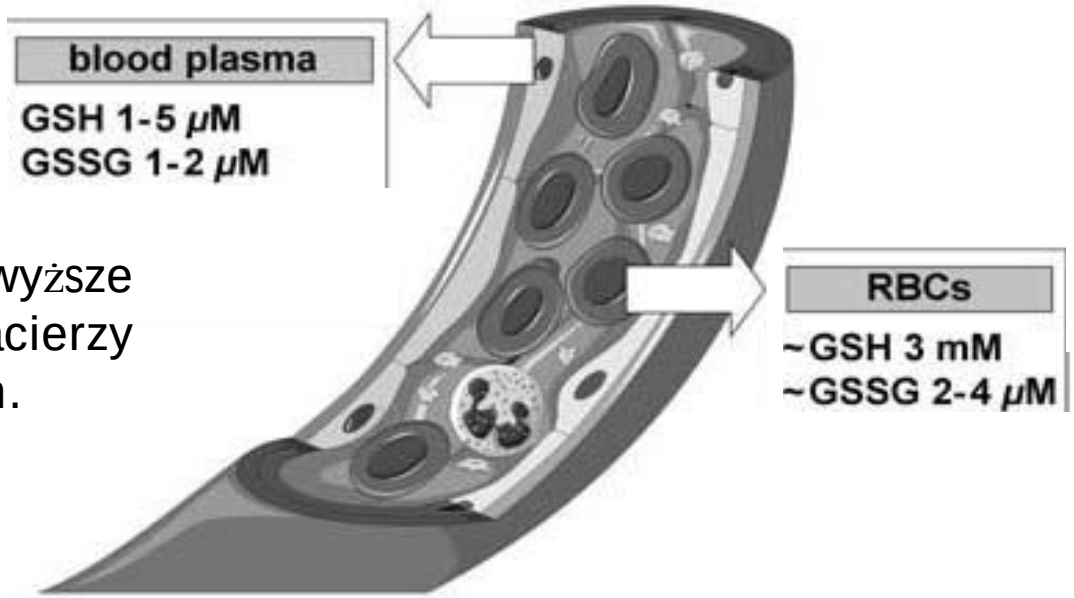
JAGIELLONIAN UNIVERSITY
IN KRAKOW

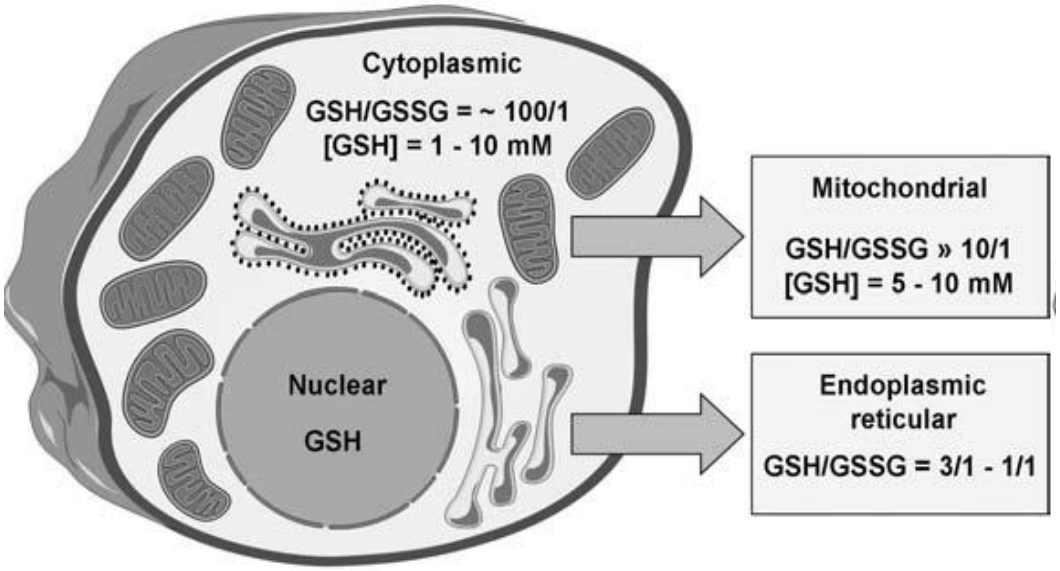
Biochemia stresu oksydacyjnego

Wykład 8
Metabolizm glutationu.
Antyoksydanty drobnocząsteczkowe.

Stężenia glutationu



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



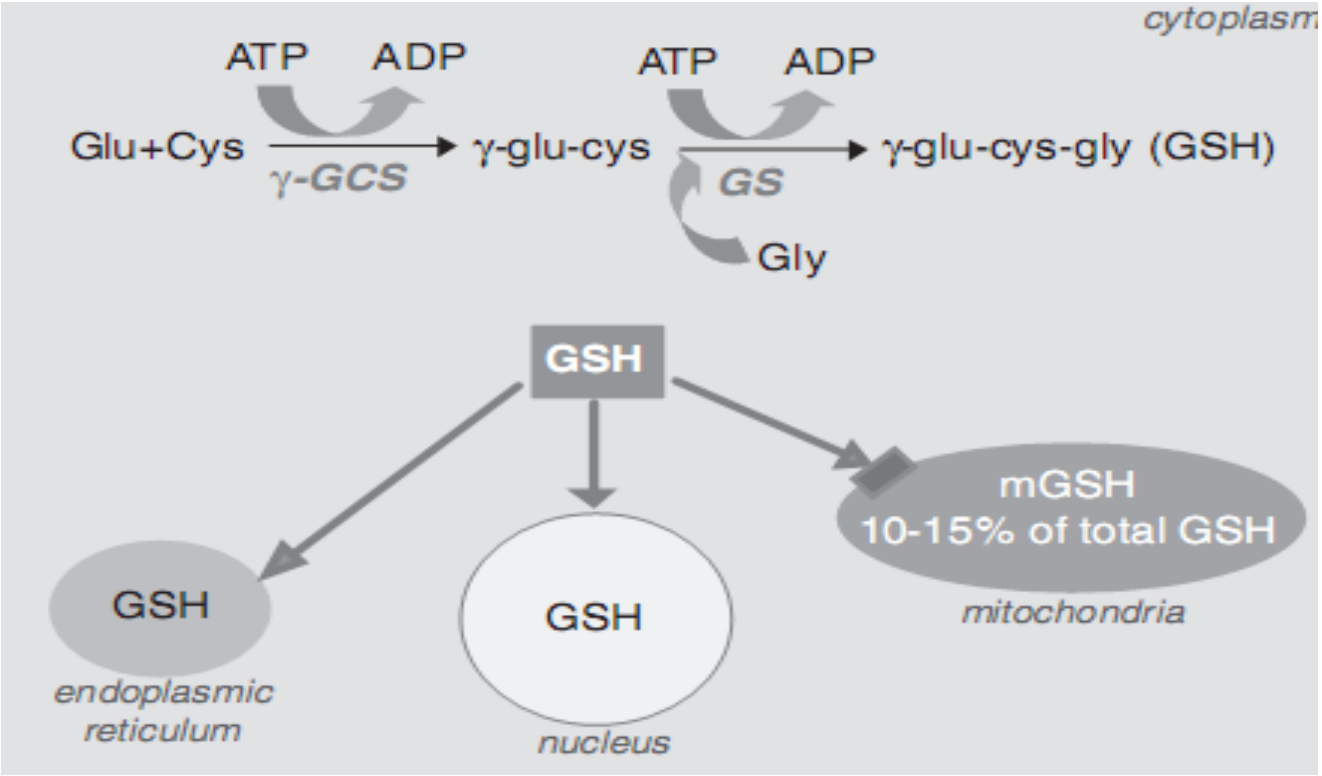
- Stosunek GSH:GSSG jest różny w poszczególnych kompartymentach komórki

Dalle-Donne et al. Antioxidant Redox Signal 2008

Glutation w komórce

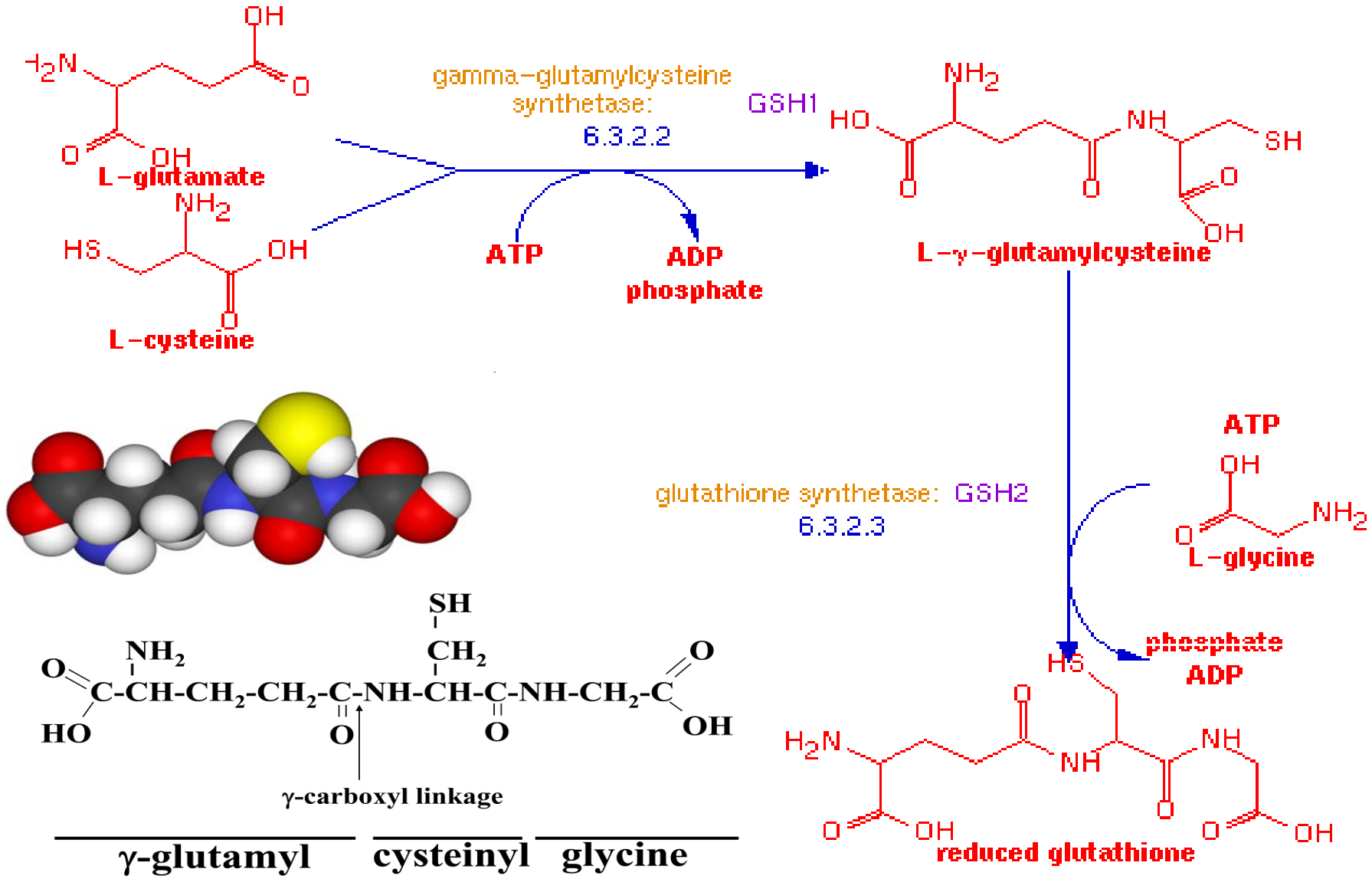
- GSH syntetyzowany jest w cytoplaźmie, a następnie transportowany do mitochondriów i retikulum (przez nośniki oksoglutarowe i dikarboksylowe) oraz do jądra (pasywnie przez pory);

- Degradacja GSH zachodzi zewnątrzkomórkowo przy udziale GGT (γ-glutamylo-transpeptydazy)



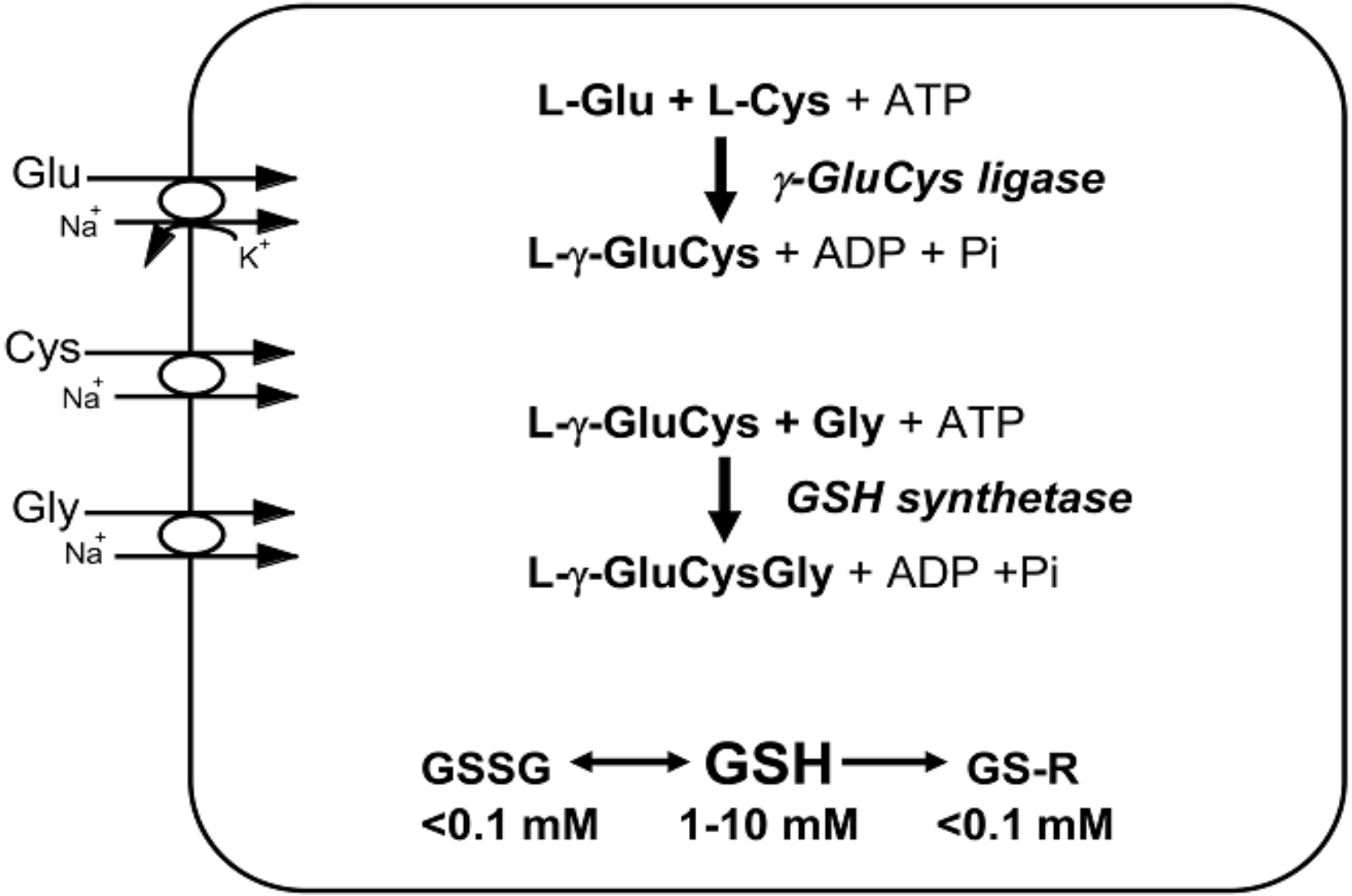
Lu CS. Mol Aspcts Med 2009.

Synteza glutationu



Dalle-Donne et al. Antioxidant Redox Signal 2008

Synteza glutationu



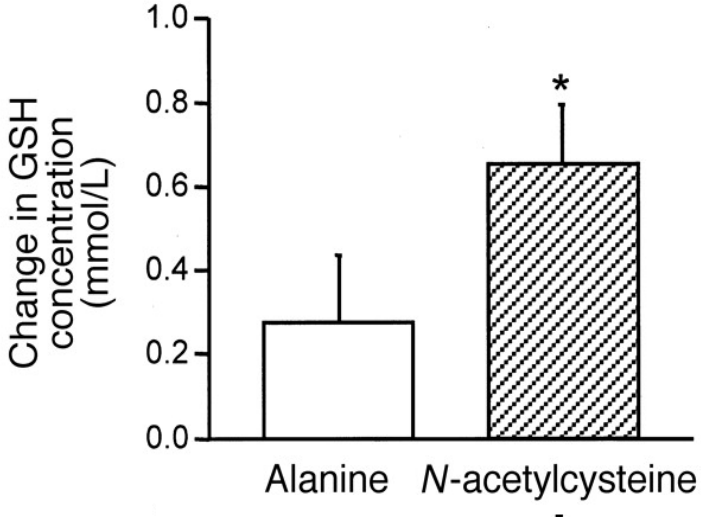
Ballatori et al. Biol Chem 2009.

Syntetazy glutationowe

- Synteza glutationu obejmuje 2 etapy:
  * Synteza γ-glutamylo-L-cysteiny jest katalizowana przez ligazę γ-glutamylo-cysteinową **(GCL)** i stanowi etap regulujący szybkość procesu.
  * Przyłączenie glicyny do γ-glutamylocysteiny 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



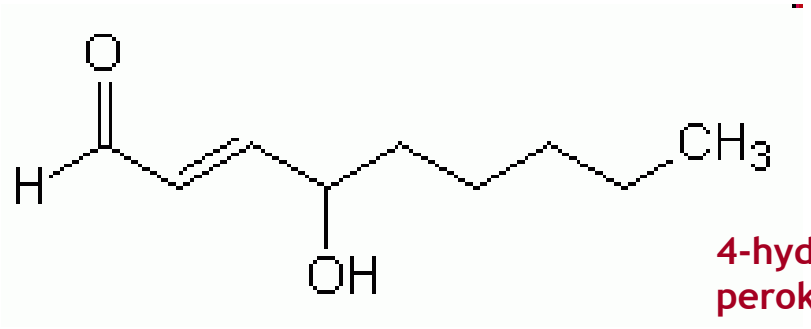
Badaloo et al. Am J Clin Nutr 2002

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 GCL 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 indukowana np. przez TGFβ)

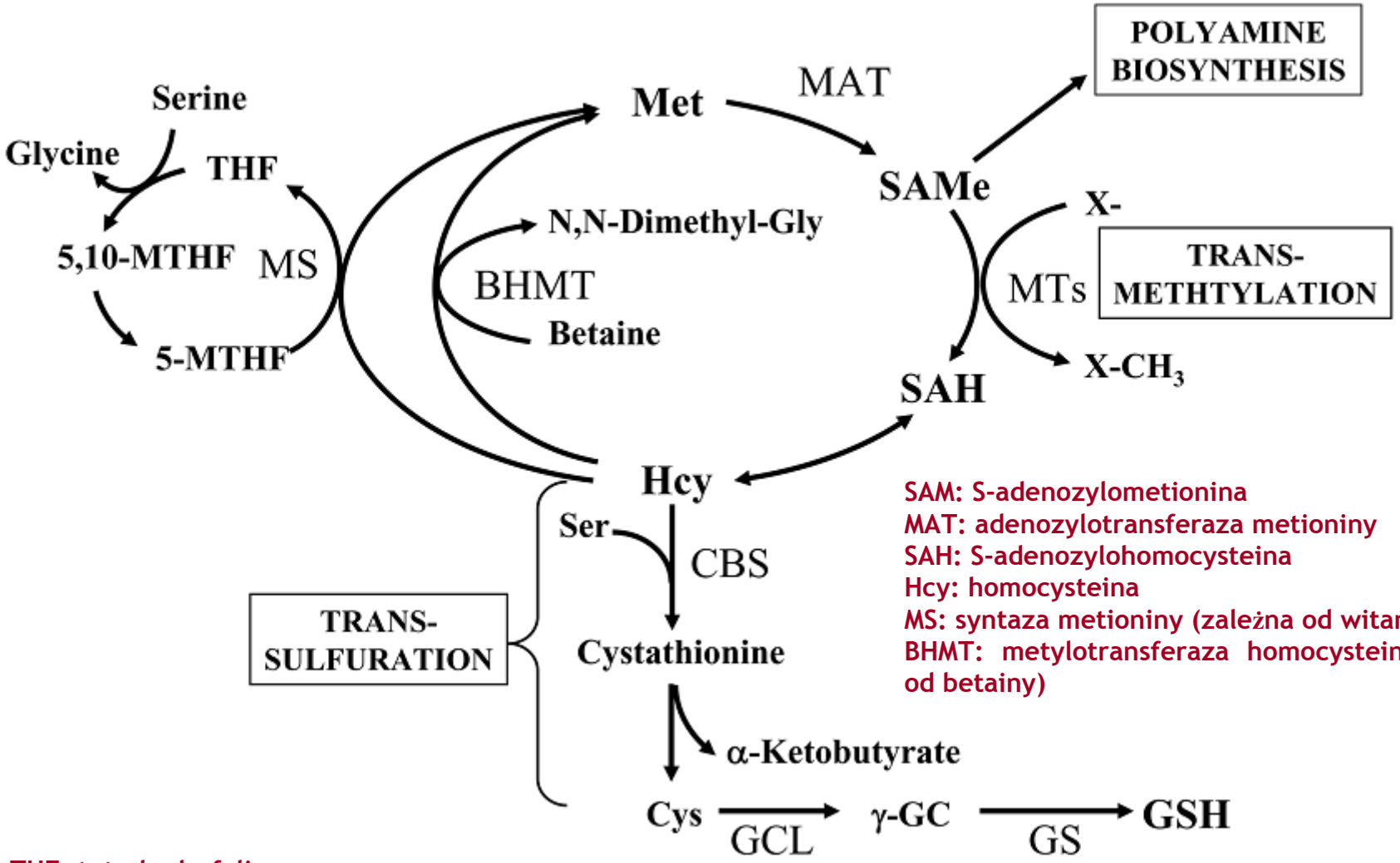
- Syntetaza GSH jest homodimerem. W wątrobie jej aktywność nie wpływa na poziom syntezy GSH. Być może w innych narządach jej ekspresja jest niewystarczająca i może stanowić czynnik ograniczający produkcję GSH.



4-hydroksynonenal (produkt i marker peroksydacji lipidów)

Lu CS. Mol Aspcts Med 2009.

Synteza glutationu w wątrobie

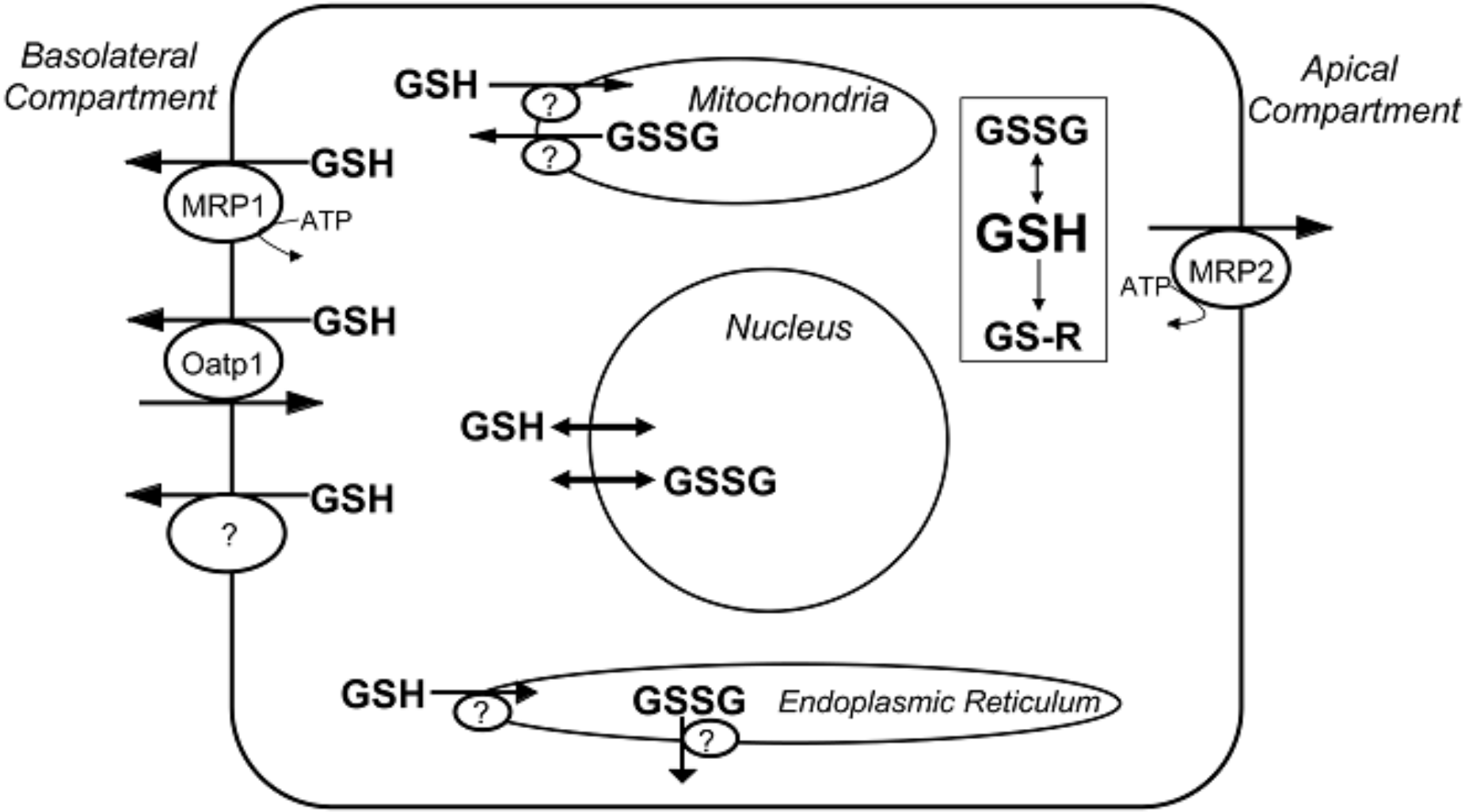


SAM: S-adenozylometionina
MAT: adenozylotransferaza metioniny
SAH: S-adenozylohomocysteina
Hcy: homocysteina
MS: syntaza metioniny (zależna od witaminy B12)
BHMT: metylotransferaza homocysteiny (zależna od betainy)

THF: tetrahydrofolian
MTHF: metylenotetrahydrofolian
CBS: β-syntaza cystationiny (zależna od witaminy B6)

Lu CS. Mol Aspcts Med 2009.

Transport GSH w obrębie komórki

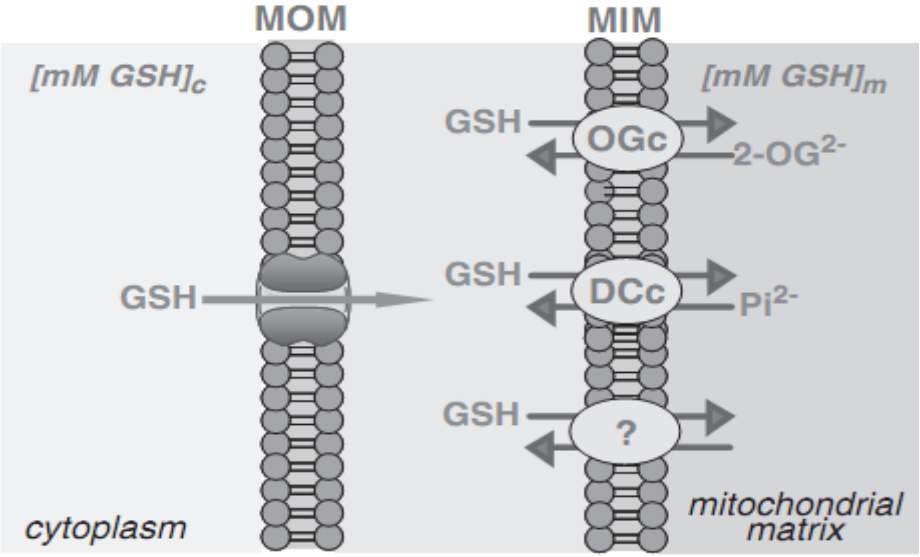


MRP: multidrug resistance-asociated protein; Oatp: organic anion transporting polypeptide

Ballatori et al. Biol Chem 2009.

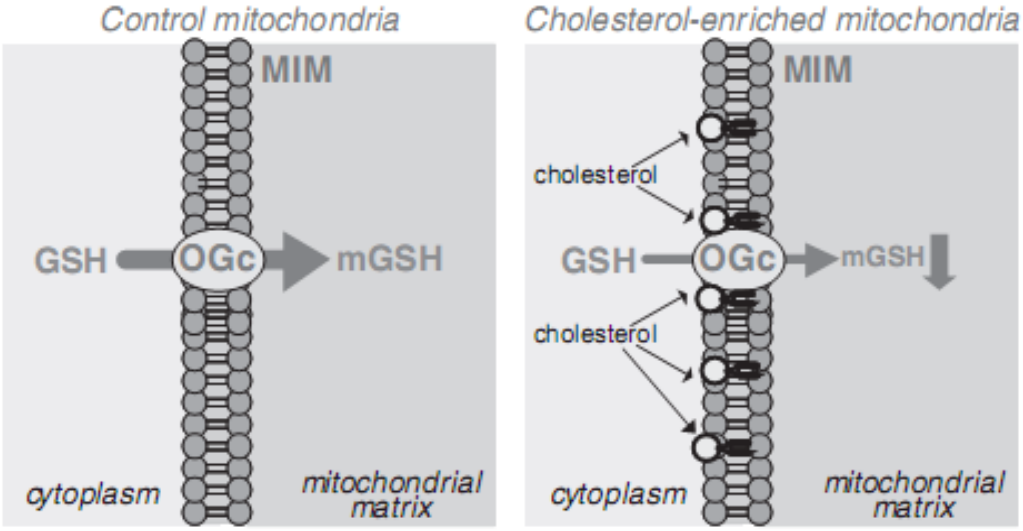
GSH w mitochondriach

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 oksoglutaranowy)

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

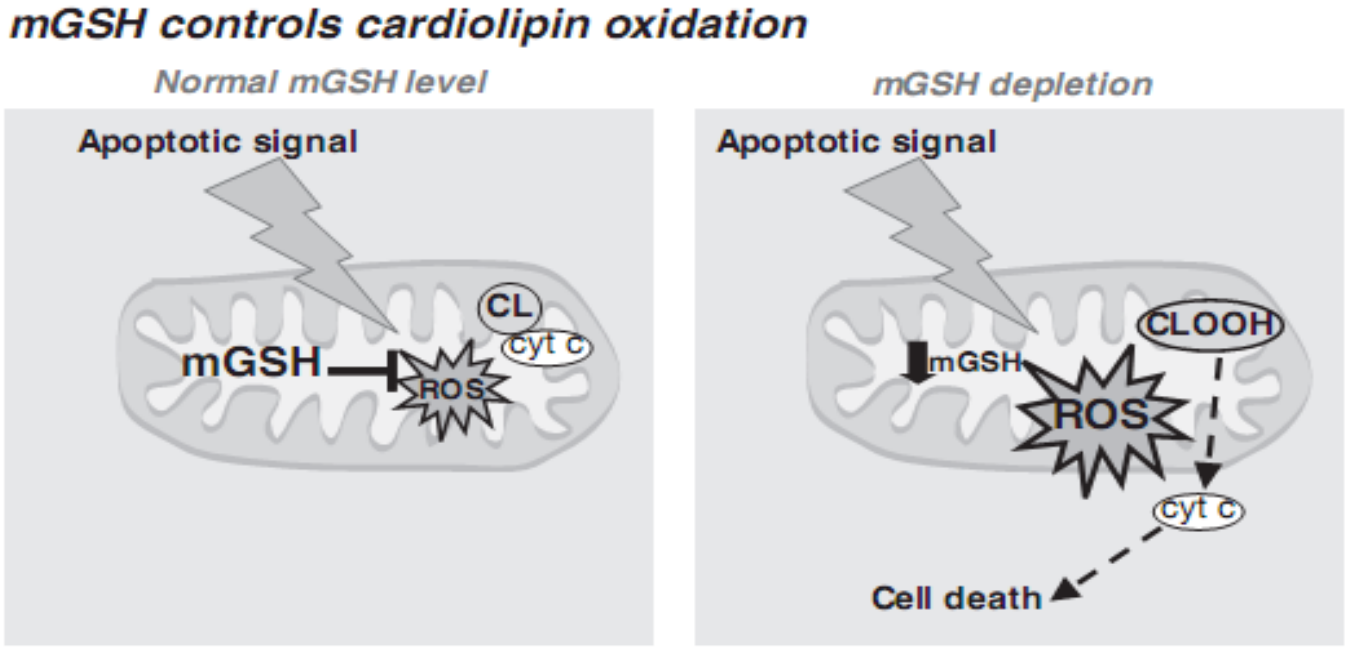


Mari et al. Antioxid Redox Signal 2009

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.



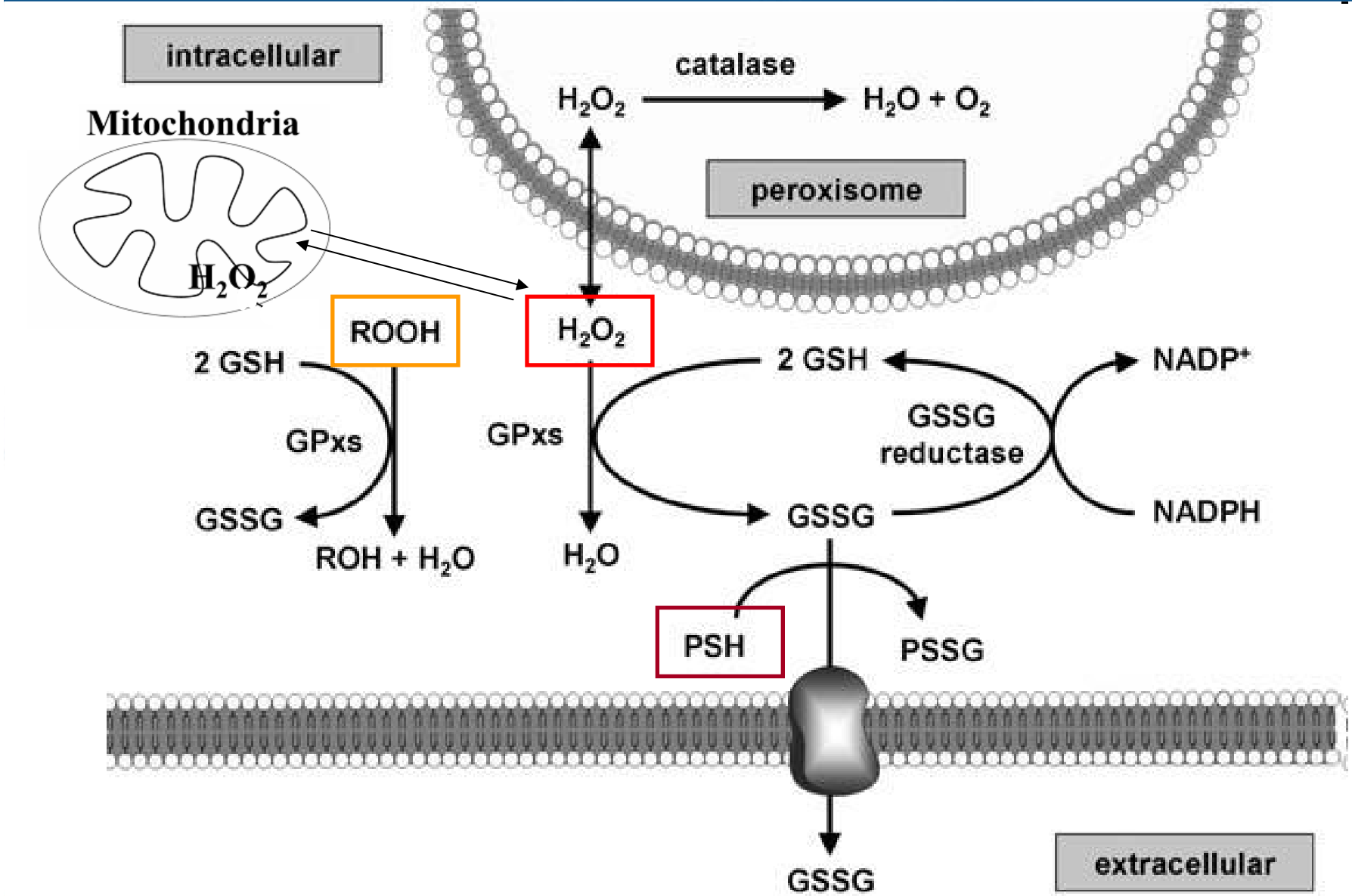
Mari et al. Antioxid Redox Signal 2009

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

Ballatori et al. Biol Chem 2009.

Antyoksydacyjne działanie glutationu



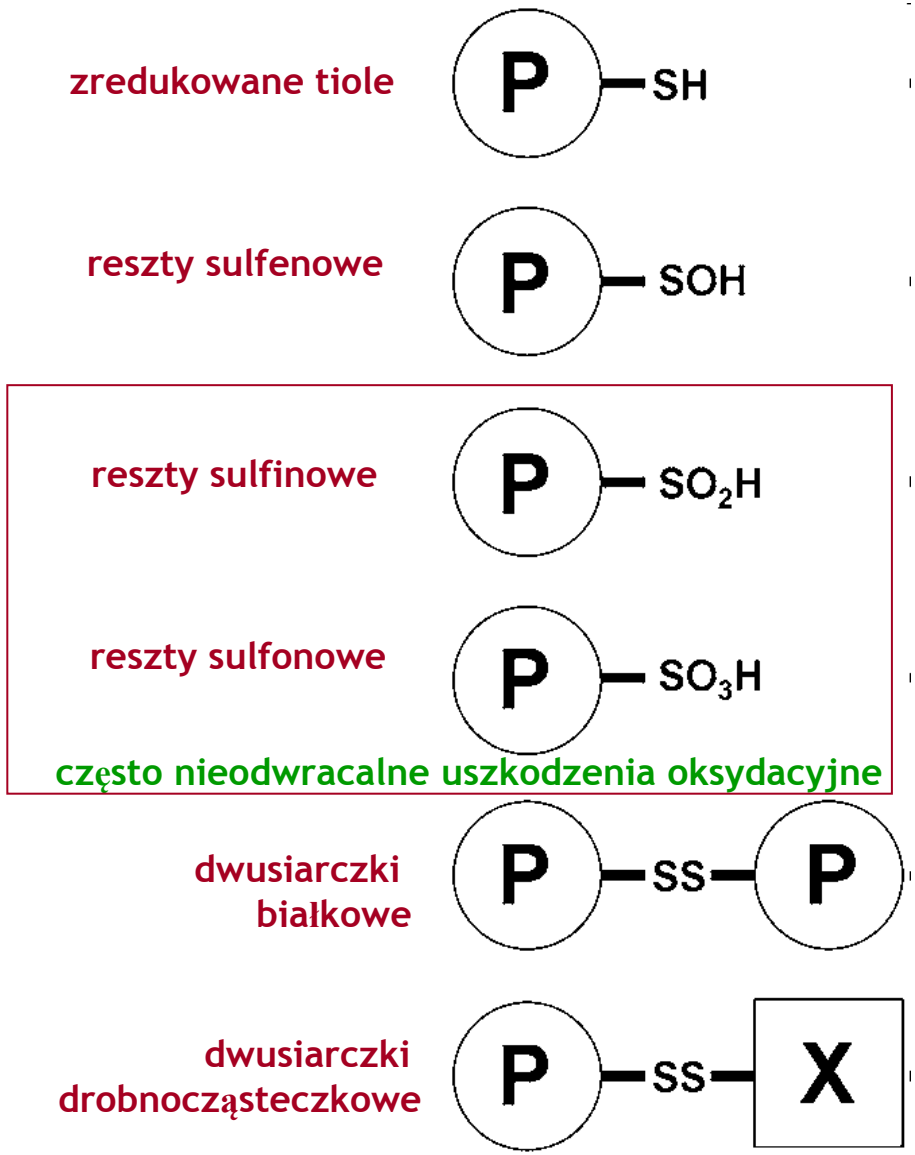
Dalle-Donne et al. Antioxidant Redox Signal 2008

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)

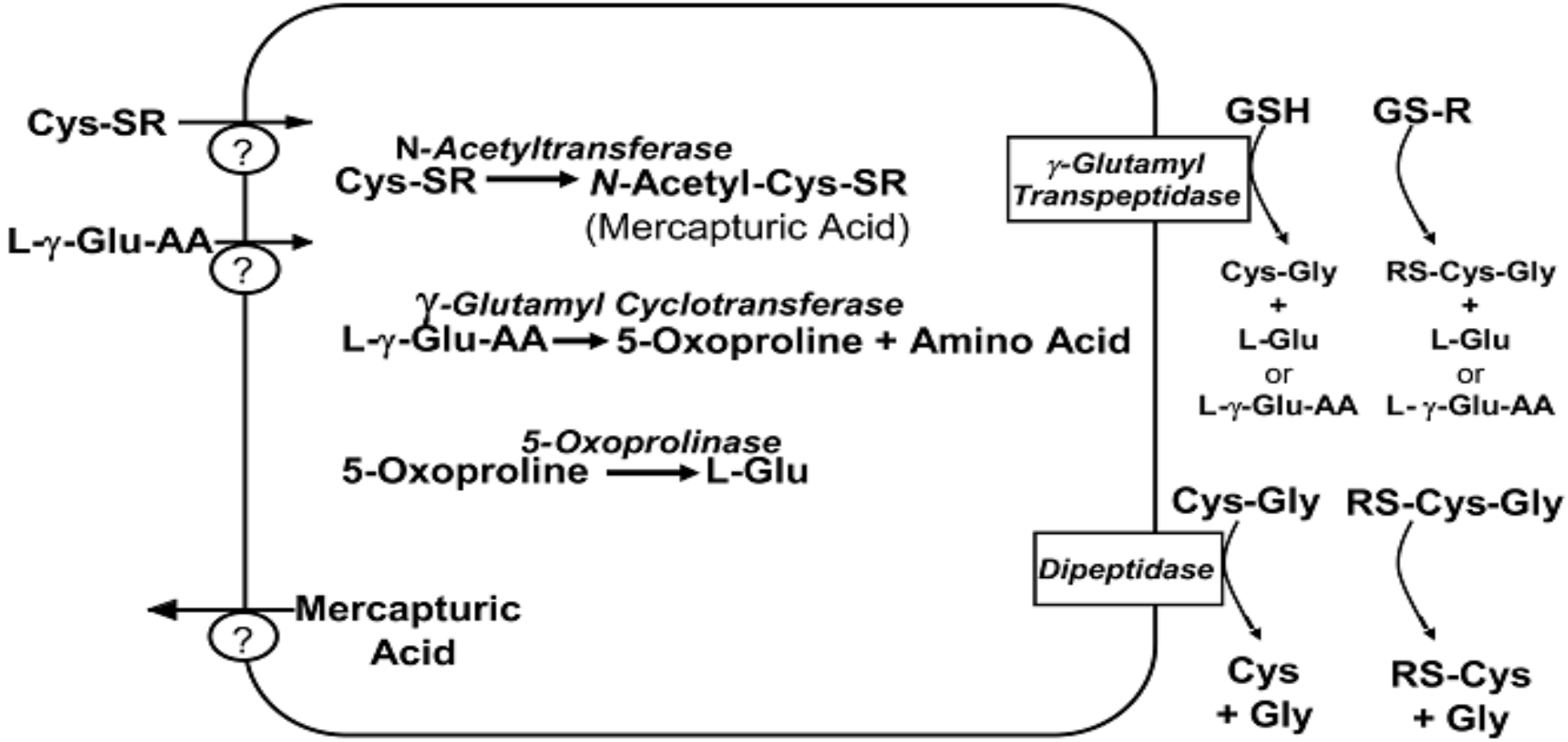
- Wiązania są redukowane przez:
  * tioredoksyny
  * glutaredoksyny
  * peroksyredoksyny



Dalle-Donne et al. Antioxidant Redox Signal 2008

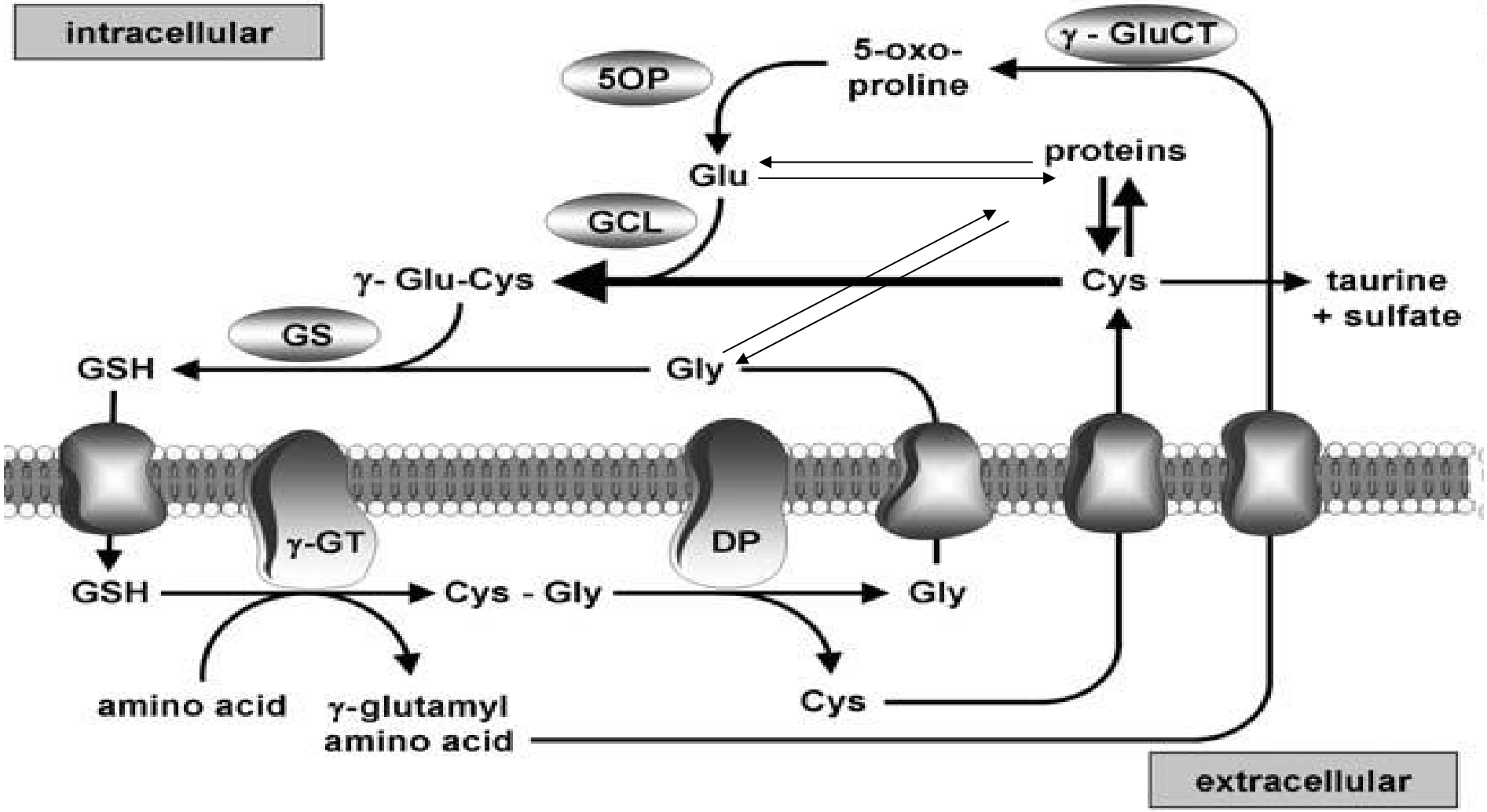
Degradacja glutationu

- 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.



Ballatori et al. Biol Chem 2009.

Degradacja glutationu



Dalle-Donne et al. Antioxidant Redox Signal 2008

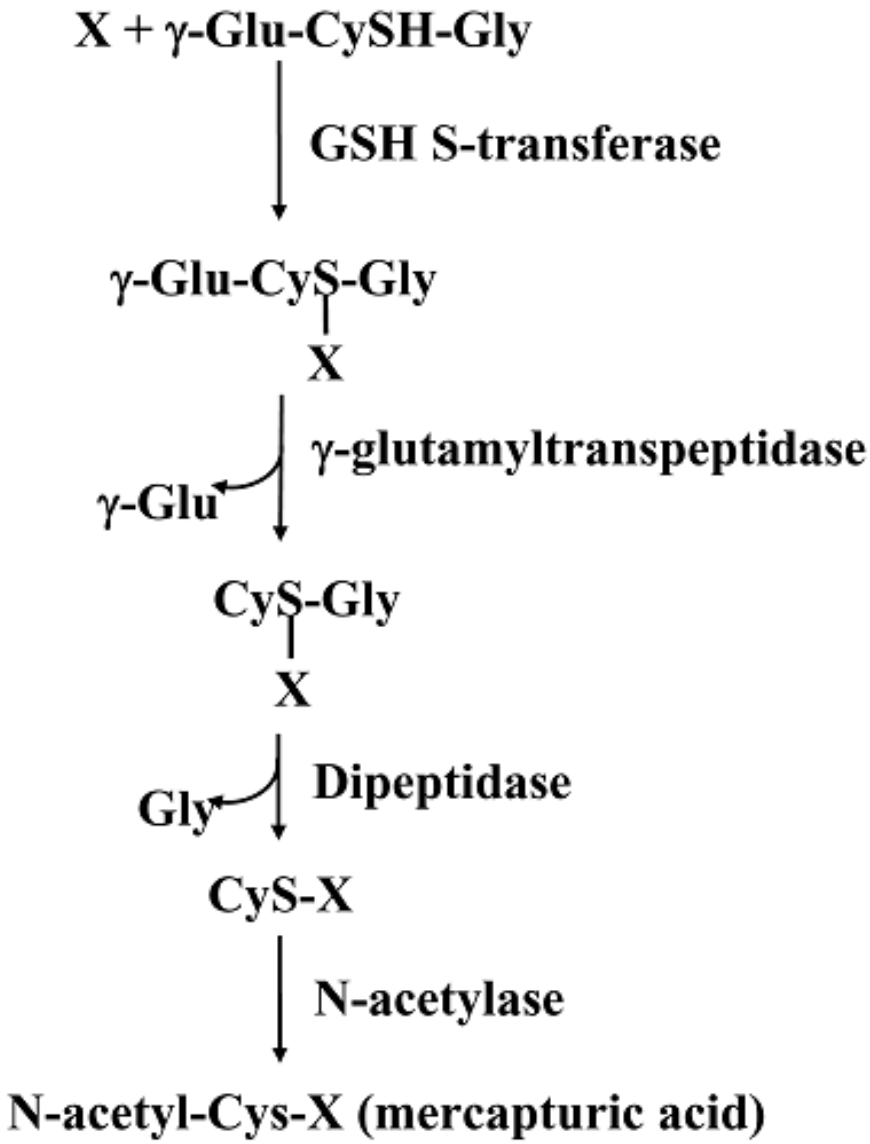
Glutation a detoksyfikacja ksenobiotyków

- 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 GGT, a pozostała cysteinyloglicyna jest rozkładana przez dipeptydazy, uwalniając koniugaty cysteinylowe.

- Koniugaty cysteinowe są N-acetylowane przez N-acetylazę tworząc kwas merkaptomoczowy.

- Tworzenie koniugatów z elektrofilami nieodwracalnie zużywa wewnątrzkomórkowy GSH.



Lu CS. Mol Aspcts Med 2009.

Reakcje glutationu

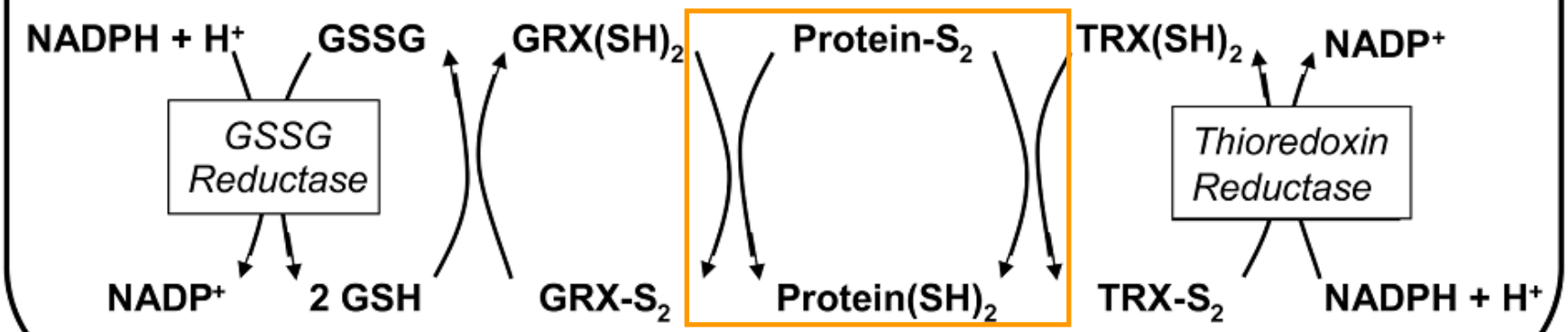
GSH + Electrophiles $\xrightarrow{GST}$ GS-R

GSH + Oxidants $\xrightarrow[\text{or } PRX]{GPX}$ GSSG or GS-SR (*e.g.*, GS-protein)

GSH + Radicals $\longrightarrow$ GS· or GS-R (*e.g.*, GS-NO)

GSH + Metals $\longleftrightarrow$ GS-M or GS-M-SG

GSH + Disulfides (*e.g.*, Protein-S-SG $\longleftrightarrow$ Protein-SH + GSSG)

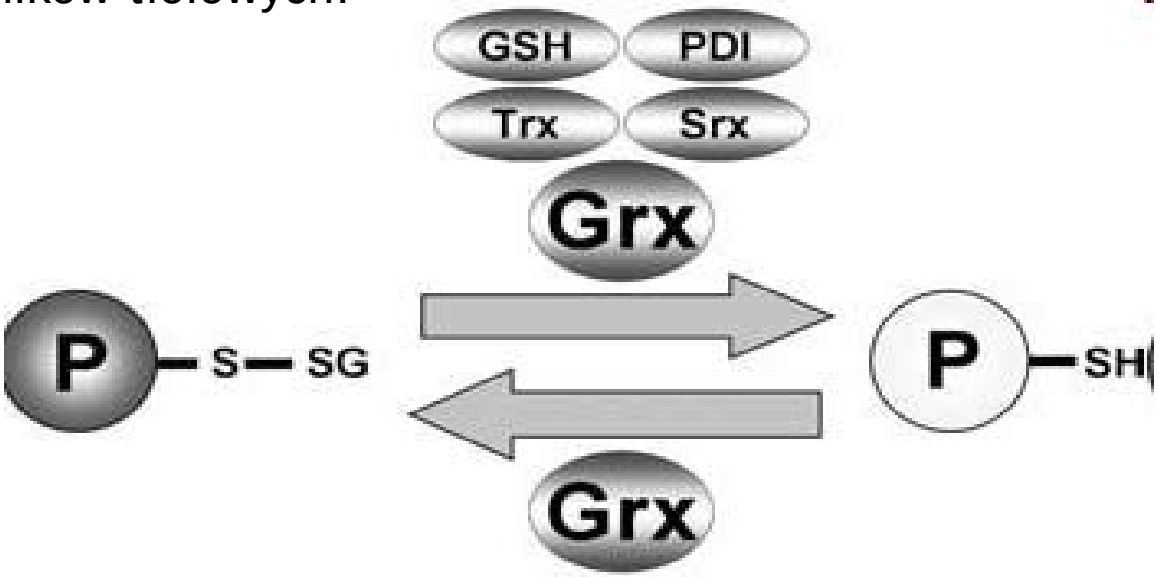


Ballatori et al. Biol Chem 2009.

Deglutationylacja białek

- Deglutationylacja białek (odtworzenie grup tiolowych) może zachodzić dzięki:
  * bezpośredniej reakcji wymiany z GSH (po przywróceniu właściwego stosunku GSH:GSSG w komórce)
  * reakcjom katalizowanym przez glutaredoksyny (Grx)/reduktazy glutationowe
  * reakcjom katalizowanym przez tioredoksyny (Trx)/reduktazy tioredoksynowe
  * reakcjom katalizowanym przez izomerazy dwusiarczkowe (PDI) i sulfiredoksyny (Srx) - enzymy z rodziny tioredoksyn.

- Glutaredoksyny mogą także katalizować S-glutationylację niektórych białek w obecności rodników tiolowych.



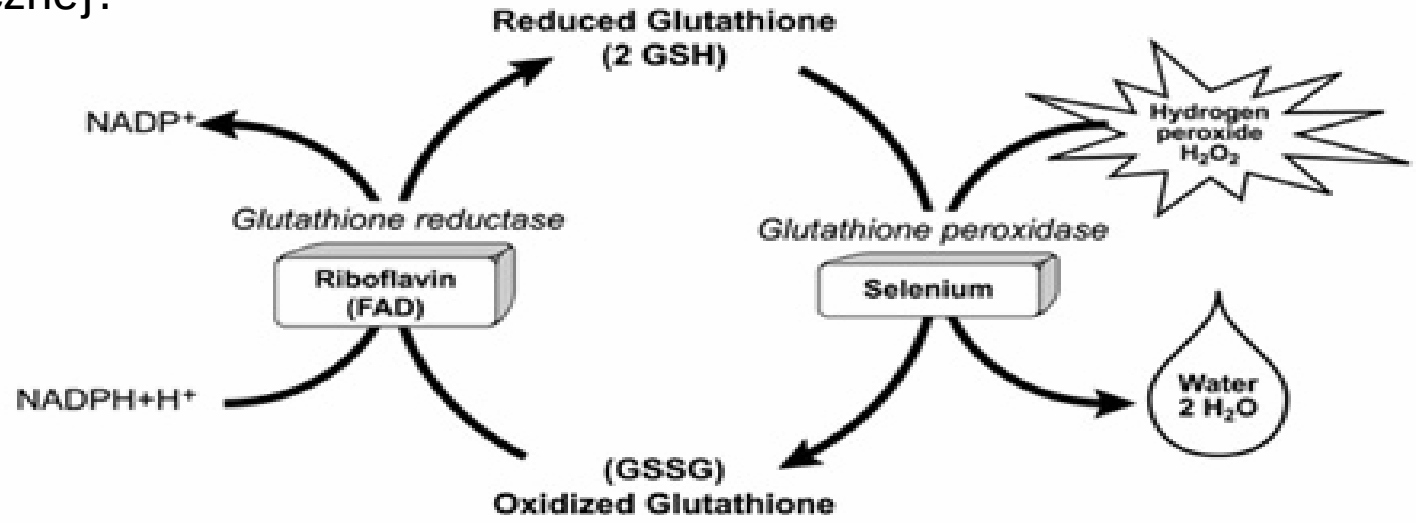
Dalle-Donne et al. Antioxidant Redox Signal 2008

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.



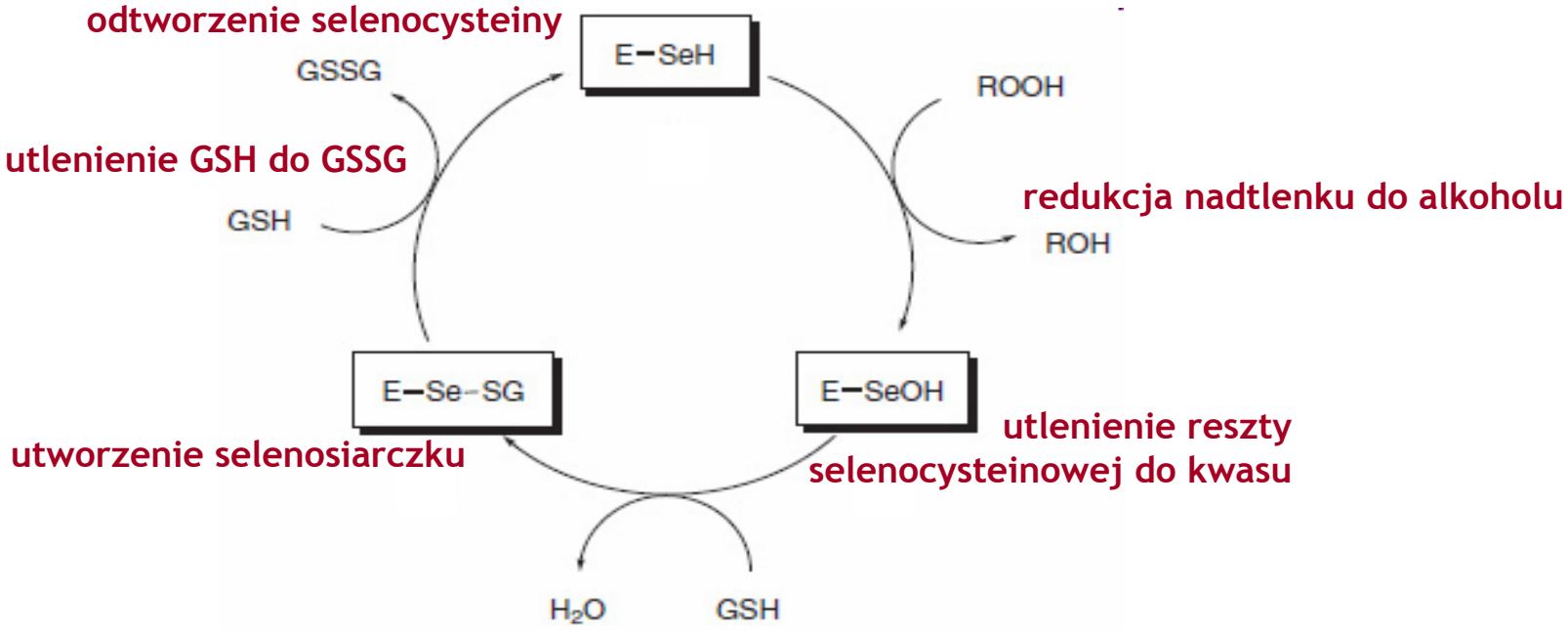
Mari et al. Antioxid Redox Signal 2009

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)

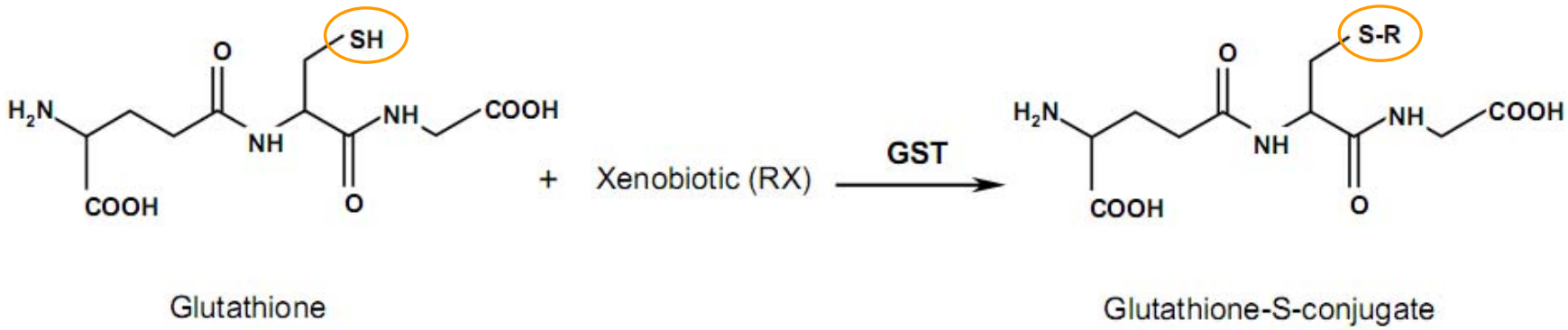
- Aktywność GPx jest stosunkowo niska w komórkach β-trzustki i nie jest nasilana (jak w innych typach komórek) przez wysoki poziom glukozy.



Ballatori et al. Biol Chem 2009.

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 peroksysomach.

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

Mari et al. Antioxid Redox Signal 2009

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 proliferacje 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 członkowie 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 zwiazane z mikrotubulami nabłonka płucnego,
  * TRX-80 - produkt modyfikacji posttranslacyjnej, 10 kDa fragment Trx-1,
  * nukleoredoksyna (w jądrze) - wpływająca na aktywność NFκB, AP-1, CREB,
  * wiele białek w retikulum.

Ahsan et al. Antioxid Redox Signal 2009

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.

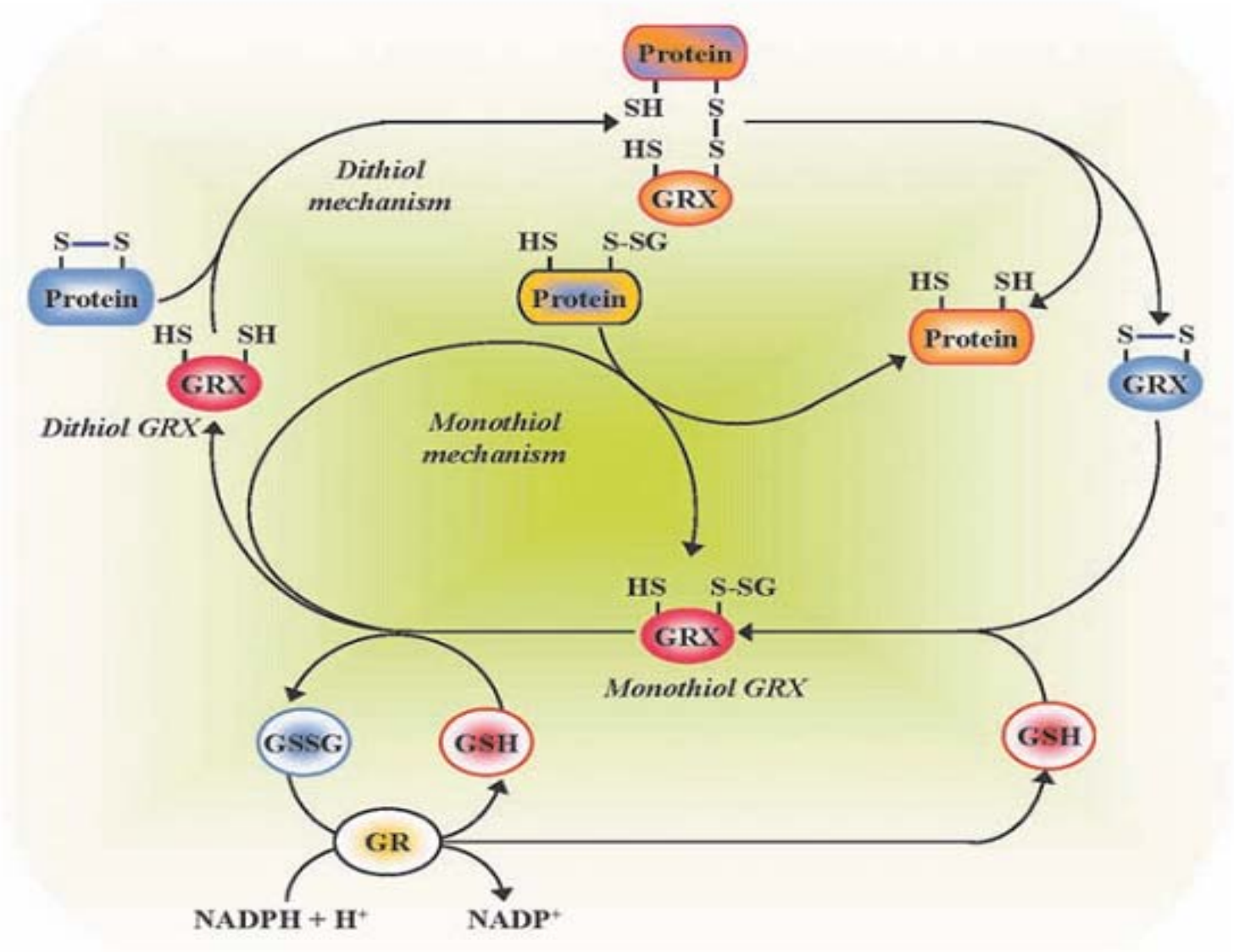
- Glutaredoksyny, zależne od GSH oksydoreduktazy dwusiarczkowe, katalizują redukcję dwusiarczków białkowych i odtwarzają grupy tiolowe.

- 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 PKCθ
  * Grx-5: białko mitochondrialne

ekspresja Grx w zdrowej aorcie wieńcowej

Mari et al. Antioxid Redox Signal 2009

Glutaredoksyny

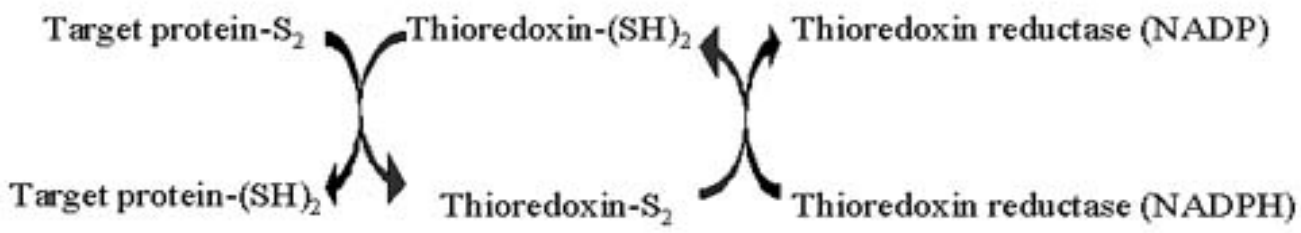


Ahsan et al. Antioxid Redox Signal 2009

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:
  * Tioredoksyny
  * Glutaredoksyny
  * GSSG,
  * H_2O_2,
  * lipoaminy,
  * alloksan.



$$\mathrm{Trx{-}(SH)_2 + GSSG \rightarrow Trx{-}(S)_2 + 2GSH}$$

$$\mathrm{H_2O_2 + Trx{-}(SH)_2 \xrightarrow{TPx} Trx{-}(S)_2 + 2H_2O}$$

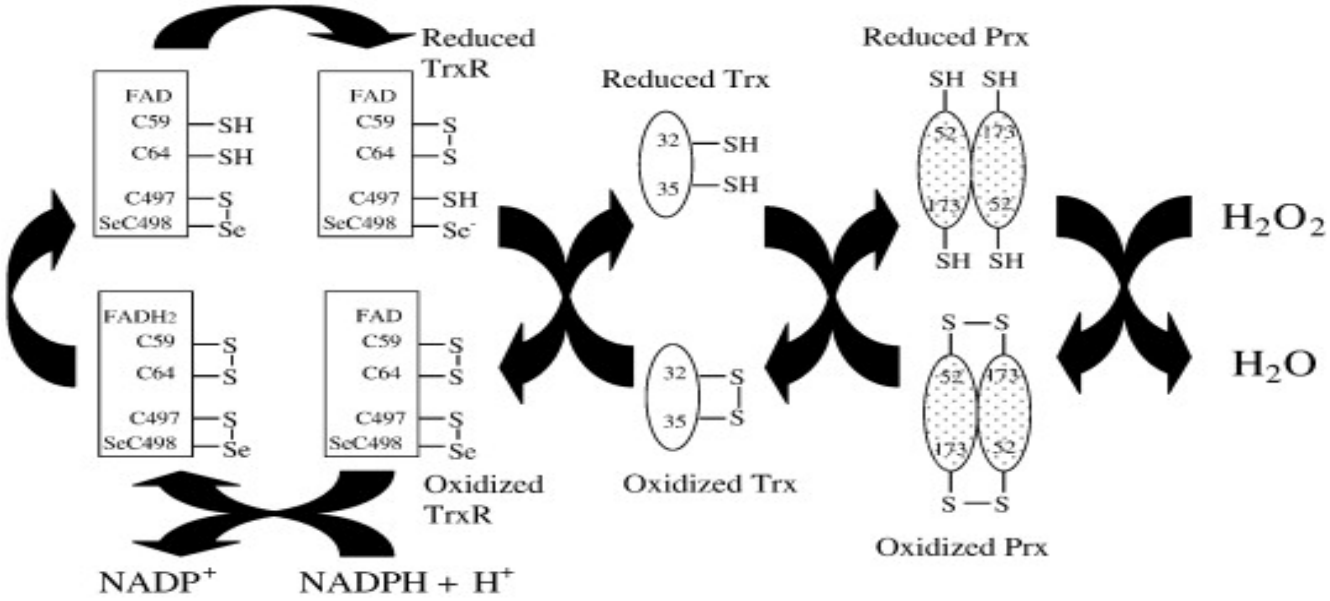
$$\mathrm{Trx{-}(S)_2 + NADPH + H^+ \xrightarrow{(TR)} Trx{-}(SH)_2 + NADP^+}$$

Ahsan et al. Antioxid Redox Signal 2009

Peroksyredoksyny (Prxs)

- Peroksydazy grup tiolowych wykorzystujące Trx jako donory wodoru. Redukują:
  * nadtlenek wodoru
  * wodoronadtlenki lipidowe

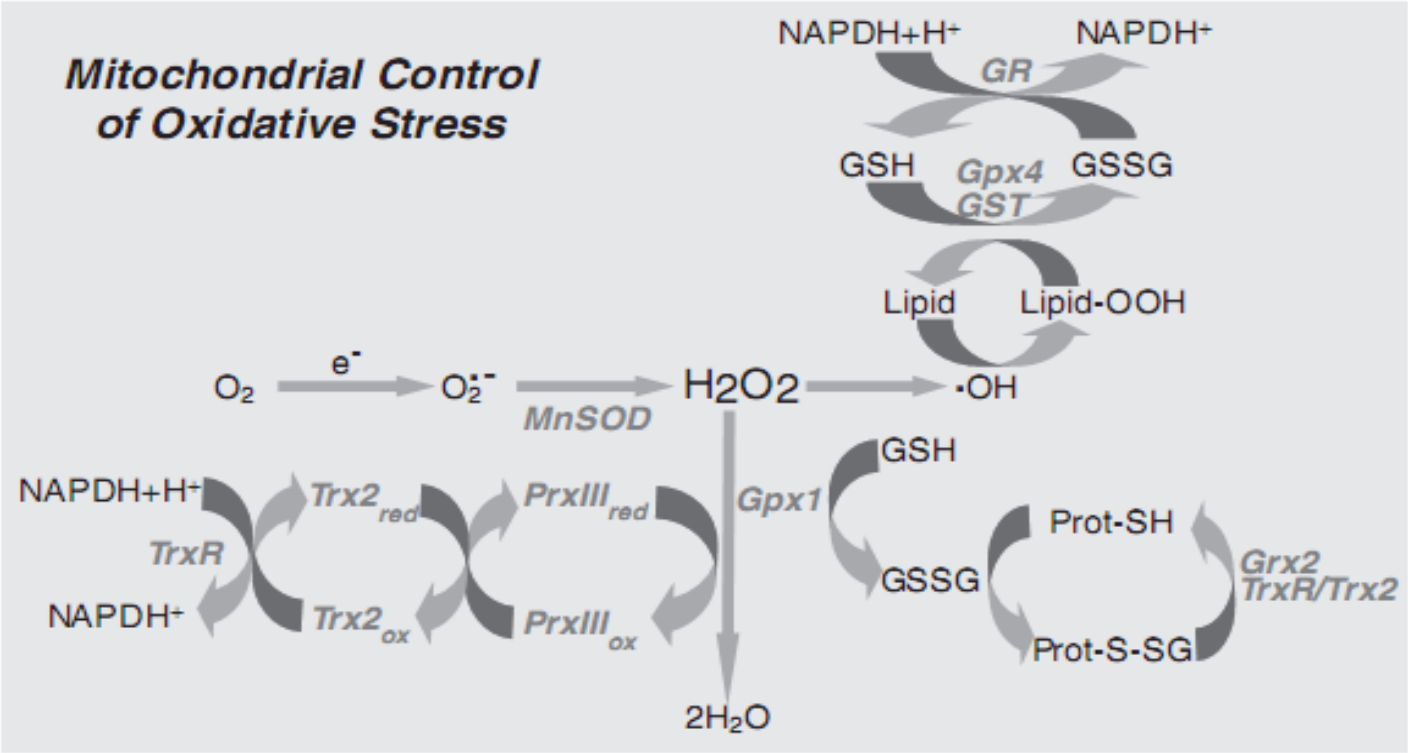
- Znane formy typowych Prxs (z dwoma aktywnymi cysteinami):
  * Prx-I: białko cytozolowe
  * Prx-II: białko cytozolowe
  * Prx-III: białko mitochondrialne
  * Prx-IV: białko cytozolowe, wydzielane z komórki



Nakamura et al. Adv Drug Deliver Rev 2009

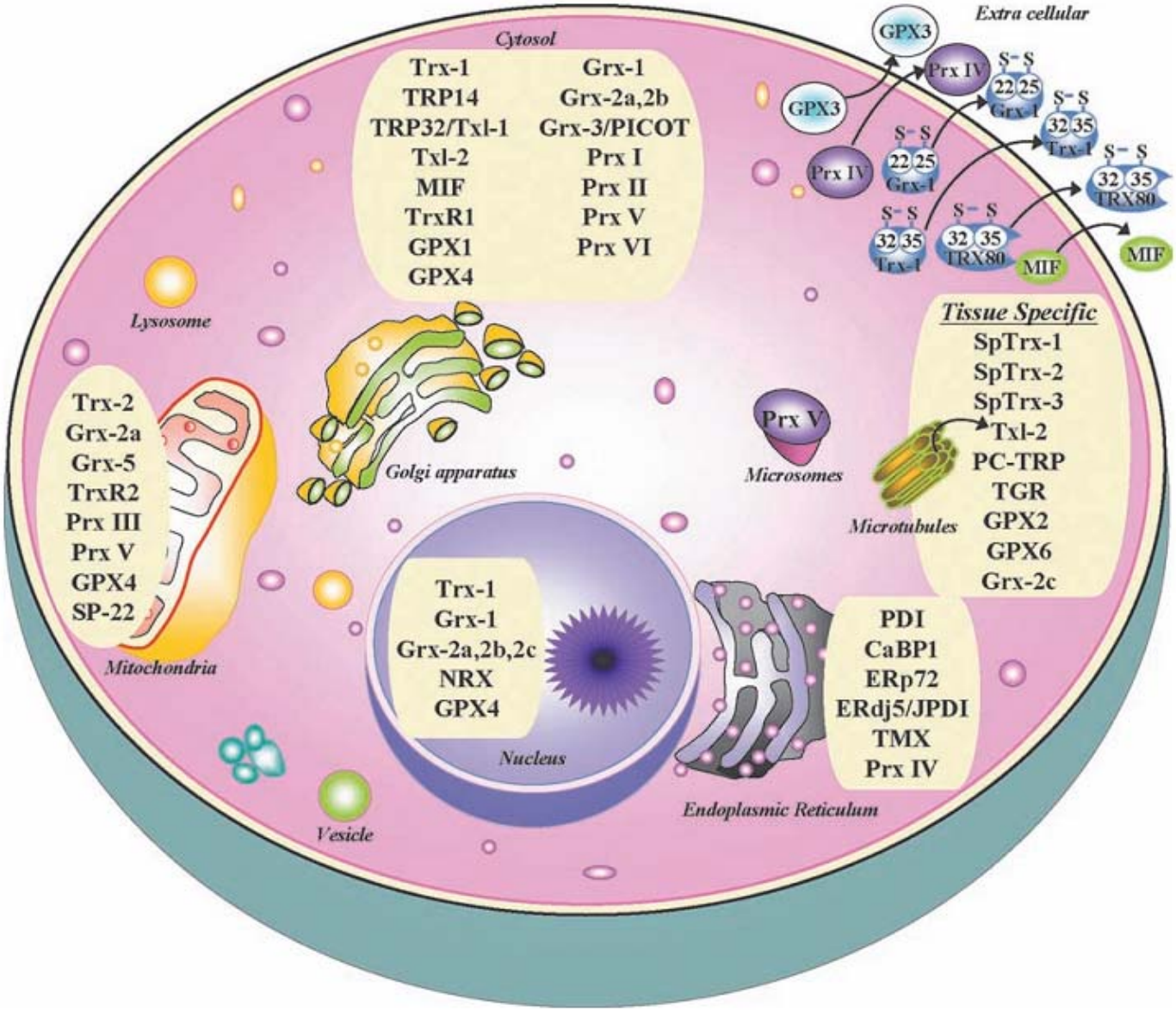
Systemy antyoksydacyjne w mitochondriach

- 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)



Ahsan et al. Antioxid Redox Signal 2009

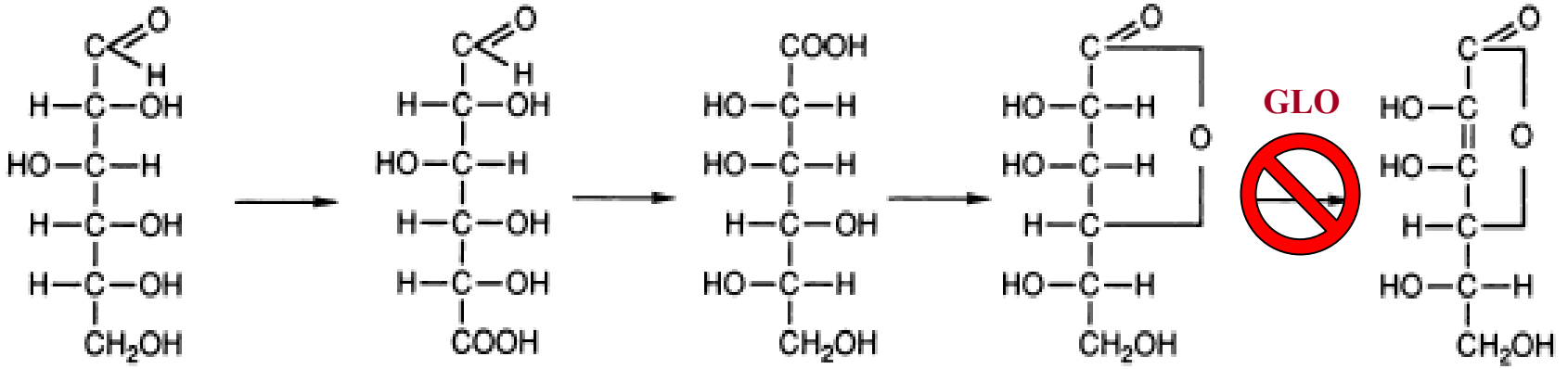
Tioredoksyny i glutaredoksyny



Ahsan et al. Antioxid Redox Signal 2009

Witamina C

- Witamina C (kwas askorbinowy, w fizjologicznym pH występujący jako askorbinian) działa w komórkach jako:
  * przeciwutleniacz
  * kofaktor enzymów (zwłaszcza hydroksylaz)
  * naczelne (i świnki morskie) nie mogą syntetyzować witaminy C z powodu braku oksydazy gulonolaktonowej (GLO)



D-Glucose → D-Glucuronic Acid → L-Gulonic acid → L-Gulono-γ-lactone ⊘ GLO → L-Ascorbic acid

Wilson JX. Biofactors 2009

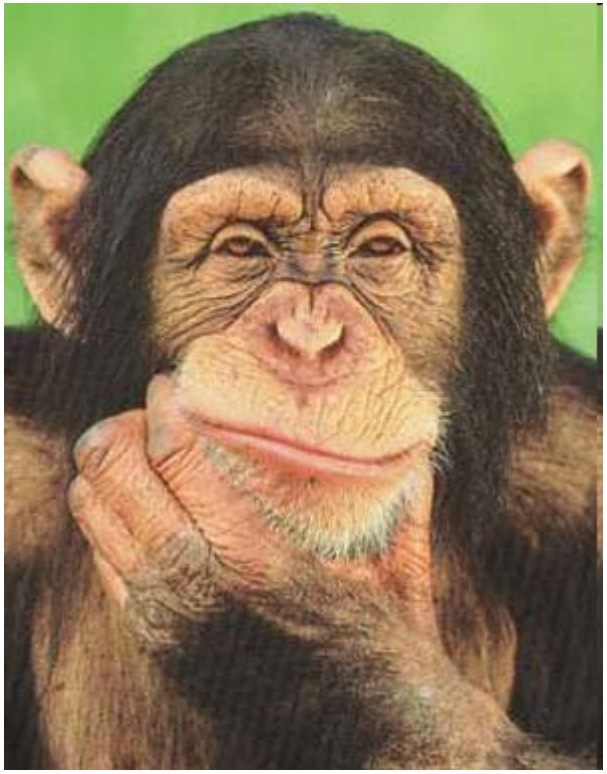
Witamina C u naczelnych

- 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.



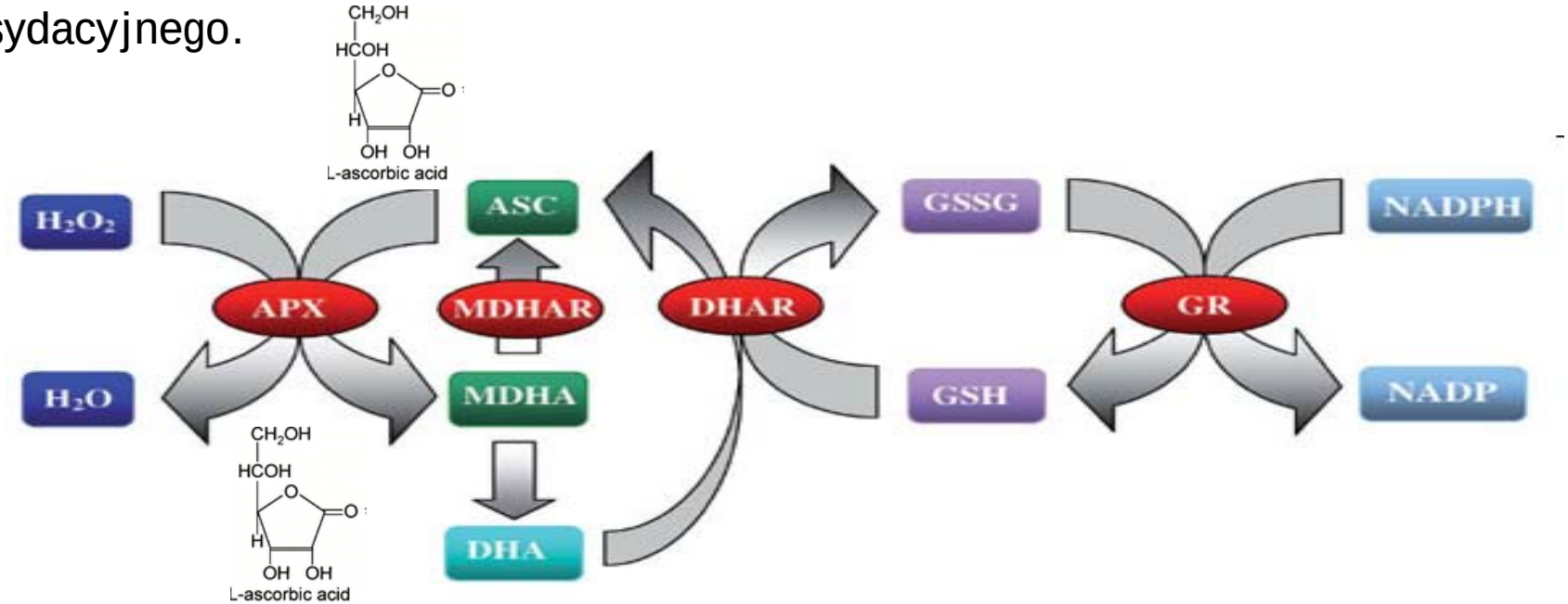
Wilson JX. Biofactors 2009

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. Możę 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

Wilson JX. Biofactors 2009

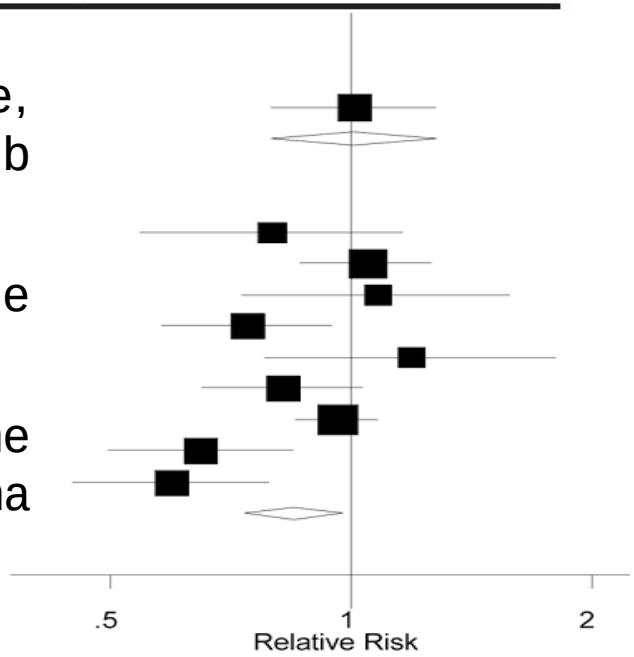
Witamina C

Zmiata wolne rodniki	$^{\cdot}OH$, $O_2^{\cdot-}$, $RO_2^{\cdot}$, $RS^{\cdot}$, $RSO^{\cdot}$, $RSO_2^{\cdot}$, $RNO_2^{\cdot}$, $NO_2^{\cdot}$, 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 nadtlenku wodoru
Chroni układ naczyniowy i oddechowy	poprawia tolerancję nitratów u pacjentów z chorobami naczyń, zabezpiecza układ oddechowy przed uszkodzeniami powodowanymi przez wdychane zanieczyszczenia powietrza

- Askornibian może również działać prooksydacyjnie, zwłaszcza w obecności wolnych jonów żelaza Fe2+ 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.



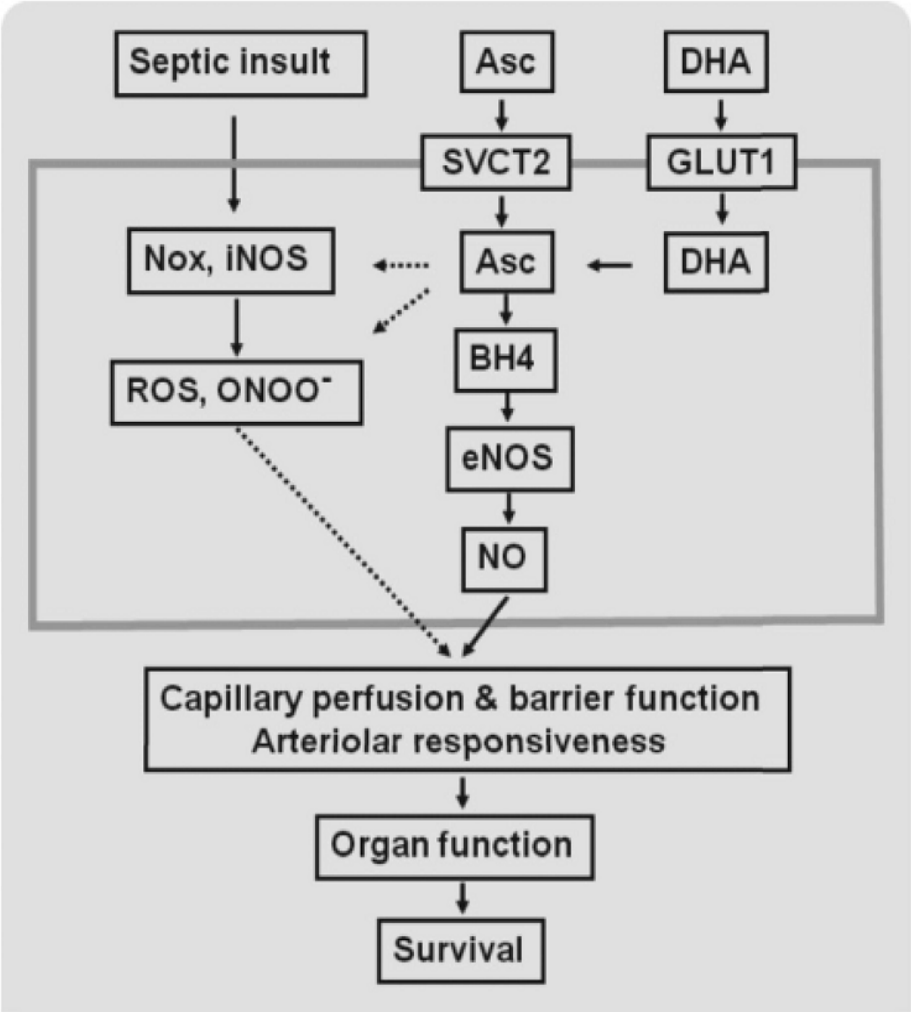
Guz et al. Post Hig Med. Dosw 2007

Witamina C w posocznicy

- Askorbinian wpływa na komórki śródbłonka 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.



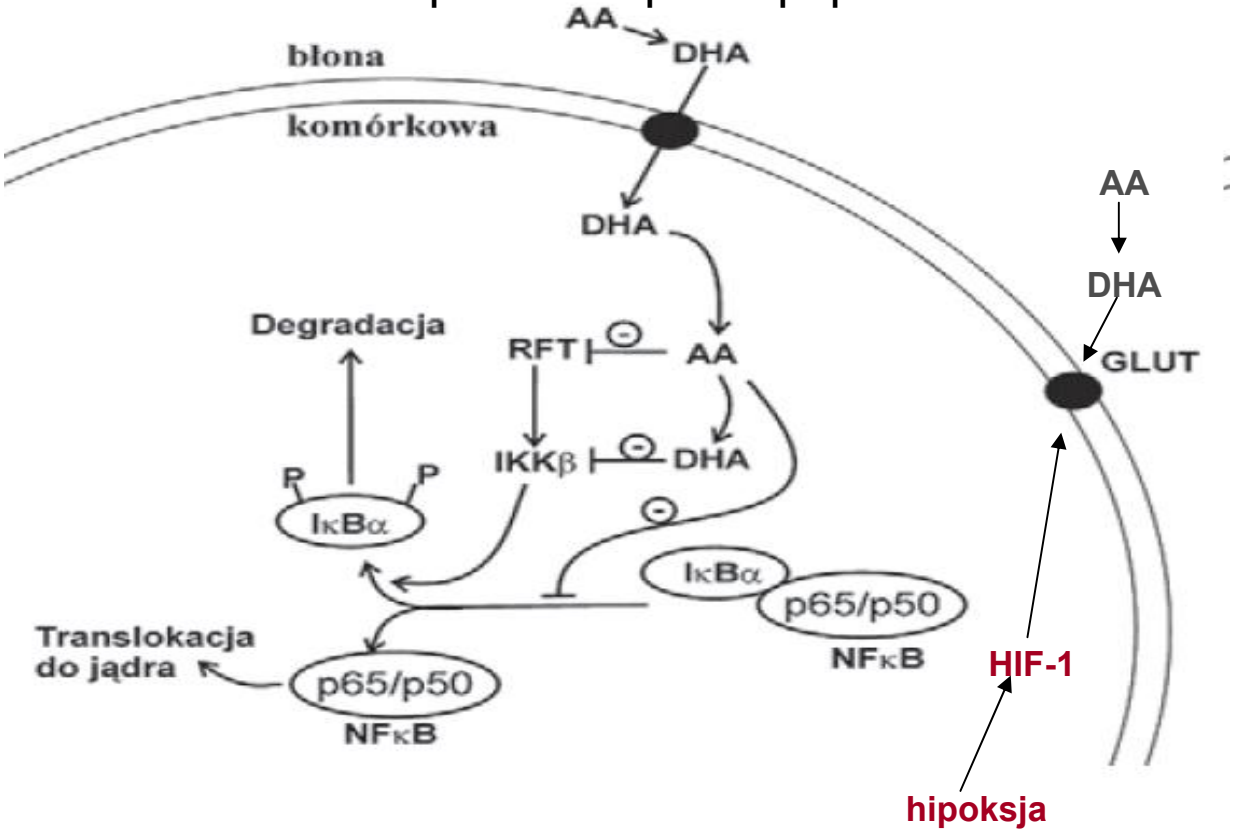
Wilson JX. Biofactors 2009

Witamina C a NFκB

- Zmniejszenie poziomu Asc w śródbłonku może być wywoływane przez hiperglikemię (konkurencja o GLUT1 między glukozą i DHA).

- Niedotlenienie i aktywacja HIF-1 nasila ekspresje GLUT1 i transport DHA do komórek.

- Wzrost poziomu Asc ma działanie przeciwzapalne poprzez hamowanie NFκB

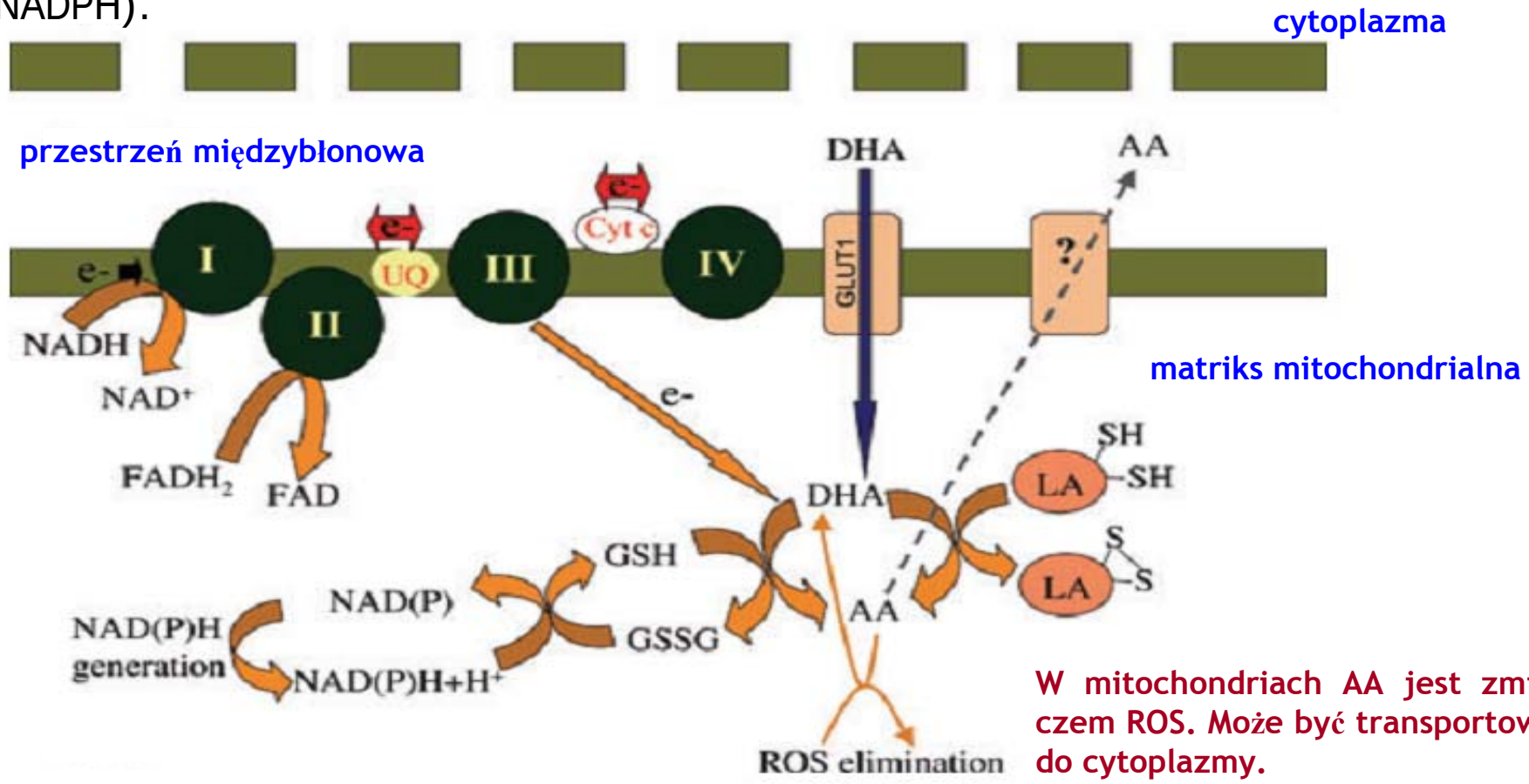


Guz et al. Post Hig Med. Dosw 2007

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, redukowanego następnie dzieki NADPH).



W mitochondriach AA jest zmiata-czem ROS. Może być transportowany do cytoplazmy.

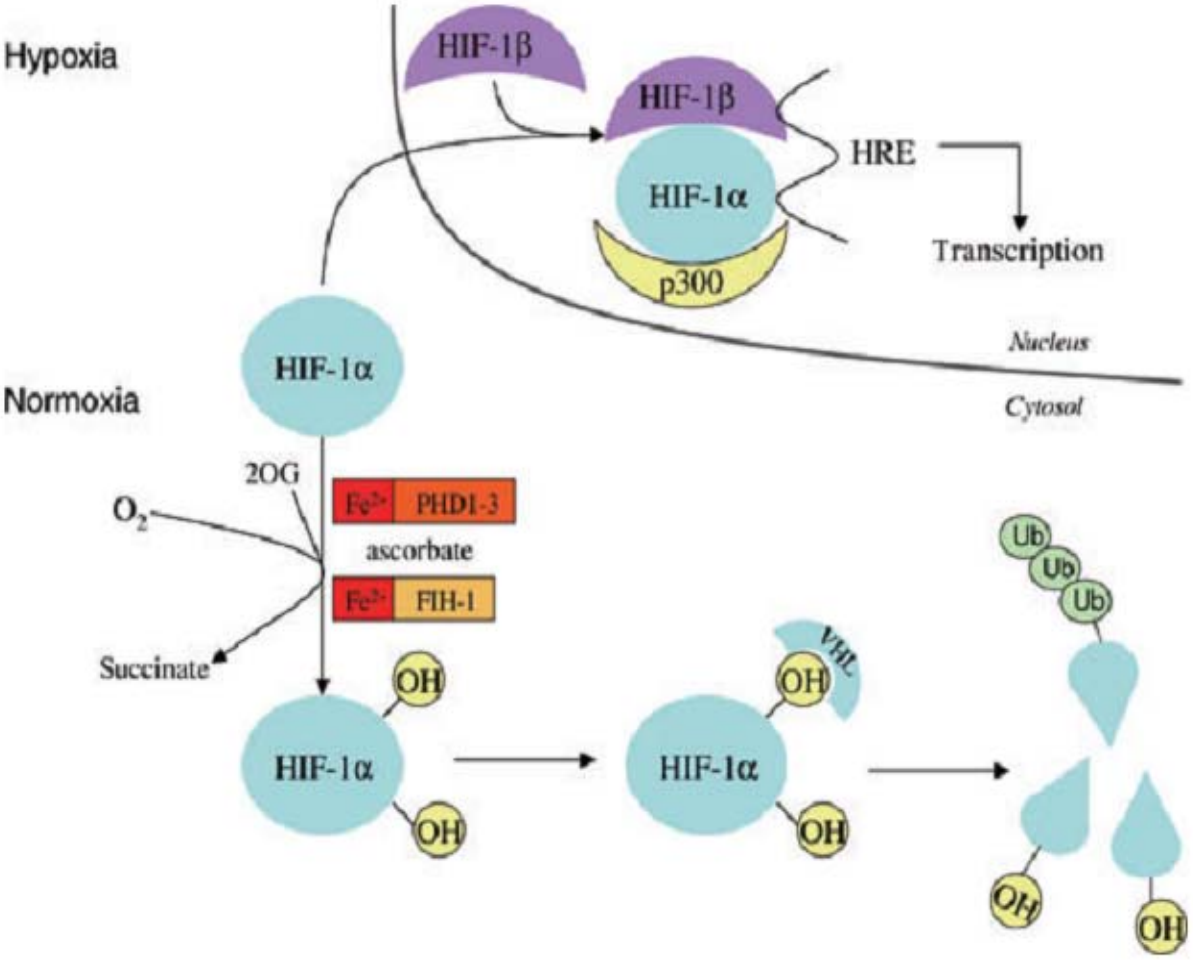
Mandl et al. Br J Pharmacol 2009

Witamina C a niedotlenienie

- HIF-1α i HIF-1β są transkrybowane konstytutywnie.

- W normoksji (w obecności tlenu i askorbinianu) 2 reszty prolinowe i 1 asparaginianowa są hydroksylowane przez hydroksylazy zależne od żelaza Fe^{2+} i 2-oksoglutaranu.

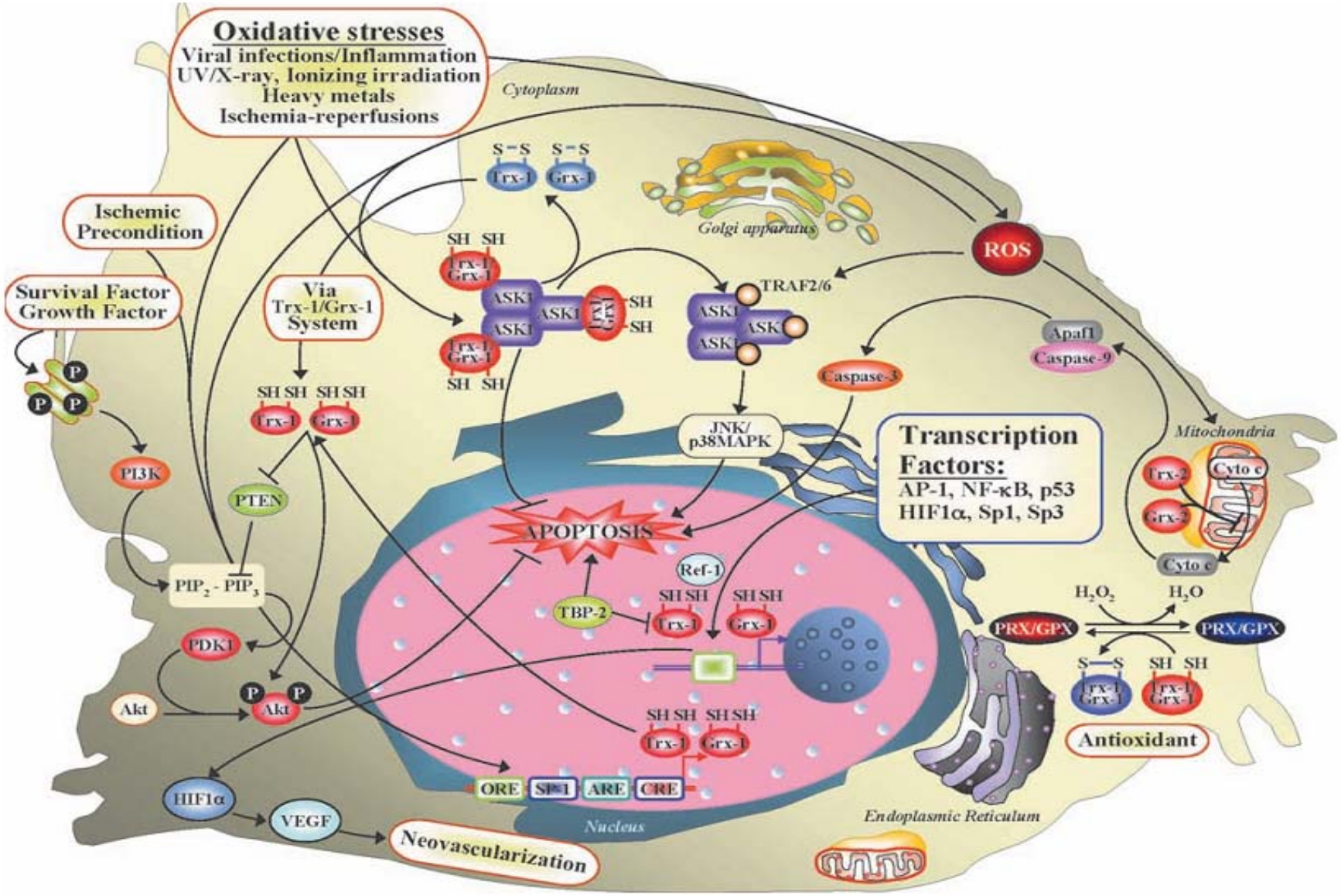
- Prowadzi to do przyłączenia białka von Hippel-Lindau (część kompleksu ligazy ubikwityny E3) i degradacji proteasomalnej.



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

Mandl et al. Br J Pharmacol 2009

Współdziałanie systemów antyoksydacyjnych



Ahsan et al. Antioxid Redox Signal 2009

Witamina E

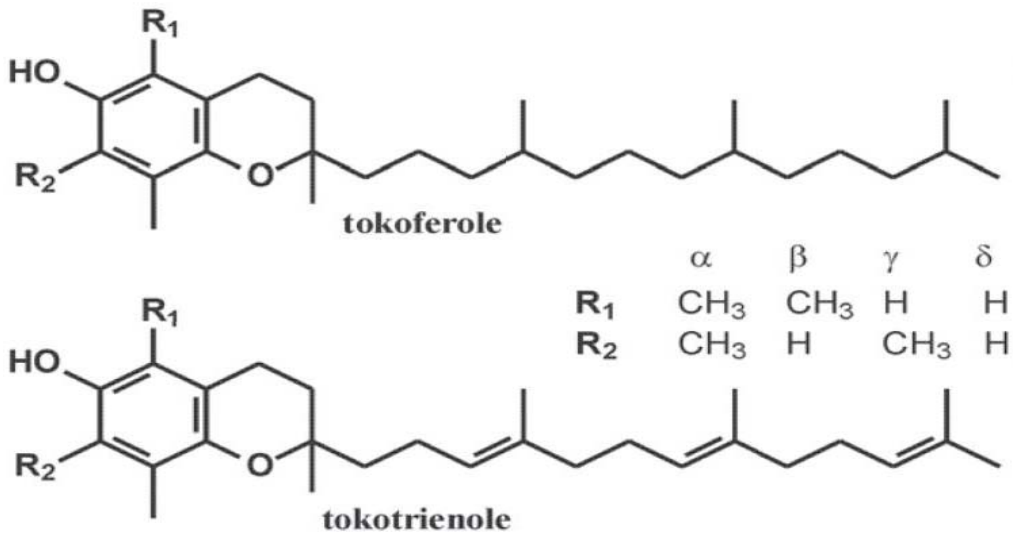
- Witamina E stanowi grupę 8 rozpuszczalnych w tłuszczach kompleksów, różniących się biodostępnością:
  * α-, β-, γ-, i δ-tokoferoli
  * α-, β-, γ-, i δ-tokotrienoli.

- 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 śródbłonka.



Kirmiziz & Catzidimitriou. Vasc Health Risck Manag 2009

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-1

Inhibition of platelet adhesion and aggregation

Signal transduction regulation and gene expression in different cell pathways

Regulation of enzymes, transcription factors and receptors

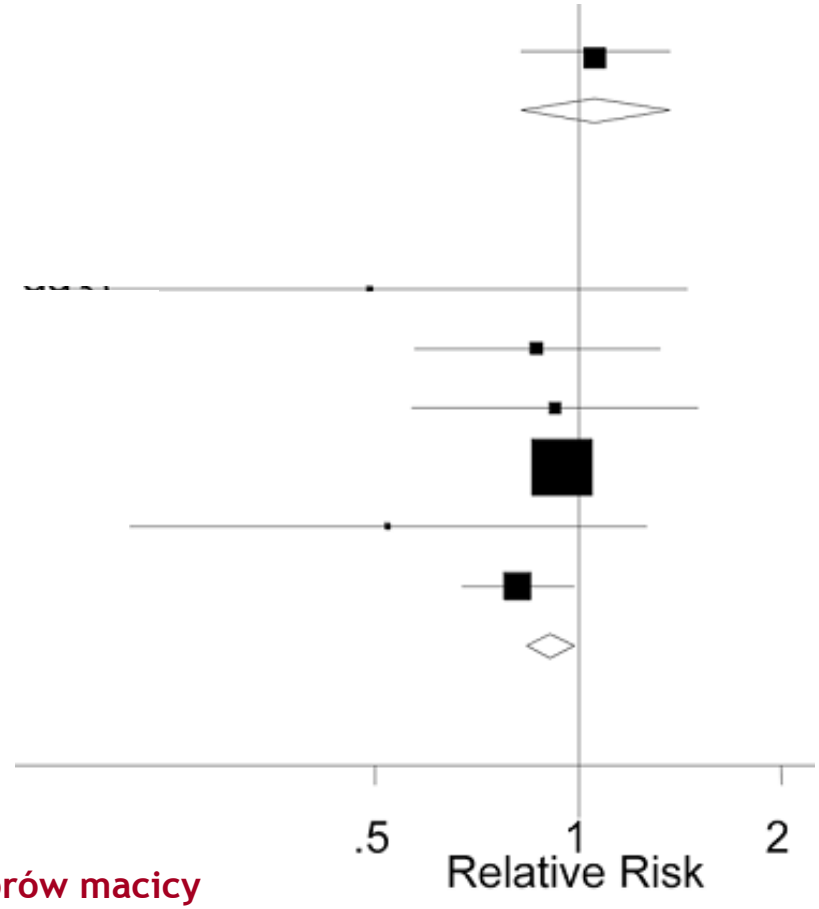
Kirmiziz & Catzidimitriou. Vasc Health Risck Manag 2009

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



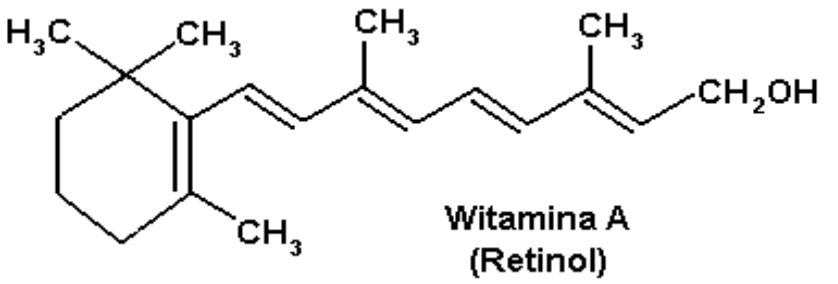
Witamina E w diecie a ryzyko rozwoju nowotworów macicy

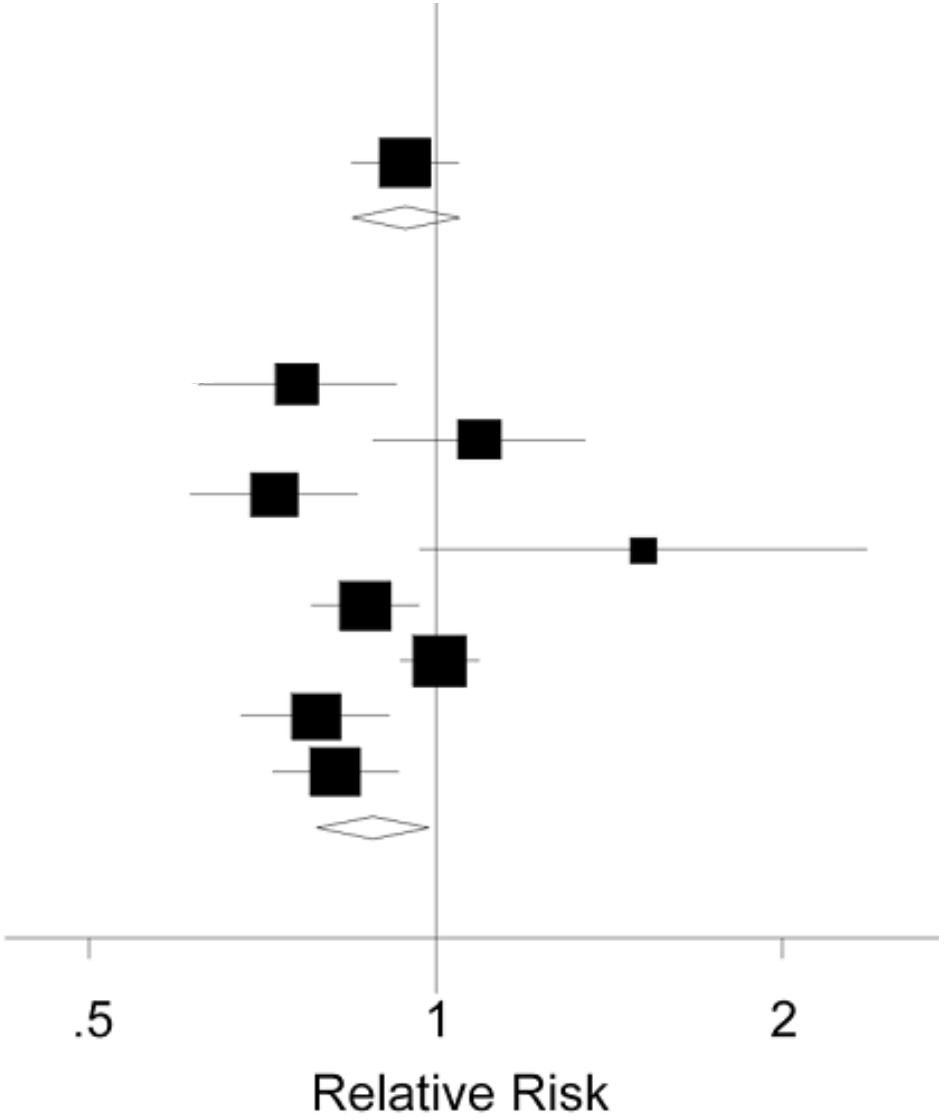
Kirmiziz & Catzidimitriou. Vasc Health Risck Manag 2009,
Bandera et al. Cancer Causes Cont 2009

Witamina A a chemoprewencja

- Retinol jest uznawany za efektywny antyoksydant, głównie ze względu na możliwość zmiatania ROS.

- Być może dostarczanie odpowiedniej ilości witaminy A z dietą zmniejsza ryzyko zachorowania na niektóre nowotwory.





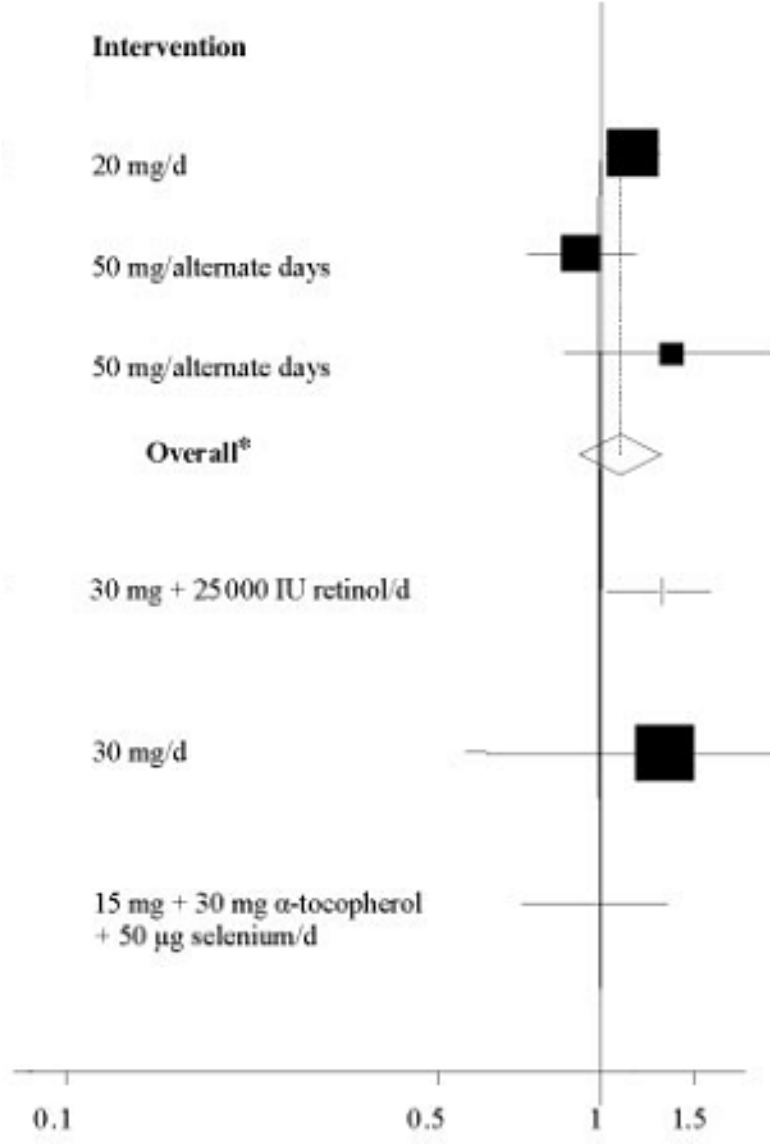
Witamina A przyjmowana w diecie a ryzyko rozwoju nowotworów macicy.

Byers T. Am J Epiedm 2010

Witamina A w chemoprewencji

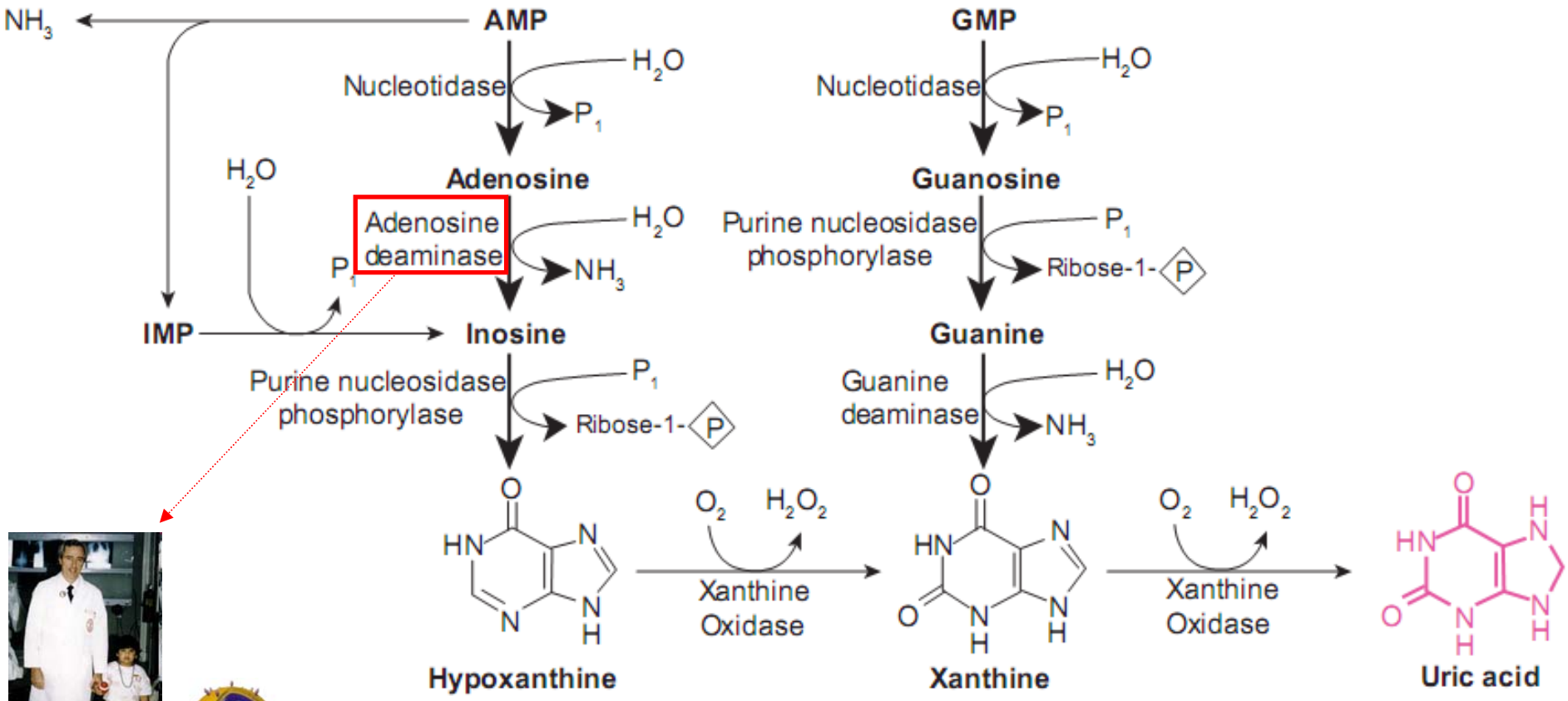
- Badania na zwierzętach zgodnie wskazywały na protekcyjny wpływ witaminy A w zapobieganiu rozwojowi nowotworów

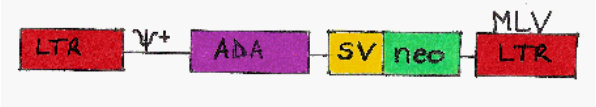
- Dwie duże próby kliniczne rozpoczęte w 1985 roku w Finlandii i USA wykazały:
  * 18% wzrost ryzyka nowotworów płuc po suplementacji wysokimi dawkami β-karotenu
  * 28% wzrost ryzyka nowotworów płuc po suplementacji β-karotenem i retinolem



Byers T. Am J Epiedm 2010

Szlak degradacji puryn - powstawanie kwasu moczowego





George & Struthers. Vasc Health Risck Manag 2009

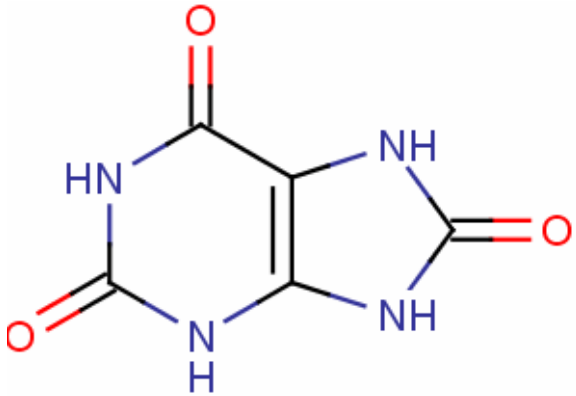
Kwas moczowy

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



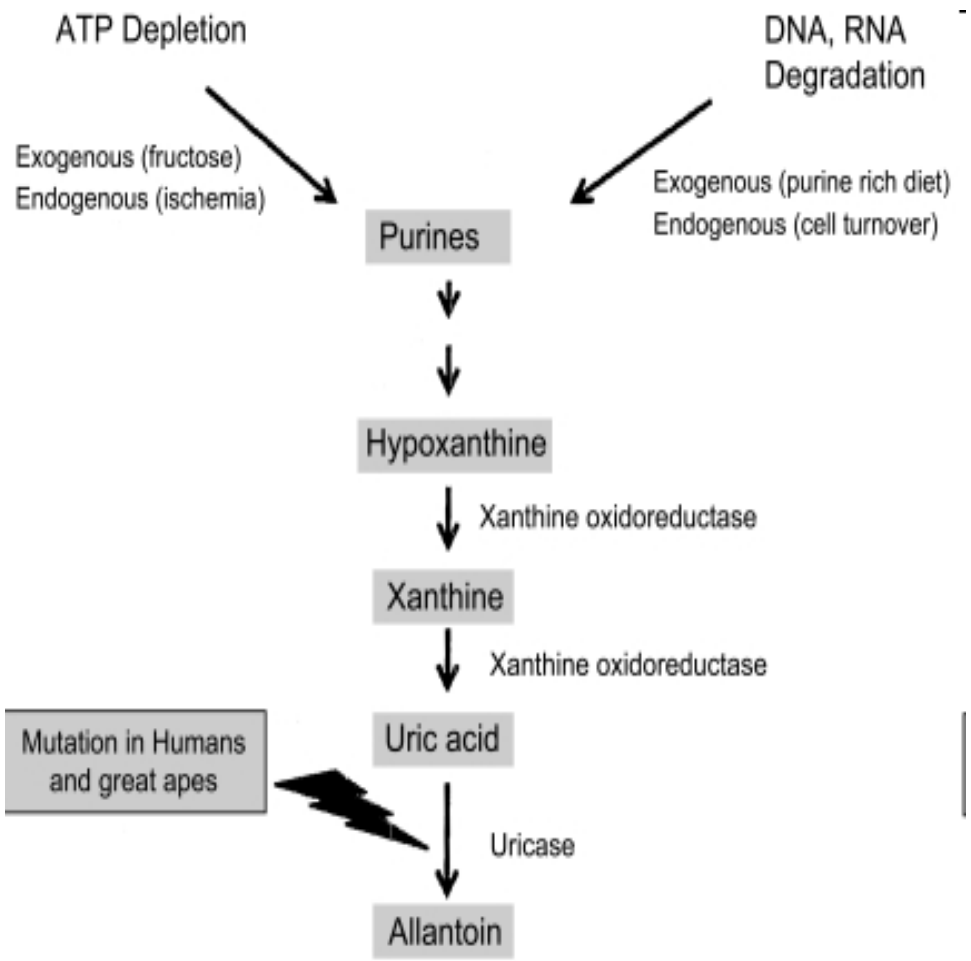
kwas moczowy

Sautin & Johnson. Nucleosid Nucleotid Nucleic Acid 2008

Synteza kwasu moczowego

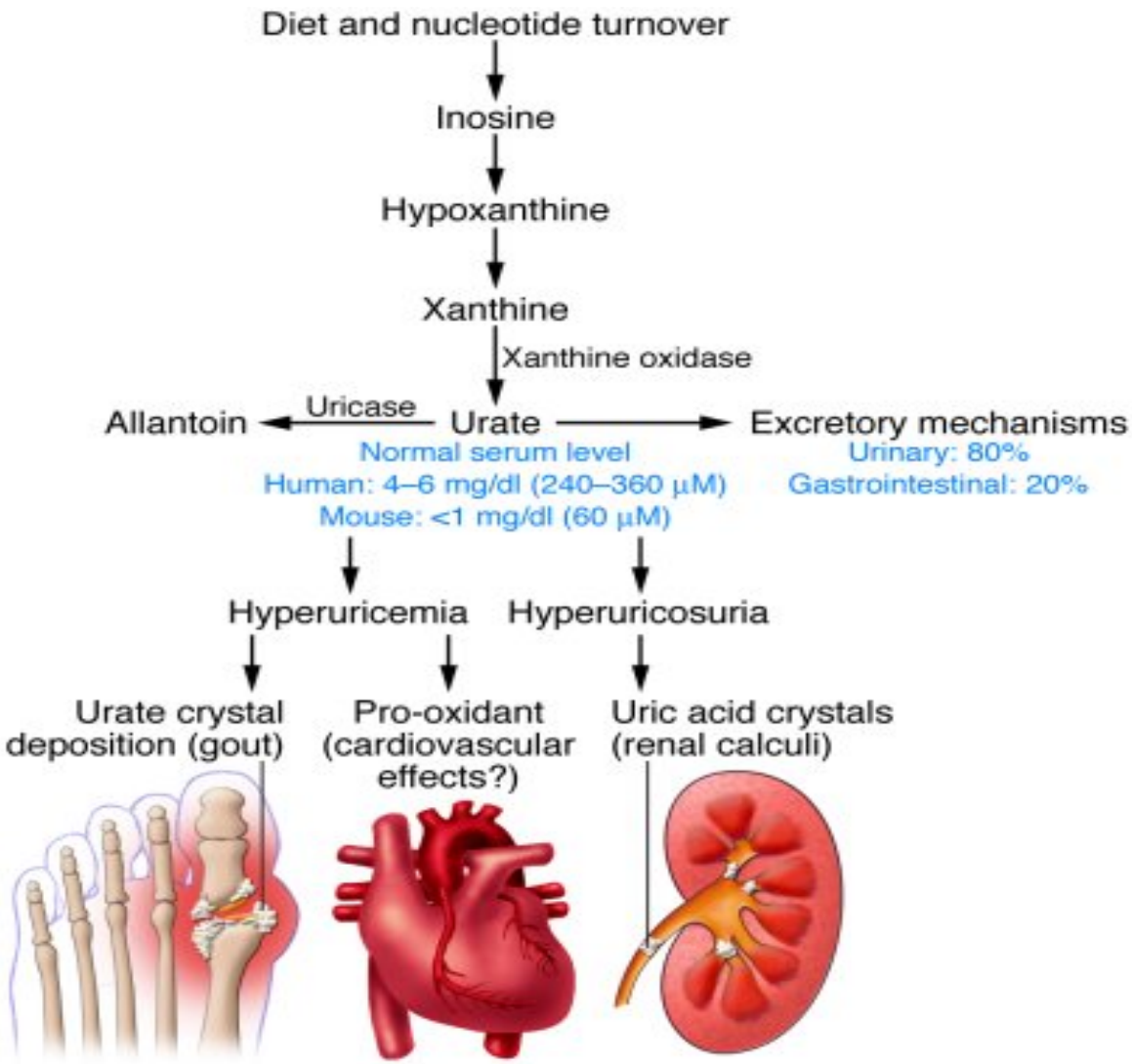
- Kwas moczowy jest końcowym produktem degradacji puryn u ludzi i małp człekokształtnych.
  * linia filogenetyczna człowiekowatych utraciła aktywność oksydazy moczanowej (urykazy), enzymu przekształcającego kwas moczowy do alantoiny.
  * u pozostałych ssaków końcowym produktem metabolizmu puryn wydzielanym 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



Sautin & Johnson. Nucleosid Nucleotid Nucleic Acid 2008

Synteza kwasu moczowego



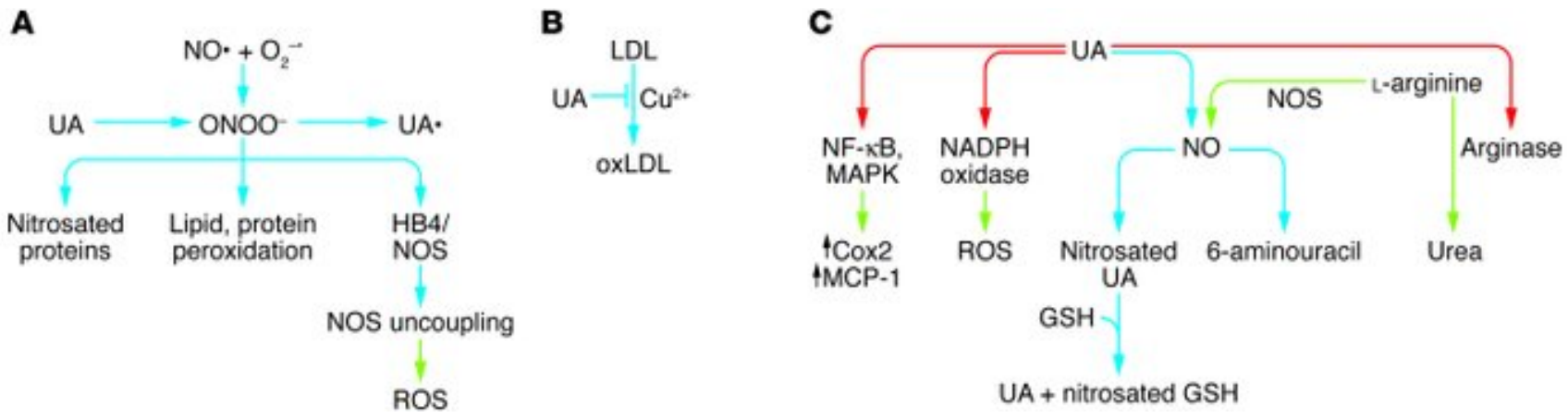
So & Torens. J Clin Invest. 2010

Kwas moczowy jako antyoksydant

- Korzyścią ewolucyjną pozwalająca na utrwalenie wysokiego poziomu kwasu moczowego mogą być jego właściwości antyoksydacyjne:

* **kwas moczowy jest zmiataczem** tlenu singletowego, rodnika peroxylowego (RO_2') i **rodnika hydroksylowego (HO') oraz nadtlenoazotynu**, ale nie anionorodnika ponadtlenkowego,

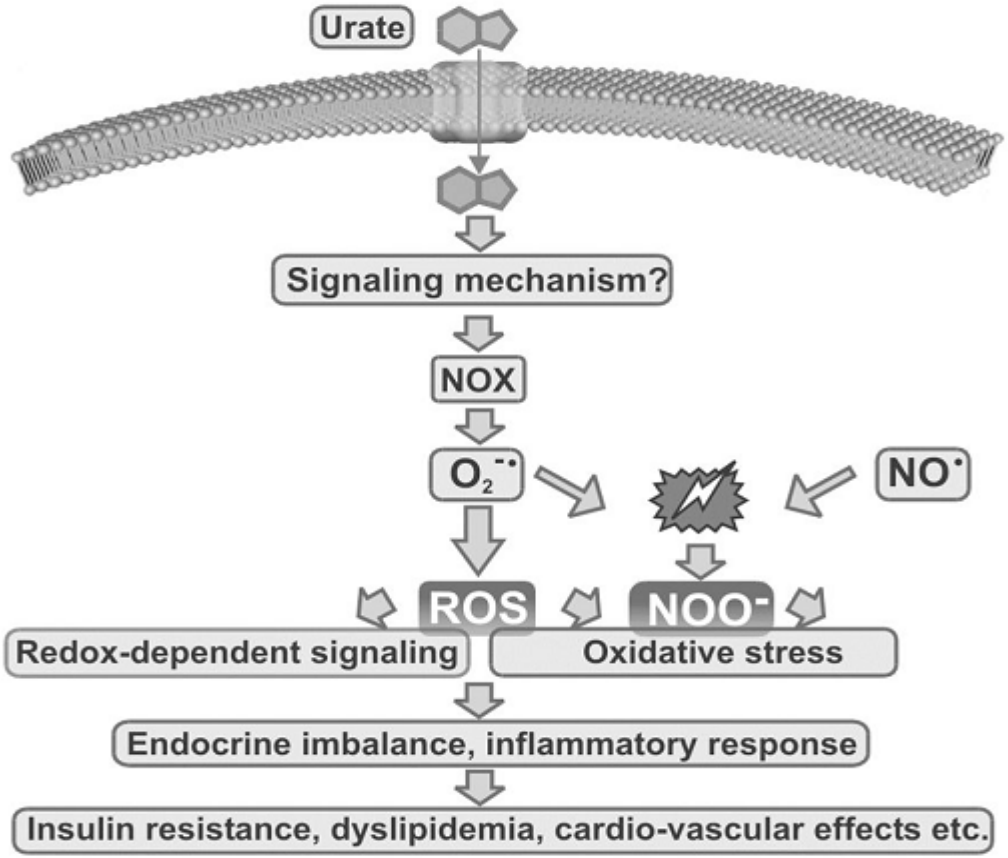
* sugerowano znaczenie antyoksydacyjnego działania kwasu moczowego dla wydłużenia życia i zmniejszenia ryzyka nowotworów.



So & Torens. J Clin Invest. 2010

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 Cu^{+}/Cu^{2+} kwas moczowy (lub jego pochodne) może nasilać peroksydację lipidów.

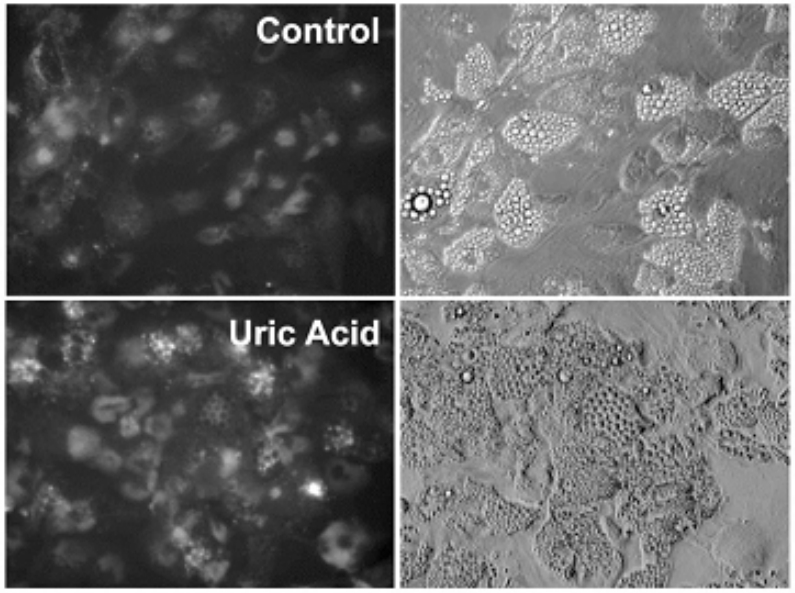


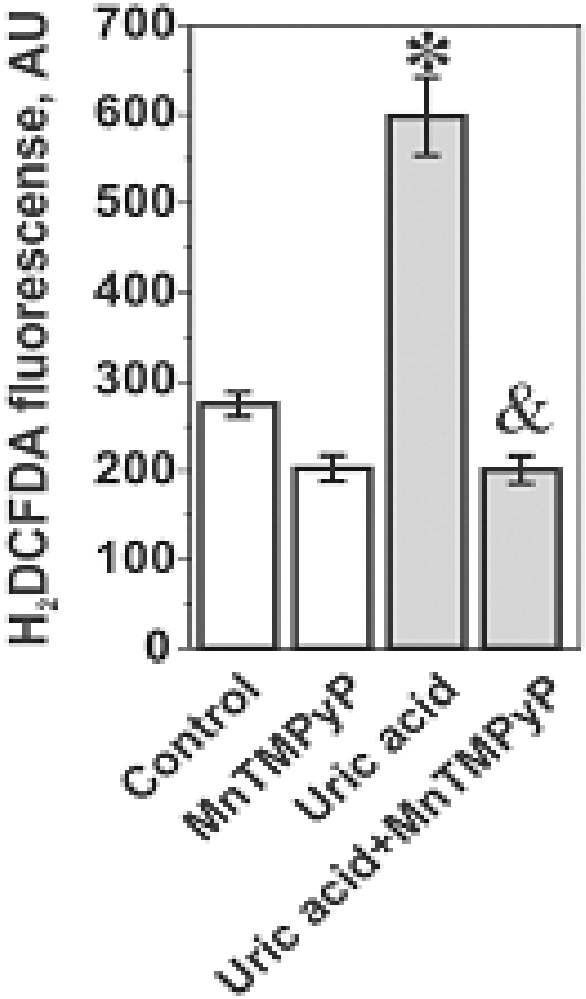
Sautin & Johnson. Nucleosid Nucleotid Nucleic Acid 2008

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.

Sautin & Johnson. Nucleosid Nucleotid Nucleic Acid 2008

JAGIELLONIAN UNIVERSITY
IN KRAKOW

Dziękuję

Slajdy dostępne na stronie Zakładu Biotechnologii Medycznej