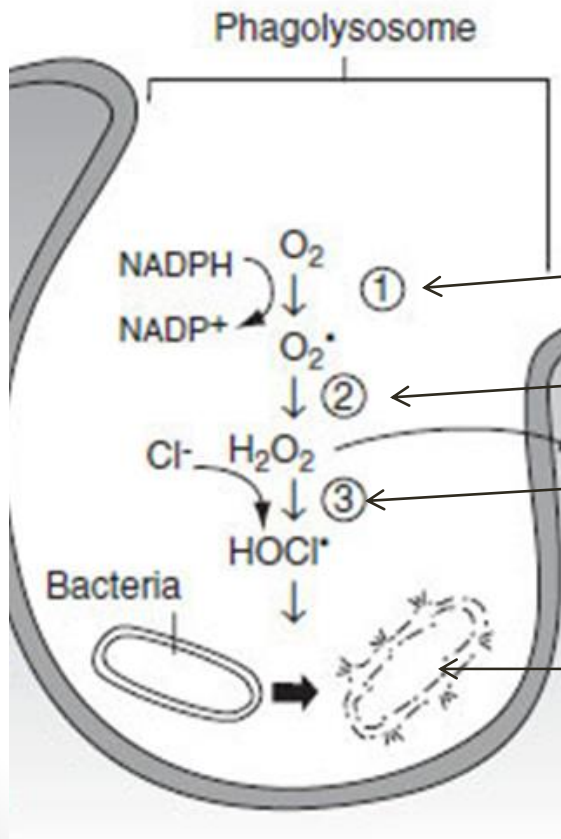


Patologické stavy spojené s ROS a RNS I

Volné radikály v patologických procesech

Zánět

- zánět je reakcí na místní porušení integrity organismu, jeho snahou je lokalizace a eliminace zdroje
- zvýšená exprese adhezivních molekul (integriny, selektiny)
- produkce prozánětlivých molekul a cytokinů (TNF- α , NO, IL-1, IL-6)
- syntéza proteinů akutní fáze (C-reaktivní protein)
- syntéza proteinů tepelného šoku, které fungují jako chaperony
- respirační vzplanutí fagocytů

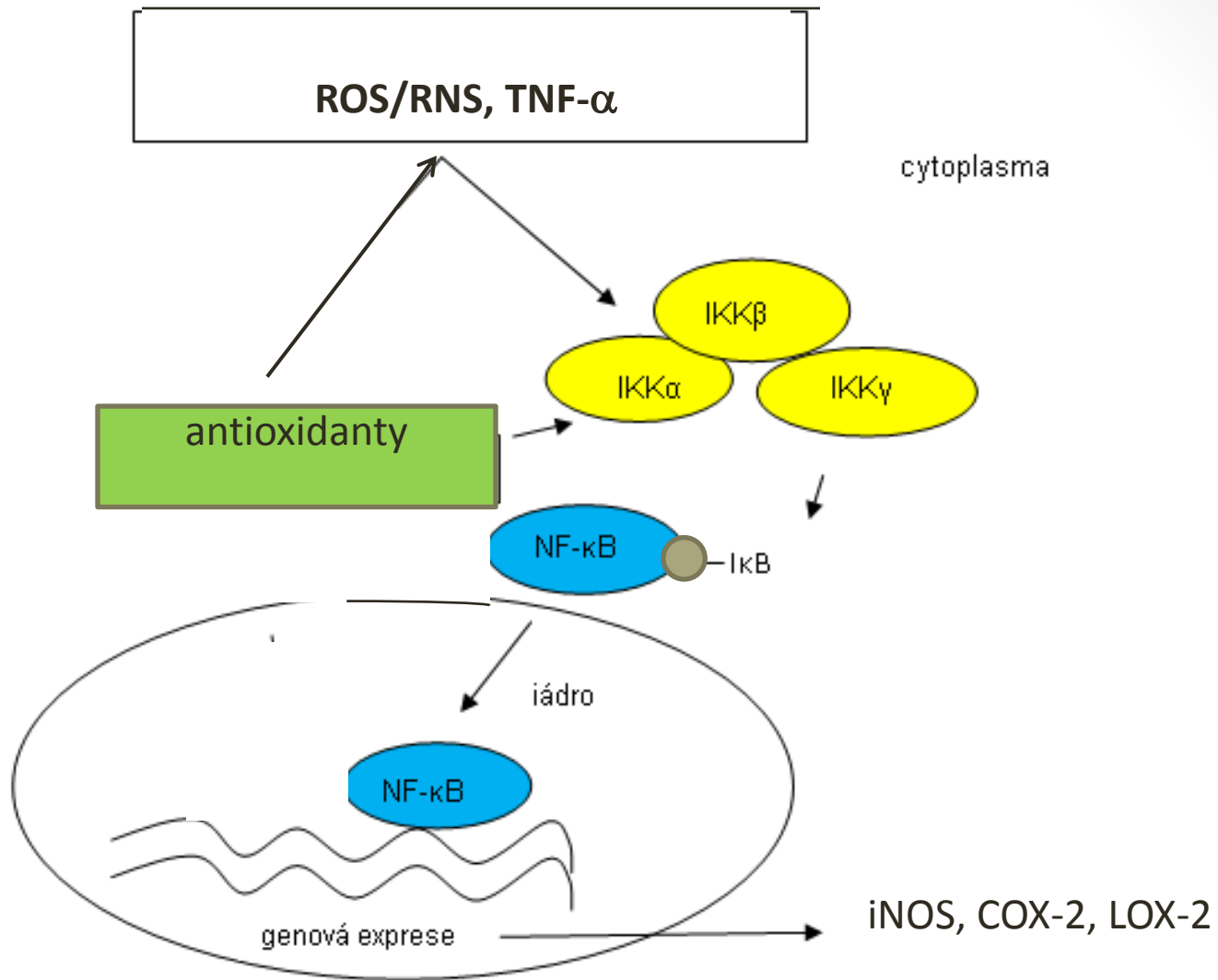


NADPH-oxidasa

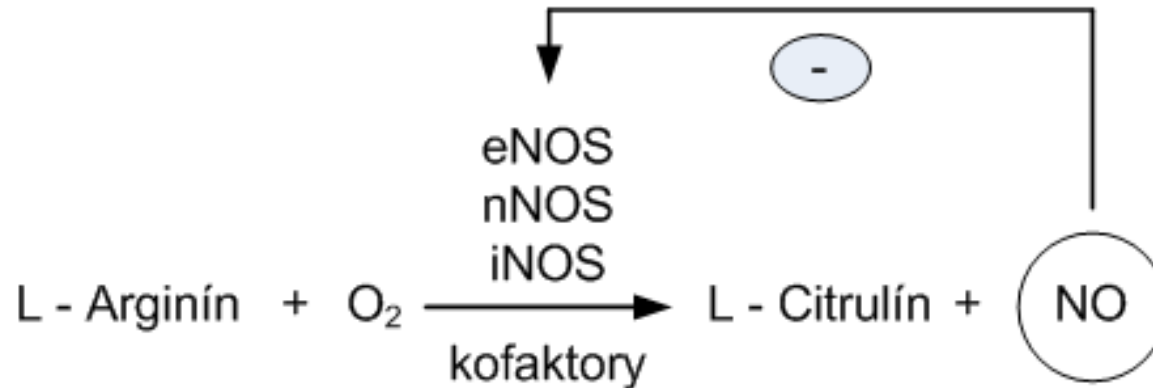
superoxidismutasa

myeloperoxidasa

destrukce mikrobů



- aktivace iNOS a produkce NO

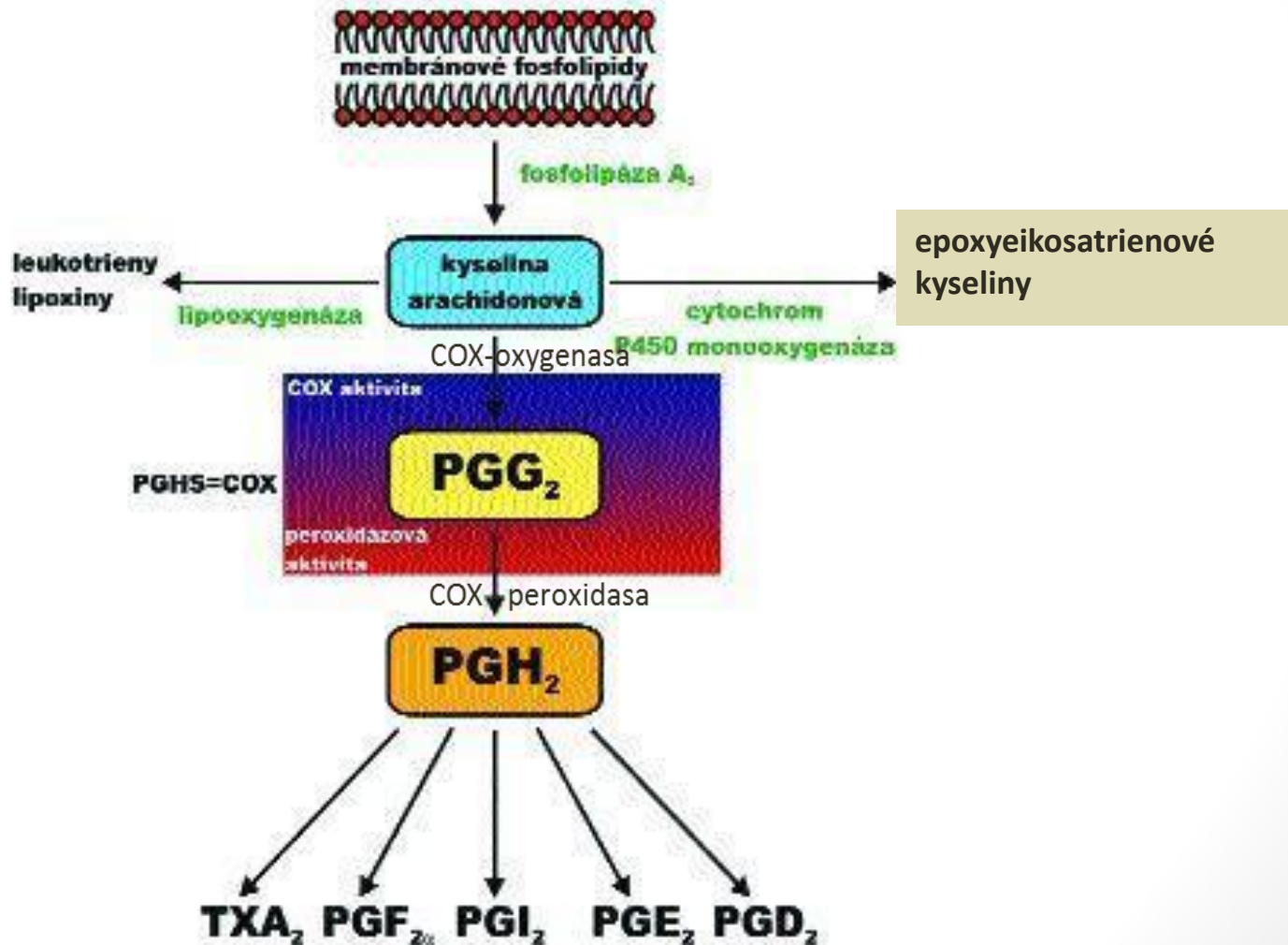


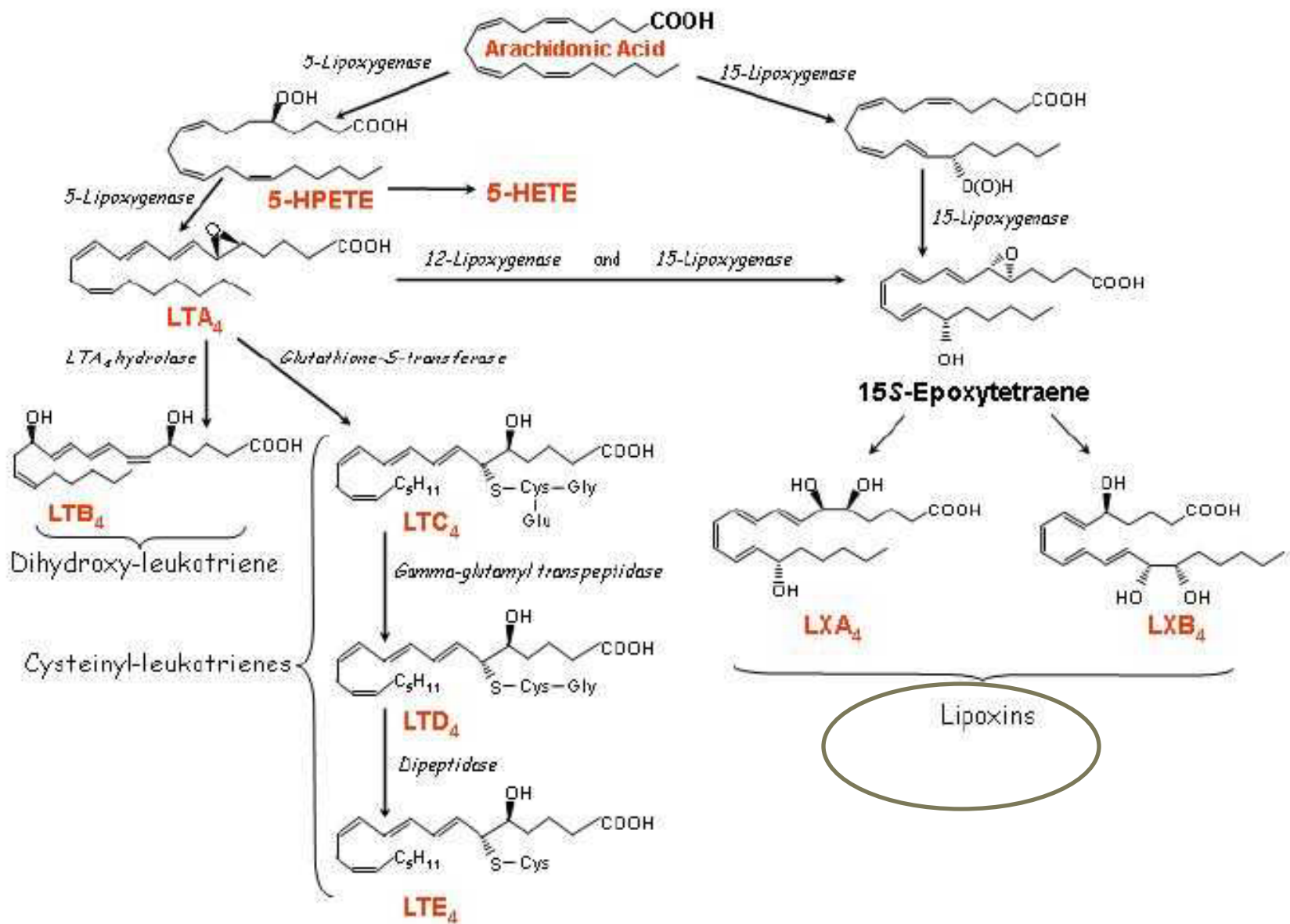
Pozitiva a negativa NO při zánětu

- při velkých množstvích obvykle převládá oxidace (O_2 , O_2^-) za tvorby vysoce reaktivních, cytotoxických produktů (ONOO^-)
 - zabíjení i jinak obtížně zlikvidovatelných bakterií (např. *Mycobacterium tuberculosis*), hub, parazitů a tumorů, inhibice replikace virů
- vazodilatace
- vysoké koncentrace poškozují tkáně

Cyklooxygenasa a lipoxygenasa

Schéma syntézy základních prostaglandinů

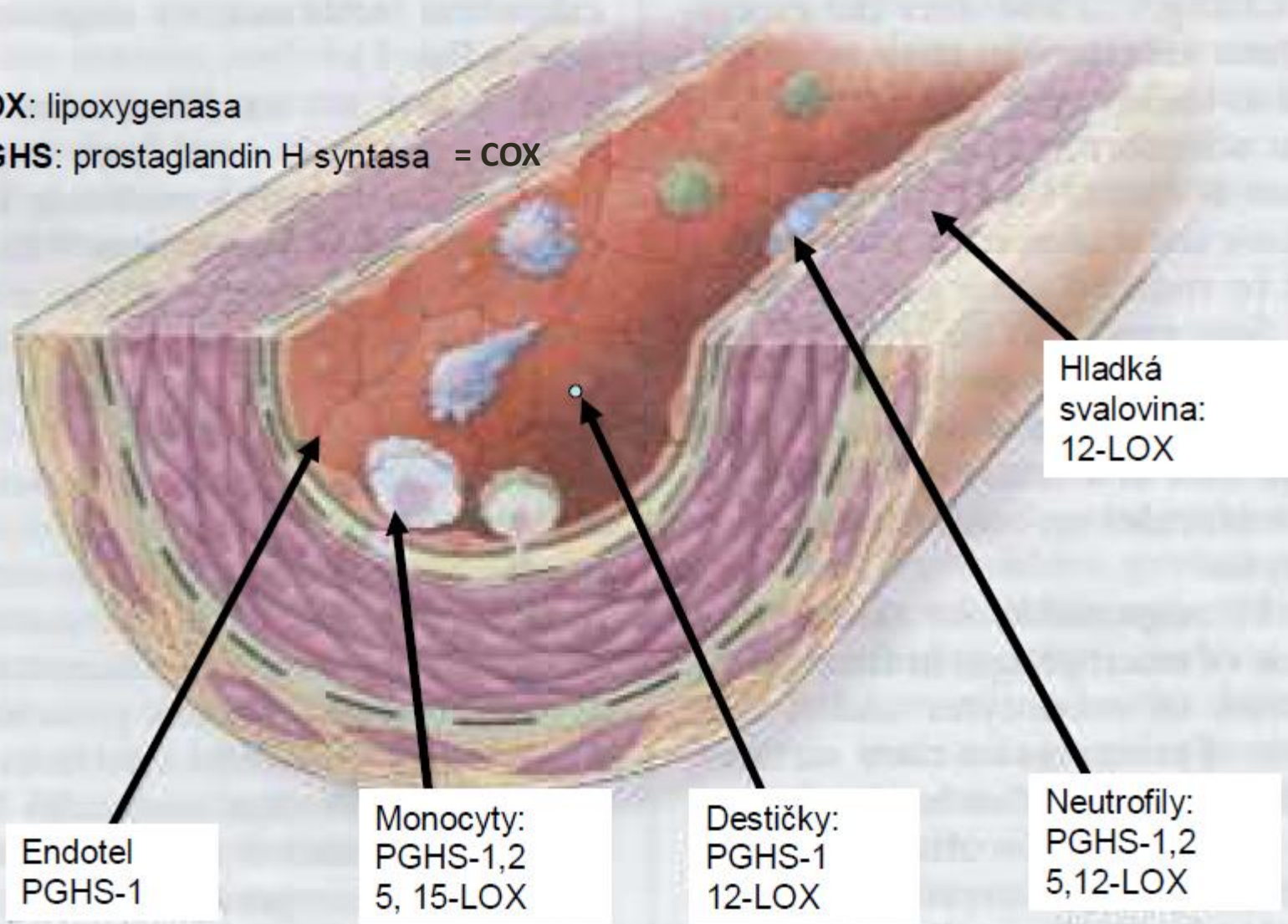


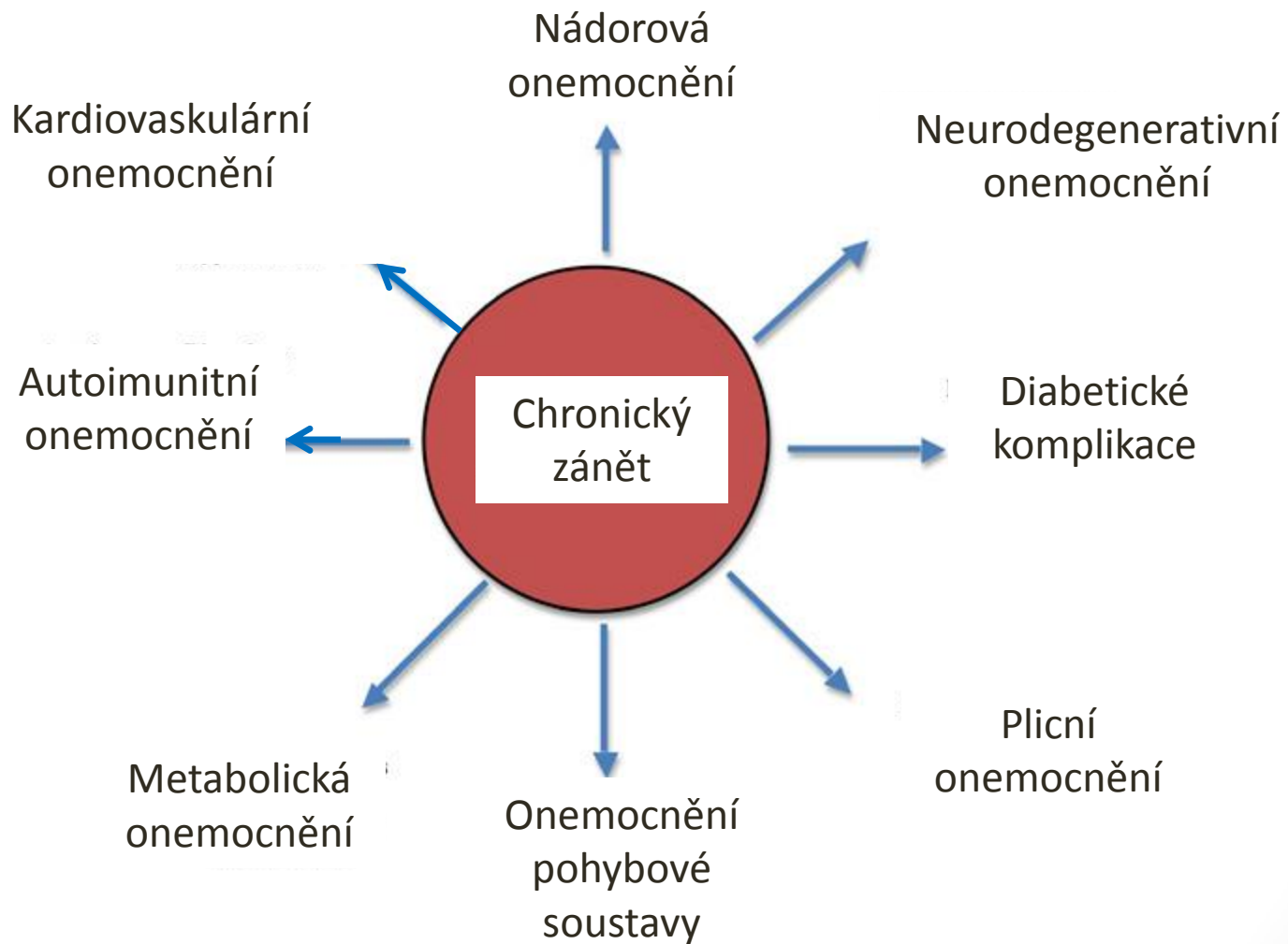


Lokalizace enzymů způsobujících peroxidaci lipidů ve svalu

LOX: lipoxigenasa

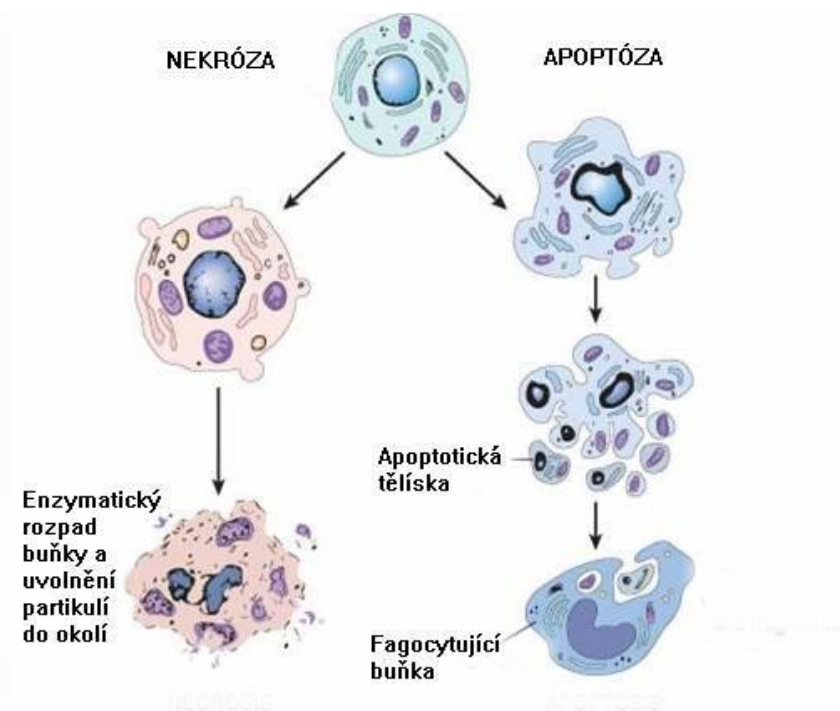
PGHS: prostaglandin H syntasa = COX





Nekróza a apoptóza

- rozdíl mezi těmito procesy – nekróza je spíše nahodilý děj, spojený s destrukcí vícerych buněk, např. rozvoj osmotického gradientu, vyčerpání GSH a pod.
- apoptóza = plánovaná a dokonale kontrolovaná smrt většinou jediné buňky
- apoptózou jsou eliminované buňky nepotřebné pro další rozvoj organismu
- několik stimulů apoptózy – extracelulární, intracelulární (význam ROS)



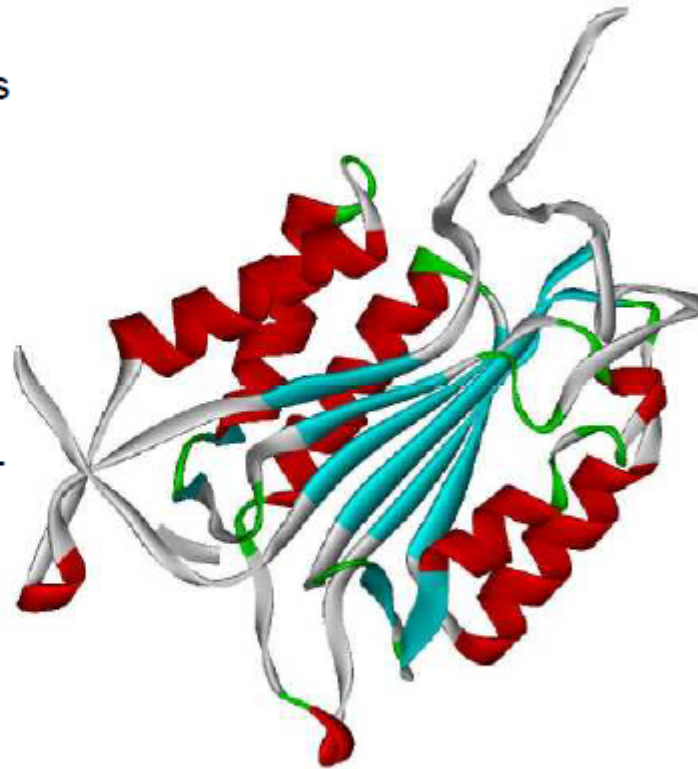
Apoptóza – kaspasy

Kaspasy – skupina hydrolytických enzymů s klíčovým významem v procesu apoptózy

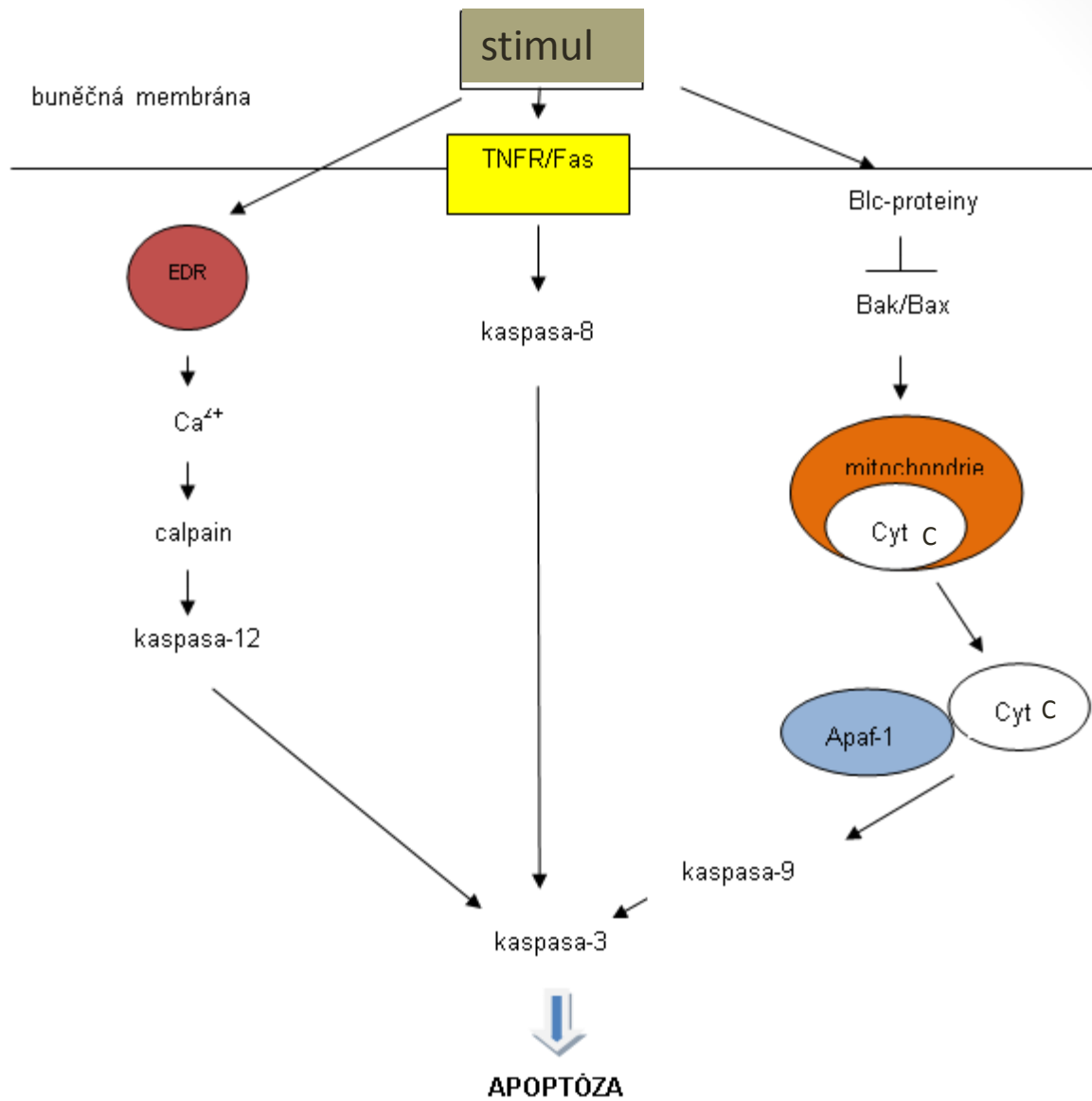
- patří do skupiny cysteinových endopeptidas
- štěpí polypeptidový řetězec při Cys následujícím po Asp
- jsou aktivovány limitovanou proteolysou z prokaspas
- většinou je aktivní formou homodimer
- dnes známých celkem 14 kaspas (CASP1 - CASP15, CASP11=CASP5, z toho 12 je humánních)

Dle funkce se dělí na:

- kaspasy iniciatorové (apikální) – štěpí pro-formy efektorových kaspas na účinnou formu, patří sem kaspasy 2,8,9 a 10
- kaspasy efektorové (výkonné) – štěpí proteiny cytoskeletu buňky, patří sem kaspasy 3,6 a 7



Krystalová struktura kaspasy 3, PDB: 2dko



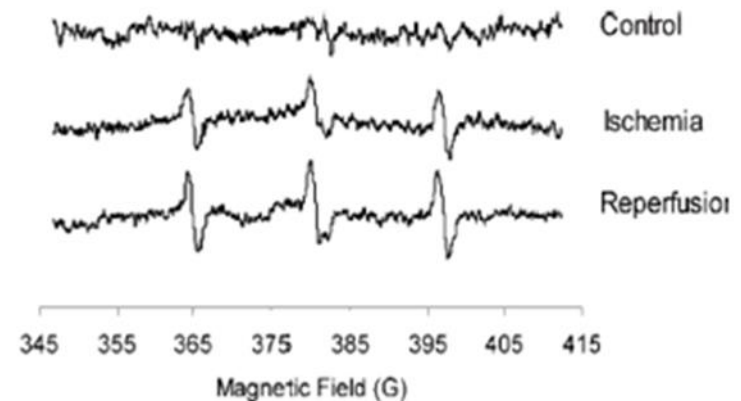
Szegezdi et al: Caspase-12 and ER-stress-mediated apoptosis: the story so far. Ann N Y Ac Sci 1010, 186-193, 2003

https://www.youtube.com/watch?feature=player_embedded&v=DR80Huxp4y8

<https://www.youtube.com/watch?v=-vmtK-bAC5E&t=39s>

Ischemie/reperfuze

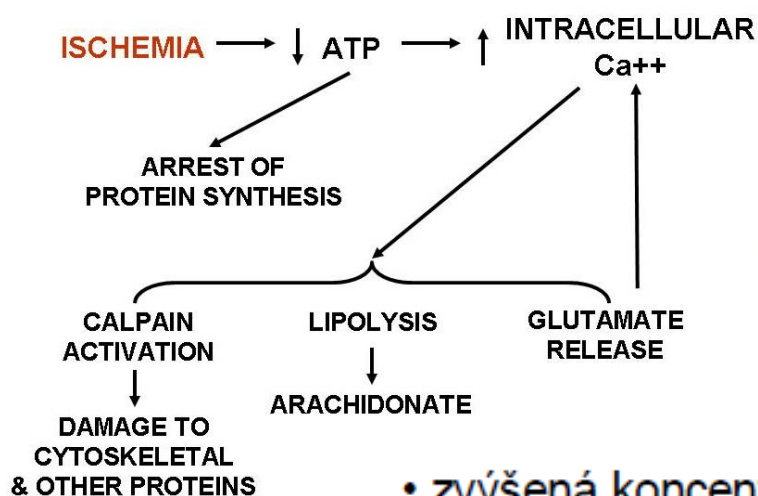
- končí zánikem buněk a poškozením tkání
- ischemie – nedostatečné zásobení tkání kyslíkem, extrémem je úplné zabránění přístupu kyslíku ke tkáním
- reperfuze – náhlé uvolnění blokády a obnovení zásobení tkáně kyslíkem
- kyslík a ROS jsou hlavními patogenetickými faktory reperfuzního poškození tkáně



Ischemie/reperfuze

Během hypoxie (ischemie):

- vážne přenos elektronů v respiračním řetězci mitochondrií
- klesá hladina ATP a hromadí se AMP, resp. jeho metabolit hypoxantin
- selhává aktivní transport iontů přes membrány, v cytosolu stoupá hladina Ca^{2+}
- dochází k senzibilizaci všech součástí oxidativního metabolismu na kyslík



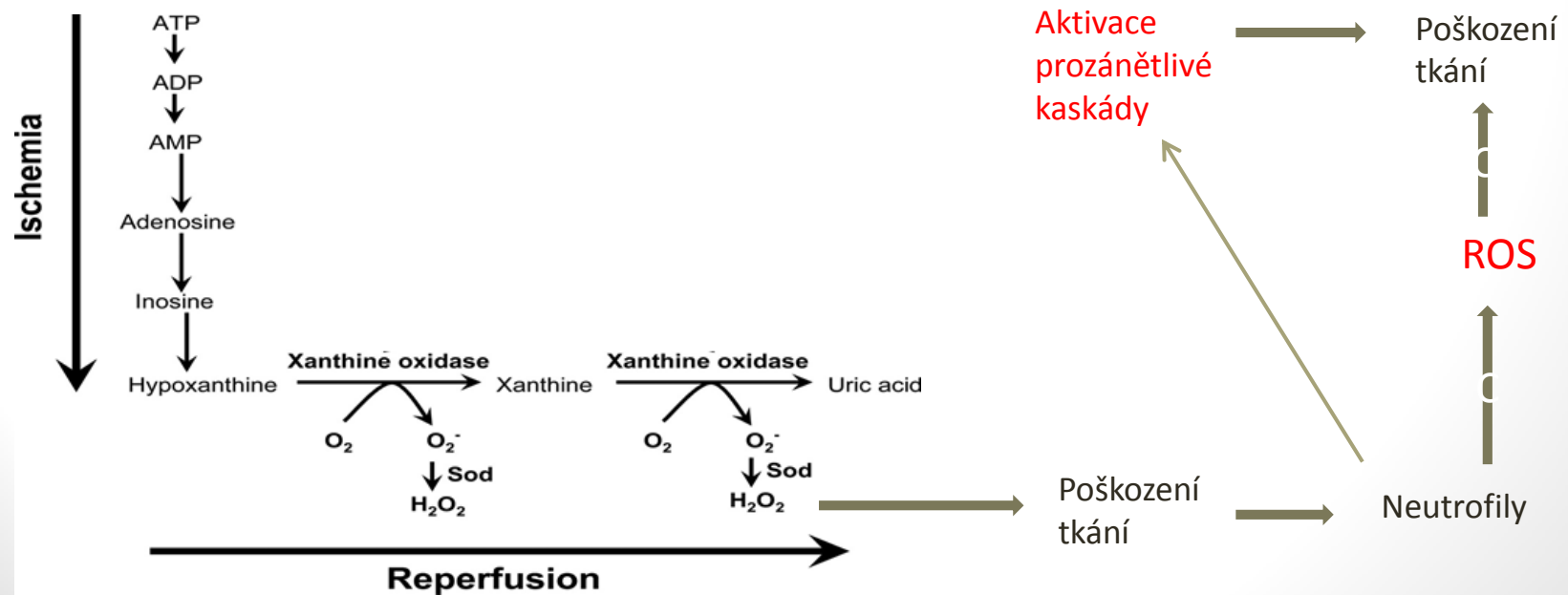
- excitotoxicita mozku – vysoká hladina Ca^{2+} způsobuje depolarizaci membrán a uvolnění glutamátu z postsynaptických zakončení
- glutamát je excitační aminokyselinou

• zvýšená koncentrace cytosolového kalcia aktivuje PLA_2 , LOX a COX

- calpain jako proteasa degraduje cytoskelet buňky a další proteiny (apoptóza)

Reperfuze způsobí:

- masivní tvorba ROS enzymem xantinoxidasou (endotelová, parenchymová, slizniční) – tvorba superoxidu a H_2O_2 (produkovanou SOD)
- ROS poškozují tkáně a endotel – to vede k aktivaci adhezních molekul (ICAM-1, selektiny P a I)
- v tkáních se zvyšuje podíl aktivovaných leukocytů – to ještě více zvyšuje tvorbu ROS
- reperfuze podporuje tvorbu řady cytokinů včetně IL-1, IL-6, fibroblastového růstového faktoru (FGF)
- cytokiny aktivují neutrofilů k produkci superoxidu a HOCl



Na ischemicko – reperfučním poškození buněk se podílejí:

- volné kyslíkové radikály
- iontová dysbalance
- aktivace proteas, indukce apoptózy
- aktivace zánětlivých mechanismů
- v mozku akumulace škodlivých neurotransmiterů

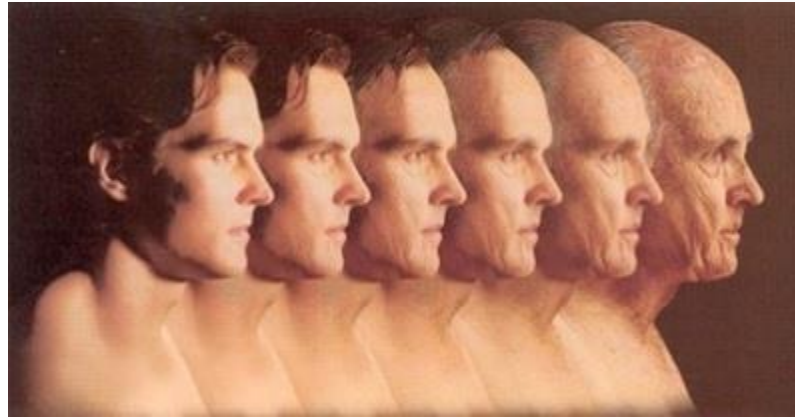
Možnosti terapeutické intervence:

- prevence tvorby ROS a RNS a posílení přirozených antioxidačních systémů
- podání alopurinolu – inhibitor xantinoxidasy
- podání Mn-SOD
- zablokování vstupu kalcia do buňky
- řízená hypotermie

Řízená hypotermie

- redukuje přestup iontů vápníku z extracelulárního prostoru intracelulárně - zmenšení vzestupu hladiny glutamátu
- inhibuje tvorbu volných radikálů, snižuje peroxidaci lipidů a oxidaci DNA
- stimuluje produkci anti-apoptického proteinu Bcl-2, inhibuje uvolnění cytochromu C a aktivaci kaspas
- působí protizánětlivě, zmenšuje počet neutrofilů v ischemií postižené tkáni (snížení exprese ICAM 1)
- snižuje produkci různých prozánětlivých mediátorů, jako jsou oxid dusnatý nebo IL- 6

Stárnutí



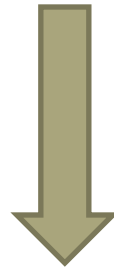
- radikálová teorie stárnutí



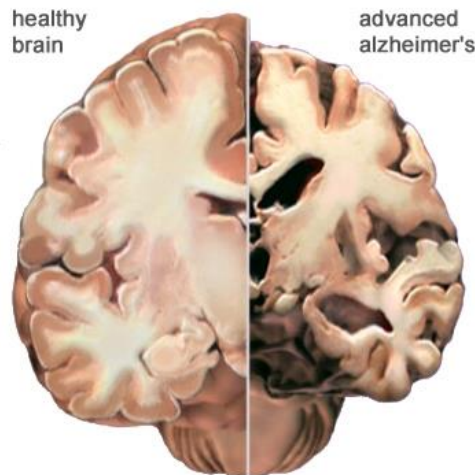
Denham Harman
(1916-2014)

- evoluční teorie stárnutí
 - přirozený výběr dává přednost ochraně genů aktivních v raném věku
- teorie somatických změn – příčina nahromadění mutací DNA
- mitochondriální teorie

- Mitochondriální teorie stárnutí – součást radikálové teorie, hromadění somatických mutací v mtDNA, snižování kapacity a aktivity Mn-SOD v mitochondriích – může vést až k příznakům podobným ischemicko-reperfuznímu poškození, zejména u mozku

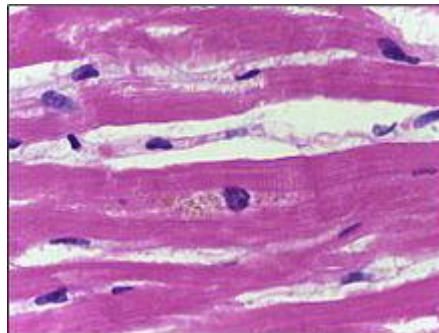


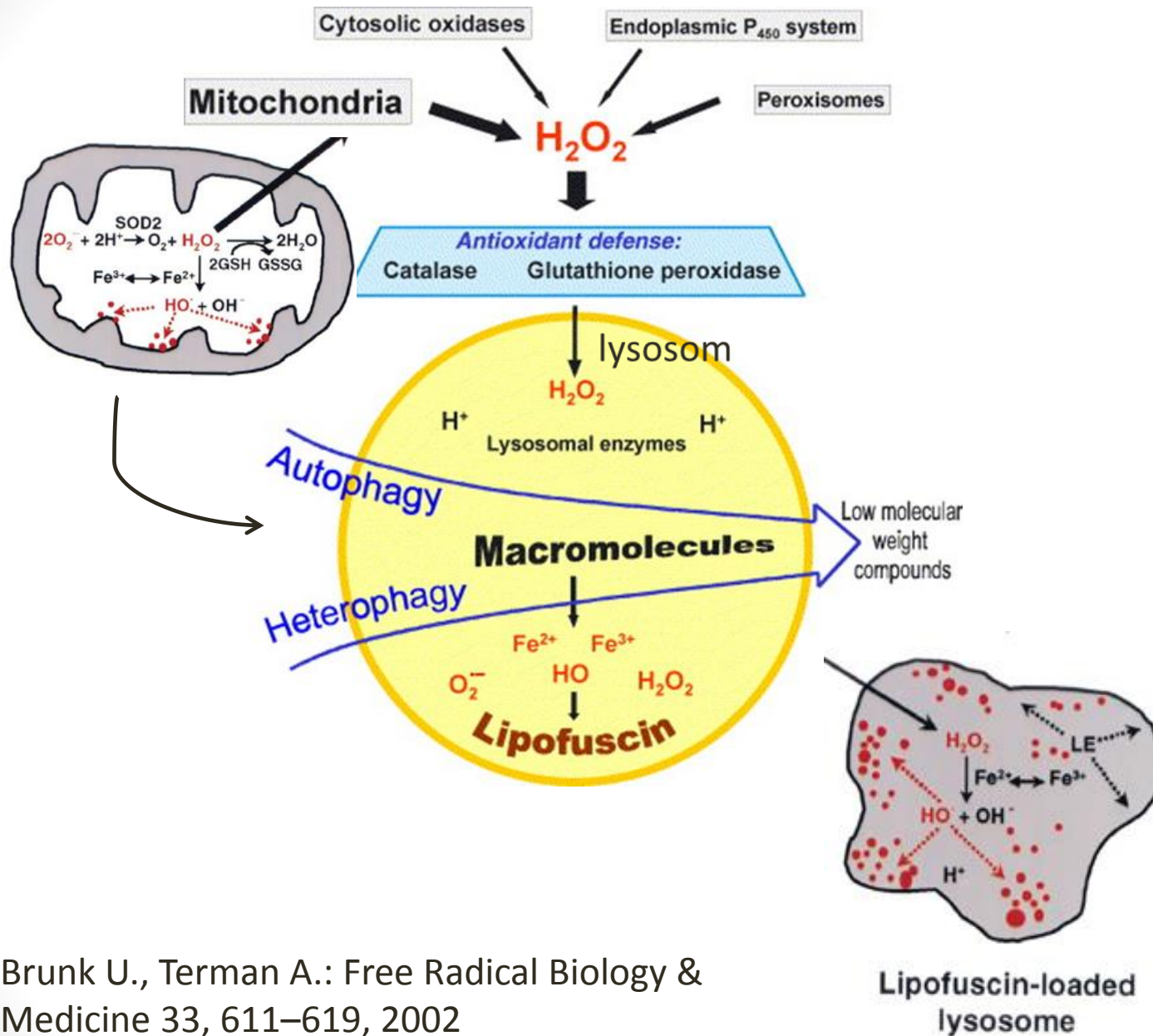
Alzheimerova choroba, Parkinsonova choroba



Projevy stárnutí:

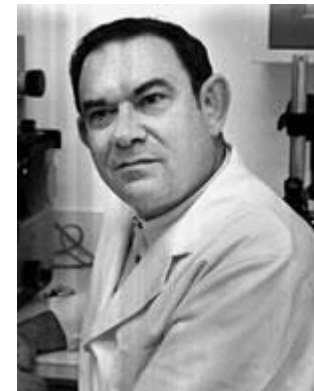
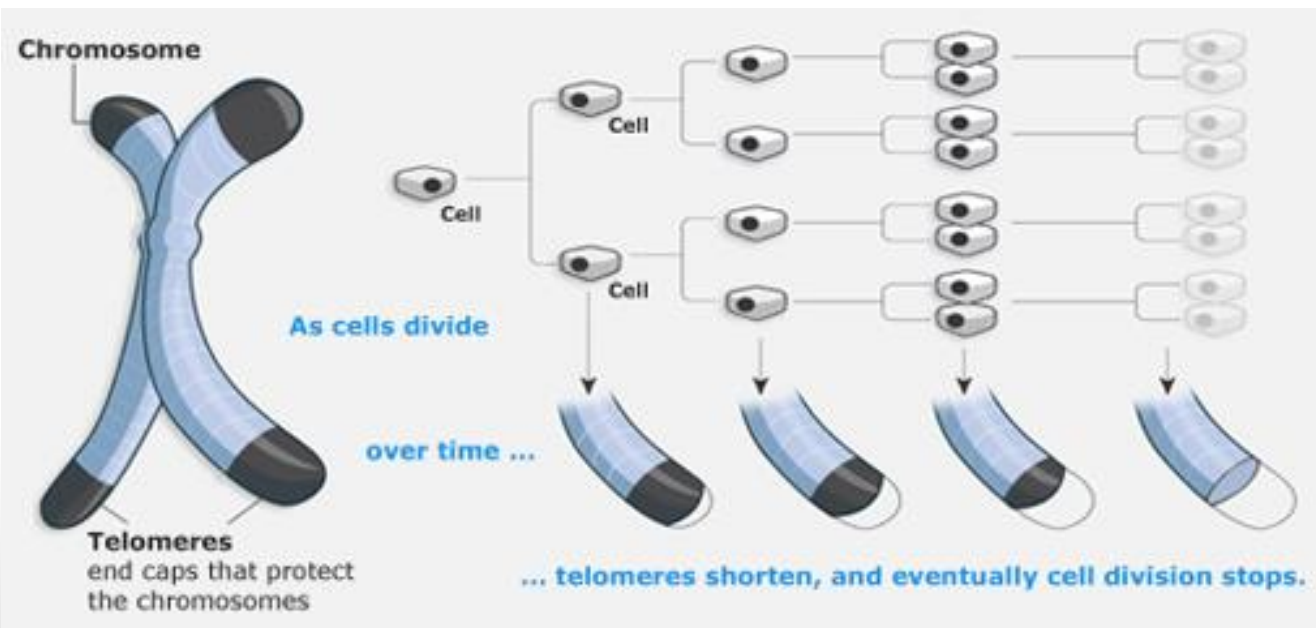
- hromadění konečných produktů oxidačního poškození biomolekul
 - lipofuscin – produkt peroxidace nenasycených mastných kyselin
 - může způsobovat narušení funkce mitochondrií a lysozomů
 - může podporovat další produkci ROS a RNS povrchovou vazbou redoxně aktivních kovových iontů
 - akumulace lipofuscinu v tlustém střevě způsobuje melanosis coli
 - zhoršuje funkci celých orgánů, výrazný vliv u makulární degenerace





Brunk U., Terman A.: Free Radical Biology & Medicine 33, 611–619, 2002

- glykované proteiny a Hb1Ac, AGE, pentosidin
- AGE můžou aktivovat receptory RAGE a indukovat aterogenezi
- karboxylace proteinů
- zvyšování mutací DNA, deaktivace reparačních procesů
- Hayflickův fenomén – zkracování DNA telomer
- změny v distribuci a zásobách železa – vzestup hladiny v hepatocytech
- snižování aktivity antioxidantních enzymů – SOD, GPx, katalasy, snižování hladiny GSH



Leonard Hayflick
replikativní stárnutí