nasilonego stresu oksydacyjnego.

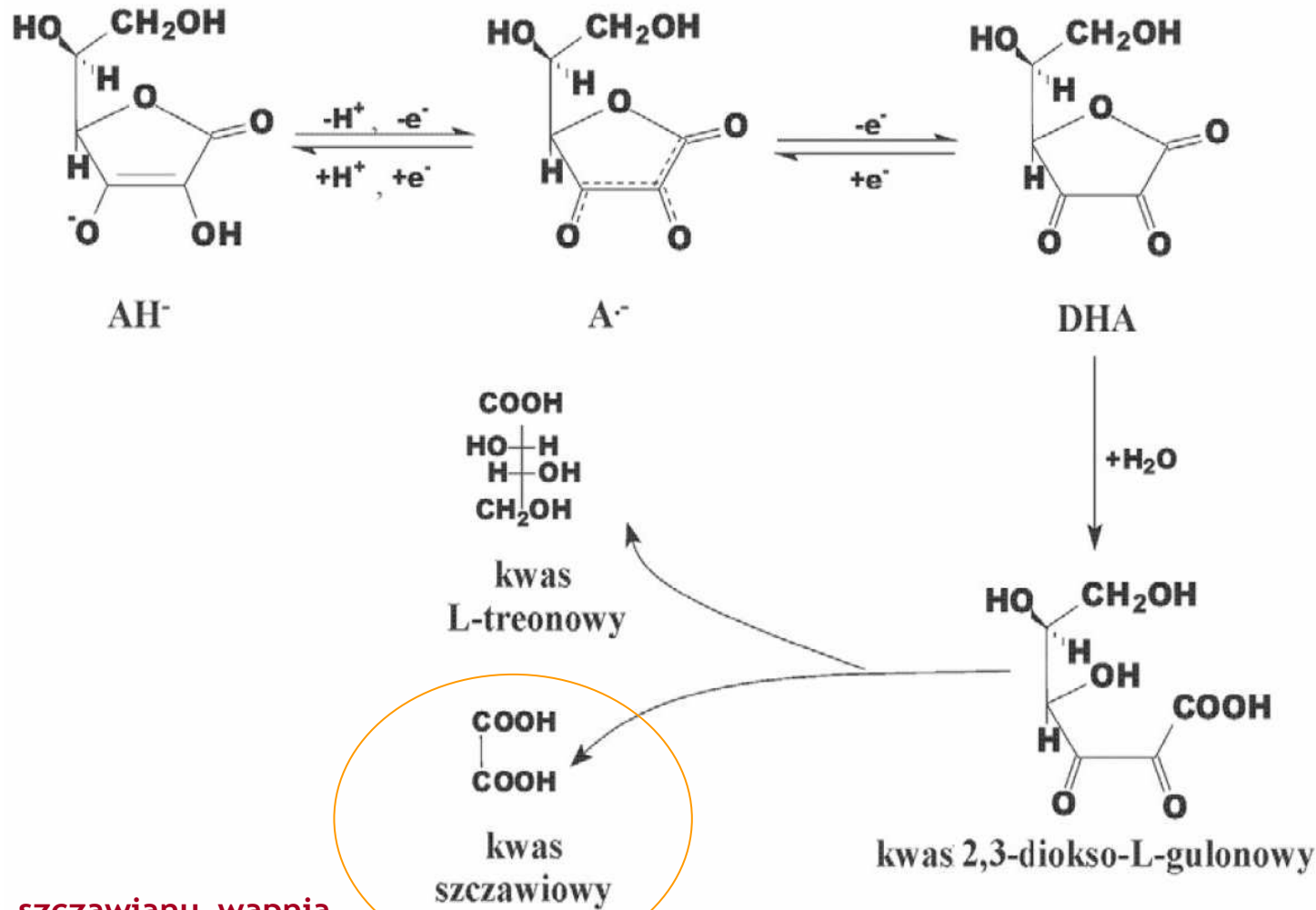


APX: peroksydaza askorbinianowa; **ASC:** askorbinian; **MDHAR:** reduktaza monodehydroaskorbinianu; **DHAR:** reduktaza dehydroaskorbinianu; **MDHA:** monodehydroaskorbinian, **DHA:** dehydroaskorbinian





Witamina C



**nadmiar szczawianu wapnia
może być nefrotoksyczny**

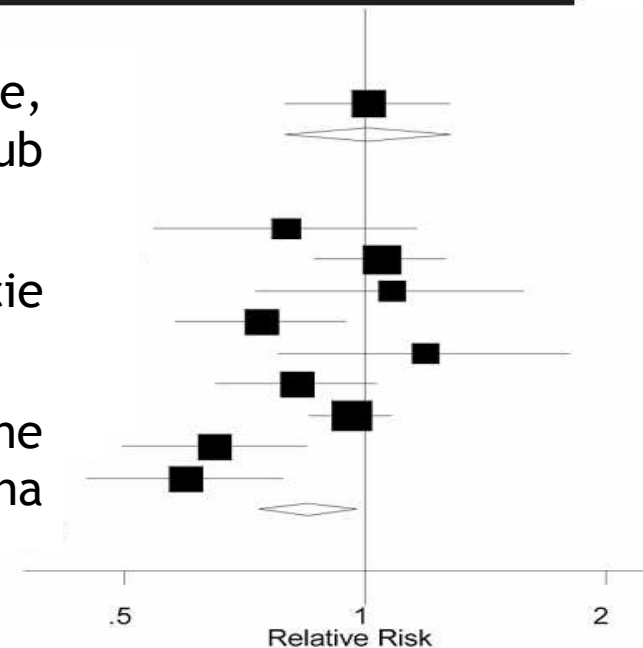




Witamina C

Zmiata wolne rodniki	$\cdot\text{OH}$, $\text{O}_2^{\cdot-}$, RO_2^{\cdot} , RS^{\cdot} , RSO^{\cdot} , RSO_2^{\cdot} , RNO_2^{\cdot} , NO_2^{\cdot} ; rodniki pochodne kwasu moczowego i leków
Zmiata nierodnikowe reaktywne formy tlenu	tlen singletowy, kwas podchlorawy (HOCl), kwas nadtlenoazotawy (ONOOH), ozon O_3 , czynniki nitrujące
Hamuje peroksydację lipidów	współdziała z witaminą E poprzez regenerowanie α -tokoferolu z rodnika α -tokoferylowego, hamuje peroksydację zależną od aktywacji neutrofilów i dymu tytoniowego w lipoproteinach osocza
Uczestniczy w reakcjach enzymatycznych	stanowi kosubstrat dla peroksydaz zależnych od askorbinianu, biorących udział w usuwaniu nadtlenu wodoru
Chroni układ naczyniowy i oddechowy	poprawia tolerancję nitratów u pacjentów z chorobami naczyń, zabezpiecza układ oddechowy przed uszkodzeniami powodowanymi przez wdychane zanieczyszczenia powietrza

- Askorbinian może również działać prooksydacyjnie, zwłaszcza w obecności wolnych jonów żelaza Fe^{2+} lub miedzi Cu^+ , Cu^{2+} .
- Dostarczanie odpowiedniej ilości witaminy C w diecie może nieco zmniejszać ryzyko raka macicy.
- Wbrew powszechnym oczekiwaniom próby kliniczne wykazały, że suplementacja witaminą C nie wpływa na ryzyko nowotworów układu pokarmowego.





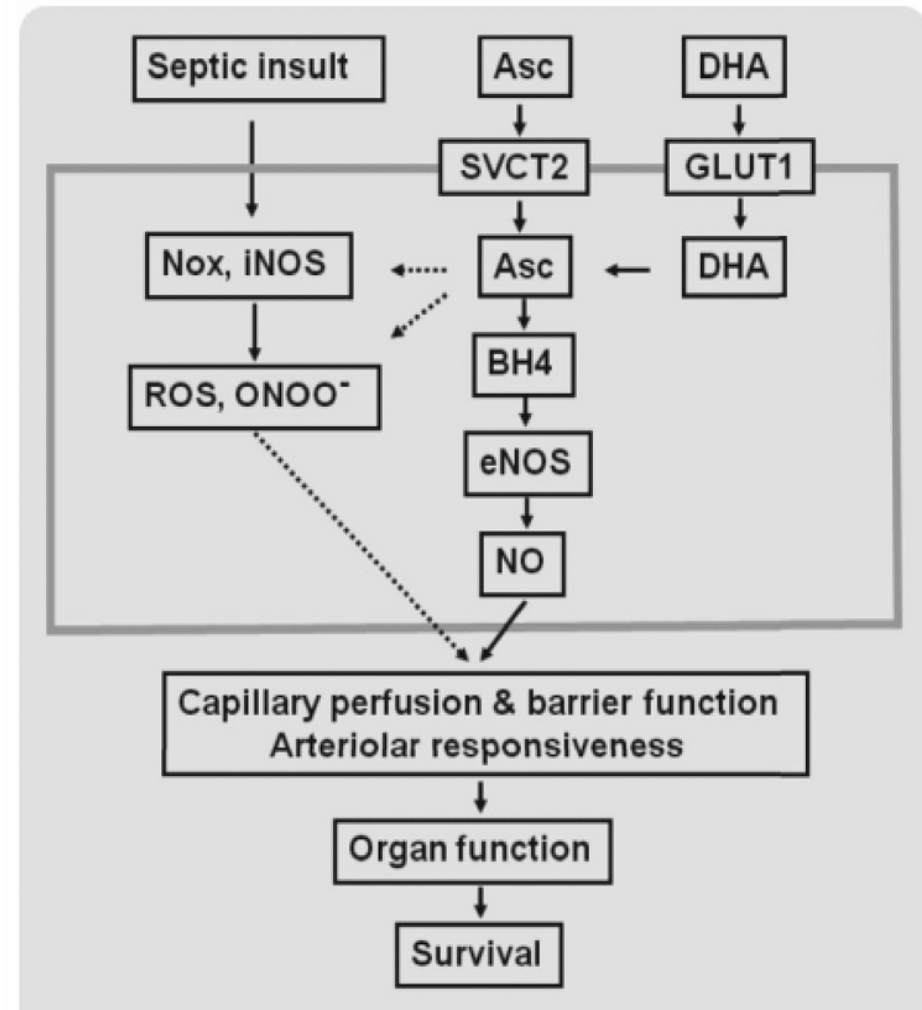
Witamina C w posocznicy

- Askorbinian wpływa na komórki śródbłónka w posocznicy. W posocznicy dochodzi kolejno do:

- * aktywacji NOX i iNOS,
- * wzrostu produkcji ROS i ONOO⁻,
- * upośledzenia funkcji naczyń:
 - # zmniejszenia przepływu
 - # zwiększenia przepuszczalności

- Askorbinian jest pobierany przez komórki przez zależny od sodu transporter witaminy C (SVCT2), a dehydroaskorbinian przez transporter glukozy (GLUT1). DHA jest redukowany do Asc.

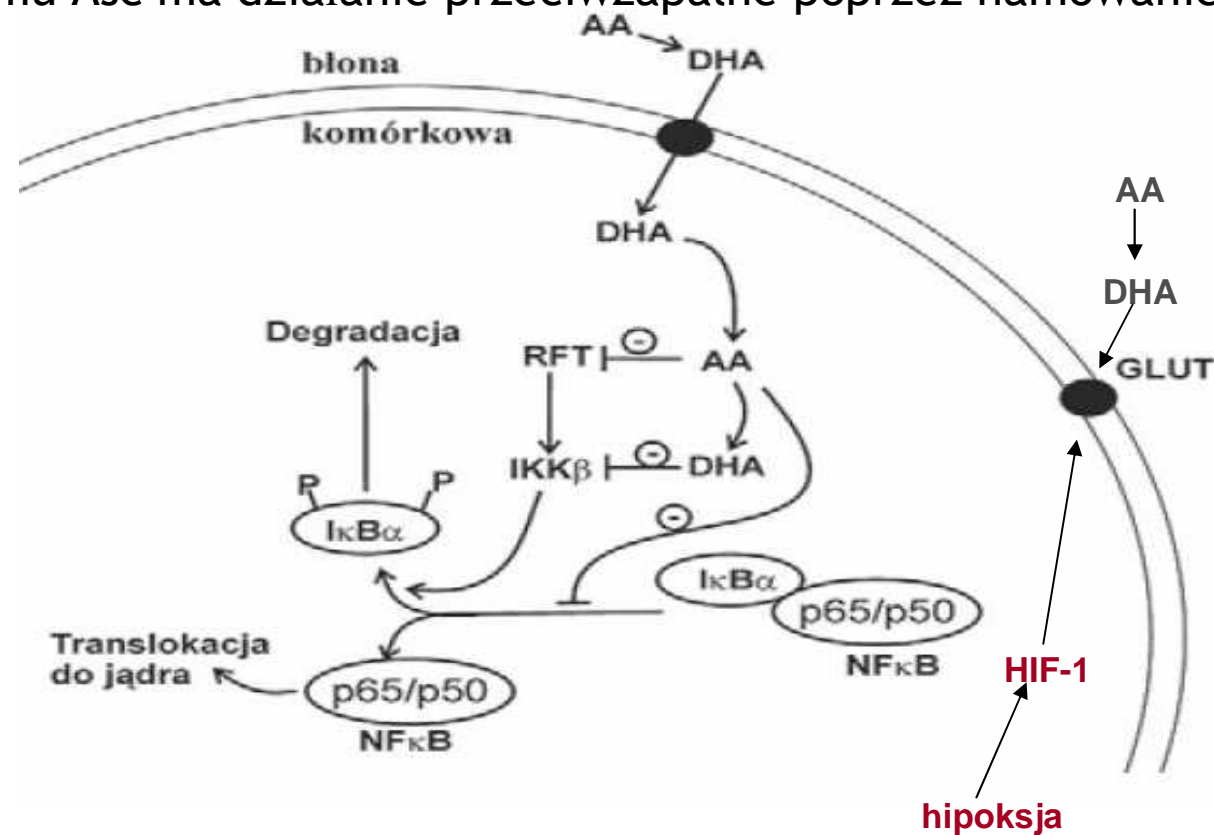
- Wewnątrzkomórkowy Asc zmiata ROS i ONOO⁻, zwiększając przy tym dostępność BH4 i aktywność eNOS. Hamuje natomiast indukcję NOX i iNOS.





Witamina C a NF κ B

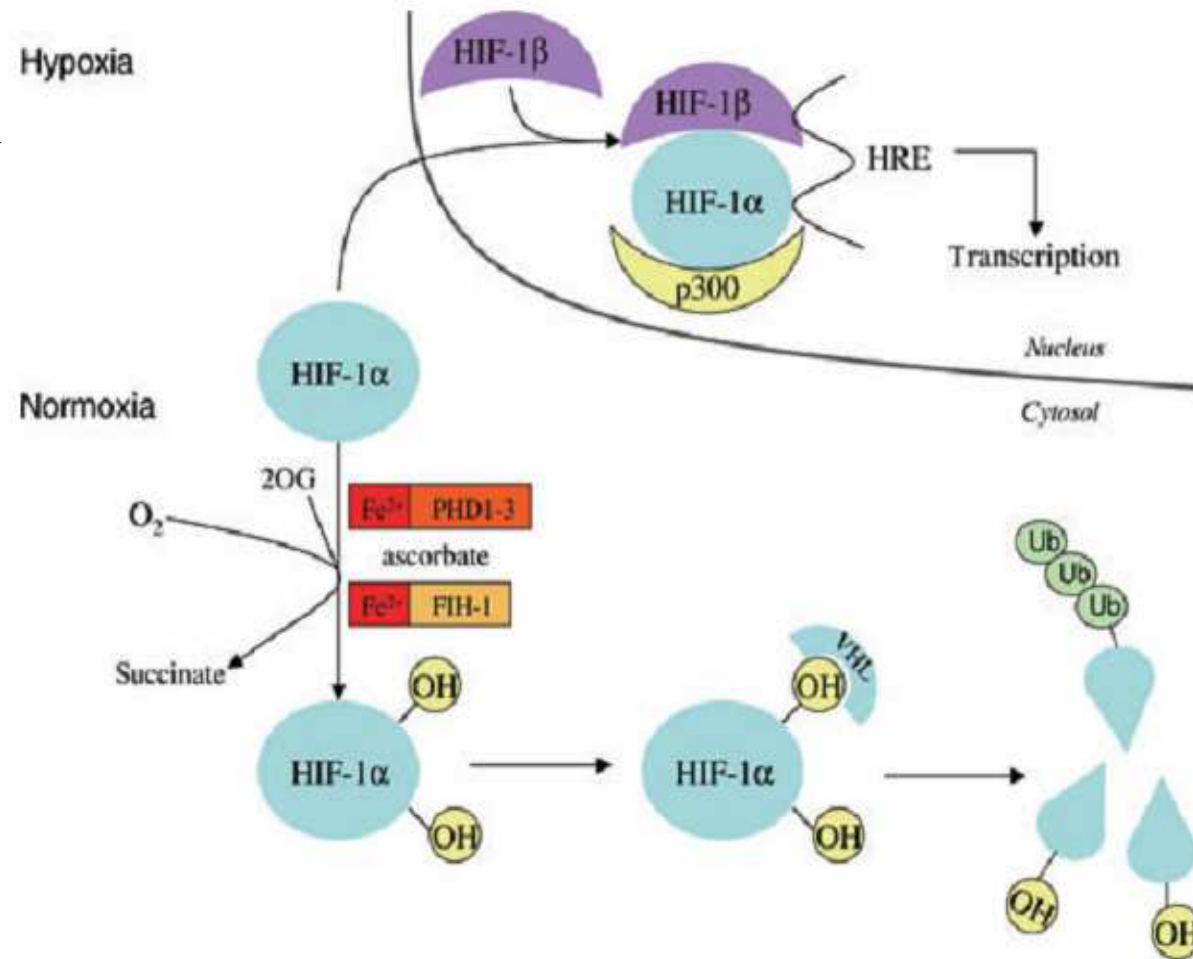
- Zmniejszenie poziomu Asc w śródbłonku może być wywoływane przez hiperglikemię (konkurencja o GLUT1 między glukozą i DHA).
- Niedotlenienie i aktywacja HIF-1 nasila ekspresję GLUT1 i transport DHA do komórek.
- Wzrost poziomu Asc ma działanie przeciwzapalne poprzez hamowanie NF κ B





Witamina C a niedotlenienie

- HIF-1 α i HIF-1 β są transkrybowane konстыtutywnie.
- W normoksji (w obecności tlenu i askorbinianu) 2 reszty prolinowe i 1 asparaginianowa są hydroksylowane przez hydroksylazy zależne od żelaza Fe²⁺ i 2-oksoglutaranu.
- Prowadzi to do przyłączenia białka von Hippel-Lindlau (część kompleksu ligazy ubikwityny E3) i degradacji proteasomalnej.



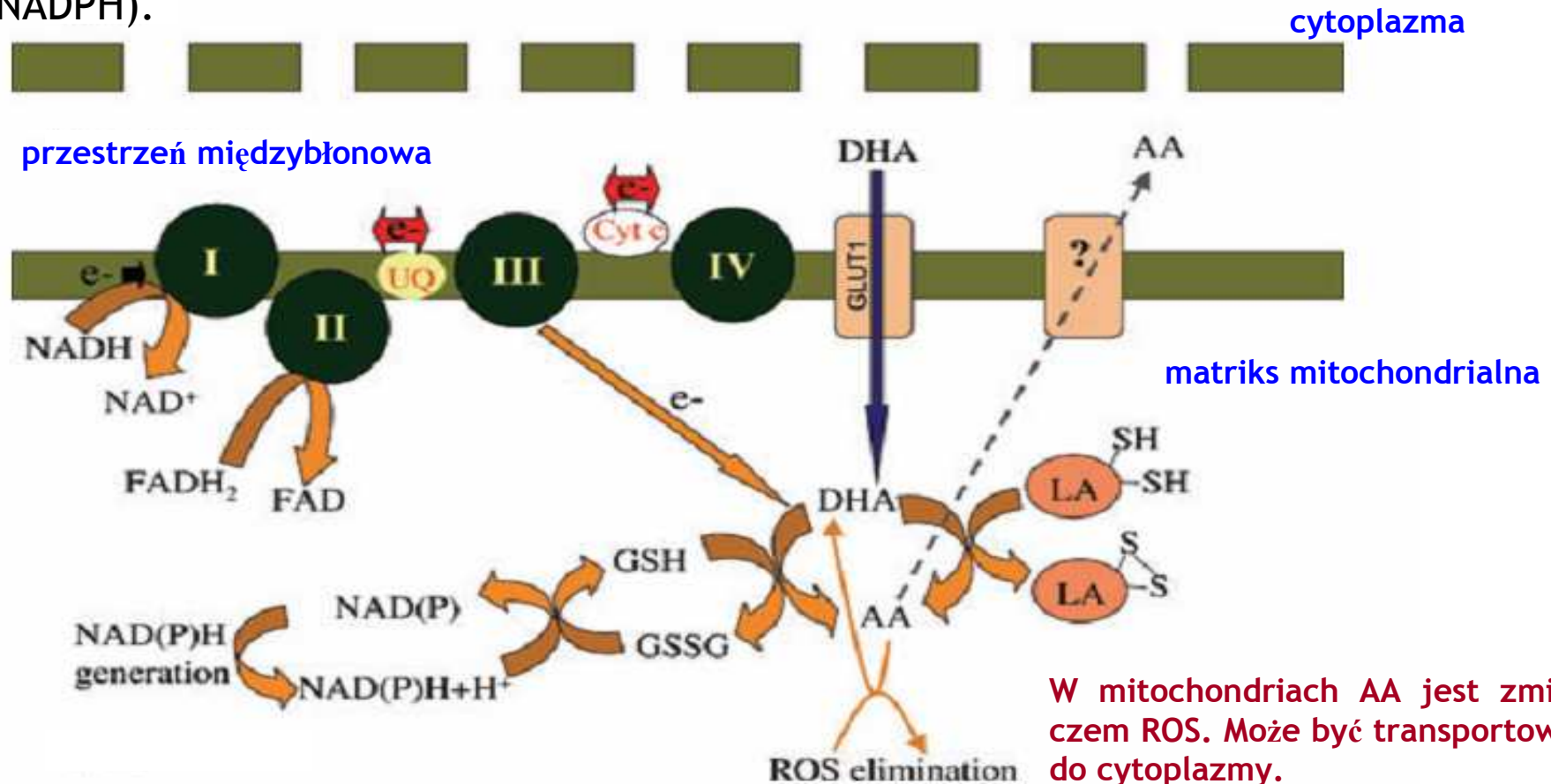
askorbinian jest niezbędny do aktywności hydroksylaz prolinowych i hydroksylazy asparaginianowej znakujących HIF-1 do degradacji w proteasomach w warunkach normoksji





Witamina C w mitochondriach

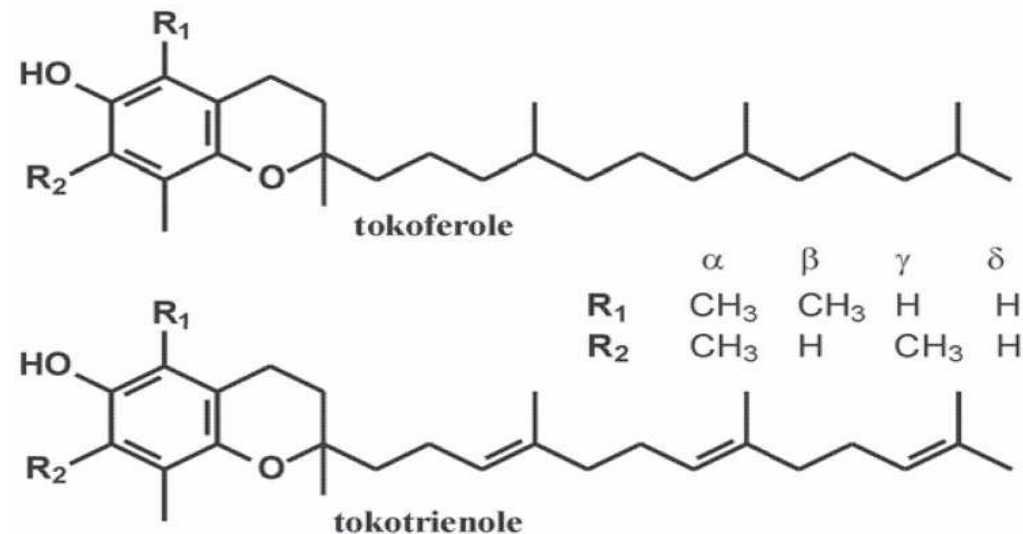
- DHA (utleniona forma witaminy C, kwas dehydroaskorbinowy) jest transportowany do mitochondriów poprzez GLUT-1.
- W mitochondriach jest redukowany do askorbinianu (AA) w kompleksie III i przez reduktazę DHA (z wykorzystaniem glutationu, zredukowanego następnie dzięki NADPH).





Witamina E

- Witamina E stanowi grupę 8 rozpuszczalnych w tłuszczach kompleksów, różniących się biodostępnością:
 - * α -, β -, γ -, i δ -tokoferoli
 - * α -, β -, γ -, i δ -tokotrienoli.
- Komercyjnie dostępne formy witaminy E zawierają naturalne lub syntetyczne α -tokoferole.
- α -tokoferol jest transportowany przez białko transportujące α -tokoferol (α -TTP, α -tocopherol transfer protein) do lipoprotein HDL i LDL, chroniąc lipoproteiny przed peroksydacją przez wolne rodniki.
- Witamina E chroni lipidy przed peroksydacją, gdyż jest donorem wodorów dla wolnych rodników.
- Efektem działania witaminy E jest mniejsza podatność LDL na oksydację (i formowanie oxLDL), a przez to mniejsza szkodliwość oxLDL dla komórek śródbłonna.





Skutki działania witaminy E

Inhibition of smooth muscle cell proliferation

Maintenance of normal endothelial cell function

Decrease in the levels of soluble adhesion molecules

Inhibition of monocyte-endothelial cell adhesion

Inhibition of monocyte release of ROS and inflammatory cytokines

Decrease in the levels of soluble PAI-I

Inhibition of platelet adhesion and aggregation

Signal transduction regulation and gene expression in different cell pathways

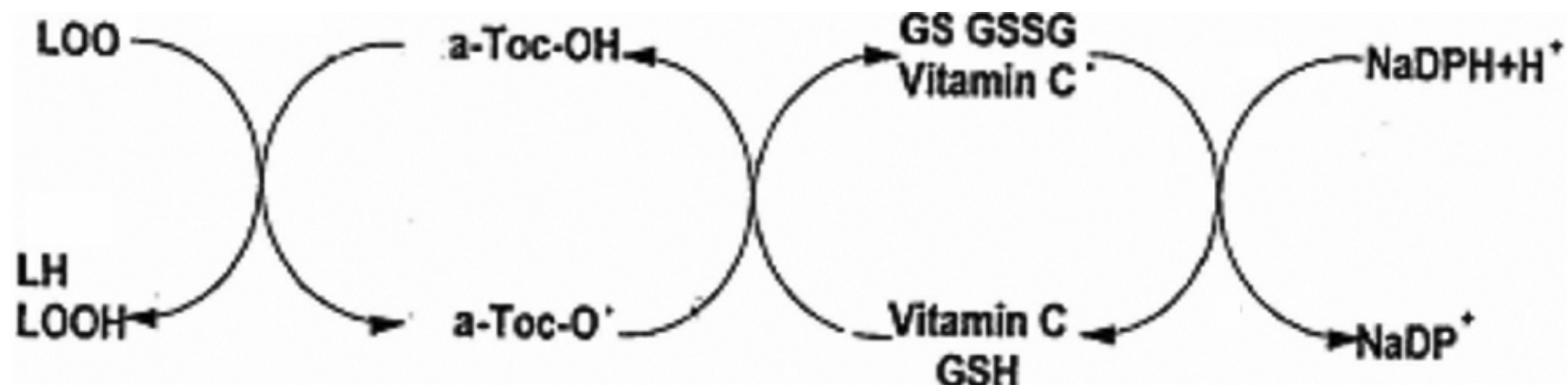
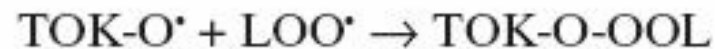
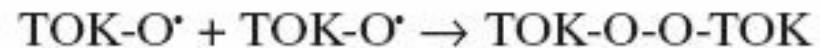
Regulation of enzymes, transcription factors and receptors





Skutki podawania witaminy E

- Publikowane badania i analizy niewielkich grup pacjentów wskazywały na ochronne działanie antyoksydantów, hamujące rozwój chorób układu krążenia.
- Duże i wieloletnie próby kliniczne (poza 1, do której są metodyczne wątpliwości, między innymi zmiana dawki α -tokoferolu) nie potwierdziły korzyści z suplementacji witaminą E.





Skutki podawania witaminy E

- Badania na zwierzętach i analizy danych klinicznych sugerowały protekcyjny wpływ suplementacji witaminą E na zapobieganie chorobom układu krążenia.

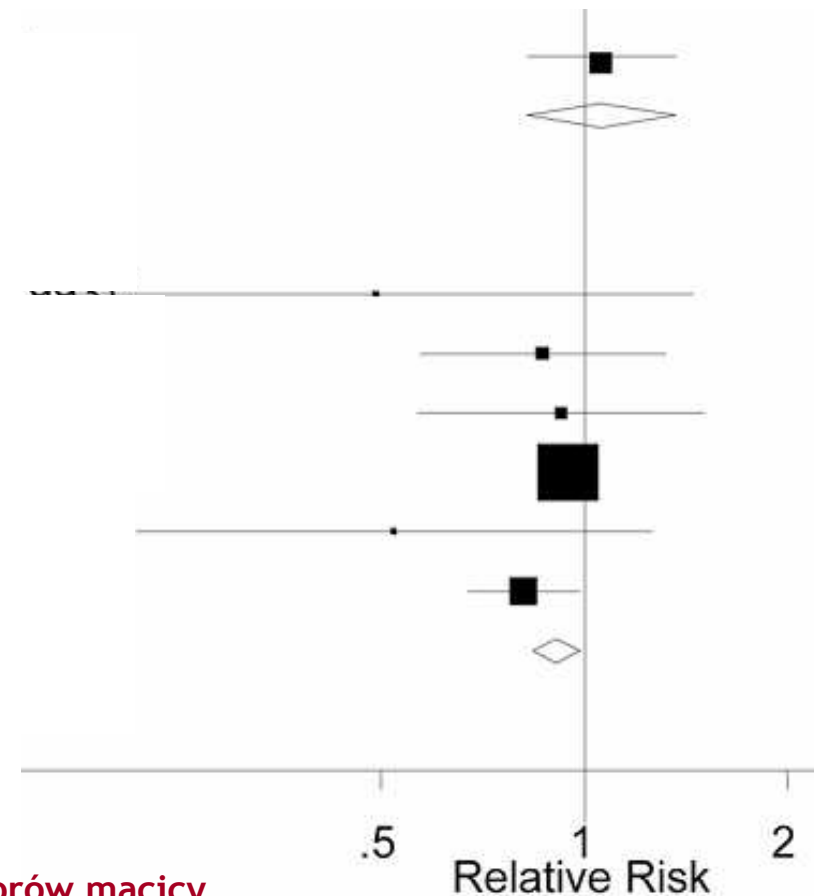
- Niektóre badania sugerowały, że dieta bogata w witaminę może zmniejszać ryzyko nowotworów.

- Duże próby kliniczne wykazały, że suplementacja witaminą E:

- * nie wpływa na ryzyko rozwoju chorób układu krążenia

- * nieco zwiększa ogólne ryzyko śmierci

- * nie wpływa na ryzyko rozwoju nowotworu prostaty



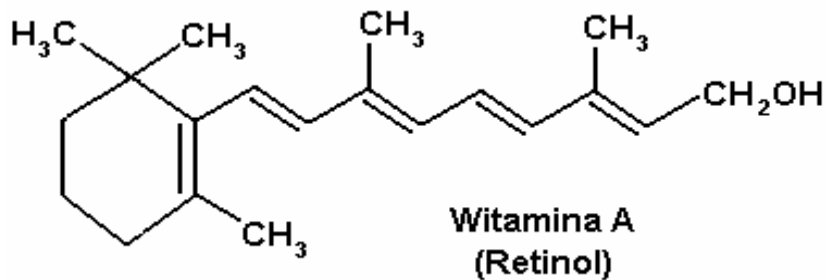
Witamina E w diecie a ryzyko rozwoju nowotworów macicy



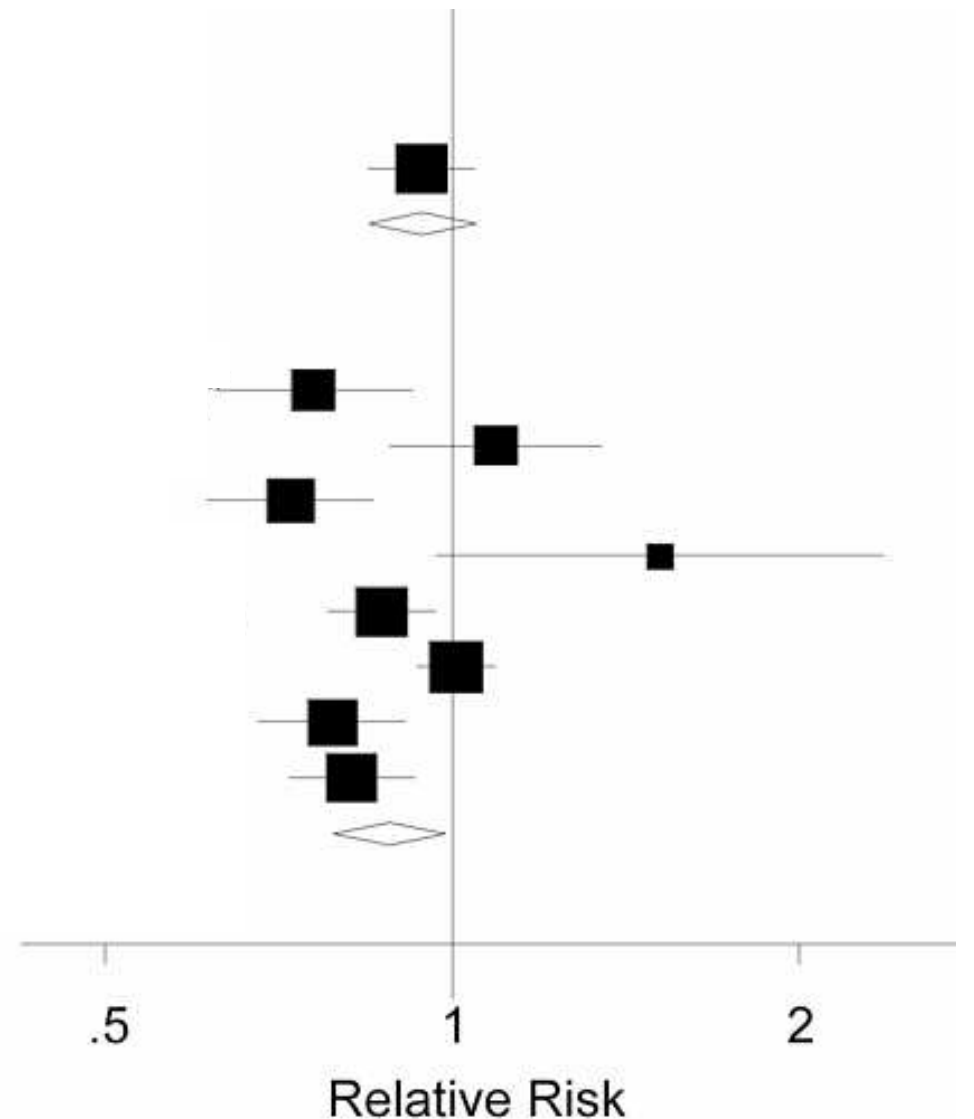


Witamina A a chemoprewencja

- Retinol jest uznawany za efektywny antyoksydant, głównie ze względu na możliwość zmiatania ROS.
- Być może dostarczania odpowiedniej ilości witaminy A z dietą zmniejsza ryzyko zachorowania na niektóre nowotwory.



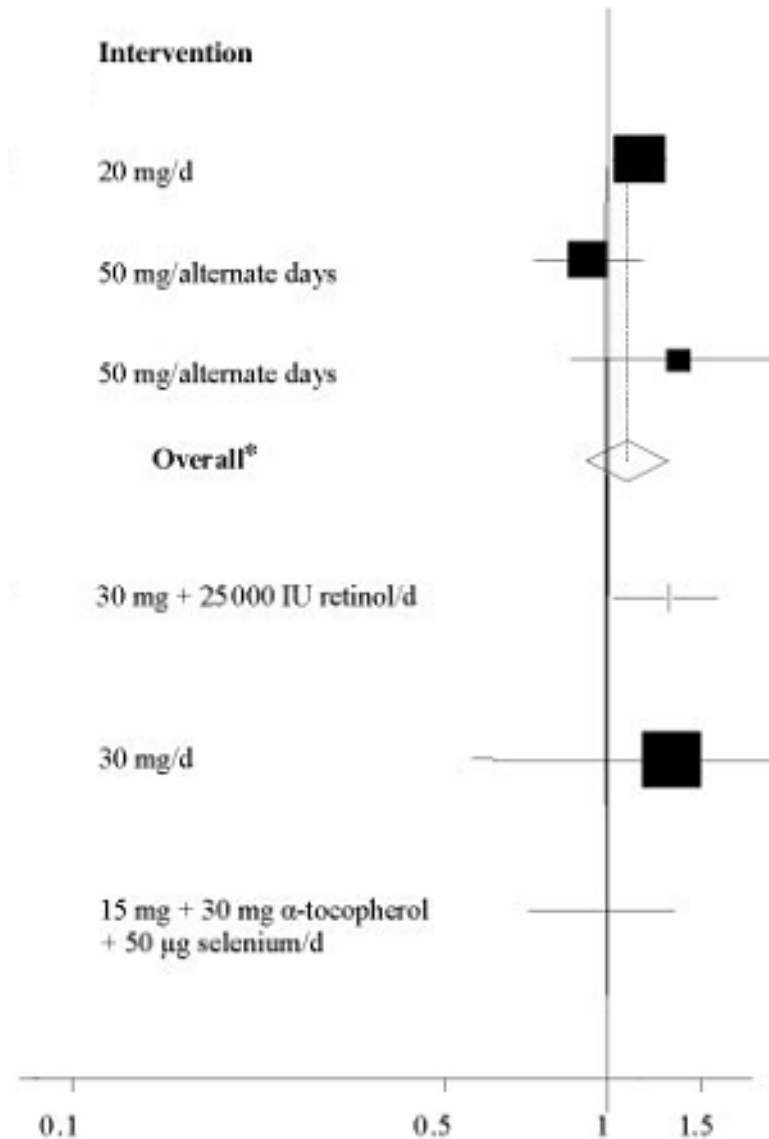
Witamina A przyjmowana w diecie a ryzyko rozwoju nowotworów macicy.





Witamina A w chemoprewencji

- Badania na zwierzętach zgodnie wskazywały na protekcyjny wpływ witaminy A w zapobieganiu rozwojowi nowotworów
- Dwie duże próby kliniczne rozpoczęte w 1985 roku w Finlandii i USA wykazały:
 - * 18% wzrost ryzyka nowotworów płuc po suplementacji wysokimi dawkami β -karotenu
 - * 28% wzrost ryzyka nowotworów płuc po suplementacji β -karotenem i retinolem





Witamina A w chemoprewencji

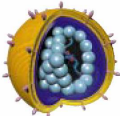
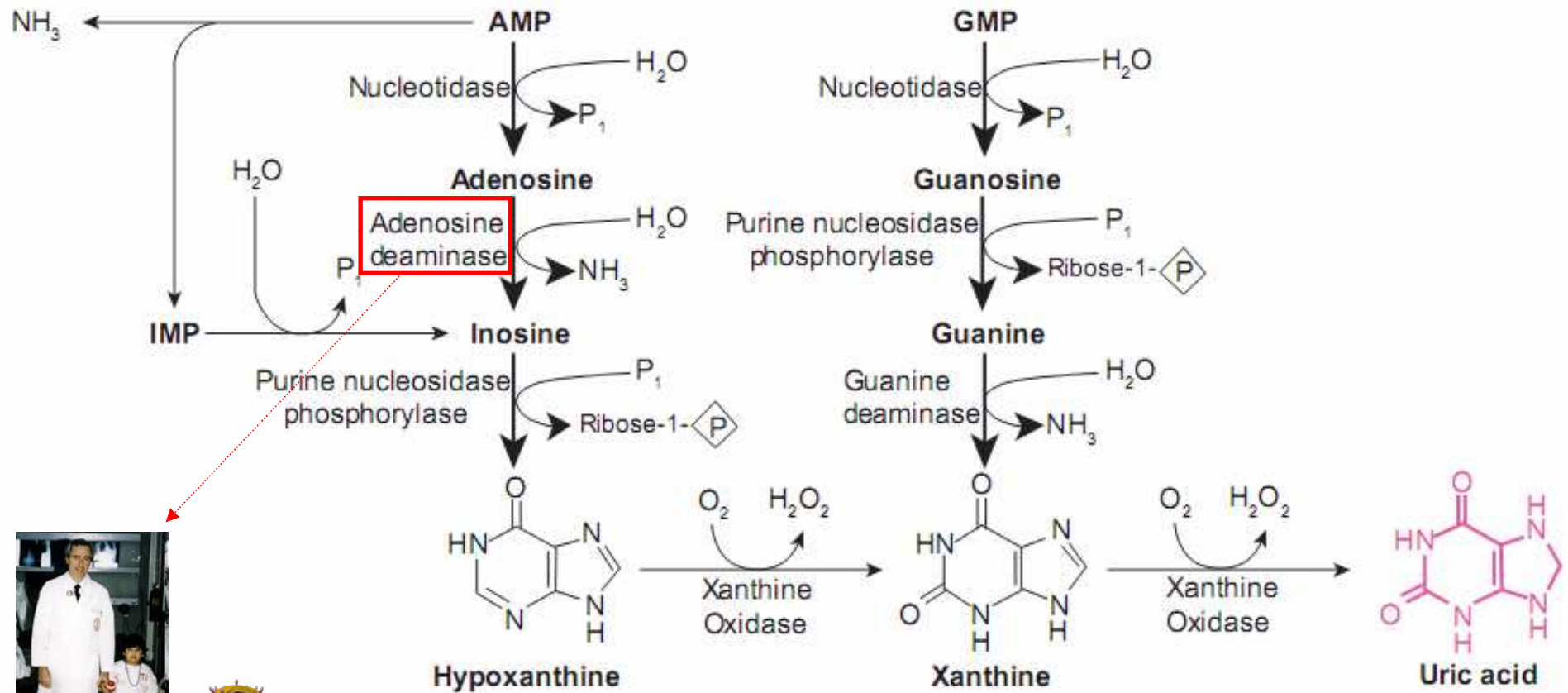
Randomized clinical trials examining the association between β -carotene supplements and lung cancer¹

Study, country, and reference	Study population	Female %	Age y	Comparison	Sample size n	Follow-up y	Cases
Linxian General Population Trial, China; Kamangar, 2006 (33)	Healthy adults	NR	NR (40–69) ²	β -Carotene (15 mg), α -tocopherol (30 mg), and selenium (50 μ g) compared with placebo	443/455 ³	15	NR
ATBC, Finland; Virtamo, 2003 (5) ⁴	Smokers	0	64 (50–69)	β -Carotene (20 mg) compared with placebo	14 560/14 573	8	481/414
Physicians Health Study, United States; Cook, 2000 (34)	Physicians	0	NR (40–84)	β -Carotene (50 mg on alternate days) compared with placebo	11 036/11 035	13	85/93
Women's Health Study, United States; Lee, 1999 (35)	Health professionals	100	NR (>45)	β -Carotene (50 mg on alternate days) compared with placebo	19 939/11 937	2.1	30/21
Australia, Western Perth, 1990–1995, Australia; De Klerk, 1998 (36)	Former asbestos workers	7.5	57 (40–83)	β -Carotene (30 mg/d) compared with retinol (25 000 IU/d)	512/512	5	6/4
CARET, United States; Omenn, 1996 (4)	Asbestos-exposed workers and heavy smokers	34.3	58 (45–74)	β -Carotene (30 mg/d) plus retinol (25 000 IU/d) compared with placebo	9420/8894	6	229/159 2.43/1.78%





Szlak degradacji puryn - powstawanie kwasu moczowego





Kwas moczowy

- Kwas moczowy jest głównym przeciwutleniaczem w ludzkiej surowicy. Paradoksalnie, jego podwyższony poziom koreluje z:

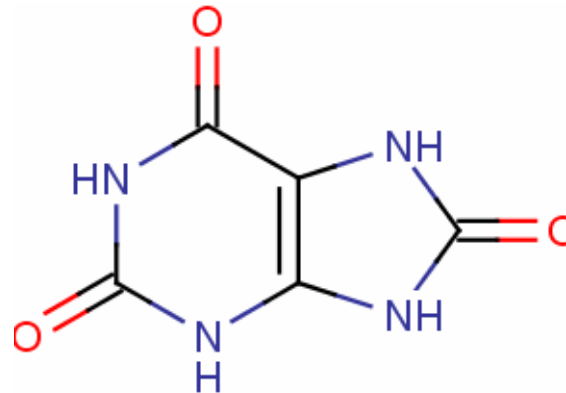
- * otyłością,
- * insulinoopornością,
- * nadciśnieniem,
- * chorobami serca,
- * udarami mózgu.

choroby związane z nasilonym stresem oksydacyjnym

- Być może wzrost stężenia kwasu moczowego jest niewystarczającą reakcją protekcyjną. Możliwe również że:

- * ?-kwas moczowy ma głównie właściwości antyoksydacyjne w surowicy
- * ?-kwas moczowy ma głównie właściwości prooksydacyjne w komórkach

- Poziom kwasu moczowego jest zwykle niższy u kobiet, z powodu hamującego działania estrogenów.



kwas moczowy





Synteza kwasu moczowego

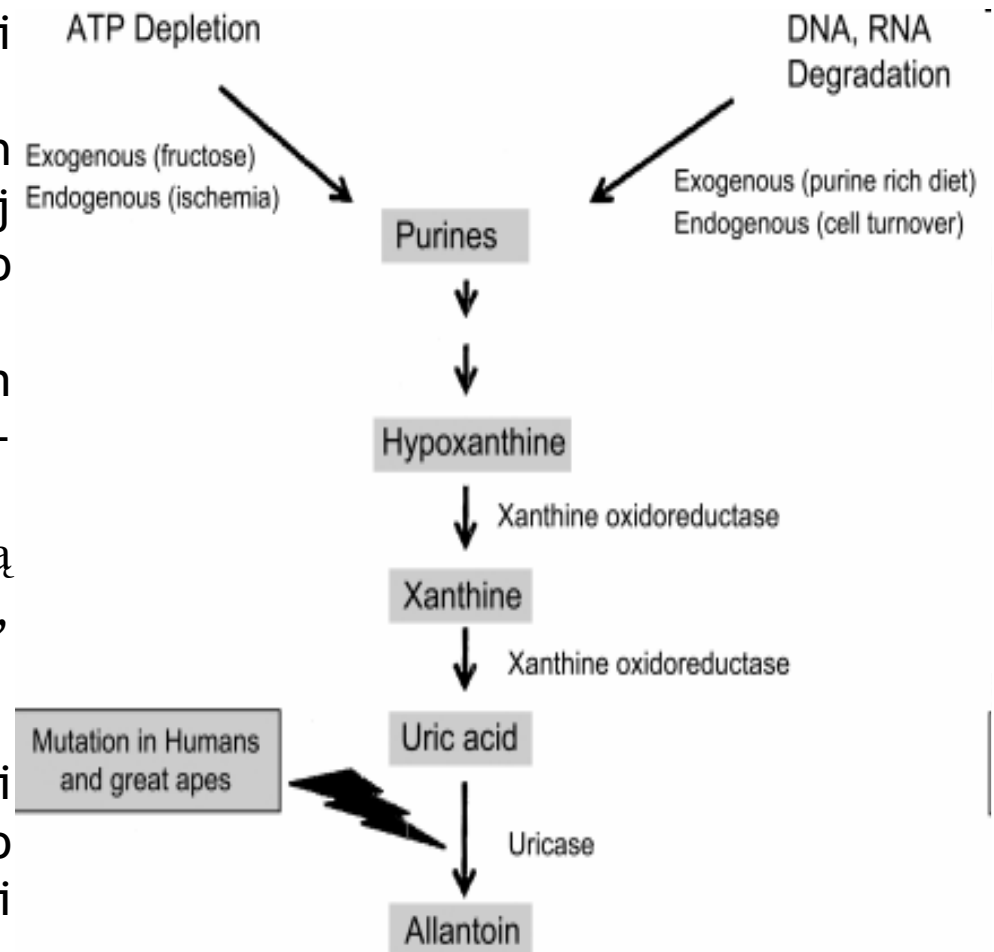
- Kwas moczowy jest końcowym produktem degradacji puryn u ludzi i małp człekokształtnych.

* linia filogenetyczna człowiekowatych utraciła aktywność oksydazy moczanowej (urykazy), enzymu przekształcającego kwas moczowy do alantoiny.

* u pozostałych ssaków końcowym produktem metabolizmu puryn wydzielnym z moczem jest alantoina

* inne kręgowce (np. ryby) rozkładają alantoinę do kwasu alantoinowego, glioksylowego i mocznika

- Stężenie kwasu moczowego we krwi ludzi jest wysokie (200-400 μM), co zwiększa zagrożenie hiperurycemią i ryzyko dny moczanowej





Kwas moczowy jako antyoksydant

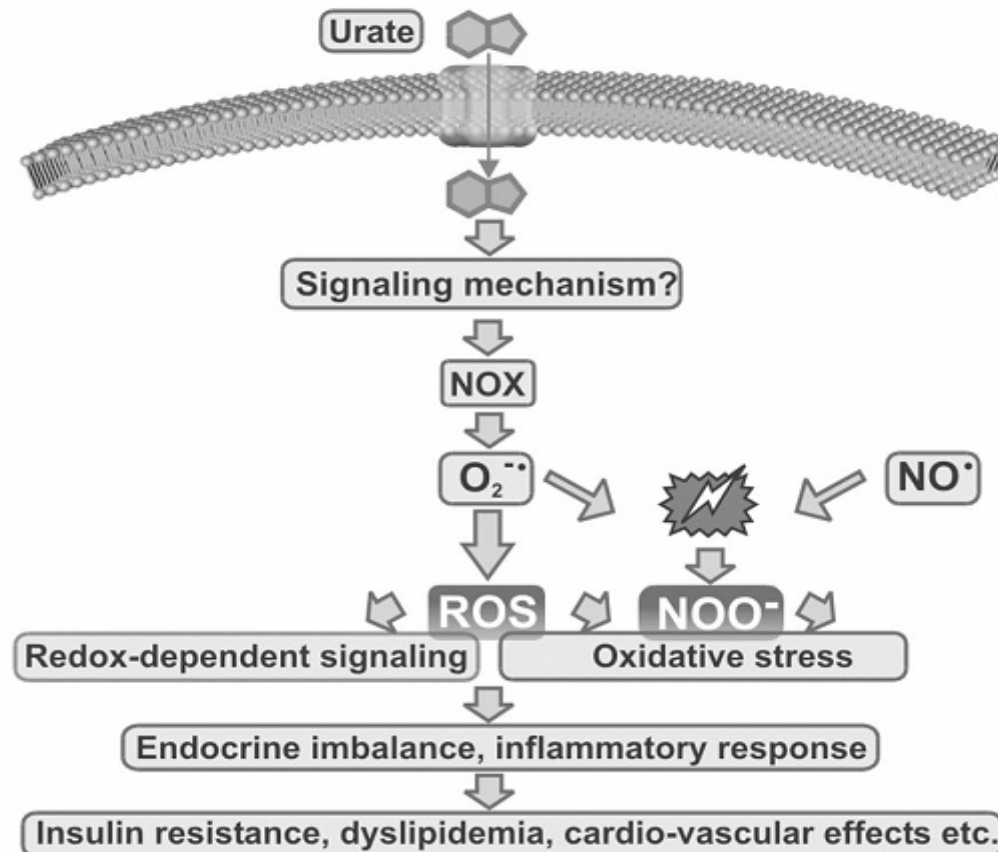
- Korzyścią ewolucyjną pozwalającą na utrwalenie wysokiego poziomu kwasu moczowego mogą być jego właściwości antyoksydacyjne:
 - * kwas moczowy jest zmiataczem tlenu singletowego, rodnika peroxyłowego (RO_2') i rodnika hydroksylowego (HO') oraz nadtlenoazotynu, ale nie anionorodnika ponadtlenkowego,
 - * sugerowano znaczenie antyoksydacyjnego działania kwasu moczowego dla wydłużenia życia i zmniejszenia ryzyka nowotworów.
- Większość doświadczeń wykazujących antyoksydacyjne działanie kwasu moczowego była wykonywana w warunkach in vitro (kwas moczowy dodany do mediów miał działanie cytoprotekcyjne).
 - * we krwi wykazuje działanie antyoksydacyjne i chroni błony komórkowe tylko w obecności askorbinianu,
 - * obecność dwuwęglanów zmniejsza efekty antyoksydacyjne kwasu moczowego,
 - * kwas moczowy jest hydrofilowy, więc nie chroni skutecznie błon komórkowych,
 - * w doświadczeniach in vivo u szczurów i myszy podanie kwasu moczowego chroniło układ nerwowy przed uszkodzeniem spowodowanym udarem,





Kwas moczowy jako pro-oksydant

- W obecności ROS lub ONOO- kwas moczowy jest bardzo szybko degradowany, a produkty jego rozkładu mogą być cytotoksyczne. W wysokich stężeniach lub w obecności jonów $\text{Cu}^+/\text{Cu}^{2+}$ kwas moczowy (lub jego pochodne) może nasilać peroksydację lipidów.

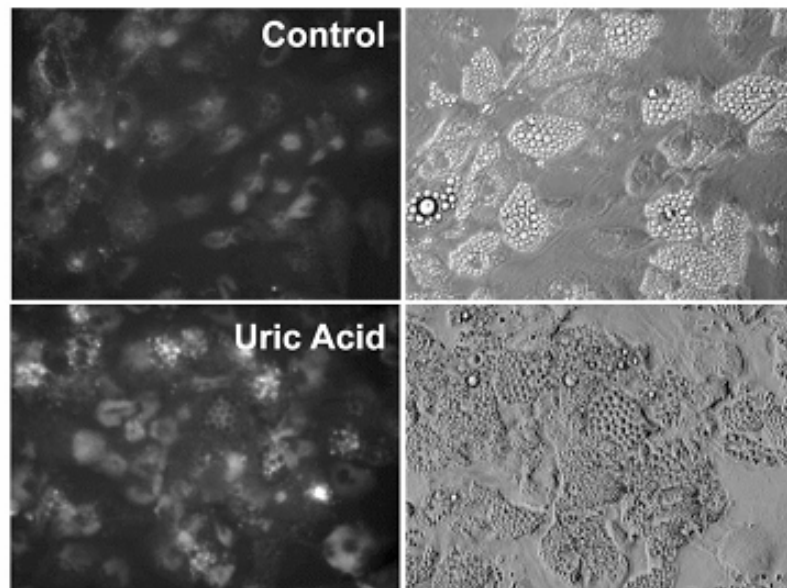




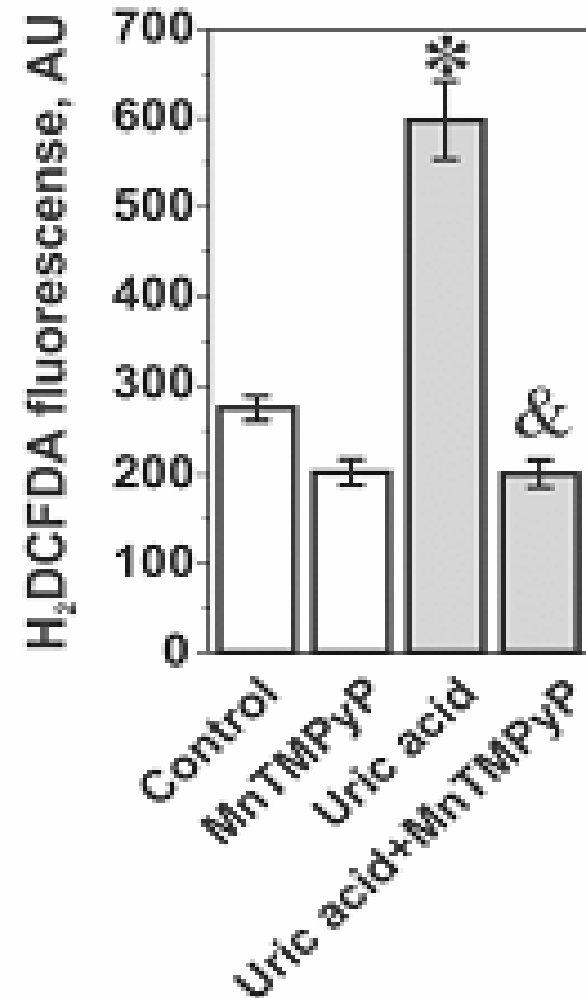
Kwas moczowy jako pro-oksydant

- Inkubacja adipocytów *in vitro* w obecności kwasu moczowego prowadzi do indukcji produkcji ROS, prawdopodobnie poprzez indukcję ekspresji NOX.

Produkcja ROS (fluorescencja H₂DCFDA)

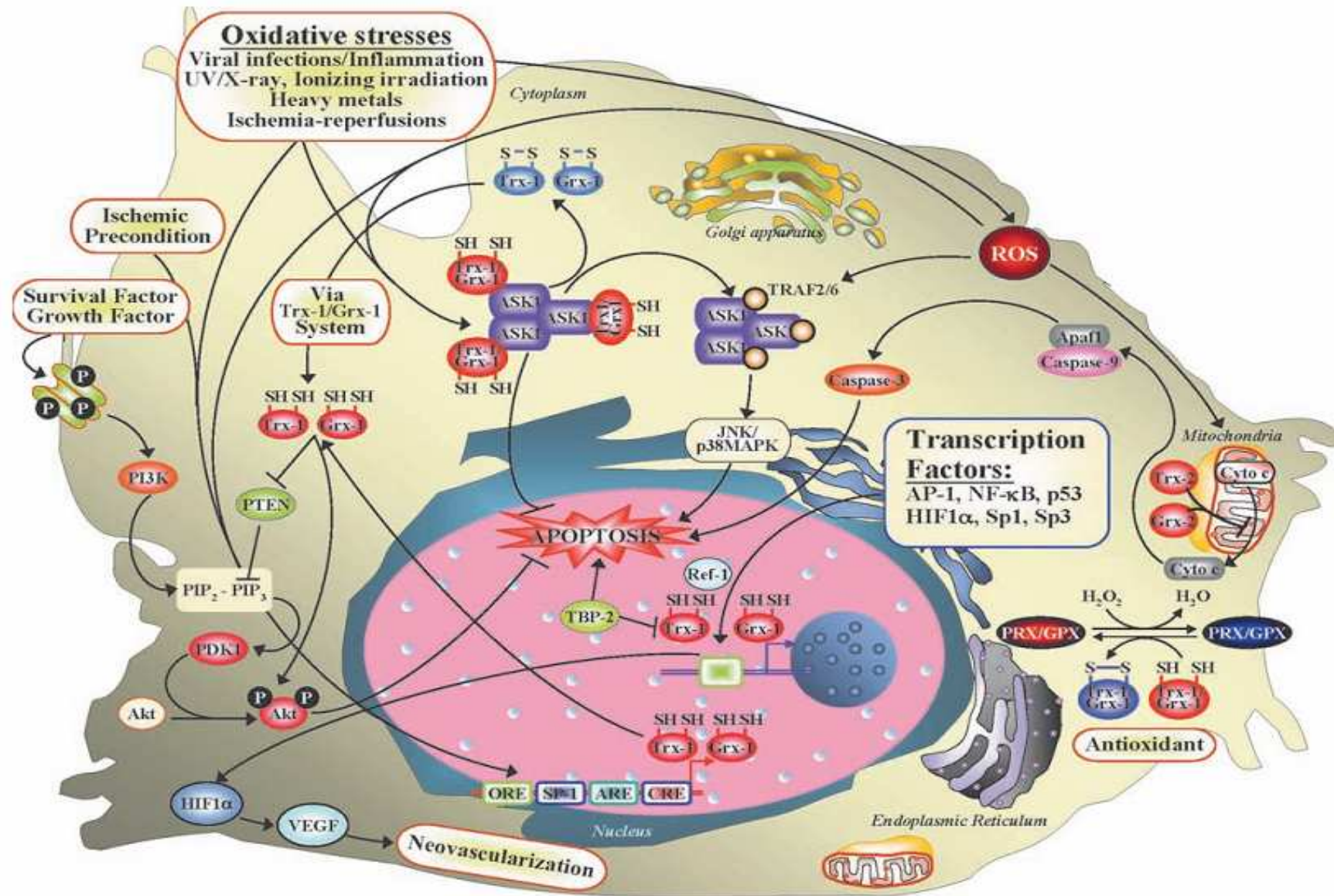


MnTMPyP - odpowiednik SOD, transportowany przez błonę komórkową (działanie kwasu moczowego związane jest z generacją anionorodnika ponadtlenkowego). Takie same efekty dawała inhibicja NOX.





Współdziałanie tioredoksyn i glutaredoksyn





JAGIELLONIAN UNIVERSITY
IN KRAKOW

Dziękuję

Slajdy dostępne na stronie Zakładu Biotechnologii Medycznej