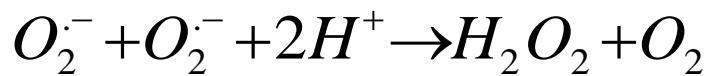


Antioxidační mechanismy aerobních organismů

- Úvod
- Antioxidační ochrana mikroorganismů
- Antioxidační ochrana rostlin
- Antioxidační ochrana hub
- Antioxidační ochrana živočichů

Úvod

- kyslík je nepostradatelný pro existenci aerobních organismů
- toxické formy kyslíku poškozují životně důležité makromolekuly (DNA, RNA, lipidy, proteiny) a způsobují tak zánik buněk
- superoxidový radikál ($O_2^{\cdot-}$), peroxid vodíku (H_2O_2) a hydroxylový radikál ($OH\cdot$)



Antioxidační ochrana mikroorganismů

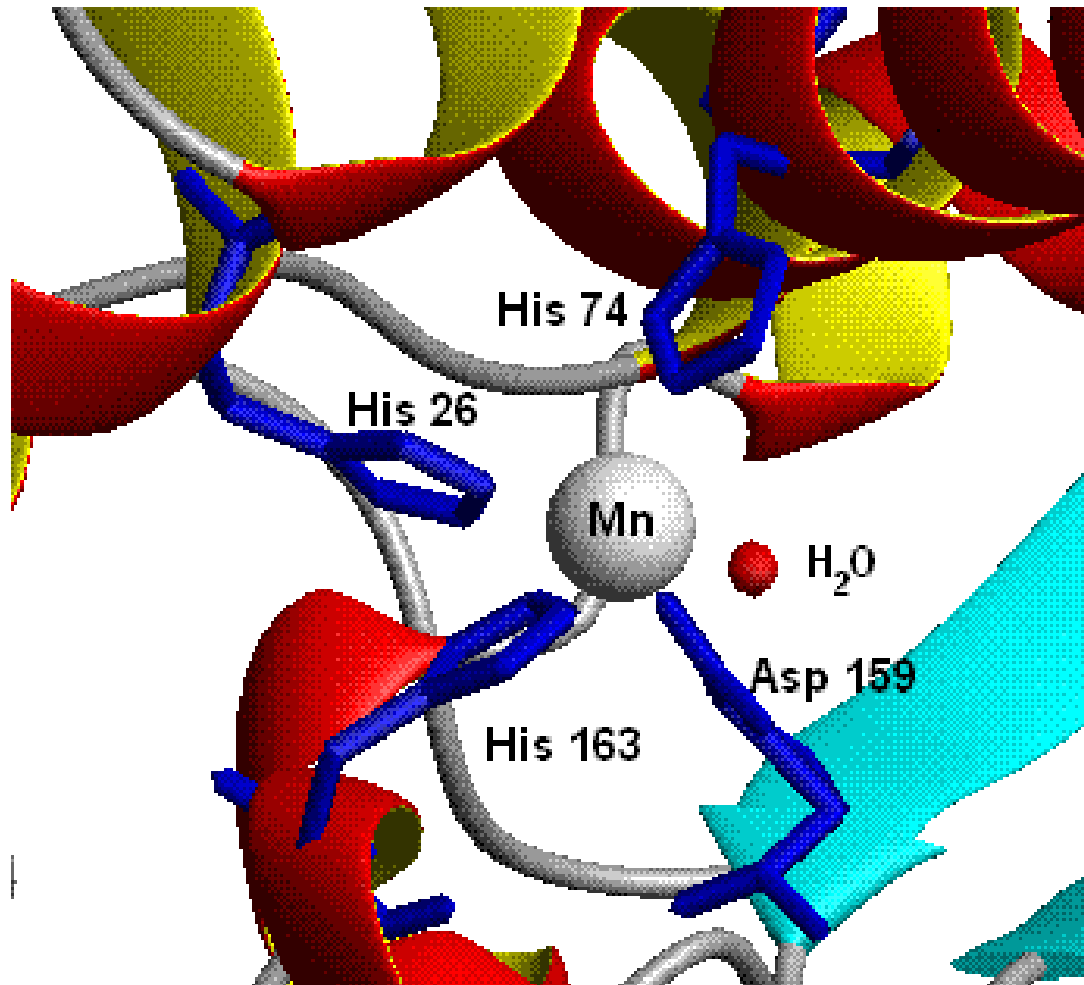
- 1% celkového kyslíku se přemění na svoje reaktivní formy
- oxidativní stres – externí vlivy
- antioxidační ochrana je nejlépe prozkoumána u *E. coli* a *S. typhimurium*
- superoxiddismutasa, katalasa, alkyhydroperoxidreduktasa, glutathionreduktasa, nízkomolekulární antioxidanty

Antioxidační ochrana mikroorganismů - superoxiddismutasa

- metaloenzym, nacházející se u všech aerobních organismů
- u mikroorganismů se vyskytuje superoxiddismutasa obsahující železo a mangan
- katalyzuje dismutaci superoxidového radikálu

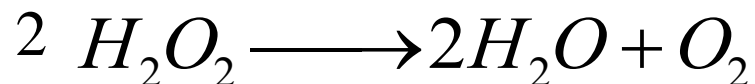


Antioxidační ochrana mikroorganismů - superoxiddismutasa



Antioxidační ochrana mikroorganismů - katalasa

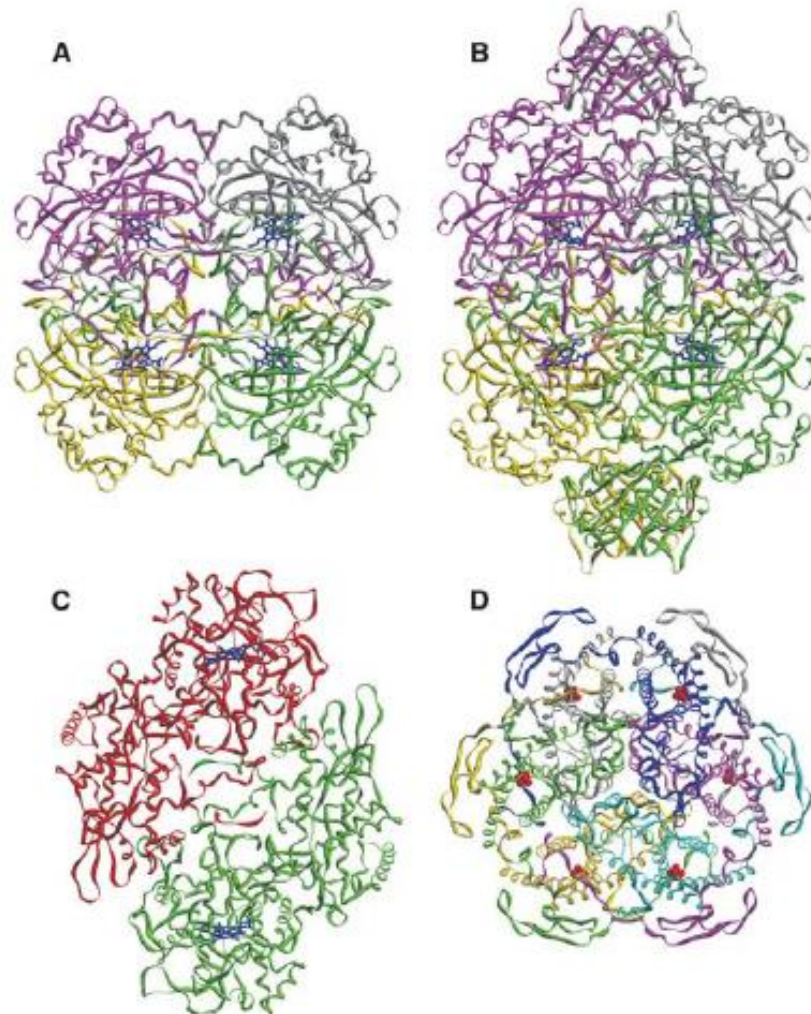
- katalasa obsahuje prostetickou protoporfyrinovou skupinu s Fe^{3+}
- nacházející se téměř u všech aerobních organismů
- eliminuje peroxid vodíku, může mít i peroxidázovou aktivitu



Antioxidační ochrana mikroorganismů - katalasa

Catalase	Organism
A. Monofunctional catalases	
PVC	<i>Penicillium vitale</i>
BLC	<i>Bos taurus</i> (liver)
PMC	<i>Proteus mirabilis</i>
CATA	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
HEC	<i>Homo sapiens</i> (erythrocyte)
HPII	<i>Escherichia coli</i>
MLC	<i>Micrococcus lysodeikticus</i>
CatF	<i>Pseudomonas syringae</i>
HPC	<i>Helicobacter pylori</i>
B. Catalase-peroxidases	
HmCPx	<i>Haloarcula marismortui</i>
BpKatG	<i>Burkholderia pseudomallei</i>
C. Manganese catalases	
LPC	<i>Lactobacillus plantarum</i>

Antioxidační ochrana mikroorganismů - katalasa

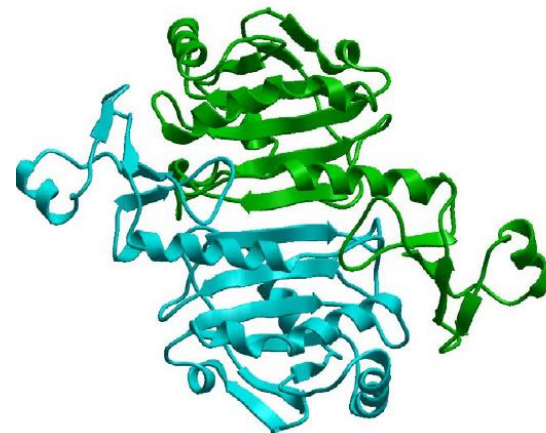


Antioxidační ochrana mikroorganismů - alkylhydroperoxidreduktasa

- jde o dimér s FAD jako kofaktorem
- byla studována zejména u *E. coli* a *S. typhimurium*
- redukuje alkylhydroperoxydy na příslušné alkoholy za použití NADPH

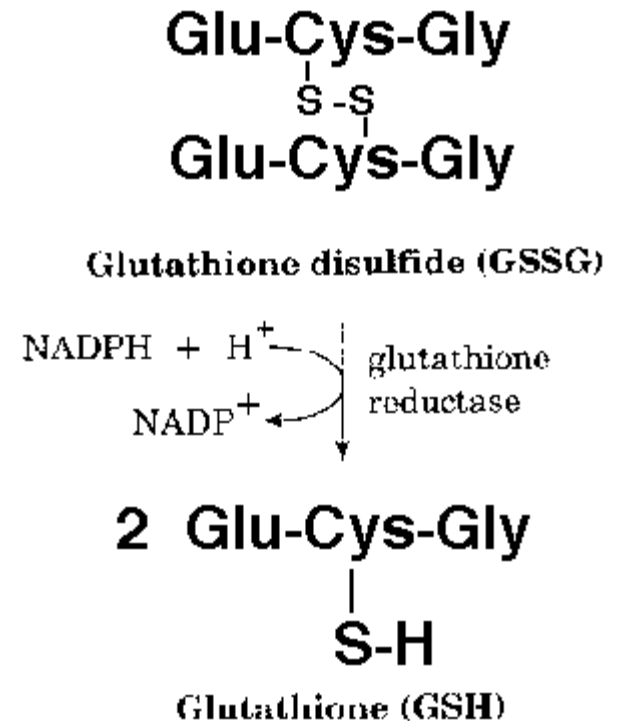


- ochranu vůči oxidativnímu poškození DNA reaktivními hydroperoxydy a inhibice propagace lipoperoxidace

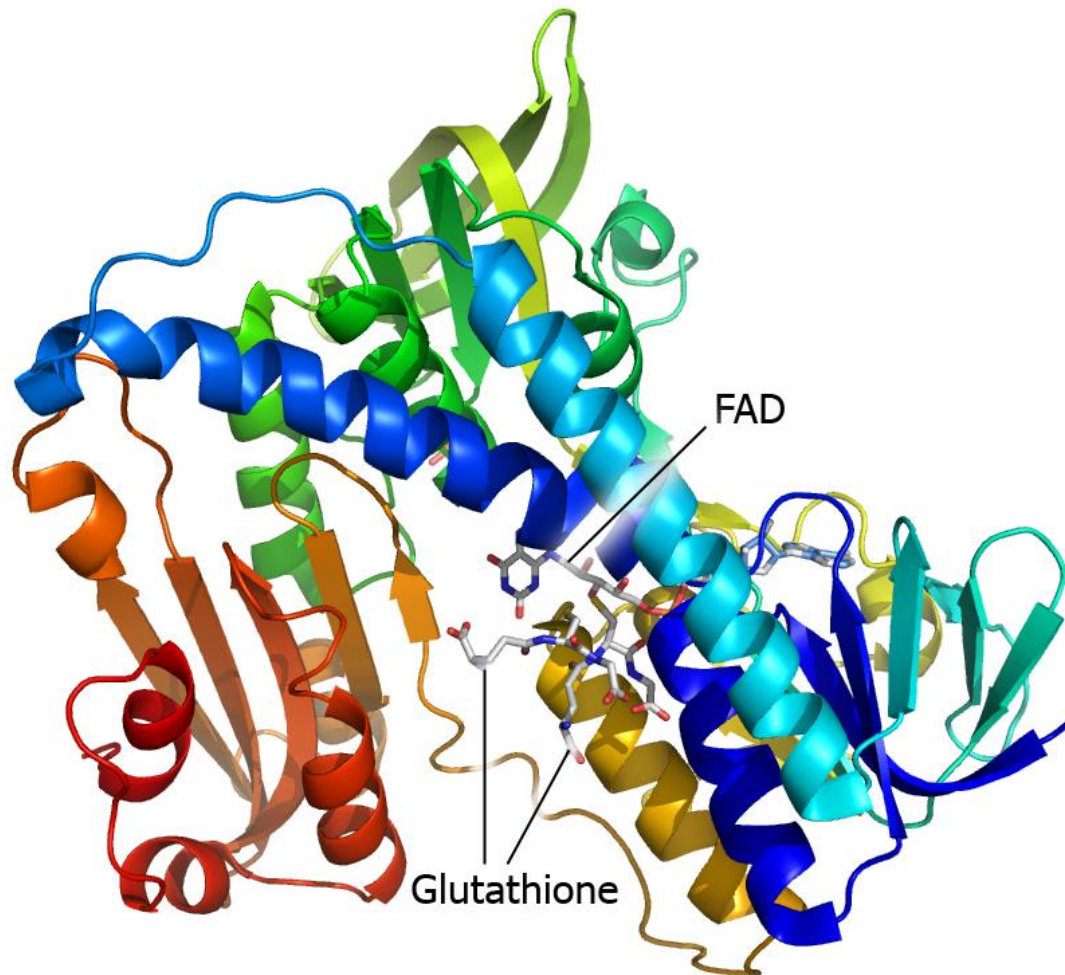


Antioxidační ochrana mikroorganismů - glutathionreduktasa

- homodimér s FAD jako kofaktorem
- nacházející se u všech aerobních organismů
- katalyzuje redukci oxidovaného glutathionu
- redukovaný glutathion působí jako přímý antioxidant a reaguje s peroxidem vodíku, superoxidovým radikálem a hydroperoxydy



Antioxidační ochrana mikroorganismů - glutathionreduktasa



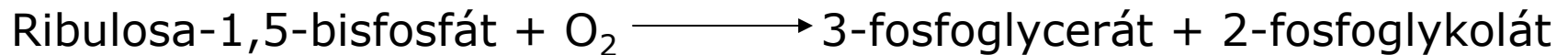
Antioxidační ochrana mikroorganismů – nízkomolekulární antioxidanty a reparační enzymy

- z nízkomolekulárních antioxidantů jde zejména o vitamin C, vitamin E a β -karoten
- z reparačních enzymů jsou nejvýznamnější endonukleasy, exonukleasy a ATP-independentní proteasy
- lipoperoxidace u bakterií je udržována na minimu, bakterie nemají reparační mechanismy, které degradují oxidované lipidy

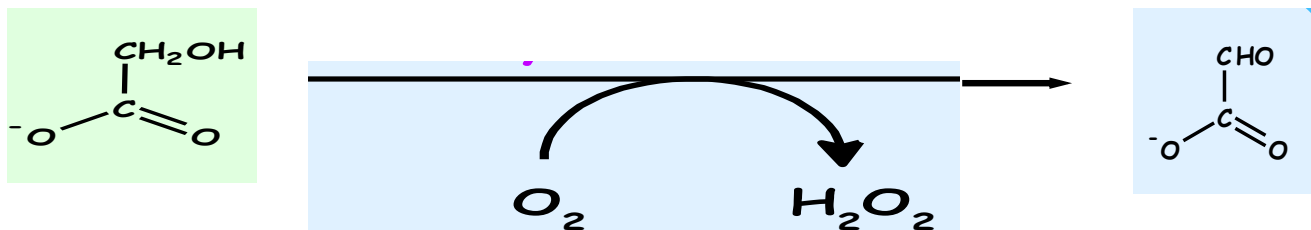
Antioxidační ochrana rostlin

- u rostlin masivní tvorba reaktivních kyslíkových sloučenin – fotosyntéza, fotorespirace, fixace dusíku
- superoxidový radikál vzniká Mehlerovou reakcí při tvorbě NADPH ve světelné fázi fotosyntézy
- singletový kyslík vzniká transferem energie z fotoexcitovaného chlorofylu na molekulární kyslík
- peroxidu vodíku vzniká při metabolismu 2 – fosfoglykolátu

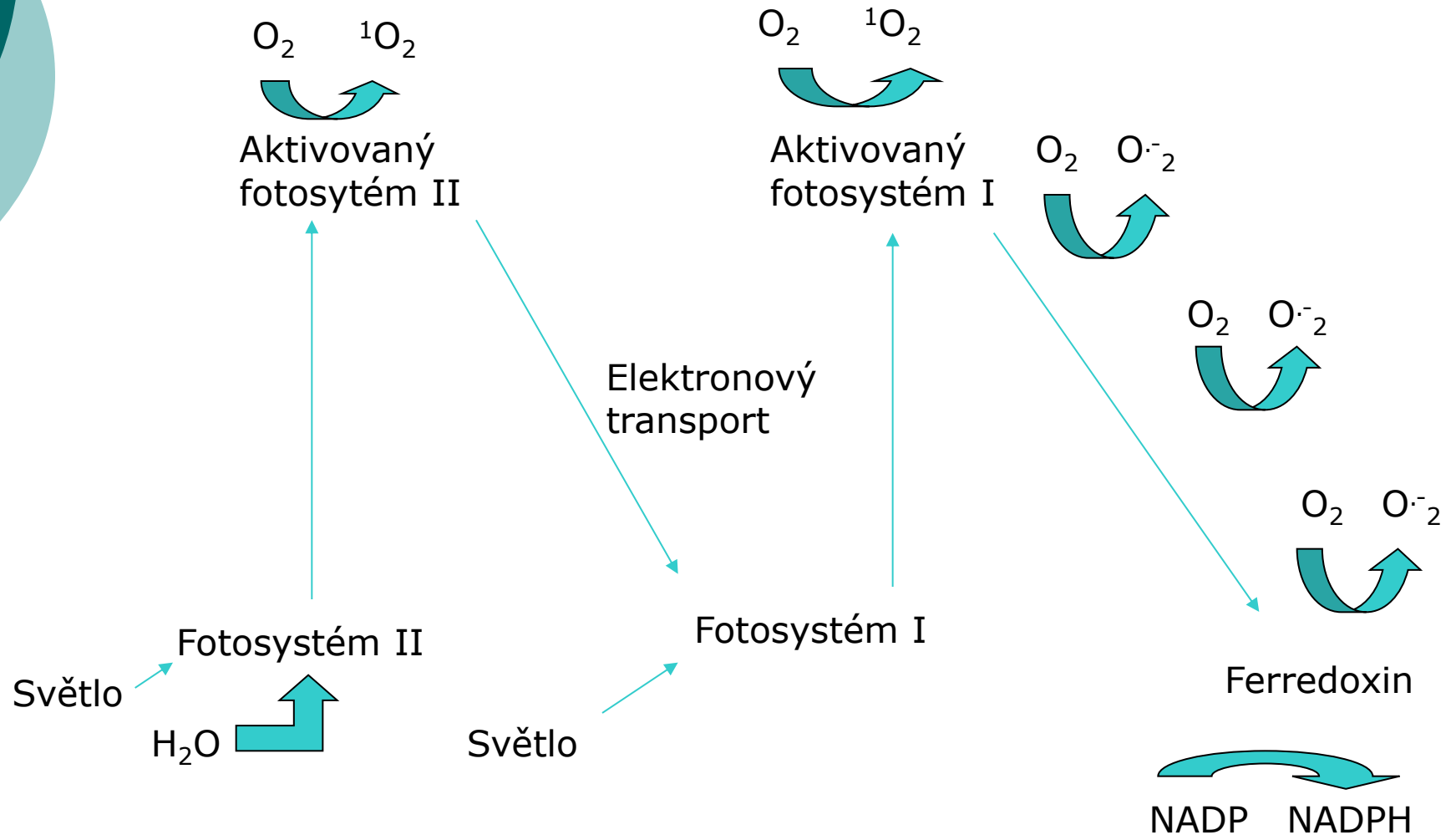
ribulosa-1,5-bisfosfát karboxylasa



glykolát oxidasa

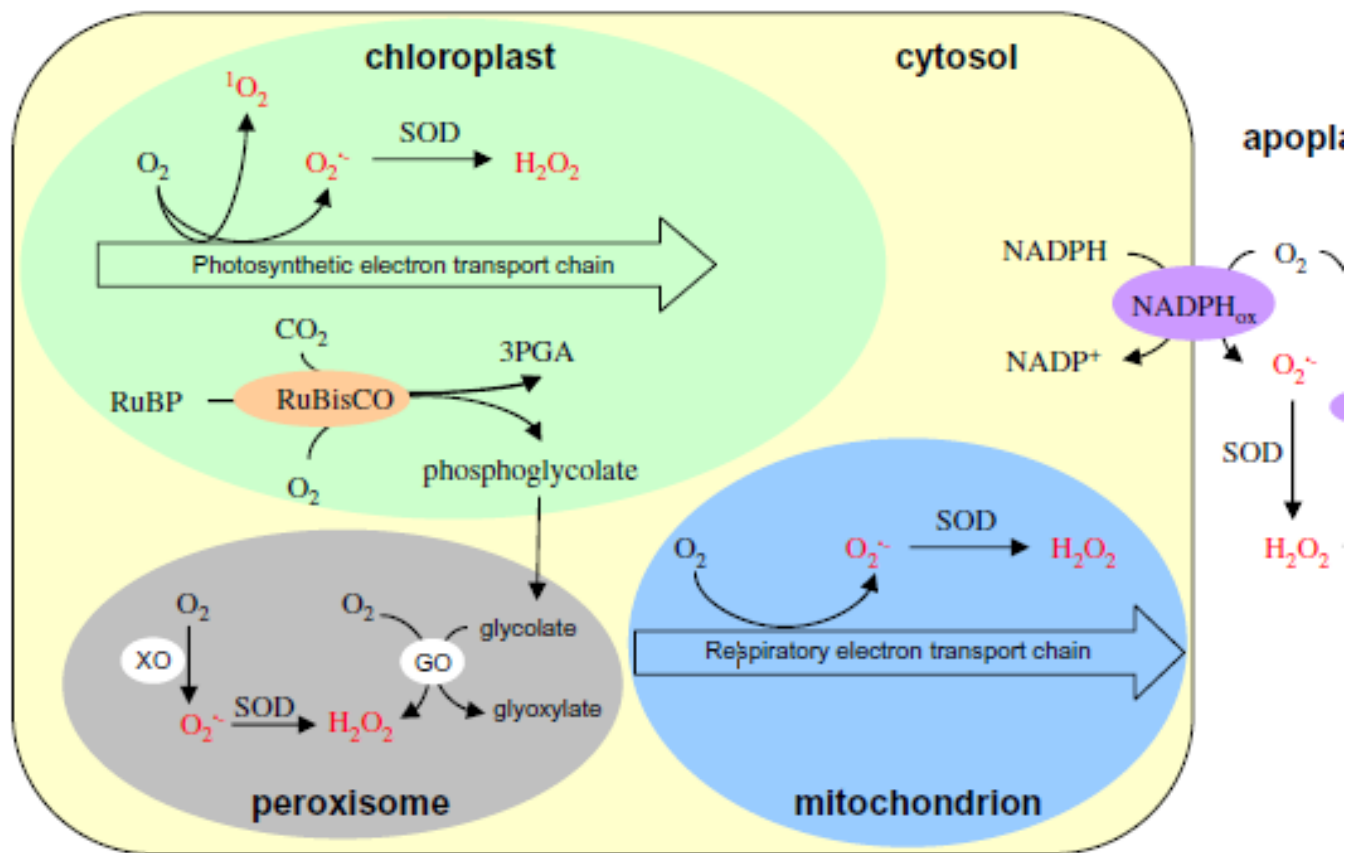


Antioxidační ochrana rostlin - fotosyntéza



Antioxidační ochrana rostlin – dýchací řetězec, fixace dusíku

- reaktivní formy kyslíku vznikají v mitochondriích při elektronovém transportu
 - je produkován zejména superoxidový radikál a peroxid vodíku
- fixace dusíku (redukce N_2 na NH_3)
 - nitrogenasa redukuje kyslík a produkuje reaktivní formy kyslíku
 - leghemoglobin podléhá autooxidaci a uvolňuje se superoxidový radikál
 - po dismutaci vznikající peroxid vodíku reaguje se železem \longrightarrow hydroxylový radikál

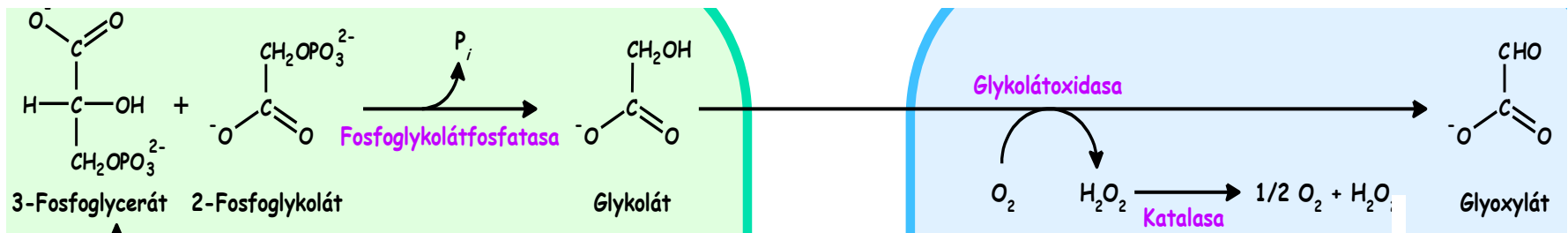


Antioxidační ochrana rostlin – superoxiddismutasa, katalasa

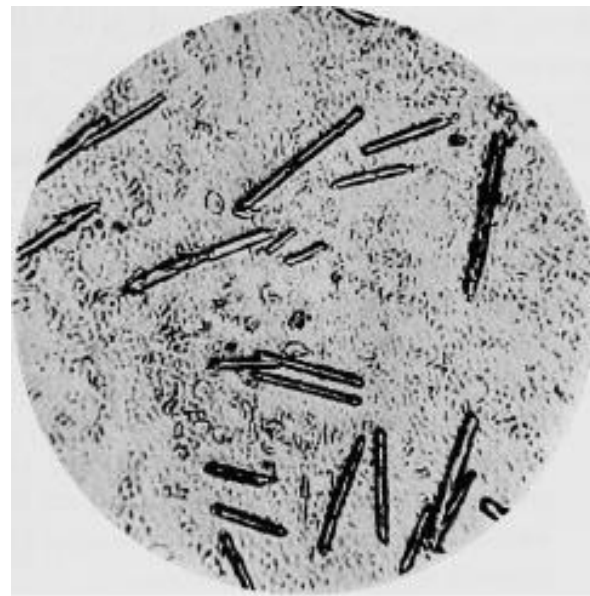
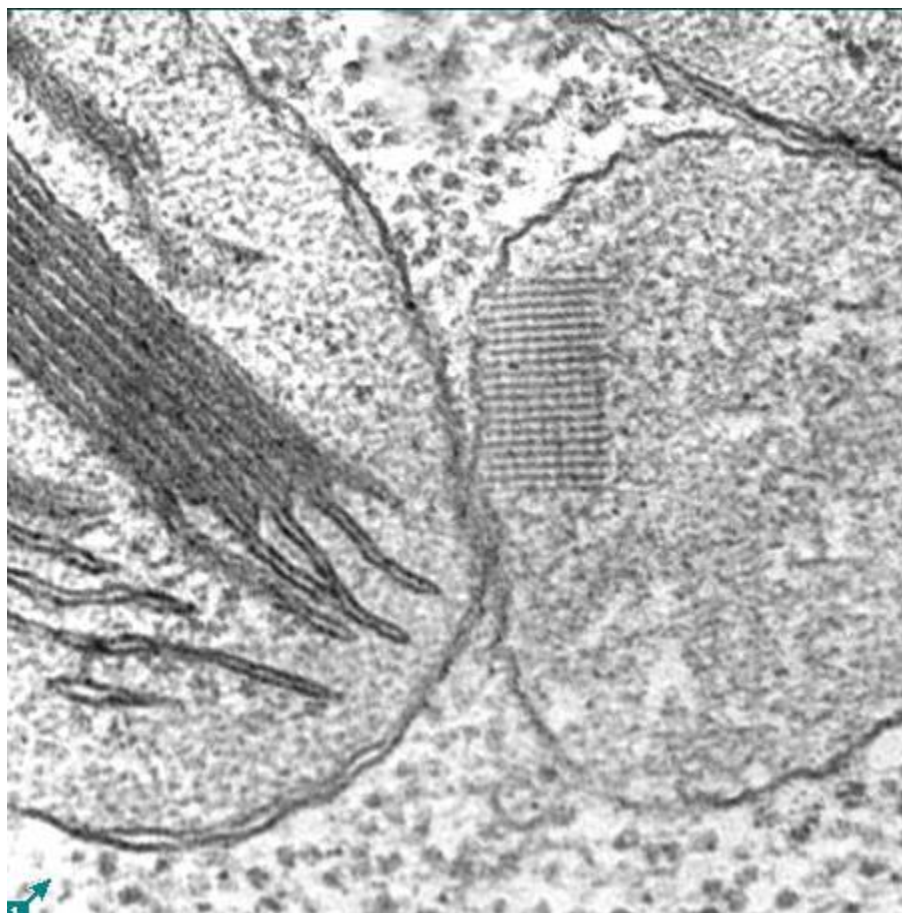
- rostliny jsou vybaveny třemi typy superoxiddismutasy
 - CuZnSOD se vyskytuje v cytosolu buněk a zejména v chloroplastech
 - FeSOD se nachází v chloroplastech
 - MnSOD se nachází v mitochondriích
- katalasa se nachází ve zvláštních organelách – peroxisomech a glyoxysomech
 - odstraňuje peroxid vodíku vzniklý činností glykolát oxidasy katalyzující přeměnu glykolátu

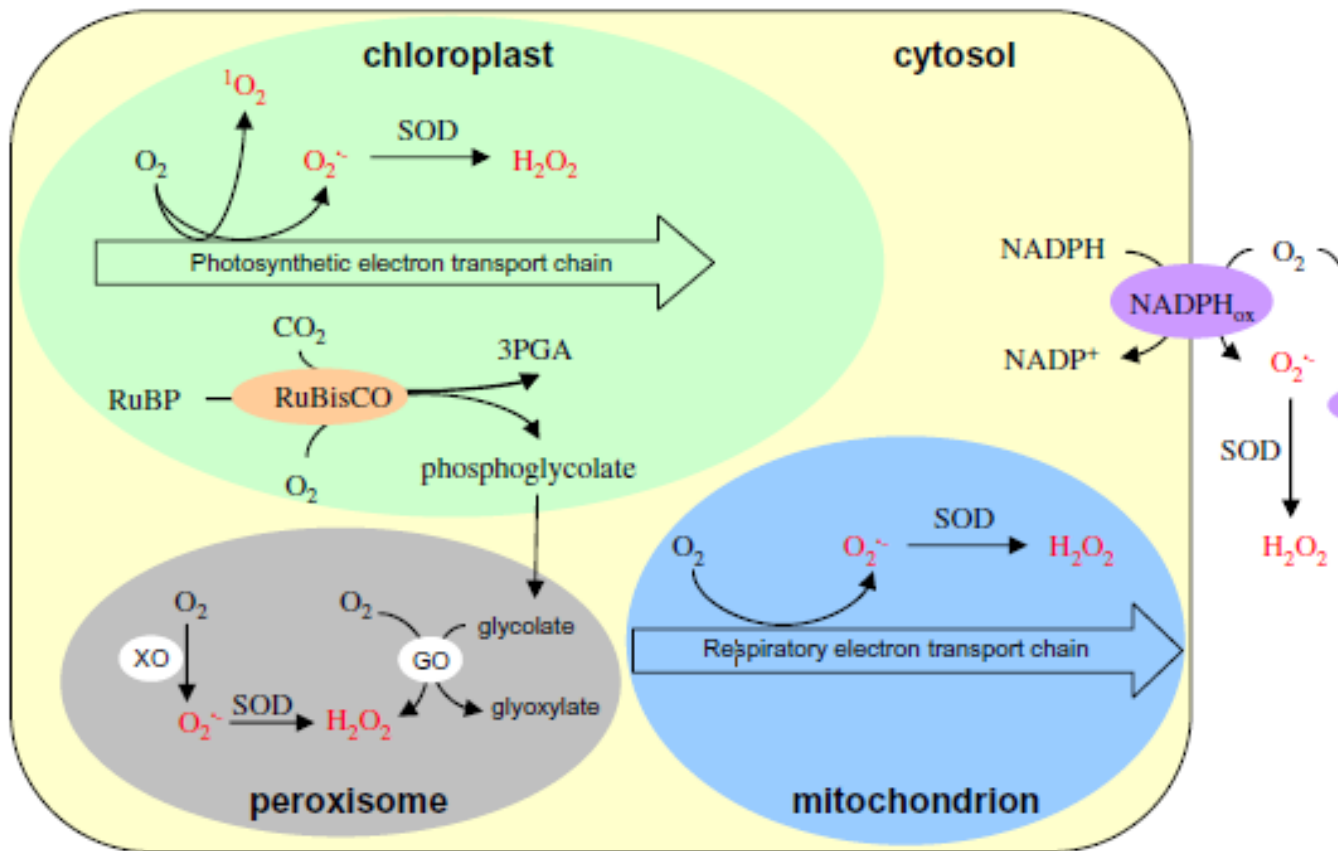
chloroplasty

peroxisomy



Antioxidační ochrana rostlin

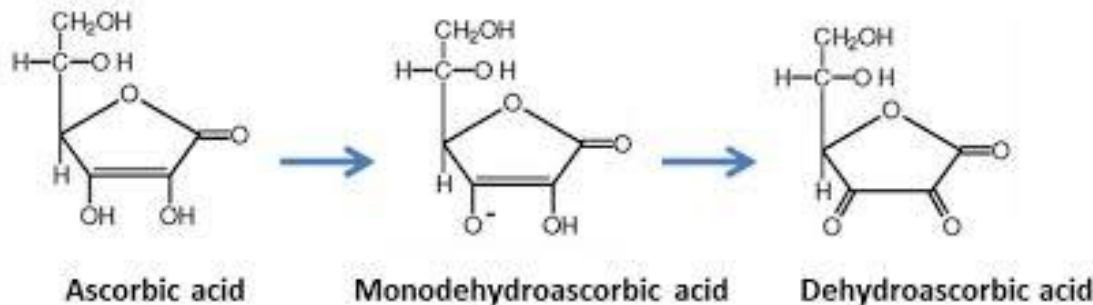
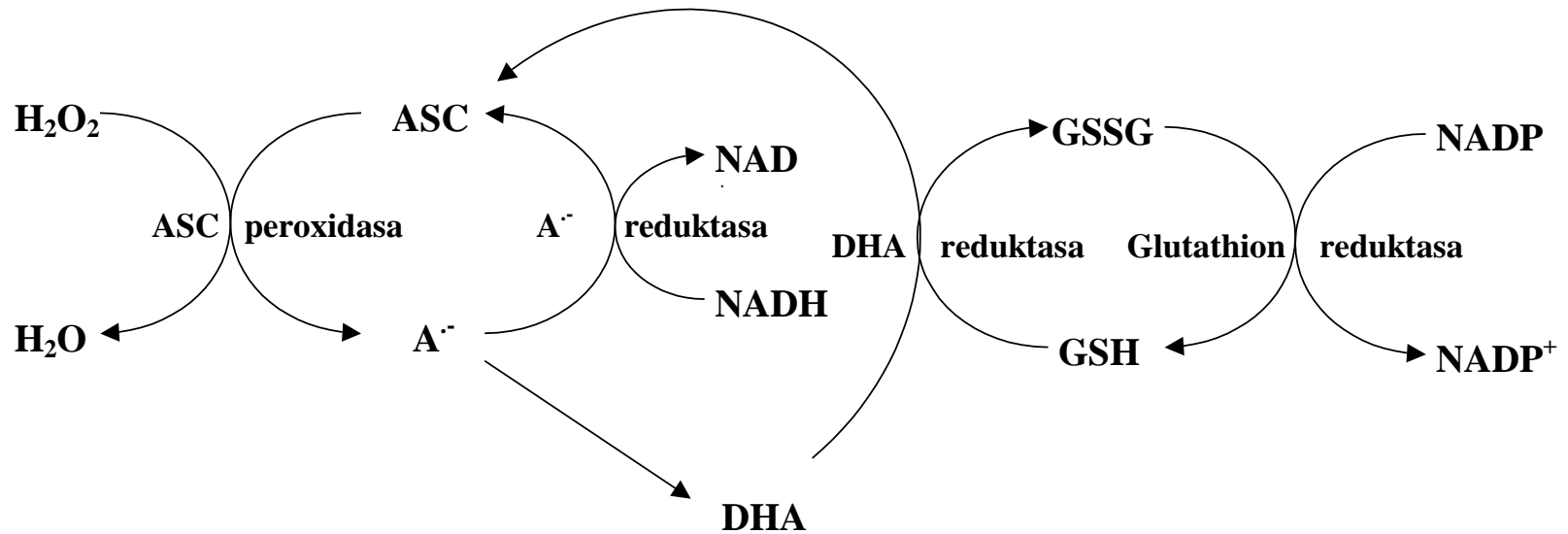




Antioxidační ochrana rostlin – systém askorbát/glutathion

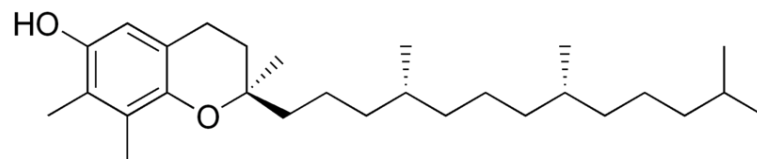
- enzymy systému askorbát/glutathion se nacházejí v chloroplastech, cytosolu a mitochondriích
- zajišťuje hlavní ochranu chloroplastů před toxickým peroxidem vodíku vzniklým činností superoxiddismutasy
- hlavní antioxidační systém před radikály vznikajícími při fixaci dusíku
- využívá několika enzymů, kyselinu askorbové a glutathionu

Antioxidační ochrana rostlin – systém askorbát/glutathion



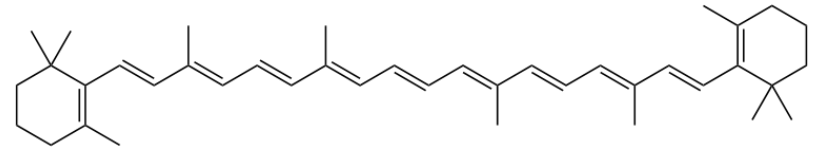
Antioxidační ochrana rostlin – nízkomolekulární antioxidanty

- hlavní ochrana proti singletovému kyslíku v membránách tylakoidů
- kyselina askorbová, GSH a jeho homology
 - zháší všechny reaktivní formy kyslíku
 - vzniklý monodehydroaskorbát se musí regenerovat
 - GSH (γ -Glu-Cys-Gly), γ -Glu-Cys-Ala (Fabaceae), γ -Glu-Cys-Ser (Poaceae)
- z tokoferolů je to zejména α -tokoferol
 - zháší všechny reaktivní formy kyslíku
 - vzniklý tokoferyl radikál se regeneruje askorbátem nebo GSH

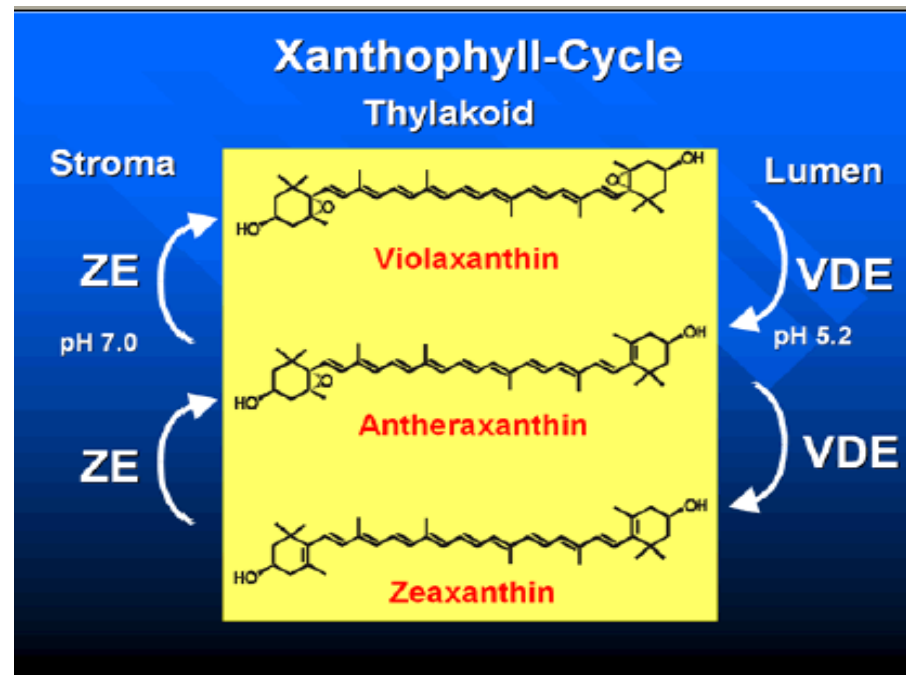


Antioxidační ochrana rostlin – nízkomolekulární antioxidanty

- z karotenoidů jde zejména o β -karoten a zeaxanthin

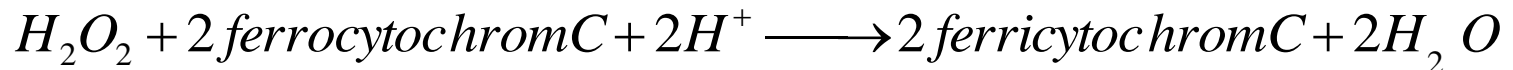


Xantofylový
cyklus

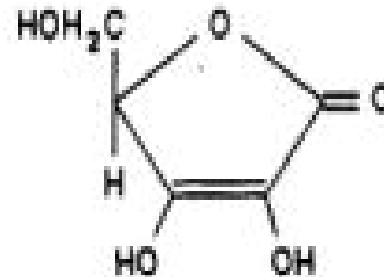
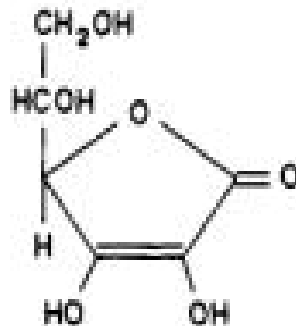


Antioxidační ochrana hub

- stejné antioxidační enzymy jako u rostlin (SOD, CAT, GSH-GR)
- ochrana hlavně mitochondrií
- místo askorbátperoxidasy využívají houby k odstranění peroxidu vodíku cytochrom C peroxidasu

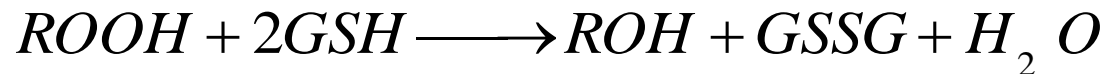


- výskyt kyseliny erythroaskorbové



Antioxidační ochrana bezobratlých

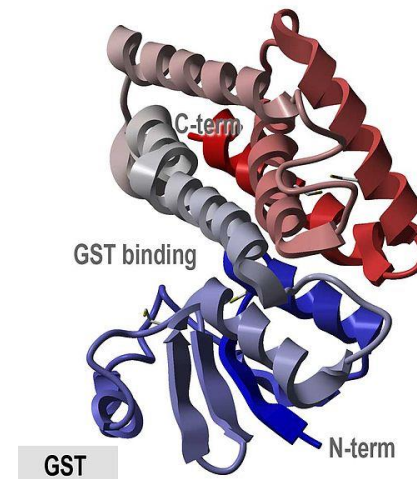
- nejvýznamnější antioxidační mechanismy jsou SOD, CAT, systému askorbát/glutathion (DHA reduktasa, askorbátperoxidasa), transferin, glutathiontransferasa
- nižší hladiny SOD, významná pro parazity
- vysoké hladiny CAT (v peroxisomech, cytosolu a mitochondriích), je indukována oxidanty z potravy
- hydroperoxyde deaktivuje glutathiontransferasa



- z nízkomolekulárních látek jde zejména o vitamin E a β -karoten a jeho hydrofilnější oxidované formy, např. luteinu (β -karoten-3,3'-diol)

Antioxidační ochrana obratlovců

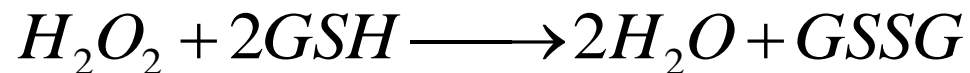
- příčinou oxidativního stresu exogenní faktory
- zejména SOD (MnSOD, CuZnSOD)
 - dismutace probíhá u savců nejintenzivněji v játrech, psy a kočky nižší aktivitu než člověk, prase, kráva, myš
- hydroperoxyde deaktivuje glutathiontransferasa



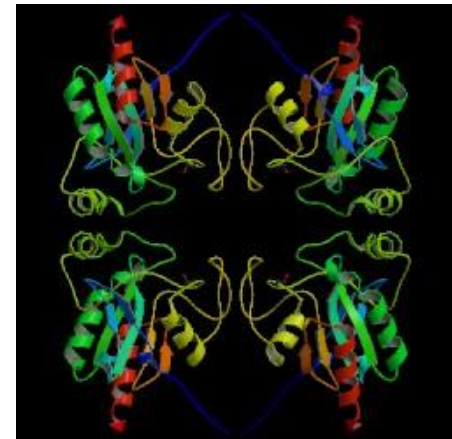
- peroxid vodíku vzniklý dismutací odstraňuje katalasa a Se-dependentní glutathionperoxidasa

Antioxidační ochrana obratlovců - GPOX

- selen-dependentní tetramer, glykoprotein



- z obratlovců vykazují nejvyšší aktivitu ryby a hlodavci (10x vyšší než člověk), nebyla prokázána u hmyzu
- její funkce závisí na dietárním příjmu selenu
- nachází se v cytosolu a v plazmě
- reakcí vzniklý oxidovaný GSSG regeneruje GR



Antioxidační ochrana obratlovců

- DT-diaforasa
 - cytosolický enzym, redukuje toxické chinony na hydrochinony, využívá NAD(P)H
 - chrání před vznikem superoxidového radikálu při autooxidaci semichinonů
- tyrosinasa
 - má velký význam v biosyntéze melaninu
 - obsahuje v aktivním centru měď
 - při oxidaci substrátu preferuje superoxidový radikál místo kyslíku
 - chrání melanocyty lidské pokožky před poškozením superoxidovým radikálem generovaným UV zářením

Antioxidační ochrana obratlovců

- nízkomolekulární antioxidanty
 - vitamínu E a β -karotenu
 - lykopen, lutein, zeaxanthin
 - kyselina askorbová, kyselina močová
 - polyfenoly z potravy
- proteinové antioxidanty
 - ceruloplazmin - extracelulární protein vážící měď
 - transferin - extracelulární protein vážící železo
- reparační mechanismy
 - proteasy
 - DNA-glykosylasy, endonukleasy
 - lipasy

Enzym	Člověk	Hmyz
Superoxiddismutasa	střední aktivita	nízká aktivita
CuZnSOD (cytosol)	50-85 %	24-76 %
MnSOD(mitochondrie)	15-50 %	24-76 %
Katalasa	střední aktivita	vysoká aktivita
Glutathionperoxidasa	vysoká aktivita	chybí
Glutathiontransferasa	střední aktivita	vysoká aktivita
Glutathionreduktasa	vysoká aktivita	střední aktivita
DT-diaforasa	střední aktivita	střední aktivita
Askorbátperoxidasa	neprokázána	pravděpodobná
Monodehydroaskorbátreduktasa	prokázána	pravděpodobná
Dehydroaskorbátreduktasa	prokázána	vysoká aktivita
Ceruloplasmin	vysoká aktivita	neprokázán
Transferin	vysoká aktivita	vysoká aktivita