

SVEU ILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO – MATEMATI KI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

SLOBODNI RADIKALI U ZDRAVLJU I BOLESTI

FREE RADICALS IN DISEASE AND HEALTH

SEMINARSKI RAD

Ina Luki

Preddiplomski studij biologije

(Undergraduate Study of Biology)

Mentor: prof. dr. sc. Nada Oršoli

Zagreb, 2014.

SADRŽAJ

1. UVOD.....	2
2.SLOBODNI RADIKALI U BOLESTI.....	3
2.1. OKSIDATIVNI STRES.....	3
2.2. LIPIDI I LIPIDNA PEROKSIDACIJA.....	4
2.3. UGLJIKOHIDRATI.....	4
2.4. DNA.....	4
2.5. PROTEINI.....	5
2.6. KARCINOGENEZA.....	5
2.7. STARENJE.....	5
3. SLOBODNI RADIKALI U ZDRAVLJU.....	6
3.1. REDOKS HOMEOSTAZA.....	6
3.2. OKSIDIRANI PROTEINI KAO SUPSTRATI ZA PROTEOLITI KU RAZGRADNJU.....	7
3.3. REGULACIJA TONUSA KRVNIH ŽILA- FUNKCIJA SLOBODNOG RADIKALA NO.....	7
3.4. ROS KAO SENZOR PROMJENE KONCENTRACIJE KISIKA.....	8
3.5. ROS- POJA AVANJE IMUNOLOŠKOG SUSTAVA.....	8
4. ANTIOKSIDANTI.....	10
5. LITERATURA.....	12
6. SAŽETAK.....	13
7. SUMMARY.....	13

1. UVOD

Slobodne radikale u kemiji predstavljaju atomi, ioni i molekule koje imaju nespareni valentni elektron koji ih čini izuzetno reaktivnima s drugim spojevima.

Prisutnost slobodnih radikala u živim biima otkrivena je tek prije 60-tak godina. Denham Harman (1956) je postavio hipotezu da se radikali kisika stvaraju kao nusproizvodi enzimske aktivnosti u tijelu te ih opisao kao moguće uzročnike stanih oštećenja, mutageneze, raka i kao degenerativni procesi starenja organizma (Lien i sur. 2008). Ima puno načina s kojima slobodni radikali nastaju u ljudskom tijelu, a to su najčešće unutarnji izvori: procesi stanih i metabolizma, razgradnja makromolekula, tjelesna aktivnost, upalni procesi, fagocitoza; ili pak vanjski izvori kao što su: lijekovi, radijacija, onečišćenje zraka, dim cigareta, ozon, industrijska otapala...

Pri visokim koncentracijama slobodnih radikala u tijelu se događaju procesi koji štete glavnim sastavnim stanicama; u koje ubrajamo oksidativni stres, dok pri niskim koncentracijama neki radikali kao što su dušikov oksid (NO), anion superoksida (O_2^-) i ostale srodne reaktivne vrste kisika (ROS) obavljaju važnu funkciju regulatornih posrednika u signalnim procesima. Slobodni radikali time imaju dvostruku ulogu u tijelu budući da su ti u isto vrijeme i otrovni i korisni. Ravnoteža između ova dva antagonistička faktora i dalje je jako bitan životni aspekt (Dröge 2002).

2. SLOBODNI RADIKALI U BOLESTI

2.1. OKSIDATIVNI STRES

Sve biološke molekule prisutne u našem tijelu su u opasnosti da budu napadnute od slobodnih radikala. Takve oštećene molekule mogu oštetiti stanične funkcije, pa čak i dovesti do smrti stanica koja na kraju rezultiraju s bolesnim stanjima organizma.

Odnos između slobodnih radikala i bolesti se može objasniti pomoću oksidativnog stresa kojeg je obrazložio Sies (1986). Kada se ravnoteža između stvaranja slobodnih radikala i obrambenih mehanizama antioksidansa naruši dolazi do oksidativnog stresa, što se povezuje sa oštećenjem velikog raspona molekulskih skupina u tijelu uključujući i lipide, proteine i nukleinske kiseline. Kratkotrajni oksidativni stres se može pojaviti u ozljeđenom tkivu zbog traume, infekcija, toksina i tjelesne vježbe (Slika 1). Ta ozljeđena tkiva povećavaju broj enzima koji proizvode radikale, oslobađaju željezo, bakrove ione, ili remete prijenos elektrona oksidativne fosforilacije proizvode i tako veliku količinu ROS-a koji više ne obavlja svoju funkciju staničnog signaliziranja, nego uništava istu stanicu.

Otkriveno je da oksidativni stres ima veliku ulogu u raznim bolestima kao što su artritis, vaskulitis, dijabetes, glomerulonefritis, lupus erythematosus, bolestima dišnog sustava, srčanih bolesti, moždanog udara, sindroma stećene imunodeficijencije, emfizema, gastričnih ulcera, hipertenzije, neurološkim poremećajima (Alzheimerova i Parkinsonova bolest, mišićna distrofija), alkoholizma i bolestima usko povezanih sa pušenjem (Stefanis 1997).



Slika 1. Oksidativni stres prouzrokovan slobodnim radikalima

(<http://premiermicronutrient.com/files/2012/01/cell-process.jpg>)

2.2. LIPIDI I LIPIDNA PEROKSIDACIJA

Membranski lipidi prisutni u unutarstani nim organelima su jako podložni djelovanju slobodnih radikala, koji pri reakciji s njima stvaraju štetan lanac reakcija lipidne peroksidacije tijekom koje se stvaraju toksi ni nusproizvodi (Devasagayam i sur. 2003).

Lipidna peroksidacija po inje oduzimanjem jednog atoma vodika iz metilenske skupine (CH₂), koja ostavlja za sobom nesparen elektron na ugljikovom atomu (+CH). Ovaj radikal se stabilizira pomo u molekulske raspodjele koja proizvodi diene i zatim reagira sa molekulom kisika koja daje lipid peroksil radikal (LOO[•]). Takvi radikali nadalje oduzimaju atome vodika iz drugih lipidnih molekula koji stvaraju lipid hiperokside (LOOH) koji dalje propagiraju lipidnu peroksidaciju. Lan ana reakcija dovodi do stvaranja izoprostana iz esencijalnih masnih kiselina; toksi ni spojevi nazo nih u velikim koli inama kod pacijenata Alzheimerove bolesti, Parkinsonove bolesti i sr anih udara. Imaju svojstvo mijenjanja percepcije boli u tijelu tj. povea avanje razine boli (Yoshikawa i sur. 2000).

2.3. UGLJIKOHIDRATI

Slobodni radikali kao što su +OH reagiraju s ugljikohidratima pri emu uzimaju jedan vodikov atom i proizvode tako ugljikov radikal, koji dovodi do raspadanja molekula kao što hijaluronska kiselina. Akumulacijom i aktivacijom neutrofila tijekom upalnog procesa uzrokovanih radikalima kisika u sinovijalnoj teku ini koja okružuje zglobove nastaju simptomi pripisani reumatoidnom artritisu.

2.4. DNA

Oksidativno ošte enje DNA je rezultat me udjelovanja DNA sa ROS-om. Slobodni radikali (+OH, H⁺) reagiraju s pirimidinskim skupinama koje su podložne napadu +OH iona koje stvaraju širok spektar štetnih spojeva: glikol, dTG, i 8-hidroksi-2-deoksiguanozin koji se uzima za kao biološki biljeg za oksidativni stres (Hattori i sur. 1997).

2.5. PROTEINI

Oksidacijom proteina ROS-om nastaju jednako reaktivni radikali koji esto mogu reagirati s metalnim ionima. Iako su mnogi oksidirani proteini funkcionalni inaktivni i brzo odstranjeni iz organizma, neki se mogu akumulirati vremenom i pridonjeti ošte enjima pripisanih starenjem i drugih bolesti. Lipofuscin je jedan od agregata peroksidnih lipida i

proteina koji se akumuliraju u lizosomima stanica i moždanim stanicama pacijenata s Alzhimerovom bolesti (Stadtman, 1992).

2.6. KARCINOGENEZA

Superoksidni anion, vodikov peroksid, hidroksidni radikal, dušikov oksid i njihovi metaboliti igraju važnu ulogu u karcinogenezi. Dokazano je da prisutnost radikala u tijelu može dovesti do mutacija, transformacija i nastanka raka. Biološki u inak radijacije je mutacija koja se uglavnom događa oštećenjem DNA putem HO[•] radikala koji reagira sa pirimidinskim bazama urušavaju i tako njihovu dvostruku vezu. Taj proces uzrokuje stanje mutagenezu i karcinogenezu (Valko i sur. 2004). Oksidativna oštećenja DNA mogu proizvesti modifikacije u strukturi DNA uključujući i lezije šećera i baza, lomljenje lanca, i nedostatak baza u strukturi (rupe). Pušenje duhana i kronične upale rezultiraju DNA oštećenju koja pridonose razvoju raka pluća. Bitna je korelacija između konzumacije masti i smrti od raka dojke, jajnika i rektuma među starijim ljudima što ukazuje na veliku količinu lipidne peroksidacije (Dröge 2002).

2.7 STARENJE

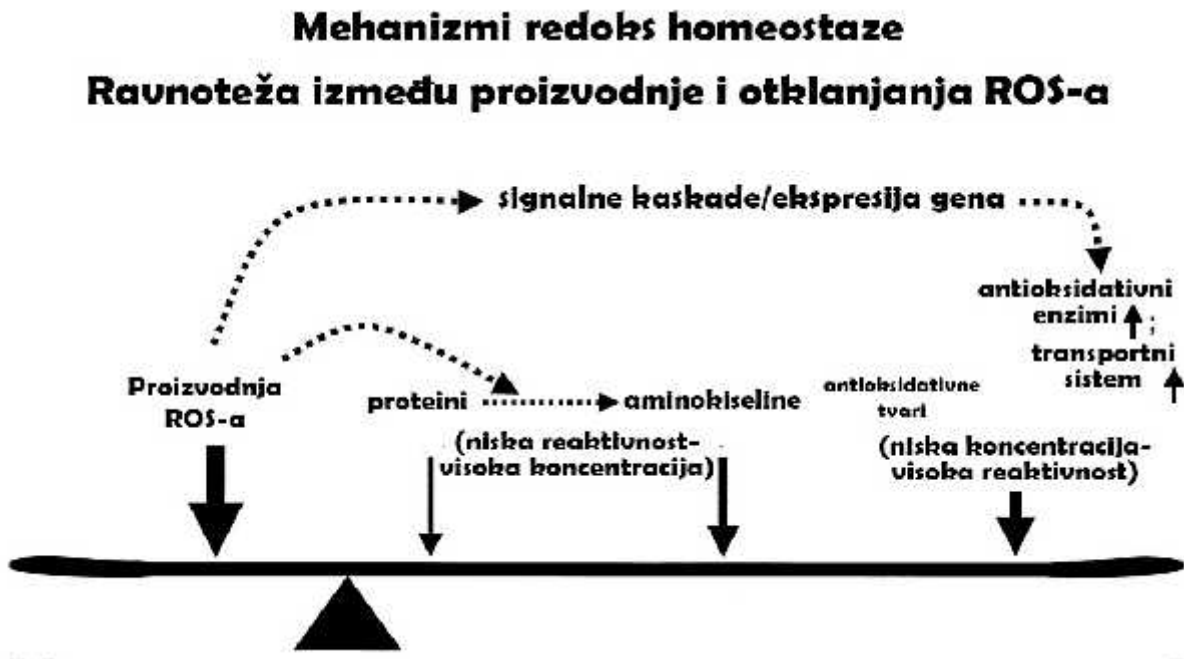
Ljudsko tijelo je u stalnoj borbi protiv starenja. Istraživanja pokazuju da su oštećenja uzrokovana slobodnim radikalima dovela do patoloških promjena povezanih sa starenjem. Sve veći broj bolesti i poremećaja, kao i starenje, pokazuju da slobodni radikali izravno ili neizravno utječu na nastanak tih promjena. Redukcija slobodnih radikala ili smanjivanje brzine njihove proizvodnje može odgoditi starenje. Neki od prehrambenih antioksidansa mogu usporiti proces starenja i spriječiti bolest. Istraživanja pokazuju da slobodni radikali štete odgovarajući oštećenju obrani organizma, i da se uz optimalan unos antioksidantnih nutrijenata može pridonijeti jačanju kvalitete života i pozitivno utjecati na životni vijek (Sastre i sur. 1996).

3.SLOBODNI RADIKALI U ZDRAVLJU

3.1. REDOKS HOMEOSTAZA

Redoks signaliziranje se koristi u regulatornim procesima u kojima se signal prenosi preko redukcijsko-oksidativnih reakcija. Ovakvo signaliziranje koristi širok raspon organizama, uključujući i bakterije, koje potiče zaštitne mehanizme protiv oksidativnih oštećenja i vraćaju organizam u prvobitno stanje redoks homeostaze.

Slobodni radikali postoje u biološkim stanicama u malim mjerljivim koncentracijama koje su određene ravnotežom između njihove stope proizvodnje i stope otklanjanja pomoću enzima i antioksidansa, prikazano na Slici 2 (Halliwell i sur. 1989).



Slika 2. Mehanizam redoks homeostaze

(<http://physrev.physiology.org/content/physrev/82/1/47/F2.large.jpg>)

Povećana koncentracija ROS-a potiče stanice na ekspresiju gena za aminokiseline i antioksidativne enzime koje uklanjaju višak ROS-a u tijelu. Velika količina aminokiselina se tako proizvede, no one su manje reaktivne prema radikalima za razliku od antioksidativnih enzima kojih ima manje.

3.2. OKSIDIRANI PROTEINI KAO SUPSTRATI ZA PROTEOLITIKU RAZGRADNJU

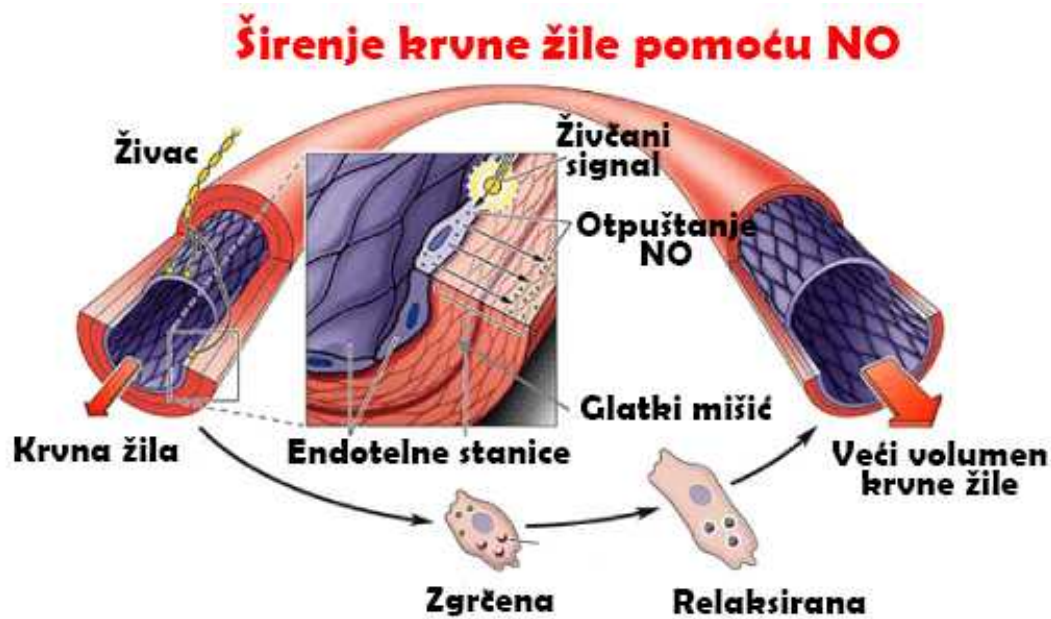
Radikali kisika uzrokuju izmjene proteina koje mijenjaju funkciju proteina ili ih čine podložnom proteolitičkoj razgradnji (proteolizi) (Grune i sur. 1997). Proteoliza u organizmu služi u razne svrhe; na primjer, razgradnja proteina iz hrane osigurava aminokiseline za organizam. Proteoliza je također važna u regulaciji nekih fizioloških i staničnih procesa, kao

što je sprječava napredovanje nakupljanja neželjenih ili abnormalnih proteina u stanicama. Proteini se mogu snažno razlikovati u svojoj osjetljivosti na oksidativna oštećenja; dokazano je da su intaktni proteini manje osjetljivi na oksidaciju od pogrešno savijenih proteina koje ne obavljaju svoju prvotnu funkciju i zbog toga budu eliminirani proteolizom. Ti rezultati ukazuju na to da organizmi evolucijski izabiru proteinske strukture koje su relativno dobro zaštićene od aktivnosti radikala (Dukan i sur. 2000).

3.3. REGULACIJA TONUSA KRVNIH ŽILA- FUNKCIJA SLOBODNOG RADIKALA NO

NO (dušikov oksid) je jedan od rijetkih signalnih molekula u plinovitom stanju. Ključan je glasnik jer igra važnu ulogu u različitim biološkim procesima. Poznat je kao relaksirajućim faktorom endotela, endogeno se sintetizira iz L-arginina, kisika i NADPH pomoću različitih enzima dušikov oksid sintaze. Endotel krvnih žila koristi NO za signaliziranje opuštanja okolnih glatkih mišića što rezultira u vazodilataciju i povećanje protoka krvi (Slika 3). Vrlo je reaktivan i slobodno se prenosi kroz membranu što ga čini idealnom signalnom molekulom.

Dušikov oksid utječe na homeostazu krvnih žila time što inhibira kontrakcije glatkih mišića i njihov rast, agregaciju trombocita i adheziju leukocita na endotel (Dessy i sur. 2004).



Slika 3. Širenje krvne žile pomoću NO

(http://www.emblaarginine.com/wp-content/themes/embla_arginine/images/dilation_of_blood_vessel.png)

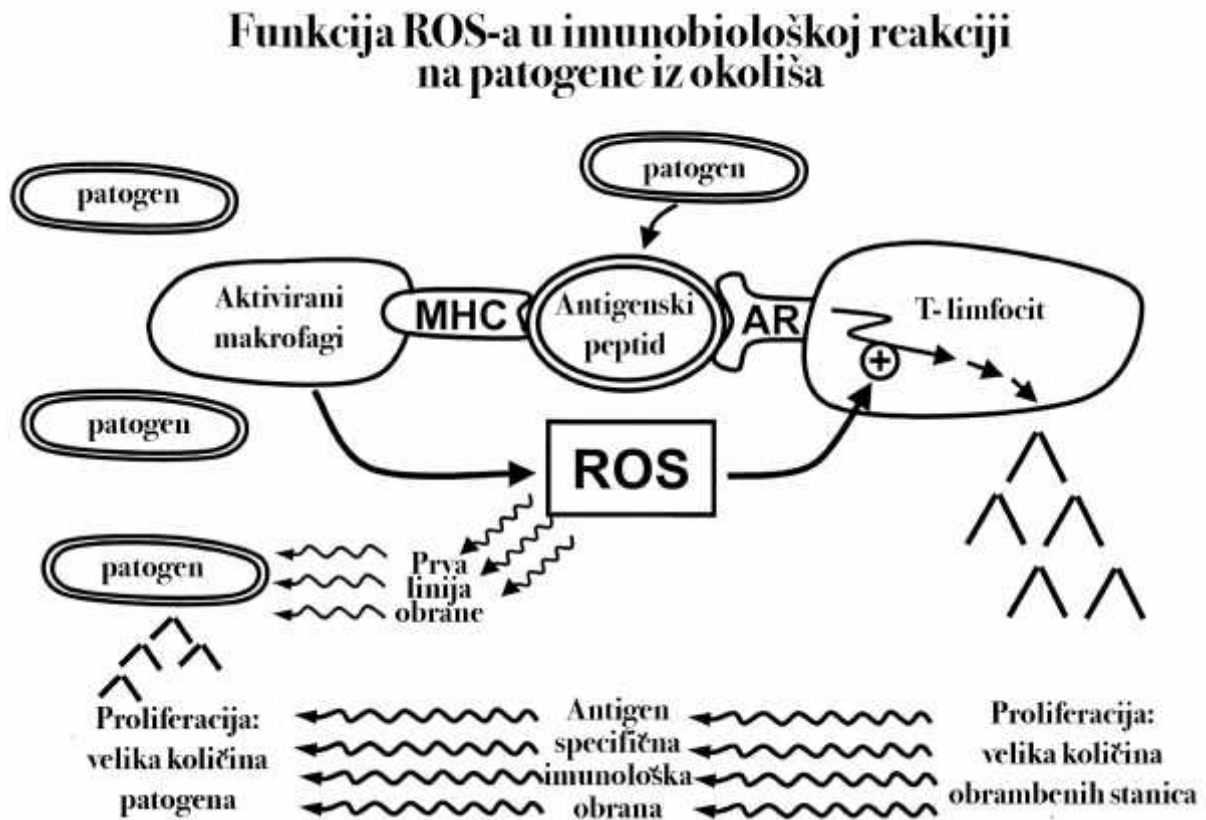
3.4. ROS KAO SENZOR PROMJENE KONCENTRACIJE KISIKA

Homeostaza se u viših organizama održava striktnom regulacijom crvenih krvnih stanica i respiratorne ventilacije. Vratne žile imaju tjelešca koja služe kao senzorni organi koji otkrivaju promjene razine kisika u arterijama. Te stanice su sastavljene od kemoreceptorskih stanica koje otpuštaju neurotransmitere kao odgovor za hipoksiju. Indikatori za hipoksiju su ROS koji nastaju iz mitohondrija (Bunn i sur. 1996).

3.5. ROS- POJAČAVANJE IMUNOLOŠKOG SUSTAVA

Limfociti su nositelji specifične imunološke reakcije i igraju važnu ulogu u obrani od patogena iz okoliša. Kombinacije regulatornih procesa osiguravaju da i male količine patogena aktiviraju visoko agresivne odgovore sustava na njih bez velikog oštećenja na tkivo.

Funkcionalna aktivacija T limfocita je snažno pojačana ROS-om (Slika 4). Superoksidi i male koncentracije vodikovog peroksida povećavaju proizvodnju interleukina-2 koji čini prirodni odgovor na mikrobne infekcije (Hehner i sur. 2000).

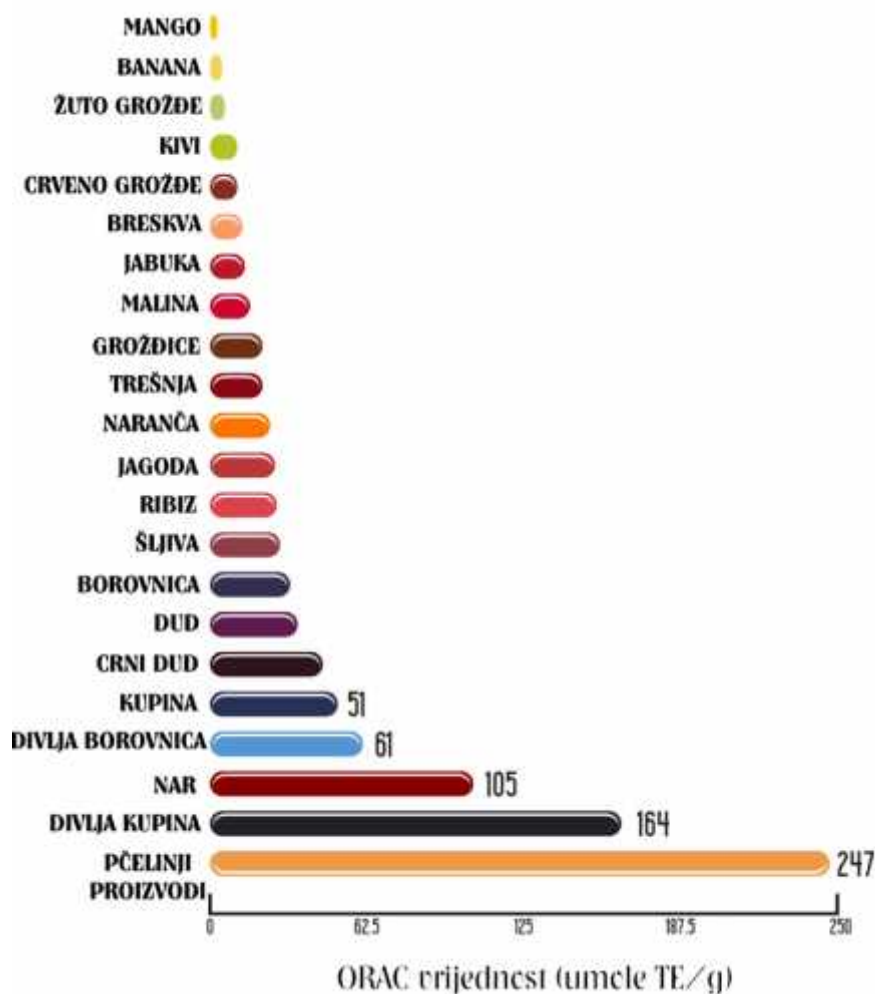


Slika 4. Funkcija ROS-a u imunološkoj reakciji

(<http://physrev.physiology.org/content/physrev/82/1/47/F7.large.jpg?width=800&height=600>)

4. ANTIOKSIDANTI

Tijelo ima nekoliko mehanizama za suzbijanje oksidativnog stresa stvaranjem antioksidanata *in situ* ili uzimanjem istih preko hrane. Uloga antioksidanta je neutralizacija viška slobodnih radikala i zaštita stanica od njihovih toksičnih učinaka u inak- prevencija bolesti. Antioksidanti iz naše prehrane igraju važnu ulogu u pomaganju endogenim antioksidantima pri neutralizaciji oksidativnog stresa. Nedostatak hranjivih antioksidanata je jedan od uzroka brojnih kroničnih i degenerativnih bolesti. Svaki nutrijent je jedinstven u smislu svoje funkcije i strukture. Kapacitet absorbancije kisikovih radikala (engl. Oxygen Radical Absorbance Capacity, ORAC) je trenutni industrijski standard u procjenjivanju antioksidativne moći pojedine hrane. Slika 5. prikazuje ORAC vrijednosti nekih namirnica. Graf upućuje na činjenicu da tamnija hrana u pravilu ima veću antioksidativnu moć.



Slika 5. Prisutnost antioksidanata u različitim skupinama hrane

<http://www.newyoubootcamp.com/blog/wp-content/uploads/2014/05/Antioxidants-2.png>

U posljednjem desetljeću u preventivna medicina je doživjela veliki napredak, posebno u razvijenim zemljama. Istraživanja su pokazala da prehrana igra ključnu ulogu u prevenciji kroničnih bolesti, jer se veći broj njih može povezati s nekvalitetnom prehranom. Pojam funkcionalne hrane se uveo već 1984. godine i opisuje hranu koja nije samo potreba za život, nego je izvor mentalnog i fizičkog blagostanja, koja pridonosi prevenciji i smanjenju imbeničkih rizika za nekoliko bolesti ili poboljšava određene fiziološke funkcije. Hrana se može smatrati funkcionalnom ako na zadovoljavajući način dokazuje da utječe blagotvorno na jednu ili više funkcija u tijelu. Vitamin E, vitamin C, beta-karoten, likopen, selen (Se), flavonoidi, omega-3 i omega-6 masne kiseline se smatraju najvažnijim antioksidantima i svaki od njih ima svoju ulogu (Lien i sur. 2008).

Antioksidativni dodaci prehrani su spojevi dobiveni izdvajanjem iz prirodnih namirnica ili kemijskom sintezom. Nemaju jednak sastav kao prirodni antioksidanti u hrani, ali se uzimaju kao dodaci suvremenog liječenja mnogih bolesti uzrokovanih radikalima. Ovakav pristup liječenju ili prevenciji je idealan za određeni dio populacije kao što su vojnici, pacijenti s gastrointestinalnim poremećajima koji nisu u mogućnosti probavljati raznovrsnu hranu, ljudi koji ne mogu doći do raznovrsnog voća, povrća i morskih plodova. Metoda još nije potpuno istražena, budući da svaka bolest zahtjeva različitu količinu antioksidativnih dodataka prehrani (Dröge 2002).

5. LITERATURA

- Bunn H, Poyton RO, Oxygen sensing and molecular adaptation to hypoxia. *Physiol Rev.* 1996;76:839–885
- Dessy C, Ferron O, Pathophysiological Roles of Nitric Oxide: In the Heart and the Coronary Vasculature. *Curr Med Chem.* 2004;3(3): 207–216
- Devasagayam TPA, Bolor KK, Ramsarma T. Methods for estimating lipid peroxidation: Analysis of merits and demerits(minireview). *Indian J Bioche Biophys* 2003;40:300-8
- Dröge W, Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiol Rev.* 2002;82:47-95
- Dukan S, Farewell A, Ballesteros M, Taddei F, Radman M, Nyström T, Protein oxidation in response to increased transcriptional errors. *Proc Natl Acad Sci.* 2000;97:5746–5749
- Grune T, Reinheckel T, Davies KJA, Degradation of oxidized proteins in mammalian cells. *FASEB.* 1997;11:526–534
- Halliwell B, Gutteridge JMC, Free Radicals in Biology and Medicine. Clarendon Press, 1989
- ˆHattori Y, Nishigori C, Tanaka T, Ushida K, Nikaido O, Osawa T. 8 Hydroxy-2-deoxyguanosine is increased in epidermal cells of hairless mice after chronic ultraviolet B exposure. *J Invest Dermatol.*1997;89:10405–9
- ˆSastre J, Pellardo FV, Vina J. Glutathione, oxidative stress and aging. *Age.* 1996;19:129–39
- Sies H, Biochemistry of Oxidative Stress. *Angew Chem Internat Ed.* 1986; 25:1058-71
- Pham-Huy LA, Hua H, Pham-Huy C, Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *Int J Biomed Sci.* 2008;4(2):89-96
- ˆStefanis L, Burke RE, Greene LA, Apoptosis in neurodegenerative disorders. *Curr Opin Neurol.* 1997;10:299-305
- Stadtman ER. Protein oxidation and aging. *Science* 1992;257:1220-25
- Pham-Huy LA, Hua H, Pham-Huy C, Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *Int J Biomed Sci.* 2008;4(2):89-96
- ˆValko M, Izakovic M, Mazur M, Rhodes CJ, et al. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol. Cell Biochem.* 2004;266:37–56
- ˆYoshikawa T, Toyokuni S, Yamamoto Y, Naito Y, Free Radicals In Chemistry Biology and Medicine. *OICA Int.* 2000.

6. SAŽETAK

Slobodni radikali su atomi ili skupine atoma s nesparenim brojem elektrona koji mogu započeti lanac reakcije u tijelu. Predstavljaju opasnost organizmu jer mogu reagirati s vrlo važnim staničnim komponentama kao što su DNA i membrane, no s druge strane, u manjim koncentracijama obavljaju vrlo važne uloge signaliziranja pri vitalnim procesima. Doprinosu nastanku mnogih kroničnih zdravstvenih problema kao što su kardiovaskularne bolesti, upalne bolesti i rak ako dođe do velikog poremećaja radikala i antioksidanata u tijelu. Redoks homeostaza je jako važan pojam koji se odnosi na ravnotežu proizvodnje i uklanjanja viška slobodnih radikala. Pri urušavanju iste, dolazi do oksidativnog stresa kojim nastanku nekih kroničnih i degenerativnih bolesti. Unos antioksidanata koji sprječavaju štetne učinke slobodnih radikala smanjuje pojavnost kroničnih i degenerativnih bolesti. Tijelo je potrebno dugoročno štititi od oksidativnog stresa unosom funkcionalne hrane u organizam i izbjegavati oksidativne izvore kao što su cigarete, alkohol, droge, stres...Naše zdravlje doista ovisi o izboru našeg životnog stila.

7. SUMMARY

Free radicals are atoms or groups of atoms with an unpaired number of electrons that can start a chain reaction in the body. They represent a danger for the body, because they react with very important cellular components such as DNA and membranes, on the other hand, at lower concentrations they perform a very important role in signaling of vital processes. Contributing to the onset of many chronic health problems such as cardiovascular disease, inflammatory disease and cancer when there is a large imbalance between radicals and antioxidants in the body. Redox homeostasis is a very important term that refers to the balance of production and removal of excess free radicals. Collapse of that balance leads to oxidative stress with implications in the development of several chronic and degenerative diseases suggests that it is very important to ingest antioxidants that prevent the harmful effects of free radicals. It's necessary to protect the body in the long term from oxidative stress

by intake of functional foods and avoid oxidative sources such as cigarettes, alcohol, drugs, stress... Our health really depends on the choice of our lifestyle.