

Antioxidanty a degenerativní onemocnění

Lubomír Opletal, Jakub Chlebek, Kateřina Macáková, Nina Benešová, Anna Hošťálková, Lucie Cahlíková

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra farmaceutické botaniky a ekologie

Volné radikály (správně reaktivní formy kyslíku a dusíku) jsou spolu s toxickými noxami vnějšího prostředí nejcitovanějším zdrojem patologických vlivů na fyziologické procesy člověka a na vývoj degenerativních onemocnění (civilizačních chorob). Řada volných radikálů se v organismu vyskytuje běžně, protože jsou součástí fyziologických procesů (fyzický pohyb, zpracování potravy, imunitní obrana organismu). Jejich patologický vliv je závislý na množství těchto radikálů a jejich typu (biologický poločas). Aplikace antioxidantů je do jisté míry problémová: nadměrný přísun může působit naopak prooxidačně, látky se nežádoucím způsobem mohou ukládat ve tkáních, případně může dojít k ovlivnění izoenzymových systémů CYP a metabolismu dalších látek. Hledání nových sloučenin nepřineslo významný pokrok, k ochraně je vhodné využít spíše látek známých a prověřených v efektivním užívatelském schématu.

Klíčová slova: reaktivní formy kyslíku a dusíku, antioxidanty, degenerativní onemocnění.

Antioxidants and Degenerative Disease

Free radicals (more correctly called reactive oxygen and nitrogen species) along with environmental toxins are the most frequently cited sources of pathological effects on physiological processes in man and on the development of degenerative diseases (diseases of civilization). Numerous free radicals commonly occur in the organism because they are part of physiological processes (physical exercise, food processing, the body's immune defence). Their pathological effect is dependent on the number of these radicals and their type (biological half-time). Administration of antioxidants is problematic to a certain degree: an excessive intake may even have a pro-oxidative effect, substances may become deposited in tissues, and/or there may be involvement of the CYP isoenzyme systems and the metabolism of other substances. The search for new compounds has failed to result in major progress; therefore, it is appropriate to use preferably those substances that are well-known and well-established for protection.

Key words: reactive oxygen and nitrogen species, antioxidants, degenerative diseases.

Prakt. lékař. 2013; 9(3): 135–138

Úvod

Reaktivní formy kyslíku (ROS, Reactive Oxygen Species) a dusíku (RNS, Reactive Nitrogen Species), často označované souhrnně jako RONS, zahrnují jak volné radikály (zejména superoxid $O_2^{\cdot-}$, hydroxyl $HO^{\cdot}$, peroxy $ROO^{\cdot}$, hydroperoxy $HO_2^{\cdot}$, alkoxy $RO^{\cdot}$, oxid dusnatý $NO^{\cdot}$), tak neutrální molekuly a/nebo anionty, které nejsou radikály, ale také disponují oxidačním efektem (neradikálový peroxynitrit $ONOO^-$, hlavně však peroxid vodíku H_2O_2 , kyselinu chlornou $HClO$, ozon O_3 a singletový kyslík 1O_2). Proto není vhodné používat zjednodušený termín „volné radikály“. Jako volný radikál je označována látka v širším slova smyslu, která má ve vnější sféře elektronového obalu umístěn jeden nepárový elektron a je po určitou dobu schopna své existence. Tyto látky vznikají homolytickým štěpením kovalentní vazby, oxidací nebo redukcí výchozí sloučeniny. Jejich vznik většinou zahájí řetězovou reakci, která se rozšíří v buňce do svého okolí a terminuje, jakmile dojde ke spojení (inaktivaci) s dalším radikálem. Mechanismus vzniku a průběhu těchto reakcí, včetně vlivu řady běžných kationtů (Fe, Cu), byl mnohokrát v české literatuře popsán (např. (1)), stejně tak jako sdělení o reaktivních toxických formách kyslíku a reakcích volných radikálů, které bylo publikováno v tomto časopise (2).

RONS jsou stále jmenovány ve smyslu jejich škodlivosti na biologické systémy, protože reagují s aminokyselinami, důležitými proteiny, mastnými kyselinami, lipidy, nukleovými kyselinami a řadou nízkomolekulárních sloučenin, které plní v metabolismu buňky signální funkce. Po jejich působení dochází v buněčných membránách ke ztrátě dvojných vazeb esenciálních nenasycených mastných kyselin, ztrátě fluidity a propustnosti membrán a tvorbě chemoreaktivních látek pro mikrořasy (resp. neutrofilní granulocyty). V případě lipidů hraje významnou roli poškození fosfolipidů v buněčné membráně (zde se uplatňuje především hydroperoxylový a hydroxylový ion). Po poškození proteinů (často ovlivnění thiolových skupin) je změněna jejich sekundární a terciární struktura, tím se změní reaktivita s některými enzymy a transport iontů (např. vstup vápníku do cytosolu). V důsledku poškození DNA nastávají zlomy řetězců s následnými mutacemi, translačními chybami a inhibicí proteosyntézy. Často dochází pod jejich vlivem k nekrotické nebo apoptické smrti buňky.

O RONS se hovoří jako o významných faktorech stárnutí a rozvoje degenerativních onemocnění. Je však nutné vzít v úvahu, že tyto látky v průběhu ontogeneze organismu běžně vznikají, nikoliv náhodou a bezúčelně (např.

v průběhu zpracování potravy, při a po fyzické námaze). Mají také pozitivní vliv – zásadně se podílejí na vzniku chemické energie a jejím přenosu, představují faktory imunitní ochrany (přispívají k likvidaci některých infekčních agens) a plní funkci signálních molekul v rámci buněčné regulace (oxid dusnatý), jsou tedy pro organismus nezbytné. Aby nebyly biologické systémy postižovány a nevznikl oxidační stres (nerovnováha mezi obsahem RONS a antioxidantů), je nutné zajistit jejich rovnováhu v organismu nezbytnou pro výkon funkcí, které zajišťují, a přitom nedopustit, aby docházelo k jejich tvorbě ve vyšší míře. Při vzniku některých degenerativních patologických stavů dochází ve zvýšené míře k oxidačnímu stresu, jehož patofyziologické důsledky nelze většinou zvrátit a RONS působí nadále toxicky. Výše uvedená rovnice vztahu volných radikálů a antioxidantů je sice zdánlivě jednoduchá, jejím řešením jsou však většinou nepravé kořeny, a proto je reálně neřešitelná. Oxidační stres je sice nerovnováhou mezi obsahem volných radikálů a antioxidantů, ale představa, že stálým podáváním antioxidantů tento proces zabrzdíme, je mylná.

Problému RONS je v biomedicínských vědách věnována velká pozornost; za posledních 10 let bylo publikováno kolem 15 tisíc přehle-

dových prací a zhruba 50 knih. Vyřešení otázky, jak optimálně snížit oxidační stres, je podobně mystickou snahou, jako hledání svatého grálu s jedním drobným faktem: svatý grál má ještě šanci být nalezen, ale odstranění oxidačního stresu v tkáni je neřešitelné, protože RONS jsou součástí životnosti tkáně. Jde jen o to nalézt způsob, jak oxidační stres udržet v potřebných mezích.

ROS a mitochondriální dysfunkce: základ degenerativních chorob

V současné době existuje názor – který je nutno pokládat na základě řady důkazů za validní – tvrdící, že iniciátorem degenerativních onemocnění je mitochondriální dysfunkce navozená ROS. Je nepochybné, že problém není tak jednoduchý, jak je zde uveden, ale zároveň není třeba už dokazovat, že vývoj těchto chorob je odrazem mitochondriální dysfunkce a metabolismu ROS. Bylo to prokázáno v případě Alzheimerovy choroby (3), diabetického poškození kardiovaskulárního systému (4), reperfučních stavů v souvislosti s ischemií (5), rozvojem metastáz (6), diabetes mellitus (7), glaukomu (8), chronických zánětlivých procesů (9), potíží s mužskou plodností (10), osteoartridy (11) a svalové atrofie (12). Z tohoto výčtu je patrné, že primární zásah musí vést ke stabilizaci mitochondriálního metabolismu. Úkol se zdá být jednoznačný, prakticky je však obtížně proveditelný, alespoň v současnosti. Je nutné použít takové antioxidanty (a některé další látky), které působí fyziologicky a dostanou se na místo svého určení. Prakticky to znamená použít přirozené ochranné systémy a nízkomolekulární antioxidanty.

Stabilizace tkání zásahem antioxidantů

Antioxidanty by měly být používány dlouhodobě v dávkách vzešlých z konsenzu zkušeností z jejich aplikace: nemůže se jednat o dávky terapeutické, ale spíše preventivní nutraceutický přístup.

Čtyři základní, přirozeně se vyskytující anti-oxidační systémy vlastní živým organismům jsou představovány glutathionem, superoxiddismutase, glutathionperoxidase a koenzymem Q₁₀. Do této skupiny bývá zařazována ještě katalasa a xanthinoxidasa, které však nejsou běžně aplikovatelné a dále látky eliminující vliv iontů přechodných prvků (Fe, Cu), které tvoří v současnosti samostatnou skupinu farmakologicky zajímavých látek.

Glutathion (GSH v redukované formě) je tripeptid složený z kyseliny glutamové, cysteinu

a glycinu. Je to jedna z nejběžněji se vyskytujících látek, která chrání organismus před oxidačním stresem a podílí se na odstraňování peroxidu vodíku. Ačkoliv je uvažováno o jeho perorální aplikaci (13), jsou zkoušeny různé další postupy; zdá se, že nejefektivnější je podávání kyseliny glutamové, cysteinu a glycinu v určitých ekvymolárních poměrech, které zajistí (alespoň do určité míry) syntézu látky v organismu *de novo*. Bylo také zjištěno, že kalcitriol zvyšuje hladinu GSH v mozku a zvyšuje jeho produkci (14).

Superoxiddismutasa (SOD) katalyzuje disproportionaci superoxidu na peroxid vodíku a kyslík; peroxid vodíku je následně rozkládán katalasou. Tento metalloprotein (s obsahem mědi, zinku a manganu) je fylogeneticky velmi starý, vyskytuje v několika izoformách a v živých organismech hraje nezastupitelnou roli. V současnosti je navrženo mimikum této látky – Tempol – jako ochranný faktor před oxidačním poškozením tkání (15).

Koenzym Q10 (ubidekarenon, ubichinon) lze pokládat za jeden z významných markerů života (vedle obsahu dehydroepiandrosteronu a metabolismu zinku). Je lokalizován na vnitřní membráně mitochondrií, kde hraje důležitou roli v elektronovém transportním řetězci a významně se podílí na tvorbě chemicky vázané energie. Je také zásadní pro tvorbu apoptosomů a dalších adaptivních proteinů významných pro život buňky. Jeho aplikace není tak běžná, jak je potřebná.

Glutathionperoxidasa (GPx) náleží do rodiny peroxidáz, jejichž cílem je chránit organismus před oxidačním stresem, snižovat tvorbu hydroperoxidů lipidů a jejich odpovídajících alkoholů a snižovat hladinu volně se vyskytujícího peroxidu vodíku. Terapeuticky se nevyužívá, avšak v úvahu přichází použití jejich mimik (16).

Podstatně větší význam však mají exogeně podávané antioxidanty, které jsou většinou představovány (sekundárními) metabolity rostlin. Nejběžnější z těchto látek patří do skupiny vitamínů a jsou představovány vitaminy C a E, které musí člověk přijímat v potravě. Kyselina L-askorbová je hydrofilní sloučenina, která se uplatňuje extracelulárně a její dávka jako antioxidantu je stále diskutována a komplikována. V adekvátní míře je to látka nezastupitelná, zcela esenciální (kurděje) a kromě jiného hraje roli regenerátoru řady antioxidačně působících látek. Její nadměrné množství (dlouhodobě nad 500 mg/den) však může působit naopak prooxidačně a zhoršovat antioxidační status organismu. V současné době je používána také ve formě některých derivátů (fosfát, palmitát, D-glukopyranosid), které se liší

lipofilitou a mohou tak být použity k různým účelům. Tokoferoly jsou používány v přírodní směsi (extrakt z pšeničných klíčků) ve formě směsi všech 4 izomerů (α- až δ), častěji však ve formě syntetického DL-α-tokoferol-acetátu. Je to netoxický, výrazně lipofilní antioxidant, pocházející primárně pouze z rostlinného materiálu. Existuje názor, že ideální je podávání nízkých dávek (do 100 mg) směsi L-askorbové kyseliny a tokoferolů jako extra- a intracelulárního antioxidantu, které zajišťují svoji regeneraci a delší setrvání v buněčném systému. Ve vysokých dávkách (nad 500 mg/den) však může vitamin E působit do určité míry prooxidačně a také může snižovat srážlivost, což je nebezpečné zejména u nestabilizovaných stavů po ictu.

Třetí skupinou látek velmi intenzivně využívaných jsou karotenoidy (zahrnující jak karoteny, tak xanthofyly). Nejběžnější sloučeninou je β-karoten (provitamin A), který se při metabolismu štěpí na 2 molekuly retinolu. Je to lipofilní látka s výrazným antioxidačním účinkem, není však třeba mít obavy, že by po její aplikaci mohlo dojít k hypervitaminóze A: tvorba vitamínu A je zde přísně řízena enzymovým systémem (na vitamín A přejde 1–3 % podaného β-karotenu, ostatní zbylá látka má svůj osud v organismu). I tato látka má však prooxidační účinky: nebezpečné je její podávání v dávce nad 30 mg/den silným kuřákům, u kterých může urychlovat tvorbu novotvarů. V poslední době jsou používány další karotenoidy jako zeaxanthin, kryptoxanthin a lutein (ovlivňování makulární degenerace a ochrana oční tkáně), lykopen (prevence zhoubných novotvarů) a astaxanthin – patrně antioxidačně nejúčinnější karotenoid (ovlivnění testikulární dysfunkce).

Všechny tři uvedené skupiny antioxidantů jsou nejběžněji používanými látkami a v blízké budoucnosti tomu nebude jinak. Jsou to sloučeniny dobrou prověřené, účinné a bezpečné.

Při výčtu antioxidantů je nutné připomenout dva prvky, které samy o sobě antioxidanty nejsou, plní však důležitou roli kofaktorů enzymů, které zasahují do antioxidačního statusu organismu. Jde o selen, který je součástí selen-dependentní glutathionperoxidasy, katalyzující redukci organických peroxidů na peroxid vodíku, při které se uplatňuje glutathion. Druhým prvkem je zinek, který je součástí zhruba sta enzymů (zásadní je v případě superoxiddismutasy). Jeho vliv je široký a prakticky bývá využíván jako jeden z faktorů zvyšujících imunitu organismu a odolnost vůči vlivu některých invazních činitelů virového původu.

Z ostatních látek přírodního původu má praktický význam jen několik typů látek. Jde především tzv. pyknogenoly představované

směsí flavanolových derivátů z jehlic borovice hvězdice (*Pinus pinaster* var. *atlantica*), případně ze semen vinné révy (*Vitis vinifera*), nebo z čajového prachu (*Camellia sinensis*). Tyto směsi jsou v současnosti běžně komerčně využívány. Další biologicky účinnou směs představují tzv. kurkuminoidy, představované směsí diarylheptanoidů z oddenků zástupců r. *Curcuma* (především *Curcuma domestica*). Tyto deriváty kurkuminu jsou výrazně lipofilní, a mohou být využity v prevenci kolorektálního karcinomu, případně jako látky brzdící nástup neurodegenerativních chorob. Poslední skupinu jednoznačně využitelných látek tvoří flavonoidy – deriváty 2-fenylchromanu – běžně se vyskytující v ovoci a zelenině. O jejich výskytu a biologických účincích byla napsána řada studií a vyjmenováno mnoho látek, prakticky však má význam pouze jedna: rutin. Působí výrazně antioxidačně a kromě toho zasahuje do aktivity některých enzymů (podílí se např. na zlepšení výstelky cév a snížení fragility kapilár).

Smysluplnost podávání antioxidantů

Představa, že antioxidanty jsou prostředkem, který jednoznačně ochrání organismus před rozvojem degenerativních chorob, je mylná, ačkoliv se s ní setkáváme v širokém měřítku v různých reklamách, firemních sděleních a běžném neoborném tisku. Tyto látky mohou nepochybně zbrzdit rozvoj chorob, ale samotná progresse choroby není významně založena jen na přítomnosti antioxidantu. Zásadní roli zde hrají genetické faktory, vliv okolního prostředí a úroveň psychické pohody jedince. Hledání nových, účinných a bezpečných antioxidantů je stále věnována pozornost, není však už tak zásadní, jako např. před 20 lety: existuje nemalý počet látek, které jsou in vitro skvělými antioxidanty, ale dosud se ani jedna neuplatnila jako definovaný antioxidant v praxi. Rozhodující je biologická dostupnost látky, její ekonomická přijatelnost, schopnost uplatnit se na daném místě v daný čas, netoxičnost a absence tichých vedlejších účinků (zejména ovlivnění CYP a dalších enzymových systémů). Změnu by mohlo přinést využití nanotechnologií, které umožní látce dostat se na vhodné místo a čas a uplat-

Tabulka 1. Doporučené a přípustné dávky známých antioxidantů

Antioxidant	DDD* (mg)	NDPM** (mg)
L-Ascorbová kyselina	60 mg	2 000 mg
Tokoferol	10 mg	100 mg
Karotenoidy	1,6 mg	25 mg
Pyknogenoly	20 mg	100 mg
Kurkuminoidy	neuváděna	20 mg
Flavonoidy	do 50 mg	neuváděno
Koenzym Q ₁₀	20 mg	60 mg
Selen	0,055 mg	0,2 mg
Zinek	15 mg	25 mg

*denní doporučená dávka **nejvyšší denní přípustné množství

nit tam svůj antioxidační potenciál. Nové antioxidanty přírodního původu však nebudou, podle našeho názoru, čekatel na tuto úpravu v prvním pořadí. Nezbyývá proto než spoolehnout se na využití starých známých a prověřených antioxidantů (tabulka 1), efektivně volit jejich kombinaci a přispívat tak k racionálnímu udržení zdraví jedince. Velmi vhodným postupem v tomto směru je zvýšení vzdělanosti uživatelů ve smyslu znalosti obsahu látek prospěšných zdraví, přítomných především v ovoci, zelenině a semenech (17, 18). Tento postup je nenásilný a navíc zvyšuje uživatelský komfort příjemce.

Literatura

1. Štípek S. Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a nemoci. Grada, Praha 2000.
2. Beneš L. Antioxidační. Prakt Lékárn 2008; 4(4): 183–185.
3. Aliev G, Palacios HH, Obrenovich ME, et al. Oxidative stress induced vascular hypoperfusion, mitochondrial failure are missing links for the development of Alzheimer's Disease. Alzheimer's Dis Res J 2011; 4(1): 49–78.
4. Shen GX. Mitochondrial dysfunction, oxidative stress and diabetic cardiovascular disorders. Cardiovasc Hematol Disord: Drug Targets 2012; 12(2): 106–112.
5. Alevriadou BR, Jones CI, Giedt RJ. Nitric oxide and endothelial mitochondrial function: implications for ischemia/reperfusion, in: Hsiai TK, Blackman H, Jo H (eds). Hemodynamics and Mechanobiology of Endothelium, World Scientific Publ. Co., Singapore 2010: 153–177.
6. Chen EI. Mitochondrial dysfunction and cancer metastasis. J Bioenerg Biomemb 2012;44(6): 619–622.
7. Newsholme P, Gaudel C, Krause M. Mitochondria and diabetes. An intriguing pathogenetic role. Advances in Experimental Medicine and Biology 2012, 942(Advances in Mitochondrial Medicine), 235–247.
8. Chrisostomou V, Rezania F, Trouce IA, et al. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in glaucoma. Curr Opin Pharmacol 2013; 13(1): 12–15.
9. Tálro E, Avila-Roman J, Motilva V. Chemoprevention with phytonutrients and microalgae products in chronic inflam-

mation and colon cancer. Curr. Pharmaceut Design 2012; 18(26): 3939–3965.

10. Amaral S, Oliveira PJ, Ramalho-Santos J. Diabetes and the impairment of reproductive function: possible role of mitochondria and reactive oxygen species. Curr Diabet Rev 2008; 4(1): 46–54.
11. Blanco FJ, Lopez-Armada MJ, Rego I. Mitochondria and chondrocytes: role in the osteoarthritis. Biomedical and Health Research 2007, 70(Osteoarthritis, Inflammation and Degradation), 192–205.
12. Powers SK, Wiggs MP, Duarte JA, et al. Mitochondrial signaling contributes to disuse muscle atrophy. Am J Physiol 2012; 303(1, Pt. 1): E31–E39.
13. Witschi A, Reddy S, Stoffer B, et al. The systemic availability of oral glutathione. Eur J Clin Pharmacol 1992; 43(6): 667–669.
14. Garcion E, Wionbarbot N, Monteromenei C, et al. New clues about vitamin D functions in the nervous system. Trends Endocrinol Metab 2002; 13(3): 100–105.
15. Wilcox CS. Effects of tempol and redox-cycling nitroxides in models of oxidative stress. Pharmacol Ther 2010; 126(2): 119–145.
16. Krishna PB, Govindasamy M. Functional Mimics of Glutathione Peroxidase: Bioinspired Synthetic Antioxidants. Acc Chem Res 2010; 43(11): 1408–1419.
17. Ronald RV (ed.). Vegetables, Fruit and Herbs in Health promotion. CRC Press, Boca Raton 2001.
18. Alasalvar C, Shahidi F (eds). Tree Nuts: Composition, Phytochemicals, and Health Effects. CRC Press, Boca Raton 2009.

Článek přijat redakcí: 17. 3. 2013

Článek přijat k publikaci: 18. 4. 2013

prof. RNDr. Lubomír Opletal, CSc.
Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hl. Králové
Heyrovského 1 203, 500 05 Hradec Králové
opletal@faf.cuni.cz

