

WŁAŚCIWOŚCI ANTYOXYDACYJNE ZWIĄZKÓW: ALKILOGLICEROLII KWASÓW SZEREGU OMEGA 3 I SKWALENU.

W organizmie reaktywne formy tlenu powstają w wyniku działania fizjologicznych procesów wewnątrzkomórkowych oraz na skutek działania zewnętrznych czynników fizycznych takich jak promieniowanie jonizujące i ultrafioletowe. Najistotniejsze znaczenie mają wewnątrzkomórkowe źródła RFT, powstające w procesach oksydoredukcyjnych łańcucha oddechowego jak i w wyniku reakcji obronnych komórek układu immunologicznego na czynniki zewnętrzne (bakterie, grzyby, niektóre wirusy).

W toku ewolucji organizmu aerobowe wykształciły szereg mechanizmów przyswajania tlenu molekularnego w reakcjach redukcji, uzyskując energię potrzebną do funkcjonowania komórek. Reakcje te zachodzą w mitochondriach przy udziale enzymów łańcucha oddechowego. Proces redukcji enzymatycznej łańcucha oddechowego jest bardzo wydajny - około 95% cząsteczek tlenu ulega redukcji bez strat elektronowych, reszta, czyli około 5%, ulega tylko częściowej redukcji, gdyż przepływające elektrony przez szereg kolejnych enzymów łańcuch oddechowego (jednocześnie zmniejszając swój potencjał redox) „uciekają”. „Wyciekające” elektrony wchodzi w reakcję z tlenem i poprzez niecałkowitą jego redukcję tworzą reaktywne formy tlenowe (pojedynczy niesparowany na ostatnim orbitalu elektron). Najbardziej reaktywne formy tlenu to: anionorodnik ponadtlenowy (O_2^-), rodnik hydroksylowy (OH), tlen singletowy 1O_2 i rodnik hydroksynadtlenowy (HO_2), chloraminy tauryny. Oprócz łańcucha oddechowego źródłem RFT są procesy metaboliczne przebiegające poza mitochondriami: np. peroksosomy, retikulum endoplazmatyczne, błony jądrowe.

RFT wykorzystywane są przez organizmy w procesach obrony nieswoistej - niszczenia mikroorganizmów w fagolizosomach lub przestrzeni zewnątrzkomórkowych. W przypadku, gdy zawiodą mechanizmu obrony antyoksydacyjnej może dojść do niszczenia własnych komórek przez RFT. W warunkach stresu tlenowego wolne rodniki tlenowe mogą uszkadzać struktury komórkowe poprzez modyfikacje oksydacyjne systemów metabolicznych oraz podstawowych składników organizmu: białek, lipidów, cukrów, kwasów nukleinowych.

Atak RFT na błony komórkowe dotyczy przede wszystkim nienasyconych kwasów tłuszczowych. W procesach ich utleniania powstają nadtlutki lipidowe rozpadające się do silnie reaktywnych aldehydów. Peroksydacja lipidów błonowych przebiega łańcuchowo i autokatalitycznie rozprzestrzeniając się na duże obszary błony komórkowej, jednocześnie pochodne lipidowe wchodzi w reakcje z białkami błonowymi (m.in. białka receptorowe, białka antygenowe, enzymatyczne) (załącznik 1). Prowadzi to w konsekwencji do zmiany

płynności, spójności, przepuszczalności błony komórkowej oraz zakłócenia w przekazywaniu sygnałów do wnętrza komórki. Wszystkie te procesy przebiegają w obecności kofaktorów reakcji, jakimi są jony metali przejściowych (miedzi, żelaza, molibdenu).

Wpływ RFT na białka to utlenianie grup tiolowych (SH) do rodników tiolowych, rodniki te z kolei utleniają się do disulfidów (powstają wewnątrzcząsteczkowe mostki disulfonidowe). Reakcje te powodują nieodwracalne zmiany struktur błonowych, co jest groźne dla życia komórki. Ponadto zmienione antygenowo białka mogą indukować procesy autoimmunologiczne na skutek rozpoznania własnych zmodyfikowanych antygenów jako obcych.

Kwasy nukleinowe są wrażliwe na działanie rodnika wodorotlenowego i tlenu singletowego, w wyniku czego dochodzi do uszkodzenia zasad nukleinowych, reszt cukrowych lub powstawania pęknięć nici kwasów nukleinowych. DNA uszkodzony przez RFT jest silnie immunogeny. Nie jest wykluczone także, że uszkodzenie cząsteczki DNA może doprowadzić do karcynogenezy.

Peroksydowane i chlorowane cząstki stanowią silny czynnik chemotaktyczny dla komórek procesu zapalenia, szczególną rolę w tym procesie odgrywa chloraminy tauryny – związki posiadające długi okres półtrwania, mogące „przechodzić w odległe miejsca procesu zapalenia”, posiadające właściwości utleniające antygeny co powoduje zwiększenie antygenowości a co za tym idzie łatwiejszą prezentację patogenów (Marcinkiewicz i wsp).

Coraz większa rolę przypisuje się RFT jako związki będące przekaźnikiem drugiego rodzaju. Udowodniono, iż wzrost RFT powoduje aktywację jądrowego czynnika transkrypcyjnego NF- κ B (czynnik odpowiedzialny za replikację i uczynienie wirusa HIV, produkcję cytokin prozapalnych), także AP-1 (czynnik regulujący wzrost komórki – heterodimer składający się z białek Fos i Jun będącymi produktami proto-oncogenów c-fos i c-jun).

Organizmy aerobowe wykształciły szereg mechanizmów chroniących własne komórki przed niekorzystnym działaniem ze strony RFT. Większość z nich dotyczy mechanizmów wewnątrzkomórkowych, chroniących DNA, natomiast płyny pozakomórkowe charakteryzują się niższą aktywnością antyoksydacyjną. Związki odpowiedzialne za właściwości antyoksydacyjne płynów pozakomórkowych i osocza to głównie albuminy, lipidy, niskocząsteczkowe antyoksydanty i enzymy antyoksydacyjne. Niskocząsteczkowe antyoksydanty można podzielić na: rozpuszczalne w tłuszczach (lipofilne) i rozpuszczalne w wodzie (lipofobowe). Do antyoksydantów rozpuszczalnych w wodzie można zaliczyć witaminę C, glutation, kwas moczowy, glukozę. Do przeciwutleniaczy rozpuszczalnych

w lipidach należy m.in.: ubichinon, (koenzym Q), witamina E, α i β karoteny. Zewnątrzkomórkowe antyoksydanty są szczególnie ważne w redukcji negatywnych skutków RFT powstających w wyniku reakcji immunologicznych.

Obecność w przestrzeni zewnątrzkomórkowych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (WKT) we frakcjach lipoprotein osocza jak i tych w błonach komórkowych stanowią naturalną obronę antyoksydacyjną (załącznik 2). WKT stanowią z jednej strony źródło (substrat) do odnowy potencjalnie uszkodzonych już elementów błonowych, z drugiej strony są tarczą dla RFT obecnych w przestrzeni zewnątrzkomórkowej, co w konsekwencji nie dopuszcza do peroksydacji lipidów błonowych. Związki będące elementami błony komórkowej dzięki możliwości wbudowania do jej wnętrza poprawiają jej płynność i szczelność, co stanowi dodatkowy element chroniący komórkę przed wolnymi rodnikami. Ponadto są wbudowywane w podwójną błonę lipidową mitochondriów, a więc są w bezpośredniej bliskości źródła powstawania RFT. Związki skwalenu stanowią naturalny substrat do tworzenia w reakcjach enzymatycznych witaminy D. Prowitamina D3 (7-dehydrocholesterol), witamina D3 (cholekalcyferol) a także cholesterol hamują peroksydację lipidów (Noda and all, 1993). Inny mechanizm ochronny przed RFT polega na wzroście produkcji enzymów antyoksydacyjnych w komórkach pod wpływem olejów z ryb (Imm. Today, 1998)

Oprócz działania ochronnego i naprawczego, związki lipidowe pełnią funkcje regulacyjne w układzie immunologicznym. Alkiloglicerole mogą kontrolować proliferację komórek (nowotwory). Działanie to jest uwarunkowane zahamowaniem aktywności kinazy białkowej C. Badania przeprowadzone na linii komórkowej MDCK (Madin Darby canine kidney cells) wykazały zahamowanie produkcji pochodnych kwasu arachidonowego przez alkiloglicerole. Dowiedziono również, iż alkiloglycerole hamują produkcję RFT przez neutrofile poddane uprzedniej ekspozycji na PAF (Platelet Activating Factor).

Kwasy tłuszczowe szeregu omega-3 wykazują pośrednie działanie antyoksydacyjne, wynikające z faktu hamowania wydzielania mediatorów procesu zapalenia np. IL-1, IL-6, TNF- α , IL-2 także interferonu γ , hamowanie ekspresji ekspresję cząsteczek układu zgodności tkankowej (MHC klasy II), cząsteczek adhezyjnych na monocytach ICAM-1 i LFA-1. Cytokiny prozapalne są odpowiedzialne za stres oksydacyjny w miejscu toczącego się procesu zapalenia, a więc hamowanie odpowiedzi immunologicznej już w początkowym okresie procesu zapalnego zmniejsza prawdopodobieństwo rozwoju stresu oksydacyjnego i niekontrolowanego niszczenia komórek.

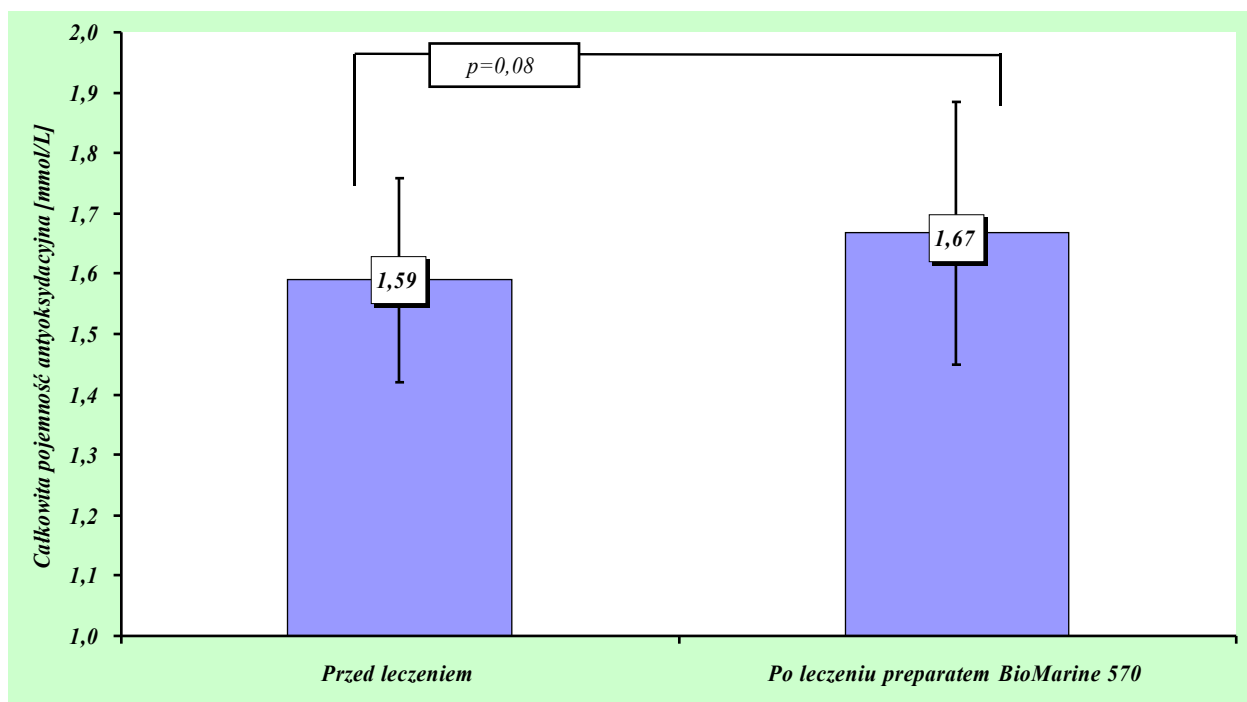
Podsumowując właściwości związków tłuszczowych pochodzących z oleju z wątroby rekina należy podkreślić ich szczególną rolę w ochronie organizmu przed negatywnymi skutkami reaktywnych form tlenu, a więc przed rozwojem chorób o podłożu autoagresji i nowotworów. Dieta Eskimosów i Lapończyków bogata w wielonienasycone wolne kwasy tłuszczowe jest najlepszym potwierdzeniem skuteczności antyoksydacyjnej (alkoksygliceroli, kwasów szeregu omega 3, skwalenu). Populacje te rzadziej zapadają na choroby charakterystyczne dla krajów wysoko uprzemysłowionych, do których można zaliczyć m.in.: miażdżycę, chorobę niedokrwienną serca, rak sutka i okrężnicy, zatory naczyniowe, astmę i choroby alergiczne. We wszystkich tych jednostkach chorobowych stres oksydacyjny odgrywa ważną i niepodważalną rolę, a wszystkie związki zarówno egzo jak i endogenne mające działanie antyoksydacyjne są czynnikami zmniejszającymi ryzyko wystąpienia tych chorób.

(załącznik 1)

Autooksydacja stanowi łańcuch reakcji wolnorodnikowych złożonych z INICJACJI, PROPAGACJI (namnażania), TERMINACJI (zakończenia). W pierwszym etapie zainicjowania kaskady przemian musi powstać rodnik lipidowy R° . Może on powstać w procesie hemolitycznego rozszczepienia wiązania RH spowodowany energią cieplną lub fotochemiczną, lub jak to ma miejsce w organizmach żywym poprzez oderwanie atomu wodoru z wiązania R-H przez rodnik inicjatorowy. Łatwe oderwanie H następuje przy wiązaniach podwójnych jest podyktowane stabilnością powstałego rodnika. Kolejny etap namnażania występuje w przypadku reakcji cząsteczki tlenu rodnikiem lipidowym R° zawierającego sprzężone dieny. Powstały w ten sposób rodnik peroksydowy ROO° odrywa atom wodoru od następnej cząsteczki kwasu tłuszczowego generując wodoronadtlenek lipidowy $ROOH$ i następny rodnik lipidowy R° . Mnożenie rodników jest procesem znacznie bardziej złożonym. Mogą w nim zachodzić reakcje sprzęgania rodników a tlenem cząsteczkowym, przeniesienie atomów lub grup atomów, fragmentacja, przegrupowanie, cyklizacja. Zarówno wodorotlenki jak i produkty ich rozpadu mogą reagować z innymi cząsteczkami (np. aminokwasów, białek, DNA). W reakcjach tych mogą powstać dodatkowe wiązania krzyżowe pomiędzy białkami i lipidami albo nastąpić całkowity rozpad białka (reakcja grupy aminowej białek z grupą karbonylową lipidową).

(załącznik 2) Wniosek ten teoretycznie może być sprzeczny z przyjętymi tezami odnośnie peroksydacji lipidów jako szkodliwe i niekorzystne w komórkach organizmu, ale zważywszy, iż są to związki jeszcze niezwiązane z błoną a działają w przestrzeni zewnątrzkomórkowej

i są dostarczone w nadmiarze nie wydaje się, aby były źródłem dalszych reakcji wolnorodnikowych a raczej zabezpieczającymi przed nimi (reakcji kompetycji – konkurencji w stosunku do błonowych lipidów) lipidy błony komórkowej i ewentualnie uzupełniającymi lipidy błonowe zniszczone w wyniku peroksydacji. Peroksydowane kwasy tłuszczowe posiadają zmienione właściwości fizykochemiczne i nie mogą być wbudowywane w błonę, a w przypadku jeżeli peroksydacja nastąpi w lipidach błonowych, organizm posiada systemy naprawcze powodujące wycięcie zmienionych lipidów i w te miejsce uzupełnia nowymi, albo próbuje naprawić części peroksydowane na drodze enzymatycznej niezależnie od właściwości antyoksydacyjnych organizmu.



Ryc. Ocena całkowitej pojemności antyoksydacyjnej osocza u pacjentów z aftami nawrotowymi leczonymi preparatem BioMarine 570. Met kolorymetryczna oceniająca supresję przez antyoksydanty intensywności koloru wywołanego kationem $ABTS^{\cdot+}$ (α -550nm, n=10).

Opracował:

Dr n. med. PRZEMYSŁAW LEWKOWICZ

Konsultował:

Prof. zw. dr hab. n. med. HENRYK TCHÓRZEWSKI