

# Tvorba ROS a oxidativní stres

# Tvorba ROS a oxidativní stres

## **Oxidativní stres**

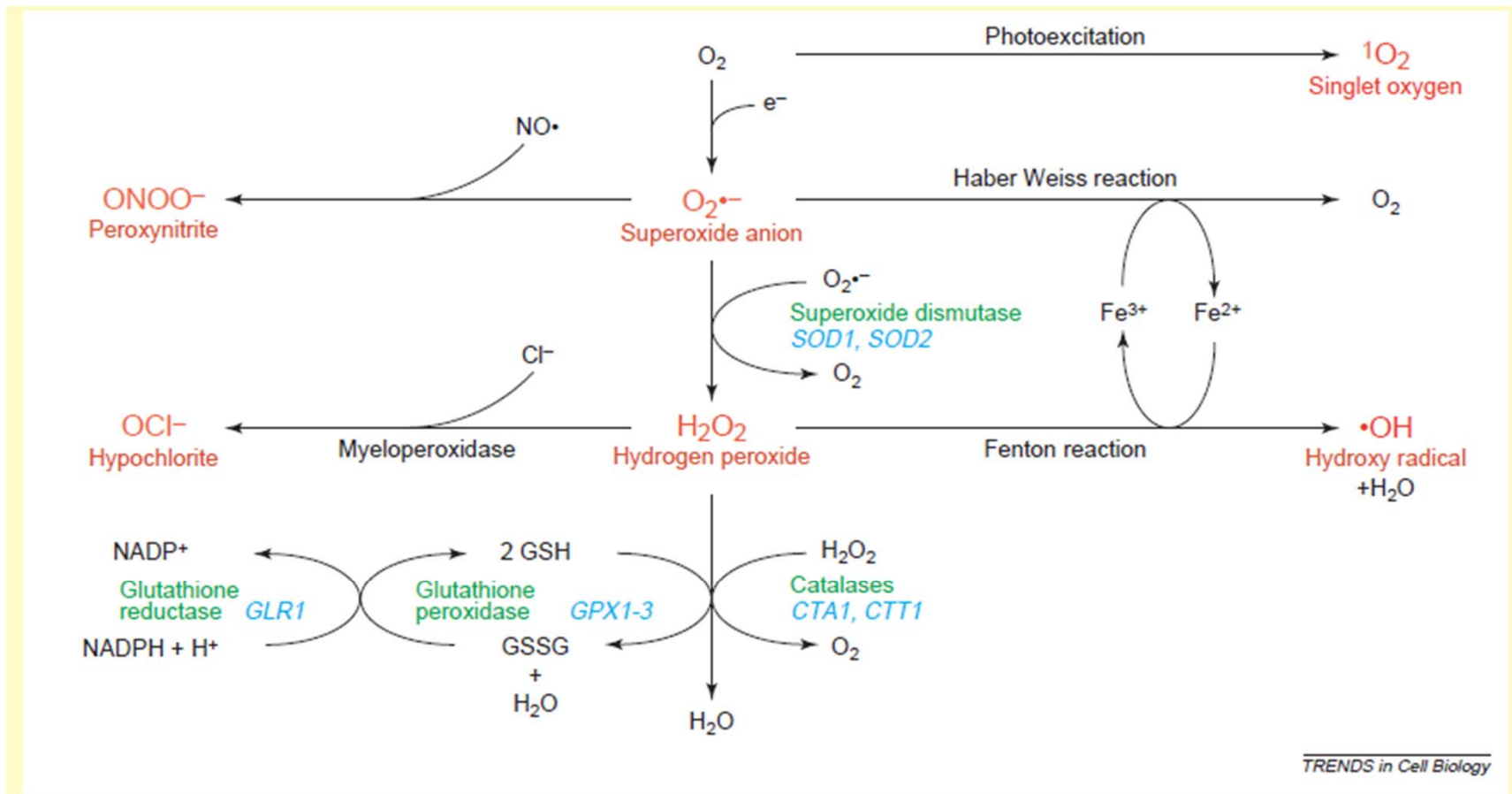
=

**nerovnováha mezi (zvýšenou) produkcí ROS a oxidovaných metabolitů a limitovanou kapacitou antioxidačních mechanismů buňky/organismu.**

# Tvorba ROS a oxidativní stres

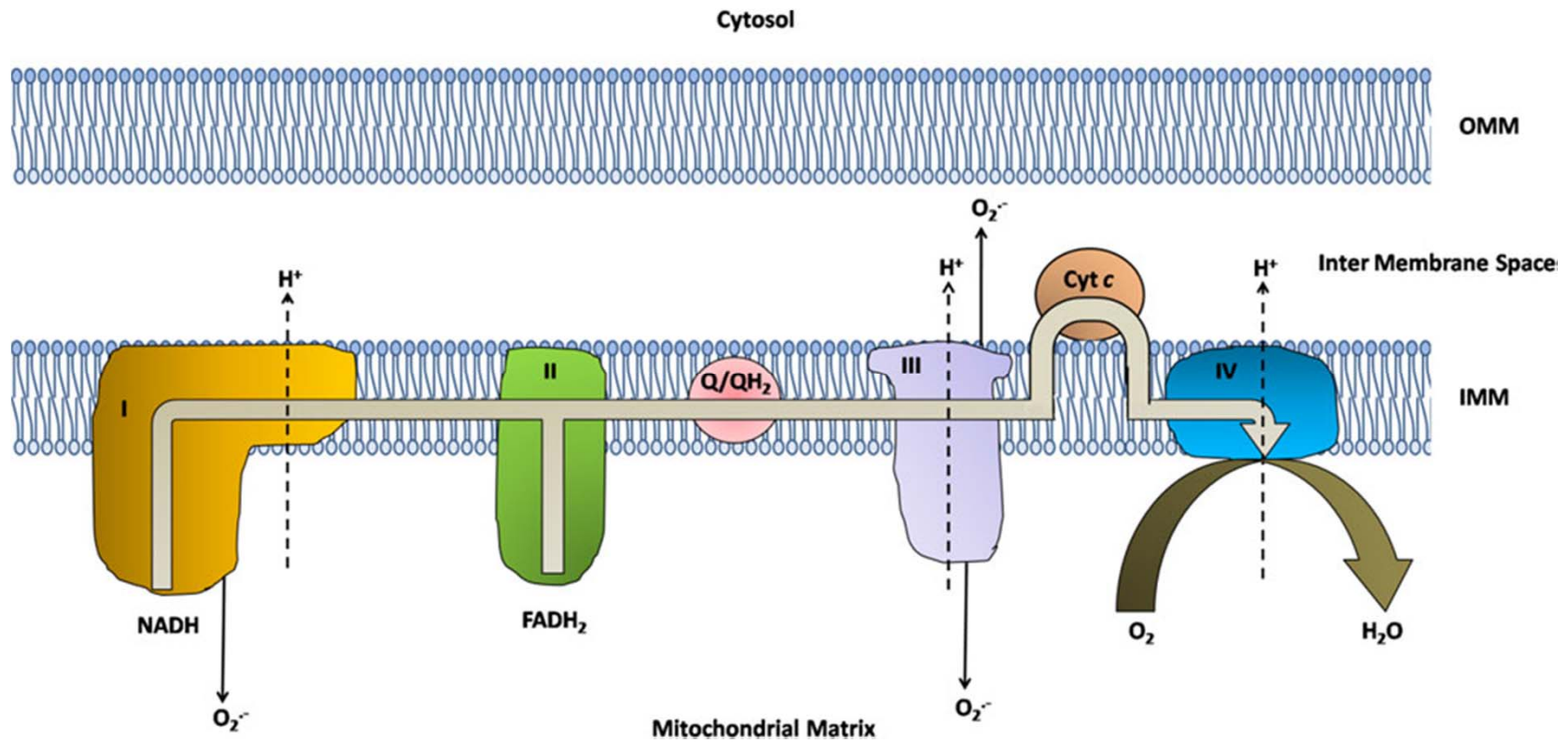
- hlavním endogenním zdrojem ROS je únik elektronů v průběhu **dýchacího řetězce, metabolické reakce zahrnující cytochromy P450 a oxidativní vzplanutí fagocytů** vedoucí ke vzniku **superoxidu - $\cdot\text{O}_2$** ;
- superoxid je pomocí superoxiddismutáz přeměněn na  **$\text{H}_2\text{O}_2$** ; ten dále vzniká působením oxidáz a v průběhu  $\beta$ -oxidace mastných kyselin v peroxizómech;
- superoxid ani peroxid nejsou příliš reaktivní, hlavním nebezpečím je přeměna na další vysoce reaktivní ROS – např. hydroxylový radikál - **$\cdot\text{OH}$** ;
- významné jsou také radikály odvozené od NO a superoxidu – **peroxynitrit ( $\text{ONOO}^-$ ) a  $\text{NO}_2\cdot$**  ;

# Tvorba ROS a jejich klasifikace



**Figure I.** ROS and other radicals generated in cells. Reactive intermediates are in red, key antioxidant enzymes are in green and the genes that encode them in yeast are in blue. Myeloperoxidase is produced by neutrophils as part of the cellular defense system against microorganisms.

# Tvorba ROS v mitochondriách



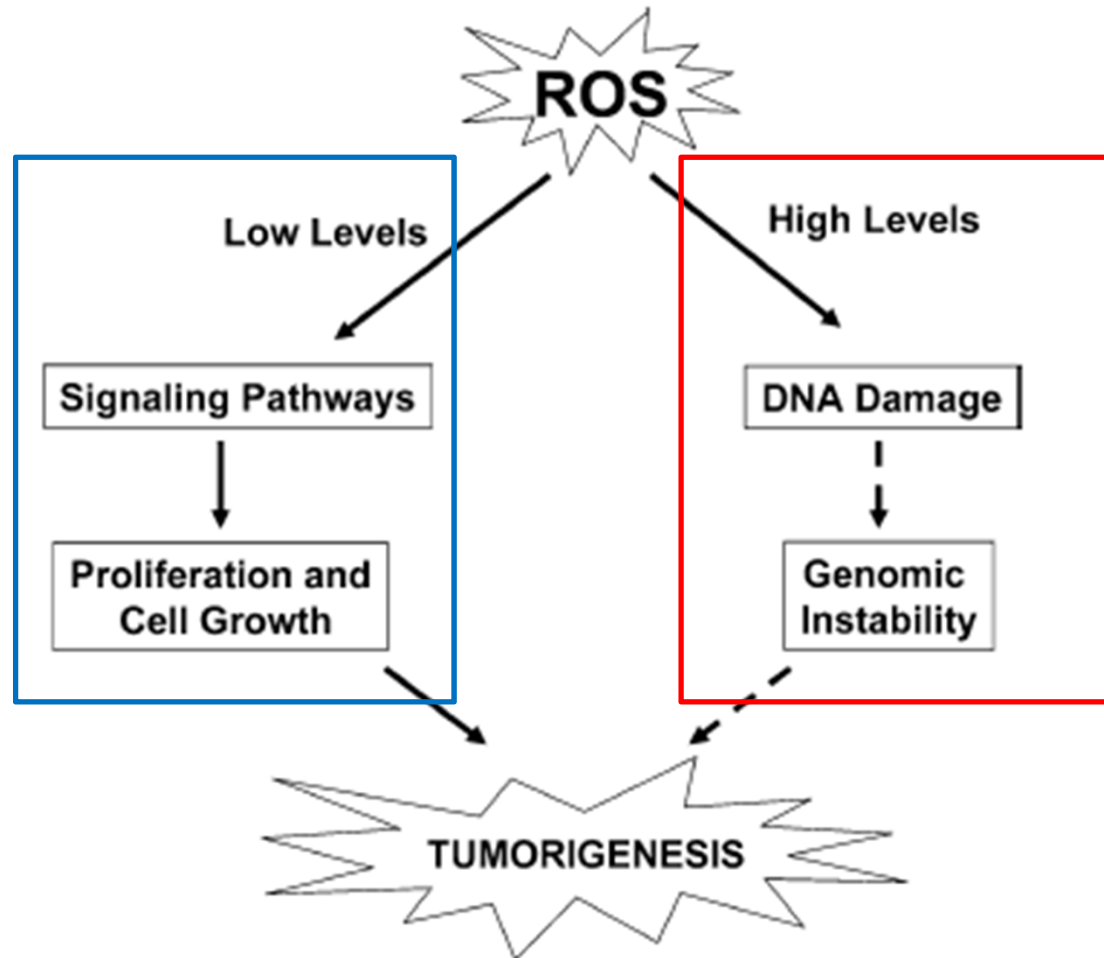
## Tvorba ROS a jejich klasifikace

**Table 1. One-electron reduction potentials at pH 7.0 for selected ROS**

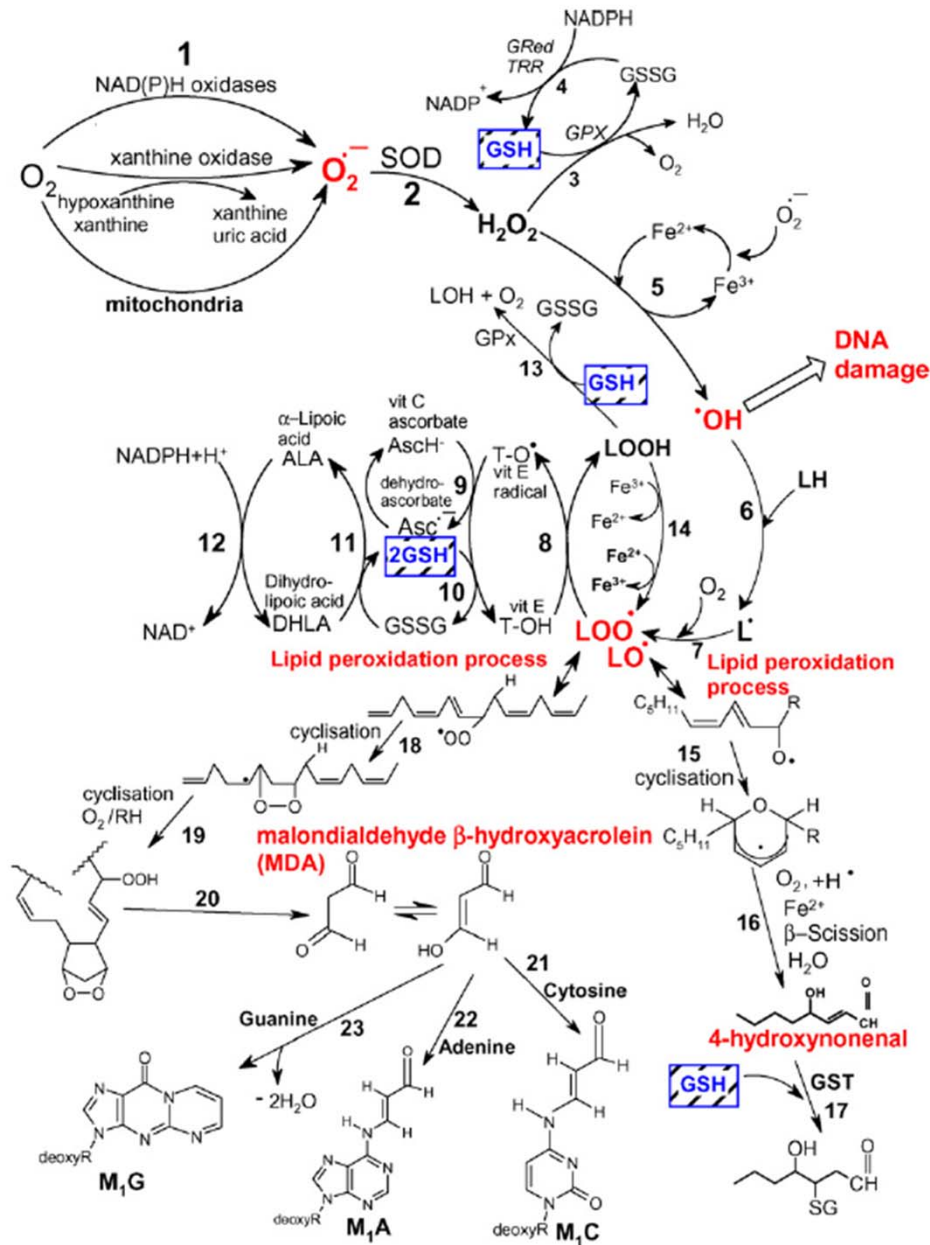
ROS <sup>a</sup>	Redox couple	E <sup>o</sup> /mV
Hydroxyl radical	·OH, H <sup>+</sup> /H <sub>2</sub> O	+2310
Aliphatic alkoxy radical	·OR, H <sup>+</sup> /ROH	+1600
Alkyl peroxy radical	·OOR, H <sup>+</sup> /ROOH	+1000
Glutathionyl radical	GS·/GS <sup>-</sup>	+920
Polyunsaturated fatty acid	PUFA·, H <sup>+</sup> /PUFA-H	+600
Vitamin E	·OT, H <sup>+</sup> /TOH	+480
Hydrogen peroxide	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , H <sup>+</sup> /H <sub>2</sub> O, ·OH	+320
Vitamin C (Asc)	Asc· <sup>-</sup> , H <sup>+</sup> /Asc	+282
Iron complex	Fe <sup>3+</sup> EDTA/Fe <sup>2+</sup> EDTA	+120
Superoxide	O <sub>2</sub> /O <sub>2</sub> <sup>·-</sup>	-330
Oxidized glutathione	RSSR/RSSR· <sup>-</sup>	-1500
Ionizing radiation	H <sub>2</sub> O/e <sub>aq</sub> <sup>-</sup>	-2870

<sup>a</sup>ROS are listed in order with the strongest oxidizing potential at the top and the strongest reducing potential at the bottom. In general, ROS higher in the list can remove electrons from the reduced species lower in the list, and the balance of these species in the cell is an important determinant of cellular fitness and optimal health (adapted from [81]).

# Hierarchické účinky ROS



# Toxické účinky ROS

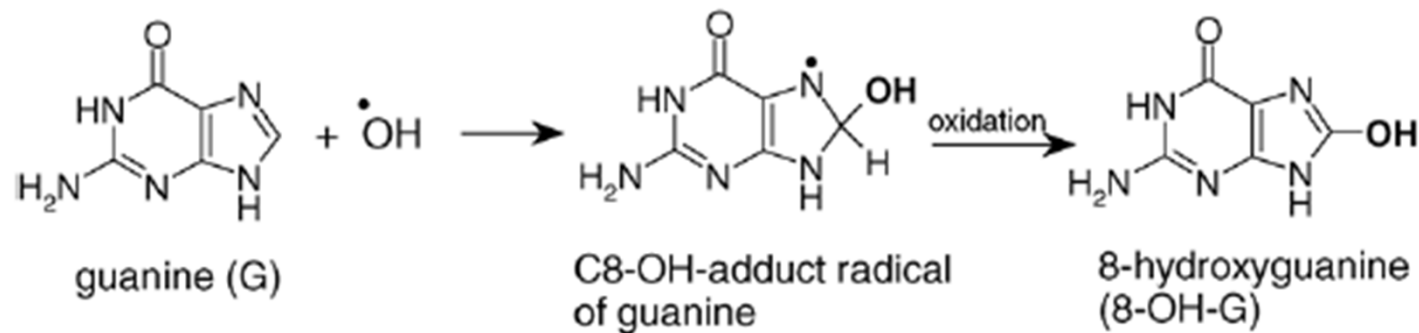


- poškození jaderné a mitochondriální DNA;
- lipidní peroxidace;
- oxidativní poškození proteinů;



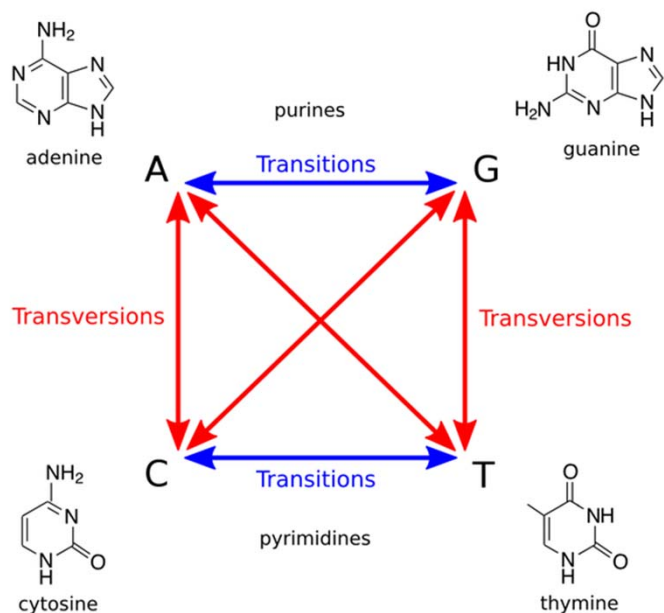
## Oxidativní poškození DNA

- hydroxylový radikál je vysoce reaktivní a reaguje se všemi složkami DNA – bázemi i deoxyribózou;
- hlavní typy poškození zahrnují tvorbu **jedno- a dvouřetězcových zlomů, modifikace bází a tvorbu DNA cross-links**;
- oxidativní poškození DNA – mutagenita, karcinogenita;
- příklad modifikované báze – tvorba **8-hydroxyguaninu** – mutagenní a karcinogenní, snadno vzniká, **biomarker oxidativního stresu** a potenciální biomarker karcinogenních účinků chemických karcinogenů;
- primární obranný mechanismus – BER;
- tautomerizační reakce – 8-OH-G = 8-oxo-G;
- detekce oxidativního poškození DNA – HPLC-EC, kyselá hydrolýza DNA – HPLC nebo GC-MS; modifikovaný Comet assay;



# Oxidativní poškození DNA

- DNA může být poškozena i působením RNS;
- peroxynitrit indukuje tvorbu 8-nitroguaninu; tato modifikovaná báze způsobuje transverzní mutace G:C→T:A;

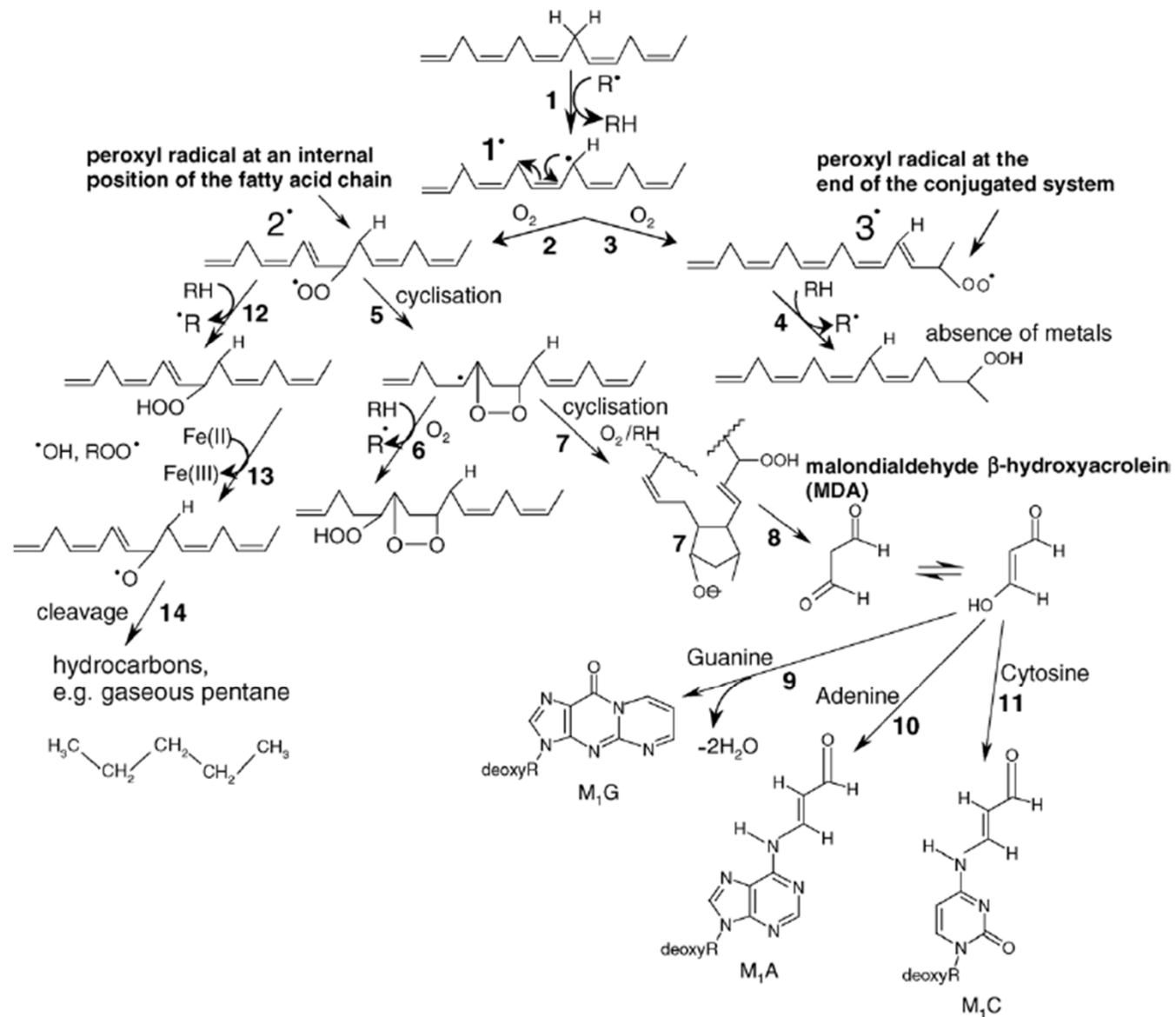


- oxidativní poškození je často detekováno i v mtDNA;
- mutace - geny pro komplexy I, III, IV a V; hypervariabilní oblasti mtDNA; v řadě typů nádorů;
- omezená možnost DNA reparačních procesů, absence histonů, velká produkce ROS;

## Peroxidace lipidů

- **vysoce nenasycené mastné kyseliny (PUFA)** ve fosfolipidech jsou **velmi snadno oxidovány** působením ROS (především  $\cdot\text{OH}$ );
- vlastní proces lipidní fáze - 3 kroky – **iniciace, propagace a terminace**;
- po vzniku peroxylového radikálu dochází cyklizačními reakcemi k tvorbě endoperoxidů a ke vzniku finálního produktu – **malondialdehydu (MDA)**;
- vedle toho vznikají také další reaktivní aldehydy – **4-hydroxy-2-nonenal (HNE)** a akrolein;
- MDA je účinný mutagen, HNE moduluje aktivitu řady signálních drah;

# Peroxidace lipidů



## Oxidativní poškození proteinů

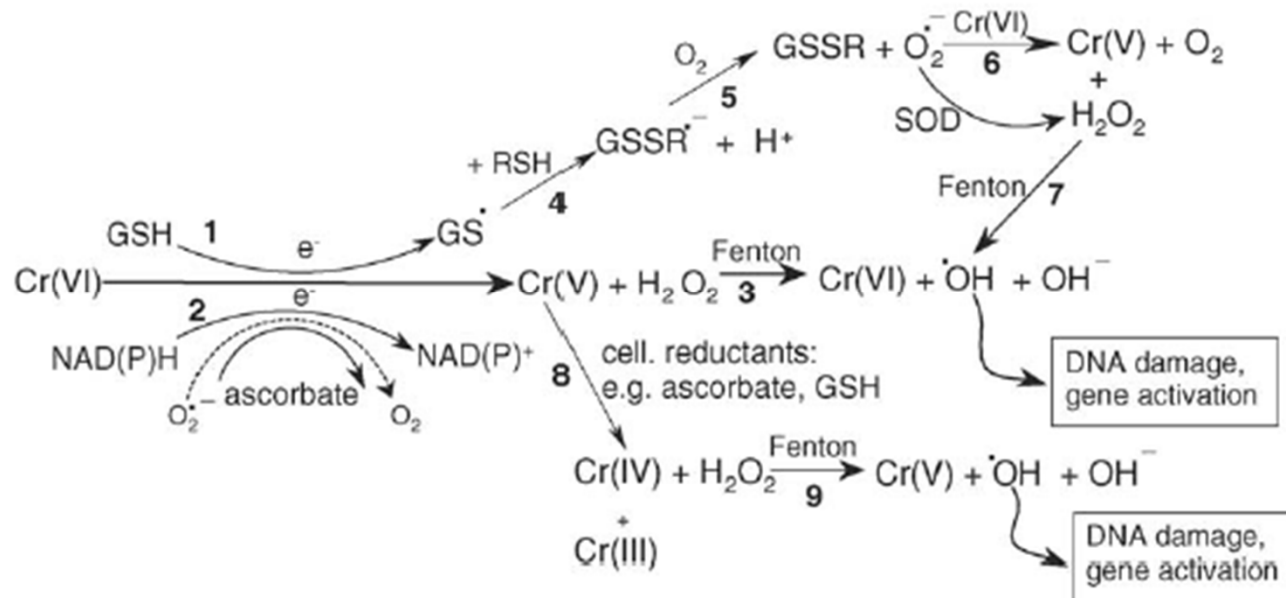
- **ROS mohou reagovat s proteiny** buď přímo, nebo prostřednictvím oxidačních produktů cukrů a lipidů;
- mohou napadat buď peptidovou vazbu nebo postranní řetězce aminokyselin; dochází ke vzniku Tyr cross-links, ztrátě His, tvorbě karbonylových skupin a tvorbě řady typů radikálů - protein-centered alkyl (R•), alkoxy (RO•), alkylperoxy (ROO•);
- vysoce citlivé jsou zejména Pro, Tyr, His, Arg, Lys, Met a Cys;
- vzniká řada typických oxidačních produktů – např. Arg → Glu-semialdehyd; Glu → 4-hydroxy-Glu; His → 2-oxo-His; Tyr → 3,4-dihydroxy Phe; Tyr–Tyr cross-linkované proteiny, 3-nitro-Tyr; Val → 3,4-hydroxy-Val; Cys → Cys–S–S–Cys, Cys–S–S–R disulfid; Pro → 2-pyrrolidon-4-hydroxy-Pro; Met → Met-sulfon, Met-sulfoxid;
- oxidativní poškození může vést ke ztrátě funkce nebo aktivaci proteinu; akumulace poškozených proteinů může přispět k indukci apoptózy;

# Chemické karcinogeny indukující oxidativní stres

Environmental and pharmaceutical carcinogens that can induce oxidative stress and damage.

Chemicals	Experimental models	ROS or effects
<i>Genotoxic</i>		
N-nitroso compounds	Murine	MDA, 8OHdG
Bisphenol A	Rats	8OHdG
BaP	Mice	8OHdG
AFB-1	Rats	8OHdG
Heterocyclic amines	In vitro	$\cdot\text{OH}$
MMC and 2-acetylaminofluorene	In vitro	$\cdot\text{OH}$
KBrO <sub>3</sub>	Rats	8OHdG
<i>Nongenotoxic</i>		
2-Butoxyethanol	Mice	
Acrylonitrile	Rats; in vitro	MDA, 8OHdG
Chlorinated compounds (TCDD, dieldrin, DDT, lindane)	Murine; in vitro	lipid peroxidation, O <sub>2</sub> <sup>-</sup> , etc.
Phenobarbital	Murine	$\cdot\text{OH}$ , 8OHdG, lipid peroxidation
Metal (nickel, BrCl, chromium, Fe-NTA iodobenzene)	Murine	$\cdot\text{OH}$ , 8OHdG, MDA, NO
Peroxisome proliferator (DEHP, WY-14643, clofibrate, ciprofibrate, PFDA)	Murine	$\cdot\text{OH}$ , 8OHdG, etc.
CCl <sub>4</sub>		Trichloromethyl peroxy radical
Phorbol ester (TPA, PMA)	Murine, in vitro	$\cdot\text{OH}$ , 8OHdG
Quinones	V79 cells	8OHdG

# Modelový příklad: Indukce ox. stresu Cr<sup>VI</sup>



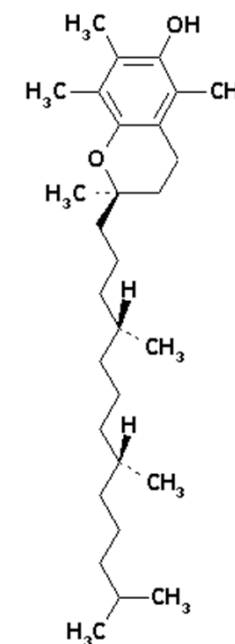
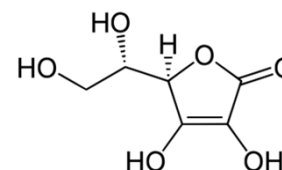
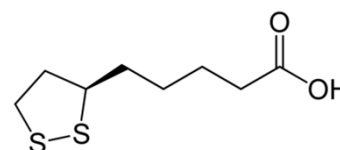
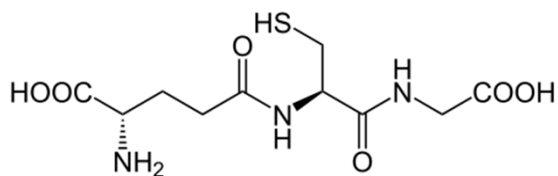
# Antioxidační obranné mechanismy

- negativní toxické působení ROS či RNS je blokováno řadou antioxidačních mechanismů:

## 1. neenzymatické antioxidanty

## 2. antioxidační enzymy

- mezi významné neenzymatické antioxidanty patří především **vitamin C**, **vitamin E**, **karotenoidy**, **thiolové antioxidanty (glutathion, thioredoxiny, kyselina lipoová)**;



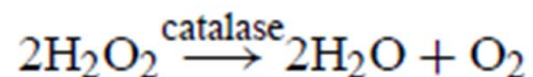


## Antioxidační enzymy

- jedním z nejúčinnějších intracelulárních antioxidačních enzymů je **superoxiddismutáza** (EC 1.15.1.1), enzym, který katalyzuje přeměnu  $\cdot\text{O}_2$  na  $\text{H}_2\text{O}_2$ ;
- u člověka – 3 základní isoformy – cytosolová **Cu, Zn-SOD**; mitochondriální **Mn-SOD** a extracelulární **EC-SOD**;
- **Cu, Zn-SOD** je homodimer (32 kDa) jehož enzymatická aktivita je nezávislá na pH, každá z podjednotek obsahuje v aktivním místě ionty Cu a Zn; **Mn-SOD** – homotetramer (96 kDa) – každá podjednotka obsahuje 1 atom Mn – jede z nejúčinnějších antioxidačních enzymů s protinádorovými vlastnostmi, abnormálně vysoké hladiny Mn-SOD v některých nádorech ale přispívají k nádorové progresi, což pravděpodobně souvisí s nerovnováhou mezi  $\cdot\text{O}_2$  na  $\text{H}_2\text{O}_2$  – aktivace metaloproteináz;
- EC-SOD – sekreční tetramerická forma SOD, 4 podjednotky, glycoprotein jehož hladina je regulována cytokiny;

## Antioxidační enzymy

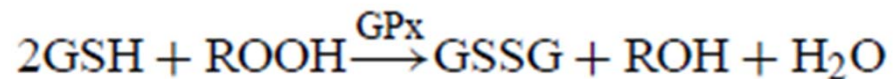
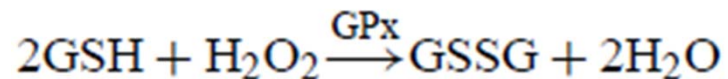
- **kataláza** (EC 1.11.1.6) je enzym široce rozšířený ve všech živých organismech (rostliny, živočichové, aerobní bakterie);
- primárně je kataláza lokalizovaná v peroxizómech kde katalyzuje přeměnu **H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** na **H<sub>2</sub>O** a **O<sub>2</sub>**;



- jedná se o jeden z nejúčinnějších enzymů vůbec – 1 molekula enzymy je schopna za minutu přeměnit až 6 mil. molekul H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>;
- hladina katalázy je výrazně snížena v řadě typů nádorových buněk;

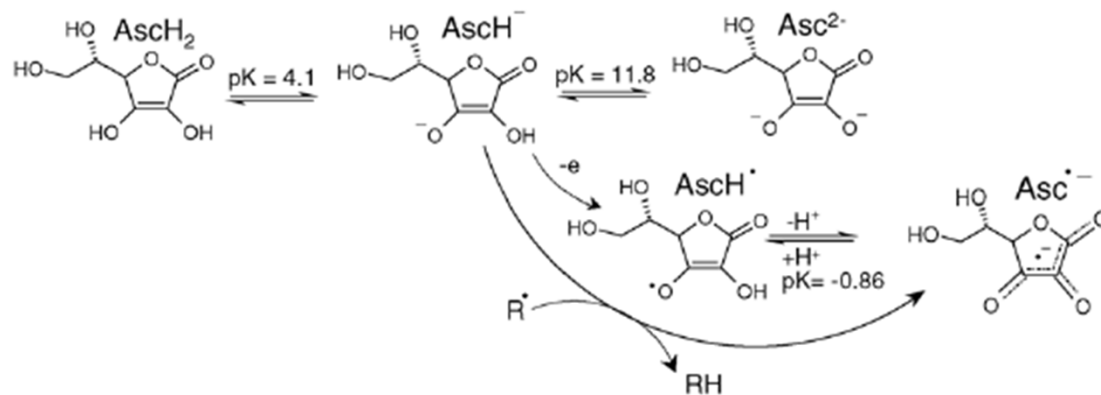
## Antioxidační enzymy

- 2 typy glutathion peroxidáz - selen-nezávislé (glutathion-S-transferáza, **GST**, EC 2.5.1.18) a na selenu závislé (**GPx**, EC 1.11.1.19); oba typy enzymů se liší množstvím podjednotek, typem katalytického centra a mechanismem působení – oba mají zásadní význam pro metabolismus glutathionu, jednoho z klíčových antioxidantů;
- 4 lidské GPx; kompetice s katalázou o peroxid, **zásadní při obraně proti nízkým hladinám ox. stresu**;



# Antioxidanty

- **kyselina askorbová** (vitamin C) významný antioxidant především ve vodné fázi; úzce spolupracuje s karotenoidy a vitamínem E – regeneruje  $\alpha$ -tokoferol z  $\alpha$ -tokoferolových radikálů vznikajících v buň. membránách;
- reakcí askorbátu s ROS vzniká zejména semidehydroaskorbátový radikál – málo reaktivní – terminace radikálových reakcí;
- hraje zásadní roli při ochraně buň. membrán; řada *in vivo* studií potvrdila snížení oxidativního poškození DNA, lipidů a proteinů připodáváním vitaminu C;

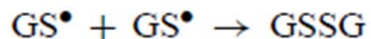
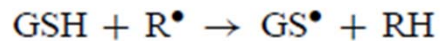


# Antioxidanty

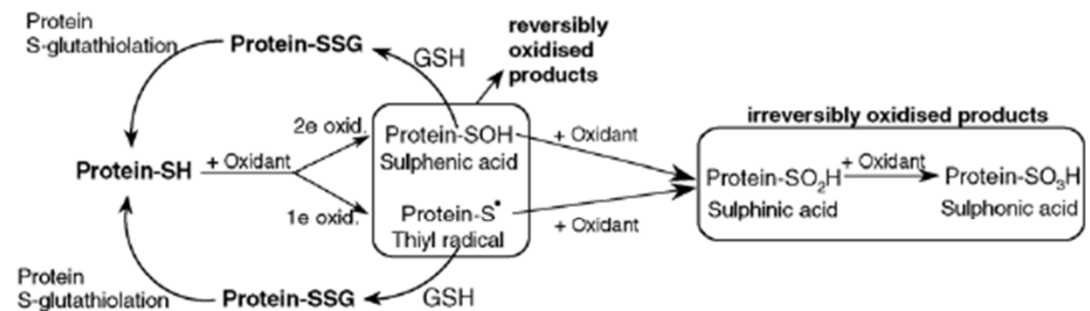
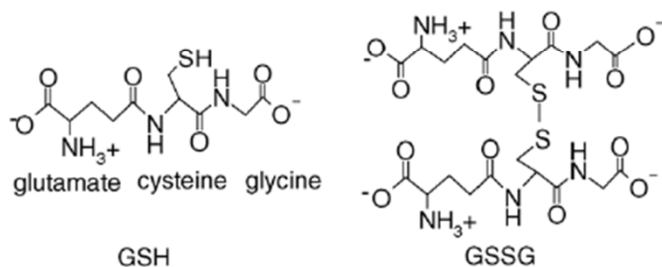
- vitamin E existuje v 8 formách, ale dominantní je  **$\alpha$ -tokoferol**; významný antioxidant rozpustný v tucích;
- hlavní funkcí je ochrana před lipidní peroxidací, přičemž spolupracuje s kys. askorbovou; během antioxidační reakce reaguje  $\alpha$ -tokoferol s lipidovými radikály za vzniku  $\alpha$ -tokoferolových radikálů, které jsou následně regenerovány kys. askorbovou;

# Antioxidanty

- glutathion (GSH)** je hlavní solubilní thiolový antioxidant vyskytující se v buňkách v koncentracích dosahujících až 10-15 mM; vysoká hladina GSH v jádře má např. význam pro udržování –SH skupin proteinů podílejících se na DNA repair



- částečně oxidované proteiny (protein-SOH, protein-S<sup>•</sup>) reagují s GSH za vzniku protein-S-SG, který je dále redukován GPx a malými proteiny (např. thioredoxin); při nedostatku GSH vznikají ireverzibilně oxidované proteiny - protein-SO<sub>2</sub>H a protein-SO<sub>3</sub>H;

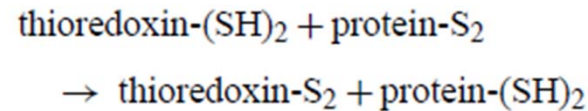


## Antioxidanty

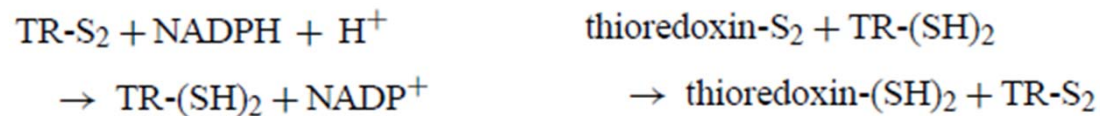
- **glutathion** má řadu funkcí v buňce:
- slouží jako kofaktor GST a GPx; podílí se na transportu aminokyselin přes membrány; může přímo vychytávat ROS (hydroxylový radikál, singletový kyslík); prostřednictvím GPx se podílí na detoxifikaci peroxidů;
- podílí se na regeneraci vitamínu C a E;
- poměr GSH a GSSG hraje významnou roli v regulaci redoxní signalizace – např. aktivita transkripčních faktorů AP-1 a NF- $\kappa$ B; chrání buňky před apoptózou;

# Antioxidanty

- **thioredoxin** – malý multifunkční protein, který obashuje dva tzv. redoxně aktivní Cys residua (vysoce konzervované aktivní místo Cys–Gly–Pro–Cys); snadno reaguje s oxidovanými proteiny obsahujícími disulfid;



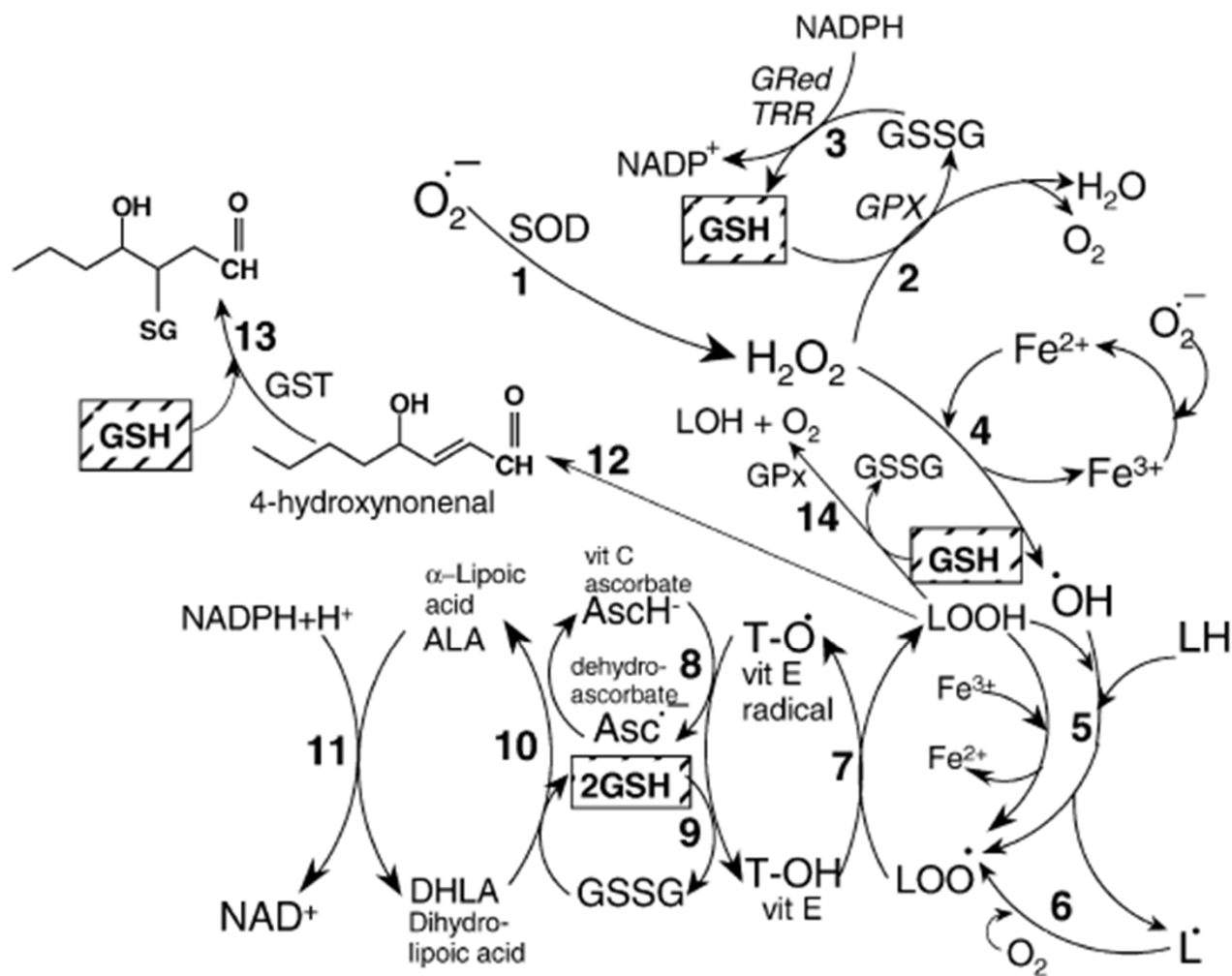
- oxidovaný thioredoxin je zpětně redukován pomocí thioredoxin reduktázy;



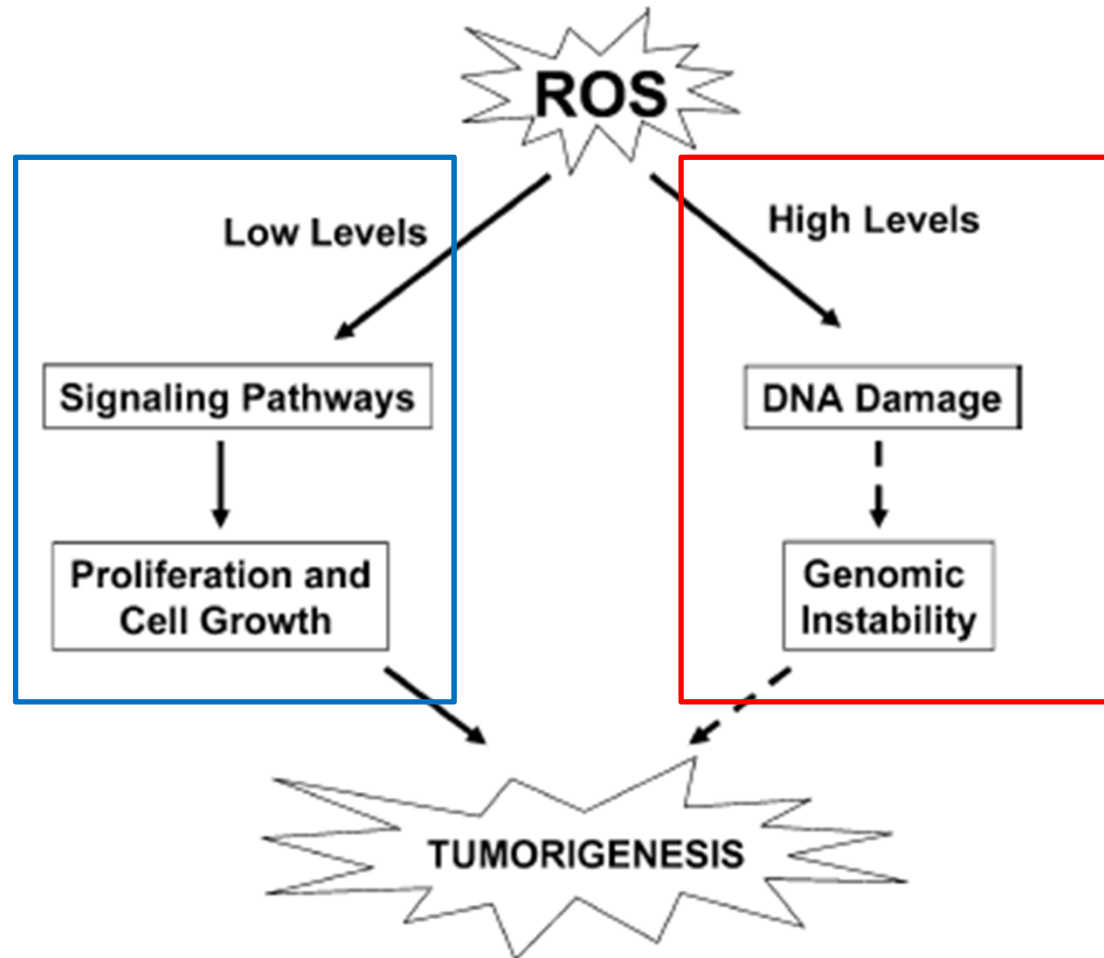
- thioredoxin i thioredoxin reduktáza hrají významnou roli v redoxní regulaci řady transkripčních faktorů kontrolujících např. buněčnou proliferaci nebo apoptózu (AP-1 a NF-κB);



# Antioxidanty – komplexní reakce



# Hierarchické účinky ROS

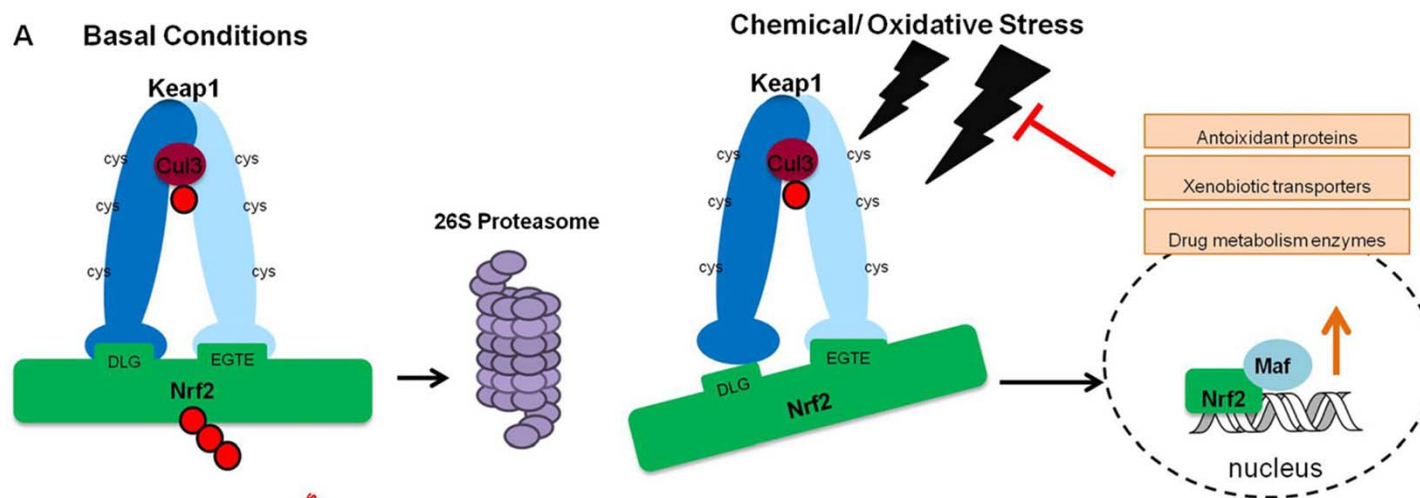


## Redoxní signalizace

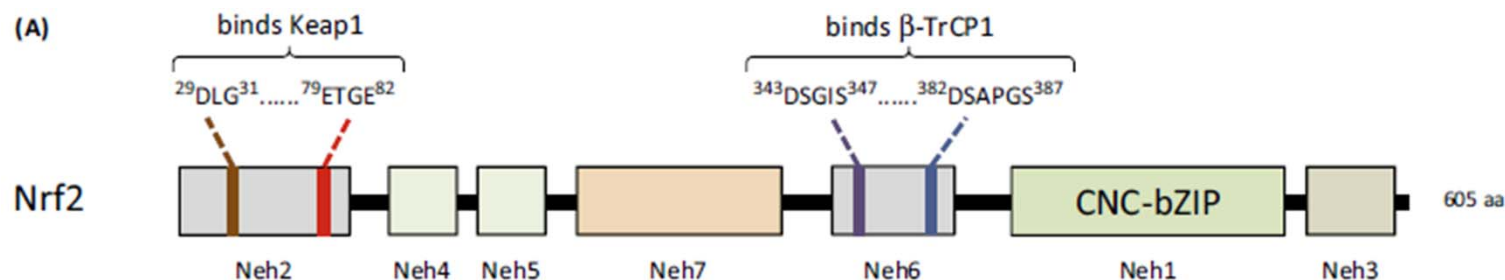
- **indukce tvorby ROS významným způsobem ovlivňuje aktivitu drah signální transdukce:**
- předpokládá se, že ROS mohou do jisté míry hrát úlohu druhých poslů v signálních drahách aktivovaných cytokiny a růstovými faktory;
- mezi nejvýznamnější cíle ROS patří signální dráhy **kináz aktivovaných mitogeny (MAP kináz), aktivace transkripčního faktoru nuclear factor-erythroid 2 p45-related factor 2 (Nrf2), modulace aktivity receptorových kináz, aktivace transkripčního faktoru AP-1, modulace aktivity transkripčního faktoru NF- $\kappa$ B; aktivace HIF-1;**

## Nuclear factor-erythroid 2 p45-related factor 2 (Nrf2)

- **Nrf2** je transkripční faktor (basic region-leucine zipper (bZip)) aktivovaný v podmínkách oxidativního/chemického stresu, který hraje významnou roli v koordinované regulaci antioxidantních enzymů a enzymů metabolizujících xenobiotika (XME) – vazba na tzv. **antioxidační responzivní elementy (ARE)**;

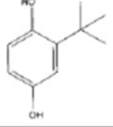
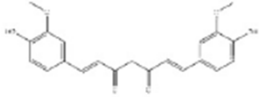
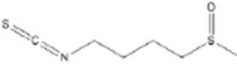
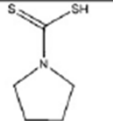
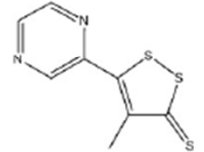
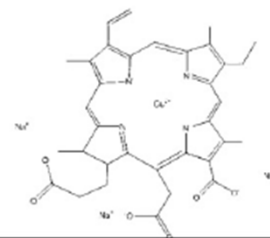
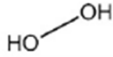



*Biochemical Pharmacology 85, 705, 2013*

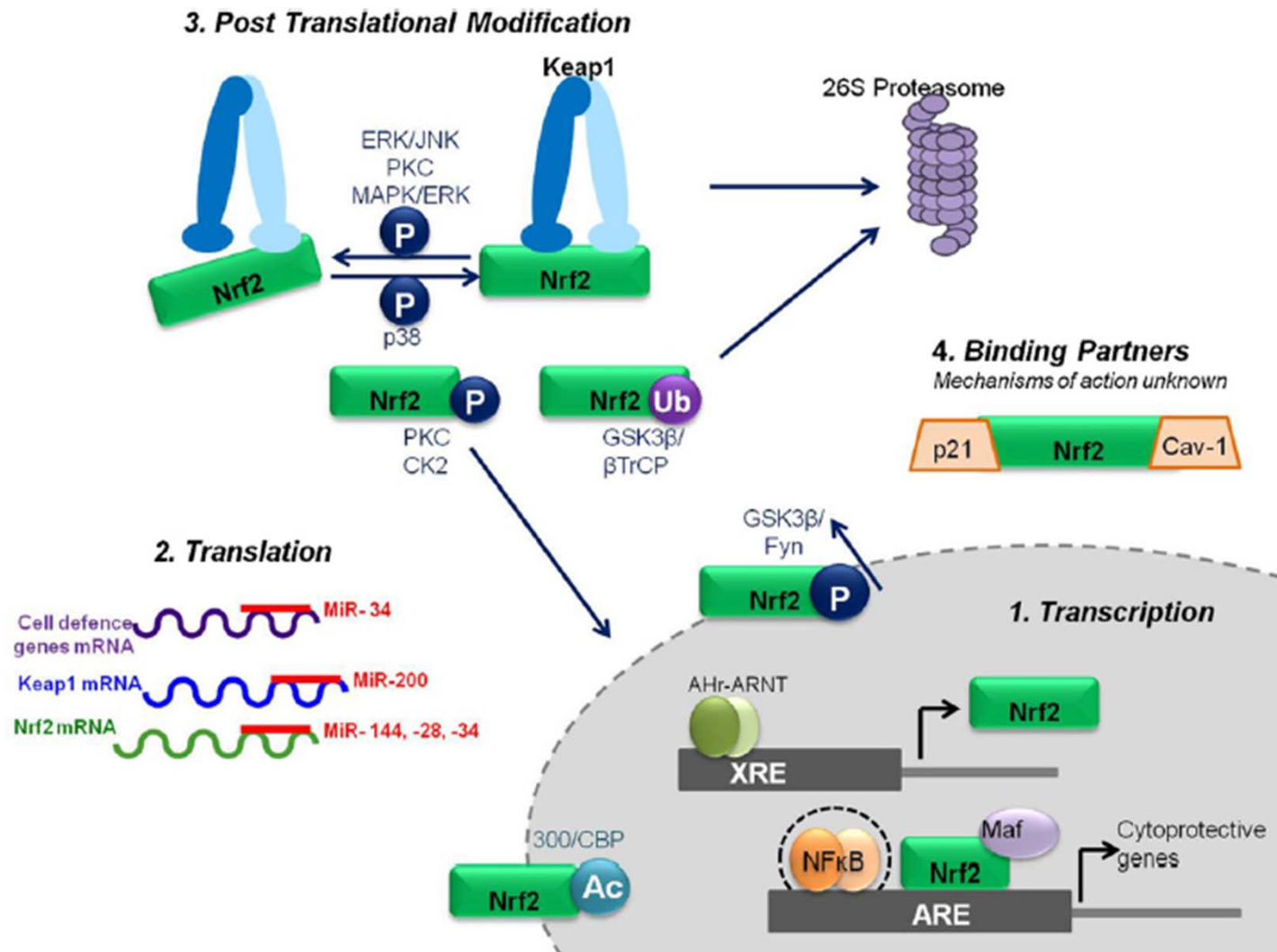


*Trends in Biochemical Sciences 39, 199, 2014*

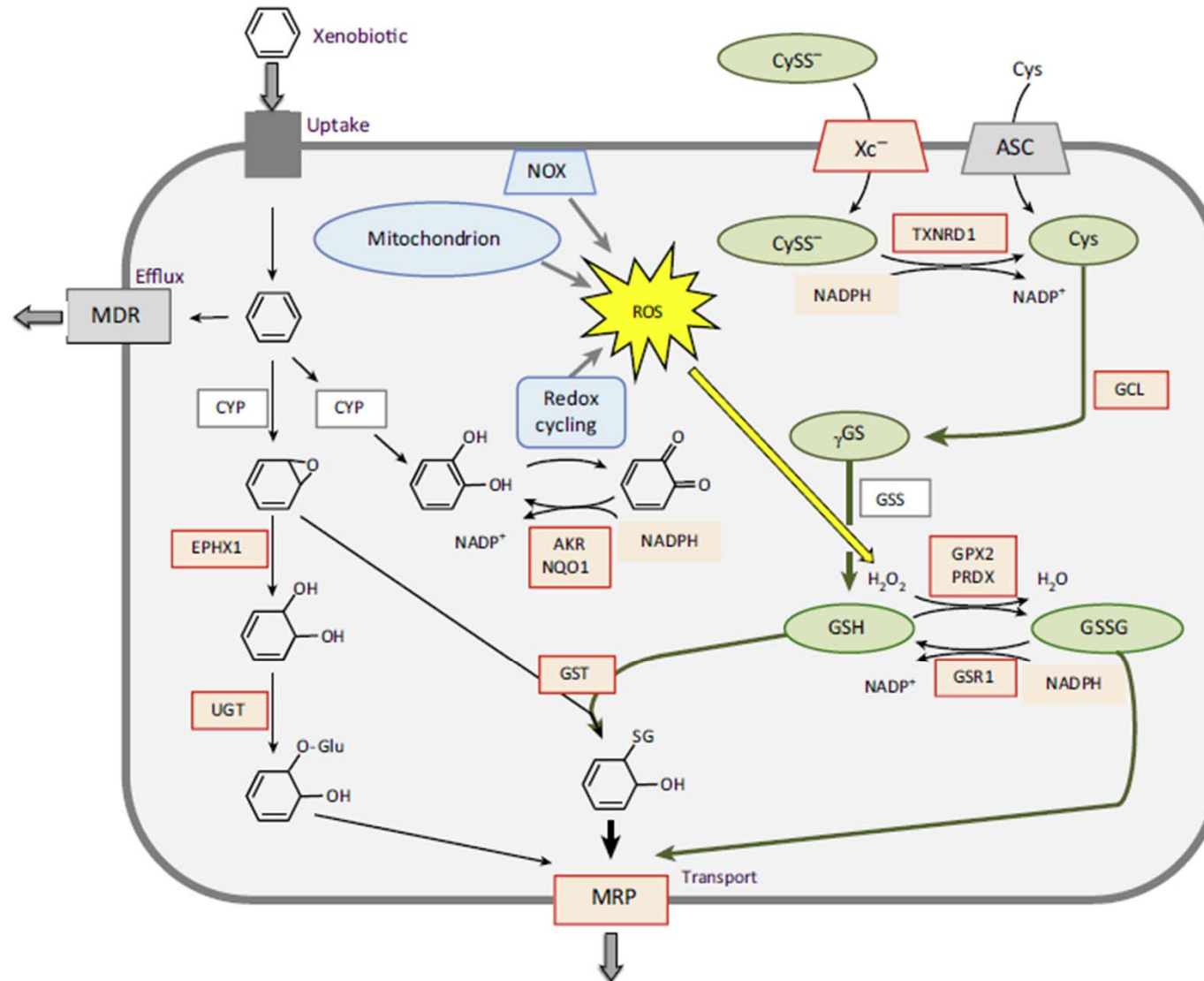
# Nuclear factor-erythroid 2 p45-related factor 2 (Nrf2)

Class	Example	Structure
Oxidisable diphenols, phenylenediamines, Quinones	<b>BHA:(2(3)-tert-butyl-4-hydroxyanisole)</b> tBHQ: tert-butylhydroquinone	
Michael reaction acceptors	<b>Curcumin (turmeric)</b> CDDO-Me, Zerumbone (ginger) Citral (plant oils)	
Isothiocyanates and sulfoxythiocarbamates	<b>Sulforaphane</b> , Benzyl isothiocyanate, (cruciferous vegetables)	
Thiocarbamates	Pyrrolidine dithiocarbamate (PDTC)	
Dithiolethiones	<b>Oltipraz: 4-methyl-5-pyrazinyl-3H-1,2-dithiole-3-thione</b> (R)-Lipoic acid	
Polyenes	<b>Chlorophyll</b> , Porphyrins, chlorophyllins	
Hydroperoxides	Hydrogen peroxide	
Trivalent arsenicals	Arsenic Trioxide	$As^{3+}$
Heavy metals	Methyl mercury, Cadmium, Zinc	$Hg^{2+}$ , $Cd^{2+}$ , $Zn^{2+}$
Dimercaptans	Mercaptan	

# Nuclear factor-erythroid 2 p45-related factor 2 (Nrf2)



# Nuclear factor-erythroid 2 p45-related factor 2 (Nrf2)





## Geny pozitivně regulované Nrf2

General biochemical function	Symbol	Name	Species
Detoxication: Phase I drug oxidation, reduction and hydrolysis	<i>ADH7</i>	alcohol dehydrogenase class 4 mu/sigma chain	m
	<i>AKR1B1</i>	aldo-keto reductase family 1, member B1 (and 1B8 and 1B10)	m, h
	<i>AKR1C1</i>	aldo-keto reductase family 1, member C1 (and 1C2 and 1C3)	h
	<i>ALDH1A1</i>	aldehyde dehydrogenase 1 family, member A1	m
	<i>ALDH3A1</i>	aldehyde dehydrogenase 3 family, member A1 (and 3A2)	m, h
	<i>ALDH7A1</i>	aldehyde dehydrogenase 7 family, member A1	m
	<i>CBR1</i>	carbonyl reductase 1 (and 3)	h
	<i>CYP1B1</i>	cytochrome P450, family 1, subfamily B, polypeptide 1	m
	<i>CYP2B9</i>	cytochrome P450, family 2, subfamily B, polypeptide 9 (and 10)	m
	<i>EPHX1</i>	epoxide hydrolase 1, microsomal	m, h
	<i>PTGR1</i>	prostaglandin reductase 1 (also called LTB4DH)	h
	<i>NQO1</i>	NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1	m, h
	Detoxication: Phase II drug conjugation	<i>GSTA1</i>	glutathione S-transferase class Alpha 1 (and A2, A3 and A4)
<i>GSTM1</i>		glutathione S-transferase class Mu 1 (and M2, M3, M4, M6 and M7)	m
<i>GSTP1</i>		glutathione S-transferase class Pi 1 (and P2)	m
<i>MGST1</i>		microsomal glutathione S-transferase 1 (and 2)	m, h
<i>SULT1A1</i>		sulfotransferase family, cytosolic, 1A, member 1 (2)	h
<i>UGT1A1</i>		UDP glucuronosyltransferase 1 family, polypeptide A1 (and 1A6)	h
<i>UGT2B7</i>		UDP glucuronosyltransferase 2 family, polypeptide B7 (and 2B34)	m, h
Detoxication: Phase III drug transport	<i>ABCB6</i>	ATP-binding cassette, subfamily B (MDR/TAP), member 6	m, h
	<i>ABCC1</i>	ATP-binding cassette, subfamily C (CFTR/MRP) member 1	m
	<i>ABCC2</i>	ATP-binding cassette, subfamily C (CFTR/MRP) member 2	m, h
	<i>ABCC3</i>	ATP-binding cassette, subfamily C (CFTR/MRP) member 3	m, h
	<i>ABCC4</i>	ATP-binding cassette, subfamily C (CFTR/MRP) member 4	m
	<i>ABCC5</i>	ATP-binding cassette, subfamily C (CFTR/MRP) member 5	m



## Geny pozitivně regulované Nrf2

General biochemical function	Symbol	Name	Species
Antioxidant: GSH-based system	<i>GCLC</i>	glutamate-cysteine ligase, catalytic subunit	m, h
	<i>GCLM</i>	glutamate-cysteine ligase, modifier subunit	m, h
	<i>GGT1</i>	gamma-glutamyltransferase 1	h
	<i>GLRX</i>	glutaredoxin 1	h
	<i>GLS</i>	glutaminase	h
	<i>GPX2</i>	glutathione peroxidase 2	m, h
	<i>GPX4</i>	glutathione peroxidase 4	m
	<i>GSR1</i>	glutathione reductase	m, h
	<i>SLC6A9</i>	glycine transporter	m
	<i>SLC7A11</i>	cystine/glutamate transporter	m, h
Antioxidant: TXN-based system	<i>PRDX1</i>	peroxiredoxin 1	m, h
	<i>PRDX6</i>	peroxiredoxin 6	m, h
	<i>SRXN1</i>	sulfiredoxin-1	m, h
	<i>TXN1</i>	thioredoxin	m, h
	<i>TXNRD1</i>	thioredoxin reductase 1	m, h

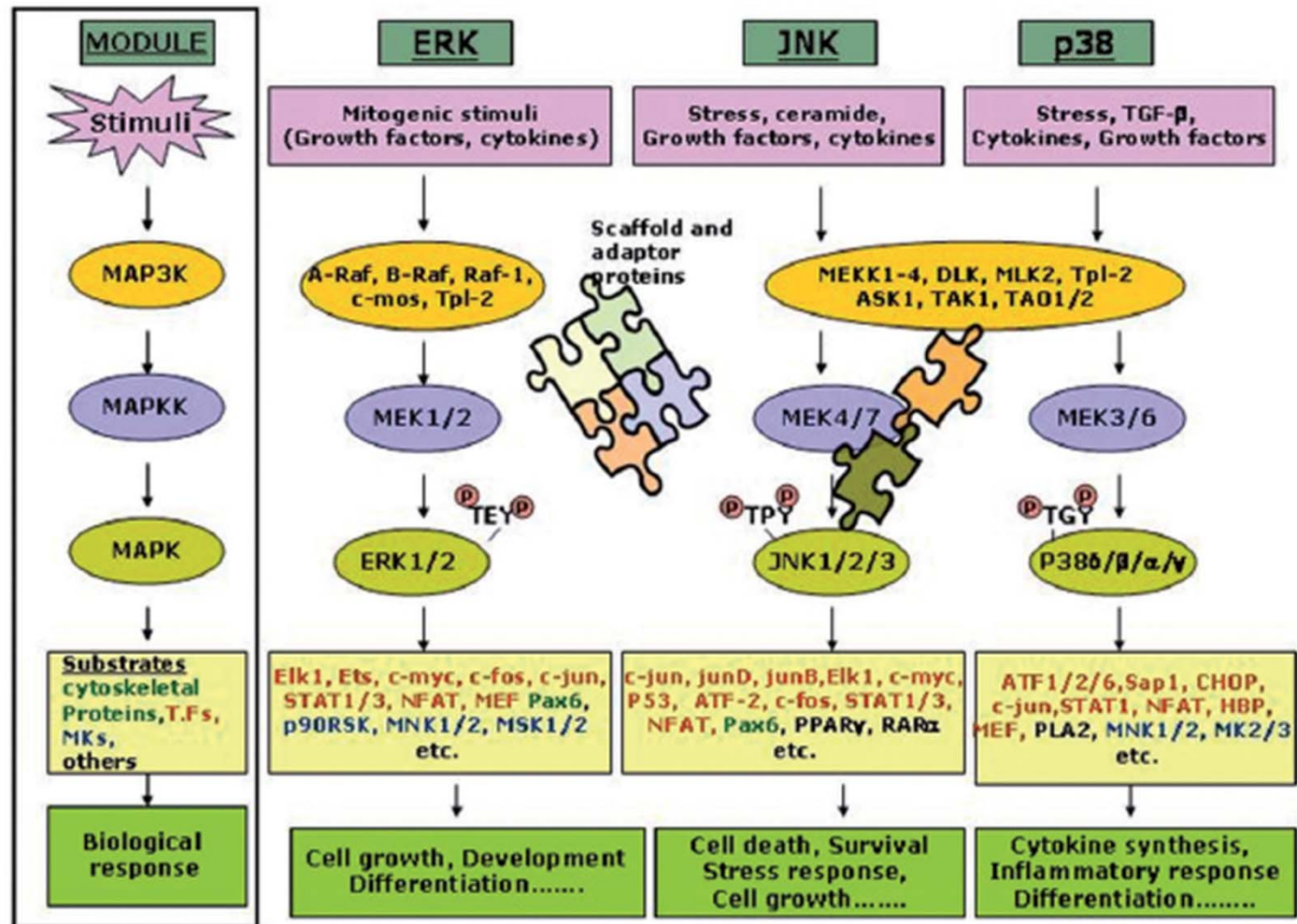
## Geny pozitivně regulované Nrf2

General biochemical function	Symbol	Name	Species
Carbohydrate metabolism and NADPH regeneration	<i>G6PD</i>	glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase	m, h
	<i>HDK1</i>	hexokinase domain containing 1	h
	<i>IDH1</i>	isocitrate dehydrogenase 1	m
	<i>ME1</i>	malic enzyme 1, NADP <sup>+</sup> -dependent, cytosolic	m, h
	<i>PGD</i>	6-phosphogluconate dehydrogenase	m, h
	<i>TALDO1</i>	transaldolase	m, h
	<i>TKT</i>	transketolase isoform 1	h
	<i>UGDH</i>	UDP-glucose dehydrogenase	h
Lipid metabolism: fatty acid oxidation	<i>ACOT7</i>	acetyl-CoA thioesterase 7	m
	<i>ACOT8</i>	acetyl-CoA thioesterase 8	m
	<i>ACOX1</i>	acetyl-CoA oxidase 1	m
	<i>ACOX2</i>	acetyl-CoA oxidase 2, branched chain	m
	<i>AWAT1</i>	acetyl-CoA wax alcohol acyltransferase 1	m
	<i>CES1G</i>	carboxylesterase 1G	m
	<i>CES1H</i>	carboxylesterase 1H	m
	<i>SCD2</i>	stearoyl-CoA desaturase-2	m
Lipid metabolism: lipases	<i>LIPH</i>	lipase, member H	m
	<i>PLA2G7</i>	phospholipase A2, group vii (platelet-activating factor acetylhydrolase)	m
	<i>PNPLA2</i>	patatin-like phospholipase domain containing 2	m

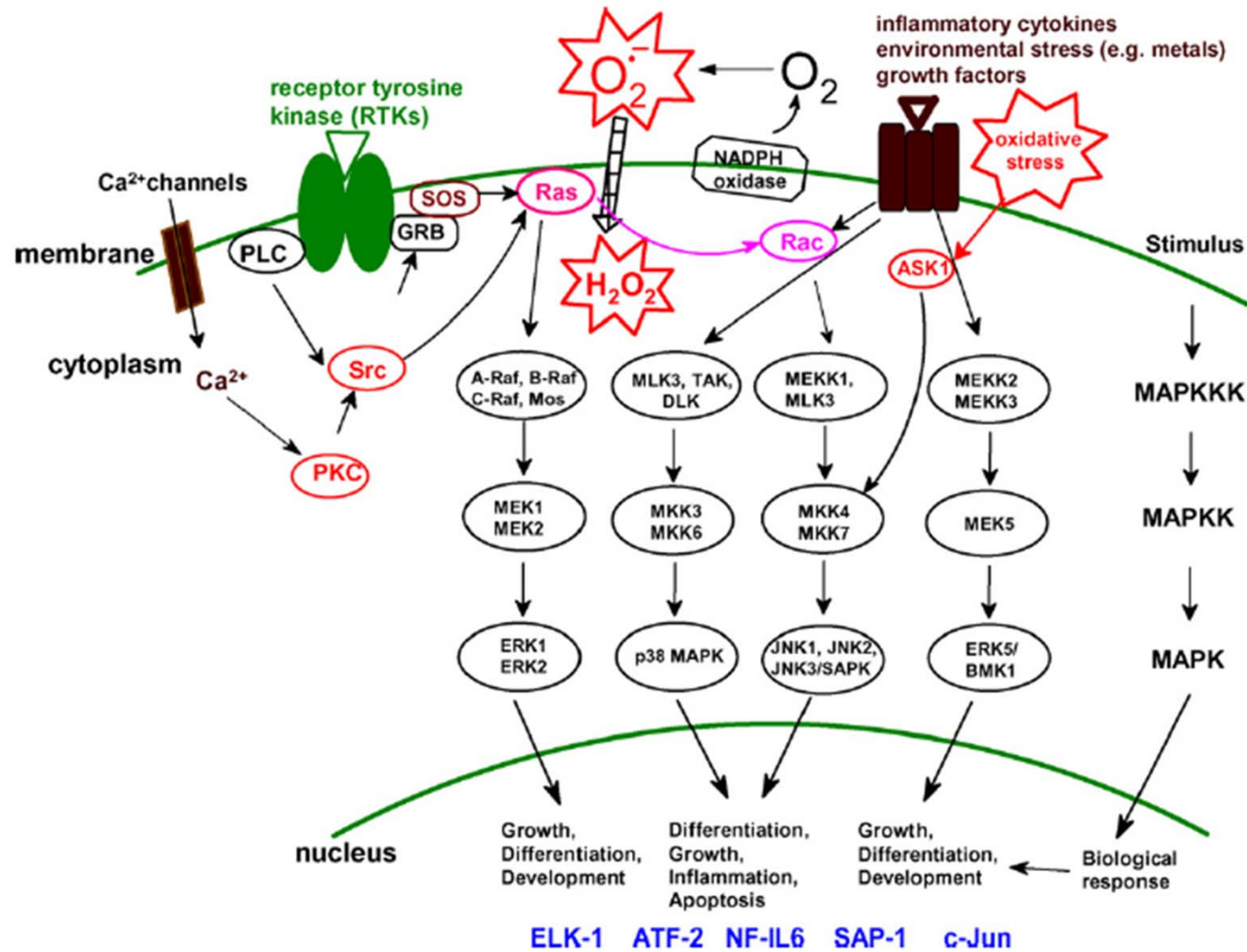
# Aktivace PKC

- rodina serin/threoninových kináz;
- indukce **ROS vede k uvolnění intracelulárního  $\text{Ca}^{2+}$  což může aktivovat PKC;**
- tímto způsobem mohou ROS regulovat řadu procesů, vč. proliferace, buň. diferenciace, změn organizace cytoskeletonu a migrace buněk, i apoptózy;
- vedle toho, že ROS mohou aktivovat PKC, je také známo, že vysoká aktivita PKC indukuje tvorbu ROS v některých experimentálních modelech;
- PKC také interagují s dalšími proteiny modulovanými oxidativním stresem, jako jsou např. MAP kinázy;

# Aktivace MAP kináz

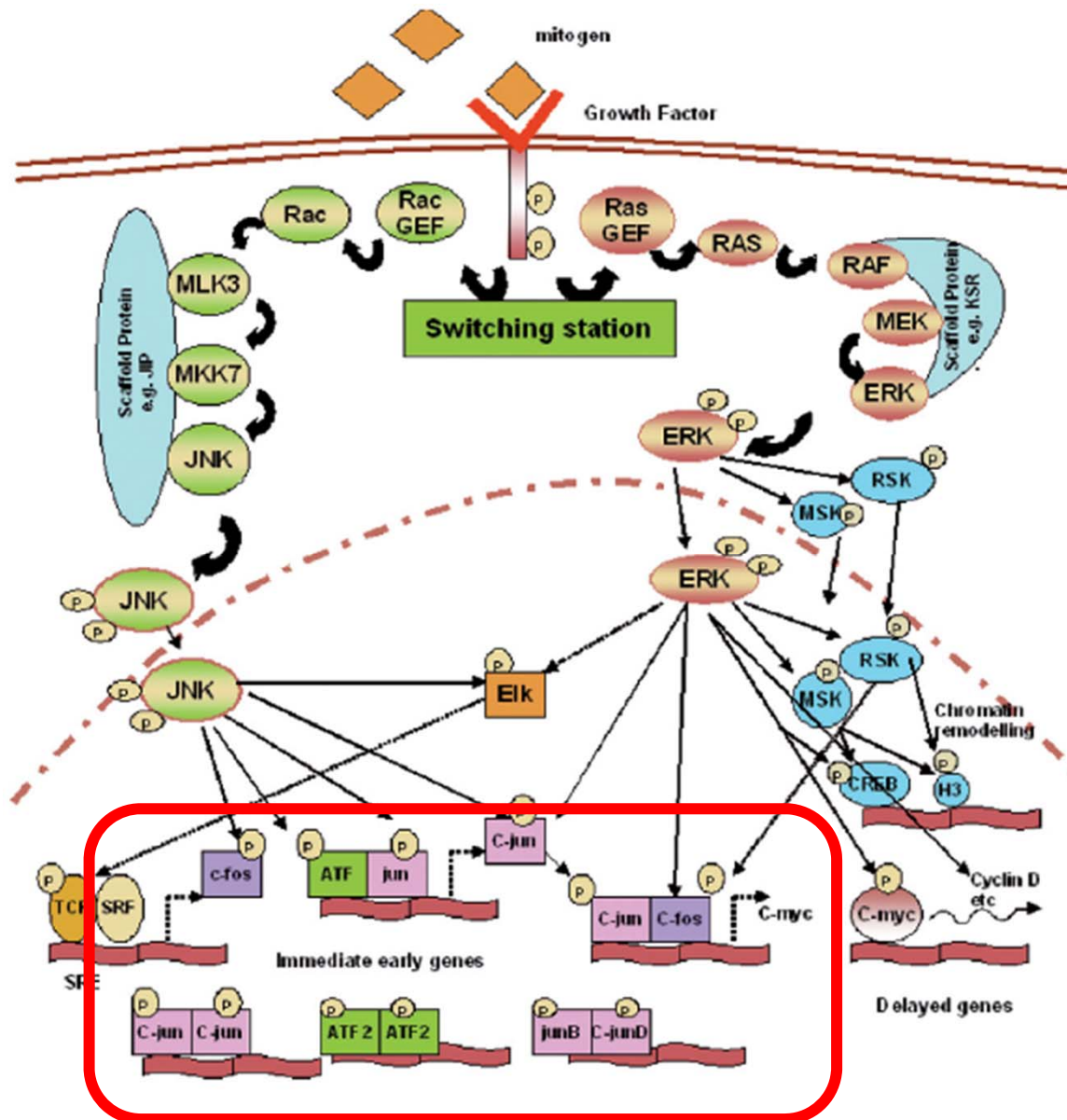


# Aktivace MAP kináz





# Aktivace AP-1

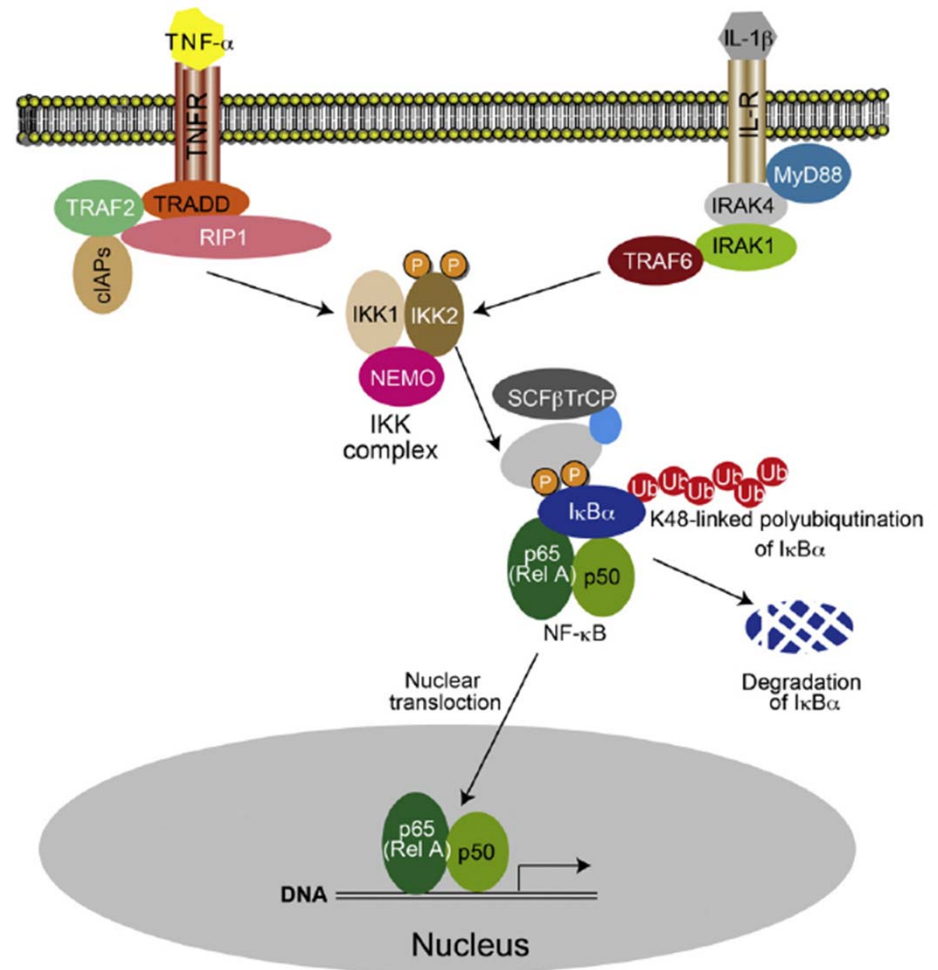


## Aktivace AP-1

- **AP-1** je skupina **transkripčních faktorů** (bZip dimery) skládajících se z proteinů jako **Jun** (c-Jun, JunB, JunD), **Fos** (FosB, Fra-1, Fra-2), **Maf** (musculoaponeurotic fibrosarcoma), a **ATF** (activating transcription factors) které se vážou na tzv. **TPA nebo cAMP responzivní elementy**;
- **AP-1 je aktivován cytokiny, růstovými faktory, ale také H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** – in vitro je např. transkripční aktivita AP-1 regulována redoxním stavem Cys64 lokalizovaného mezi dvěma podjednotkami c-Jun; **hlavní způsob aktivace ROS je ale prostřednictvím aktivovaných p38 a JNK kináz**;
- mezi důsledky aktivace AP-1 patří především indukce proliferace (indukce cyklinu D1 a represe p21 CDKI), ale dopad aktivace AP-1 často závisí na typu proteinů vytvářejících AP-1 dimer;

# Aktivace NF- $\kappa$ B

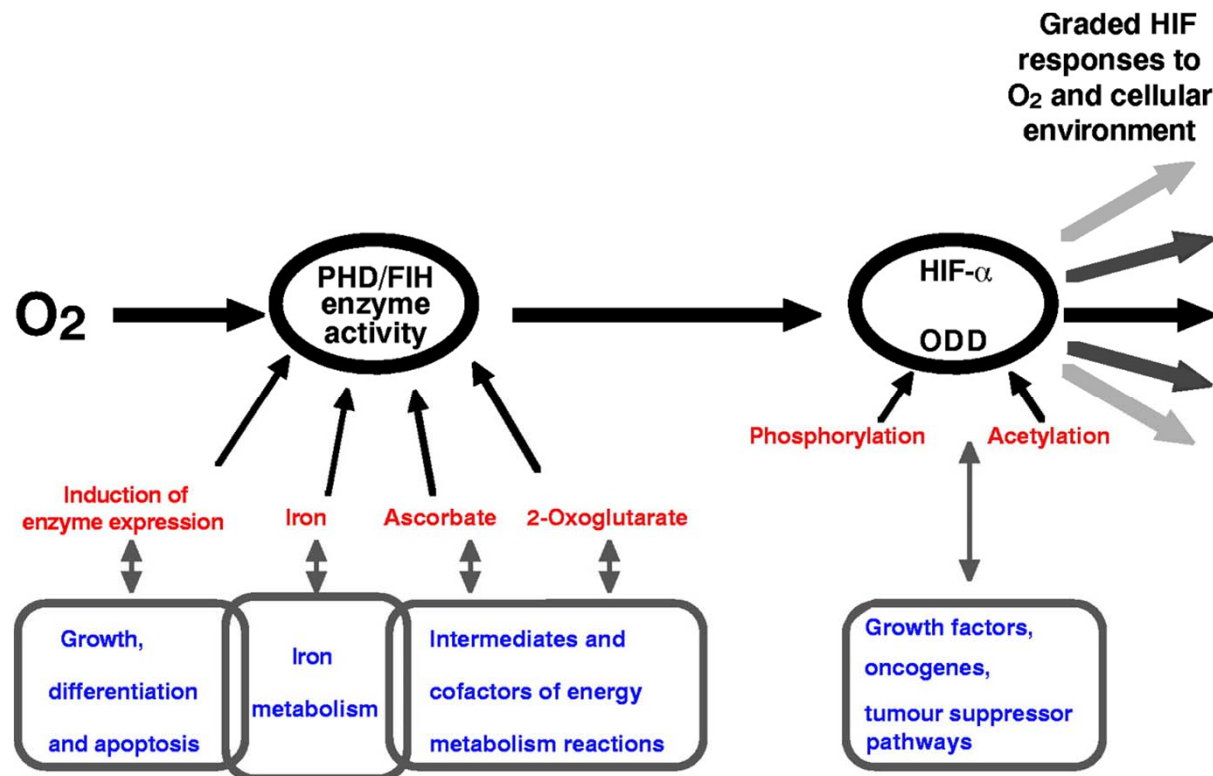
- jaderný transkripční faktor regulující buněčný růst, přežití, diferenciaci a imunitní odpověď (zánět); dimer skládající se z různých kombinací podjednotek p50 (NF- $\kappa$ B1), p52 (NF- $\kappa$ B2), c-Rel, v-Rel, RelA (p65) a Rel B;
- je aktivován cytokiny, onkogeny, poškozením DNA a také oxidativním stresem;
- je považován za významný faktor v karcinogenezi;



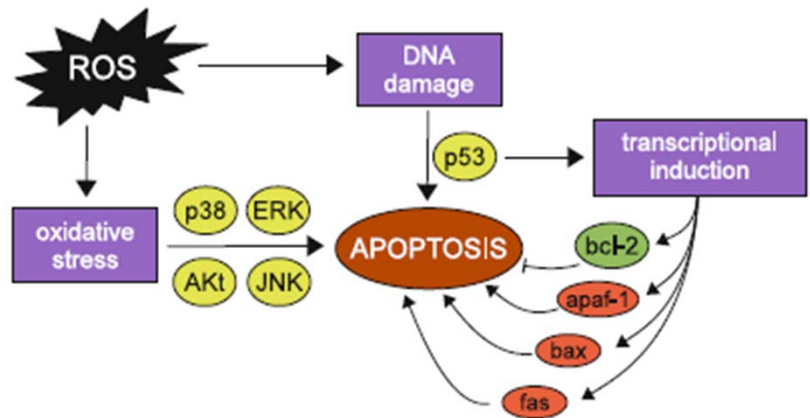


# Aktivace HIF1

- **HIF-1** je heterodimerický transkripční faktor sestávající z podjednotek PAS proteinů HIF-1 $\alpha$  a HIF-1 $\beta$  (ARNT); senzor intracelulární hladiny kyslíku;
- přestože je aktivován hypoxií, **významnou roli ve stabilizaci a aktivaci HIF-1 $\alpha$  hrají ROS**, které jsou pravděpodobně generovány také v hypoxických podmínkách v mitochondriích;
- předpokládá se, že hraje významnou roli v karcinogenezi indukované ROS;



# Dopad tvorby ROS závisí na intenzitě generovaného oxidativního stresu



apoptóza, nekróza

vs.

spec. biol. odpověď:  
např. proliferace a přežívání  
buněk, diferenciacce, změny  
adheze a migrace apod.

