



Katedra za medicinsku biohemiju

Oksidativni stres u humanoj patologiji

Antioksidativna zaštita i preparati sa antioksidativnim djelovanjem

Doc. dr Snežana Pantović

Sistem antioksidativne zaštite

- **Primarni:**

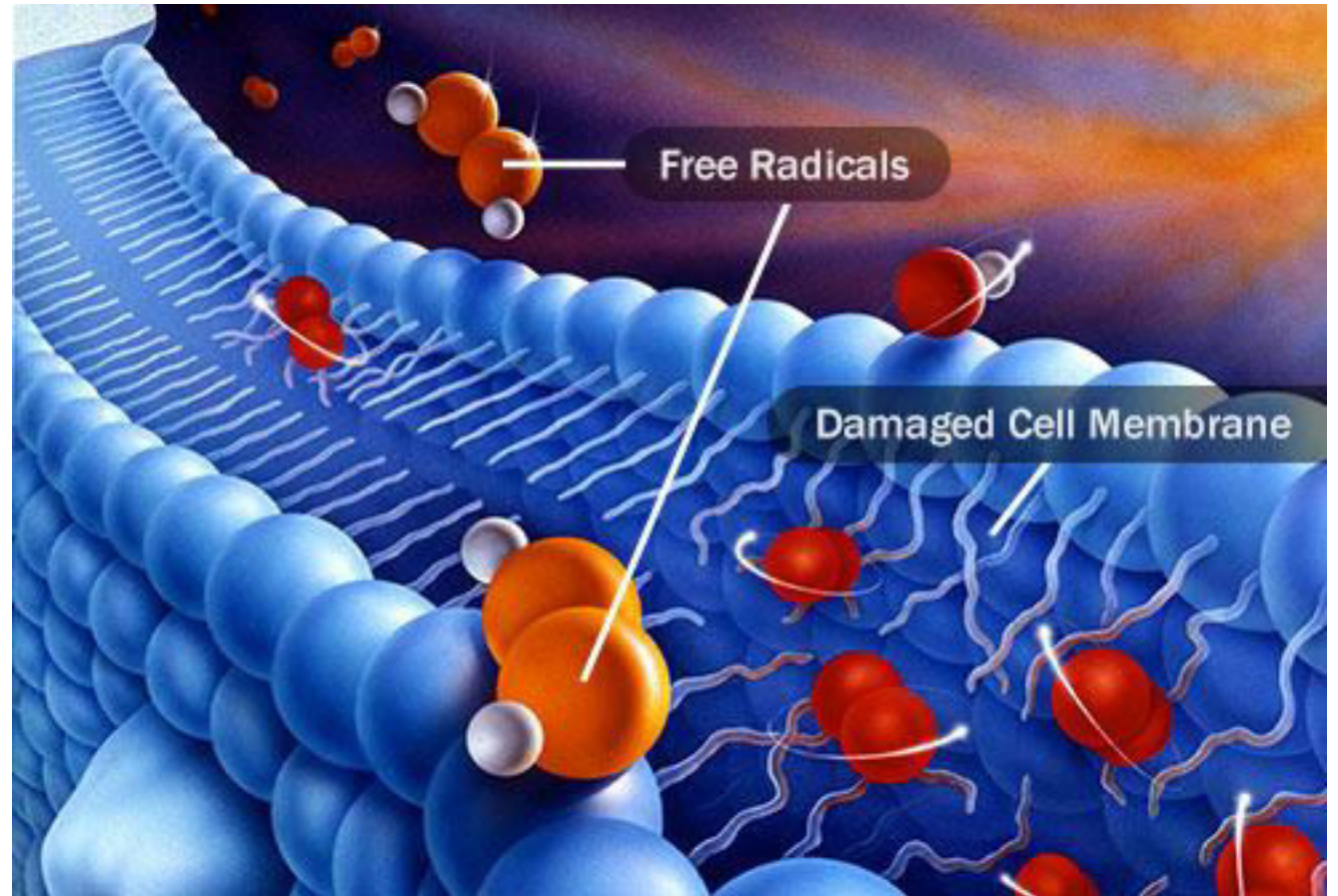
- ✓ Enzimi (superoksid dizmutaza, katalaza, glutation peroksidaza, glutation reduktaza)
- ✓ Neenzimske komponente- antioksidansi (glutation, askorbat, β -karoten, α – tokoferol, urea, koenzim Q).

- **Sekundarni:**

- ✓ Specifične oksidoreduktaze (tiol-transferaza, protein-ADP-ribozil-transferaza i ATP- i Ca^{+2} nezavisna transferaza) i reparativni enzimi (endonukleaza itd.)
- ✓ **Tercijarni:** proteini koji heliraju metale sa promjenljivom valencom (ceruloplasmin, apoferitin, feritin i dr.) ili koji se generišu tokom oksidativnog oštećenja, kao npr. metaloproteini.

Sekvestracija, tj. „hvatanje” SR

- Neenzimske komponente primarne zaštite AOS reaguju direktno sa SR tako što stupaju u hemijsku reakciju.
- Tada se ili onemogućava faza propagacije kod lipidne peroksidacije ili se prekida lančana reakcija SR.

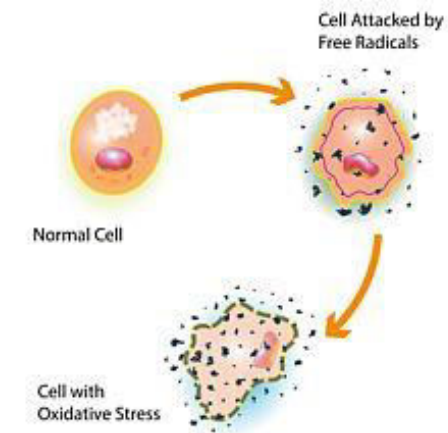


Bioinaktivacija SR

- Enzimi primarne antioksidativne zaštite metabolišu, a time i uklanjaju primarno i sekundarno stvorene SR. Tako, SOD učestvuje u reakciji autooksidacije (dizmutacije) superoksil anjon radikala (O_2^{*-}) do H_2O_2 .
- Katalaza redukuje nastali H_2O_2 do H_2O .
- Glutation-peroksidaza učestvuje u metabolizmu lipidnih hidroperoksida i redukuje ih do alkohola.

Sprječavanje stvaranja sekundarnih SR

- Na tercijarnom nivou AOS, proteini heliraju metale sa promjenljivom valencom, koji u slobodnoj formi i redukovanom obliku učestvuju u stvaranju najpotentnijeg hidroksil radikala (OH^*), „okidača” lanca reakcija generisanja sekundarnih SR.

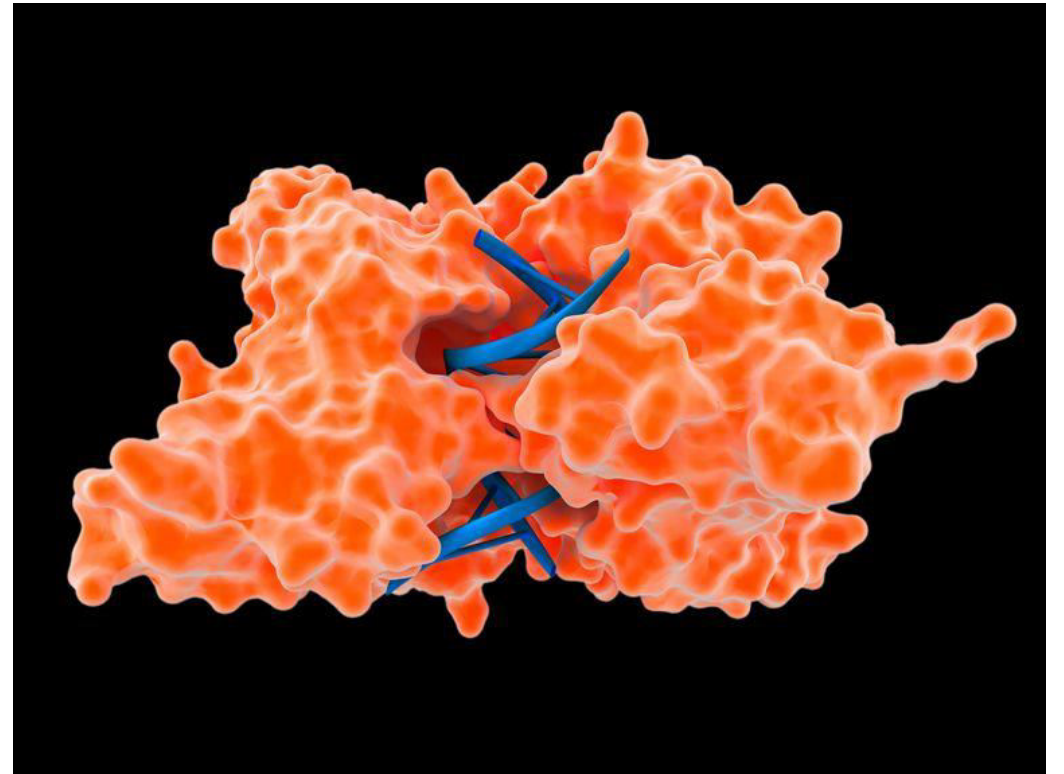


Reparacija oksidativno oštećenih biomolekula

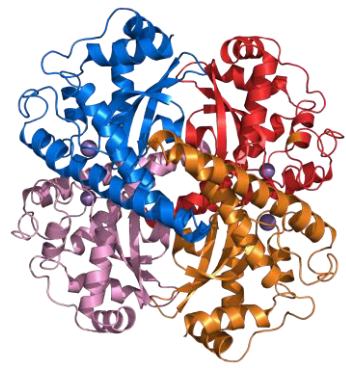
- Kada je već došlo do oksidativnog oštećenja biomolekula, postoji niz enzima koji služe da poprave nastali poremećaj.
- Kod oštećenja proteina, aminokiseline metionin i cistin se regenerišu posredstvom NADPH-zavisnih dehidrogenaza metionin sulfoksid reduktaza i glutation/tioredoxin redoks sistema.
- Kod oštećenja DNK to su endonukleaze.

Enzimi antioksidativne odbrane

- Superoksidna dizmutaza
- Katalaza
- Glutation peroksidaza
- Glutation reduktaza



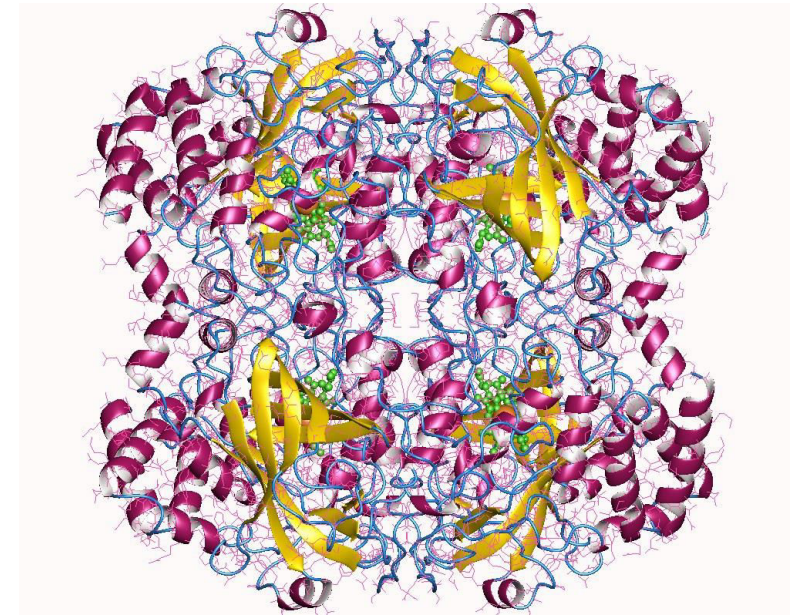
Superoksidna dizmutaza



- Metaloenzim koji katalizuje reakciju dismutacije O_2^{*-} do H_2O_2 i O_2 uz promjenu redoks statusa metalnog jona (Cu ili Mn) u aktivnom centru.
- Posebna aktivnost zabilježena u mozgu
- Dvije izoenzimske forme: homodimer CuZnSOD u citosolu i homotetramer MnSOD u mitohondrijama.
- Za razliku od CuZnSOD, MnSOD se ne inhibira sa CN^- .
- Ekstracelularna tečnost sadrži tetramer u glikolizovanoj formi CuZnSOD.
- Mitohondrijalna MnSOD se visoko indukuje citokinima, faktorom nekroze tumora i medijatorima akutnog oksidativnog stresa, kao što su O_2^{*-} i H_2O_2 .

Katalaza

- Katalaza je lokalizovana u peroksizomima.
- Katalizuje reakciju prevođenja H_2O_2 u O_2 i H_2O .
- Odvija se pri visokim koncentracijama H_2O_2 .
- Tetramerni je protein.
- Aktivni centar ima vezane četiri subjedinice koje sadrže hem grupu (Fe^{3+} -protoporfirin).
- Pored hem grupe svaka subjedinica sadrži vezani NADPH koji stabilizuje enzim.



Glutation peroksidaza

- Selenoprotein koji se nalazi u svim tkivima sisara.
- Četiri izoenzimske forme:
 1. Klasična ćelijska glutacion peroksidaza
 2. Fosfolipid hidroperoksid glutacion peroksidaza
 3. Plazma glutacion glutacion peroksidaza
 4. GSH-Px-GI
- Najznačajniji je glutacion peroksidaza GSH-Px.



GSH-Px

- Tetramer-selenoproteinska sekvenca
- Lokalizovan u citosolu i mitohondrijama
- Redukuje niske koncentracije H_2O_2 i organske hidroperokside do alkohola i vode
- Selenoprotein je ekstracelularni enzim prisutan u plazmi i ekstracelularnim tečnostima i njegova aktivnost zavisi od doze unijetog Se.

Glutation reduktaza

- Glutation reduktaza (GR) katalizuje reakcije redukcije oksidovanog glutationa, uz učešće koenzima NADPH.
- $\text{GSSG} + \text{NADPH} + \text{H}^+ \longrightarrow 2\text{GSH} + \text{NADP}^+$
- GR je enzim koji je uključen u AOS time što redukcijom GSSG obezbjeđuje dovoljne količine GSH i njena funkcija je regulisana redoks statusom ćelije.
- Aktivnost GR reflektuje fiziološke potrebe ćelije, pogotovo u OS.

Glutation-S-transferaza

- Se-nezavisnu glutation peroksidazu sačinjavaju brojni izoenzimi glutation-S-transferaze, koji u zavisnosti od intraćelijske lokalizacije mogu biti dimeri ili trimeri i uloga im je da katalizuju reakcije redukcije organskih hidroperoksida.
- Tri vrste glutation S-transferaze su izolovane u mitohondrijalnom matriksu, a na spoljnoj membrani mitohondrija, oko 5% čini mikrozomalna GST koja u prisustvu vitamina E, uklanja lipidne radikale.
- GST učestvuje u procesu detoksikacije, tako što katalizuje reakciju konjugacije GSH sa elektrofilnim, hidrofobnim, hemijski heterogenim jedinjenjima egzogenog i endogenog porijekla.
- Konjugovanje metaboličkih intermedijera brojnih ksenobiotika sa GSH, posredstvom GST, predstavlja prvu fazu u sintezi merkapturane kiseline.

Neenzimski antioksidansi

- Mjesto djelovanja neenzimskih AO determinisano je njihovom rastvorljivošću:
 1. Liposolubilni AO su smješteni u ćelijskim membranama i lipoproteinima: vit.E, vit. A, provitamin A, koenzim Q
 2. Hidrosolubilni se nalaze u vodenoj sredini ekstra/intra celularnog prostora: vitamin C, GSH, mokraćna kiselina itd.

Od neenzimskih AO izdvajaju se niskomolekularni AO: vitamin E, askorbinska kiselina i GSH.

Vitamin E

- Antioksidans lipofilnog karaktera- 8 različitih strukturnih izomera tokola, četiri tokoferola i četiri tokotrienola
- Smatra se jednim od najznačajnijih lipofilnih AO
- Umjereno je reaktivan prema singlet kiseoniku, ali je mnogo efikasniji u zaustavljanju lipidne peroksidacije
- Poslije resorpcije iz GIT, vitamin E dopijeva u jetru odakle se lipoproteinima visoke gustine distribuira po organizmu.
- Deponuje se u masnom tkivu, ćelijskim membranama i lipoproteinima koje ujedno i štiti od oksidativnog stresa

Vitamin C

- L-askorbinska kiselina i njen oksidovani oblik, dehidroaskrobinska kiselina.
- Hidrosolubilni vitamin i neke životinjske vrste imaju sposobnost da ga sintetišu.
- Antioksidativna sposobnost je bazirana na redukcionim osobinama

Glutation

- Glutation GSH je tripeptid niske molekulske mase.
- Glutation ima značajnu ulogu u AOZ:
 1. Štiti ćeliju od oksidativnog stresa
 2. U fazi konjugacije sa potencijalno toksičnim elektrofilima, kao što su epoksidi ili metaboliti lijekova stvara konjugate
- Njegova sinteza zahtijeva prisustvo odgovarajućih AK i ATP.
- Koncentracija nastalog GSH zavisi od katabolizma glukoze, tj. od aktivnosti enzima glukoza-6-fosfat-dehidrogenaze, GR i NADPH.

Ćelijska mjesta na koje djeluju pojedini AO

- ROO* reaguju brzo sa AO, a vrlo sporo sa biomolekulama.
- Incidenca nastajanja kancera smanjena je upotrebom vitamina C ili uzimanjem kombinacije beta-karotena, vitamina E i selen.
- Da bi se ćelijske komponente rastvorne u lipidima i vodi zaštitile od napada SR i oksidativnog/nitrozativnog oštećenja poželjno je kombinovati unos lipofilnih (vitamin E) i hidrofilnih (vitamin C) AO ili još bolje konzumirati AO sa amfifilnim svojstvima kao što je alfa-lipoinska kiselina.



PREPARATI SA ANTIOKSIDATIVNIM DJELOVANJEM

- Na domaćem i svjetskom tržištu postoji širok asortiman preparata sa antioksidativnim djelovanjem (PAOD) koje se iz godine u godinu značajno uvećava.
- Preporučuju se kako zdravim, tako i bolesnim osobama.
- Predupređuje razvoj OS i/ili uspostavljaju prethodno narušenu homeostatsku redoks ravnotežu.
- Od PAOD na našem tržištu najpopularniji su vitamini C i E kako i preparati sa antocijanidima, prirodnim AO iz borovnice i kupine, zrna crnog grožđa itd.

Faktori koji utiču na krajnji efekat AO

- Doza
- Hemijski oblik
- Rastvorljivost
- Porijeklo
- Put administracije

Doza

- Preparati sa AO djelovanjem treba da se primjenjuju u adekvatnoj dozi, tj. ne smije da se prekorači preporučena dnevna doza.

VITAMINI/MINERALI	Preporučena dnevna doza	Gornja granicabezbednosti
Vitamin C (mg)	60	1000 (V,D)
Vitamin E (mg)	10	540 (D) (800 IU)
Gvožđe (mg)	14	17 (V,D)
Magnezijum (mg)	300	400 (V,D)
Cink (mg)	15	25 (D);42 (U)
Hrom (µg)	-	10000 (V,U)
Bakar (mg)	-	1 (D);10 (U)
Mangan (mg)	-	0,5-4 (V,D); 8,7-12,2 (V,U)
Selen (µg)	-	350 (D);450 (U)

Prema Pravilniku o deklarisanju i označavanju upakovanih namernica: Sl. List SCG br.4 od januara 2004. godine RDA kod zdrave populacije sprečavaju nedostatak vitamina. Ove vrednosti se razlikuju u raznim zemljama.

V – količine predstavljaju samo vodič za dnevne količine u dužem vremenskom periodu.

D – unos vitamina i minerala samo iz dodatka hrani.

U – ukupan unos vitamina i minerala iz svih izvora (i hrana i dodaci hrani).

Hemijski oblik

- U dijetetskim suplementima vitamin E je najčešće prisutan u formi acetata.
- Nakon per os unosa različitih sintetskih estarskih oblika vitamina E, bioraspoloživost alfa-tokoferola je ista jer se u intestini crijeva raskida estarska veza sa kiselinskim ostatkom, i samo se alfa-tokoferol resorbuje.

Rastvorljivost

- U zavisnosti od toga da li je određeni AO lipofilan ili hidrofilan, treba ga primijeniti na način da se omogući njegova resorpcija.
- Ako se uzimaju per os treba voditi računa o odsustvu/prisustvu hrane u stomaku i tako npr. kod lipofilnih AO (vitamin E) važno je da postoje masnoće u stomaku kako bi se što više resorbovao iz GIT.

Porijeklo

- Antioksidativni efekat PAOD u mnogome zavisi od porijekla AO, da li je prirodog ili sintetskog.
- Razlike u rezultatima brojnih studija su između ostalog posljedica primjene vitamina E različitog porijekla.
- Vitamin E prirodnog porijekla se obilježava kao „RRR-alfa-tokoferol” ili kao „d-alfa-tokoferol”.
- U dijetetskim suplementima prisutan je sintetski „all-rac-alfa-tokoferol” tj. „dl-alfa-tokoferol” koji takođe sadrži 8 stereoizomera, ali su oni mnogo manje bioraspoloživi i samo je jedan od izomera identičan prirodnoj formi vitamina E.

Put administracije

- Rezultati studija o karcinomu dojke su pokazala da samo vitamin E u obliku sukcinata ispoljava antikancerogeni efekat i to kada se daje intramuskularno dok alfa-tokoferol acetat nije dao takve rezultate.
- Nakon per os unosa bilo koje estarske forme vitamina E uvijek se resorbuje samo alfa-tokoferol, što znači da vrsta estara vitamina E nema značaja na krajnji efekat kod oralnog unosa za razliku od intramuskularne administracije.

ORAC jedinice

- Odnedavno je uvedena ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) standardizacija AO, kako bi bilo moguće procijeniti antioksidativni kapacitet, odnosno antioksidativnu efikanost PAOD kao i hrane.
- Uvođenjem ORAC standardizacije ovih preparata, jedinstvenog sistema jedinica za procjenu antioksidativnog kapaciteta, postalo je moguće garantovati kvalitet preparata sa antioksidativnoim djelovanjem i procijeniti njihovu efikanost.
- Kapacitet aktivnog principa sa AO dejstvom, tj.koliko kiseoničnih radikala ili drugih radikala može da neutrališe, predstavljen je ORAC jedinicama.

HVALA NA PAŽNJI!



Katedra za medicinsku biohemiju

Oksidativni stres u humanoj patologiji

Dijetetski preparati. Antioksidativni potencijal ljekovitog bilja

Doc. dr Snežana Pantović

Antioksidansi u hrani



- Veći broj biološki aktivnih antioksidanasa potiče iz hrane, prvenstveno vitamini C i E, provitamini (beta-karoten), pseudovitamini i koenzimi (alfa-lipoinna kiselina, koenzim Q10), mineral selen i brojne supstance biljnog porijekla (izoflavoni, polifenoli).
- S obzirom na to da koncentracija ovih antioksidanasa u organizmu zavisi isključivo od njihovog unosa hranom, razvila se hipoteza da unos ovih mikronutrimenata, kao i određeni način ishrane, mogu uticati na stepen oksidativnog stresa, na prevenciju i tok nekih oboljenja i fizioloških stanja povezanih sa oksidativnim stresom.

Optimalne potrebe za nutritivnim antioksidansima

- U tabeli su prikazane vrijednosti dnevno preporučenih unosa za vitamin E, vitamin C i selen po američkim i standardima Evropske unije.

Izvor podataka	Vitamin E (mg α -tokoferol)	Vitamin C (mg)	Se (μ g)
RDA-US, 1989	8-10	60	55-70
RDA-EU	10	60	
Preporučeni dnevni unos u SCG	10	60	
DRI (2000)	15	75-90	55
Tolerišući gornji nivo unosa	1000	2000	400

Doze i način upotrebe dijetetskih suplemenata

- Pod dijetetskim suplementom se podrazumijeva proizvod koji treba da upotpuni hranu koja se konzumira i koji sadrži jedan ili više sastojaka kao što su vitamini, mineralne materije, aditive, koncentrate, metabolite ili biljne ekstrakte.
- Dijetetski suplement može da bude koristan kao dodatak ishrani samo ako sadrži nutriment u obliku koji se u organizmu može koristiti, u količini koja se može resorbovati i uključiti u normalne fiziološke i biohemijske procese.
- Neki oksidujućí agensi endogeno-stvoreni neophodni su za normalno funkcionisanje organizma, posebno u regulatornim procesima, te je narušavanje ove ravnoteže u korist antioksidansa nepoželjno.

Selen



- Mikroelement esencijalan za čovjeka.
- Najbolje proučeni seleno-proteni su selen-zavisni enzimi glutation-peroksidaze (GPx).
- Četiri izoenzima
- Izoenzimi stupaju u reakcije sa organskim hidroperoksidima ili niskim koncentracijama vodonik-peroksida, koji su osnovni supstrati za ovaj enzim, i uz sadejstvo glutationa, koji služi kao donor protona, ovi hidroperoksidi se prevode u manje reaktivne alkohole, odnosno vodu.
- Deficit selena utiče na neke od imunih funkcija i sklonost ka infekcijama.

Vitamin E

- Vitamin E predstavlja grupu liposolubilnih tokoferola i tokotrienola, koji pokazuju u organizmu vitaminsko djelovanje.
- Osnovna fiziološka funkcija vitamina E u organizmu je da u reakciji sa slobodnim radikalima spriječe oksidativna oštećenja ćelijskim konstituentima, i to: polinezasićenih masnih kiselina u ćelijskim membranama, proteina sa tiolnim grupama i nukleinskim kiselina
- Vitamin E je jedan od primarnih činilaca u odbrambenom sistemu ćelije od djelovanja slobodnih radikala.
- Niske koncentracije vitamin E u plazmi povezani su sa povećanim rizikom od pojave nekih tipova kancera, naročito kancera pluća i dojke, a viši nivo alfa-tokoferola u plazmi povezan je sa nižim nivoom ukupne smrtnosti.

Vitamin C

- Vitamin C, askorbinska kiselina, je hidrosolubilni vitamin sa izuzetnim antioksidativnim potencijalom.
- Svoju antioksidativnu ulogu askorbinska kiselina ostvaruje otpuštanjem dva protona i dva elektrona pri čemu nastaje dehidroaskorbinska kiselina.
- U fiziološkim uslovima askorbinska kiselina je sposobna da stabilizuje veliki broj slobodnih radikala predajući im elektron.
- Askorbat redukuje superoksidni i hidroksilni radikal, hipohlornu kiselinu, gvožđe, štiti od oksidacije lipoproteine niske gustine, učestvuje u prelasku gvožđa u feritin, kao što i oslobađa gvožđe iz apoferitina, što može pogodovati nastanku i razvoju oksidativnog stresa.



Koenzim Q10

- Koenzim Q10 je 2,3-dimetoksi-5-metil-6-poliizopren p-benzohinon.
- Aktivni dio molekule je hinonski prsten koji je sposoban da primi jedan ili dva protona i pređe u semihinon ili hinol.
- Može se sintetisati invivo ili unijeti hranom, naročito životinjskog porijekla.
- Pored uloge u sintezi ATP, on je i antioksidans koji je u stanju da „neutrališe” slobodne radikale kao i da regeneriše mnoge primarne antioksidanse predajući im svoj elektron.
- U mnogim oboljenjima, kao što su neurodegenerativni poremećaji, kancer, kardiovaskularna oboljenja, i diabetes mellitus, a posebno kod starih osoba i u Alchajmerovoj bolesti, izmijenjene su količine koenzima Q u tkivima.
- Dokazano je povoljno djelovanje koenzima Q10 na rad srčanog mišića.



Beta-karoten

- Karoteni pripadaju grupi liposolubilnih jedinjenja rasprostranjenih u biljnom svijetu gdje su nosioci žute i narandžaste boje.
- Svi karoteni su provitamini vitamina A, jer se u organizmu prevode u retinala u mukoznim ćelijama crijeva. A beta-karoten koji je u prirodi inače najzastupljeniji ima najveći provitaminski potencijal.
- Karoteni reaguju sa slobodnim radikalima, a najefikasniji su u neutralisanju djelovanja singlet kiseonika.
- Nivo beta-karotena u serumu je u pozitivnoj korelaciji sa smanjenim rizikom od kancera pluća.

Alfa-lipoinska kiselina

- Alfa-lipoinska kiselina se pod normalnim uslovima stvara u malim količinama u humanom organizmu.
- Djeluje u okviru piruvat-dehidrogenaznog kompleksa i dehidrogenaze alfa-keto kiselina kompleksa.
- Ova dva enzima učestvuju u metabolizmu UH, masti i aminokiselina.
- Slobodna alfa-lipoinska kiselina, nevezana za enzime, u organizmu ima ulogu amfifilnog antioksidansa, što ga čini jedinstvenim jer svoju antioksidativnu aktivnost ostvaruje i u hidro- i liposolubilnom okruženju.

Alfa-lipoinska kiselina

- Svoju antioksidativnu funkciju vrši na nekoliko načina:
 1. U svom redukovanom obliku, kao dihidrolipoinska kiselina, sposobna je da otpušta dva protona i direktno reaguje sa slobodnim radikalima
 2. Gradi helate sa jonima metala i tako sprječava njihovu katalizatorsku ulogu u reakcijama oksidacije biomolekula
 3. Regeneriše antioksidanse kao što su vitamini C i E i glutation i produžava im antioksidativno djelovanje
 4. Koristi se za liječenje neuropatije.

Antioksidativni potencijal ljekovitog bilja

- Ustanovljeno je da redovno korišćenje namirnica biljnog porijekla i dijetarnih suplemenata sa visokim antioksidativnim potencijalom u svakodnevnoj ishrani, predstavlja važan i efikasan vid preventve ne samo kardiovaskularnih oboljenja, već i procesa starenja kože i vezivnih tkiva, nekih degenerativnih oboljenja lokomotornog sistema i kardiovaskularnog sistema (reumatoridni artritis, hipertenzija, arteroskleroza), degenerativnih očnih bolesti (katarakta), kognitivne disfunkcije i različitih neurodegenerativnih procesa (senilna demencija), astme, nekih oblika dijabetesa i karcinoma.



Antioksidansi-osnovne teorijske postavke

- Antioksidansi- supstane koje, u niskim koncentracijama, značajno odlažu ili sprječavaju oksidaciju odgovarajućih supstrata pod određenim uslovima.
- Endogeni antioksidansi- SOD, katalaza, Se-glutation peroksidaza
- Reparativni antioksidansi- protease, lipaze, transferaze i enzimi koji repariraju DNK
- Egzogeni antioksidansi- vitamin C, vitamin E, vitamin A, karotenoidi
- Biljni antioksidansi- niskomolekularni fenoli, fenolkarboksilne kiseline, flavonoidi, tanini

Polifenoli

- Uloge: antioksidansi, antimikrobni agensi, fotoreceptori, vizuelni atraktanti insekata, repelenti herbivora, zaštita biljaka od prekomjernog UV zračenja
- Podijeljeni su u tri grupe:
 1. Niskomolekularni fenoli
 2. Fenolkarboksilne kiseline i njihovi derivati
 3. Flavonoidi, u užem i širem smislu ovog pojma

Niskomolekularni fenoli

- Isparljiva jedinjenja
- Doprinosе aromi voća i alkoholnim pića dobijenih njihovom fermentacijom
- Antimikrobni efekat
- Antioksidativni efekat

Fenolkarbonske kiseline

- Prirodni proizvodi koji sadrže najmanje jednu fenolsku i jednu karboksilnu grupu.
- Mogu biti derivati cimetine ili benzojeve kiseline.
- Slobodne ili esterifikovane odgovarajućim alifatičnim alkoholima odnosno voćnim kiselinama

Flavonoidi

- Derivati flavana
- Derivati izoflavana
- Derivati neoflavana

Farmakološka aktivnost polifenolnih sastojaka ljekovitog i jestivog bilja

- Smanjuju patološki povećan permeabilitet krvnih kapilara i sprječavaju vensku insuficijenciju
- Djeluju antieksudativno, antiflogistično i radioprotektivno
- Sprječavaju agregaciju eritrocita i snižavaju nivo serumskog holesterola
- Izazivaju blagu relaksaciju glatke muskulature, čime snižavaju krvni pritisak, povećavaju diurezu i izlučivanje žuči, takođe i spazmolizu u digestivnom traktu i bronhijama
- Grade kompleksna jedinjenja sa teškim metalima i neutrališu slobodne radikale koji u organizmu reaguju sa DNK, proteinima, fosfolipidima, drugim molekulama, izazivajući brojne patološke procese
- Imunofarmakološki, antialergijski, antihistaminski, antivirusni, antiandrogeni, antibakterijski, antiinflamatorni, kardioprotektivni efekar

Polifenoli kao antioksidansi

- Polifenoli inhibiraju enzime odgovorne za sintezu superoksid-anjona, kao što su ksantin-oksidaza i protein-kinaza C. Sposobni su da izvrše inhibiciju ciklooksigenaze, lipooksigenaze, mikrozomalne monooksidaze, glutation-S-transferaze, mitohondrijalne sukcinat-oksidaze i NADH-oksidaze
- Zbog niskog redoks potencijala, polifenoli su u termodinamičkom smislu sposobni da, donacijom atoma vodonika, redukuju vrlo reaktivne slobodne radikale (superoksid, peroksil-, alkoksil- i hidroksil-radikale) sa znatno višim redoks potencijalom

Polifenoli kao antioksidansi

- Glavne determinante sposobnosti neutralizacije slobodnih radikala su:
 1. Prisustvo kateholne grupe u prstenu B, koja ima elektron-donorske osobine i predstavlja metu napada slobodnih radikala,
 2. 2,3-nezasićenna veza konjugovana sa 4-okso funkcionalnom grupom, odgovorna za delokalizaciju elektrona

Polifenoli kao antioksidansi

- Danas se koriste fitopreparati, koji se primjenjuju u definisanom indikacionom području, a terapija se sprovodi u definisanim doznim režimima, koji su formulisani na osnovu rezultata kliničkih ispitivanja.
- Aktivni sastojak ovakvih fitopreparata su srandomizovani ekstrakti, koji se proizvode ekstrakcijom standardizovanih droga
- Koraci ka fitopreparatu:
 1. Utvrditi biološki izvor droge
 2. Odrediti terapijsku vrijednost droge
 3. Definisanje opšteg i specifičnog kvaliteta

Theae folium



- Crni čaj- koji se dobija od osušenih i fermentisanih listova. Tokom fermentacije odvija se enzimska oksidacija polifenolnih i drugih sastojaka i dolazi do promjene boje, ukusa, mirisa, aroma i vrste sastojaka čaja
- Ulong čaj- koji se dobija od djelimično fermentisanih listova
- Zeleni čaj-koji se proizvodi izlaganjem svježih listova struji vodene pare, radi stabilizacije, i brzim sušenjem stabilizovanog biljnog materijala na povišenoj temperaturi. Na ovaj način, inaktiviraju se enzimi koje droga sadrži, što smanje ili sprječava enzimsku oksidaciju polifenolnih sastojaka

Theae folium

- Upotreba zelenog čaja ima pozitivan efekat u preventivi nekih karcinoma (debelog crijeva) kao i određenih KVS bolesti
- Antiaterosklerotik
- Hipoholesterolemik
- Hepatoprotektiv
- Radioprotektiv
- Antimikrobno
- Antikancerogeno
- Antitumorsko djelovanje

Theae folium

- Utvrđeno je da, u in vivo uslovima, ekstrakt lista zelenog čaja ispoljava niz dejstava:
 1. Povećanjem efikasnosti odbrambenih antioksidativnih enzimskih sistema
 2. Neutralizacijom slobodnih radikala
 3. Inhibicijom enzimskih sistema koji su odgovorni za aktivaciju prokancerogena, i formiranje adukta tipa karcinogen-DNK
 4. Inhibicijom enzimskim sistema čija aktivnost dovodi do razvoja nastalog tumora, kao što su epidermalna ornitin-dekarboksilaza, ciklooksigenaza, lipooksigenaza i protein-kinaza C
 5. Inhibicijom urokinaze, proteolitičkog enzima čija aktivnost doprinosi povećanju veličine i metastitičke diseminacije malignog tkiva
 6. Inhibicijom gelatinaza MMP-2 i MMP-9, proteinaza koje imaju ključnu ulogu u razvoju karcinoma i neoangiogenezi

HVALA NA PAŽNJI!



Katedra za medicinsku biohemiju

Oksidativni stres u humanoj patologiji

Fitopreparati sa antioksidativnim djelovanjem

Doc. dr Snežana Pantović

ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity assay)

- Za utvrđivanje antioksidativne aktivnosti, odnosno sposobnosti „hvatanja” slobodnih radikala sastojaka hrane, aktivnih sastojaka dijetetskih suplemenata ili ljekovitih preparata, koriste se različiti testovi.
- ORAC-hydro metoda pokazuje antioksidativni kapacitet vodorastvorljivih antioksidativnih, a ORAC-lipo metoda antioksidativni kapacitet antioksidanasa rastvorljivih u mastima. Ove dvije vrijednosti se sabiraju.
- ORAC jedinice deklarirane za određenu vrstu hrane, dijetetske suplemenate ili ljekove pružaju informaciju o njihovoj antioksidativnoj efikasnosti.

Čajevi

- Specijalni čajevi- čajevi boljeg kvaliteta, obogaćeni. Oni se uzgajaju, prikupljaju i obrađuju na klasične načine.
- Konvencionalni čajevi- čaj slabijeg kvaliteta. Izrađuje se od biljke čaj (*Camellia sinensis*), u filter kesicama, rasutom ili instant obliku.
- Biljni čajevi- mješavine ili monokomponentni napici izrađeni infuzijom listova, voće, kore, korijena ili cvjetova gotovo svake vrste jestivih biljaka (osim biljke čaj).
- Funkcionalni čajevi- svaka vrsta čaja, biljnog čaja ili kombinacija čajeva, formulisana ili specijalno obogaćena sa ciljem da izazove fiziološki ili psihološki pozitivan efekat pored efekata koji se i inače pripisuju pojedinačnim komponentama. To mogu biti medicinski čajevi, čajevi za mršavljenje, za bolju vitalnost, protiv celulita itd.

Zeleni čaj- *Chamellia sinensis*, Theaceae

- Tri glavna varijeteta zelenog čaja:
 1. Crni čaj
 2. Ulong (oolong) čaj
 3. Zeleni čaj



Osnovni sastojci

- Antioksidativni efekti zelenog čaja dolaze od čitave grupe jedinjenja:
 1. Polifenoli- katehini
 2. Alkaloidi- kofein, teofilin, teobromin
 3. Ostali- flavonoli, teogalin, teanintrigaloil glukoza, minerali, vitamini: C,E, K, tamin, riboflavin, 21 aminokiselina, karotenoidi...

Terapijska primjena zelenog čaja

- Smanjenje rizika od srčanih oboljenja, prevencija hipertenzije i ateroskleroze, sprječavanje zgrušavanja krvi
- Sniženje nivoa šećera u krvi
- Regulacija nivoa holesterola
- Zaštita jetre i očuvanje funkcije transplatirane jetre
- Metabolizam masti i aktiviranje procesa termogeneze, bez povišenja nivoa srčanog rada
- Zaštita od karijesa
- Smanjenje toksičnosti duvanskog dima
- Sprječavanje bakterijske dizenterije i brojnih bakterijskih, gljivičnih pa čak i virusnih infekcija
- Smanjenje hormonske aktivnosti i sprječavanje pojave akni

Antioksidativni potencijal zelenog čaja

- Povećava efikasnost antioksidativnih enzimskih sistema organizma
- Vrší neutralizaciju slobodnih radikala
- Inhibira aktivnost enzimskih sistema koji promovišu razvoj karcinoma

- Antioksidativni kapacitet standardizovanog ekstrakta zelenog čaja koji sadrži 70% katehinskih polifenola, određivan ORAC metodom je mnogo veći od vrijednosti antioksidativnog kapaciteta drugih biljnih ekstrakata: borovnica, zrno grožđa, ljuska grožđa, ginko...

Neželjeni efekti zelenog čaja

- S obzirom na to da zeleni čaj i neki ekstrakti sadrže kofein, mogućisu tipični kofeinski efekti: nervoza, nesanica, uznemirenost. Oni se mogu izbjeći primjenom ekstrakata bez kofeina, ili smanjenjem doze. Veliki unos zelenog čaja ili ekstrakata koji sadrže kofein, kod žena u premenopauzi je pokazao znatno vezivanje za globulin koji vezuje polne hormone. Povećani nivo SHBG ukazuje na povećan rizik od raka dojke. Zato ženama u premenopauzi treba sugerisati primjenu proizvoda zelenog čaja bez kofeina. Osobe na terapiji antidepresivima (MAO) treba da izbjegavaju zeleni čaj.

Interakcije sa lijekovima

- In vitro studije su pokazale da pojačava antimikrobno djelovanje meticilina ili benzilpenicilina protiv *Staphylococcus aureus*-a
- Pojačava djelovanje tamoksifena ili sulindaka na ćelije raka pluća
- Pojačava antineoplastičnu aktivnost doksorubicina
- Zeleni čaj djeluje slično aspirinu na agregaciju trombocita
- Djeluje kao antagonist varfarina, vjerovatno zbog vitamina K

Vinova loza- grožđe (vitis vinifera, Vitaceae)

- Osnovni sastojci:
 1. Proantocijanidi- derivati flavana, klase bioflavonoida koju čine katehin i epikatehin
 2. Ostali sastojci- proteini, masti, vlakna, pigmenti, nekoliko esencijalnih AK, minerali



Terapijska primjena

- Štiti srce, mozak, jetru, oči, kožu
- Antioksidativno, kao „hvatač“ slobodnih radikala
- Vazorelaksirajuće, vazoprotektivno
- Antiaterogeno
- Antimutageno
- Antiinflamatorno, antimikrobno- na bakterije i viruse
- Štiti jačinu kolagenih i elastičnost elastičnih vlakana
- Reaktivira kapilarne funkcije
- Inhibira histamin i redukuje njegovu produkciju, ublažava blaže alergijske i zapaljenske reakcije
- Prolazi hematoencefalnu barijeru i podstiče mentalne funkcije

Interakcije sa lijekovima

- Procijanidini indirektno djeluju sinergistički sa vitaminom C.
- Mogu interagovati sa lijekovima koji snižavaju nivo holesterola u krvi.

Ginko biloba (Ginkgo biloba, Ginkgoaceae)

- Osnovni sastojci:

1. Ginkolidi

2. Flavonoidi- flavone, biflavoni, flavonoli, tanini i udruženi glikozidi



Terapijska primjena

- Tretman intermitentne klaudikacije
- Alchajmerova bolest
- Cerebralna insuficijencija
- Traumatske povrede mozga
- Moždani udar
- Prevencija kod oštećenja slobodnim radikalima
- Smanjenje inflamacije

Neželjena dejstva

- Blage gastrointestinalne smetnje
- Glavobolja
- Alergijske reakcije
- Blaga krvarenja

Interakcije sa lijekovima

- Ginko može pojačati djelovanje antidepresiva
- Postoji mogućnost pojave krvarenja ako se ginko uzima sa aspirinom, antikoagulansima, antitrombocitnim lijekovima i NSAID
- Velike doze ginka mogu smanjiti efikasnost antikonvulzivne terapije kod pacijenata koji uzimaju karbamazepin ili valproičnu kiselinu

Interakcije sa biljnim i dijetetskim preparatima

- Krvarenje u kombinaciji sa bijelim lukom, žen-šen, anis, papriku, celer, kamilicu
- Zbog mogućeg djelovanja na nivo šećera u krvi, ginko treba oprezno uzimati sa preparatima sličnog djelovanja, kao što su: aloe vera, žen-šen, riblje ulje, ekstrakt kestena, ruzmarin, kopriva, kakao, efedra i dr.
- Ginko pojačava neželjene efekte preparata koji inhibiraju MAO, kao što su preparati hroma, dihidroepiandrosterona, efedre, ulja noćurka, hmelja, kantariona, valerijane, vitamina B6 i dr.

Interakcije sa hranom

- Hrana koja sadrži visoku koncentraciju tiramina, kao što su vino ili sirevi, može dovesti do opasnog povećanja krvnog pritiska, ako se uzima zajedno sa ginkom.
- Na sličan način mogu djelovati i avokado, banane, pivo sa smanjenom koncentracijom alkohola, velike količine kofeina, kavijar, šampanjac, čokolada, smokve, pileća džigerica, papaja, soja sos, ekstrakt kvasca i jogurt.

HVALA NA PAŽNJI!



Katedra za medicinsku biohemiju

Oksidativni stres u humanoj patologiji

Dermokozmetički preparati- prevencija i tretman oksidativnih oštećenja
kože

Doc. dr Snežana Pantović



- Reaktivne kiseonične vrste igraju važnu ulogu u zaštiti od hronološkog i foto- ili prijevremenog starenja kože.
- Izlaganje suncu i atmosfera bogata kiseonikom zajedno doprinose fotooštećenju kože.
- Kacinom kože je moguća posljedica fotooštećenja kože.
- Fotoostarelu kožu karakteriše pojava bora, suva koža koja se peruta, neujednačeno raspoređene hiperpigmentisane promjene na koži i hipopigmentacije.

Zaštita od sunca

- Najbolja strategija zaštite od sunca uključuje nošenje šešira i odjeće koja pokriva najizloženije djelove tijela, kao i neizlaganje sunčevom zračenju.
- SPF faktor je broj koji predstavlja odnos između doze UV zračenja koja dovodi do pojave eritema kod zaštićene kože i doze zračenja koja dovodi do pojave eritema kod kože bez zaštite.
- Preparat sa SPF 2 može da apsorbuje oko 50% prispjelog zračenja, SPF 15- 93% a SPF 45- 98%.
- Uspješno formulisan preparat za zaštitu od sunca je višefunkcionalan proizvod koji treba da pruži adekvatnu zaštitu od sunca, ali i da kožu dodatno hidratiše, štiti je od oksidativnog stresa, tj. posjeduje sveobuhvatan „anti-age“ efekat.

Kako se postiže zaštita od sunca?

- **UV apsorber-** selektivno apsorbuje zračenje i emituje ga u formi dugotalasnog manje štetnog zračenja
- **Pigmenti-** fizički štite kožu, jer su nepropusni, reflektuju sunčeve zrake a novije mikrodispergovane ili nanodispergovane forme dijelom mogu i da apsorbuju UV zrake
- UV filteri treba da su efikasni u apsorpciji UVA/UVB zraka, hemijski stabilni, otporni na znojenje, da ne boje kožu, da ne prodiru u kožu i sistemsku cirkulaciju, bez mirisa i ukusa, toksikološki prihvatljivi, ne smiju biti teratogeni i mutageni, pogodni za obradu, dobro rastvorni u osnovnim kozmetičkim vehikulumima i hemijski inertni.

Danas se najčešće korišćeni UV filteri svrstavaju u nekoliko grupa:

- Derivati p-aminobenzojeve kiselina (PABA)
- Salicilati
- Cinamati
- Benzo-fenoni
- Antranilati
- Dibenzoil-metani
- Derivati kamfora
- Derivati sulfonske kiseline
- Oktiltrazoni

Formulacija



- Preparati za zaštitu od sunčanja najčešće su emulzioni losioni ili kremovi, a stabilizovani su polimernim emulgatorima.
- Za stabilizaciju, najčešće se koriste kombinacije nejonskih emulgatora, silikonski emulgatori za v/u emulzione sisteme, ili su to polimerni u/v emulgatori.
- Od lipofilnih emolijenasa koriste se sintetski estri ravnog ili razgranatog lanca, a voskovi i masni alkoholi se inkorporiraju u manjim procentima.
- Kao nosači za UV apsorbere ili fizičke blokatore koriste se novi nosači-mikročestice, tečno kristalne strukture ili nanočestice, koji doprinose povećanju SPF faktora preparata, tako da se ukupni sadržaj hemijskih filtera može smanjiti, čime se smanjuje i rizik od pojave neželjenih efekata.

Šta farmaceut, takođe, treba da zna i kako da posavjetuje pacijenta u vezi sa preparatima za zaštitu od sunca?



- FDA je podijelila proizvode za zaštitu od sunca prema stepenu zaštite koji se postiže u tri kategorije:

Kategorija proizvoda	SPF
Minimalna zaštita	$2 \leq \text{SPF} < 12$
Umerena zaštita	$12 \leq \text{SPF} < 30$
Visok stepen zaštite	$\text{SPF} \geq 30$

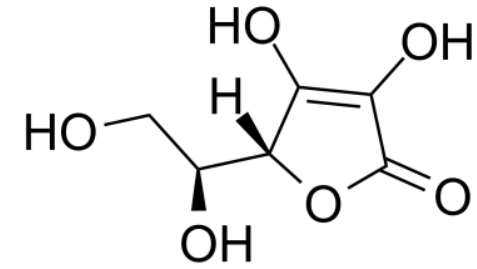
Šta farmaceut, takođe, treba da zna i kako da posavjetuje pacijenta u vezi sa preparatima za zaštitu od sunca?

- Najbolje je preparat nanijeti 15-30 minuta prije izlaganja suncu, a zatim 15-30 minuta nakon što sunce otpočne, a potom sloj obnavljati svaka 2-3h, i obavezno nakon plivanja.
- Takođe, za prevenciju fotostarenja preporučuje se nanošenje preparata za dnevnu njegu kože koji sadrže UV apsorbere.

Antioksidativna zaštita kože-topikalni antioksidansi

- AO primijenjeni kroz dijetu i oralnu suplementaciju podliježu fiziološkim procesima koji se odnose na rastvorljivost, apsorpciju i transport, kao i simultanim metaboličkim transformacijama, tako da je količina lijeka koji se raspodjeljuje u kožu veoma mala.
- Zbog toga je potrebno, ako je cilj antioksidativna zaštita kože, primjenjivati proizvode koji sadrže AO direktno na kožu.
- Topikalna primjena je povezana sa nizom prepreka: AO su nestabilna jedinjenja (teškoća pri formulaciji), mnogi su obojeni (estetski problem)...

Vitamin C (askorbinska kiselina)



- Pored antioksidativnog efekta, vitamin C je esencijalan u biosintezi kolagena.
- Kofaktor je za prolil i lizil hidroksilaze, enzime koji su odgovori za stabilizaciju umrežavanja kolagena.
- Zbog velike oksidabilnosti, otežano je formulisati stabilne dermokozmetičke preparate sa čistim vitaminom C. Zbog toga se preporučuje primjena estara: askorbil-6-palmitata i magnezijum askorbil fosfata- iako su studije ukazale na prednost čistog vitamina C.
- Stabilnost i permeacioni potencijal vitamina C poboljšava se inkorporiranjem u nove nosače (niosome, čvrste lipidne nanočestice (SLN), višestruke emulzije).

Askorbil-6-palmitat

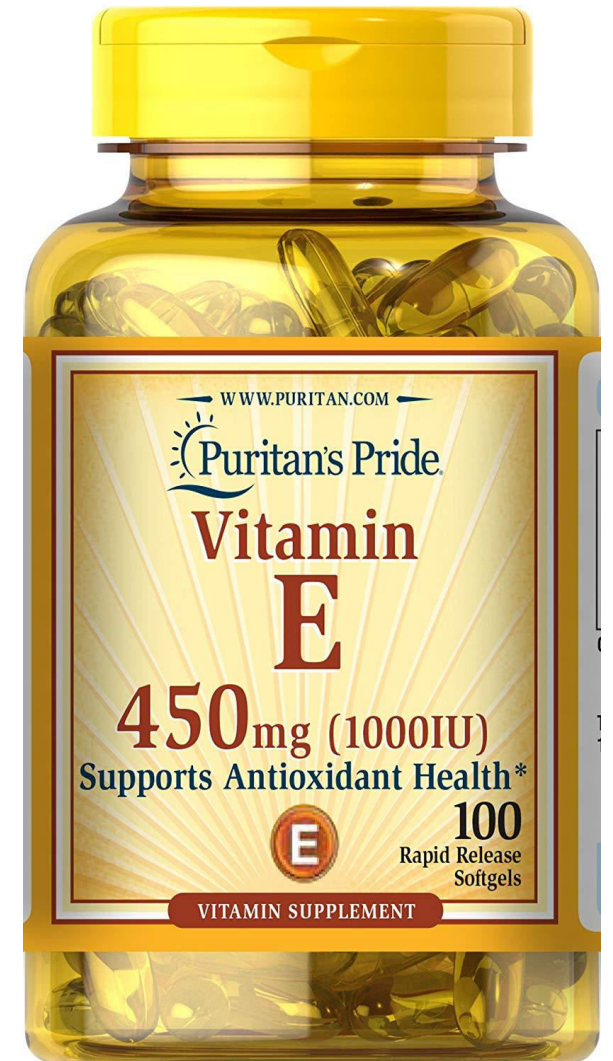
- Liposolubilni analog L-askorbinske kiseline esterifikovan palmitinskom kiselinom u poziciji 6, lako se transportuje u ćeliji gdje, nakon hidrolize, ostvaruje antioksidativni efekat.
- Upotrijebljen nakon zadobijanja UVB opekotina smanjuje crvenilo dva puta brže u poređenju sa netretiranim djelovima kože.

Magnezijum askorbil fosfat

- Efikasan je kao hvatač slobodnih radikala, ali i kao stimulator sinteze kolagena.
- MAF štiti od UVB indukovane lipidne peroksidacije, permeira epiderm i konvertuje se u askorbinsku kiselinu.
- Veliki broj podataka dobijenih na osnovu kliničkih studija potvrđuje i podržava upotrebu vitamina C i njegovih derivata u dermokozmetičkim preparatima.

Vitamin E

- Posjeduje fitoprotektivne efekte: zaštita od UVA i UVB indukovanih eritema, zaustavljanje lipidne peroksidacije, popravljavanje mehaničkih svojstava kože, smanjenje bora i incidence tumora kože.
- Pri zaustavljaju lančane lipidne peroksidacije tokoferol prelazi u metastabilan tokoferoksil radikal, koji se regeneriše pomoću ko-antioksidanasa (askorbat, glutation, i ubihinol-10) ili reaguje sa još jednim lipidnim peroksil radikalom.
- Efekat se poboljšava ukoliko se vitamin kombinuje sa ko-antioksidansima (npr. vitamin C) i kofaktorima (Zn i Se).



Biljni antioksidansi

- Gotovo sve biljke sintetišu vitamin E i C, flavonoide, polifenolna jedinjenja, koji su snažni AO.
- Zeleni čaj sadrži monomerne katehine, uključujući epikatehin, epikatehin-3-galat, epigalokatehin i epigalokatehin-3-galat.
- Crni čaj sadrži uglavnom polimerne polifenole.
- Polifenoli imaju antikancerogeni potencijal.
- Indukuju apoptozu nekoliko različitih tipova tumorskih ćelija, ali ne i normalne humane keratinocite.
- Ekstrakt sjemenki grožđa primarno se sastoji od polifenola, uključujući flavonoide, tanine i stilbene, kao što je rezveratrol.
- Najmoćniji AO su procijanidini, leukocijanidini i kondenzovani tanini.



HVALA NA PAŽNJI!