

Mjesto i uloga slobodnih radikala u signalnoj transdukciji; Patofiziološki aspekti oksidativnog stresa

Doc.dr Snežana Pantović

- Slobodni radikali zauzimaju značajno mjesto kao pokretači, prenosioci ili modifikatori ćelijskog odgovora.
- Reakcije SR sa biomolekulama predstavljaju vremenski povezan i funkcionalno uslovljen proces koji dovodi do oksido-reduktivnog stresa ćelije, pri čemu se reakcije SR pokretači složenog kaskadnog procesa.
- Oksidativni stres može pokrenuti pozitivne odgovore (proliferaciju ili aktivaciju ćelije), ili negativne odgovore (inhibiciju rasta ili ćelijsku smrt).
- SR takođe nastaju kao produkti tokom brojnih fizioloških procesa.

- SR nastaju tokom oksidativne fosforilacije u mitohondrijama, fagocitoze, biotransformacije egzogenih i endogenih supstrata u ER-u, enzimskih reakcija koje katalizuju oksidaze, sinteze eikosanoida, reakcija oksidoredukcije u prisustvu metala sa promjenljivom valencom, lipidne peroksidacije nezasićenih mk, kao i transporta elektrona u mitohondrijama.
- Intenzivna aktivnost mišića povećava stvaranje ROS.

- Od svih ROS, najveću aktivnost posjeduje OH, ali djeluje samo na mjestu stvaranja.
- Od RNS, NO dovodi do snažne inhibicije ćelijske respiracije jer u obliku peroksinitrita izaziva citotoksičnost.

Reaktivne vrste – medijatori ćelijske signalizacije

- Kao regulatorni medijatori brojnih fizioloških odgovora, ROS i RNS mogu biti uključeni u signalnu kaskadu:
 - 1) Aktivacije enzima NOS, ciklooksigenaze, lipooksigenaze u limfocitima i NADPH oksidaze u fagocitima
 - 2) Regulacije vaskularnog tonusa preko NO (gvanilat ciklaza, akonitaza)
 - 3) Redoks regulacije adhezije ćelija
 - 4) Redoks posredovane amplifikacije imunih odgovora

Redoks osjetljivi ciljni molekuli u signalnoj kaskadi

- Brojni su putevi preko kojih SR ostvaruju svoje dejstvo.
 - 1) Redoks osjetljiva regulacija ekspresije gena posredovana protein kinazama: PKC, Tirozin kinaza.
 - 2) Promjene distribucije jona – Ca kalmodulin zavisna kinaza.
 - 3) Djelovanje SR na metabolizam RNS, pokretanje IRP-1, povećanje koncentracije H₂O₂.
 - 4) Aktivacija faktora transkripcije oksidansima: AP-1, NFkB, p21 ras.

Patofiziološki mehanizmi redoks regulacije

- Postoje dvije kategorije bolesti posredovane OS:
 - 1) posredovane mitohondrijalnim oksidativnim stresom – gdje mitohondrije povećano stvaraju ROS.
 - 2) inflamatorni oksidativni uslovi sa povećanom aktivnosti NADPH oksidaze preko citokina.

Patofiziološki aspekti oksidativnog stresa

- Parcijalna redukcija kiseonika u mitohondrijama glavni je izvor stvaranja ROS.
- Pored brojnih enzima ADS, postoje i sledeći antioksidansi: 1) alfa tokoferol (VitE), 2) VitC, 3) GSH, 4) karotenoidi, 5) LDL.
- ROS u zdravom organizmu ima pozitivan uticaj, npr. u regulaciji eritropoeze.

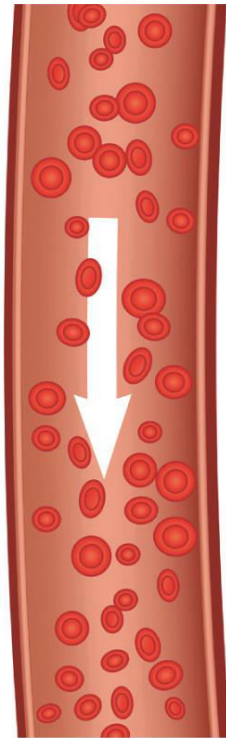
Oksidativni stres i maligne bolesti

- ROS imaju ulogu u nastanku tumora.
- Zdrave ćelije izložene peroksidima ili superoksidnom anjonu ispoljavaju povećanu ekspresiju gena odgovornih za rast i umnožavanje ćelija.
- Neki tipovi malignih ćelija stvaraju naročito velike količine ROS (medularni Ca štitaste žlijezde).

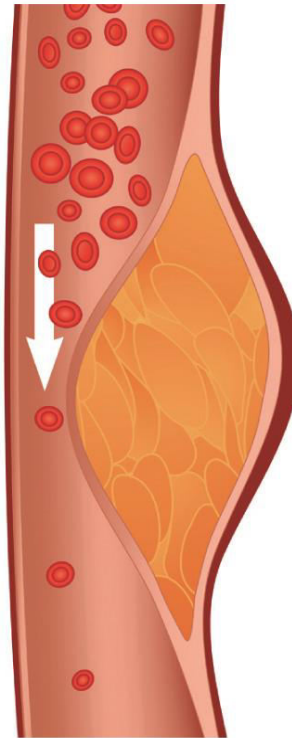
Oksidativni stres i ateroskleroza

- OS je pokretač ateroskleroze, dolazi do indukcije ekspresije protein kinaza kao i ICAM-1.
- Potom do povećane ekspresije SOD koja povećavaju koncentraciju H₂O₂.
- Citokini i faktori nekroze indukuju stvaranje O₂- u endotelnim ćelijama.
- Enzimi ksantim oksidaza i MPO mogu biti izvor ROS, jer su prisutni u visokim koncentracijama u plakovima.
- Izmijenjen protok krvi u krvnim sudovima u mnogome utiče na poremećaj oksido-reduktivnog statusa tkiva i širenja procesa.

Posledice oksidativnega stresa - zamašene žile



1. FAZA:
žila ni zamašena in
nič ne ovira pretoka



2. FAZA:
na stenah žil se
nabira holesterol



3. FAZA:
pojavljajo se resne
težave, saj holesterol
močno ovira pretok

- Uticaj OS u velikoj mjeri je zastupljen u patogenezi mnogih drugih :
- KVS bolesti,
- hipertenziji,
- diabetes melitus-u,
- inflamatornim bolestima,
- sepsi,
- autoimunim oboljenjima,
- virusnim infekcijama,
- bolestima CNS-a,
- stanja imobilizacije nakon povrede,
- prekomjerne fizičke aktivnosti.

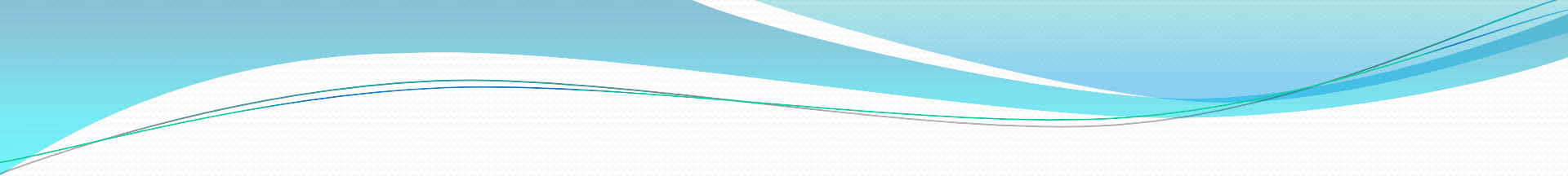
Hvala na pažnji

- Zaključak:

Na polju postojećih kliničko-dijagnostičkih metoda, potrebno je da analize parametara OS u biološkom materijalu nađu svoje mesto u rutinskim laboratorijskim pretragama radi prevencije i unapređivanja terapije bolesti.

Kardiovaskularna oboljenja i oksidativni stres

Doc.dr Snežana Pantović

- 
- KVS oboljenja su najčešća oboljena čovjeka.
 - U osnovi najčešćih KVS oboljenja je ateroskleroza.
 - Sudeći po rezultatima brojnih studija, OS bi mogao biti jedan od značajnih faktora razvoja KVS bolesti.

Oksidativni stres i ateroskleroza

- OS je pokretač ateroskleroze, dolazi do indukcije ekspresije protein kinaza kao i ICAM-1.
- Potom do povećane ekspresije SOD koja povećavaju koncentraciju H₂O₂.
- Citokini i faktori nekroze indukuju stvaranje O₂- u endotelnim ćelijama.
- Enzimi ksantim oksidaza i MPO mogu biti izvor ROS, jer su prisutni u visokim koncentracijama u plakovima.
- Izmijenjen protok krvi u krvnim sudovima u mnogome utiče na poremećaj oksido-reduktivnog statusa tkiva i širenja procesa.

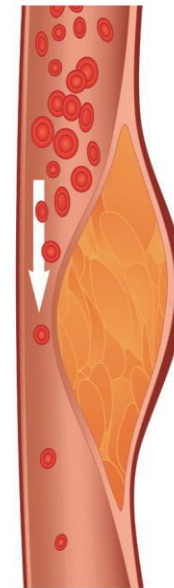
Oksidativni stres i ateroskleroza

- Stanja koja indukuju oksidativni stres na endotelnim ćelijama su: Hipertenzija, hiperglikemija, hiperhomocistinemija, dislipidemija zbog oxLDL, STRES!

Posledice oksidativnega stresa - zamašene žile



1. FAZA:
žila ni zamašena in
nič ne ovira pretoka



2. FAZA:
na stenah žil se
nabira holesterol

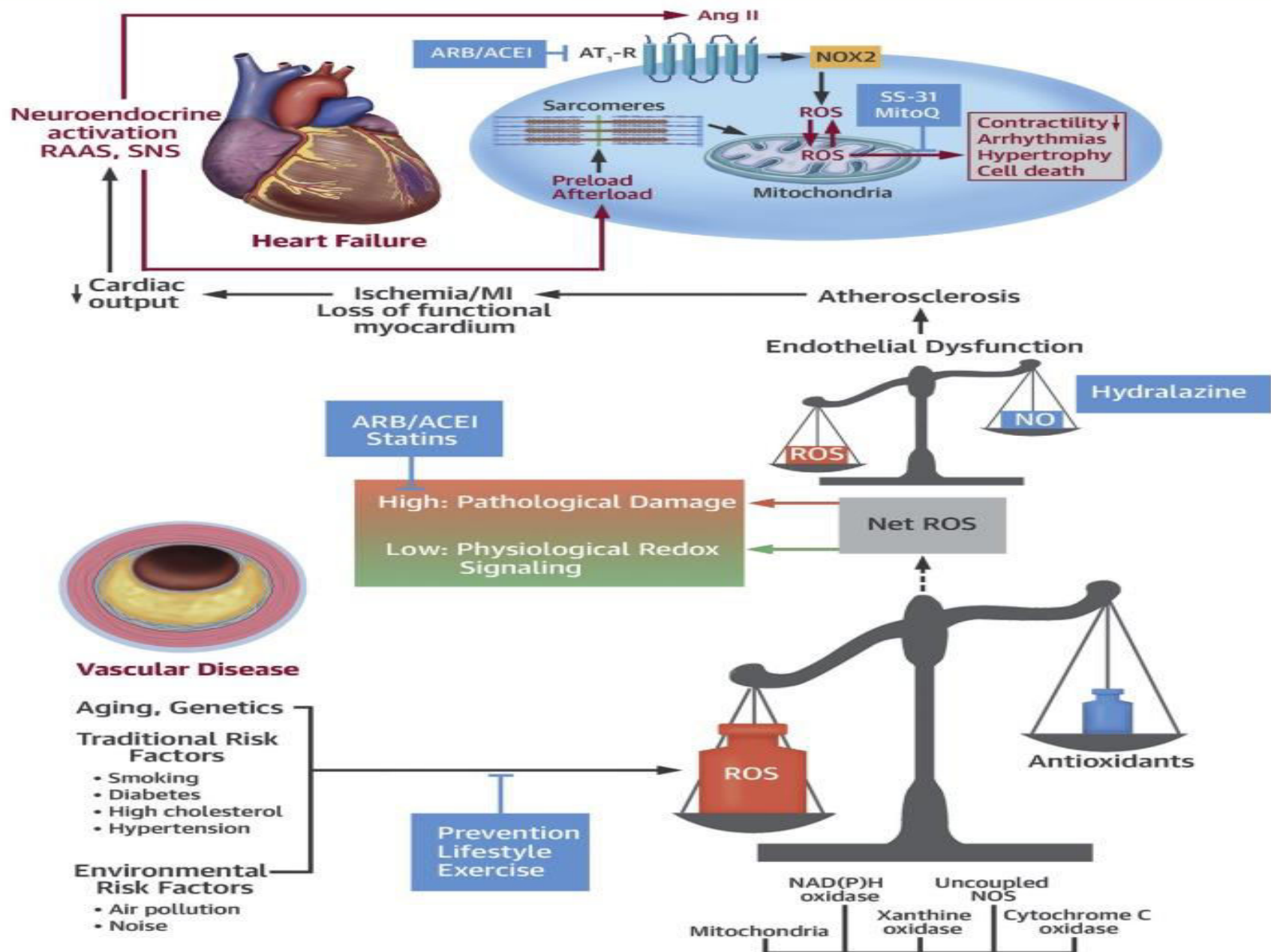


3. FAZA:
pojavljajo se resne
težave, saj holesterol
močno ovirati pretok

Oksidativni stres i slabost miokarda

- Uslovljena je:
 - 1) Smanjenom aktivnosti ADS,
 - 2) Oslobađanjem SR tokom biosinteze prostaglandina,
 - 3) Autooksidaciji kateholamina,
 - 4) Ponavljanju ishemije i reperfuzije.

CENTRAL ILLUSTRATION: Mechanisms, Sources, and Implications of Oxidative Stress in Cardiovascular Disease and Heart Failure



Uloga antioksidanasa u KVB

- Nadoknada VitE uz VitC, Beta-karoten i druge karotenoide umanjuje podložnost LDL oksidativnoj modifikaciji.
- VitE (alfa-tokoferol) je najznačajniji prirodni antioksidans lipofilne strukture koji se akumulira u lipoproteinima, tako smanjuje reaktibilnost LDL-a, smanjuje endotelnu disfunkciju, agregaciju trombocita i adhezivnost monocita za endotel.

- Karotenodi (Beta-karoten) inhibira oksidaciju LDL u kulturi ćelija (studije su u toku),
- VitC, snažan antioksidans hidrofилnih karakteristika, reguliše unutarćelijsku produkciju SR kroz interakciju sa GSH, VitE, indirektno zaustavlja proces LP.
- Koenzim Q-10, djeluje kao stabilizator membrane jer ima funkciju sakupljača ROS.

- Ljekovi u terapiji KVB sa antioksidativnim dejstvom: Karvedilol, Metoprolol, Nebivolol.
- Uloga antioksidanasa u sekundarnoj prevenciji KVB je velika. Naročito efekti primjene VitE u prevenciji koronarne bolesti i smanjenju broja fatalnih infarkta miokarda kod ljudi koji su uzimali VitE.
- Primjena Beta-karotena nije pokazala veći efekat.

Ostali postupci za poboljšanje endotelne funkcije

- Postižu se pomoću primjene:
 - 1) Statina
 - 2) Aspirina
 - 3) Estrogena
 - 4) Tamoksifena
 - 5) Fitoestrogena
 - 6) Testosterona
 - 7) ACE inhibitora
 - 8) Blokatora receptora endotelina
 - 9) Aerobni trening

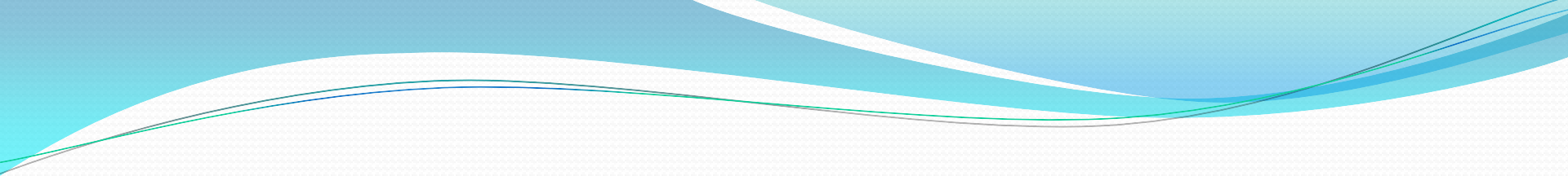
Hvala na pažnji

- Zaključak:

Dnevna suplementacija antioksidansima uz ishranu bogatu voćem, povrćem i žitaricama, kao i životni stil sa što manje stresa i sa umjernom fizičkom aktivnošću primjerenom starosnoj dobi, preporuke su koje smanjuju rizik oboljevanja od KVB.

Ljekovi sa prooksidativnim i antioksidativnim djelovanjem

Doc. dr Snežana Pantović

- 
- Mnogi lijekovi tokom svog metabolisanja stvaraju SR koji su po hemijskoj strukturi radikalske forme.
 - U prisustvu molekularnog kiseonika u reakcijama oksidacije nastaju reaktivne kiseonične vrste i uglavnom nastaju toksični metaboliti u odnosu na uneseni lijek.

Grupe lijekova

- Antikancerogeni lijekovi
- Antibiotici
- NSAIL
- Nitrati
- Opšti anestetici
- Antituberkulotici
- Antiepileptici
- Lijekovi u terapiji opstrukcije disajnih puteva
- Anksiolitici
- Antiparkinsonici

Antikancerogeni lijekovi

- Cisplatin – nefrotokiscan, povezan sa smanjenjem Vitamina E u plazmi
- Bleomicin – uzrokuje intestinalnu pulmonalnu fibrozu kod ljudi, jer pospješuje stvaranje ROS
- Doksorubicin – takođe stvara ROS, toksičan za srčani mišić

Antibiotici

- Aminoglikozidi- Gentamicin – neuro i nefrotoksični, zbog smanjenja GSH i povećanja GSSG i smanjenja antioksidativnih enzima.
- Cefalosporini – nefrotoksični, povećana produkcija SR, translokacija protein kinaze C.
- Tetraciklini – snižavaju VitE u plazmi, hepatotoksičan.

NSAIL

- Onemogućavaju stvaranje PGE i LEU od arahidonske kiseline, stimulišu dejstvo MPO i samim tim povećavaju štetnosti HOCL.
- Aspirin – indukuje oslobađanje ROS, oštećuje GIT mukožu.
- Paracetamol – hepatotoksičan, pri transformaciji u jetri troše se rezerve GSH što doprinosi ratvoju OS.

Nitrati

- Posreduje u stvaranju reaktivnih azotovih vrsta od kojih je najštetniji peroksinitritni anjon.
- Nitroglicerina nema udjela na produkciju SR od strane neutrofila.
- Sulfhidrilne grupe jesu donori redukcijskih elemenata, i poznato je upravo SH cisteina u GSH odgovorna za njegovu antioksidativnu zaštitu.

Opšti anestetici

- Halotan, pri anaerobnim uslovima uslovljava metabolizam reduktivnim putem i rezultira umjerenim hepatitisom, dok pri visokim koncentracijama kiseonika favorizuje oksidativni put koji rezultira masivnom nekrozom jetre.

Antituberkulotici

- Hidrazin– hepatotoksičan, posredstvom produkcije H_2O_2 koja dovodi do oštećenja membrane lizozoma i kolapsom mitohondrijskom membranskog potencijala.
- Izonijazid – indukuje apoptozu u hepatoma ćelijama posredovanu OS.

Antiepileptici i Anksiolitici

- Antiepileptici smanjuju nivo VitE u plazmi.
- Diazepam dovodi do hepatotoksičnosti posredovanje OS: povećan je sadržaj MDA, smanjen nivo GSH i značajno je smanjena aktivnost CaATPaze u hepatocitima.
- Hepatotoksični efekat se smanjuje primjenom Se i VitE.

Ljekovi u terapiji opstrukcije disajnih puteva

- Teofilin – ekscitotoksičan za CNS, posredstvom ROS i RNS.
- Aminofilin – takođe indukuje konvulzijske napade i dovodi do post – ictal smrtnosti jer smanjuje sadržaj antioksidanasa.

Ljekovi u terapiji Parkinsonizma

- Neuronima supstancije nigre su posebno osjetljivi na dejstvo OS, jer imaju smanjen sadržaj GSH i MAO.
- Levodopa je potencijalni izvor toksičnih SR, utrošak GSH.

Hvala na pažnji

- Zaključak:
Veliki broj lijekova pored svog farmakološkog efekta, ispoljava i antioksidacioni efekat.

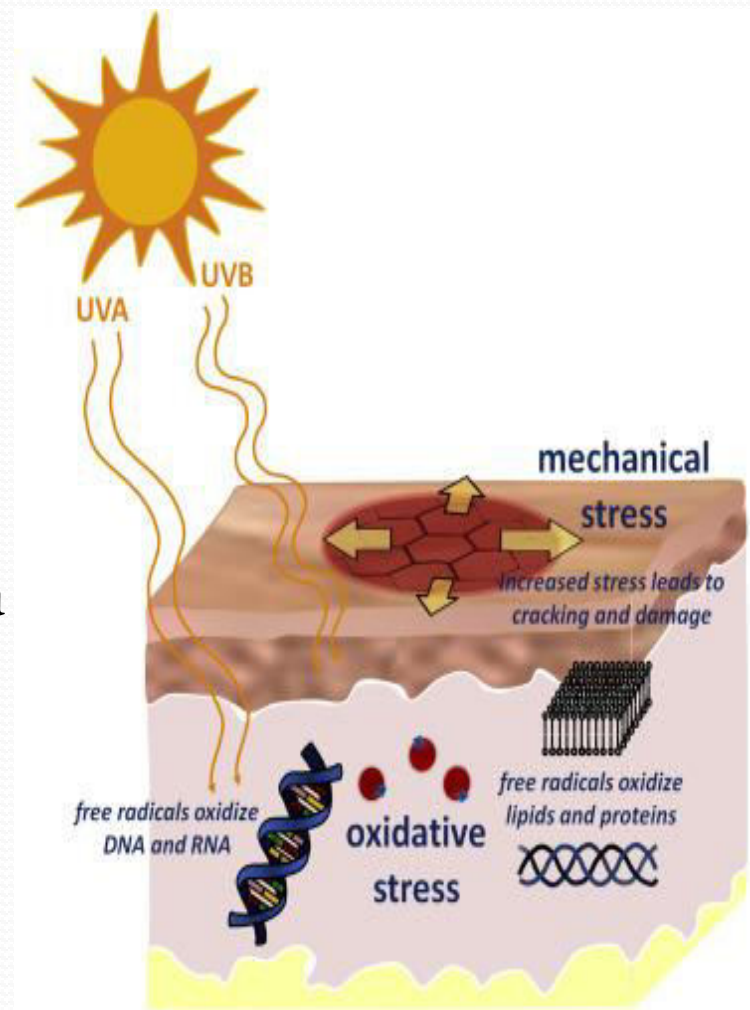
Oksidativna oštećenja kože

Doc.dr Snežana Pantović

- Inflammacija i rezultujuće nakupljanje ROS igraju važnu ulogu kod oba tipa starenja humane kože: hronološkog i foto-prevremenog starenja.

- Izlaganje suncu udruženo sa životom u atmosferi bogatoj kiseonikom uzrokuje fotooštećenja kože.

- Najteža posledica je kancer, dok su manje teške promjene: pojava bora, suva koža koja se peruta, hiper i hipopigmentovane promjene na koži.



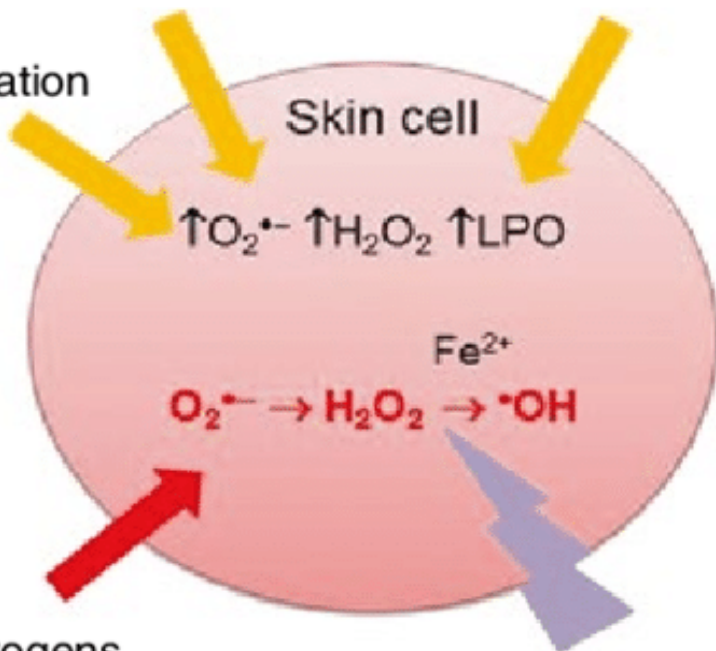
Fotooštećenje

- Da bi se u koži odigrala fotohemijska reakcija Uv zračenje mora biti apsorbavano posredstvom hromofora.
- Koža apsorbuje UV zrake, koji djeluju na DNK i dovode do njegovog oštećenja dovodeći do promjena u samim bazama DNK. Taj proces je podložan reparaciji, međutim kad taj mehanizam izostane, doći će do apoptoze, i mogućeg oštećenja p53 što može dovesti do aktinične keratoze, skvamocelularnog i bazocelularnog karcinoma.

Chemical compounds

Pollution

Inflammation



Estrogens deprivation

Ultraviolet radiation



- Oxidative alterations in collagen and its synthesis
- Collagen glycoxidation
- Insufficiency of NO-dependent vasodilatation mechanism

- Telomere shorting
- Cellular senescence

- Čelije kože su dobro opremljene da se izbore sa oksidativnim oštećenjem.
- Pored antioksidativnih enzima (katalaze, glutathion reduktaze, glutathion peroksidaze) od neenzimskih AO koji mogu da štite kožu koriste se hidrosolubilni glutathion i VitC i liposolubilni VitE i Ubihinon-10.

Fotokarcinogeneza

- UVB zračenje je u potpunosti kancerogeno, dovodi do skvamocelularnog Ca kože.
- Značajno u inicijaciji tumora, dok UVA omogućava napredovanje istog stimulišući kolaganaze MMP.
- Sunčeva svjetlost dovodi do UV imunosupresije kože, što pogoduje nastanku Ca.

UVA zračenje je veoma opasno jer je u mnogo većoj količini zastupljeno u sunčevoj svjetlosti, i prodire kroz sve slojeve kože.

Fotostarenje

- Posledica je djelovanja UVA i UVB zračenja.
- Histološki dolazi do izmjena u svim slojevima kože, sa dezorganizovanim kolagenom, porastom elastičnog tkiva, smanjenom fagocitnom sposobnošću i neregularnostima keratinocita i melanocita.

Mehanizmi fotostarenja

- Postoji nekoliko različitih mehanizama koji su inicirani UV zračenjem i dovode do stvaranja ROS i inflamacije.
 - 1) Proteaze degradirajući kolagen, indukuju sintezu ROS koji crpe ćelijske antioksidanse i dovode do oksidacije proteina i lipida kao i smrti ćelija sa akumulacijom istih.
 - 2) Oslobađanjem inflamatornih IL i TNF iz keratinocita akumuliraju se ROS, NOS, aktivise se transkripcija MMP i oslobađaju elastaze koje degradiraju matriks i uslovljavaju akumulaciju komponentni matriksa sa fotostarenjem.

Mehanizmi fotostarenja

- 3) Neuroendokrinom aktivnošću kože se oslobađaju neuropeptidi i histamin, aktiviraju se faktori transkripcije (AP-1, NFκB), što za posledicu ima aktivaciju MMP, degradaciju matriksa i akumulaciju degradacionih produkata.

Zaštitna uloga kože

- Osim štetnog dejstva UV zraka, i oštećenja strukture DNK, koža ima mogućnost reparacije, tako što formira dimere timidina, aktivnije melanocyte koji produkujući melanin dovode do tamnjenja kože, što omogućava suzbijanje daljnjeg oštećenja UV zračenjem.

- UVB zraci (290-320nm) su mnogo važniji u indukciji ne-melanomskih kancera kože i aktiničnih keratoza nego UVA zraci (320-400nm).
- Oba tipa zračenja doprinose pigmentnim promjenama, uključujući lentigo, te pojavi telangiektazija i bora.



Hvala na pažnji