

Zubní lékařství 2022
Patofyziologie II - přednášky

Poruchy výživy III

Mikronutrienty

31. 3. 2022

Železo

- Centrální role v imunitní odpovědi.
- Růstový a aktivační faktor pro mnohé patogeny
- Vyšší prevalence alergií u dětí s deficitem železa
- Vyšší riziko rozvoje atopických nemocí u dětí matek, které měly deficit železa v průběhu těhotenství
- Nízký stav železa favorizuje M1 makrofágy a podpruje Th1 odpověď.
- Kofaktor myeloperoxidázy a dalších peroxidáz obsahujících železo.

Zinek

- Je integrální komponentou více než 3000 proteinů, které fungují jako enzymy a transkripční faktory v buněčné signalizaci, opravě DNA a replikaci DNA.
- Stabilní v měnících se podmínkách redox.
- T lymfocyty zvláště citlivé na nedostatek Zn, který je potřebný pro jejich zrání a udržení rovnováhy mezi různými skupinami T-buněk.
- Deficit Zn má za následek pokles Th1 a podporuje rozvoj zánětlivé reakce s nárůstem sekrece interleukinu 1 β .
- Deficit zinku způsobí také nárůst prozánětlivé reakce pod vlivem buněk Th17.

Zinek

- Zinek ovlivňuje také vrozenou imunitu-monocyty, makrofágy
Deficit Zn^{2+} inhibuje funkce granulocytů (chemotaxi, fagocytózu, degranulaci, oxidativní vzplanutí a sekreci cytokinů)
- Zn zřejmě způsobuje reprogramování imunitního systému.
- Je pravidelnou stavební součástí matrix metaloproteináz

Endocrine, Metabolic & Immune Disorders -
Drug Targets, 2019, 19, 1100-1115

Selén

- Součást mnoha enzymů fungujících v redox reakcích.
- Zajišťuje ochranu imunitních buněk před oxidativním stresem.
- Deficit selénu postihuje více celulární než protilátkovou imunitu.
- Obsah selénu ve stravě odráží velkou variabilitu v obsahu selénu v půdě v rámci potravního řetězce. Nebezpečné jsou velmi nízké i velmi vysoké koncentrace selénu v půdě. Nedostatek selénu i v Evropě i ve východním Středomoří.

Endocrine, Metabolic & Immune Disorders -
Drug Targets, 2019, 19, 1100-1115

Biologický význam vitaminů

- Organické látky, vyžadovány v malých kvantech pro různé biochemické funkce a lidský organismus si je nedokáže sám vyrobit.
- V lidském organismu mají funkci katalyzátorů biochemických reakcí, antioxidantů, hormonů.
- Podílejí se na metabolismu bílkovin, tuků a cukrů.
- Nedostatek (hypovitaminóza) vede k různým onemocněním.

Vitamin B1 objevil polský biochemik Kazimierz Funk v roce 1912 v otrubách rýže.

Navrhl název vitamin podle latinského *vital* a *amine* = „životně důležitý amin“.

Nejde o *aminy* z chemického hlediska, ale název se ujal.

Tento termín byl později rozšířen na všechny podobné látky (vitaminy A, B, C, ...K a pseudovitaminy).

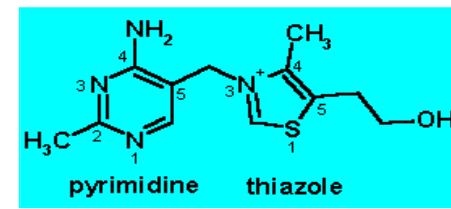
Účinek vitaminů

- **Hydrofilní vitaminy** - součástí enzymů v anabolických a katabolických metabolických drahách, především **kofaktory řady enzymů**.
- **Hydrofóbní vitaminy** se podílejí na řadě fyziologických funkcí (vidění, srážení krve, hospodaření s vápníkem a fosforem), působí jako antioxidanty (interakce mezi vitaminem C a vitaminem E).

Vitaminy rozpustné ve vodě

- Vitamin B₁ (thiamin)
- Vitamin B₂ (riboflavin)
- Vitamin B₃ or Vitamin P or Vitamin PP (niacin)
- Vitamin B₅ (kyselina panthotenová)
- Vitamin B₆ (pyridoxin a pyridoxamin)
- Vitamin B₇ or Vitamin H (biotin)
- Vitamin B₉ or Vitamin M and Vitamin B-c (kyselina listová)
- Vitamin B₁₂ (cyanocobalamin)

Vitamin B₁ (thiamin)



- Aktivní je jako **thiamin pyrofosfát** (thiamin difosfát), TPP
- TPP je koenzym multienzymových komplexů
 - oxidativní dekarboxylace α -ketokyselin →
pyruvátdehydrogenasa v metabolismu sacharidů,
 - *α -ketoglutarátdehydrogenasa* → cyklus kyseliny citrónové,
 - *dehydrogenasa rozvětvených aminokyselin* (valin, leucin, isoleucin).
- Koenzymem *transketolas*.
- Nedostatek se projevuje se jako **beri-beri** - degradace myelinových pochev motorických a senzoryckých nervových vláken dolních končetin (parestézie, svalová slabost, vyčerpanost).

Vitamin B₂ (riboflavin)

- Žluté až oranžově žluté přírodní barvivo slabě rozpustné ve vodě.
- Patří mezi flaviny.
- Fluoreskuje, je odolný vůči vysokým teplotám, ale rozkládá se působením světla.
- Jako *flavinmononukleotid FMN* a *flavinadenindinukleotid FAD* součást enzymů přenášejících vodík u řady chemických reakcí.

Vitamin B₃ - niacin

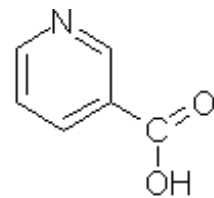
Aktivní forma je nikotinová kyselina a nikotinamid.

NAD a NADP → klíčové složky metabolických drah sacharidů, lipidů, aminokyselin.

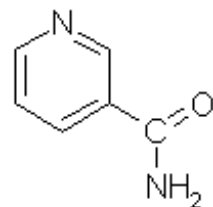
Kyselina nikotinová zabraňuje uvolňování mastných kyselin z tukové tkáně, snížení lipoproteinů VLDL, IDL a LDL.

Ve vysokých dávkách dilatace cév.

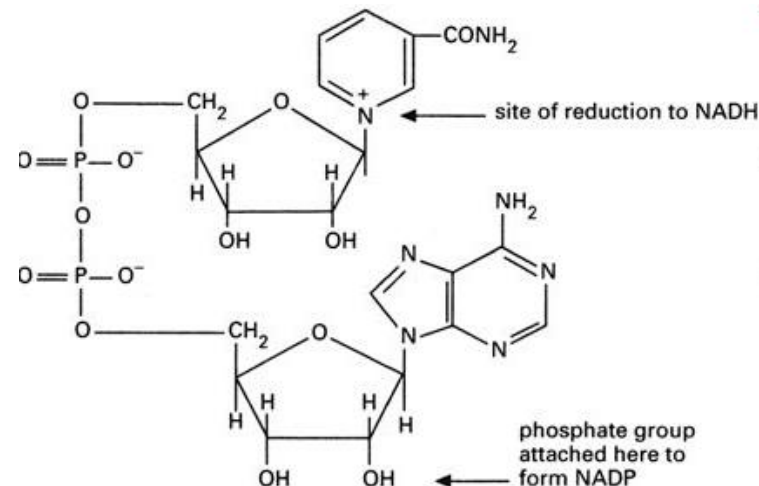
Nedostatek způsobuje **pelagru** (fotosensitivní dermatitida).



Nicotinic Acid

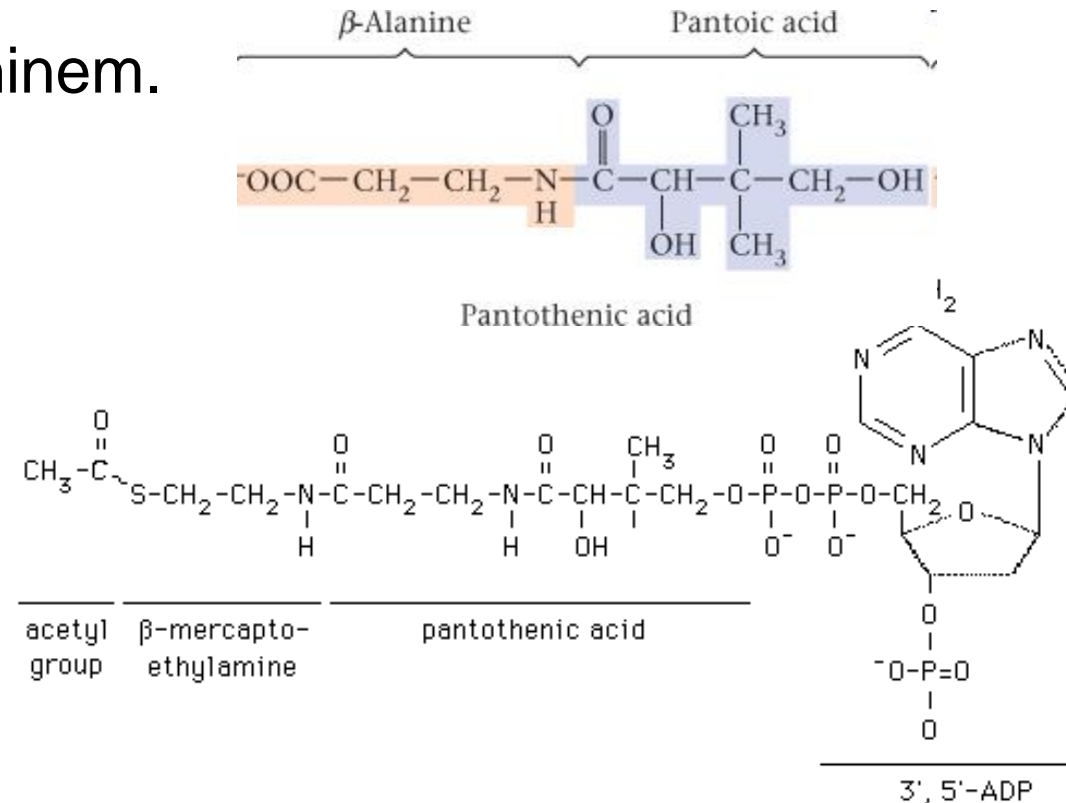


Nicotinamide



Vitamin B₅ – kyselina pantotenová

- Součást acetyl-CoA - amid mezi pantoátem a β-alaninem.



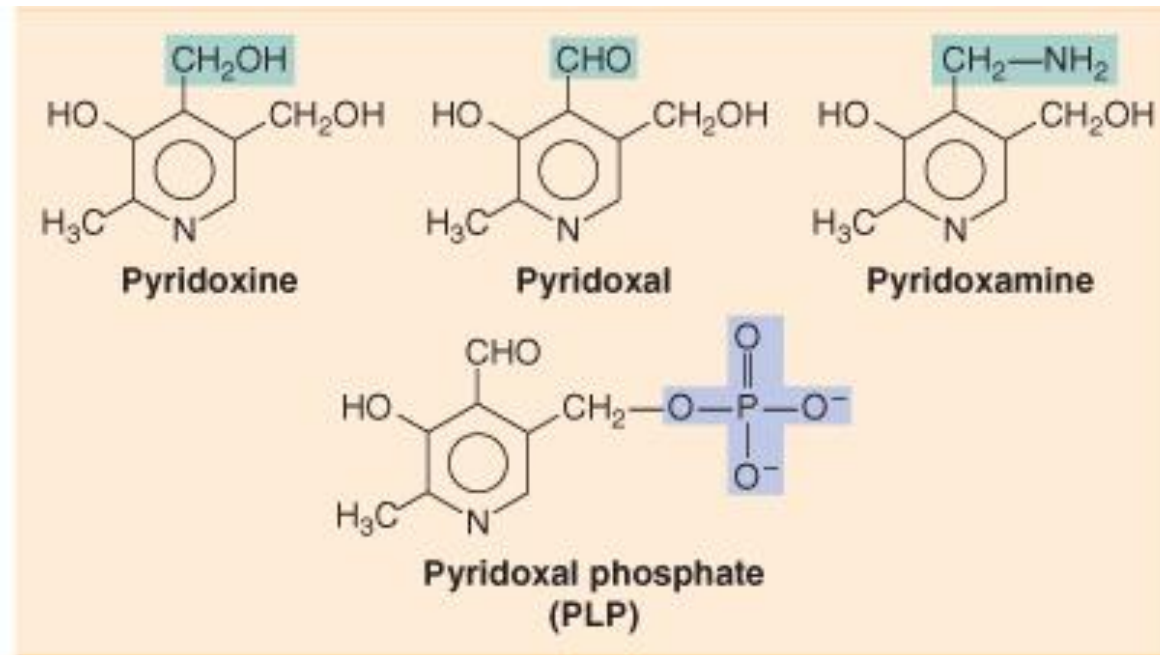
Acetyl coenzyme A, showing its constituents

Vitamin B₅ – kyselina pantotenová

- CoA – energetický metabolismus, vstup pyruvátu do cyklu kyseliny citrónové.
- Přeměna α -ketoglutarátu na sukcylnyl-CoA
- Biosyntéza mastných kyselin, cholesterolu, acetylcholinu.
- CoA – další reakce jako acylace, acetylace, signální transdukce, deaminace.
- Nedostatek: **únava, parestesie, apatie**

Vitamin B₆ - pyridoxin

- Prekurzor aktivního koenzymu pyridoxalfosfátu
- PPL.

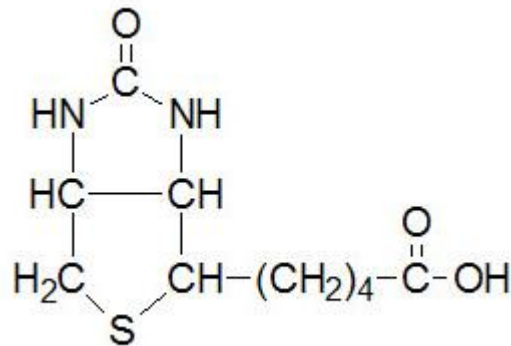


Vitamin B₆ - pyridoxin

- Více než 100 enzymů obsahuje vit. B₆
- Koenzym enzymů metabolismu aminokyselin – *transaminas, dekarboxylas, treoninaldolasy*
- Koenzym *fosforylasy* v procesu štěpení glykogenu (svalová fosforylase váže 70–80 % celkového množství vitamínu B₆ v lidském těle).
- Nebytný pro metabolismus červených krvinek a tvorbu hemoglobinu.
- Účast konverze tryptofanu na niacin.
- Nezbytný pro imunitní systém a nervovou tkáň.
- Pomáhá udržovat hladinu glukózy v normálním intervalu.

Vitamin B₇ - biotin

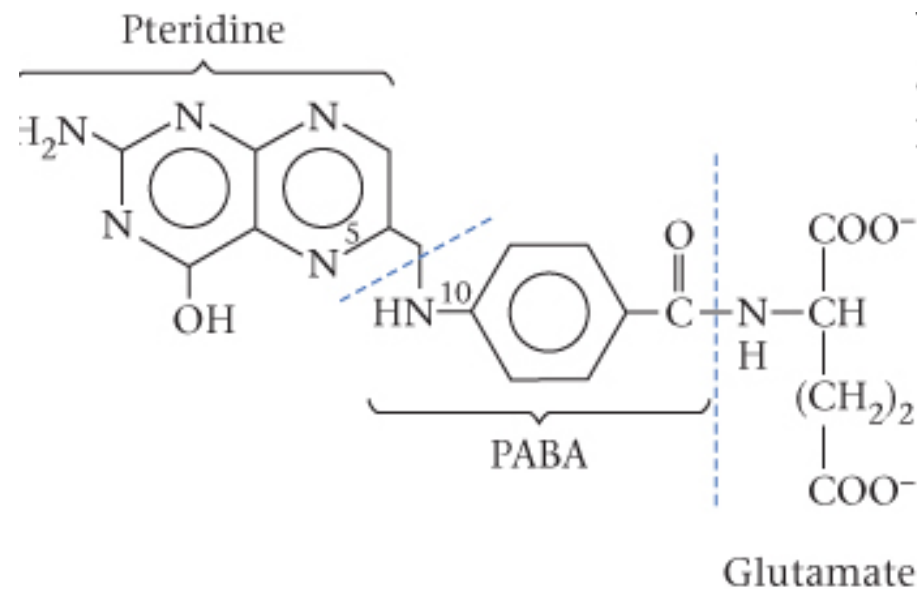
- Kondenzát thiomocoviny a thiofenu se zbytkem kyseliny valerové



- Koenzym řady karboxylačních reakcí - *acetylCoA-karboxylasa*, *pyruvátkarboxylasa*.
- Důležitý pro vazbu CO₂.
- Důležitý v metabolismu sacharidů a lipidů.
- Nedostatek může vyvolat **změny na pokožce, vypadávání vlasů a nervové poruchy**

Vitamin B₉ – kyseliny listová

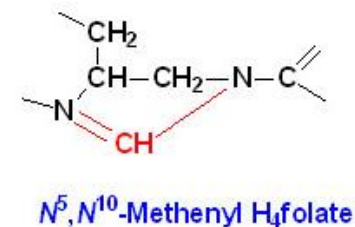
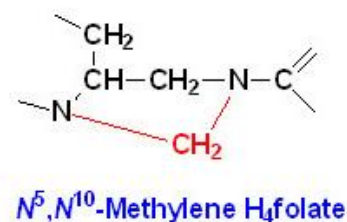
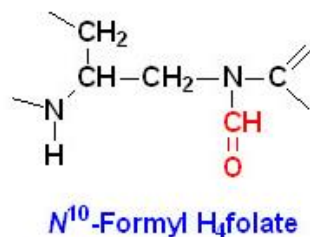
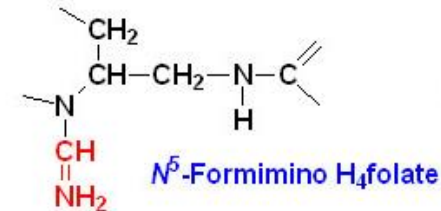
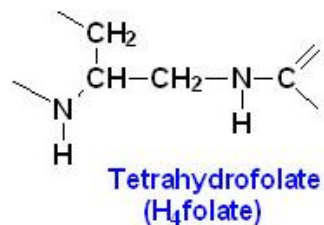
- Kondenzát pteridinu + paraaminobenzoové kyseliny (PABA)
+ kyseliny glutamové



Pteroyl-monoglutamate
(the absorbed form of folic acid)

Vitamin B₉ – kyseliny listová

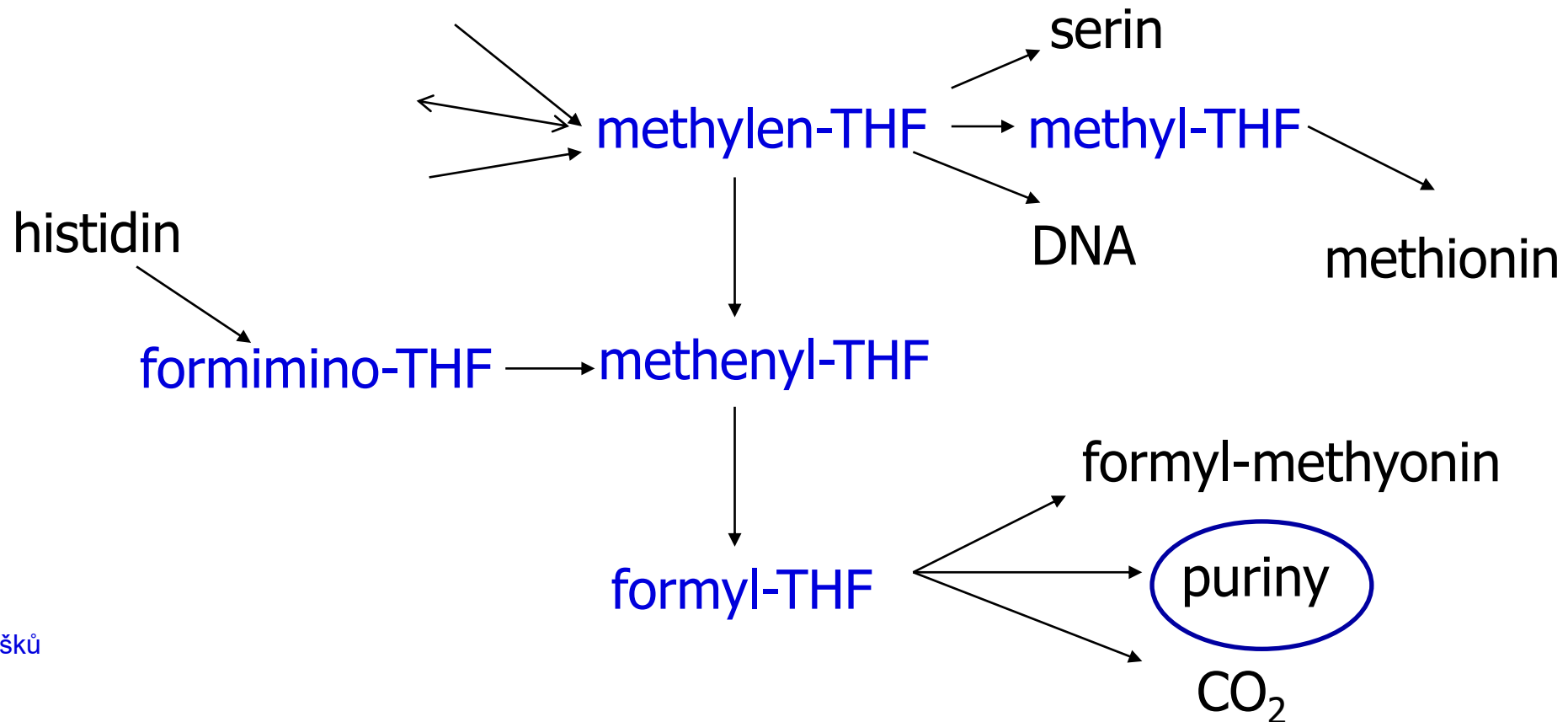
- Jako tetrahydrofolát (THF) – aktivní metabolit.
- **Koenzym *transferas* přenášejších jednovuhlíkaté zbytky.**
- Tato reakce je součástí syntézy nukleotidů a nukleových kyselin.
- N⁵,N¹⁰-THF přenáší jednovuhlíkaté zbytky (methylen nebo methenyl).



Vitamin B₉ – kyseliny listová

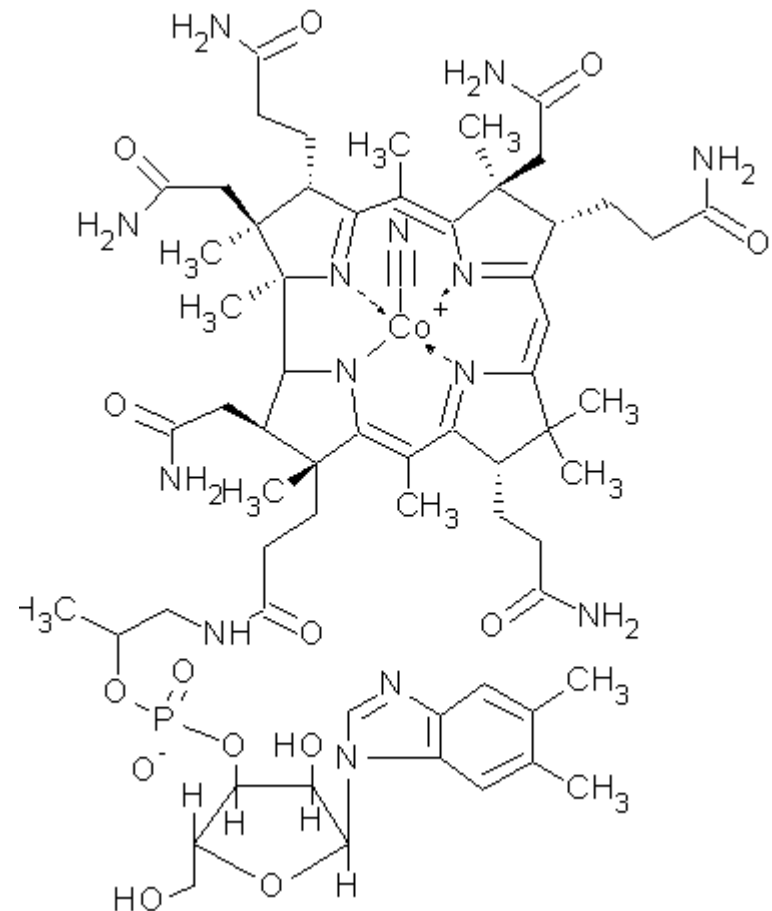
– Zdrojem jednouhlíkatých zbytků jsou:

glycin
serin
cholin



Vitamin B₁₂ - kobalamin

- Komplex organických sloučenin, uvnitř molekuly je atom Co.
- Podobnost s molekulou hemu, v lidském těle se ale nesyntetizuje.
- U člověka dvě metabolicky aktivní formy: methylkobalamin a adenosylkobalamin.

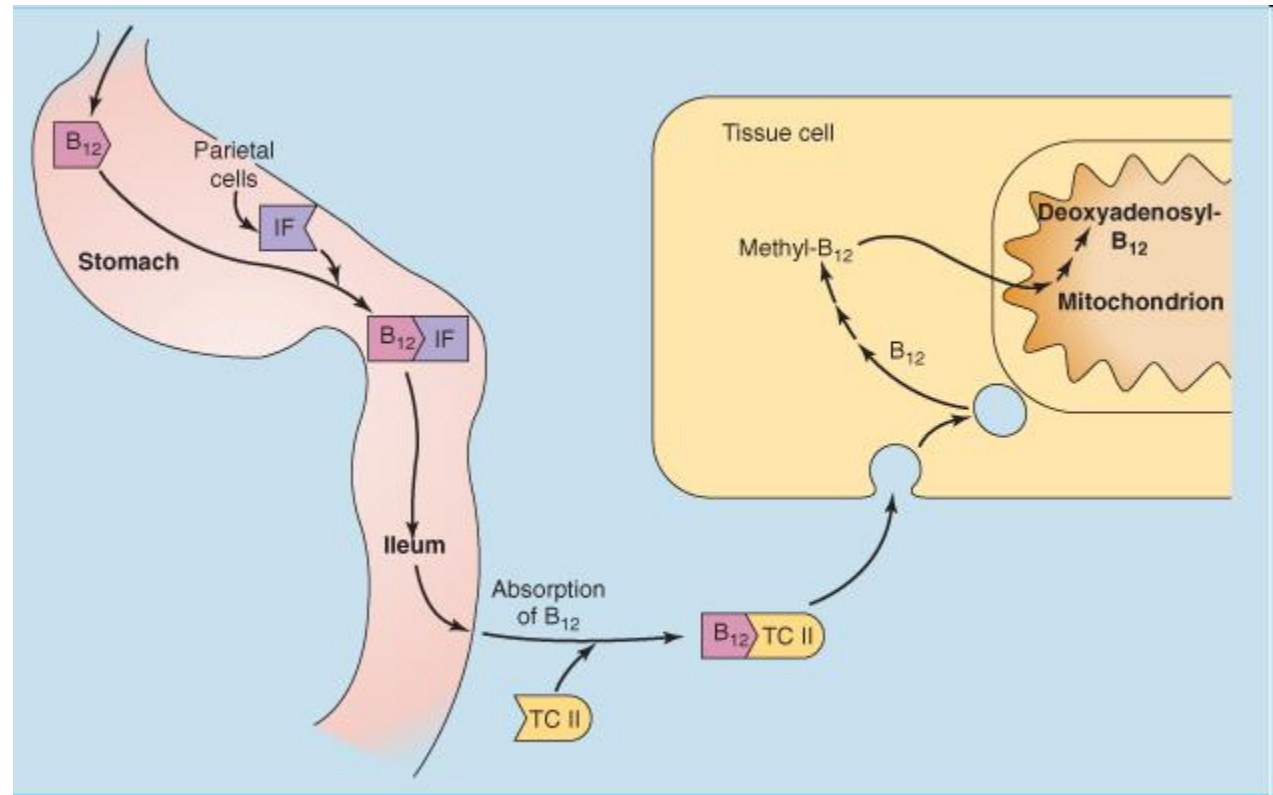


Vitamin B₁₂ - kobalamin

- Známy jsou jen dvě reakce katalysované vit. B₁₂:
 - cytoplasmatická *metylace homocysteinu na methionin.*
 - mitochondriální *methylnalonyl-CoA mutáza*
(methylnalonyl-CoA → sukcylnyl-CoA) vyžaduje *deoxyadenosylkobalamin.*

Metabolismus vit. B₁₂

- V žaludku po uvolnění z potravy, vytváří komplex se skupinou glykoproteinů,
- v duodenu se váže na „intrinsic factor, IF“ – vnitřní faktor,
- vazba na transkobalamin II (TC II), rychle vychytán játry, kostní dření, dalšími buňkami
- Intracelulárně transportován TC I



© Elsevier. Meisenberg & Simmons: Principles of Medical Biochemistry 2e - www.studentconsult.com

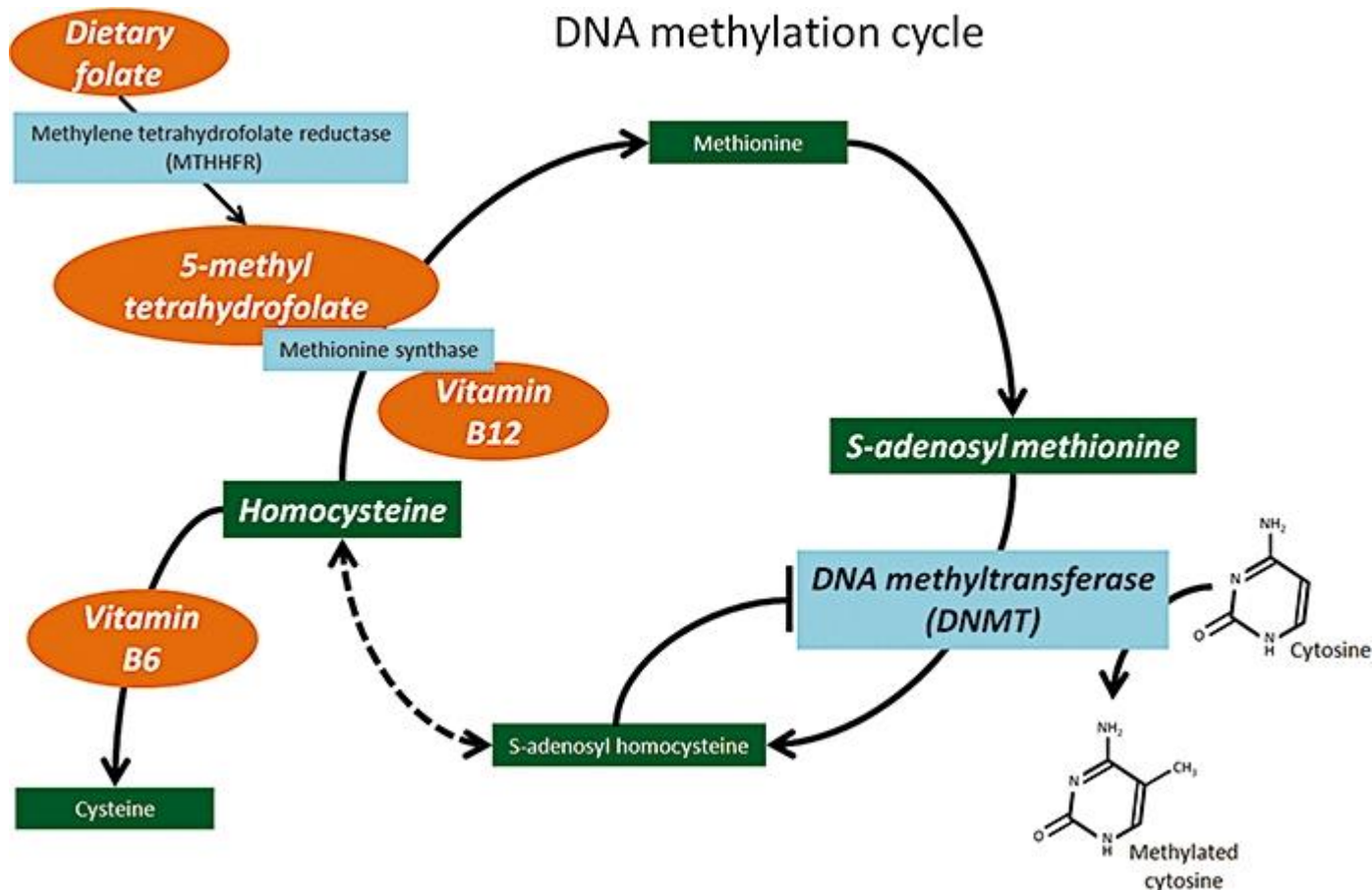
Poruchy metabolismu vit. B₁₂

klíčový bod projevů hypovitaminosy B₁₂ →
mutace a pokles aktivity enzymu *N*⁵-methyl
THF – reductasy (MTHFR) → přeměna
homocysteinu → methionin.

Znemožněna přeměna *N*⁵-methyl *THF* na další
formy *THF*.

Poruchy metabolismu vit. B₁₂

1. Důsledek → porucha syntézy DNA u hemopoetických buněk, megaloblastická maturace jader. Klinická manifestace – *megaloblastická anémie*.
2. Nedostatek methioninu vede k *neurologickým poruchám* (z methioninu se tvoří cholin, fosfolipidy, methyluje myelinový protein). Demyelinizace nervových vláken, degenerace axonů, zánik nervových buněk. Klinický obraz: parestézie v končetinách → ataxie → zpomalení reflexů, těžká demence.
3. Germinativní mutace MTHFR je v populaci velmi častá (30%), klinicky → snížené odbourávání homocysteinu → *hyperhomocysteinemie* → rizikový faktor ischemické choroby srdeční?



Dietary components that can alter epigenetics. The enzymes involved in the DNA methylation cycle are dependent on the availability of essential cofactors: **folate, and vitamins B12 and B6**. **In their abundance**, DNA methyl transferases (DNMTs) readily transfer methyl groups to cytosine residues; however, **in the absence** of appropriate cofactors, methionine is converted back to its precursors, homocysteine and S-adenosyl homocysteine. Excess S-adenosyl homocysteine levels inhibit DNMT activity, thus they can reduce/prevent DNA methylation and compromise gene silencing. The cycle can be potentially rescued by supplementation with these essential vitamins, to clear elevated homocysteine levels and restore DNA methylation processes

Vitamin C – kyselina askorbová

- Řada fyziologických funkcí:
 - syntéza kolagenu, karnitinu, neurotransmiterů
 - syntéza a katabolismus tyrosinu
 - metabolismus mikrosomů
- Redukující vlastnosti – předává elektrony (oxidace Cu^{2+} a Fe^{2+})

Vitamin C

Donor elektronů pro řadu hydroxyláz

- syntéza kolagenu – *prolylhydroxylasa*, *lysylhydroxylasa* a *lysyloxidasa* obsahují Fe^{2+} a askorbát jako kofaktory

Prolin (lysin) + α -ketoglutarát + $\text{O}_2 \rightarrow$ 4-hydroxyprolin (hydroxylysin) + CO_2 + sukcinát

α -ketoglutarát – redukující agens

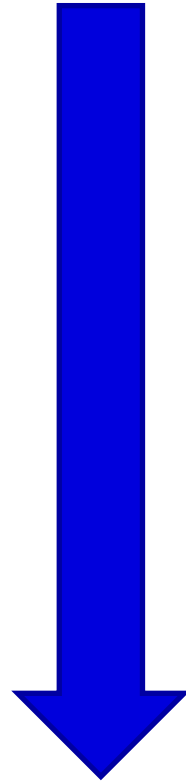
Askorbát udržuje železo v redukovaném stavu

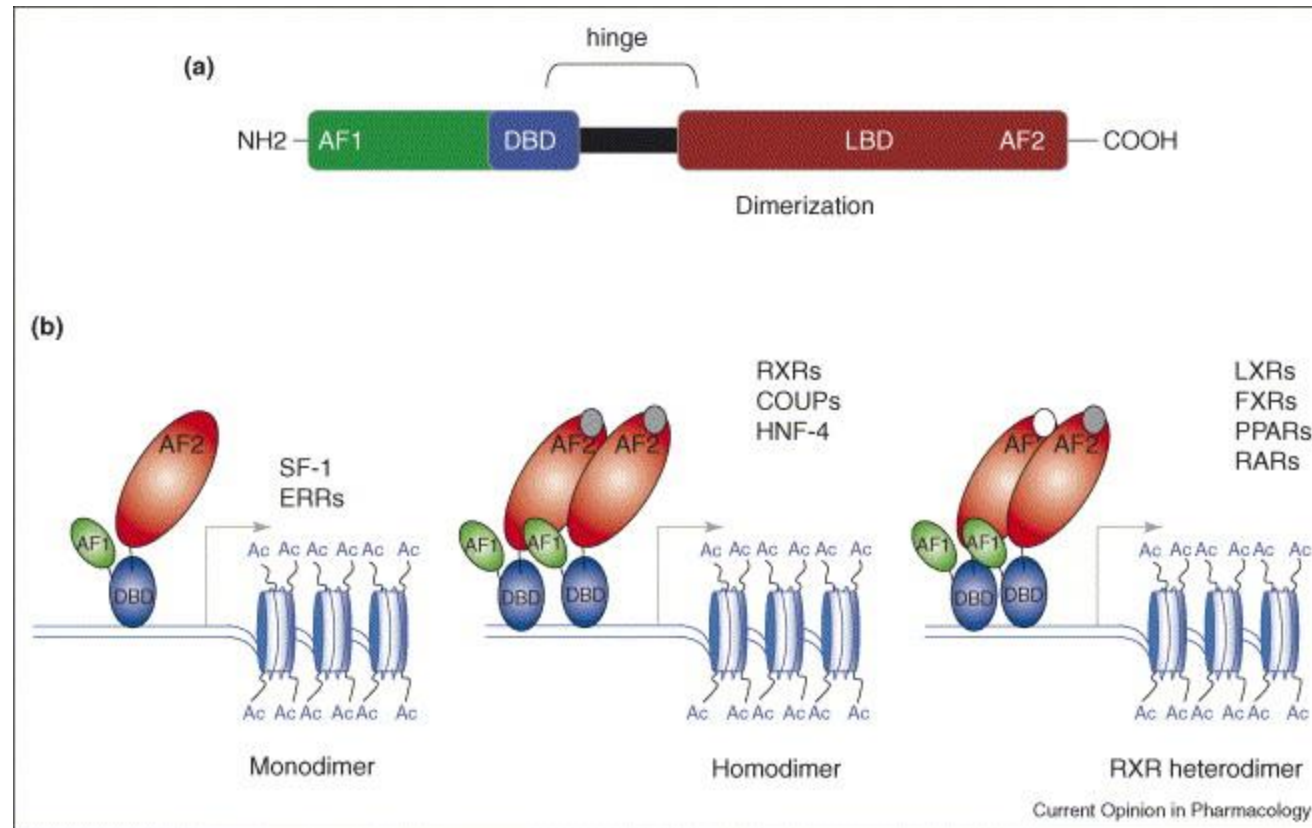
Vitamin C

- syntéza karnitinu - *trimethyllysinhydroxyláza* a *g-butyrobetainhydroxyláza*
- syntéza anrenalinu a noradrenalinu *dopamin-b-hydroxyláza*, redukuje Cu^{2+} na Cu^{+}
- syntéza některých peptidových hormonů – obsahují Gly, *peptidyl glycinhydroxyláza* hydroxyluje α -uhlík, redukuje Cu^{2+} .
- Posttranslační modifikace prekursoru C reaktivního proteinu - *aspartát-b-hydroxyláza*.
- Nedostatek vitamínu C způsobuje **kurděje**

Vitaminy rozpustné v tucích

- Fungují jako nukleární receptory





Nukleární receptor:

(a) Typický NR má několik funkčních domén. Variabilní NH₂-terminální oblast obsahuje transaktivační doménu AF-1 nezávislou na ligandu. Konzervovaná DBD je odpovědná za rozpoznání specifické sekvence DNA. Variabilní spojovací oblast spojuje konzervovanou DBD s LBD a je plochou pro dimerizaci. Na ligandu nezávislá aktivační transkripční doména je v NH₂-terminální oblasti, na ligandu závislá AF-2 transaktivační doména je v COOH-terminální části LBD.

(b) NRs mohou aktivovat transkripci jako monomery nebo dimery (homodimery nebo heterodimery s RXR. COUP, chicken ovalbumin upstream promoter; ERR, estrogen receptor-related receptor HNF, hepatocyte nuclear factor; SF-1, steroidogenic factor 1.

Superrodina nukleárních receptorů

Společná struktura:

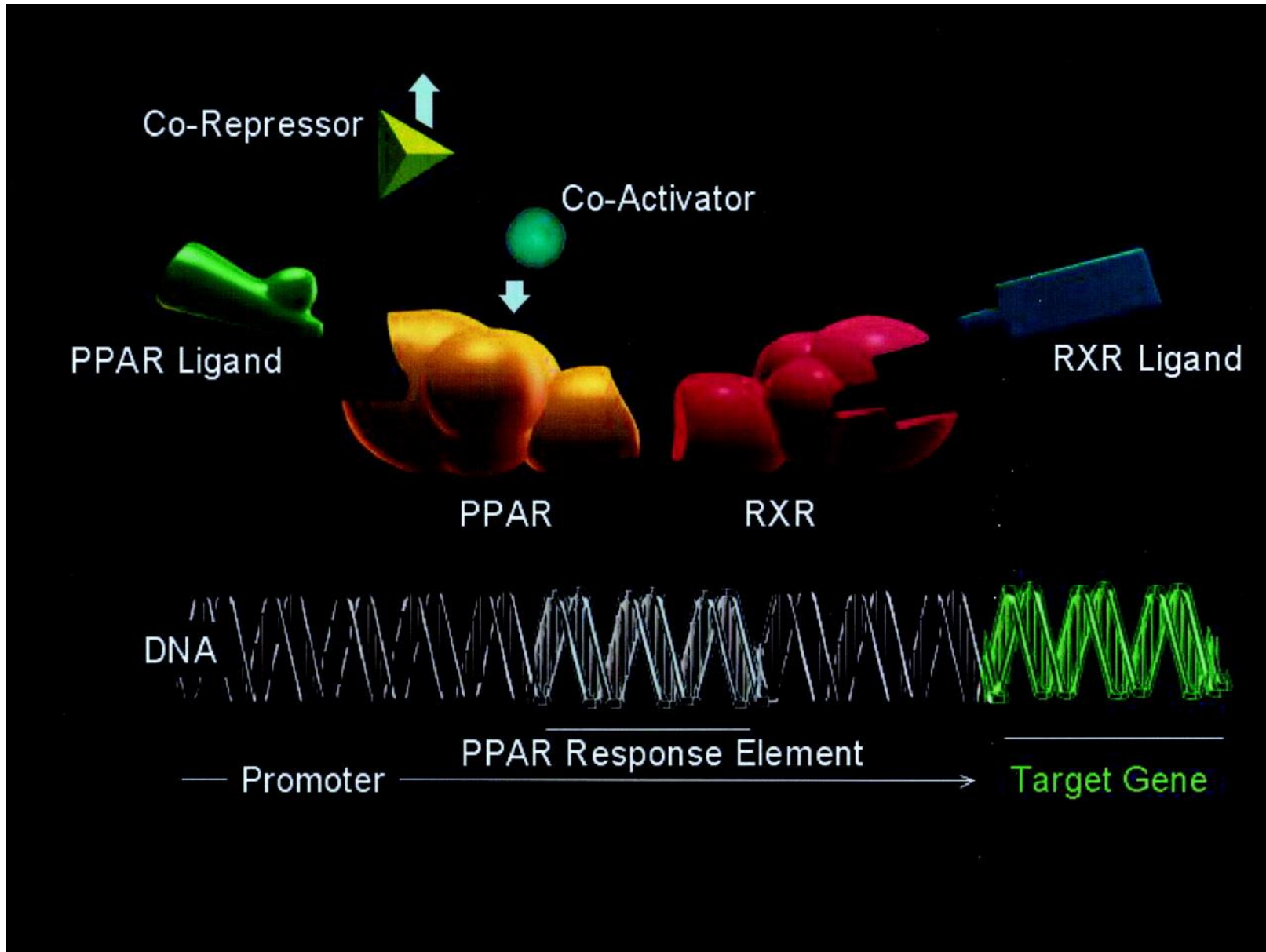
- DNA vazná doména (DBD)
- vazná doména specifická pro ligand (LBD-AP-2))
- Vazná doména nespecifická pro ligand (AP-1)

Typy nukleárních receptorů

1. steroidní
- 2. nesteroidní (RXR heterodimer)

Signální transdukce

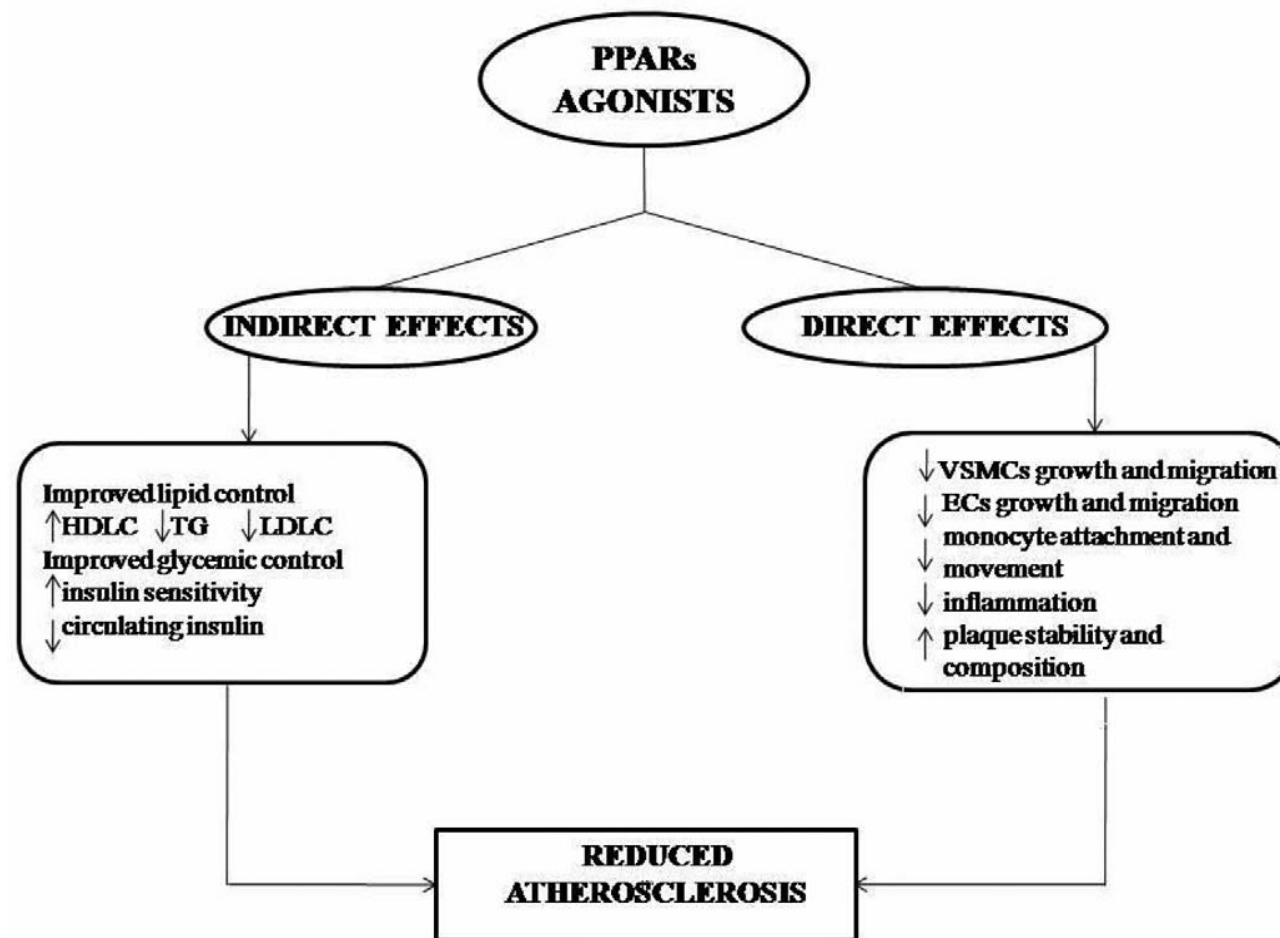
- Ligandy jsou **hydrofilní** nebo **hydrofobní**
- Receptor: **povrchový** nebo **intracelulární**
- **lipofilní hormon**-váže se na intracelulární receptor-jádro-DNA a reguluje expresi
- **hydrofilní liganda**-povrchový receptor
- 1.kinázová signální cesta-kináza vstupuje do jádra (**MAPK**)
- 2.kinázová cesta-uvolnění inhibičního proteinu-transkripční faktor vstupuje do jádra (**NF- κ B**)
- 3.kináza-transkripční nebo regulační faktor vstupuje do jádra (**JAK-STAT a Smad**).



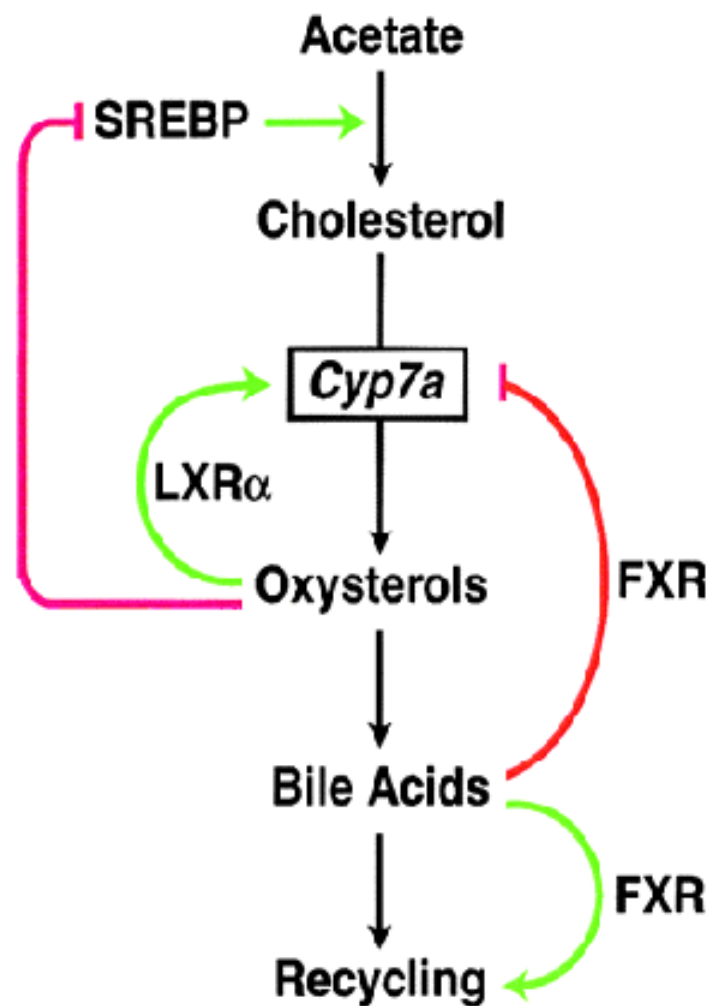
Mechanismy transkripční regulace PPAR

- Všechny 3 PPAR isotypy (γ , α a β/δ , také známý jako β nebo δ) obsahují 5' konzervované domény. Jako odpověď na rozpoznání ligand dochází ke konformační změně v aktivační funkční doméně 2 (AF2), což podporuje povolání koaktivátorů a uvolnění korepresorů.
- Transkripce PPAR vyžaduje tvorbu heterodimerů s RXR. Aktivovaný komplex RXR-PPAR vstupuje do interakce se specifickými PPREs (direct repeat 1) v promotorech pozitivně regulovaných cílových genů. Mechanismus represe cílových genů je méně jasný.

Role peroxisome proliferator-activated receptorů (PPARs) v ochraně cévní stěny



Regulatory Loops in Cholesterol Metabolism



Black arrows indicate metabolic pathways involving cholesterol and bile acids.

The cholesterol 7α -hydroxylase target gene (*Cyp7a*) is boxed. Green arrows indicate positive regulation. Red brakes indicate negative regulation.

Vitaminy rozpustné v tucích

Vitamin A

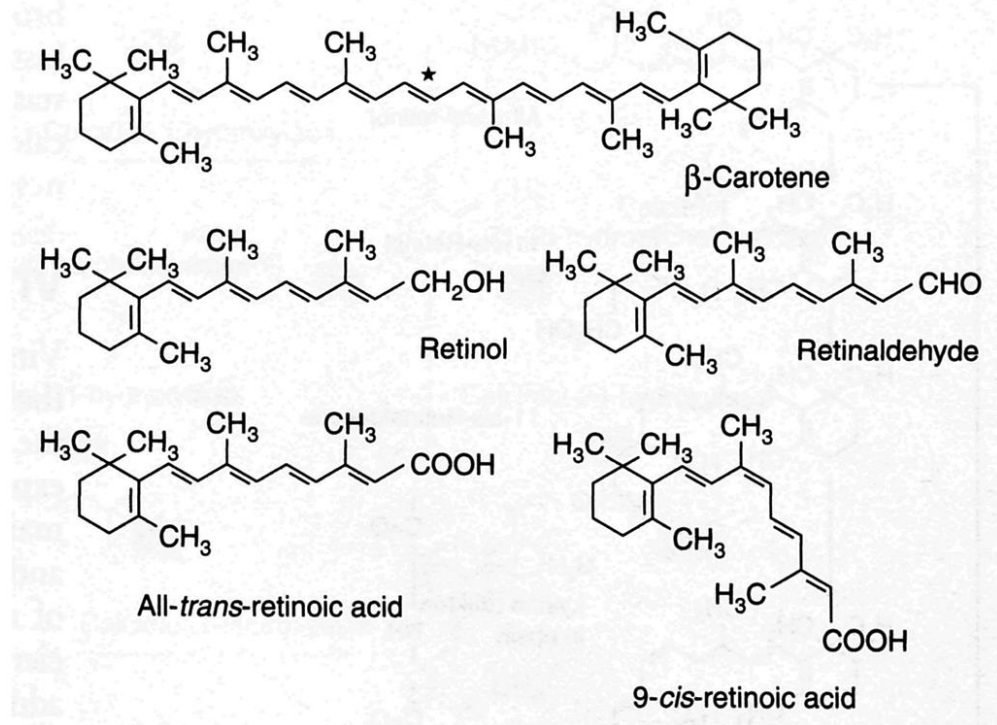
Vitamin A - retinol

Biologicky aktivními formami jsou retinoidy: retinol, retinal, kyselina retinová.

Prekurzory – provitaminy, karotenoidy.

V živočišné potravě většinou ve formě esterů – *retinol* a *douhá mastná kyselina* (retinylpalmitát)

Cyklohexanové jádro a isoprenoidní řetězec



Vitamin A

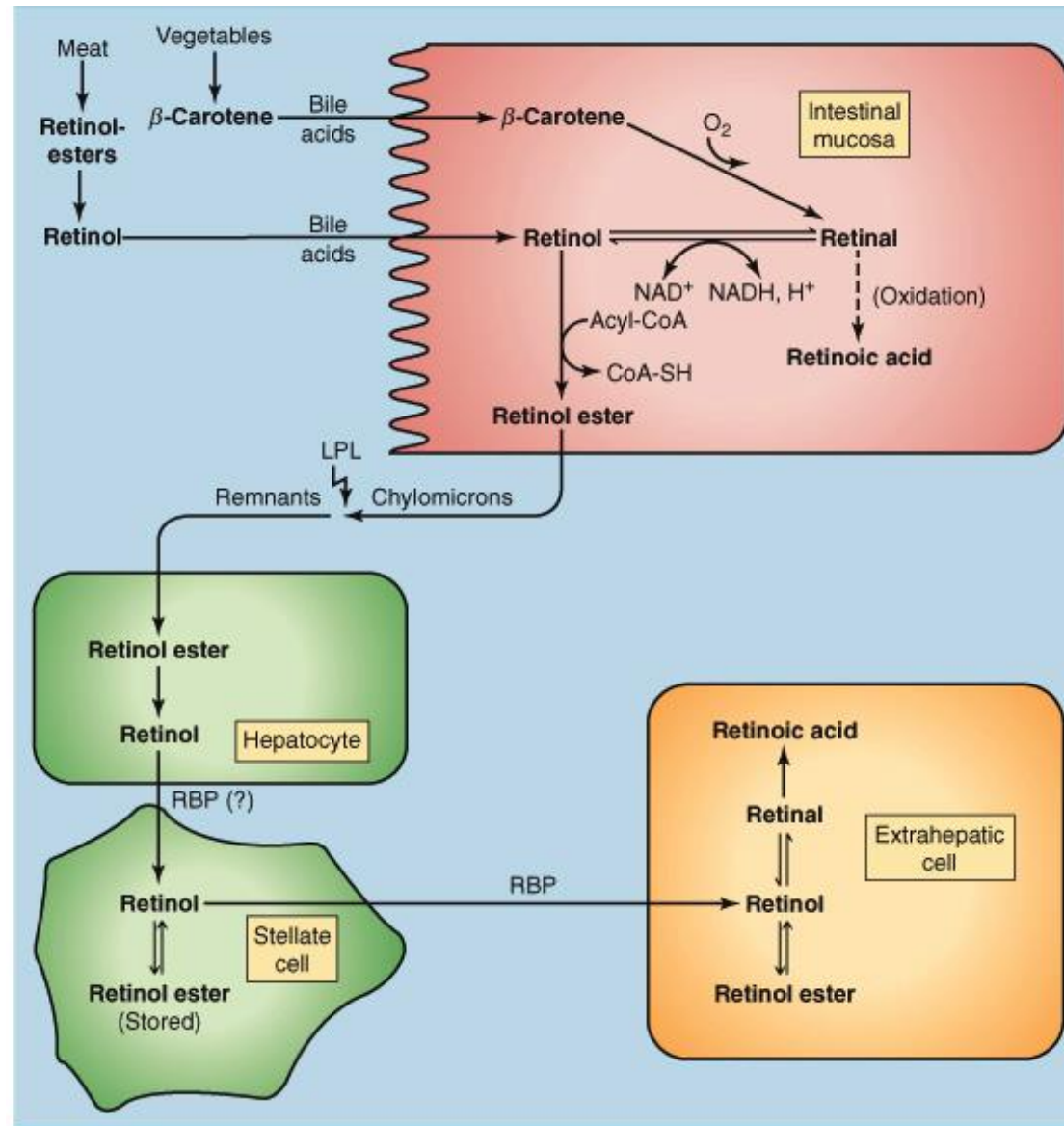
- Absorbce vyžaduje přítomnost solí žlučových kyselin
- Teratogenní vlastnosti- Isotretinoin
- Antikancerogenní efekty- snad jako antioxidant snižuje tvorbu volných radikálů a může tak omezovat ničivý vliv kancerogenů na DNA.
- Skvamózní metaplazie v respiračním traktu při deficitu vitamínu A
- Ovlivňuje senzitivitu na světlo

Vitamin A - efekty

- vývoj
- buněčnou proliferaci, diferenciaci a apoptózu
- homeostázu
- vidění
- reprodukci

Transport vit. A a jeho metabolismus

- Estery retinolu → hydrolýza pankreat. enzymy.
- Absorpce s účinností 60% -90%.
- b-karoten štěpen *b-karotendioxygenasou* na retinal.
- Střevní buňky → esterifikace retinolu a ten transport chylomikrony.
- Remnants chylomikronů → játra → esterifikace (pokud koncentrace esterů převyší 100 mg, jsou skladovány).
- Transport retinolu (retinol-binding protein, RBP) do mimojaterních tkání.



Extracelulární vazné proteiny

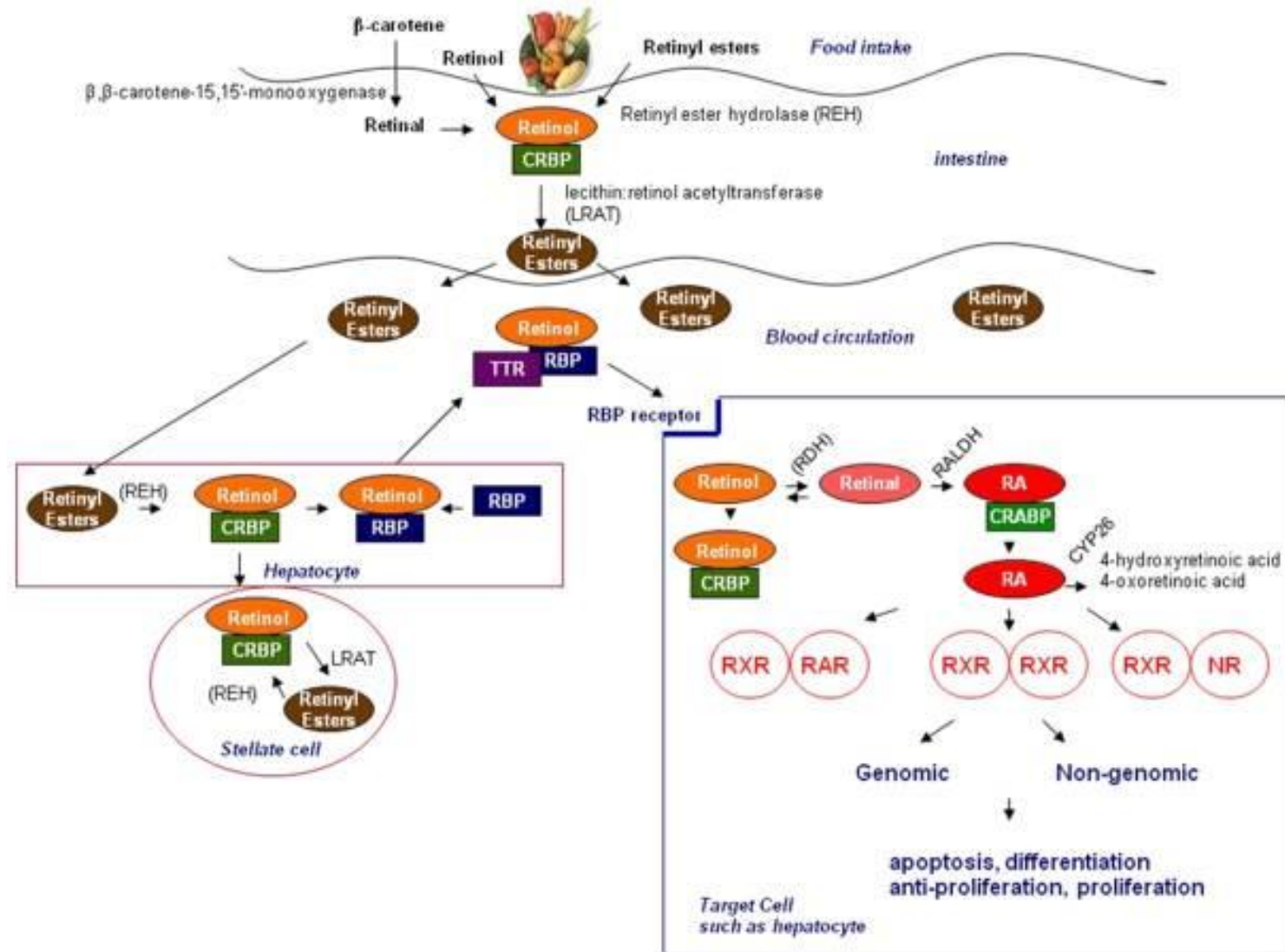
- **RBP**- retinol binding protein- retinol je ve vazbě sekretován játry. RBP produkován játry a tukovou tkání.
- **retinol-RBP-TTR (transthyretin) complex** : cirkulace v krvi (úzké rozmezí)

Intracelulární vazné proteiny

- **CRBPs**- cellular retinol binding proteins-
CRBPI- cytoplasma mnohých typů buněk
- **CRBPII**- cytoplasma střevních buněk
- **CRABPs**- cellular retinoic acid binding proteins- semenné vajíčky, vas deferens, kůže, oko
- **CRABPII**-kůže

Retinoidy

- Absorbovány z potravy, konvertovány na retinol a vázány na CRBP ve střevě. Dle konvertovány na retinyl estery- ty vstupují do cirkulace a jsou vychytány játry, dále metabolizovány hepatocyty na komplex retinol-RBP („retinol-binding protein“).
- V plasmě je tento komplex vázán na transthyretin (TTR) v poměru 1:1, aby nedocházelo k jeho předčasné eliminaci ledvinami a aby bylo možno retinol dopravit k cílové buňce.
- Vychytání retinolu cílovou buňkou je řízeno transmembránovým proteinem “stimulated by retinoic acid 6” (STRA6), který je receptorem pro RBP.
- V cílové buňce se retinol váže na CRBP, nebo je oxidován na retinaldehyd retinol dehydrogenázou (RDH). Retinaldehyd může být oxidován na kyselinu retinovou (RA) retinaldehyd dehydrogenázou (RALDH).
- RA se v cílové buňce váže na CRABP nebo vstupuje do jádra a váže se na nukleární receptory a moduluje genovou transkripci.
- Nebo RA působí negenomicky a reguluje celulární funkce jinak.
- Hepatocyty produkují retinoidy, ale jsou pro ně zároveň cílovými buňkami. Retinoidy jsou skladovány ve stelátních buňkách jater. Retinoidy tak mají významný dopad na funkci jater.



Ligandy pro RA

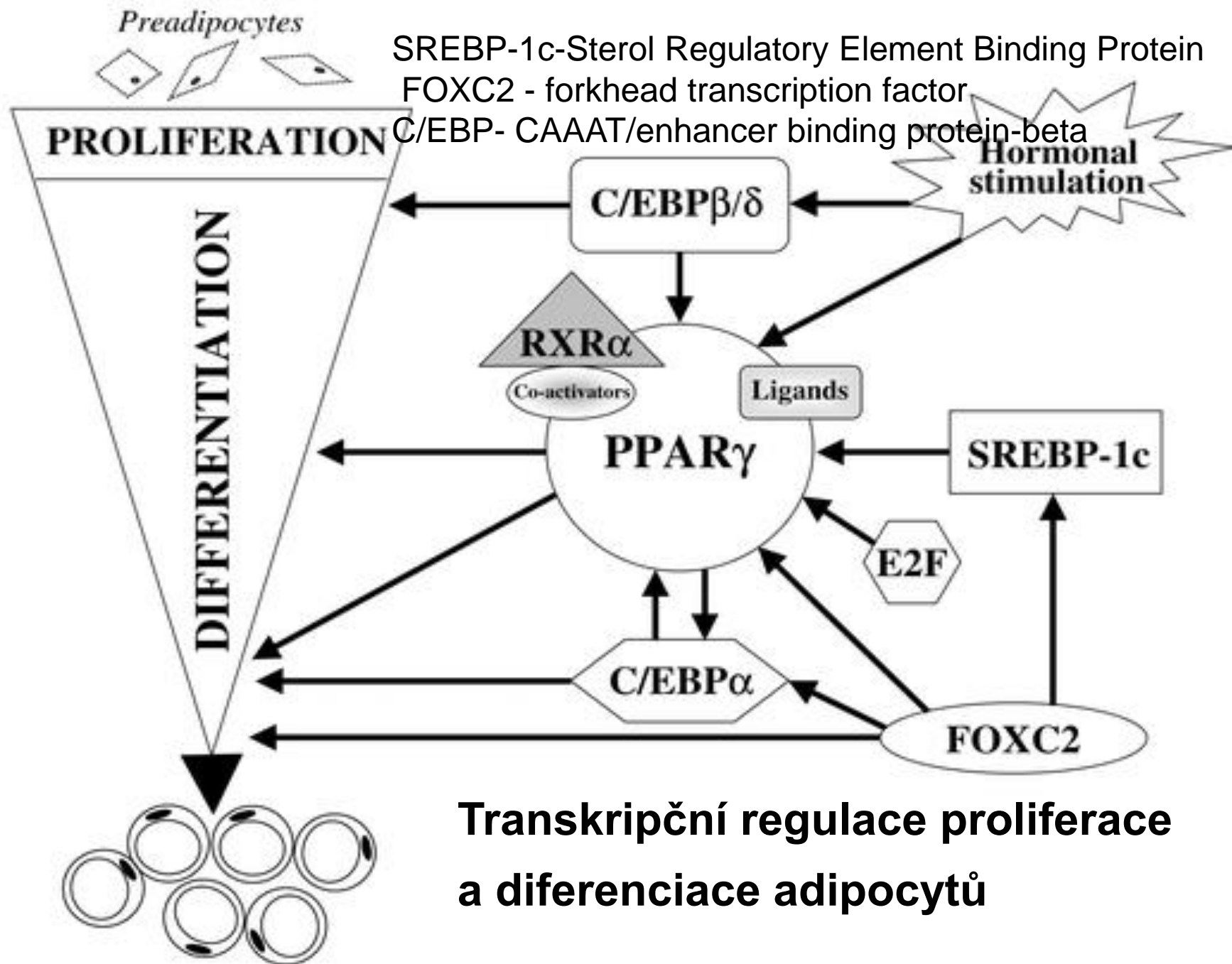
- RA působí prostřednictvím:
- RAR (izoformy α , β a γ)
- RXR (izoformy α , β a γ)
- RAR:RXR heterodimery

Mechanismy akce RXR

Mechanismy:

- 1. Ligandy jsou různé, ne nutně endokrinní, mohou být intracelulární
- 2. Mohou existovat i některé cesty nezávislé na ligandě (fosforylační kontrola)
- 3. Spolupráce s jinými faktory, jako je AP-1

Model aktivace: neligovaný receptor se váže na DNA a vytváří komplex s korepresorem- ligand se váže na DNA a uvolňuje korepresor- interakce s koaktivátory



SREBP-1c-Sterol Regulatory Element Binding Protein
 FOXC2 - forkhead transcription factor
 C/EBP- CAAAT/enhancer binding protein-beta

Deficit vitamínu A:

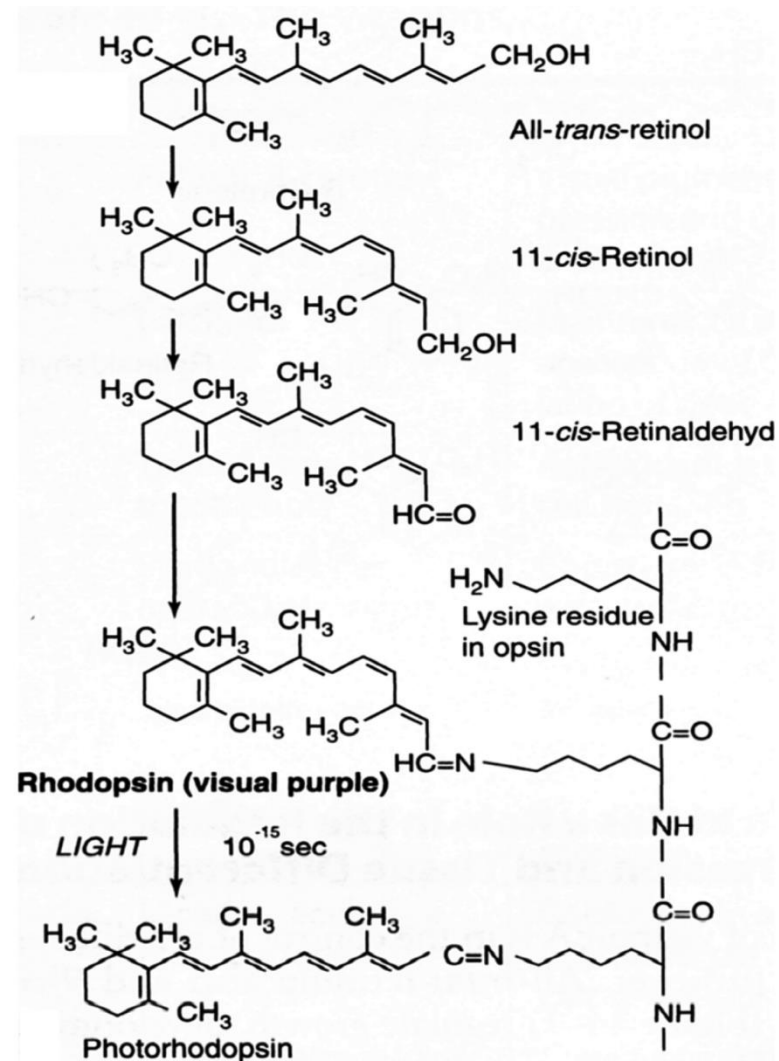
- × akné
- × zastavení růstu mláďat včetně skeletálního
- × selhání reprodukce, spjaté zejména s atrofií germinálního epitelu varlat a někdy s přerušením ženského sexuálního cyklu
- × keratinizace rohovky s následnou slepotou

Deficit vitaminu A

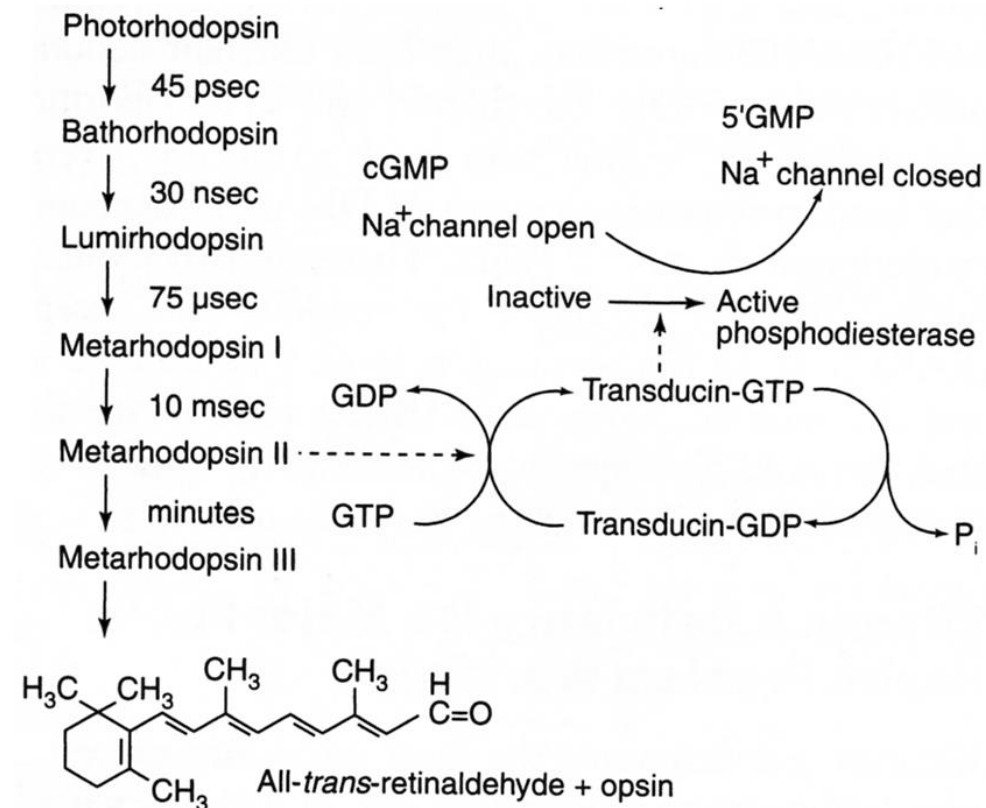
- primární defekt ve funkci Th buněk. Podkladem tohoto defektu je zřejmě nadprodukce IFN- γ . Retinoidy zřejmě působí až na efektorové stadium aktivace T-buněk.
- modulace syntézy imunoglobulinů prostřednictvím RA se zřejmě uskutečňuje také přímým efektem na B-buňky. Tento efekt zvyšující syntézu Ig je zřejmě modulován, alespoň částečně, autokrinními nebo parakrinními efekty IL-6 na diferenciaci B-buněk.

Vitamin A a vidění

- Nutný pro tvorbu **rodopsinu** (tyčinky) a **iodopsinu** (čípky) - zrakového pigmentu.
- Retinaldehyd je prostetickou skupinou opsinu.
- *All-trans*-retinol izomerace → oxidace a 11-*cis*-retinaldehyd reakce s opsinem (Lys) → holoprotein *rodopsin*.
- Působením světla → konformační změny opsinu.

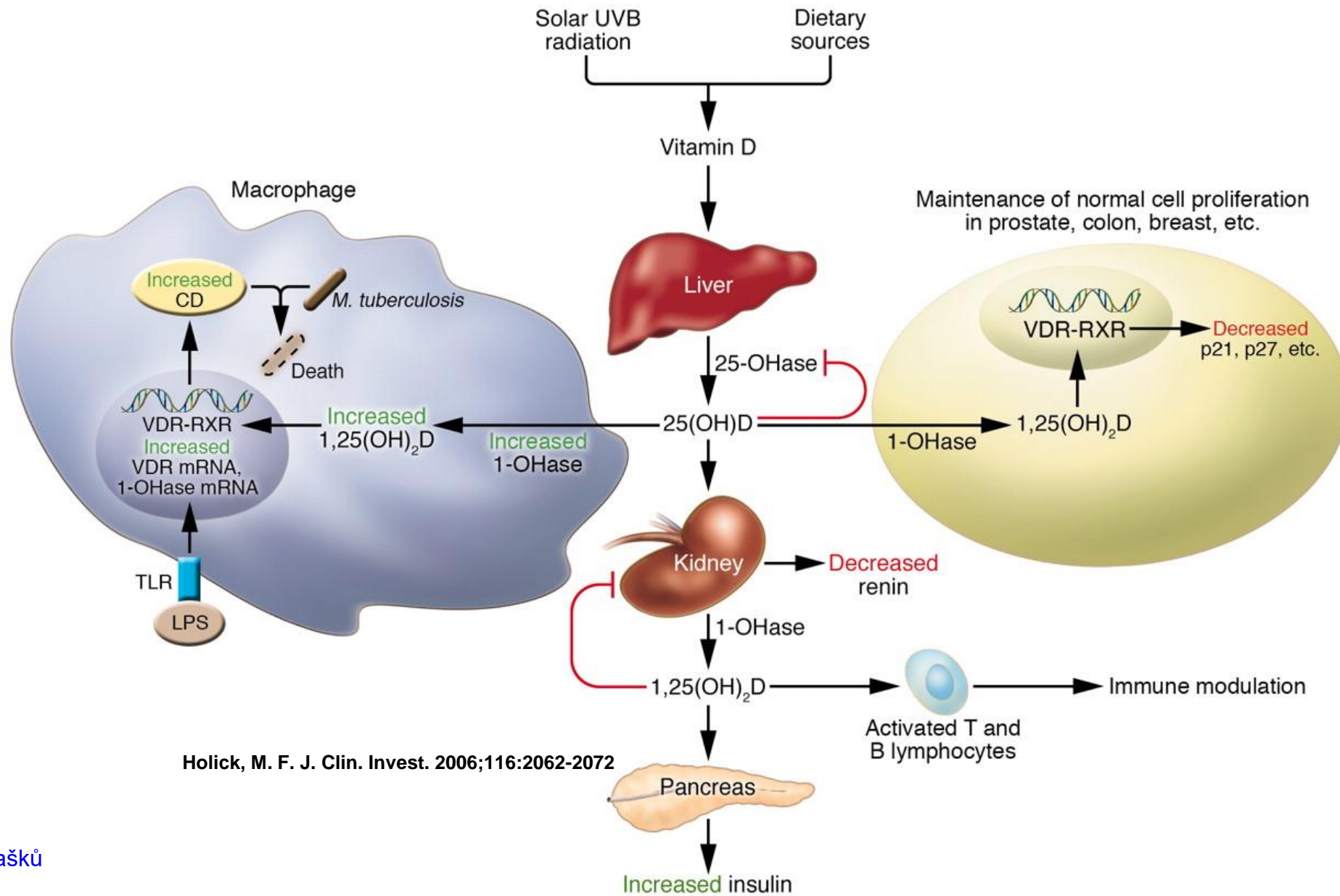


Rhodopsinový
sítňicový
vizuální cyklus
v tyčince, který
ukazuje dekompozici
rhodopsinu během
světelné expozice
a následnou pomalou
novotvorbu
rhodopsinu
chemickými
procesy



Účinky vitaminu A a E

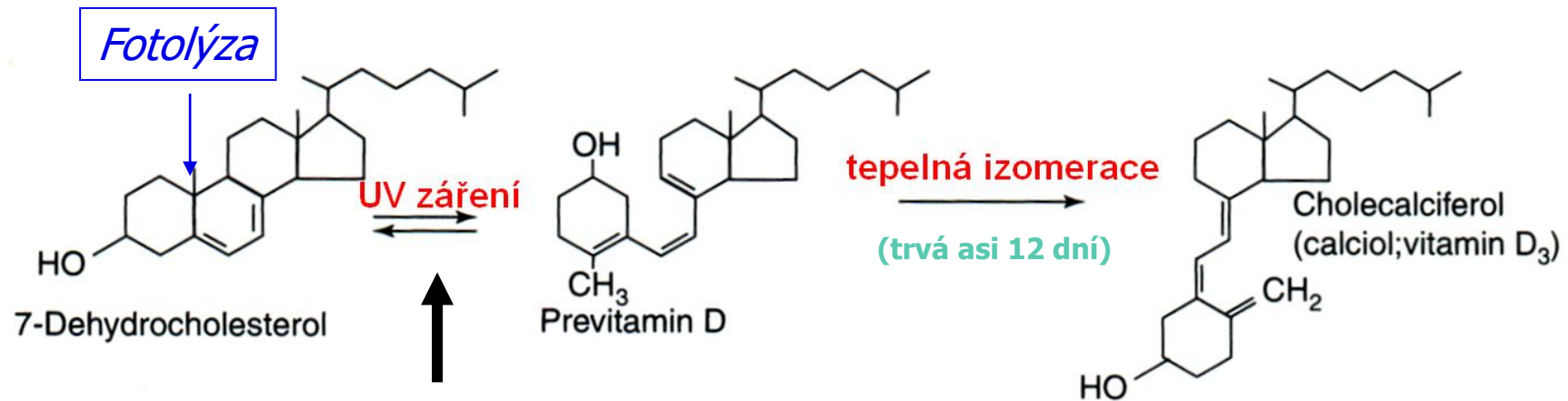
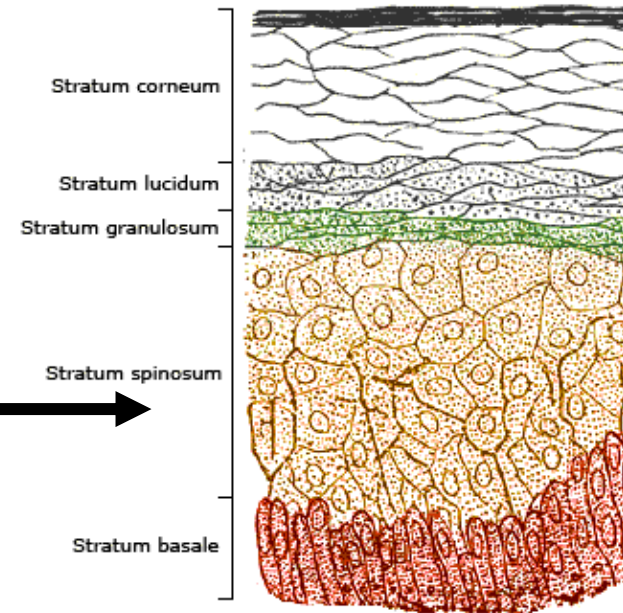
- β - karoten, vitamin A a vitamin E zřejmě redukuje výskyt:
 - ústních prekanceróz
 - prekanceróz děložního čípku, kůže a plic



Holick, M. F. J. Clin. Invest. 2006;116:2062-2072

Vitamin D- syntéza

UV záření 270 – 300 nm

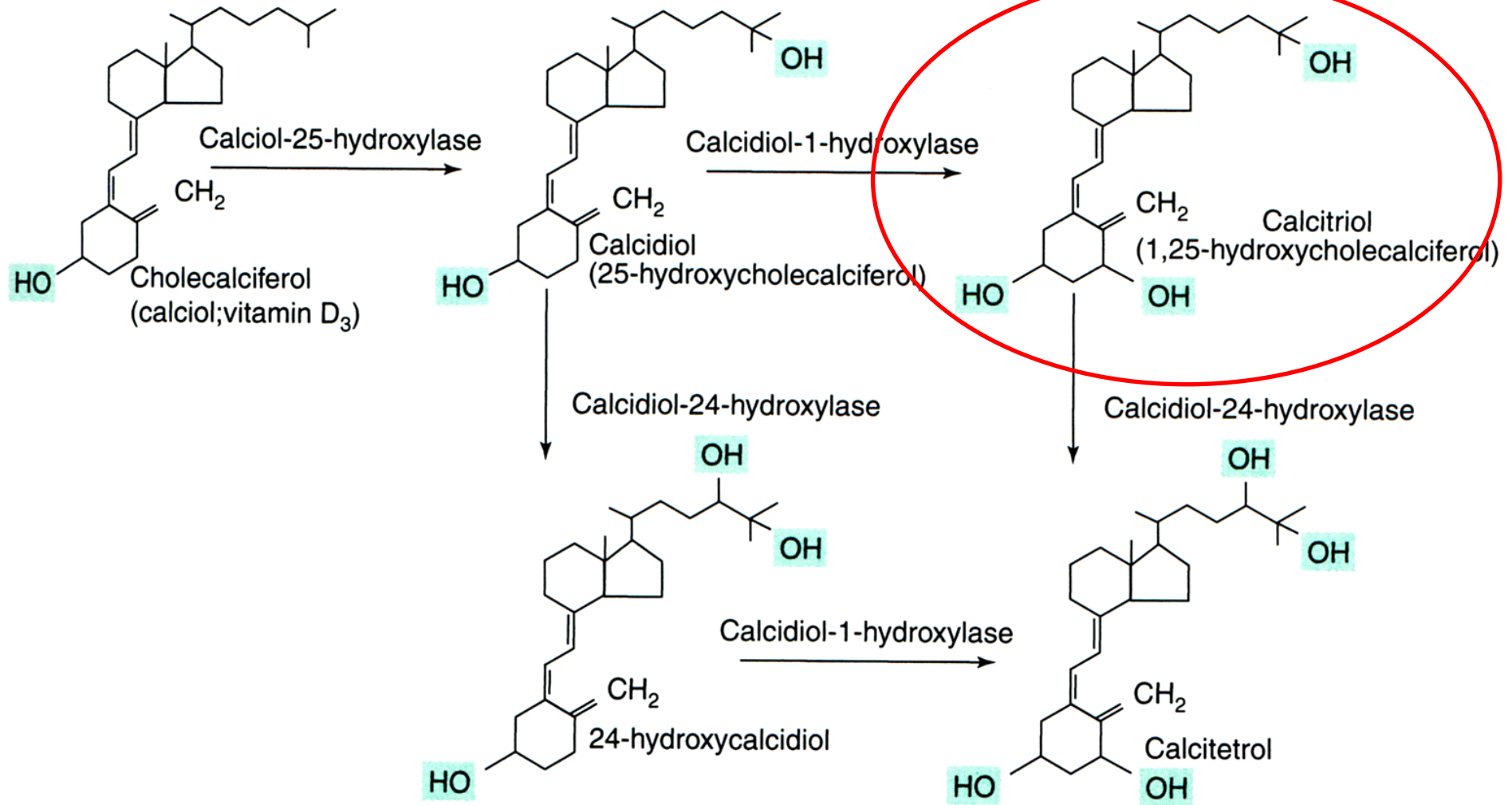


Neenzymatická reakce v kůži

Transport do jater

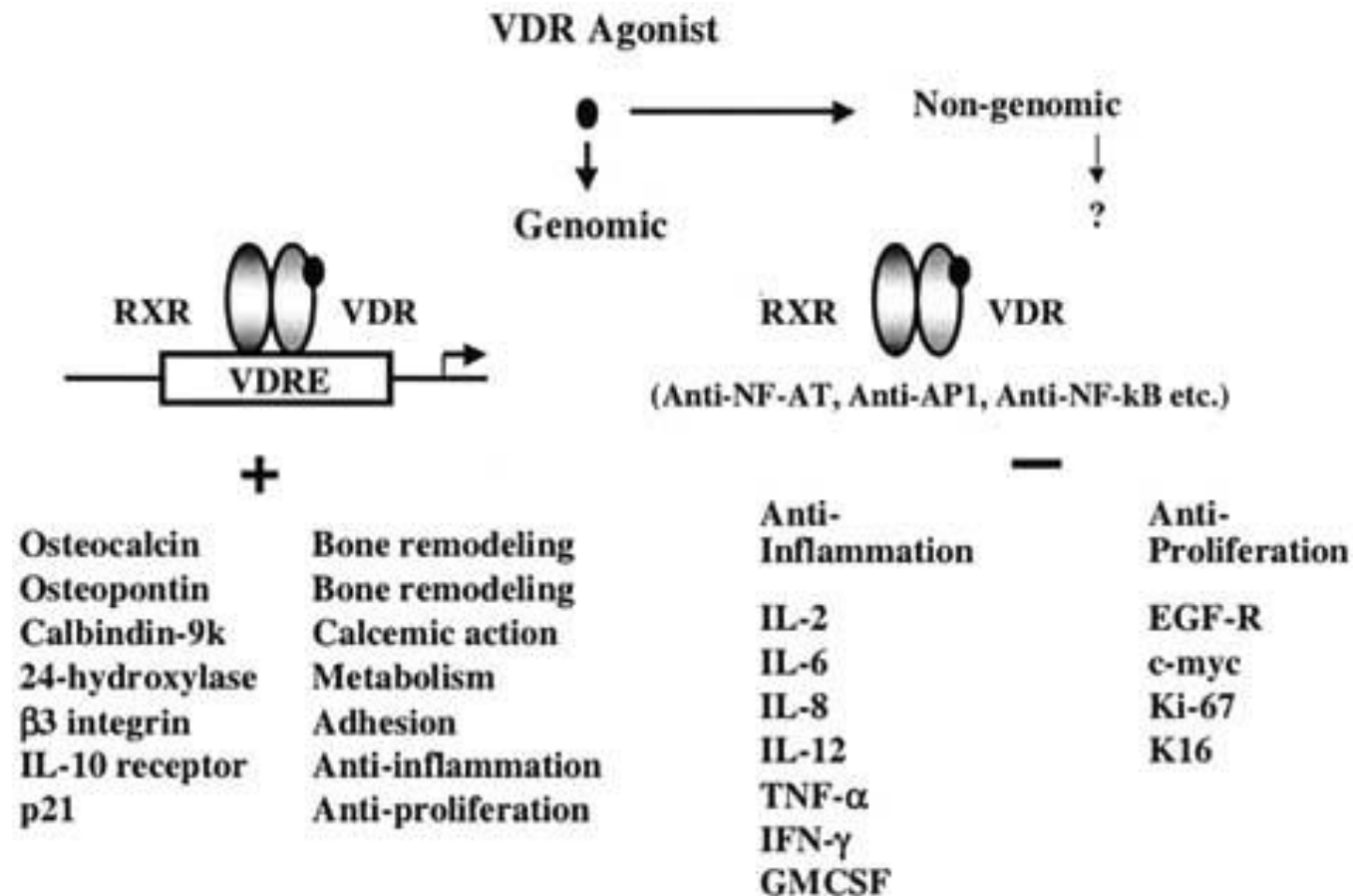
Játra

Ledviny



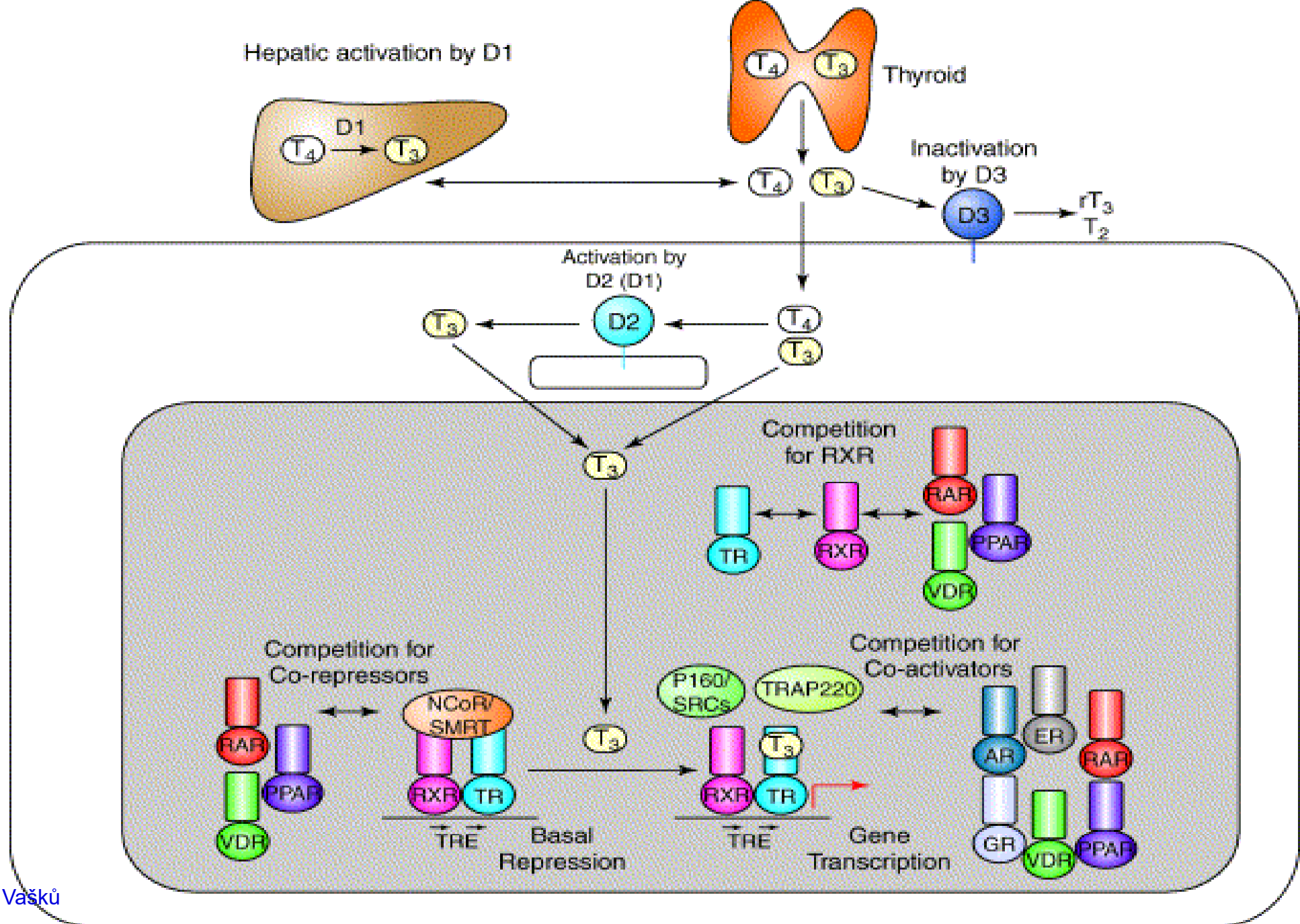
Inaktivní forma

Regulation exprese genů prostřednictvím VDR



RAR a VDR

- vážou se preferenčně s nukleárním faktorem pro 9-cis RA, který se označuje jako RXR – retinoidní X receptor
- RAR-VDR heterodimery.
- Oba typy vstupují do interakce se členy stejných tříd koaktivátorů, korepresorů a kointegrátorů (proteiny). Tyto molekulární mechanismy umožňují interakce RAR a VDR, založené na alosterických interakcích protein-protein.

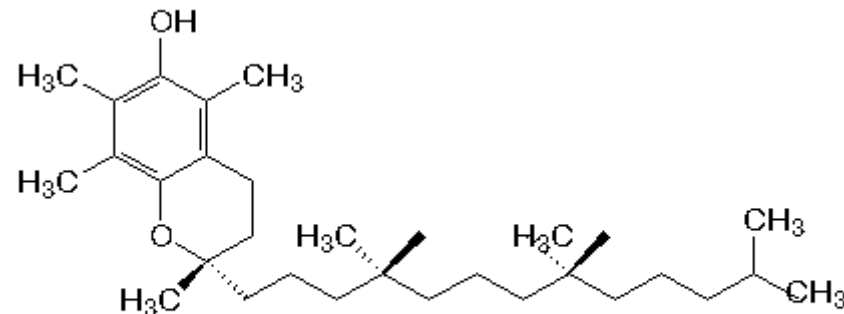


Vitamin E

- je schopen efektivně inhibovat cytokiny indukovaný NF κ B. Ten hraje klíčovou roli např. při indukci iNOS prostřednictvím lipopolysacharidů.
- **Familial vitamin E deficiency (AVED)** způsobuje ataxii a periferní neuropatii, která se podobá Friedreichově ataxii. Byly u ní objeveny 3 mutace v alfa-tokoferol transfer protein (TTP) genu (2 závažnější byly typu frame-shift).

Vitamin E

- Existují čtyři tokoferolové (a-, b-, g-, d-) a čtyři tokotrienolové izomery (a-,b-, g-, d-), které mají biologickou aktivitu.
- Všechny jsou tvořené chromanovým kruhem a hydrofobním fytylovým vedlejším řetězcem.
- Nejvyšší biologickou aktivitu vykazuje a-tokoferol.



Vitamin E (α-tocopherol)

Deficit vitamínu E a kvalita imunitní odpovědi u člověka

Imunitní odpověď	Výsledek
Mitogeneza T buněk	Snížená
Produkce IL-2	Snížená
Fagocytóza PMN	Snížená
Chemotaxe PMN	Snížená

Oxidační stres

- Oxidační stres je nerovnováha mezi prooxidačními a antioxidačními faktory v buňce ve prospěch prooxidačních a může mít za následek poškození buňky. Živé buňky reagují na fyzikální, chemické a biologické vlivy prostředí, které v nich způsobují tvorbu volných kyslíkových radikálů (ROS). Také vlastní energetický metabolismus buňky vede k tvorbě ROS v mitochondriích. Buňka je schopna volné kyslíkové radikály likvidovat četnými antioxidačními mechanismy, jako jsou např. superoxid dismutázy (SOD: MnSOD a Cu/Zn SOD) a glutathion (GSH) v mitochondriích a cytosolu. Kapacita těchto mechanismů však může být překročena.

Oxidační stres

- Jakmile se ROS v buňce akumulují, mohou napadnout tuky, bílkoviny a DNA. V tom případě může dojít k poškození DNA a aktivaci supresorového genu p53 jako tzv. „strážce genomu“. P53 prostřednictvím aktivace p21 a retinoblastomového proteinu (Rb) zastaví buněčný cyklus v kontrolním bodě G1. Mezitím p53 spouští mechanismy, které mají za úkol poškozenou DNA opravit. Pokud dojde k opravě DNA, buňka přežívá, pokud se oprava DNA nezdaří, je při převaze BAX („signál smrti“) nad BCL-2 („signál přežití“) buňka poslána aktivací kaspáz do apoptózy. Na aktivaci kaspáz se podílí také cytochrom C, který se dostává z mitochondrií do cytosolu v důsledku otevření pórů mitochondriální membrány pod vlivem BAX.
- Oxidační stres se účastní v patogeneze četných kardiovaskulárních, zánětlivých, metabolických, neurodegenerativních a nádorových nemocí.

Oxidační stres

- Vaskulární oxidační stres je determinován rovnováhou mezi ROS, které poškozují endotel, a protektivním NO. ROS jsou produkovány vaskulárními oxidázami (NADPH oxidáza, xantin oxidáza, mitochondriální oxidázy) a také některými NOS, pokud produkují ROS místo NO. V těchto podmínkách dochází k endoteliální dysfunkci s poruchou relaxace cévní stěny indukované NO.

Redukční a oxidační stres

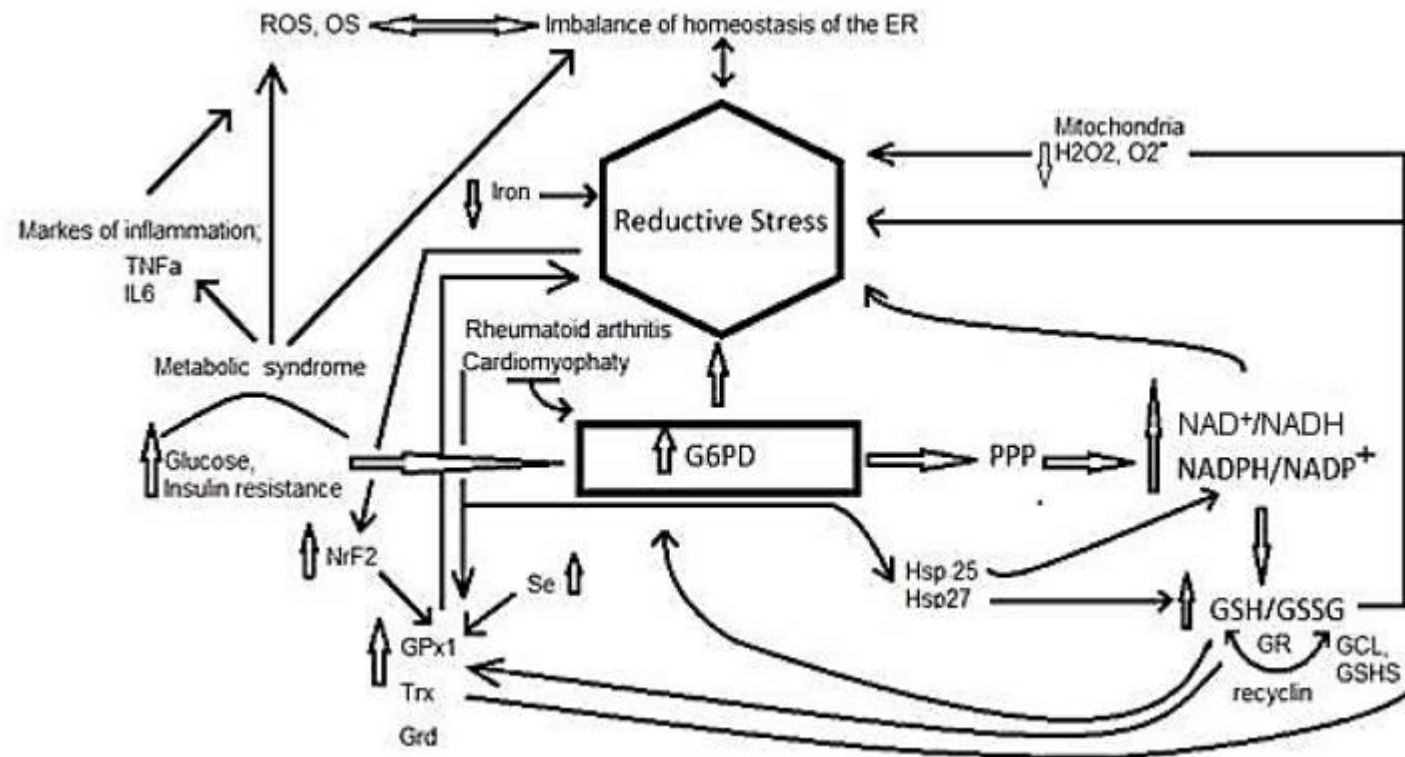
- Reductive stress (RS) is the counterpart oxidative stress (OS), and can occur in response to conditions that shift the redox balance of important biological redox couples, such as the NAD^+/NADH , $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$, and GSH/GSSG , to a more reducing state. Overexpression of antioxidant enzymatic systems leads to excess reducing equivalents that can deplete reactive oxidative species, driving the cells to RS.

Redukční a oxidační stres

- A feedback regulation is established in which chronic RS induces OS, which in turn, stimulates again RS. Excess reducing equivalents may regulate cellular signaling pathways, modify transcriptional activity, induce alterations in the formation of disulfide bonds in proteins, reduce mitochondrial function, decrease cellular metabolism, and thus, contribute to the development of some diseases in which **NF- κ B**, a **redox-sensitive transcription factor**, participates.
- Diseases: cardiomyopathy, hypertrophic cardiomyopathy, muscular dystrophy, pulmonary hypertension, rheumatoid arthritis, Alzheimer's disease, and metabolic syndrome, among others.
- Chronic consumption of antioxidant supplements, such as vitamins and/or flavonoids, may have pro-oxidant effects that may alter the redox cellular equilibrium and contribute to RS, even diminishing life expectancy.

REDUKČNÍ stres (RS)

- RS is characterized by an excess of reducing equivalents. It leads to a decrease of ROS production through antioxidant enzyme overexpression that may cause an alteration in the redox state of intracellular higher $\text{NAD}^+/\text{NADPH}$, and GSH/GSSG ratio.
- A balance in Se and iron levels is needed for several biological functions in the human body, and its excess and/or insufficient intake can result in adverse health effects and contribute to RS.
- RS alters the mitochondrial function, causes misfolding of proteins, and may participate in several **inflammation-associated diseases**.
- Hyperglycemic conditions induce RS through inhibition of the insulin receptor by selenium-GPx-1 overexpression.

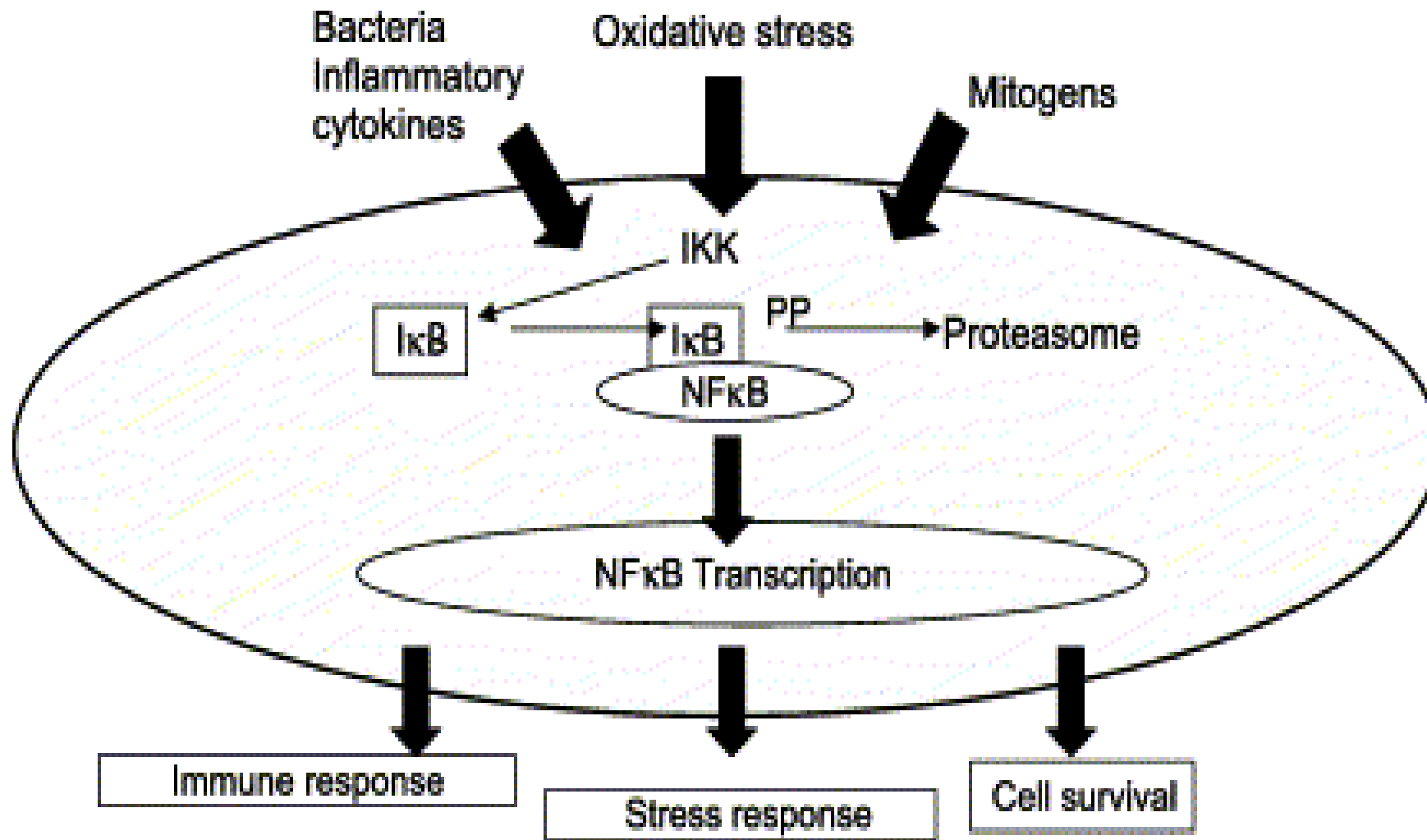


[Int J Mol Sci](#). 2017 Oct; 18(10): 2098

Participation of several agents such as the reducing equivalents, antioxidant enzymes and pathologies in reductive stress. Abbreviations: G6PD = glucose 6 phosphate dehydrogenase, NAD = nicotinamide adenine dinucleotide, NAD⁺ = nicotinamide adenine dinucleotide oxidized, NADH = nicotinamide adenine dinucleotide reduced, NADPH = nicotinamide adenine dinucleotide phosphate reduced, GSH = glutathione, GSSG = glutathione disulfide, PPP = pentose phosphate pathway, γ-glutamyl-cysteine synthase, GSHS = glutathione synthetase, GPx = Glutathione peroxidase, Trx = thioredoxin, Grd = glutaredoxin, TNFα = tumor necrosis factor alpha, Nrf2 = erythroid related factor 2, IL6 = interleukin 6, ROS = reactive oxidative species, OS = oxidative stress, ER = endoplasmic reticulum, Se = selenium, Hsp = heat shock protein, GR = glutathione reductase.

Oxidační stres

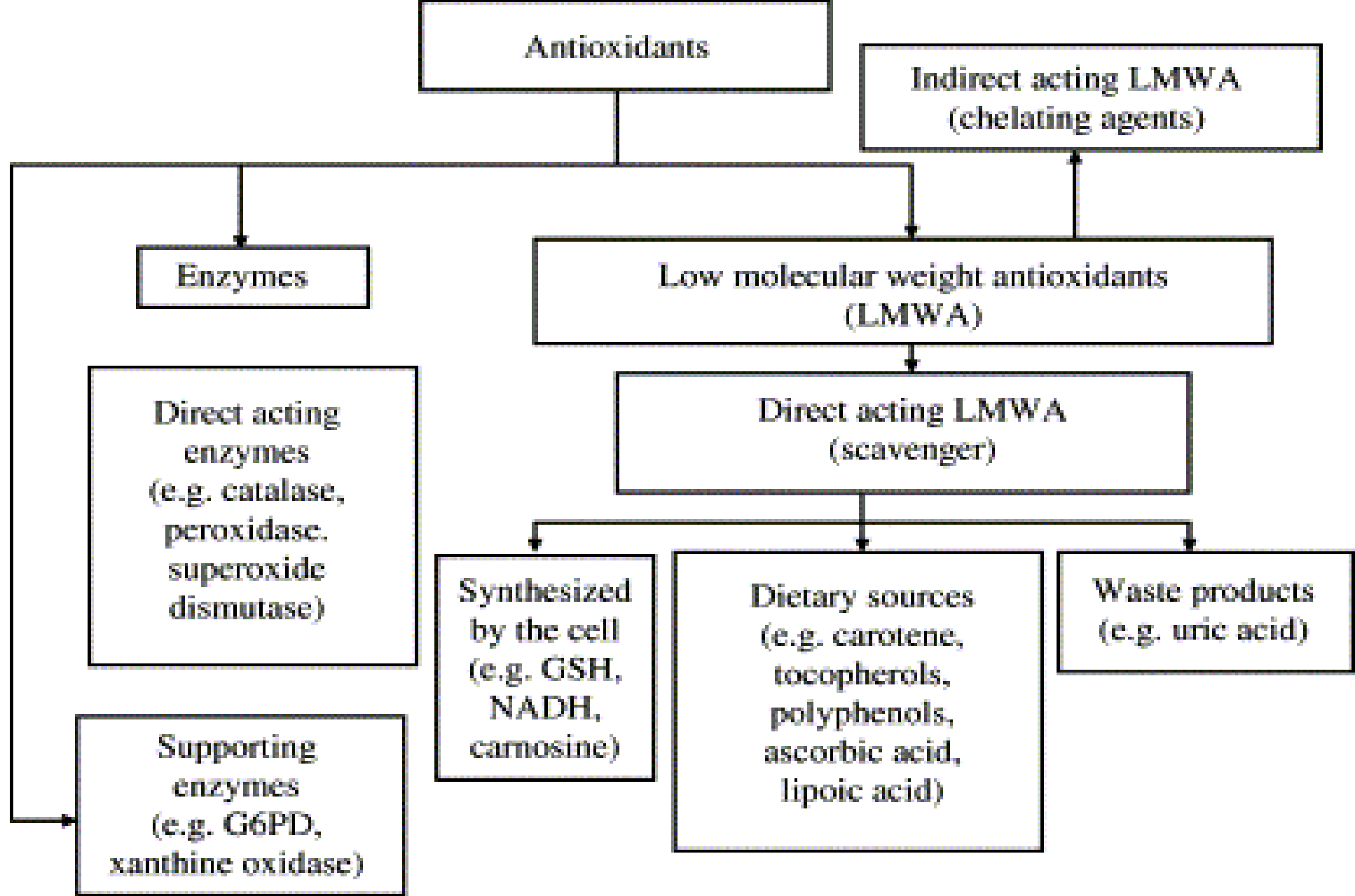
- je spjat se zmenšením počtu antioxidantních molekul, jako alfa-tokoferol.
- Alfa-tokoferol specificky snižuje proliferaci buněk hladké svaloviny cév v závislosti na koncentraci. Snižuje přitom aktivitu protein kinázy C zvýšením aktivity protein fosfatázy 2A1, který defosforyluje PKC-alfa, což vede ke změnám složení a vazby transkripčního faktoru pro AP-1 na DNA.
- několik genů v buňkách hladké svaloviny cév mění svou transkripci pod vlivem alfa-tokoferolu. Zvyšuje se transkripce i translace alfa-tropomyosinu, ale jen pod vlivem alfa-tokoferolu, nikoliv beta-tokoferolu
- PKC-alfa se v průběhu života zvyšuje 8x, podobně jako MMP-1, která degraduje kolagen. Alfa-tokoferol snižuje expresi MMP, aniž ovlivňuje aktivitu TIMP-1.
- Antioxidační vitamíny, polyfenoly a estrogeny konzumované ve vysokých koncentracích mohou navodit prooxidační stnt stav.

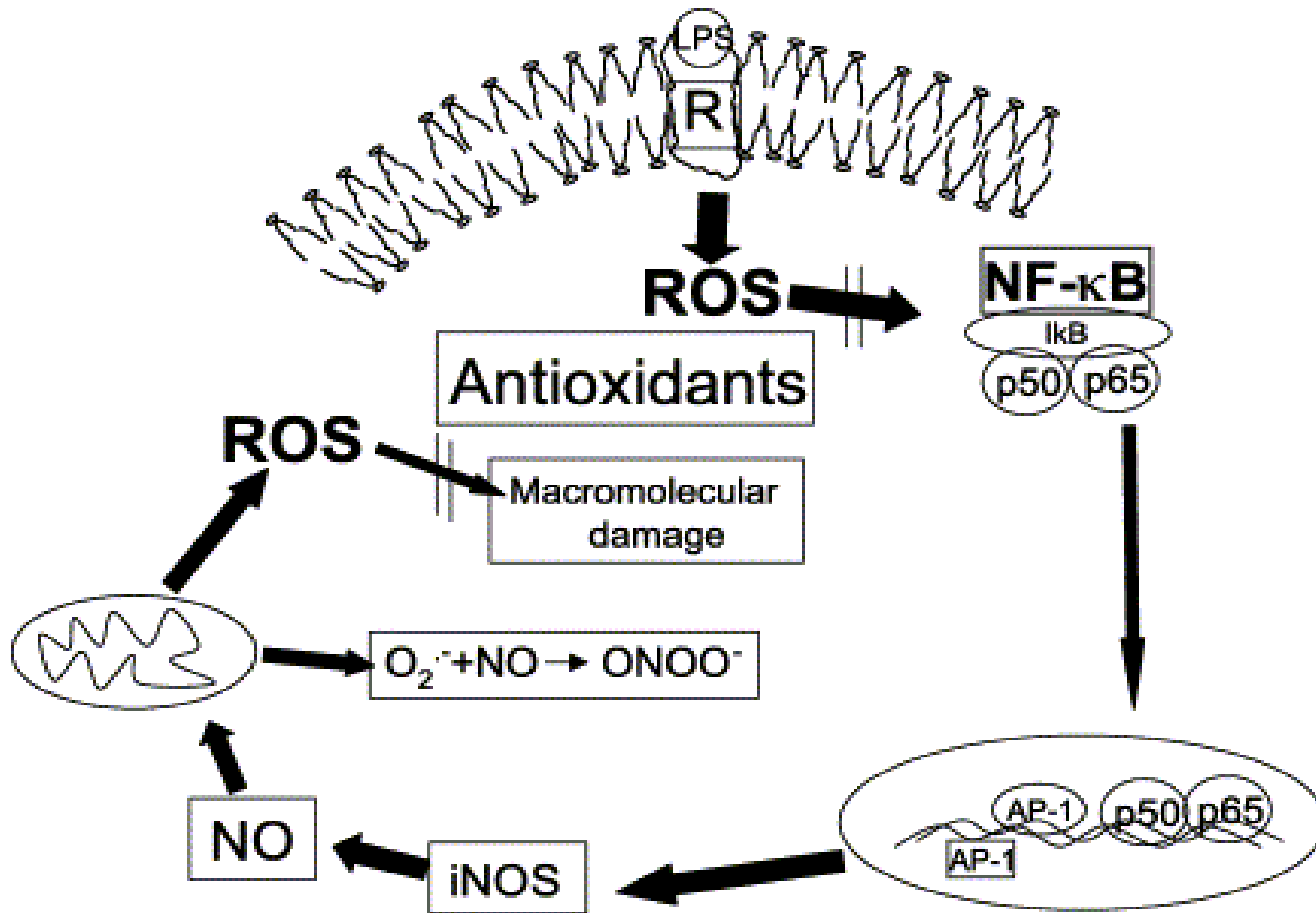


Signalizace oxidačního stresu. Cytokiny a ROS indukují aktivaci NF-κB. Tato aktivace zabraňuje apoptóze buněk navozované TNF upregulací antiapoptotických genů

Oxidační stres

- nezávisle na doprovodných proměnných, jako je tkáňová reakce, **moduluje expresi genů pro kolagen in vivo.**
- Rovnováha v oxidačním-antioxidačním stavu je důležitou determinantou pro **funkci imunocytů.**
- Zajišťuje:
 - ✓ **udržování integrity a funkčního stavu membránových lipidů, celulárních proteinů a NK**
 - ✓ **kontrolu signální transdukce buněk imunitního systému**
 - ✓ **kontrolu genové exprese buněk imunitního systému**





Možná místa působení antioxidant.

Vitamin E

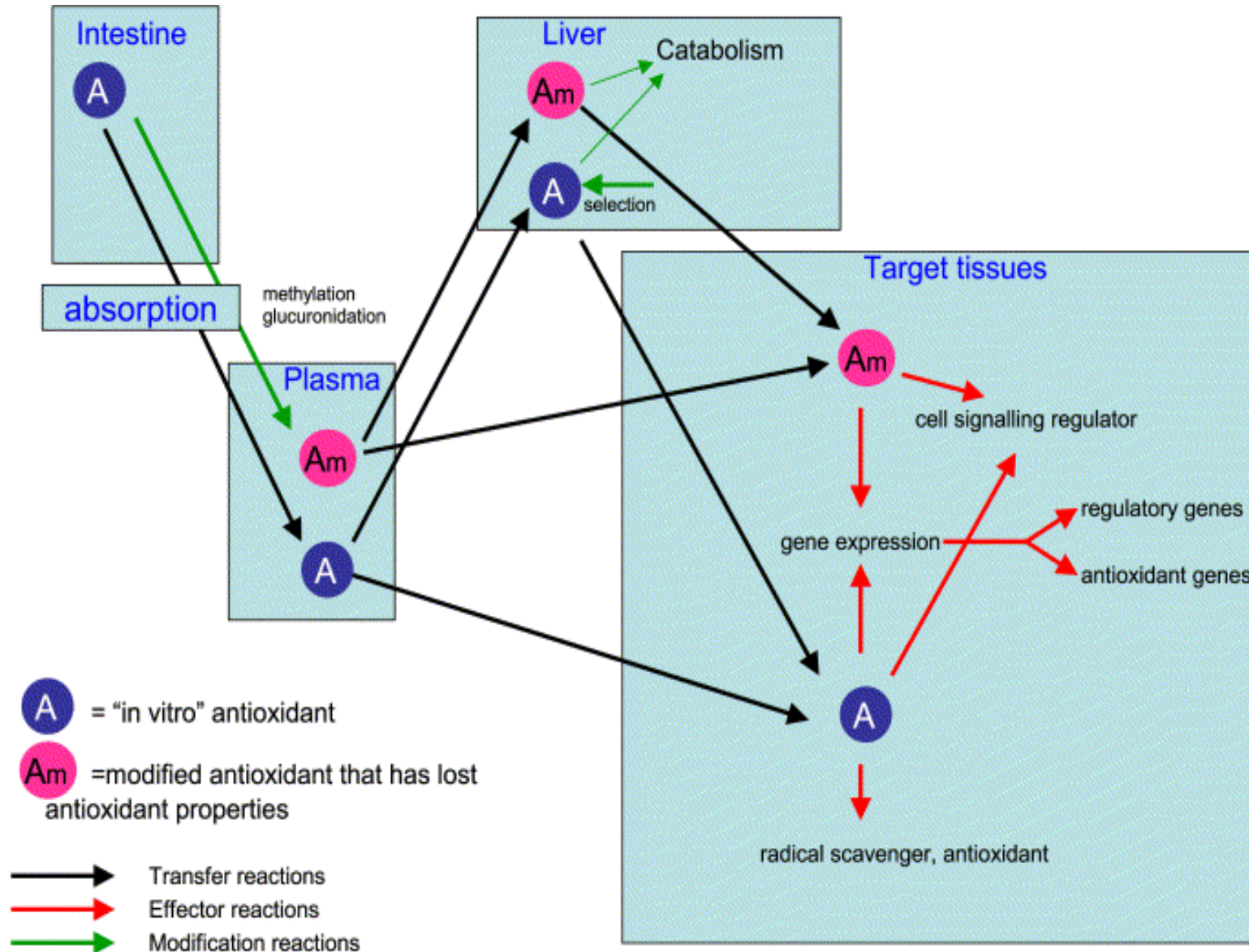
- Absorbován v tenkém střevě, příjem je vázán na fungující vstřebávání tuků.
- Krví přenášen v lipoproteinech → vychytáván v játrech receptory pro apolipoprotein E.
- Navázán na *α-tokoferol transportní protein* (α-TTP) → přenášen do cílových orgánů (přebytek uložen v adipocytech, ve svalech, játrech).
- b-, g- a d-tokoferoly přenášeny do žluče a degradovány.

Rovnováha oxidantů a antioxidantů

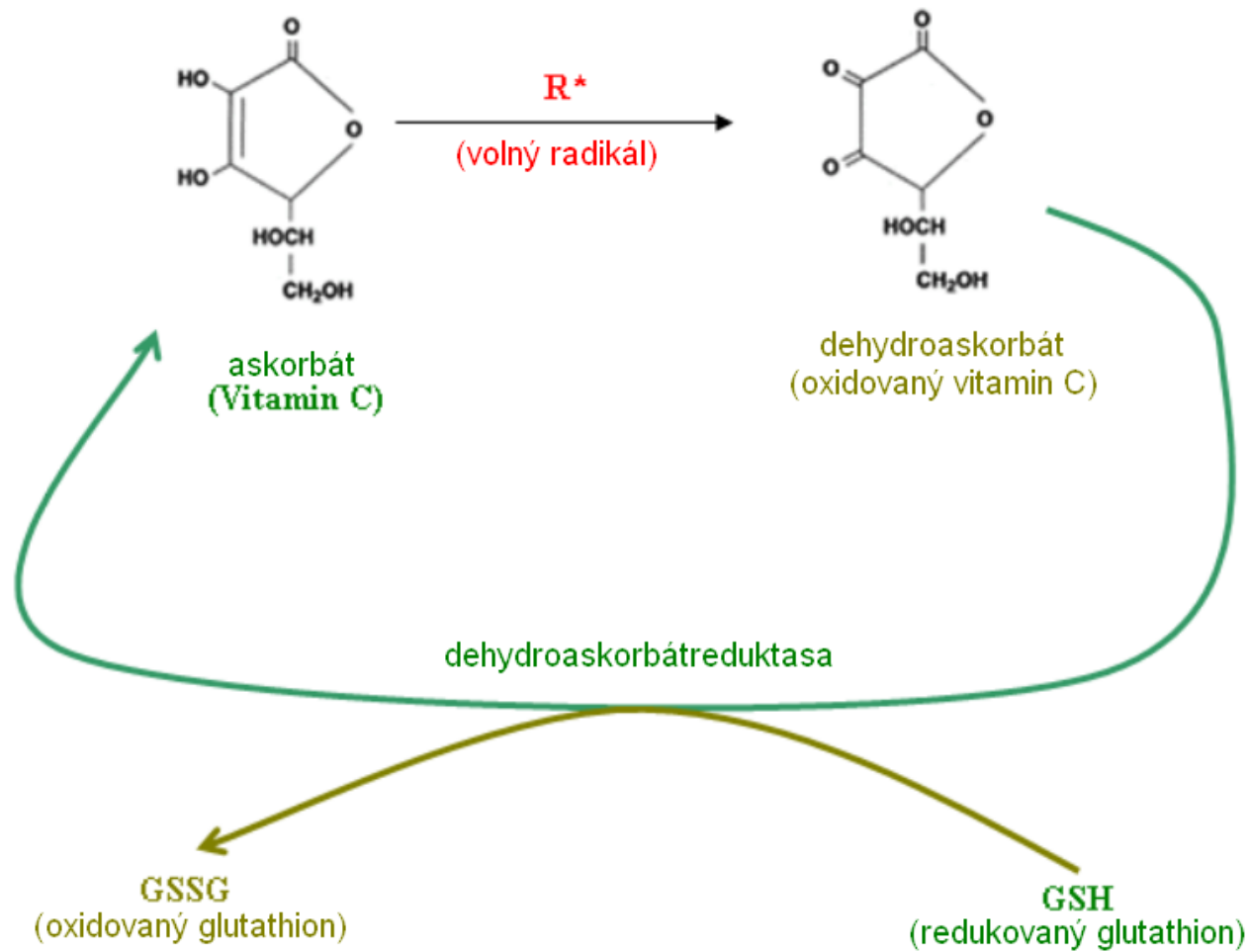
- K udržení imunitních funkcí v průběhu celého života je potřeba optimálního množství antioxidant.
- S věkem stoupá:
 - produkce volných kyslíkových radikálů
 - peroxidace lipidů

Přírodními antioxidanty jsou

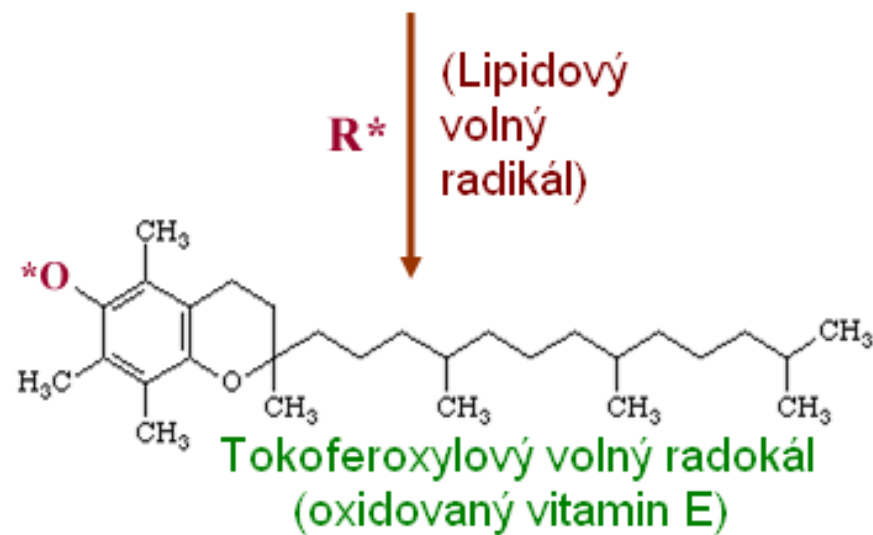
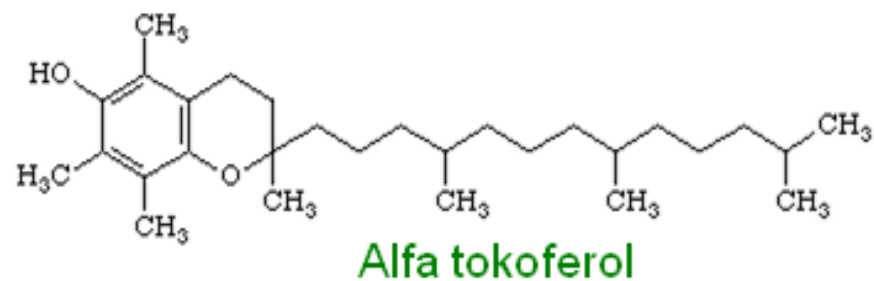
- vitamin E
- β -karoten
- glutathion.



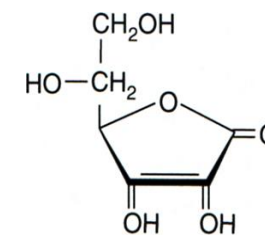
Vitamin C – antioxidant



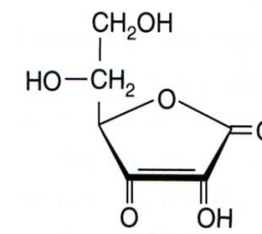
Vitamin C – antioxidant



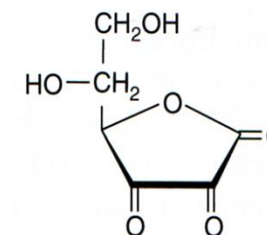
Vitamin C



Askorbát



Monodehydroaskorbát (semidehydroaskorbát)



Dehydroaskorbát

Kouření a antioxidační potenciál

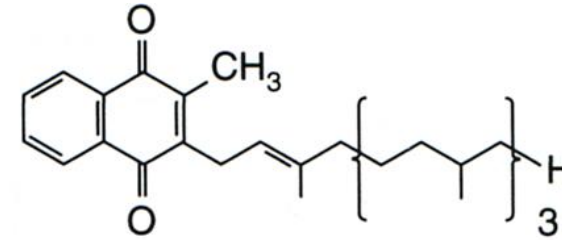
- Kuřáci mají obvykle nízký příjem nutričních antioxidantů.
- U kuřáků byly nalezeny:
 - vyšší plasmatické hladiny TNF a IL-6
 - nezměněné hladiny vitamínu A a E
 - nižší hladina vitamínu C, ačkoliv příjem vitamínu C se od nekuřáků neliší
 - zvýšená je produkce proteinů akutní fáze (alfa-1 kyselý glykoprotein, ceruloplasmin, alfa-2 makroglobulin).

Vitamin K

- Označení "K" je odvozeno z německého slova "Koagulation", srážení krve.
- Je nezbytný pro funkci několika proteinů podílejících se na srážení krve.
- Nezbytný v procesu udržování integrity kostí, buněčného růstu a metabolismu proteinů cévní stěny.

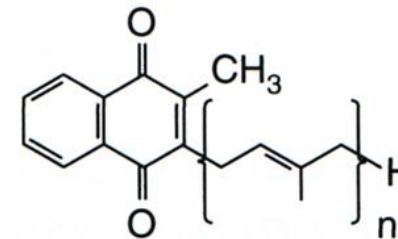
Vitamin K

- Vitamin K₁ (fylochinon) – rostlinný původ.
- Vitamin K₂ (menachinon) – produkován střevními bakteriemi.
- K₁ a K₂ jsou v organismu využívány rozdílným způsobem
 - K₁ - hlavně pro srážení krve a jeho hlavním orgánem působení jsou játra,
 - K₂ – důležitý v nekoagulačních dějích, v buněčném růstu a v metabolismu buněk cévní stěny.
 - Vitamin K₂ je transkripčním regulátorem genů specifických pro kost. Působí přes SXR (steroid and xenobiotic receptor) a tím podporuje expresi osteoblastických markerů. SXR funguje jako xenobiotický senzor, ale zřejmě i jako mediátor kostní homeostázy.



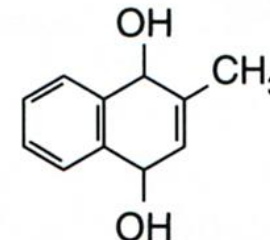
Fylochinon

Vitamin K₁



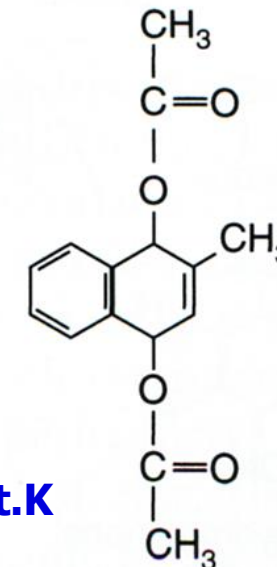
Menachinon

Vitamin K₂



Menadiol

Syntetické deriváty Vit.K



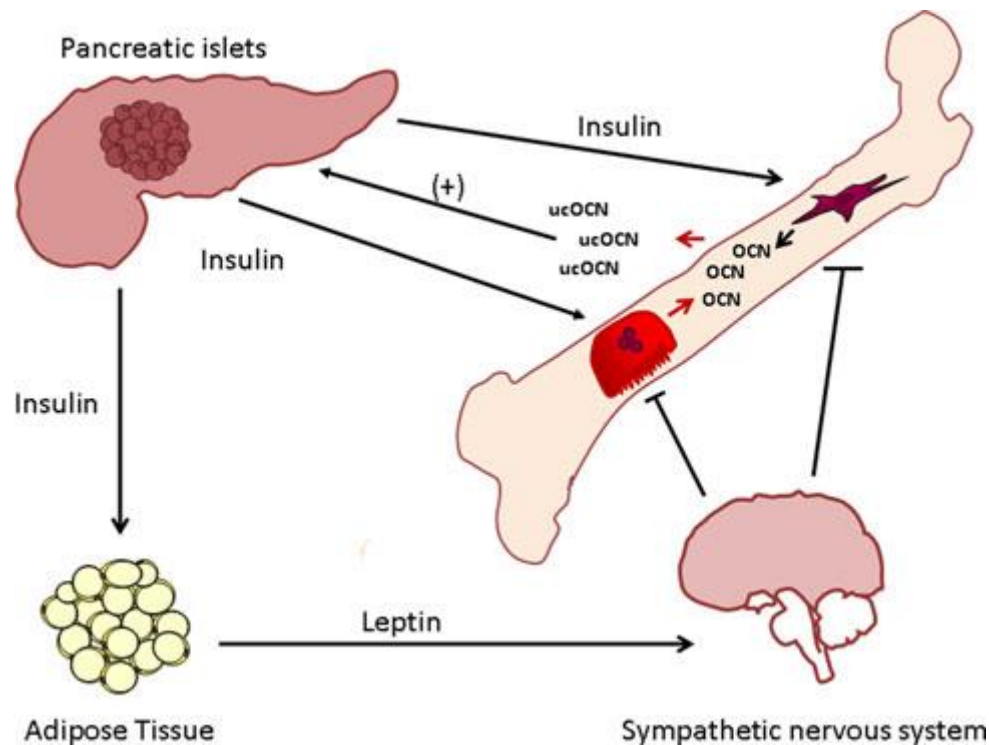
Menadiondiacetát

Vitamin K - funkce

- Kofaktor jaterní mikrosomální *karboxylázy* → mění glutamátové zbytky na γ -karboxyglutamát během syntézy protrombinu a koagulačních faktorů VII, IX a X.
- Tato modifikace umožňuje vázat Ca^{2+} ionty, umožňuje navázání koagulačních faktorů na membrány.
- Formuje vazebné místo pro Ca^{2+} i u jiných proteinů – osteokalcin, což zajišťuje integritu kostí adekvátním spojením minerální a neminerální složky kostí.

Vitamin K a kosti

- Vitamin K₂ je podstatným kofaktorem pro γ -karboxylázu, enzym, který katalyzuje konverzi specifických reziduí kyseliny glutamové kyseliny na rezidua Gla.
- Vitamin K₂ je potřebný pro γ -karboxylaci proteinů kostní matrix obsahujících Gla, jako je **MGP (= matrix Gla protein) a osteokalcin**.
- Nekompletní γ -karboxylace osteocalcinu a MGP vede k při nedostatku vitamínu K osteoporóze a zvýšenému riziku fraktur. Vitamin K₂ stimuluje syntézu osteoblastických markerů a depozici kosti.
- Vitamin K₂ snižuje resorpci kosti inhibicí tvorby osteoklastů a jejich resorbční aktivity.
- Léčení vitamínem K₂ indukuje apoptózu osteoklastů, ale inhibuje apoptózu osteoblastů, což vede ke zvýšené tvorbě kosti.
- Vitamin K₂ podporuje expresi osteocalcinu (zvýšuje jeho mRNA), což je možno dále modulovat podáváním 1 α ,25-(OH)₂ vitamin D₃.



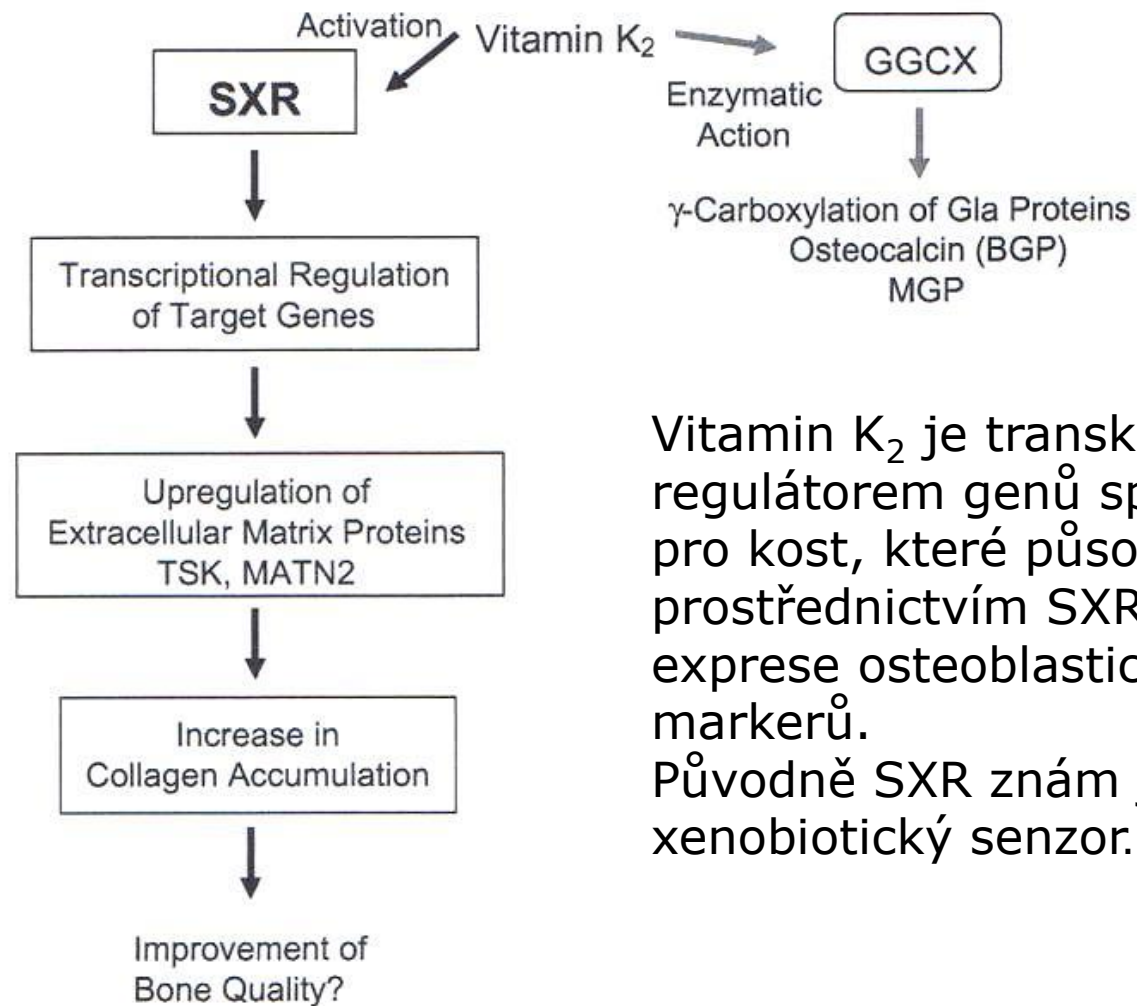
Glukokortikoidy
obecně působí
jako antagonisté
inzulínu ...

Předpokládaná reciproká endokrinní regulace funkcí kosti a tukové tkáně: Karboxylovaný osteoKalcin (OCN) je produkován osteoblasty a je následně vázán na hydroxyapatitový minerál vyzrálé kosti.

Během resorbce kosti řízené osteoklasty se uvolňuje do cirkulace nekarboxylovaný osteokalcin (ucOCN), odkud významně podporuje produkci inzulínu pankreatem. Inzulín zvyšuje expresi OCN osteoblasty a zároveň podporuje jeho dekarboxylaci působenou osteoklasty. Inzulín má také pozitivní vliv na sekreci leptinu adipocyty, což vede k inhibici kostní produkce i resorbce hypotalamickým vlivem leptinu. Produkce ucOCN je tak snížena a dochází k modulaci orexigenních efektů ucOCN na produkci inzulínu pankreatem.

Vitamin K - nedostatek

- Nedostatek vzniká při poruše resorpce tuků ve střevech (mikrobiom!!!), jaterním selhání.
- Poruchy srážlivosti krve – nebezpečí u kojenců, život ohrožující krvácení (hemoragie).
- Řídnutí kostí – osteoporóza – špatná karboxylace osteokalcinu a snížená aktivita osteoblastů.
- Za normálních okolností nedochází k nedostatku, je v potravě hojně zastoupen.



Vitamin K₂ je transkripčním regulátorem genů specifických pro kost, které působí prostřednictvím SXR zvýšení exprese osteoblastických markerů. Původně SXR znám jako xenobiotický senzor...

Fig. 3. SXR- and vitamin K₂-dependent regulatory mechanisms of bone metabolism in osteoblastic cells. SXR promotes collagen accumulation in osteoblastic cells by regulating the transcription of its target genes including those encode extracellular matrix proteins. Vitamin K₂ plays a role in the posttranslational modification of Gla proteins by functioning as a coenzyme of γ-glutamyl carboxylase (GGCX) and also acts as a potent SXR ligand in bone metabolism

SXR a mechanismus působení

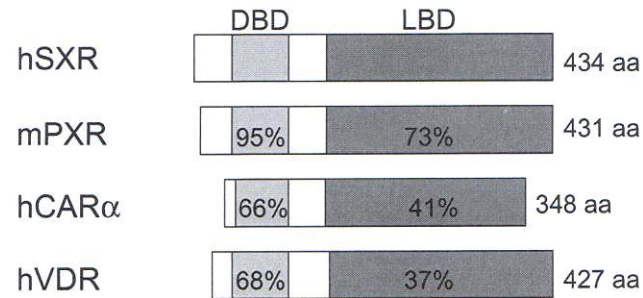


Fig. 1. Schematic comparisons among the nuclear receptor steroid and xenobiotic receptor (SXR) and its related receptors. All the receptors belong to nuclear receptor subfamily 1, group I (NR11), and form heterodimers with their common partner retinoid X receptor (RXR). The similarity between SXR and other receptors is expressed as percent amino acid identity [1]. *DBD*, DNA-binding domain; *LBD*, ligand-binding domain; *hSXR*, human SXR; *mPXR*, mouse pregnane X receptor; *hCAR α* , human constitutive androstane receptor- α ; *hVDR*, human vitamin D receptor

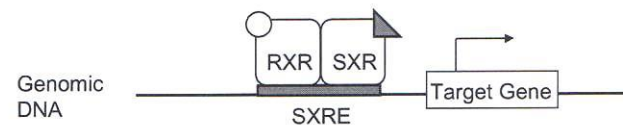
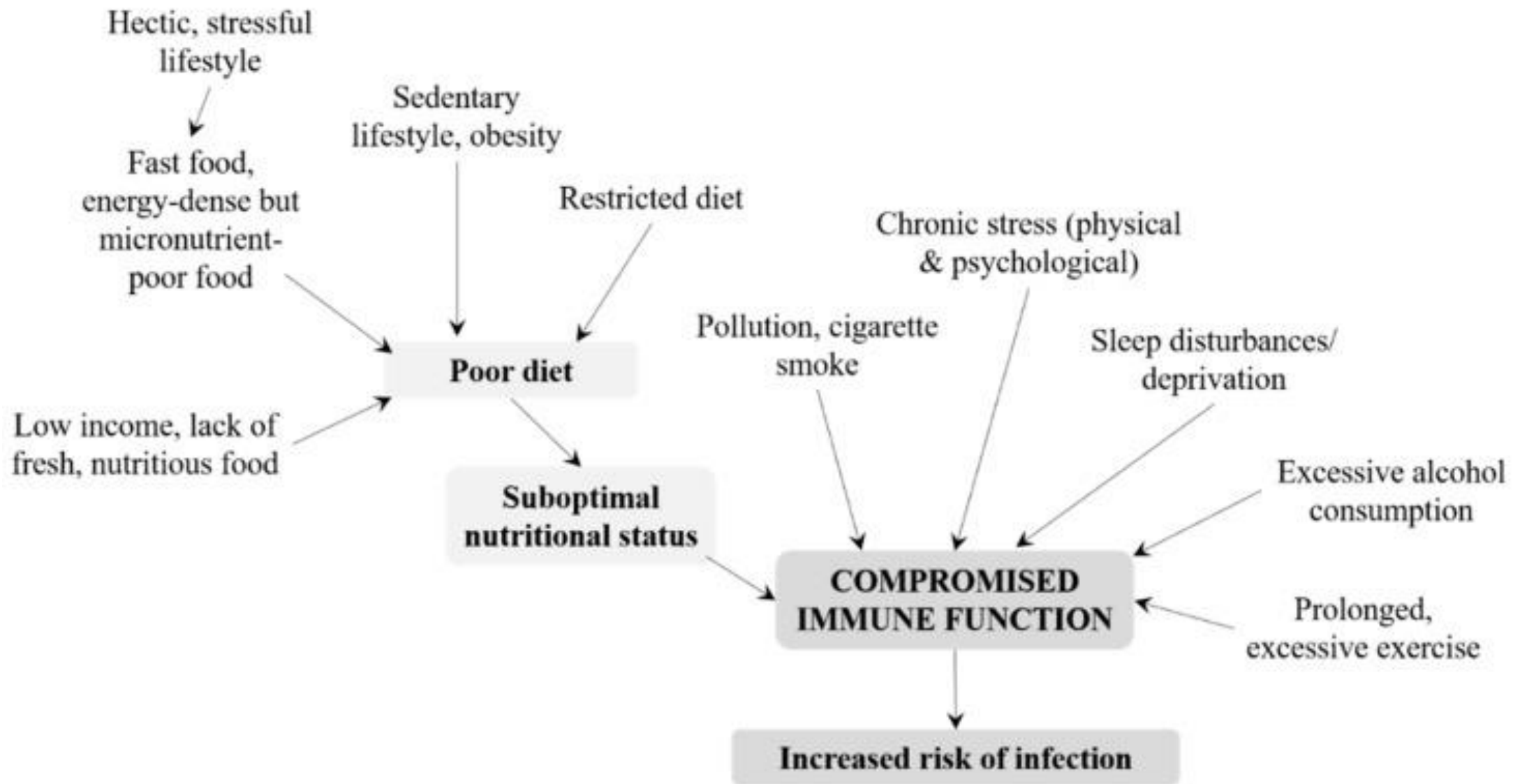


Fig. 2. Transcriptional regulatory mechanism of SXR. The ligand-activated SXR forms heterodimers with RXR and regulates the transcription of adjacent target genes by binding to SXR response elements (SXREs) in the genome



Díky za pozornost





Kocour Vasyl IV

M U N I

M E D