

RADIKĀĻI UN ANTIOKSIDANTI RADICALS AND ANTIOXIDANTS

Maija Dzintare

Latvijas Sporta pedagoģijas akadēmija,
Brīvības iela 333, Rīga, Latvija, LV-1006
majja.dzintare@lspa.lv

Abstract

Radicals have an unpaired electron and are chemically very active. Reactive oxygen species (ROS) are superoxide radical, hydroxyl radical, hydrogen peroxide, singlet oxygen, ozone and hypochlorous acid. Reactive nitrogen oxide species (RNOS) are nitric oxide, peroxyxynitrite, etc. Prooxidants increase the amount of radicals. Radicals are produced by non-enzymatic reactions (Fenton's reaction and Haber-Weiss reaction) and by prooxidant enzymes (xanthine oxidase, cytochrome P450 and NADPH oxidase). In oxidative stress conditions, radicals are produced in large quantities and react with all cellular structures, causing oxidative damage. Antioxidants destroy radicals by giving an electron and a proton. The human body holds antioxidant enzymes (superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase) and small antioxidant molecules: endogenous (coenzyme Q, uric acid, glutathione and melatonin) and exogenous (vitamins E and C, carotenoids, flavonoids, etc) antioxidants.

Radikāļiem ir nesapārots elektrons, un tie ir ķīmiski ļoti aktīvi. Aktīvie skābekļa radikāļi (ROS) ir superoksīda radikālis, hidroksilradikālis, ūdeņraža peroksīds, singletskābeklis, ozons un hipohloroskābe. Aktīvie slāpekļa radikāļi (RNOS) ir slāpekļa oksīds, peroksinitrīts, utt. Prooksidanti palielina radikāļu daudzumu. Radikāļus veido neenzimātiskas reakcijas (Fentona reakcija un Habera-Weisa reakcija), kā arī prooksidantu fermenti (ksantīnoksīdāze, citohroms P450 un NADPH oksīdāze). Oksidatīvā stresa apstākļos radikāļi veidojas lielā daudzumā un reaģē ar visām šūnas struktūrām – izraisa oksidatīvo bojājumu. Antioksidanti iznīcina radikāļus, dodot tiem elektronu un protonu. Cilvēka organismā ir antioksidantu fermenti (superoksīddismutāze, katalāze un glutationperoksīdāze), kā arī nelielas antioksidantu molekulas: endogēnie antioksidanti ir Q koenzīms, urīnskābe, glutatīons un melatonīns, bet eksogēnie – vitamīni E un C, karotinoīdi, flavonoīdi, utt.

Atslēgas vārdi: ROS, RNOS, prooksidanti, oksidatīvie bojājumi, antioksidantu fermenti, endogēno un eksogēno antioksidantu molekulas.

Key words: ROS, RNOS, prooxidants, oxidative damage, antioxidant enzymes, endogenous and exogenous antioxidant molecules.

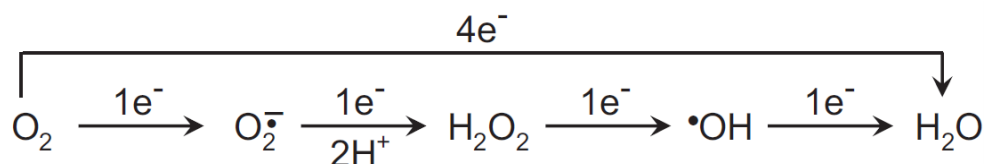
Ievads

Radikāļi ir molekulas, atomi vai joni ar nesapārotu elektronu ārējā elektronu čaulā. Tiem ir tieksme sapārot elektronu, to pievienojot vai atdodot, tādēļ tie ir ķīmiski ļoti aktīvi un bieži šūnai rada bojājumu.

Radikāļi reaģē savā starpā un ar audu komponentiem. Ja divi radikāļi reaģē savā starpā, tie neitralizē viens otru. Ja brīvais radikālis reaģē ar stabilu molekulu, veidojas jauns radikālis. Veidojas radikāļu ķēdes reakcijas: molekulas, ar kurām tie reaģē, pašas kļūst par radikāļiem un turpina bojājumu ķēdi. Tādējādi, ja radikālis reaģē ar nukleīnskābēm, proteīniem un lipīdiem, tad rodas šo vielu radikāļi – peroksīdradikāļi (R-OO•), piemēram, lipīdu peroksīdradikāļi.

Radikāļu veidi – ROS un RNOS

Skābekļa radikāļi (*reactive oxygen species*, ROS) ir: superoksīdradikālis jeb superoksīdanjons ($O_2^{\bullet-}$), hidroksilradikālis (HO^{\bullet}), kā arī skābekļa atvasinājumi, kas nav radikāļi: ūdeņraža peroksīds (H_2O_2), singletskābeklis, ozons (O_3) un hipohloroskābe (HOCl). Slāpekļa oksīda radikāļi (*reactive nitrogen oxide species*, RNOS) ir: slāpekļa oksīds (NO), peroksinitrīts un citi slāpekļa radikāļi, kas veidojas no NO radikāļu ķēdes reakcijās.



1.attēls. Skābekļa pakāpeniska reducēšanās par ūdeni (četrus elektronu pievienošana).

Superoksīdradikālis jeb superoksīdanjons ($O_2^{\bullet-}$) veidojas no O_2 , tam reducējoties – pievienojot vienu elektronu (1. att.). To fagocitējošās šūnās fagocitozes laikā veido NADPH oksīdāze, un tas ir šī fermenta galvenais uzdevums. Bet dažādu patoloģiju apstākļos $O_2^{\bullet-}$ kā blakusproduktu var veidot arī vairāki citi fermenti, kuru galvenais uzdevums ir pavisam cits: citohroms P450, ciklooksigenāze, lipoksigenāze, NO

sintāze, ksantīnoksidāze. Nozīmīgs $O_2^{\cdot-}$ avots ir mitohondriji, kur tas veidojas elektronu pārnese ķēdē (īpaši I un III komplekss). $O_2^{\cdot-}$ ir salīdzinoši neaktīvs un stipri selektīvs, tas reaģē tikai ar dažām molekulām organismā. Tā dzīves ilgums bioloģiskās sistēmās ir dažas sekundes. Ja reaģē divas $O_2^{\cdot-}$ molekulas savā starpā, veidojas ūdeņraža peroksīds. Superoksīdanjons var reaģēt ar slāpekļa radikāļiem, piemēram, slāpekļa oksīdu (NO), veidojot peroksinitrīta anjonu (ONOO⁻), kas nav radikālis, bet ir ļoti aktīvs un ļoti kaitīgs audiem.

Ūdeņraža peroksīds (H_2O_2) pieder ROS, bet nav radikālis. Tas ir oksidētājs, relatīvi stabils (pussabrukšanas laiks ir mēneši), ja nav saskares ar pārejas metāliem – dzelzi un varu. Fe^{2+} un Cu^+ jonu klātbūtnē no H_2O_2 **Fentona reakcijā** lielā daudzumā veidojas ļoti aktīvs un kaitīgs radikālis – hidroksilradikālis (HO•). Fentona reakcija strauji palielina ROS daudzumu audos un līdz ar to arī audu oksidatīvo bojājumu.

Hidroksilradikālis (HO•) ir visaktīvākais ROS ar pussabrukšanas laiku 10^{-9} s, tas momentāni reaģē turpat, kur radies. Tas ir neselektīvs – reaģē gandrīz ar jebkuru molekulu, tas ir arī spēcīgs oksidētājs. To neiznīcina neviens antioksidantu enzīms, tikai mazās antioksidantu molekulas. HO• audiem rada vislielākos oksidatīvos bojājumus.

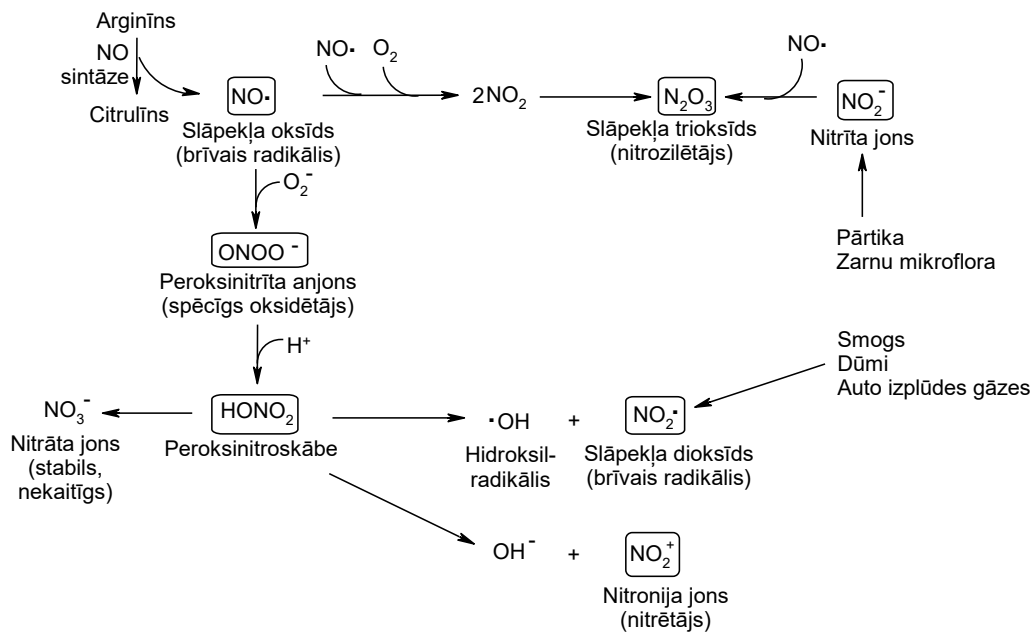
Peroksīdradikāļi (R-OO•) veidojas, ja HO• reaģē ar audu komponentiem, veidojot to radikāļus R•, kuri sekojoši oksidējas ar skābekli: nepiesātinātajām taukskābēm membrānu fosfolipīdos (L-OO•), nukleīnskābēm (timidīna R-OO•), u.c. Tiem ir garš dzīves ilgums – sekundes un tie reakcijās ir selektīvi.

Singletskābeklis nav radikālis, bet ir gaismas ietekmē ierosināta skābekļa molekula. Tas reaģē ar proteīnu histidīna un cisteīna grupām, nepiesātinātajiem taukiem un nukleīnskābēm. Tā pussabrukšanas laiks ir ap 10 ms.

Hipohlorskābe (HOCl) pieder ROS, bet nav radikālis, tā ir oksidētājs, darbojas imūnsistēmā (fagocitozē). To veido mieloperoksīdāze (oksidējot Cl^- ar H_2O_2 palīdzību). Hipohlorskābe ir vidēji aktīva – aktīvāka kā H_2O_2 , bet daudz mazāk aktīva kā hidroksilradikālis.

Slāpekļa oksīds (NO) mazā koncentrācijā darbojas kā signālmolekula (asinsvadu endotēlijā un nervos), lielā – kā brīvais radikālis. NO lielā koncentrācijā sintezē inducējamā NO sintāze (iNOS), kas aktivējas iekaisumos, sepsē, fagocitozē, neirodeģeneratīvās slimībās. NO ir lipofils un viegli difundē no šūnas uz šūnu cauri membrānu fosfolipīdu slānim. Ķīmiski ļoti aktīvs, tā pussabrukšanas laiks ir ļoti īss – ap 120 milisekundēm *in vivo*. Tādēļ NO koncentrāciju audos bieži raksturo ar tā oksidācijas galaproduktu: nitrītu (NO_2^-) un nitrātu (NO_3^-), koncentrāciju, ko kopā apzīmē: NO_x , piemēram, venozajās asinīs NO koncentrācija ir $0,02 \mu M$, bet NO_2^- – $30 \mu M$. Lielās aktivitātes dēļ NO pārsvarā darbojas autokrīni vai parakrīni.

Peroksinitrīta anjons (ONOO⁻). Veidojas, NO reaģējot ar superoksīdradikāli. Ļoti kaitīgs audiem. Nav brīvais radikālis, bet ir spēcīgs oksidētājs un nitrētājs (pievieno $-NO_2$ grupu). Tas difundē cauri lipīdu membrānām (pa jonu kanāliem). Peroksinitrīts iedarbojas uz proteīnu $-SH$ grupām, Fe-S centriem elektronu pārnese ķēdē, u.c. Peroksinitrīts noārdās, veidojot citus radikāļus (NO_2), kas efektīvi iniciē lipīdu peroksidāciju. N_2O_3 , kas veidojas no NO_2 vai nitrītjona NO_2^- , arī piedalās nitrozatīvajā stresā un nitrozilē $-SH$ u.c. grupas (NO pievienojas, veidojot nitrozotiola grupu: $-SNO$). Nitrozilēšana izmaina proteīna funkcijas.



2. attēls. NO radikāļu reakcijas

Brīvo radikāļu veidotāji (prooksidanti)

Radikāļi organismā veidojas nepārtraukti, un vielas, reakcijas un enzīmi, kas palielina radikāļu daudzumu, ir **proksidanti**. Radikāļus nepārtraukti iznīcina **antioksidanti**. Organismā normālos apstākļos starp abiem procesiem ir labils līdzsvars. Radikāļi var veidoties gan neenzimātiskās, gan enzimatiskās – reakcijās.

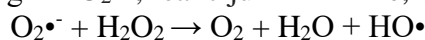
Neenzimātiskās reakcijas

Fentona reakcija un Habera-Veisa reakcija strauji palielina oksidatīvo stresu un audu oksidatīvo bojājumu. Abas reakcijas notiek pārejas metālu Fe un Cu klātbūtnē, un tajās lielā daudzumā veidojas hidroksilradikālis (HO•) – visaktīvākais un kaitīgākais radikālis.

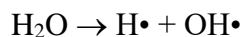
Fentona reakcija. H_2O_2 reaģē ar Fe vai Cu. Reakcijā pārejas metāls oksidējas (Fe^{2+} par Fe^{3+} , bet Cu^+ par Cu^{2+}), bet ūdeņraža peroksīds reducējas par HO• un OH⁻:



Habera-Veisa reakcija. H_2O_2 reaģē ar $O_2^{\cdot-}$, reakciju katalizē Fe, veidojas O_2 , ūdens un HO•:



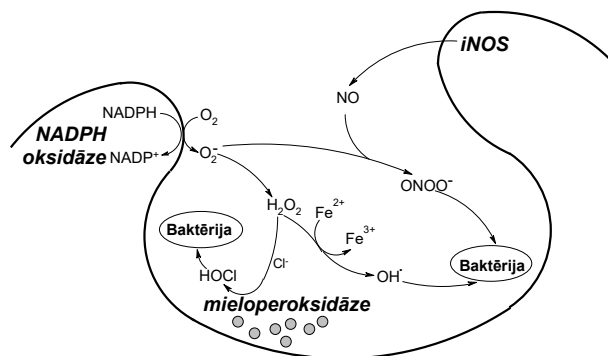
Jonizējošā radiācija (gamma, rentgena, daļēji arī UV stari) ūdeni sašķeļ par hidroksilradikāli un ūdeņraža radikāli:



Enzimātiskās reakcijas

Brīvos radikāļus veido EC1 grupas enzīmi – **oksidoreduktāzes** (oksidāzes, oksigenāzes, peroksidāzes, u.c.). Šie enzīmi pārnes elektronus no vienas vielas (elektronu donora jeb reducētāja) pie otras vielas (elektronu akceptora jeb oksidētāja). Reakcijas gaitā daļa elektronu noplūst no aktīvā centra un nonāk pie skābekļa, kā rezultātā netīšām veidojas ROS. Vienīgi fagocitozē radikāļi tiek veidoti tīšām.

Fagocitoze. Brīvo radikāļu veidošanās ir daļa no šūnu imunitātes. Fagocitējošā šūna veido membrānas ieliekumu un pēc tam – vezikulu – fagolizosomu, kurā nonāk fagocitētā baktērija. Aktivētas imūnsistēmas fagocitējošās šūnas (neitrofili, eozinofili, monocīti/makrofāgi) strauji patērē O_2 (*respiratorais sprādziens*) un sintezē no tā lielu daudzumu ROS un RNOS, ko izmanto pret iznīcināšanai paredzētajiem objektiem – mikroorganismiem, vēža šūnām u.c. **NADPH oksidāze** atrodas fagocitējošo šūnu plazmas membrānā un fagolizosomā lielā daudzumā veido superoksīdradikāļus, pārnesot elektronus no NADPH pie O_2 . No $O_2^{\cdot-}$ tālāk veidojas citi radikāļi: H_2O_2 , OH•. **Mieloperoksidāze** fagosomā, no Cl^- un H_2O_2 veido hipohlorskābi (HOCl), stipru oksidētāju, kas dažās sekundēs sagrauj baktēriju, halogenējot un oksidējot. Šāds enzīms ir tikai imūnsistēmas fagocitējošajām šūnām (galvenokārt neitrofilēm). Fagocitējošajā šūnā aktivējas arī **inducējamā NO sintāze** (iNOS), kas sintezē NO lielā koncentrācijā. NO reaģē ar $O_2^{\cdot-}$ un veido ONOO⁻.



3. att. ROS un RNOS fagocitozē.

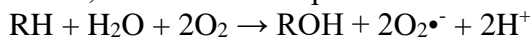
Oksidatīvo stresu pastiprina vairāki EC1 klases enzīmi, kas radikāļus veido nejauši – tie pasprūk no fermenta aktīvā centra kļūdas rezultātā, piemēram, ksantīnoksidāze, citohromi un elektronu transporta ķēde.

Ksantīnoksidāze (EC1.17.3.2) ir purīnu degradācijas enzīms, tā oksidē hipoksantīnu par ksantīnu un tālāk – par urīnskābi, kā blakusproduktu veidojot H_2O_2 (4. att.).



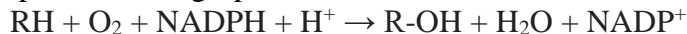
4. att. Ksantīnoksidāze oksidē hipoksantīnu par urīnskābi, veidojot H_2O_2 .

Ksantīnoksidāze, oksidējot substrātu, var veidot arī superoksīdradikāli ($O_2^{\bullet-}$):



Ksantīnoksidāze ir superoksīdradikāli veidojošs enzīms ar zemu specifiskumu – tā noārda ne tikai purīnus, bet arī kofeīnu, dažas zāļu vielas. Tā iesaistās arī dažādās citās reakcijās, kas veicina oksidatīvo stresu: atbrīvo NO no S-nitrozotiolem, NO tad veido peroksinitrīta anjonu. Tā ir atbildīga par išēmijas – reperfūzijas izraisīto bojājumu asinsvadu endotēlijā.

Citohromi P450 ir liela hēmu saturošu fermentu grupa. Atrodas mitohondrijos un mikrosomās. Mikrosomu citohromi piedalās steroīdu, nepiesātināto taukskābju un zāļu vielu metabolismā. Mikrosomu citohromi hidroksilē substrātu – pievieno OH grupu:



Elektronu transporta ķēde mitohondrijos ir ievērojams radikāļu avots (~5% no visa patērētā O_2 pārvēršas par ROS. Superoksīdradikāli veidojas, ja elektrons tiek atdots nevis nākamajam ķēdes elementam, bet turpat membrānā izšķīdušajam O_2 . Radikāļus var veidot visi ķēdes elementi. Pirmie divi elementi – oksidoreduktāzes: NADH dehidrogenāze, sukcinātdehidrogenāze, koenzīms Q (ubihinons), kas saņem elektronus no I un II elementa un atdod citohroma-c-reduktāzei, citohroms C un citohroma-c-oksīdāze.

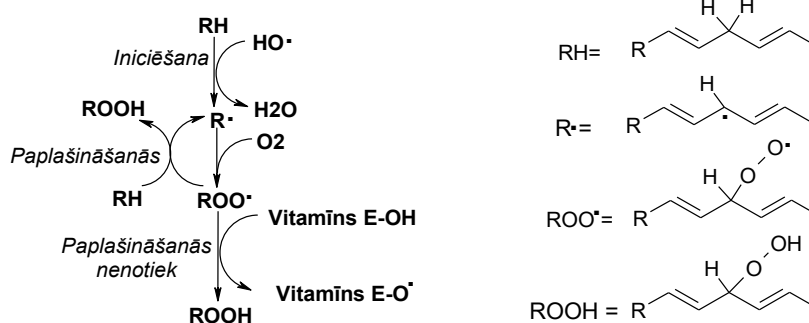
Brīvo radikāļu reakcijas ar šūnas komponentiem

Oksidatīvais stress. Normālos apstākļos šūnā ir līdzsvars starp radikāļu veidošanos un to iznīcināšanu, citiem vārdiem sakot, līdzsvars starp prooksidantiem un antioksidantiem. Oksidatīvā stresa apstākļos šis līdzsvars ir izjaukts – prooksidantu daudzums ir palielināts, radikāļi veidojas lielā daudzumā, un antioksidanti netiek ar tiem galā. Radikāļi reaģē ar šūnas struktūrām – modificē lipīdus, proteīnus, DNS, t.i., izraisa oksidatīvo bojājumu. Apmēram 100 slimības ir saistītas ar brīvo radikāļu bojājumu. ROS bojājums var būt primārs, kas izraisa slimību, vai arī sekundārs, kur slimība izraisa radikāļu veidošanos.

Brīvie radikāļi atrauj elektronu lipīdiem, proteīniem, ogļhidrātiem un DNS. Visjutīgākās pret radikāļu „uzbrukumu” ir dubultsaites. Radikāļu ķēdes reakcijas ar membrānu lipīdiem aizsāk (iniciē) hidroksilradikālis. Superoksīdanjons arī ļoti aktīvs, bet nešķīst lipīdos un nevar tālu difundēt, taču tas viegli veido hidroksilradikāli. H_2O_2 šķīst lipīdos, var difundēt cauri membrānām un veidot hidroksilradikāli vietās, kas satur Fe vai Cu (mitohondrijos).

Lipīdu peroksidācija. Radikāļi (ROS un RNOS) iesāk ķēdes reakcijas – atņem elektronus no nepiesātinātajā taukskābēm membrānu fosfolipīdos, kas beigās noved pie membrānu sagraušanas. Ķēdes reakciju iniciē hidroksilradikāli (HO^{\bullet}), atņemot elektronu (H^{\bullet}) no polinepiesātināto taukskābju dubultsaitēm, veidojot lipīdu radikāļus (R^{\bullet}). L^{\bullet} ir nestabili un reaģē ar O_2 (oksidējas), veidojot lipīdu peroksīdradikāļus (ROO^{\bullet}). Tad ķēdes reakcija paplašinās: ROO^{\bullet} reaģē ar citām taukskābēm, veidojot dažādus taukskābju radikāļus. Ķēdes reakcijas terminējas (izbeidzas), kad radikāļu koncentrācija jau ir tik liela, ka divi radikāļi satiekas un neitralizē viens otru. Lipīdu peroksidācijas galaprodukts ir malonildialdehīds (MDA), kas

parādās asinīs un urīnā un tiek izmantots par radikāļu bojājuma marķieri. Lipīdu peroksīdi izmaina membrānas struktūru, palielinās membrānas caurlaidība, šūnā ieplūst kalcija joni, ūdens, šūna uzbriest, iet bojā nekrozē. Lipīdu peroksidāciju kavē taukos šķīstoši antioksidanti: vitamīns E un glutationperoksidāzes izoenzīms GPx4, kas terminē ķēdes reakcijas, dodot radikālim elektronu un veidojot lipīdu peroksīdus (ROOH), kas vēlāk tiek pārvērsti par stabiliem lipīdu spirtiem (ROH) (5. att.).



5. att. Lipīdu oksidatīvie bojājumi.

DNS oksidatīvie bojājumi. Hidroksilradikālis reaģē gan ar purīna, gan pirimidīna bāzēm (vai nu pievienojoties pie dubultsaitēm, vai atņemot elektronu no timīna metilgrupām), gan arī ar dezoksiribozi (atņemot elektronu no C-H saitēm). Oksidatīvi bojātās bāzes tālāk oksidējas vai reducējas, bet cukuri vai nu atdalās no DNS, vai paliek tās sastāvā kā gala grupas, un veidojas DNS virknes pārrāvums. Oksidatīvais stress izraisa vēl plašākus DNS bojājumus: tandēmbojājumus un klasterbojājumus, kā arī kovalentu saišu veidošanās starp DNS bāzēm un proteīniem. Tas izraisa mutāciju veidošanos, kuras šūna vai nu tiek reparētas, vai arī šūna iet bojā apoptozē. **Tandēmbojājumi** ir bojāta bāze un bojāts cukurs vienā nukleotīdā, cikliski nukleotīdi, kas rada novirzes DNS dubultspirāles telpiskajā izvietojumā, divas bojātas blakus esošas bāzes vienā pavedienā. Var veidoties arī liekas saites: starp divām bojātām blakus esošām bāzēm vienā pavedienā vai šķērssaite starp bojātām bāzēm pretējos pavedienos. **Klasterbojājumi** (lokāli multipli bojājumi) ir divi vai vairāk tandēmbojājumi vienā vai abos pavedienos viena vai divu DNS spirāles vijumu garumā. Šādus bojājumus visbiežāk izraisa jonizējošā radiācija, bleomicīns. DNS klasteru bojājumi ir ļoti dažādi un atšķirīgi tiek reparēti šūnā. Divpavedienu klasteru bojājumi var būt rezistenti pret reparāciju un saglabāties šūnā ilgu laiku. Divpavedienu klasteru bojājumi reparācijas laikā var veidot divpavedienu pārrāvumus. DNS klasteru bojājumu bioloģiskās sekas ir punktveida mutācijas un letalitāte.

Proteīni. Hidroksilradikālis atņem e^- no aminoskābēm Pro, His, Arg, Cys, Met. Proteīns var fragmentēties, veidoties saites starp aminoskābju atlikumiem, kas izmaina proteīna īpašības.

Antioksidantu sistēmas

Antioksidanti terminē (izbeidz) radikāļu ķēdes reakcijas, dodot tiem elektronu. Organismā darbojas antioksidantu enzīmi (superoksīddismutāze, katalāze un glutationperoksidāze), kā arī dažādas mazas antioksidantu molekulas.

Superoksīddismutāze (SOD) (EC 1.15.1.1) iznīcina superoksīdradikāli ($O_2^{\bullet-}$), pārvēršot to par mazāk kaitīgiem savienojumiem: H_2O_2 un O_2 . Summārā reakcija: $2O_2^{\bullet-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$

Superoksīdradikāļa dismutācija (disproporcionēšanās) nozīmē vienlaicīgu tā oksidēšanu (atņem e^-) un reducēšanu (dod e^-). SOD aktīvajā centrā ir metāla atoms – Cu un Zn vai Mn.

$O_2^{\bullet-}$ oksidējas, Cu reducējas: $Cu^{2+}\text{-SOD} + O_2^{\bullet-} \rightarrow Cu^+\text{-SOD} + O_2$

$O_2^{\bullet-}$ reducējas, Cu oksidējas: $Cu^+\text{-SOD} + O_2^{\bullet-} + 2H^+ \rightarrow Cu^{2+}\text{-SOD} + H_2O_2$

Cilvēkam ir trīs SOD izoformas: Cu un Zn saturošās SOD1 (citoplazmā) un SOD3 (ekstracelulāri), mangānu saturošā SOD2 – mitohondrijos, kur elektronu transporta ķēdē veidojas superoksīdradikāļi. SOD1 ir dimērs, SOD2 un SOD3 – tetramēri.

SOD, iznīcinot $O_2^{\bullet-}$, novērš tā reakciju ar NO – peroksinitrīta anjona ($ONOO^-$) veidošanos, kurš kā spēcīgs oksidētājs ir ļoti kaitīgs. SOD arī novērš dzelzs jonu atbrīvošanos no fermentu dzelzs-sēra (Fe-S) centriem, jo $O_2^{\bullet-}$ reaģē ar tiem un atbrīvo Fe jonus. Tādējādi SOD netieši pasargā šūnu no HO^{\bullet} veidošanās Fentona reakcijā. Kaut gan SOD veicina H_2O_2 veidošanos, H_2O_2 tomēr ir daudz stabilāks kā $O_2^{\bullet-}$.

Šūnu no H_2O_2 atbrīvo **katalāze** un **glutationperoksidāze**. Ja H_2O_2 koncentrācija ir zema, to sadala katalāze, ja augsta, to reducē glutationperoksidāze.

Katalāze (CAT) (EC 1.11.1.6) ir hēmu un Fe saturošs enzīms. Atrodas peroksisomās, kur notiek nepiesātināto, zaroto un ļoti garo (vairāk par 18C) taukskābju katabolisms (beta-oksidācija) un citas reakcijas, kur veidojas daudz H_2O_2 . H_2O_2 sadala par O_2 un H_2O : $2 H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$

Glutationperoksidāze (GPx) (EC1.11.1.9) reducē H_2O_2 par H_2O , ņemot 2H no kofaktora glutaciona:
 $2GSH + H_2O_2 \rightarrow GS-SG + 2H_2O$

Glutaciona reducētā forma (GSH) reakcijā atdod 2H un veidojas oksidētā forma – glutaciona disulfīds (GS-SG). Reducēto GSH atjauno glutationreduktāze, 2H ņemot no NADPH.

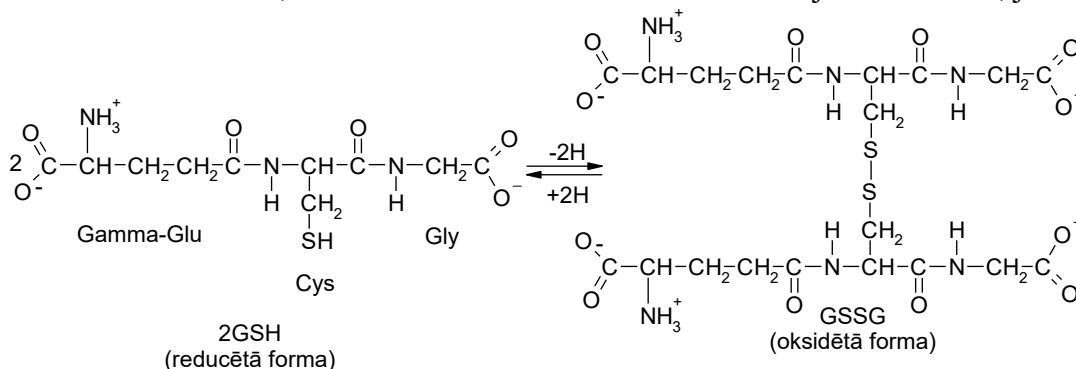
Selēnu saturošs enzīms. Cilvēkam ir astoņi GPx izoenzīmi: GPx1 ir visvairāk – citoplazmā reducē H_2O_2 , GPx4 ir daudz mazāk – reducē galvenokārt lipīdu peroksīdus (LOOH), GPx2 ir ekstracelulāra un zarnu forma, bet GPx3 – ekstracelulāra un asins plazmā.

Mazās antioksidātu molekulas

Organismā sintezētie jeb endogēnie antioksidanti ir: koenzīms Q (ubihinons), urīnskābe, glutations (GSH) un melatonīns. Eksogēnie antioksidanti (var uzņemt ar uzturu) ir vitamīns E (tokoferols), vitamīns C (askorbīnskābe), karotinoīdi, flavonoīdi un citas bioloģiski aktīvas augu izcelsmes vielas. Tie ir reducētāji (dod e^- un H^+) radikālim un paši oksidējas. To darbības mehānismi ir dažādi, tie var daudzkārtīgi oksidēties un reducēties (kā C vitamīns) vai tikai vienreiz, paši neatgriezeniski izmainoties (kā melatonīns).

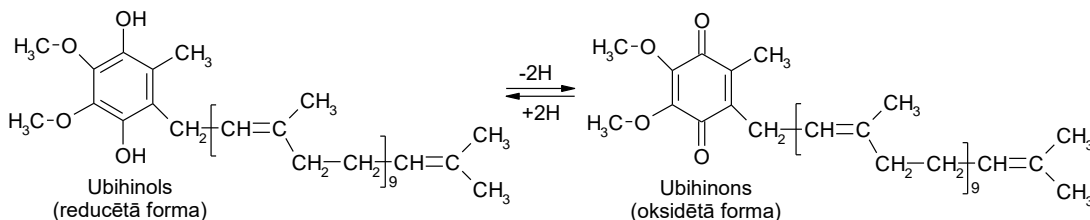
Endogēnie antioksidanti

Glutations (GSH) ir tripeptīds (γ -glutamīl-cisteinil-glicīns). Šķīst ūdenī un darbojas šūnu citoplazmā kopā ar enzīmiem (glutationperoksidāzi un glutacionreduktāzi). Reakcijā glutaciona tiola grupas (-SH) reducējas (atdod 2H, precīzāk – $2e^-$ un $2H^+$). veidojas oksidētā forma – disulfīdsaitē (GSSG), ko glutacionreduktāze atkal reducē, izmantojot NADPH. Daudzkārtīgi pāriet starp oksidēto un reducēto formu (6. att.). GSH/GSSG attiecību izmanto, lai noteiktu šūnas antioksidantu statusu: jo vairāk GSH, jo labāk.



6. att. Glutaciona reducētā un oksidētā forma.

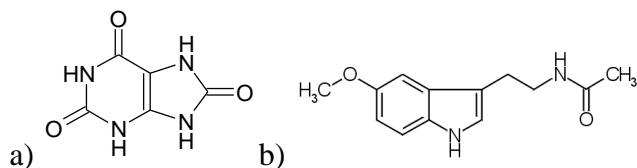
Koenzīms Q (ubihinons) ir elektronu transporta ķēdes elements. Ārpus elektronu transporta ķēdes darbojas kā antioksidants. Tas no mazajām antioksidantu molekulām ir vienīgais endogēnais taukos šķīstošais antioksidants, kas darbojas lipofīlā vidē (membrānās). Daudzkārtīgi pāriet starp oksidēto un reducēto formu (7. att.). Kavē membrānu lipīdu un plazmas lipoproteīdu peroksidāciju, DNS un proteīnu oksidāciju.



7. att. Koenzīms Q: reducētā un oksidētā forma.

Urīnskābe (8. att. a) veidojas purīna bāžu katabolismā (kad ksantīnoksidāze oksidē ksantīnu). Tai ir ierobežota šķīdība ūdenī (augstas koncentrācijas – hiperurikēmija – var izraisīt podagru). Tā noārdās par a;antoīnu un tiek izvadīta ar urīnu. Urīnskābe darbojas ūdens vidē, tā ir galvenais antioksidants asins plazmā (nodrošina 2/3 no kopējās antioksidantu kapacitātes). Tā ekstracelulārā vidē (plazmā) iznīcina superoksīdradikāļus, peroksinitrīta anjonus un peroksīdradikāļus (R-OO•). Tā iznīcina radikāļus, dodot tiem elektronu un pati pārvēršas par radikāli. Tās darbībai vajag askorbīnskābi vai GSH, kas to reģenerē atpakaļ par urīnskābi. Pie paaugstinātas koncentrācijas asinīs (hiperurikēmijas) urīnskābe var kļūt par prooksidantu

un pastiprināt oksidatīvo bojājumu. Urīnskābe kā antioksidants darbojas asins plazmā, bet kā prooksidants – šūnās. Urīnskābes reakcijās ar radikāļiem veidojas radikāļi, kas var paplašināt radikāļu ķēdes reakcijas. Pierādīta saistība starp paaugstinātu urīnskābes koncentrāciju asinīs un kardiovaskulārām slimībām, hipertensiju, metabolo sindromu.

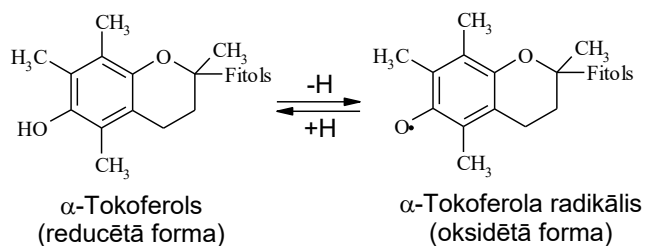


8. att. Endogēnās antioksidantu molekulas: a) urīnskābe, b) melatonīns.

Melatonīns (8. att. b) ir neurohormons, kas sintezējas epifīzē (no triptofāna). Tas cirkulē asinīs, saistoties pie receptoriem, regulē diennakts ritmu, miegu. Melatonīns ir gan hidrofobas, gan un hidrofīlas dabas, kas ļauj tam šķērsot membrānas un hematoencefalisko barjeru. Tas darbojas arī kā antioksidants – neitralizē brīvos radikāļus. Sākumā tas dod radikālim H atomu, pats pārvēršoties par radikāli. Nākamajam radikālim dod protonu, trešo radikāli pievieno, u.t.t. Katrā reakcijā melatonīns neatgriezeniski pārmainās, tas ir "suicidāls" antioksidants, tas nevar daudzkārtīgi oksidēties un reducēties (kā C un E vitamīns). Melatonīna efektivitāti nosaka tas, ka šie melatonīna veidotie produkti arī darbojas kā antioksidanti, un viena melatonīna molekula, pirms tās galējie metabolīti tiek izvadīti, iznīcina ap 10 dažādus radikāļu veidus.

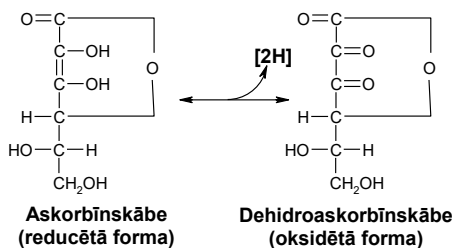
Eksogēnie antioksidanti

Vitamīns E (tokoferols) ir lipofila viela, kā antioksidants darbojas membrānās. Tas terminē radikāļu ķēdes reakcijas un pārtrauc lipīdu peroksidāciju. Vitamīns E reaģē ar lipīdu peroksīdradikāļiem ($\text{ROO}\cdot$), dod tiem H atomu (e^- un H^+), pārvēršot tos par lipīdu peroksīdiem (ROOH), pats pārvēršoties par vitamīna E radikāli (9. att).

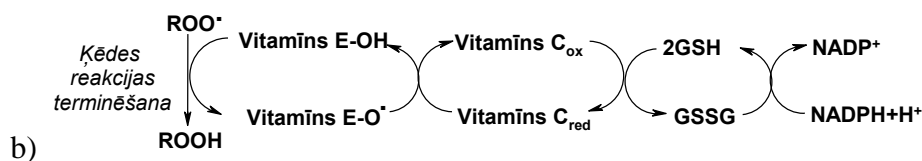


9. att. Vitamīna E reducētā un oksidētā forma.

Vitamīns C (askorbīnskābe) Ūdenī šķīstoša viela, kā antioksidants darbojas citosolā. Reducē ROS, dodot tiem 2H atomus ($2e^-$ un 2H^+), pārvēršoties par dehidroaskorbīnskābi (10. att. a). Reaģējot ar radikāļiem var atdot arī tikai vienu H atomu, tādā gadījumā veidojot monodehidroaskorbīnskābi jeb askorbīnskābes radikāli. Divi askorbīnskābes radikāļi var reaģēt savā starpā, veidojot dehidroaskorbīnskābi un askorbīnskābi. Askorbīnskābe atjauno vitamīna E radikāļus atpakaļ par vitamīnu E, dodot tam H atomu (10. att. b). Askorbīnskābi reducētajā formā savukārt atjauno glutations (reducētā forma – GSH, oksidētā – GSSG). Glutacionu reducētajā formā uztur glutationreduktāze, izmantojot NADPH. Šūnām NADPH piegādā pentožu fosfātu ceļš, un glutations, vitamīns E un askorbīnskābe pastāvīgi tiek uzturēta reducētā formā.

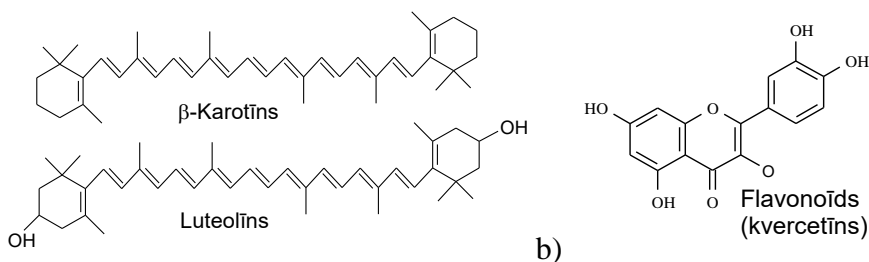


a)



10. att. a) Vitamīna C (askorbīnskābes) reducētā un oksidētā forma, b) antioksidantu reducēto formu atjaunošana.

Karotinoīdi ir lipofili savienojumi (11. att. a), krāsaini (dzeltēni, oranži), kā antioksidanti darbojas membrānās. Tos var uzņemt ar krāsainiem augļiem, dārzeņiem (burkāni, paprika).



11. att. Eksogēnās antioksidantu molekulas: a) karotinoīdi, b) flavonoīdi.

Flavonoīdi (11. att. b). pārsvarā ir ūdenī šķīstoši savienojumi, krāsaini (bāli dzeltēni, sarkani, tumšsarkani, zili). Var uzņemt ar sarkanvīnu, šokolādi, augļiem, dārzeņiem. Flavonoīdi reducē radikāļus (dod tiem H), paši pārvēršdamies par neaktīviem fenoksilradikāļiem. Flavonoīdi arī saista brīvos metālu jonus (Fe^{2+} un Cu^+), neļaujot tiem katalizēt Fentona reakciju.

Citi pret radikāļu aizsardzības mehānismi

Šūnas kompartmentalizācija. O_2^- veidojošie enzīmi, atrodas mitohondrijos, H_2O_2 veidojošie enzīmi atrodas peroksisomās. Šajās organellās ir augsta antioksidantu enzīmu koncentrācija.

Bojāto šūnas komponentu reparācija. DNS bojājumi nepārtraukti tiek reparēti, oksidētās taukskābes tiek aizvāktas no membrānu lipīdiem, oksidētās aminoskābes proteīnos nepārtraukti tiek reparētas, bojātos proteīnus noārdot un vietā sintezējot jaunus.

Metālu ar mainīgu vērtību (Fe^{2+} , Cu^+) izolēšana, saistot tos pie proteīniem. Brīvā veidā tie nav atrodami, jo veido brīvos radikāļus Fentona un Habera-Veisa reakcijās un ir šūnai toksiski. Hipoksijas un anoksijas apstākļos superoksīda ietekmē notiek šo jonu atbrīvošanās no proteīniem (fermentu aktīvajiem centriem, hēma grupām, Fe-S centriem) un strauji palielinās radikāļu veidošanās un audu bojājums.

Dzelzs jonu lokalizācija šūnā. Vesela pieauguša cilvēka organismā ir 4-5g dzelzs. Ap 2,5g no tā ir hemoglobīna sastāvā, ap 2g glabājas šūnās kā rezerve, saistīta pie *ferritīna* (ferritīna kompleksi – *hemosiderīns*). Ap 400mg Fe atrodas dažādos šūnas proteīnos: mioglobīnā, citohromos, fermentos. Relatīvi maz (3-4 mg) dzelzs cirkulē asinīs, saistīts pie *transferīna*. Hemoglobīna un mioglobīna hēmā, dzelzs atoms ir saistīts ar koordinācijas saitēm un nodrošina O_2 transportu un glabāšanu. Dzelzs darbojas kā oksidoreduktāžu kofaktors, tas atrodas šo enzīmu hēma grupās vai Fe-S centros. Te dzelzs atoms ir kovalenti saistīts un reakcijā darbojas kā elektronu akceptors vai donors, pārejot no Fe^{3+} uz Fe^{2+} un atpakaļ. Piemēram, elektronu transporta ķēdē dzelzs ir citohromu hēma grupās, kā arī I, II un III kompleksa Fe-S centros, kur piedalās elektronu pārnēsē un ATP sintēzē. Dzelzs ir citohromu P450 hēma grupās un piedalās oksidēšanās-reducēšanās reakcijās vielu biotransformācijā.

Vara jonu lokalizācija šūnā. Varš arī organismā galvenokārt atrodas saistītā veidā pie proteīniem, jo brīvā veidā tas ir toksisks šūnai – piedalās ROS veidošanā. Asinīs 95% vara jonu ir saistīti pie *ceruloplazmīna*, pārējais – pie albumīna un citiem proteīniem. Šūnās varš līdzīgi dzelzij ir koenzīms oksidoreduktāzēm (SOD) un oksidēšanās-reducēšanās reakcijās pāriet starp Cu^+ un Cu^{2+} .

Izmantotā literatūra

1. Andrews, N.C. (1999). Disorders of Iron Metabolism. *New England Journal of Medicine* 341:1986-1995.
2. Dizdaroglu, M. (2012). Oxidatively induced DNA damage: mechanisms, repair and disease. *Cancer letters* 327:26-47.
3. Evans, M.D., Dizdaroglu, M., Cooke, M.S. (2004). Oxidative DNA damage and disease: induction, repair and significance. *Mutation research* 567:1-61.
4. Gaetke, L.M., Chow, C.K. (2003). Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients. *Toxicology* 189:147-163.
5. Halliwell, B. (2012). Free radicals and antioxidants: updating a personal view. *Nutrition reviews* 70:257-265.

6. Hegde, M.L., Izumi, T., Mitra, S. (2012). Oxidized base damage and single-strand break repair in mammalian genomes: role of disordered regions and posttranslational modifications in early enzymes. *Progress in molecular biology and translational science* 110:123-153.
7. Kalyanaraman, B. (2013). Teaching the basics of redox biology to medical and graduate students: Oxidants, antioxidants and disease mechanisms. *Redox biology* 1:244-257.
8. Stern, B.R. (2010). Essentiality and toxicity in copper health risk assessment: overview, update and regulatory considerations. *Journal of toxicology and environmental health Part A* 73:114-127.
9. Wallace, S.S. (2002). Biological consequences of free radical-damaged DNA bases. *Free radical biology & medicine* 33:1-14.