

Slobodni radikali i antioksidansi u normalnim fiziološkim funkcijama i bolesti ljudi

Postić, Sandra

Undergraduate thesis / Završni rad

2012

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:238235>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-18**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO – MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

SLOBODNI RADIKALI I ANTIOKSIDANSI U NORMALNIM FIZIOLOŠKIM
FUNKCIJAMA I BOLESTI LJUDI
FREE RADICALS AND ANTIOXIDANTS IN NORMAL PHYSIOLOGICAL
FUNCTIONS AND HUMAN DISEASES
SEMINARSKI RAD

Sandra Postić
Preddiplomski studij biologije
(Undergraduate Study of Biology)
Mentor: prof.. dr. sc.Nada Oršolić

SADRŽAJ

1.....	UVOD.....	1
2.....	SLOBODNI RADIKALI.....	1
2.1.....	POVIJEST SLOBODNIH RADIKALA	1
2.2.....	REAKTIVNI METABOLITI KISIKA	2
2.3.....	REAKTIVNI METABOLITI DUŠIKA.....	3
3.....	ANTIOKSIDANSI	3
4.....	UTJECAJ OKSIDATIVNOG STRESA NA DNA, LIPIDE I PROTEINE.....	4
5.....	ROS I MEHANIZMI ODRŽAVANJA „REDOKS HOMEOSTAZE“	5
6.....	ROS I REDOKS REGULACIJA FIZIOLOŠKIH FUNKCIJA	6
6.1.....	REDOKS REGULATORNA PROIZVODNJA NO.....	6
6.2.....	ROS PROIZVODNJA POMOĆU FAGOCITOTNE NAD(P)H OKSIDAZE	7
6.3.....	ROS PROIZVODNJA POMOĆU NAD(P)H OKSIDAZE U NEFAGOCITOTNIM STANICAMA	7
6.4.....	PROIZVODNJA ROS KAO POSLJEDICA PROMJENE KONCENTRACIJE KISIKA.....	8
6.5.....	REDOKS REGULACIJA STANIČNE ADHEZIJE.....	8
6.6.....	REDOKS REGULACIJA IMUNOLOŠKOG ODGOVORA.....	8
6.7.....	APOPTOZA INDUCIRANA S ROS	8
7.....	ROS U HUMANIM BOLESTIMA.....	9

7.1.....	
TUMORI	9
7.2.....	
KARDIOVASKULARNE BOLESTI	12
7.3.....	
DIJABETES	14
7.4.NEUROLOŠKE BOLESTI	14
7.4.1. ALZHEIMEROVA BOLEST	14
7.4.2. PARKINSONOVA BOLEST	15
8.....	
LITERATURA	18
9.....	
SAŽETAK	19
10.....	
SUMMARY.....	19

1. UVOD

U stabilnim molekulama, elektroni su u parovima. Normalni tjelesni procesi, poput pretvaranja hrane u energiju, mogu ukloniti jedan elektron iz para. Molekule koje imaju nespareni elektron zovu se slobodni radikali. Molekula s nesparenim elektronom "traži" elektron kako bi upotpunila svoj elektronski par, te otima elektron drugoj molekuli pri čemu nastaje novi slobodni radikal u potrazi za elektronom. Lančana reakcija opisanog otimanja i gubljenja elektrona uzrokuje neprocjenjivu štetu stanicama organizma.

Emocionalni stres, UV zračenje, toksične tvari, dim cigarete i drugi čimbenici također generiraju slobodne radikale.

Na sreću, priroda nudi sredstva za zaštitu od štetnih nusprodukata oksidacije. Antioksidansi su "hvatači" slobodnih radikala i imaju mnoge važne uloge u borbi protiv oksidativnog stresa. Neki antoksidansi imaju individualno djelovanje, no u većini slučajeva djeluju grupno. Antioksidans ima jedinstveno svojstvo. Njegova molekularna struktura omogućuje mu da preda elektron slobodnom radikalu i tako ga stabilizira.

Stabilne molekule imaju elektrone u parovima, ali metabolički procesi, stres i zagađenje okoliša mogu ukloniti elektron iz molekule, stvarajući slobodni radikal.

2. SLOBODNI RADIKALI

Reaktivni metaboliti kisika (ROS) i reaktivni metaboliti dušika (RNS) dobro su poznati po svojoj dvostrukoj ulozi unutar stanice, mogu biti korisni i štetni. ROS i RNS se u normalnim uvjetima stvaraju strogo reguliranim enzimima kao što su NO-sintaza i NAD(P)H-oksidaza. Povećana proizvodnja ROS uzrokuje oksidativni stres, štetan proces koji je bitan posrednik u uništavanju stanične strukture, uključujući membrane i lipide, proteine i DNA. S druge strane pozitivni učinci ROS/RNS pojavljuju se kod malih ili srednjih koncentracija. Ironično mnogi procesi u kojima je ROS posrednik zapravo štite stanicu od oksidativnog stresa kojeg ROS uzrokuje te se na taj način održava „redoks ravnotežu“ ili kako se još naziva „redoks homeostaza“ (Valko i sur., 2005.).

2.1. POVIJEST SLOBODNIH RADIKALA

Prisutstvo slobodnih radikala u biologiji otkriveno je prije oko pedeset godina. Nedugo nakon njihovog otkrića Denhman Harman (1956. god) postavio je hipotezu kako kisikovi radikali mogu nastati kao nusprodukti enzimskih reakcija u živom tkivu. On je 1956. slobodne

radikale opisao kao Pandorinu kutiju koja bi mogla uzrokovati velika stanična oštećenja kao što su mutageneza, tumori i degenerativni proces biološkog starenja (Droge, 2002.).

Znanost o slobodnim radikalima unutar živih organizama ušla je u novu eru kada su McCord i Fridovich (1969. god) otkrili enzim superoksidaze dismutaze (SOD) i napokon uspjeli uvjeriti i ostale kolege biologe u važnost slobodnih radikala u biologiji. Nakon njih započela su brojna istraživanja o oksidativnom stresu induciranom slobodnim radikalima na DNA, lipidima, proteinima i drugim komponentama stanice (Droge, 2002.).

Treća era započela je s prvim izveštima koja su pokazala povoljne biološke učinke slobodnih radikala. Mittal i Murard (1977. god) pružili su dokaze kako je superoksidni anion iako je derivat, hidroksilni radikal, stimulira aktivnost gvanilat-ciklaze i formiranje drugog glasnika cGMP. Slični rezultati su zamjećeni i kod superoksidnog derivata vodikovog peroksida. Ignarro i Kadowitz (1985. god) te Moncada i suradnici (1987. god) neovisno jedni o drugima otkrili su ulogu dušikovog monoksida (NO) kao regulatorne molekule u kontroli otpuštanja glatkih mišića i u inhibiciji trombocita. Roth i Droge (1987. god) su otkrili da u aktiviranim T-stanicama superoksidni anion ili mikromolarne koncentracije vodikovog peroksida dovode do povećanja proizvodnje čimbenika rasta T-stanica interleukina-2, imunološki važnog proteina T-stanica. Keyse i Tyrrel (1989. god) pokazali su kako vodikov peroksid potiče ekspresiju hem-oksigenaze (HO-1) gena. Storz i suradnici (1990. god) otkrili su induciranje različitih gena u bakterija vodikovim peroksidom te Schreck i Baeuerle (1991. god) aktivaciju transkripcijskog čimbenika nuklearnog čimbenika kB (NF-kB) vodikovim peroksidom u stanica sisavaca (Droge, 2002.).

Početak 21. stoljeća imamo mnoštvo dokaza koji pokazuju kako se živi organizmi nisu samo prilagodili na neprijateljsku koegzistenciju sa slobodnim radikalima, nego su razvili i mehanizme za njihovo iskorištavanje (Droge, 2002.).

2.2. .REAKTIVNI METABOLITI KISIKA

Slobodni radikali mogu se definirati kao molekule ili dijelovi molekule koji sadrže nesparene elektrone u atomskim orbitalama. Kisikovi radikali su najbitnija vrsta slobodnih radikala koja nastaje unutar živih bića.

Superoksidni anion nastaje jednovalentnom redukcijom stanja tripleta molekularnog kisika. Ovom procesu posreduju enzimi poput NAD(P)H oksidaza i ksantin oksidaza ili ne enzimatski pomoću redoks reaktivnih kompleksa poput semi-ubiquinon kompleksa transportnog lanca elektrona u mitohondrijima. SOD enzimatski pretvara superoksidge u

vodikov peroksid. U živom tkivu superoksidi mogu se ne enzimatski pretvoriti i u neradikalni oblik vodikovog peroksida i u singletni kisik. Kod smanjene prisutnosti prijelaznih metala (naprimjer željezni ion) vodikov peroksid može se pretvoriti u vrlo reaktivne hidroksilne radikale. Alternativno vodikov peroksid se može pomoću enzima katalaze ili glutathion peroksidaze pretvoriti u vodu. Tijekom reakcije glutathion peroksidaze glutathion se oksidira do glutathion disulfida koji se može pretvoriti natrag u glutathion pomoću glutathion reduktaze u procesu potrošnje NADPH (Droge, 2002.).

2.3. REAKTIVNI METABOLITI DUŠIKA

Dušikov monoksid je mala molekula koja sadrži jedan nespareni elektron i zbog toga spada u slobodne radikale.

Radikal dušikovog monoksida u višim organizmima nastaje oksidacijom gvanido-dušikovih atoma L-arginina. Ovaj proces katalizira enzim NOS. Ovisno o mikrokolištu NO može prelaziti u različite reaktivne dušikove spojeve (RNS). Nekim fiziološkim učincima mogu posredovati međuforme S-nitro-cisteina ili S-nitro-glutathiona (Droge, 2002.).

3. ANTIOKSIDANSI

Izloženost slobodnim radikalima različitih izvora natjerala je organizme da razviju obrambene mehanizme. Obrambeni mehanizmi protiv oksidativnog stresa izazvanog slobodnim radikalima uključuje: preventivne mehanizme, mehanizme popravka, fizičku obranu, i antioksidativnu obranu. Enzimi antioksidativne obrane uključuju superoksid dismutaze (SOD), glutathion peroksidaze (GPx) i katalaze (CAT). Ne enzimatski antioksidansi uključuju askarabinsku kiselinu (vitamin C), α -tokoferol (vitamin E), glutathione (GSH), karatenoide, flavonoide i druge antioksidanse. Kod normalnih uvjeta postoji ravnoteža između aktivnosti i unutarstaničnih razina antioksidansa. Ova ravnoteža važna je za preživljavanje i zdravlje organizama (Valko i sur., 2006.).

U stanici se glutathion (GSH) nalazi u visokim koncentracijama, na primjer u citosolu od 1 do 11 mM, unutar jezgre od 3 do 15 mM i u mitohondriju od 5 do 11 mM. On je bitan topljivi antioksidans u staničnim kompartmentima. Oksidirani oblik glutathiona je glutathion disulfid (GSSG). Pošto se GSH sintetizira u citosolu sekvencijalnim djelovanjem glutamat-cistein ligaze i glutathion sintetaze, njegovo unošenje u mitohondrij zahtjeva unutar membranski transport. Dva mitohondrijska elektoneutralna antiport transportna proteina pokazuju mogućnost prijenosa GSH, a to su dikarboksilat prijenosnik i 2-oksoglutarat

prijenosnik. Nedavno je pokazano kako mitohondriji spremno unose izvana dodani GSH usprkos tome što ga u matriksu mitohondrija već ima u koncentraciji od oko 8 mM. Prema tome je zaključeno da se GSH unosi u mitohondrij neovisno o koncentracijskom gradijentu (Valko i sur., 2006.).

GSH unutar jezgre održava redoks stanje proteina sulfidrila koji je nužan za DNA popravak i ekspresiju DNA. Oksidirani glutathion se nagomilava unutar stanice te je omjer GSH/GSSG dobar pokazatelj oksidativnog stresa unutar stanice. Prevelike koncentracije GSSG mogu oštetiti brojne enzime (Valko i sur., 2006.).

Glutathion ima mnoge zaštitne uloge protiv oksidativnog stresa. Glutathion je kofaktor nekoliko detoksikacijskih enzima protiv oksidativnog stresa (glutathion peroksidaza, glutathiontransferaza i drugi). Glutathion sudjeluje u prijenosu aminokiselina kroz plazmatsku membranu. Također izravno čisti i sakuplja hidroksilne radikale i singletni kisik, detoksificirajući vodikov peroksid i lipid peroksidaze katalitičkom aktivnosti glutathionperoksidaze. On je u mogućnosti regenerirati najvažnije antioksidanse (vitamin C i E) u njihove aktivne oblike. Mogućnost regeneracije važnih antioksidansa pomoću glutathiona povezana je s redoks stanjem GSH/GSSG (Valko i sur., 2006.).

4. UTJECAJ OKSIDATIVNOG STRESA NA DNA, LIPIDE I PROTEINE

Kod visokih koncentracija ROS je važan medijator oštećenja stanične strukture, nukleinskih kiselina, lipida i proteina. Hidroksilni radikal reagira sa svim komponentama DNA, oštećujući purinske i pirimidinske baze te deoksiribonukleinski oslonac. Najproučavanija lezija DNA je stvaranje 8-OH-G. Trajna oštećenja genetičkog materijala nastala zbog oksidativnog stresa prvi su korak u mutagenezi, kancerogenezi i starenju (Valko i sur., 2006.).

Poznato je kako metalima inducirano generiranje ROS-a rezultira ne samo napadom na DNA, nego i stanične dijelove koji sadrže polinezasićene masne kiseline iz fosfolipida koje su iznimno osjetljive na oksidaciju. Jednom kad nastane peroksilni radikal mogu se dalje reorganizirati i nastaju reakcijom endoperoksidaze. Završni produkt peroksidacije je malondialdehid (MDA) osim njega nastaje i 4-hidroksi-2-nonenal (HNE). MDA je mutagen u stanicama bakterija i sisavaca i kancerogen u štakora. HNE je slabi mutagen, ali je glavni toksični produkt lipidne peroksidacije (Valko i sur., 2006.).

Mehanizme uključene u ROS oksidaciju proteina objašnjavaju istraživanja u kojima su aminokiseline, jednostavni peptidi i jednostavni proteini bili izloženi ionizirajućem zračenju u

uvjetima u kojima nastaju hidroksilni radikali ili mješavina hidroksilnih i superoksidnih radikala. Bočni lanci, aminokiseline (ostaci od proteina), pogotovo cistein i metionin, osjetljivi su na oksidaciju s ROS ili RNS. Oksidacija ostataka cisteina može dovesti do reverzibilnog formiranja mješanih disulfida između proteina tiolne skupine (-SH) i nisko molekularni tiolnih spojeva, posebice GSH (S-glutatiolacija). Koncentracija karbonilnih skupina je dobra mjera ROS posredovane oksidacije proteina. Razvijene su brojne, osjetljive metode za analizu karbonilnih grupa proteina (Valko i sur., 2006.).

Kranji produkt napredne glikolizacije je red složenih produkata (AGE). Oni su rezultat reakcija između ugljikohidrata i slobodnih amino skupina proteina. Međuprodukti su poznati kao Amadori, Schiffove Baze i Millardovi produkti, nazvani prema istraživaču koji ih je prvi otkrio. Većina AGE spojeva je jako nestabilna pa je reaktivne spojeve i kranje produkte teško analizirati. Najbolje kemijski istraženi AGE spojevi nađeni u čovjeku su pentosidne i karboksilne metil lizine (CML) (Valko i sur., 2006.).

5. ROS I MEHANIZMI ODRŽAVANJA „REDOKS HOMEOSTAZE“

Slobodni radikali i njihovi derivati rade u stanicama na malim, ali mjerljivim koncentracijama. Njihovo stabilno stanje koncentracije određeno je ravnotežom između stope proizvodnje i stope micanja iz stanice. Tako svaku stanicu karakterizira posebna koncentracija elektrona (redoks stanje) pohranjenih u mnogim staničnim kompartmentima. Redoks stanje stanice i njihove oscilacije određuju funkcioniranje stanice. Posljednjih godina izraz „redoks stanje“ se ne koristi samo za opisivanje stanja redoks para, već i za opisivanje općenitog redoks stanja okoline stanice. Redoks stanje stanice je u normalnim uvjetima unutar uskog raspona, slično načinu kako živi sustav održava raspon svog pH. Kod patoloških stanja redoks stanje se mijenja (Valko i sur., 2006.).

Unutarstanična „redoks homeostaza“ primarno se održava pomoću GSH i tioredoksina (TRX). Par GSH/GSSG je najvažniji za održavanje stabilnog redoks sustava te se zbog toga pomoću njega može odrediti stanje stanice. Kod pojačanih uvjeta oksidativnog stresa, povećava se koncentracija GSSG što dovodi do povećanja proteina mješanih disulfida. Značajan broj proteina uključenih u signalizaciju koji imaju tiole, kao što su receptori, proteinske kinaze i neki transkripcijski čimbenici mogu promijeniti svoju funkciju zbog stvaranja mješanih disulfida. U ovim slučajevima GSSG djeluje kao nespecifična signalna molekula (Valko i sur., 2006.).

Uz GSH i TRX postoje i neki niskomolekularni antioksidansi koji, kada se nalaze u velikim koncentracijama, mogu značajno pridonjeti ukupnom deionizaciji ROS. Ti spojevi uključuju razne slobodne aminokiseline, peptide i proteine. Oksidirani proteini su supstrati proteolitičkoj razgradnji i pridonose redoks homeostazi stanice. Oksidativne promjene proteina povećavaju njihovu osjetljivost na proteolitički napad. Proteolitičku razgradnju najčešće vrše proteosomi. Procjenjuje se kako se proteoliza ubrzava za deset puta nakon izlaganja superoksidnim radikalima ili vodikovom peroksidu. Treba napomenuti kako osjetljivost pojedinih proteina na oksidativni stres varira (Valko i sur., 2006.).

Izraz redoks signalizacija opisuje regulatorni proces u kojem se signal prenosi kroz redoks reakcije. Redoks signaliziranje zahtjeva da se stabilno stanje „redoks homeostaze“ poremeti ili povećanjem ROS formacija ili smanjenjem aktivnosti sustava antioksidansa. Regulirano povećanje slobodnih radikala (ROS/RNS) dovodi do privremene neravnoteže koja čini temelj redoks regulacije. Takva fiziološka redoks regulacija uključuje privremeni pomak redoks stanja više prema oksidacijskim uvjetima. Pod patološkim uvjetima abnormalno visoke koncentracije ROS/RNS mogu dovesti do trajnih oštećenja u transdukciji signala i ekspresiji gena koji su tipični za stanje bolesti (Valko i sur., 2006.).

Jedan od najproučavanijih redoks regulacije u stanica sisavaca je regulacija hem-oksigenaze (HO-1). Indukcija HO-1 u fibroblastima kože može služiti kao inducirana obrana za uklanjanje hema oslobođenog oksidansima. ROS i UV zračenje snažno potiču stvaranje HO-1 proteina i mRNA. Stvaranje HO-1 i mRNA u raznim tkivima i u raznim vrstama sisavaca čini te molekule korisnim biljezima oksidativnog stresa stanice na razini mRNA (Valko i sur., 2006.).

6. ROS I REDOKS REGULACIJA FIZIOLOŠKIH FUNKCIJA

6.1. REDOKS REGULIRANA PROIZVODNJA NO

NO nastaje u živom tkivu specifičnom dušikov oksid sintazom (NOS) koja postoji u tri izoforme: neuronski NOS (nNOS), induciran NOS (iNOS) i endotelni NOS (eNOS). Mnoga tkiva stvaraju jednu ili više ovih izoformi. Dok su nNOS i eNOS konstitutivno zastupljeni i njihova je aktivnost regulirana unutarstaničnom koncentracijom kalcija, ekspresija iNOS je inducirana polisaharidima, citokinima i drugim tvarima u makrofaga. Ekspresija iNOS je regulirana na transkripcijskom i posttranskripcijskom nivou signalnim putevima koji

uključuju redoks ovisan transkripcijski čimbenik NF-kB ili mitogenom aktiviranu protein kinazu (MAPK) (Valko i sur., 2006.).

6.2. ROS PROIZVODNJA POMOĆU FAGOCITOZNE NAD(P)H OKSIDAZE

Oksidativno buknuće karakterizira masovna proizvodnja ROS u upalnom području i ima ključnu ulogu u borbi protiv patogena. U upalnom području aktivirani neutrofili i makrofagi proizvode povećane količine superoksida i drugih ROS radikala pomoću fagocitozne izoforme NAD(P)H oksidaze. Naprimjer razina vodikovog peroksida u takvim uvjetima može doseći koncentraciju od 10 do 100 μ M. Na taj način fiziološka uloga NAD(P)H je da djeluje kao zaštitni agent. Aktivacija NAD(P)H oksidaze kontrolirana je rac izoformom rac-2 u neutrofila i rac-1 u makrofaga. Stimulirani neutrofili i makrofazi generiraju singletni kisik reakcijama koje uključuju NAD(P)H oksidazu ili mijeloperoksidazu (Valko i sur., 2006.).

6.3. ROS PROIZVODNJA POMOĆU NAD(P)H OKSIDAZE U NEFAGOCITNIM STANICAMA

Različiti tipovi nefagocitnih stanica kao što su fibroblasti, vaskularne glatke mišićne stanice, srčane miocite i endotelne stanice poznati su proizvođači ROS-a NAD(P) oksidazom kako bi regulirale unutarstanične signalne kaskade. Najčešće je rac-1 uključen u NAD(P)H indukciju. Nefagocitne stanice proizvode samo trećinu onoga što se proizvodi u neutrofilnim stanicama. Zanimljivo je to što u usporedbi sa neutrofilima fibroblasti, vaskularne glatke mišićne stanice i endotelne stanice stvaraju superoksidni radikal uglavnom unutarstanice. Nakon stimulacije čimbenicima rasta i citokinima NAD(P)H oksidaze vaskularna stanica stvara superokside i druge ROS koji zatim aktiviraju multiple unutarstanične signalne puteve. Na taj način ROS ima važnu ulogu u regulaciji funkcija srčanih i vaskularnih stanica. Angiotenzin II pojačava NAD(P)H posredovano formiranje superoksida u glatkim vaskularnim stanicama i u fibroblastima. Trombin, trombocitni čimbenik rasta (engl. platelet-derived growth factor, PDGF) i čimbenik nekroze tumora (tumour necrosis factor- α , TNF- α) stimuliraju nastajanje NAD(P)H posredovanih superoksida unutar vaskularnih glatkih mišićnih stanica. TNF- α , interleukin-1 (IL-1) i trombocitni aktivirajući čimbenik povećavaju NAD(P)H posredovano stvaranje superoksida unutar fibroblasta (Valko i sur., 2006.).

6.4. PROIZVODNJA ROS KAO POSLJEDICA PROMJENE KONCENTRACIJE KISIKA

Homeostaza koncentracije kisika je u viših organizama očuvana strogom kontrolom mase crvenih krvnih stanica i ventilacijom dišnog sustava. Neki radovi govore kako promjene u koncentraciji kisika neovisno osjeća nekoliko ROS stvarajućih proteina uključujući b-tip citokroma. Drugi govore kako promjena u stopi mitohondrijskog ROS može imati ulogu u osjećanju koncentracije kisika karotidnih tijela koja su senzorna tijela za otkrivanje promjene koncentracije kisika unutar arterijske krvi. Drugi odgovori na promjene tlaka kisika uključuju proizvodnju određenih hormona kao što su eritropoetin, čimbenik rasta krvožilnog endotela (engl. vaskular endothelial growth factor, VEGF) i inzulinu sličan čimbenik rasta (insulin-like growth factor, IGF-II). Ti hormoni su kontrolirani transkripcijom hipoksijom inducirano^g čimbenika (hypoxia inducible factor-1, HIF-1) (Valko i sur., 2006.).

6.5. REDOKS REGULACIJA STANIČNE ADHEZIJE

Stanična adhezija ima važnu ulogu u embriogenezi, rastu stanice, diferencijaciji, zarastanju rana i drugim procesima te je zbog toga strogo kontrolirana redoks regulacijom. Ekspresija stanične adhezije molekula je stimulirana bakterijskim lipopolisaharidima i raznim citokinima kao što su TNF, interleukin-1 i interleukin-1 β . Adhezija leukocita i endotel^{ne} stanica je izazvana ROS-om. Endotelne stanice obrađene ROS-om induciraju fosforilaciju adhezijske kinaze **pp125^{FAK}**, citosolnu tirozin kinazu koja je uključena u oksidacijski posredovani proces adhezije (Valko i sur., 2006.).

6.6. REDOKS REGULACIJA IMUNOLOŠKOG ODGOVORA

Čak i male količine okolišnih patogena aktiviraju imunološki odgovor koji uključuje limfocitni receptor za antigen, receptore za kostimulacijske i različite tipove citokina. Imunološki odgovor je redoks regulirani proces. Aktivacija T-limfocita znatno je pojačana pod utjecajem ROS ili zbog pomaka u unutarstaničnom glutation redoks stanju. Funkcije T-stanica kao što je proizvodnja interleukina-2 može biti inducirana fiziološki relevantnom koncentracijom superoksidnog radikala i vodikovog peroksida (Valko i sur., 2006.).

6.7. APOPTOZA INDUCIRANA S ROS

Apoptoza (programirana smrt stanice) potrebna je za pravilan razvoj stanice i za uništavanje stanica koje predstavljaju prijetnju cjelovitosti organizma. Odluka stanice na

„samoubojstvo“ bazira se na nedostatku pozitivnih signala i primanju negativnih. Postoje tri različita mehanizma kojima stanica počinu apoptozu: jedan koji pokreće unutarnji signal, drugi koji pokreću vanjski signali i treći koji pokreće čimbenik za induciranje apoptoze (AIF). Mehanizam koji pokreću unutarnji signali predstavlja unutarstanično oštećenje stanice koje uzrokuje Bel-2, protein koji se nalazi u vanjskoj membrani mitohondrija, on aktivira srodni protein Bax koji radi „rupe“ u vanjskoj membrani mitohondrija, zbog čega se citokrom-c oslobađa iz mitohondrija. Koristeći energiju oslobođenu iz ATP-a oslobođeni citokrom-c se veže na protein Apaf-1 (engl. apoptotic protease activating factor-1), nakon toga sljedi agregacija tih kompleksa stvarajući apoptosome koji vežu i aktiviraju poroteazu, kaspazu-9. Proteaze prione uz proteine uglavnom na ostatke aspartata. Kaspaza-9 aktivira druge izvršne kaspaze (3 i 7) koje vode probavu proteina citoplazme, razgradnju DNA i fagocitozu stanice. NO-ovisna apoptoza povezana je sa smanjenjem koncentracije kardiopolipina, smanjenom aktivnosti mitohondrijskog lanca elektrona i otpuštanjem mitohondrijskog citokroma-c u citosol. Endotelne stanice su otporne na apoptozu uzrokovanu radikalima dušikovih oksida. Njihova je otpornost povezana s visokim unutarstaničnim koncentracijama glutationa (Valko i sur., 2006.).

7. ROS U HUMANIM BOLESTIMA

Oksidativni stres je pronađen u različitim fiziološkim stanjima kao što su bolesti srca i krvožilnog sustava, tumori, neurološki poremećaji, dijabetes i druga stanja bolesti te starenje. Te bolesti se mogu svrstati u dvije grupe. Prva grupa obuhvaća bolesti koje karakterizira pro-oksidativno pomicanje tiol/disulfidnog redoks stanja i smanjenu tolerantnost na razinu glukoze, tako zvano stanje „mitohondrijskog oksidativnog stresa“. Tu spadaju tumori i dijabetes. Druga grupa obuhvaća bolesti koje karakteriziraju „upalni oksidativni uvjeti“ i pojačana aktivnost ili NAD(P)H oksidaze što dovodi do ateroskleroze i kroničnih upala ili ksantin izazvane formacije ROS uključene u ishemiju, DNA oštećenja i oksidaciju proteina (Valko i sur., 2006.).

Povezanost oksidativnog stresa i bolesti može se pokazati mjerenjima različitih biomarkera oksidativnog stresa.

7.1. TUMORI

Oksidativni stres uzrokuje neravnotežu redoks sustava stanice koja se može pronaći u raznim tumorskim stanicama te se zbog toga smatra kako redoks neravnoteža može stimulirati

onkogenezu. Trajne modifikacije genetičkog materijala nastale u slučaju oksidativnih oštećenja predstavljaju prvi korak mutageneze, kancerogeneze i starenja. DNA mutacija je kritičan korak u karcinogenezi i povišena količina oksidativne DNA lezije je primjećena u raznim stanicama tumora, takva oštećenja se pojavljuju u etiologiji tumora. Oštećenja DNA inducirana ROS-om uzrokuju jednostruke i dvostruke lomove DNA, purinske, pirimidinske i deoksiribonukleinske modifikacije i ukriženo povezivanje DNA lanca. DNA oštećenje može rezultirati zaustavljanjem ili induciranjem transkripcije, induciranjem transdukcije signalnih puteva, pogreškama u replikaciji te genetskom nestabilnošću. Sve ove posljedice povezane su s karcinogenezom. U najvećoj mjeri proučavana DNA lezija je formiranje 8-OH-G. Ova lezija je važna jer se relativno lako formira i mutagena je te je zbog toga potencijalni biljeg za praćenje kancerogeneze. DNA oštećenja, mutacije i promijenjene ekspresije gena su sve ključni čimbenici u procesu kancerogeneze, a čini se kako su oksidansi zajednički čimbenik svim tim procesima (Valko i sur., 2006.).

Uz ROS, različiti redoks aktivni metali, zbog svoje sposobnosti generiranja slobodnih radikala, ili neredoks metali, zbog svoje sposobnosti vezanja tiola, uključeni su u karcinogenezu i starenje (Valko i sur., 2006.).

Željezom inducirani oksidativni stres se smatra glavnim uzrokom raka debelog crijeva kod ljudi. Izloženost azbestu koji sadrži trideset posto masenog udjela željeza povećava rizik od azbestoze, drugog najčešćeg uzročnika raka pluća (Valko i sur., 2005.).

Izloženost kadmiju povezana je s povećanim oksidativnim stresom i tumorima. Kadmij sam nije u mogućnosti direktno generirati slobodne radikale, ali kroz nedirektne mehanizme može slobodnim radikalima inducirati oštećenja ekspresije DNA. Zapaženo je kako kadmij može aktivirati staničnu protein kinazu (kinazu C) što rezultira pojačanom fosforilacijom transkripcijskih čimbenika te tako dovodi do transkripcijske aktivacije ciljane ekspresije gena. Smatra se kako kadmij može sudjelovati i u raku gušterače i bubrega (Valko i sur., 2005.).

Heksavalentni krom smatra se potencijalnim uzročnikom raka pluća. Krom (VI) inducirana citotoksičnost je povezana s mitohondrijskom/lizosomskom toksičnošću uzrokovanom povećanim formiranjem slobodnih radikala. Krom (VI) ne reagira s DNA u uvjetima *in vitro*, ali kada se nađe unutar stanice uzrokuje različite lezije DNA. Također se otkrilo kako krom ima i ulogu u raku dojke (Valko i sur., 2005.).

Za arsenove spojeve se dobro zna kako su kancerogeni za ljude. On ima sposobnost vezanja za -SH i na taj način inhibira razne enzime uključujući i glutation reduktaze.

Istraživanja pokazuju kako arsen može djelovati i kao ko-kancerogena tvar ne izazivajući tumore direktno, već omogućujući drugim čimbenicima, kao što je pušački dim ili UV zračenje, olakšano oštećivanje DNA. Pokazano je kako izlaganje stanica JB6 arsenu inducira fosforilaciju i aktivaciju ERK i JNK. Učinak arsena na p53 nije u potpunosti razjašnjen. Eksperimentalni podaci pokazuju postojanje i p53 ovisne i p53 neovisne inducirane apoptoze i povećanu i smanjenu ekspresiju proteina (Valko i sur., 2005.).

Duhanski dim, dobro poznat kancerogeni izvor ROS-a, povećava oksidativna oštećenja DNA od trideset do pedeset posto, to je procijenjeno prema urinarnom izlučivanju 8-OH-G ili povećanje oštećenja od dvadeset do pedeset posto prema mjerenjima 8-OH-G u leukocitima. Glavni endogeni izvor ROS-a, potrošnja kisika, pokazala je blisku korelaciju s 8-OH-G stopom izlučivanja. Istraživanja koja su uključivala prehrambene navike, ograničenje energije i dodatke antioksidansa općenito nisu pokazale utjecaj na oksidativne DNA modifikacije (Valko i sur., 2006.).

Uz ROS i RNS, kao što je peroksinitrit i dušikovi oksidi, također su uključeni u oštećivanje DNA. U reakciji s gvaninom peroksinitrit prelazi u 8-nitrogvanin. Zbog svoje strukture ovaj spoj ima mogućnost izazvati transverziju G:C → T:A. Potencijalna veza između 8-nitrogvanina i procesa kancerogeneze je nepoznata (Valko i sur., 2006.).

Osim opsežnih istraživanja uloge oksidativnog oštećenja jezgrine DNA, postoje dokazi kako i oksidacija mitohondrijske DNA ima ulogu u kancerogenezi. Mutacije i promjenjena ekspresija mitohondrijskih gena koji kodiraju za komplekse I, III, IV i V pronađene su u različitim humanim tumorima. Vodikov peroksid i drugi kisikovi radikali su uključeni u aktivaciju jezgrinih gena koji su uključeni u mitohondrijsku biogenezu, transkripciju i replikaciju mitohondrijskog genoma. Iako regije tumorskih stanica koje posjeduju mutiranu mitohondrijsku DNA i u kojoj mjeri promjenjena mitohondrijska DNA sudjeluje u stvaranju tumora nije do kraja utvrđeno ipak postoji mnogo dokaza o povezanosti mitohondrija i kancerogeneze. Povezanost potvrđuje činjenica kako su pronađeni ulomci mitohondrijske DNA unešeni u jezgrinu DNA, čineći potencijalni mehanizam aktivacije onkogeneze (Valko i sur., 2006.).

Osim oštećenja DNA i proces peroksidacije lipida povezan je s mehanizmima karcinogeneze. Jednom formiran lipoperoksilni radikal može se preorganizirati ciklizacijom u endoperoksid i kao konačni produkt peroksidacije u malondialdehid (MDA). Drugi važan produkt peroksidacije je 4-hidroksinonenal (HNE). MDA je mutagen za bakterije i sisavce, a u štakora izaziva tumore. HNE je slabi mutagenik ali je glavni toksični produkt lipidne

peroksidacije. HNE također ima snažan utjecaj na signalni put transdukcije što u konačnici ima jak učinak na fenotip stanice. MDA može reagirati s bazama DNA gvaninom, adeninom i citozinom tvoreći T, T i T. T je pronađen u humanom tkivu dojki i u tkivu glodavaca. On je mutagen u bakterije *Escherichia coli* inducirajući prijelaz T u A (Valko i sur., 2006.).

7.2. KARDIOVASKULARNE BOLESTI

ROS inducirani oksidativni stres srčanih i vaskularnih miocita je povezan s ozljedama kardiovaskularnog tkiva. Bez obzira na dokaze izravne veze između oksidativnog stresa i kardiovaskularnih bolesti, ROS inducirani oksidativni stres ima ulogu u različitim kardiovaskularnim bolestima kao što su: ateroskleroza, ishemijska bolest srca, hipertenzija, kardiomiopatija, hipertrofija srca i kongestivno otkazivanje srca. Izvor oksidativnog stresa u kardiovaskularnom sustavu su: enzim ksantin oksidoreduktaza, NAD(P)H oksidaza, NOS, mitohondrijski citokrom i hemoglobin. NOS i hemoglobin su također primarni izvori RNS-a. Oksidativni stres je povezan s povećanim stvaranjem ROS-a koji modificira fosfolipide i proteine što dovodi do peroksidaze i oksidaze tiolnih grupa. Napadi ROS-a vode do promjena permeabilnosti membrane i raznih poremećaja staničnih proteina. Uz te poremećaje abnormalnosti funkcija miocita, zbog povećanog oksidativnog stresa, povezuju se s djelovanjem ROS-a na podstaničnom nivou (organelima). Na primjer inkubacija sarkoleme s vodikovim peroksidom i inhibira aktivnost ecto-ATP-aze. Sličan učinak je otkriven i na sarkolemskom ATP neovisnom vezanju. Ti učinci koleriraju s povećanjem MDA u sarkolemi (Valko i sur., 2006.).

Aktivnost mitohondrijske kreatin kinaze srca štakora smanjila se nakon izlaganja ksantinu i ksantin oksidazi ili vodikovom peroksidu. Kod srčanih mitohondrija obrađenih s ROS smanjio se transport. Oni obrađeni s 4-hidroksi-2-nonenalom imali su brz pad NAD(P)H. Prema ovim podacima može se zaključiti kako oksidativni stres može promijeniti funkcije različitih podstaničnih elemenata i na taj način promijeniti funkciju miocita (Valko i sur., 2006.).

Preopterećenje može biti izazvano različitim učincima ROS-a na proteine prijenosnike ili indirektno inducirajući lipidnu peroksidaciju membrana. Drugi mehanizmi uključuju povećanje koncentracije i akumuliranje lanaca masnih kiselina u membranama. Manjak ATP-a u ishemijskom srcu može smanjiti mehanizme regulacije sarkoleme i sarkoplazmatske retikularne membrane i na taj način izazvati preopterećenje. Unutarstanično preopterećenje

je zajednički čimbenik pojavi ateroskleroze, vazokonstrikciji i razvoju hipertenzije te srčane hipertrofije i zatajenju srca (Valko i sur., 2006.).

Pokusi na životinjama pokazali su velike količine željeza kod ateroskleroznih lezija koji ukazuje na željezom katalizirano formiranje slobodnih radikala u procesu razvoja ateroskleroze. Osim visoke količine kolesterola i unos oksidiranog kolesterola male gustoće (LDLox) ima ulogu u razvoju ateroskleroze. Oksidirani lipoprotein i LDLox posreduju u stvaranju poboljšane superoksid formacije što dovodi do apoptoze stanica vaskularnog zida. LDLox posredovano stvaranje ROS-a može uzrokovati stvaranje plaka, a ti se učinci mogu spriječiti liječenjem sa SOD i katalazama (Valko i sur., 2006.).

Od kada su kod pacijenata oboljelih od hipertenzije pronađene povišene koncentracije superoksida, vodikovog peroksida, etiologija ROS inducirano stresa u patogenezi hipertenzije dobro je utvrđena. Superoksid promiče proliferaciju stanice, dok vodikov peroksid uzrokuje apoptozu i aktivira protein kinazu C, sugerirajući važnu ulogu kinaze C u ROS posredovanim vaskularnim bolestima. ROS inducirani oksidativni stres kod pacijenata s hipertenzijom prati pad koncentracije antioksidansa kao što su vitamin E, GSH i SOD. Međureakcija SOD i SOD također ima ulogu kod oboljelih od hipertenzije. Na modelu štakora s hipertenzijom bubrega uočeno je kako su povišene razine superoksida povezane s potlačenim stvaranjem NO u aortinim prstenovima. Pošto je za vaskularne endotelne stanice poznato kako generiraju NO, potisnuto stvaranje NO dovodi do nefunkcionalnosti endotelne stanice i čini važan čimbenik u razvoju hipertenzije (Valko i sur., 2006.).

Angiotenzin II (AngII) je višenamjenski hormon koji utječe na mnoge stanične procese kao što su reguliranje funkcije krvnih žila, rast stanica, apoptoza, upale i fibroza. AngII ima važnu ulogu u regulaciji krvnog tlaka i fluidne homeostaze. Mnoga istraživanja pokazuju vezu između AngII i ROS. Poznato je kako vaskularne stanice uključujući endotelne stanice, glatke mišićne stanice, fibroblaste i makrofage generiraju superoksidne radikale i vodikov peroksid i zbog toga su izuzetno zanimljive kod međustaničnog i unutarstaničnog signaliziranja. Veza između hipertenzije i oksidativnog stresa vidi se jer AngII povećava stvaranje ROS od strane vaskularnih glatkih mišićnih stanica. Također AngII inducirana hipertenzija povezana je i s povećanom vaskularnom proizvodnjom superoksida. Kako je proizvodnja Ang II ključni korak hipertenzije inhibitori angiotenzin pretvarajućeg enzima (ACE) koji inhibiraju pretvorbu AngI u AngII koriste se u liječenju hipertenzije (Valko i sur., 2006.).

7.3. DIJABETES

Relativno malen broj oboljelih od dijabetesa (oko deset posto) boluje od dijabetesa tipa 1 ili inzulin ovisnog dijabetesa. Većina boluje od dijabetesa neovisnog o inzulinu i sposobni su bar u početku sami proizvoditi inzulin, ali imaju manjkavi stanični odgovor. Ovakav tip dijabetesa je tip 2 i najčešći je oblik ove bolesti. Smanjen unos glukoze u mišiće i masno tkivo dovodi do kronične izvanstanične hiperglikemije izazivajući oštećenja tkiva i patofiziološke komplikacije koje uključuju bolesti srce, aterosklerozu, periferna oštećenja živaca, retinopatiju i druge. Povećani oksidativni stres jedan je od glavnih uzročnika hiperglikemijom induciranog dijabetesa. Hiperglikemija u organizmu stimulira stvaranje ROS-a iz različitih izvora. Ti izvori su oksidativna fosforilacija, samooksidacija glukoze, NAD(P)H oksidaze, lipooksigenaze, citokrom p450 monooksigenaze i dušikov oksid sintaze (NOS) (Valko i sur., 2006.).

7.4. NEUROLOŠKE BOLESTI

Mozak je posebno osjetljiv na oksidativna oštećenja zbog velike količine kisika kojeg koristi te zbog velikog udjela oksigeniranih polinezasićenih masnih kiselina i prisutnosti redoks aktivnih metala (Cu i Fe). Oksidativni stres raste s godinama i zbog toga se može uzeti kao važan čimbenik u nekoliko neurodegenerativnih bolesti tipičnih za starije pojedince (Valko i sur., 2006.).

7.4.1. ALZHEIMEROVA BOLEST

Mozak pocijenata oboljelih od Alzheimerova pokazuje značajan stupanj oksidativnog oštećenja povezanog s izrazitim nakupljanjem peptida amiloida koji je glavni sastojak senilnih pločica u mozgu. Također pokazuje i taloženje neurofibrilnih isprepletenih masa i neurofilnih niti. A β je glavni sastojak senilne pločice i cerebrovaskularnog depozita amiloida. A β je peptid od 39-43 aminokiseline nastao od većeg peptida amiloid beta (A4). Pokazano je kako oligomerične vrste A β kod povećanih koncentracija 4-hidroksinonenala i vodikovog peroksida nemaju utjecaj na aktivnost i ekspresiju proteina BACE-1 (engl. β -site A β PP Cleaving Enzyme). Povećana proizvodnja A β kao preventivnog antioksidansa za lipoproteine mozga tijekom povećanog oksidativnog stresa i neurotoksina starenja važan je korak u nastajanju Alzheimerove bolesti. Pojedinci s genetski promjenjenim jednim od tri transmembranska proteina (amiloid prekursor protein, presenilin-1, presenilin-2) odlažu velike količine amiloidnog ulomka A β (1-42). Toksičnost A β peptida ovisi o njegovom

konfiguracijskom stanju i duljini peptidnog lanca. A β agregira u dva konfiguracijska stanja: ne- β amorfno, nefibrilno stanje i β -stanje koje je visoko uređeno i fibrilarno stanje. Na agregacijsko stanje A β peptida utječe koncentracija peptida, pH i ionska koncentracija cinka, bakra i željeze. Toksičnost A β ovisi i o duljini peptida tako da je A β (1-42) toksičniji od A β (1-40). A β (1-42) češće generira vodikov peroksid i ROS (Valko i sur., 2006.).

Bakar se veže na A β s visokim afinitetom za histidin (His13, His14 i His6) i tirozin (Tyr10). Bakar je u abnormalno visokim koncentracijama pronađen u amiloidnim pločicama. A β osim bakra veže cink i željezo te je koncentracija i ovih elemenata blago povišena u neurokorteksu mozga i jako povišena u amiloidnim pločicama osoba koje boluju od Alzheimerove bolesti. Cink taloži A β *in vitro*, a bakar pospješuje neurotoksičnost A β koja kolerira s redukcijom metala ($\rightarrow$) i generiranjem vodikovog peroksida. Učinak bakra se bolje očituje na A β (1-42), nego na A β (1-40). Kompleks A β (1-42) s bakrom ima visoki pozitivan redukcijski potencijal karakterističan za redukciju proteina vezanih s bakrom (Valko i sur., 2006.).

Iako je uloga reducirajućih metala jasna u etiologiji alchajmerove bolesti, uloga cinka je još upitna. Cink u mikromolarnim koncentracijama inhibira A β induciranu toksičnost. Točan mehanizam zaštitne uloge cinka nije do kraja poznat (Valko i sur., 2006.).

Bitno pitanje u razumjevanju Alzheimerove bolesti je gdje se u neuronu stvara najviše A β . Zna se kako se A β odlaže u terminalnim područjima neurona. Pokusi na glodavcima pokazali su kako se na perforiranom putu naknadno pokazao gubitak A β taloženjem u terminalna područja. Mnoge stvari u vezi ove bolesti još nisu razjašnjene te o njoj rade mnoga istraživanja (Valko i sur., 2006.).

7.4.2. PARKINSONOVA BOLEST

Parkinsonova bolest uključuje gubitak neurona u području srednjeg mozga koji se naziva substantia nigra. Stanice substance nigre koriste se dopaminom za komunikaciju s regijama strijuma. Takvo smanjenje nigralnog dopamina ima za posljedicu smanjenje dopamina strijuma te se smatra kako uzrokuje simptome Parkinsonove bolesti. Gubitak neurona i Lewyjeva tijela, patolška obilježja Parkinsonove bolesti, pronađeni su u cerebralnom korteksu, prednjem talamusu, hipotalamusu, amigdali i bazalnom prednjem mozgu. Lewyjeva tijela su sitni sferni depoziti koji se nalaze u živčanim stanicama. Njihova prisutnost u mozgu remeti normalnu funkciju mozga, na način da poremeti važne kemijske glasnike uključujući i acetilkolin i dopamin. Najvažnija komponenta Lewyjevih tijela su filamentni od α -sinukleina.

Dvije nedavno otkrivene točkaste mutacije u α -sinukleinu su genetski uzroci Parkinsonove bolesti (Valko i sur., 2006.).

Oksidativni stres kod Parkinsonove bolesti vidi se nakon smrti obdukcijom i tijekom istraživanja o izazivanju propadanja nigralnih stanica oksidativnim stresom. Postoje dokazi o postojanju visoke razine bazalnog oksidativnog stresa u substantia nigra pars compacta (SNc) i u zdravom mozgu, ali kod oboljelih se povećava. Ostali čimbenici koji imaju ulogu u etiologiji Parkinsonove bolesti su: ekscitotoksični mehanizmi, upale, toksično djelovanje NO i mitohondrijska disfunkcija. Budući kako je poznato da c-Jun N-terminalna kinaza (JNK) ima važnu ulogu u reguliranju mnogih staničnih procesa koji su pogođeni Parkinsonovom bolešću (PD) sve se više daje pozornosti JNK u istraživanju ove bolesti. Jedan od najranijih mjerljivih promjena u PD mozgu je smanjena razina glutaciona u substantia nigra. Dokazano je kako propadanje glutaciona u dopaminskoj stanici u kulturi rezultira smanjenjem aktivnosti mitohondrijskog kompleksa I (glavni znak PD) i značajno smanjenje mitohondrijske funkcije. Trenutni dokazi upućuju kako inhibicija mitohondrijskog kompleksa I može biti središnji uzrok sporadičnog PD i kako poremećaj u kompleksu I izaziva α -sinuklein agregaciju što doprinosi usmrćivanju dopaminskih neurona. Čini se kako inhibicija kompleksa I nastaje zbog proizvodnje NO, koji reagira s proteinima unutar kompleksa I i time sprječava njegovo djelovanje. Liječenje glutation ispražnjene dopaminske stanice u kulturi pomoću inhibitora sintetaze dušičnog monoksida (NOS), enzima koji sprječava nastajanje NO, sprječava inhibiciju mitohondrijskog kompleksa I. Osim toga pronađene su povećane koncentracije željeza u srednjem mozgu oboljelih od PD. Zanimljivo kako genetičko ili farmaceutsko helatno željezo u obliku u kojem ne može sudjelovati u oksidativnom stresu sprječava propadanje dopaminskih stanica srednjeg mozga. To upućuje kako povećana razina željeza sudjeluje u kasnijim procesima neurodegeneracije i kako helatno željezo može spriječiti ili odgoditi PD (Valko i sur., 2006.).

Navedeni procesi (ne funkcioniranje mitohondrijskog kompleksa I, propadanje unutarstaničnog tiola, povećanje nigralnog željeza) rezultat su oksidacije dopamina u 6-hidroksidopamin ili dopamin-kvinon. Oba ova proizvoda su neurotoksična ili direktno, ili nakon konjugacije s cisteinom. Ulaženje i oslobađanje željeza iz proteina za pohranjivanje željeza (ferritin) događa se preko puta slobodnog željeza nevezanog za ferritin „free iron (ferrous) labile pool“, redoks aktivno željezo uključeno u oksidativni stres i stanična oštećenja. Ferritinsko željezo može biti oslobođeno od strane 6-hidroksidopamina neurotoksina uključenog u PD (Valko i sur., 2006.).

Nedavno je pokazano kako gubitak gena Parkinsonove bolesti DJ-1 dovodi do velike osjetljivosti na neke herbicide i insekticide. Iz čega se može zaključiti kako DJ-1 ima ulogu u zaštiti od oksidativnog stresa uzrokovanog okolišnim toksinima (Valko i sur. 2006.).

Levodopa (L-dopa) često u kombinaciji s karbidopa je prekursor dopamina i najčešće korišteni lijek za PD. Moguće je da dugotrajno korištenje L-dope uzrokuje oksidaciju i trovanje stanica mozga. Zbog ovakvih pojava preporuča se uvođenje antioksidansa kao način liječenja PD (Valko i sur., 2006.).

Kako oksidativni stres čini niz kaskada koje dovode do dopaminergične smrti, jedan je od glavni problema razumjevanja patogeneze PD odvajanje učinka i opsega oksidativnog stresa iz drugih dijelova kaskade koji bi mogli imati ključnu ulogu u pokretanju ROS ili RNS (Valko i sur., 2006.).

8. LITERATURA

- o Valko M., Leibfritz D., Moncola J., Cronin M.T.D., Mazur M., Telser J., 2006.: Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease, The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, str. 50-75
- o Valko M., Rhodes C.J., Moncol J., Izakovic M., Mazur M., 2005.: Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer, Chemico-Biological Interactions, str. 1, 5-8
- o Droge W., 2002.: Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function, str. 48-50

9. SAŽETAK

Slobodni radikali mogu se definirati kao molekule ili dijelovi molekule koji sadrže nesparene elektrone u atomskim orbitalama. Kisikovi radikali su najbitnija vrsta slobodnih radikala koja nastaje unutar živih bića. ROS i RNS poznati su po svojoj dvostrukoj ulozi u stanici. Jedna od uloga slobodnih radikala je da uzrokuju oksidativni stres. Organizmi su razvili različite mehanizme obrane od oksidativnog stresa. Jedan od mehanizama je i obrana enzimima oksidativnog stresa.

Slobodni radikali sudjeluju i u mnogim normalnim fiziološkim procesima kao što su: redoks regulirana produkcija NO, ROS proizvodnja pomoću fagocitozne NAD(P)H oksidaze, ROS produkcija pomoću NAD(P)H oksidaze u nefagocitoznim stanicama, produkcija ROS-a kao posljedica promjene koncentracije kisika, redoks regulacija stanične adhezije, redoks regulacija imunološkog odgovora i apoptoza inducirana ROS-om.

Oksidativni stres je pronađen i u različitim fiziološkim stanjima bolesti kao što su: kardiovaskularne bolesti, tumori, neurološki poremećaji, dijabetes i druge.

10. SUMMARY

Free radicals can be defined as molecules or parts of molecules that contain unpaired electrons in atomic orbitals. ROS are the most important types of free radicals generated within living beings. ROS i RNS are known for their dual role in the cell. One of the roles of free radicals is that they cause oxidative stress. Organisms have developed various defense mechanisms against oxidative stress. One of them is by using oxidative stress enzymes.

Free radicals participate in many normal physiological processes such as: redox regulated production of NO, ROS production by phagocytic NAD(P)H oxidase, ROS production by NAD(P)H oxidases in nonphagocytic cells, ROS production as a sensor for changes of oxygen concentration, redox regulation of cell adhesion, redox regulation of immune responses and ROS-induced apoptosis.

Oxidative stress has been found in various diseases such as cardiovascular disease, cancer, neurological disorders, diabetes...