

OKSIDATIVNI STRES

KLINIČKO-DIJAGNOSTIČKI ZNAČAJ

Urednik

Mirjana M. Đukić

Institut za toksikologiju *akademik Danilo Soldatović*
Farmaceutski fakultet, Univerzitet u Beogradu

MONO I MANJANA

Beograd, 2008.

SADRŽAJ

PREDGOVOR.....	IX
AUTORI	XI
SKRAĆENICE.....	XV

Mirjana M. Đukić

LIPIDNA PEROKSIDACIJA INDUKOVANA SLOBODNIM RADIKALIMA	3
Inicijalna faza.....	5
Propagaciona faza.....	6
Faza terminacije.....	6
TBARS metoda	7
Uloga prelaznih metala u fazi inicijacije i propagacije lipidne propagacije ..	7
Fotooksidacija.....	8
Enzimska peroksidacija	9
Primarni produkti oksidacije masnih kiselina	11
Produkti oksidacije monoenskih masnih kiselina (oleinske kiseline)	11
Produkti oksidacije dienskih masnih kiselina (linolne kiseline)	12
Produkti oksidacije trienskih masnih kiselina (linoleinske kiseline)	13
Produkti oksidacije polinezasićenih masnih kiselina	14
Istorijat lipidne peroksidacije	16
Umesto zaključka	17

Mirjana M. Đukić

OKSIDATIVNA MODIFIKACIJA PROTEINA I DNK	21
Modifikacija proteina uzrokovana slobodnim radikalima	21
Produkcija metalotioneina	24
Metal-katalizovana oksidacija aminokiselina.....	24
Efekat ksenobiotika na aktivnost enzima.....	25
Membranski skeletni proteini.....	25
Oksidacija aminokiselina koje sadrže sumpor	26
HOCl-indukovana oksidacija proteina	26
Produkti oksidativne modifikacije proteina od značaja za kliničko-laboratorijsku dijagnostiku i metode njihovog određivanja	27
Konjugacija aminokiselinskih ostataka terminalnim raspadnim produktima lipidne peroksidacije	28
Nitrozativna modifikacija proteina.....	28

Proteinski karbonili	29
Prednosti i nedostaci korišćenja modifikovanih proteina kao markera oksidativnog stresa	30
Modifikacija DNK uzrokovana slobodnim radikalima.....	31
Oksidativna modifikacija DNK	33
Nitrozativna modifikacija DNK	33
Umesto zaključka	34

Vidosava B Đorđević, Vladan Ćosić, Predrag Vlahović

MOLEKULSKI MEHANIZMI APOPTOZE.....	39
TNF i Fas receptor	41
bcl-2 geni i p53	43
Mitogen aktivisane protein kinaze	43
Fosfataze	44
Signalni putevi koji dovode do apoptoze.....	45
Povećana ekspresija transkripcionih faktora	46
Kaspaze.....	47
Kvantitativne metode za ispitivanje apoptoze.....	48

Ivana D. Stevanović, Rosa R. Mihajlović

MESTO I ULOGA SLOBODNIH RADIKALA U SIGNALNOJ TRANSDUKCIJI	55
Signalana transdukcija	58
Reaktivne vrste – medijatori ćelijske signalizacije	60
Redoks osetljivi ciljni molekuli u signalnoj kaskadi	62
Patofiziološki mehanizmi redoks regulacije.....	65
Naša istraživanja.....	65

Milica B. Ninković, Živorad M. Maličević

PATOFIZIOLOŠKI ASPEKTI OKSIDATIVNOG STRESA.....	73
Fiziološka funkcija reaktivnih kiseoničnih vrsta	74
Oksidativni stres i maligna oboljenja.....	75
Oksidativni stres i kardiovaskularne bolesti	76
Oksidativni stres i ateroskleroza	76
Oksidativni stres i hipertenzija	78
Oksidativni stres i šećerna bolest.....	78
Oksidativni stres i inflamatorne bolesti	80

Oksidativni stres i sepsa	80
ROS i autoimuna oboljenja	83
ROS i virusne infekcije.....	83
Oksidativni stres i ishemija i reperfuzija.....	84
ROS i bolesti CNS	85
ROS i prekomerna fizička aktivnost	86
Zaključak	86

Marina D. Jovanović, Aco Jovičić

OKSIDATIVNI STRES U CENTRALNOM NERVNOM SISTEMU	93
Parkinsonova bolest.....	98
Alchajmerova bolesti	99
Multipla skleroza	100

Siniša U. Pavlović, Biljana D. Drašković-Pavlović

KARDIOVASKULARNA OBOLJENJA I OKSIDATIVNI STRES	105
Oksidativni stres i ateroskleroza	105
Oksidativni stres i slabost srčanog mišića	111
Uloga antioksidanasa u kardiovaskularnim bolestima.....	112
Vitamin E i karotenoidi	113
Vitamin E.....	114
karotenoidi (β -karoten).....	115
Vitamin C	115
Koenzim Q-10 (ubikvinon).....	117
Lekovi u terapiji kardiovaskularnih oboljenja sa antioksidativnim dejstvom	117
Sekundarna prevencija koronarne bolesti	118
Drugi pristupi za poboljšanje endotelne funkcije.....	119
Umesto zaključka	120

Milica P. Bajčetić, Mirjana M. Đukić, Katarina Ilić, Miodrag P. Dikić

USLOVLJENOST KARDIOVASKULARNE DISFUNKCIJE MESTOM STVARANJA SLOBODNIH RADIKALA.....	127
Izvori reaktivnih hemijskih vrsta u oragnizmu.....	128
Mitohondrije	128
Citoplazmatski enzimi.....	129

Infiltracija imunih ćelija	129
Subćelijska mesta generisanja slobodnih radikala pod uticajem ksenobiotika (endoplazmatični retikulum, NADPH:citohrom P-450 reduktaza, citohrom P-450)	129
Endoplazmatični retikulum	129
NADPH:citohrom P-450 reduktaza	129
Citohrom P-450	130
Kardiovaskularne disfunkcije u zavisnosti od mesta stvaranja slobodnih radikala	130
Ćelijska smrt u kardiovaskularnoj patologiji	132
Promenjena endogena antioksidantna odbrana u kardiovaskularnoj patologiji	135
Promenjeni lipidni metabolizam i lipidna peroksidacija u kardiovaskularnim oboljenjima	136
Promenjena signalna transdukcija u kardiovaskularnim oboljenjima	137
Jon kalcijuma, kao sekundarni glasnik	137
Zaključak	137

Dragana Jovanović, Ljudmila Nagorni, Spasoje Popević, Marta Velinović, Vesna Škodrić

OKSIDATIVNI STRES I BOLESTI PLUĆA	147
Glavni proizvođači slobodnih radikala u plućima	147
Oksidansi u duvanskom dimu	148
Patofiziološke posledice oksidativnog stresa kod pušača	149
Oksidansi kao produkti ćelija	149
Antioksidansi u plućima	151
Poremećaj ravnoteže oksidanasa-antioksidanasa	152
Merenje oksidativnog stresa.	154
Hronična opstruktivna bolest pluća - HOBP	155
Oksidativni stres i neravnoteža proteaza i antiproteaza	155
Oksidativni stres i oštećenje epitela	156
Oksidativni stres i sekvencijalna neutrofilna migracija u pluća	156
Oksidativni stres i remodeliranje hromatina	158
Ćelularni i molekularni mehanizam alveolarne destrukcije u emfizemu pluća.	159
Oksidansi i hipersekrecija sluzi	159
Idiopatska plućna fibroza - IPF	160
Poremećaj ravnoteže oksidanasa-antioksidanasa kod IPF	161
ROS kao modulatori balansa proteaza/antiproteaza	162
ROS i transformišući faktor rasta	163
Egzogeni antioksidansi i antioksidantna mimetika kod plućne fibroze ...	164
Karcinom pluća	164
Zaključak	166

Tatjana Todorović, Ivan Dožić

ULOGA SLOBODNIH RADIKALA U PATOGENEZI ORALNIH OBOLJENJA	177
Uloga slobodnih radikala u patogenezi inflamatornih oboljenja oralne sredine	177
Uloga slobodnih radikala u patogenezi oralnog karcinoma	182
Zaključak	186

Snežana Savić, Mirjana M. Đukić

OKSIDATIVNA OŠTEĆENJA KOŽE	191
Fotooštećenje	191
Reaktivne kiseonične vrste (ROS)	192
Fotokarcinogeneza	192
Fotostarenje	193
Umesto zaključka	197

Mirka Ilić, Nada Majkić-Singh

METODE PRAĆENJA OKSIDATIVNOG STRESA, LIPIDNE PEROKSIDACIJE I OKSIDATIVNE OTPORNOSTI LIPOPROTEINA	201
Antioksidans	203
Mehanizam delovanja	203
Klinički značaj parametara oksidativnog stresa	204
Merenje antioksidativnog statusa	205
Metode neprekidnog praćenja lipidne peroksidacije <i>in vitro</i>	206
Metode procene oksidativnog statusa <i>in vivo</i> i <i>ex vivo</i>	206
Zaključak	209

Jelena Kotur-Stevuljević, Slavica Spasić

KLINIČKO-DIJAGNOSTIČKI ZNAČAJ ODREĐIVANJA STATUSA ENZIMA PARAOKSONAZE 1 (PON1) U TOKSIKOLOGIJI I KORONARNOJ BOLESTI	211
Polimorfizam PON1	213
Uloga PON1 u sistemu antioksidativne zaštite	215
Status paraoksonaze-1	216
PON1Q192R fenotip i koronarna arterijska bolest	217
Veza između parametara oksidativnog stresa i PON1 statusa	219
Zaključci naših istraživanja	221

TEST - PITANJA I	
ODGOVORI.....	225

Predgovor

Oksidativni stres, kompleksan patofiziološki mehanizam, koji se odnosi na narušen homeostatski oksidativno-reduktivni status ćelije sa dalekosežnim posledicama, do sada nije u dovoljnoj meri privlačio pažnju šire medicinske javnosti kod nas. Od pedesetih godina XX veka pa do današnjih dana u svetu se ovoj tematici pridaje veliki značaj, što potvrđuje veliki broj naučnih istraživanja, objavljenih radova i knjiga posvećenih ovoj temi. Naročito se pridaje važnost posredovanju oksidativnog stresa u brojnim bolestima i trovanjima, tj. njegovom kliničko-dijagnostičkom značaju. Ako se o ovoj problematici kod nas i pisalo, to je više bilo uzgred, u vidu pregleda koji su je samo delimično ili krajnje uopšteno objašnjavali. Imajući u vidu kompleksnost ovog patofiziološkog mehanizma, njegov značaj i ulogu u brojnim patologijama, istraživanja koja se tiču ove problematike ne smeju ostati po strani.

Posebni osvrt dat je na značaj i ulogu slobodnih radikala, odnosno sveobuhvatnije reaktivne hemijske vrste koje imaju karakter slobodnih radikala. Ova reaktivna jedinjenja su pokretači i medijatori oksidativnog oštećenja biomolekula. U pojedinim bolestima njihovo učešće je veoma potencirano. Oksidativno oštećenje lipida, poznato kao lipidna peroksidacija, kao i oštećenje proteina i DNK, dokazano je u brojnim bolestima i trovanjima. Rezultati istraživanja dr Djukić i saradnika doprinose su i potvrda važnosti usredsređivanja na ovu problematiku i ukazuju na ulogu reaktivnih kiseoničnih i azotovih vrsta u patofiziološkim procesima u organizmu.

Ova monografija jedan je od prvih celovitih i obuhvatnih akademskih radova svoje vrste kod nas. Njen značaj posebno je u tome što se u temeljima ovih radova nalazi dugogodišnje laboratorijsko istraživanje koje je obavljano u specijalizovanim institutima. Taj rad u univerzitetskim laboratorijama u Srbiji (Beograd i Niš) i SAD (Pittsburgh), i laboratoriji Vojnomedicinske akademije (Beograd), daje ovoj monografiji posebnu težinu. Pored rezultata bazičnih, samostalnih istraživanja, ova monografija objedinjuje i druge konkretne istraživačke rezultate stranih autora do kojih se došlo i kojima danas raspolaže medicinska nauka u svetu.

Narušen oksido-reduktivni milje ćelije (povećanje lipidne peroksidacije, promena aktivnosti direktnih ili indirektnih antioksidativnih enzima, kao i smanjen sadržaj endogenih antioksidanasa u tkivima) udružen sa posledično izmenjenom ćelijskom signalizacijom (remećenje kaskadnog prenosa informacija posredstvom brojnih medijatora i enzima u ćeliji) i imunološkim odgovorom (inflamacija) u presimptomatskim fazama bolesti, može u tom smislu da bude dobra smernica i dijagnostički pokazatelj izmenjenih metaboličkih i funkcionalnih zbivanja. Rezultati do kojih su autori u istraživačkom radu došli i naučna literatura pokazuju da je oksidativni stres jedan od opštih i ključnih patofizioloških mehanizama koji dovode do različitih patoloških stanja, uključujući i trovanja. Tako je na polju postojećih kliničko-dijagnostičkih metoda potrebno da analize parametara oksidativnog stresa u biološkom materijalu

(promena aktivnosti antioksidativnih enzima, sadržaj endogenih antioksidanasa u tkivima, sveukupni antioksidativni status, medijatori upale, oksidaicioni produkti lipida, DNK i proteina) nađu svoje mesto u rutinskim laboratorijskim pretragama, radi prevencije i unapređivanja terapija bolesti. Međutim, merenje oksidativnog stresa se kod nas, kao »rutinska analiza« još uvek ne izvodi u kliničkim laboratorijama, u prvom redu zbog raskoraka u eksperimentalnim i kliničkim istraživanjima. Ova monografija je dakle i prilog tome da se ovakvo stanje promeni.

U monografiji su date osnovne informacije o samom fenomenu oksidativnog stresa, njegovim pokretačima i posledicama. Zato ona ne spada u onaj tip knjiga koje su namenjene samo užem krugu stručnjaka, nego uspostavlja dijalog sa čitalačkom publikom zainteresovanom da spozna suštinu procesa koji leže u osnovi brojnih fizioloških i patoloških stanja - bolesti koje je oksidativni stres u stanju da izazove. Ali osim naučnog, ova monografija ima i edukativni karakter. Ona je tako zamišljena i pisana da jednako može poslužiti studentima fakulteta zdravstvene struke da steknu nova saznanja iz jedne važne oblasti koja do sada nije bila obuhvaćena studijskim programom na ovim fakultetima.

Rukopis je mozaičnog karaktera i u njemu više eminentnih srpskih naučnika, različitog stručnog profila, iz ugla svojih specijalističkih oblasti pišu o posledicama razarajućeg dejstva oksidativnog stresa na biomolekule ljudskog organizma i bolesti do kojih to dovodi. Rukopis čine četiri celine. Prva je posvećena oštećenjima biomolekula od strane slobodnih radikala i mehanizmima ovih reakcija; druga patofiziološkom aspektu oksidativnog stresa u pojedinim patologijama (neurodegenerativne, kardiovaskularne i respiratorne bolesti, oštećenja kože i oralna oboljenja); treća celina posvećena je dijagnostici i metodama merenja oksidativnog stresa; četvrta se odnosi na test pitanja iz opisanih oblasti sa odgovorima.

Ovakva struktura knjige omogućuje preglednost i olakšava pristup čitaocu, pomaže mu da pronikne u kompleksnost ove do sada kod nas nedovoljno proučene materije u oblasti patofizioloških mehanizama bolesti i trovanja. Monografija ima edukativni karakter i metodički je prilagođena studentima fakulteta zdravstvene struke kao i kolegama iz zdravstvene struke.

Urednik i koautor

Mirjana M. Đukić

AUTORI

Bajčetić P. Milica

Institut za farmakologiju, kliničku farmakologiju i toksikologiju, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija

Ćosić Vladan

Centar za medicinsku biohemiju, Klinički centar Niš, Niš, Srbija

Dikić P. Miodrag

Institut za kardiovaskularne bolesti, Klinički centar Srbije, Beograd, Srbija

Dožić Ivan

Stomatološki fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija

Dražković-Pavlović D. Biljana

Institut za medicinska istraživanja, Vojnomedicinska akademija, Beograd, Srbija

Đorđević B. Vidosava

Katedra za biohemiju, Medicinski fakultet, Univerzitet u Nišu, Niš, Srbija

Đukić M. Mirjana

Institut za toksikologiju *akademik Danilo Soldatović*, Farmaceutski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija

Ilić Katarina

Institut za farmakologiju, Farmaceutski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija

Ilić Mirka

Institut za medicinsku biohemiju, Klinički centar Srbije, Beograd, Srbija

Jovanović D. Marina

Institut za medicinska istraživanja, Vojnomedicinska akademija, Beograd, Srbija

Jovanović Dragana

Institut za plućne bolesti i tuberkulozu, Klinički centar Srbije, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija

Jovičić Aco

Vojnomedicinska akademija, Beograd, Srbija

Kotur-Stevuljević Jelena

Institut za medicinsku biohemiju, Farmaceutski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija

Majkić-Singh Nada

Institut za medicinsku biohemiju, Klinički centar Srbije, Beograd, Srbija

Maličević Živorad

Medicinska akademija *US Medical School*, Beograd, Srbija

Mihajlović R. Rosa

Institut za rehabilitaciju, Beograd, Srbija

Nagorni Obradović Ljudmila

Institut za plućne bolesti i tuberkulozu, Klinički centar Srbije, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija

Ninković B. Milica

Institut za medicinska istraživanja, Vojnomedicinska akademija, Beograd, Srbija

Pavlović U. Siniša

Institut za kardiovaskularne bolesti, Klinički centar Srbije, Beograd, Srbija

Popević Spasoje

Institut za plućne bolesti i tuberkulozu, Klinički centar Srbije, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija

Savić Snežana

Institut za farmaceutsku tehnologiju i kozmetologiju, Farmaceutski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija

Spasić Slavica

Institut za medicinsku biohemiju, Farmaceutski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija

Stevanović D. Ivana.

Institut za medicinska istraživanja, Vojnomedicinska akademija, Beograd, Srbija

Škodrić Vesna

Institut za plućne bolesti i tuberkulozu, Klinički centar Srbije, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija

Todorović Tatjana

Stomatološki fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija

Velinović Marta

Institut za plućne bolesti i tuberkulozu, Klinički centar Srbije, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija

Vlahović Predrag

Institut za nefrologiju i hemodijalizu, Klinički centar Niš, Niš, Srbija

SKRAĆENICE

AA – arahidonska kiselina
AC – adenilat ciklaza
AO – antioksidativno, antioksidansi
AD – anodna struja (eng. *anodic current*)
ADS – sistem antioksidativne zaštite (eng. *antioxidative defence system*)
AIF – faktor indukcije apoptoze (eng. *apoptosis inducing factor*)
AM – alveolni makrofazi
Ang II – angiotenzin II
AOZ – antioksidativna zaštita
AP-1 – aktivirajući protein-1 (eng. *activator protein-1*)
ARDS – adultni respiratorni distres sindrom
Asch – askorbat
ATP – adenozin trifosfat
BAL – bronhoalveolarni lavat
BALF – bezćelijska tečnost bronhoalveolarnog lavata
Ca²⁺ – jon kalcijuma
CaMK – Ca²⁺-kalmodulin zavisna protein kinaza (eng. *Ca²⁺-calmodulin dependent protein kinase*)
cAMP – ciklični adenozin monofosfat
CAT – katalaza
cGMP – ciklični guanozin monofosfat
-CH₂- – metilenska grupa
CMV – *Cytomegalovirus*
CNS – centralni nervni sistem
COX – ciklooksigenaza
CRP – C reaktivni protein
-C-SH – cistein
-C-SOH – sulfenska kiselina
CST – cerebros spinalna tečnost
CV – ciklična voltmetrija
4-HDA – 4-hidroksialken
DAG – diacilglicerol
DAPI – 4',6-diamidino-2-fenilindol
DC – dendritične ćelije (eng. *dendritic cell*)
DED – efektorski domen smrti (eng. *death effector domain*)
DHA – dehidroaskorbat
DHK – dokozaenoinska kiselina
DiHpETE – dihidroperoksidna jedinjenja ETE
DISC – signalni kompleks smrti (eng. *death inducing signaling complex*)
DNK – dezoksiribonukleinska kiselina
DQ – dikvat
ds PP-aza – dvostruko specifične fosfataze
DZOazna aktivnost – aktivnost PON1 enzima prema diazoksonu
EAK – ekscitatorne amino kiseline
ECGPx – ekstracelularna glutation peroksidaza

ECM – ekstracelularni matriks
ECSOD – ekstracelularna superoksidna dizmutaza
ELAM-1 – endotelno leukocitni adhezivni molekul
ELF – tečnost epitelnog pokrova (eng. *epithelial lining fluid*)
eNOS – endotelna azot oksid sintaza
EPO – eozinofilna peroksidaza
ERK – ekstracelularnim signalima-regulisane kinaze (eng. *extracellular signal-regulated protein kinase*)
ETE – eikozatetraenoinska kiselina
F₂-iP – F₂-izoprostran
FACS – floucitometrija
FADD – Fas pridruženi domen smrti (eng. *Fas-associated death domain*)
FasL – Fas ligand
Fe – gvožđe
FGF – fibroblastni faktor rasta (eng. *fibroblast growth factor*)
GC – guanil ciklaza
GCL – glutamat cistein ligaza
GM-CSF – granulocitno makrofagni faktor stimulacije rasta kolonija (eng. *granulocyte-macrophage colony stimulating factor*)
GPx (GSH-Px)- glutation peroksidaza
GR – glutation reduktaza
GS – GSH sintaza
GSH – glutation (redukovana forma)
GSH/GSSH – odnos redukovanog i oksidativnog glutationa
GSSG – oksidisani glutation
GST – glutation-S-transferaza
GSTp – glutation S-transferaza Pi
GTAaza – guanozin trifosfataza
GTP – guanozin trifosfat
H₂O₂ – vodonik peroksid
HAT – histon acetil transferaza
HOCl- hipohlorna kiselina
HCN – cijanovodonična kiselina
HDAC – histon deacetilaza
HDL – lipoprotein velike gustine (engl. *high density lipoprotein*)
HETE – hidroksi ETE
HIF-1 – hipoksijom indukovani faktor 1 (eng. *hypoxia inducible factor 1*)
HK – hinolinska kiselina
HO• – hidroksil radikal
HO-1 – hem-oksigenaza 1
HOBP – hronična opstruktivna bolest pluća
HOSCN – hipotiocijanatna kiselina
HpETE – hidroperoksidi ETE
HSV – *Herpes simplex virus*
HUVEC – humane umbilikalne endotelne ćelije
HX-Fe²⁺-O₂ – hemoproteini
I-κB – inhibitorni faktor
ICAM-1 – intercelularni adhezivni molekul-1 (eng. *intracellular adhesive molecule 1*)

IFN – interferon
 IL-1 β – interleukin 1 β
 IL-6 – interleukin 6
 iNOS, NOS2 – inducibilna azot oksid sintaza
 IP₃ – inozitol (1,4,5)–trifosfat
 IPF – idiopatska plućna fibroza
 IRE – gvožđe odgovorni elementi (eng. *iron responded elements*)
 iRNK – informaciona ribonukleinska kiselina
 IRP-1 – gvožđe regulatorni protein–1 (eng. *iron regulated protein-1*)
 ISEL – obeležavanje *in situ*
 JNK – *c-jun* NH₂-terminalna kinaza
 KG – zdrave sredovečne osobe bez dijagnostikovanog koronarnog oboljenja
 KS – krvni sudovi
 KVB – kardiovaskularni bolesnici
 L – leucin
 L[•] – lipidni radikal
 LAT – eng. *linker of activation of T cell*
 LDL – lipoproteini male gustine (eng. *low density lipoproteins*)
 LO[•] – alkoksil radikal
 LOO[•] – lipid-peroksil radikal
 LOOH – lipidni hidroperoksidi
 LP (LPO) – lipidna peroksidacija (eng. *lipid peroxidation*)
 LP PLA₂ – lipoprotein-vezujuća fosfolipaza A₂ (eng. *lipoprotein-associated phospholipase A₂*)
 LPS – lipopolisaharid
 M – metionin
 MAO-B – monoaminooksidaza-B
 MAPK – mitogen aktivirajuća protein kinaza
 MAPK JNK – eng. *mitogen activated protein c-Jun NH₂-terminal kinase*
 MAPKK – MAP kinaze-kinaza
 MAPKKK – MAP kinazne-kinaze-kinaza
 Mb-Fe³⁺-O₂^{•-} – metmioglobin
 MCP-1 – hemokin koji privlači monocite (eng. *monocyte chemotactic protein 1*)
 M-CSF – makrofagni faktor stimulacije rasta kolonija (eng. *macrophage colony stimulating factor*)
 MDA – malon daldehid
 MEK – (familija kinaza koje ushodno regulišu eksraceluelarnim signalima-regulisane kinaze
 MHC II – molekul II klase glavnog histokompatibilnog kompleksa (eng. *class II major histocompatibility complex molecule*)
 MK – masne kiseline
 MMP – matriksne metaloproteinaze
 MMP-7 – matrilizin (matriks metaloproteinaza 7)
 MnSOD – mangan-superoksidna dizmutaza (mitohondrijalna SOD)
 MPO – mijeloperoksidaza
 MPT – tranzitna pora mitohondrijalne membrane (eng. *mitochondrial permeability transition*)
 MPTP – 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin
 MS – multipla skleroza
 MT – metalotioneini
 NAC – N-acetilcistein
 NADPH – nikotinamid-adenin-dinukleotidfosfat
 NF κ B – nuklearni faktor kapa B (eng. *nuclear transcription factor kappa B*)
 NGF – nervni faktor rasta (eng. *nerve growth factor*)
 NGF- β – nervni faktor rasta- β
 NK ćelija- ćelija "prirodni ubica" (eng. *natural killer*)
 NMDA – N-metil-D-aspartat
 NO – azot oksid (azot monoksid)
 NO₂ – azot-dioksid
 NO₂⁻ – nitriti
 NO₃⁻ – nitrati
 NOS – azot oksid sintaza (eng. *nitrogen oxide synthase*)
 NS – (azotni) nitrozativni stres (eng. *nitrosative stress*)
 O₂ – molekularni kiseonik
¹O₂ – singlet kiseonik
 O₂^{•-} – superoksidni anjon radikal
 OGG – 8-oksoguanin DNK N-glukozilaze
 8-OhdG – 8-hidroksideoksiguanozin
 8-OhG – 8-hidroksiguanin
 HO[•] – hidroksil radikal
 ONOO⁻ – peroksinitritni anjon (peroksinitrit)
 ORAC – kapacitet apsorpcije radikala kiseonika (eng. *Oxygen Radical Absorbance Capacity assay*)
 OS – oksidativni stres
 OSCN⁻ – hipotiocijanati
 oxLDL – oksidovani lipoprotein niske gustine (eng. *oxidised low density lipoprotein*)
 5-LO – 5-lipoksigenaza
 PAF – faktor aktivacije trombocita (eng. *platelet activating factor*)
 PARP – poli-ADP-riboza polimeraza
 PB – Parkinsonova bolest
 PCD – programirana ćelijska smrt (eng. *programmed cell death*)
 PDGF – faktor rasta poreklom iz trombocita (eng. *platelet derived growth factor*)
 PG – prostaglandini
 PI – propidijum jodid
 PIK3 – fosfatidilinozitol 3-kinaza
 PIP2 – fosfatidilinozitol 3,4-difosfat
 PIP3 – fosfatidilinozitol 3,4,5-trifosfat
 PKB – protein kinaza B
 PKC – protein kinaza C
 PLA₂ – fosfolipaza A₂ (eng. *phospholipase A₂*)
 PLC – fosfolipaza C (eng. *phospholipase C*)
 PMN – polimorfonuklearni leukociti

PNMK – polinezasićene masne kiseline
 POazna aktivnost – aktivnost PON1 enzima
 prema paraoksonu
 PON1 – paraoksonaza 1
 PP-aza – serin-treonin fosfataza
 PQ – parakvat
 PSSP – proteinski disulfidi
 PTP-aza – tirozin fosfataza
 PUFA – polinezasićene masne kiseline
 (eng. *polysaturated fatty acid*)
 Q – glutamin
 R – arginin
 R* – lipidni radikali
 R** – sekundarni lipidni radikal
 R'H – lipidi
 RCS – reaktivne vrste ugljenika (eng.
reactive carbon species)
 RH – lipidi
 RIP – receptor interreagujući protein
 RNS – reaktivne azotne vrste (eng. *reactive
 nitrogen species*)
 RO* – alkoksil radikal
 ROH – alkohol
 ROO* – peroksil radikal
 ROS – reaktivne kiseonične vrste (eng. *reactive
 oxygen species*)
 ROOH – lipid hidroksiperoksid
 RS – reaktivne vrste (eng. *reactive species*)
 RSS – reaktivne vrste sumpora (eng.
reactive sulfur species)
 SAPK – stresom aktivirana protein kinaza
 SCN⁻ – jon tiocijanata
 -SH – sulfhidrilne grupe
 SNO – S-nitrozotoli
 SOD – superoksidna dizmutaza
 SPF – zaštitni faktor od sunca (eng. *sun
 protection factor*)
 SR – slobodni radikali
 SRM – sarkolema membrane
 STAT – eng. *signal transducer and
 activator of transcription*
 TF – transkripcijski faktor
 TFR – transformišući faktor rasta
 TGF- \square – faktor rasta tumora- \square (eng. *tumor
 growth factor- \square*)
 TNF – faktor nekroze tumora (eng. *tumor
 necrosis factor*)
 TNF- α – faktor nekroze tumora- α (eng.
tumor necrosis factor- α)
 TPA – eng. *tetradecanoic phorbol acetate*
 TRADD – TNF-R- pridruženi domen smrti
 (eng. *TNF-R-associated death domain*)
 TRAF-2 – TNFR- pridruženi faktor-2
 TRAP – eng. *total radical-trapping peroxyl
 potential*
 Trk – tirozin kinaza
 TRX (Trx) – tioredoksin
 TUNEL – eng. *terminal deoxynucleotidyl
 transferase-mediated dUTP nick end-
 labelling*
 VCAM-1 – vaskularni adhezivni molekul-1
 (eng. *vascular cellular adhesive molecule 1*)

VEGF – faktor rasta vaskularnog endotela
 (eng. *vascular endothelial growth factor*)
 VLDL – lipoproteini veoma niske gustine
 (eng. *very low density lipoproteins*)
 XDH – ksantin dehidrogenaza (eng.
xanthine dehydrogenase)
 XO – ksantin oksidaza (eng. *xanthine oxidase*)

OKSIDATIVNI STRES

KLINIČKO-DIJAGNOSTIČKI ZNAČAJ

LIPIDNA PEROKSIDACIJA INDUKOVANA SLOBODNIM RADIKALIMA

Mirjana M. Đukić

Lipidna peroksidacija predstavlja oksidativno oštećenje lipida kako kod ljudi, tako i u biljnom i životinjskom svetu. Kada je u pitanju hrana, oksidativno oštećenje lipida je poznato kao „užglost“.

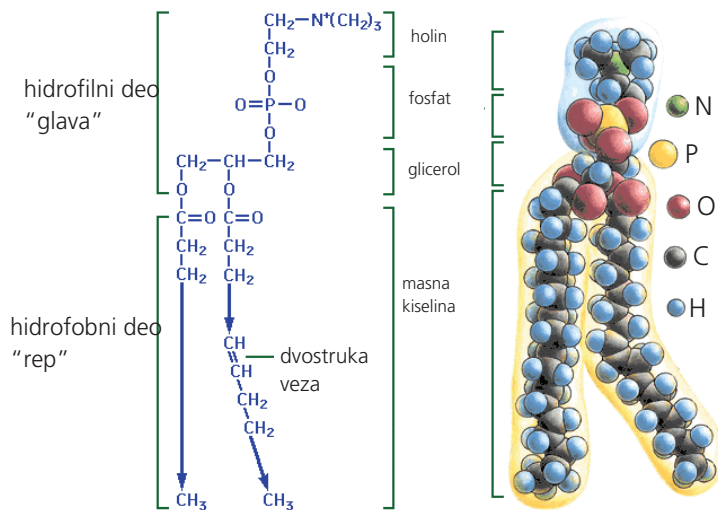
Usled visoke zastupljenosti lipida, membrane ćelija i subćelijskih organela predstavljaju mesto gde otpočinje oksidativno oštećenje lipida, tj. lipidna peroksidacija (LPO).

Lipidno oštećenje ćelijske membrane ima za posledicu smanjenje fluidnosti, povećanu propustljivost za jedno i dvovalentne jone, inaktivaciju membranskih enzima, gubitak integriteta membrane, dok ruptura lizozomskih membrana oslobađa hidrolitičke enzime, što svukupno dovodi do vitalnih ćelijskih poremećaja i na kraju do smrti ćelije.

Plazma membrana predstavlja tečnokristalizirajući mozaični model lipida i proteina, pri čemu su proteini diskontinuirano uronjeni u lipidni dvosloj (Slika 1). U proseku sadrži oko 60% proteina, 40% lipida i oko 1% ugljenih hidrata. Od lipida najzastupljeniji su fosfolipidi, holesterol i glikolipidi, a masne kiseline (PNMK) dužine bočnog lanca (14-24 C atoma) su sa dvogubim vezama u *cis* položaju Š1Ć.

Sastav membranskih lipida i promenjeni fluiditet utiču na aktivnost pojedinih membranskih enzima, dok je za održavanje permeabilnosti membrane važan odnos holesterola i fosfolipida Š2Ć.

Fosfolipidi grade dvostruki sloj u ćelijskoj membrani. Polarni krajevi fosfolipida su solvativizovani vodom i okrenuti ka intra- odnosno ekstracelularnom prostoru, a ugljovodonični ostaci MK („repovi“) grade nepolarni sloj, unutrašnji sloj ćelijske membrane (Slika 1). Masne kiseline predstavljaju metu napada slobodnih radikala (SR). Podložne su kako autooksidaciji tako i fotooksidaciji.



Slika 1. Fosfolipidi u ćelijskoj membrani

Na osnovu hemijske strukture i broja dvostrukih veza masne kiseline se dele na:

1. monoenske MK (cis i trans)
2. MK sa prstenom: MK sa ciklopropanom, ciklopropenom, ciklopentilom, ciklopentenilom, cikloheksilom, cikloheksenilom; MK sa furanom; epoksi MK; ciklični endoperoksidi MK i lipoinjska kiselina
3. Acetilenske MK (mono- i poli- acetilenske MK)

Oštećenje plazmamembrane dovodi do promene biofizičkih svojstava membrane, što se konsekvantno odražava na enzimske procese, transportne funkcije, sveukupnu ćelijsku signalizaciju i funkciju ćelije. U zavisnosti od toga na kojim subćelijskim membranama (organele, jedro) se odvija LPO, zavisice ozbiljnost ćelijskog oštećenja. Imajući u vidu da ćelija strukturno i funkcionalno nije homogena, mesto generisanja SR, fizičko-hemijske karakteristike SR, afiniteti za određenu biomolekulu, determinisaće ciljno mesto napada i posledicu ispoljenog štetnog efekta.

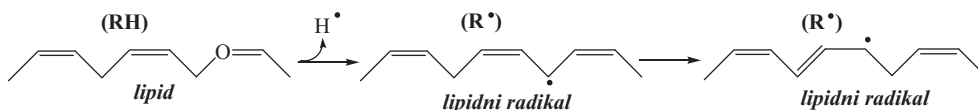
Tri različita mehanizma mogu indukovati lipidnu peroksidaciju:

1. autooksidacija
2. fotooksidacija
3. enzimska aktivnost.

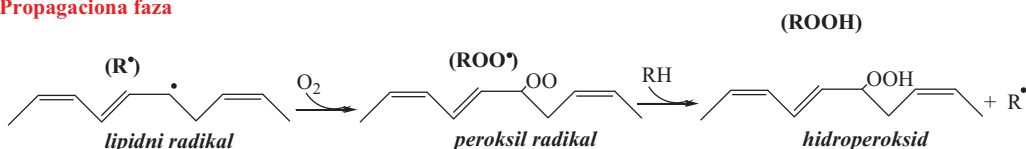
Autooksidacija i fotooksidacija su neenzimski procesi i indukuju se SR, odnosno reaktivnim vrstama (RS, eng. *reactive species*).

Nezavisno od načina indukcije, LPO se odvija kroz tri faze: inicijalnu, propagacionu i terminalnu fazu (Slika 2).

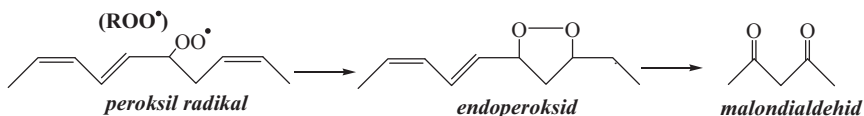
Inicijalna faza



Propagaciona faza



Terminalna faza



Slika 2. Lipidna peroksidacija

Inicijalna faza

Proces inicijacije podrazumeva pokretanje lančanih reakcija, oduzimanjem protona uz istovremeni transfer elektrona sa metilenske (-CH₂-) grupe PNMK, delovanjem HO• ili direktnim delovanjem prelaznih metala, kompleksno vezanih za hemoproteine (Fe³⁺ i Fe⁴⁺), kada se generišu lipidni radikali (R•) (Slika 2) Š3Ć.

Autooksidacijom Fe²⁺ u hemoproteinima (HX-Fe²⁺-O₂) nastaje prelazni oblik (HX-Fe³⁺-O₂^{•-}) i H₂O₂ (reakcija 1 i 2). Kod mioglobina Mb-Fe²⁺-O₂, npr. prelazni oksidacioni stupanj je metmioglobin (Mb-Fe³⁺-O₂^{•-}). Nastali HX-Fe³⁺-O₂^{•-} može pokrenuti LPO ili se u prisustvu nastalog H₂O₂ može dalje oksidisati do feril stanja (HX-Fe⁴⁺=O) koje se smatra pokretačem reakcija LPO (reakcija 3) Š4Ć.