

Základní reaktivní formy kyslíku a dusíku

Reaktivní formy jsou součástí mnoha patologických, ale i fyziologických a biochemických pochodů. Nejčastěji jsou reaktivními formami tzv. volné radikály. Jako volný radikál označujeme jakoukoliv chemickou entitu (tj. atom, molekulu nebo iont), která má ve vnější sféře svého elektronového obalu alespoň jeden **nespárovaný elektron**. To způsobuje její relativně **vysokou reaktivitu**, ale zároveň je schopna **samostatné existence**.

Reaktivní formy mohou reagovat s mastnými kyselinami, lipidy, aminokyselinami, proteiny, mono a polynukleotidy (NK), s řadou nízkomolekulárních metabolitů, s koenzymy atd. Tyto reakce **narušují struktury** daných sloučenin, čímž způsobují patologie.

Reaktivní formy kyslíku (ROS, *Reactive Oxygen Species*)

Dlouhodobé vdechování čistého kyslíku působí na člověka toxicky (samotný kyslík jedovatý není). Toxicky na organismus působí jeho deriváty – reaktivní formy. Tyto deriváty vznikají i při normálním zásobení kyslíkem.

Pro některé děje v organismu jsou reaktivní formy nezbytné – **přenos energie, faktory imunitní ochrany, signální molekuly buněčné regulace**.

Volné kyslíkové radikály	Látky, které nejsou volnými radikály
Superoxid ($\bullet\text{O}_2^-$)	Peroxid vodíku (H_2O_2)
Hydroxylový radikál ($\text{HO}\bullet$)	Kyselina chlorná (HClO)
Peroxyl ($\text{ROO}\bullet$)	Ozon (O_3)
Hydroperoxyl ($\bullet\text{HO}_2$)	Singletový kyslík ($^1\text{O}_2$)

Superoxid $\bullet\text{O}_2^-$

Středně reaktivní kyslíkový radikál. Působí jako **oxidační i redukční činidlo**. Vzhledem k zápornému náboji má omezený průchod skrz buněčné membrány – prochází skrz aniontové kanály. Je schopný uvolnit železo z Fe-S clusteru v aktivním místě enzymu.

Vznik v organismu

Vznik v dýchacím řetězci

V těle může vzniknout v dýchacím řetězci na vnitřní membráně mitochondrií. Při vzniku elektrochemického protonového gradientu může dojít k úniku elektronů z **komplexu I a III**. Elektrony reagují s volným kyslíkem za vzniku superoxidu. Takto je přeměněno asi 1–2 % z celkové spotřeby kyslíku.

V dýchacím řetězci se postupně vytváří všechny základní ROS.

přijetím 1. e^- : $\text{O}_2 \rightarrow \bullet\text{O}_2^-$;

přijetím 2. e^- : $\bullet\text{O}_2^- \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2$;

přijetím 3. e^- : $\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{HO}\bullet$;

přijetím 4. e^- : $\text{HO}\bullet \rightarrow \text{H}_2\text{O}$.

Vznik NADPH-oxidázou

Buňky **schopné fagocytózy** tvoří superoxid jako zbraň proti mikroorganismům (**respirační vzplanutí**). Fagocyt (např. neutrofil) pentózovým cyklem spotřebovává glukózu za vzniku NADPH. Ten je dále převáděn na NADPH-oxidázu, která převádí kyslík na superoxid.

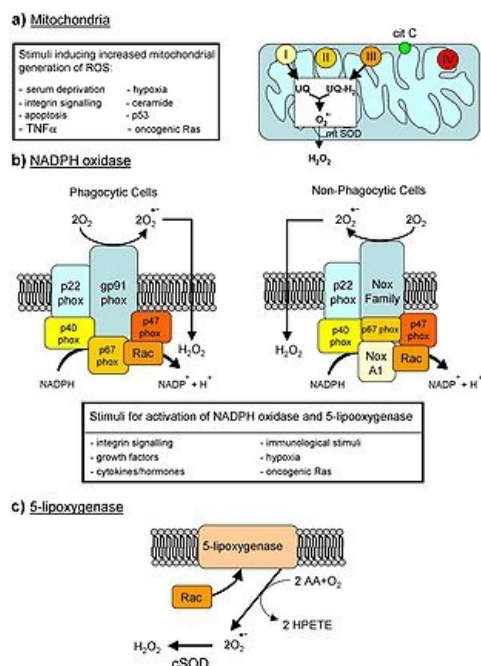


Dismutací superoxidu vzniká peroxid vodíku. Ten následně oxidačuje chloridové anionty na **kyselinu chlornou** (HClO), která přispívá k ničení bakterií.



Vznik účinkem enzymů

Některé enzymy tvoří superoxid jako meziprodukt. Mezi takové řadíme například **xanthinoxidázu, cyklooxygenázu a lipoxigenázu**.



Vznik ROS

Vznik reakcí s hemoglobinem

Nejčastěji vzniká **v erythrocytech**. Dojde k tomu, že kyslík odebere jeden elektron Fe^{2+} v hemu. Tím dochází ke vzniku **superoxidu a methemoglobinu**. Erythrocyty tyto reakce regulují pomocí enzymů antioxidační ochrany (např. superoxiddismutáza).

Reakce

Dismutace



Tato reakce probíhá v organismu spontánně. Za přítomnosti enzymu **superoxiddismutázy**, dochází k **přímému převodu** superoxidu na peroxid.

Reakce s oxidem dusnatým



Peroxid vodíku H_2O_2

Patří mezi reaktivní formy, které nejsou radikály. Vzhledem k jeho malé velikosti může volně procházet skrz buněčné membrány – působí na jiném místě, než kde vznikl. Sám o sobě není příliš reaktivní. Jeho reaktivita se zvýší při **interakci s přechodným kovem** (železo a měď).

Vznik v organismu

Peroxid vodíku vzniká již zmíněnou dismutací superoxidu, případně působením některých enzymů – **xanthinoxidáza, monoaminoxidáza**. Bezpečné odstranění peroxidu vodíku z organismu zabezpečuje **glutathionperoxidáza, peroxiredoxin** nebo **kataláza**.

Reakce

Fentonova reakce



K této reakci dochází při interakci peroxidu s železnatým kationtem. Vzniká **hydroxylový radikál**, který je nejnebezpečnějším oxidačním činidlem v organismu. Fentonova reakce patří mezi základní mechanismus oxidačního poškození tkání.

 *Podrobnější informace naleznete na stránce Fentonova reakce.*

Hydroxylový radikál $\text{OH}\bullet$

Extrémně reaktivní molekula. Okamžitě po svém vzniku reaguje s nejbližší možnou strukturou. Poškozuje biomolekuly ve svém okolí (buněčné membrány, proteiny, DNA). Nejčastěji je příčinou tvorby **lipoperoxidů**.

Vznik v organismu

V těle může vznikat již popsanou Fentonovou reakcí (peroxid vodíku s přechodným kovem).

Dále vzniká **působením ionizačního záření** (např. gama záření, rentgenové záření). Ionizační záření rozkládá nejčastěji vodu (té je v organismu velké množství).



Pokud ionizační záření působí na kyslík, dochází ke vzniku tzv. **singletového kyslíku** $^1\text{O}_2$, který stejně jako hydroxylový radikál, reaguje s MK za vzniku lipoperoxidů.

Reaktivní formy dusíku (RNS, *Reactive Nitrogen Species*)

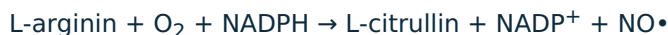
Volné dusíkaté radikály	Látky, které nejsou volnými radikály
Oxid dusnatý ($\text{NO}\bullet$)	Nitrosyl (NO^+)
Oxid dusičitý ($\text{NO}_2\bullet$)	Nitroxid (NO)
	Peroxynitrit (ONOO^-)
	Alkylperoxynitrit (ROONO)

Oxid dusnatý NO

Plynný radikál s krátkým biologickým poločasem. Při vdechnutí působí na organismus toxicky (ve smogu). Uvnitř těla je vytvářen fyziologicky jako mediátor (např. vazodilatace). Vazbou na guanylátcyklázu stimuluje tvorbu cGMP vedoucí k relaxaci hladkého svalstva. Má velkou **afinitu k hemovému železu**. Je **vychytáván erytrocyty**, ve kterých reaguje s hemoglobinem za vzniku methemoglobinu a nitrátu (fyziologická inaktivace NO).

Vznik v organismu

NO syntázová reakce



Rozlišujeme tři různé syntázy, které se odlišují dle místa působení. **NOS I** (neuronální, konstitutivní) – paměť a učení, **NOS II** (fagocyty, inducibilní) – stimulována cytokiny a mikroby, **NOS III** (endoteliální, konstitutivní) – vazodilatační účinek.

Reakce

Reakce se superoxidem

Při reakci $\text{NO}\bullet$ se $\bullet\text{O}_2^-$, dochází ke vzniku **peroxynitritu**, který je nejvýznamnějším toxickým produktem oxidu dusnatého.



Peroxynitrit je **nejvýkonnější producent volných radikálů** v buňkách.



Patogeneze

Mezi hlavní cílové struktury, na které reaktivní formy působí:

Nenasycené MK v lipidech (buněčné membrány)

Poškození mastných kyselin může způsobit ztrátu dvojných vazeb a podmíní tvorbu reaktivních metabolitů (peroxydy, aldehydy). To způsobí **změnu fluidity a propustnosti** membrán. Dojde ke vzniku chemoreaktivních látek pro mikrofágy.

 *Podrobnější informace naleznete na stránce Peroxidace lipidů.*

Proteiny

Poškození proteinů může způsobit jejich agregaci, síťování, fragmentaci, štěpení, reakci s hemovým železem, modifikace thiolových skupin a benzenových jader AMK. To způsobí **změny v transportu iontů** (vstup Ca^{2+} do cytosolu) a **změny v aktivitě enzymů**.

DNA

Poškození DNA může způsobit štěpení kruhu deoxyribózy, modifikace a poškození bází, zlomy řetězce. To se pak může projevit jako **mutace**, translační chyby a inhibice proteosyntézy.

Celkově můžeme říci, že reaktivní formy jsou přímou příčinou chorobného stavu u **kancerogeneze** v důsledku ionizačního záření, retinopatie nedonošených a hemochromatózy. Významně se podílí v patogenezi chronického zánětu, ARDS, aterosklerózy, mozkového traumatu, diabetu, ischemie a **stárnutí**.