

# Antyoksydanty jako obrona przed reaktywnymi formami tlenu

## *Antioxidants as a defence against reactive oxygen species*

### STRESZCZENIE

Reaktywne formy tlenu powstają jako naturalny produkt procesów metabolicznych zachodzących w organizmie lub pod wpływem czynników zewnętrznych. W warunkach homeostazy ustroju pełnią ważną rolę jako sygnalizatory komórkowe. Wytworzone w nadmiarze, w czasie stresu oksydacyjnego, mogą powodować uszkodzenia w obrębie białek, lipidów, węglowodanów czy kwasów nukleinowych. Ekspozycja komórek oraz struktur pozakomórkowych na działanie wolnych rodników powoduje aktywację naturalnych mechanizmów, mających na celu eliminowanie wolnych rodników i ich pochodnych.

Celem artykułu było przedstawienie roli antyoksydantów w procesie ochrony komórek przed działaniem wolnych rodników.

System ochronny przed wolnymi rodnikami stanowią enzymy antyoksydacyjne: dysmutazy ponadtlenkowe, katalaza, peroksydazy glutationowe oraz reduktaza glutationowa. Ważną rolę pełnią również przeciwutleniacze niskocząsteczkowe, takie jak: witamina C, E, karotenoidy, koenzym Q<sub>10</sub>, flawonoidy, glutation czy melatonina.

**Słowa kluczowe:** antyoksydanty, wolne rodniki, enzymy antyoksydacyjne, przeciwutleniacze nieenzymatyczne

### ABSTRACT

Reactive oxygen species are formed as a natural product of metabolic processes occurring in the organism or under the influence of external factors. Under homeostasis, they play an important role as a cellular signaling device. During oxidative stress, when they are produced in excess, they can cause damages to proteins, lipids, carbohydrates or nucleic acids. Exposure of cells and extracellular structures to free radicals activates natural mechanisms to eliminate free radicals and their derivatives.

The aim of the article was to present what antioxidants are, and how they protect cells against the free radicals.

The protective system against the free radicals consists of antioxidant enzymes: superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidases and reductase. Low-molecular antioxidants such as vitamin C, E, carotenoids, coenzyme Q<sub>10</sub>, flavonoids, glutathione and melatonin also play an important role.

**Keywords:** antioxidants, free radicals, antioxidant enzymes, non-enzymatic antioxidants

### WSTĘP

Tlen umożliwia życie organizmom żyjącym na Ziemi. Bierze udział w procesach metabolicznych i reakcjach enzymatycznych, w wyniku których przekształcany jest w wolne rodniki. Cząsteczka tlenu może ulegać dwu- lub jednoelektronowej redukcji do cząsteczki wody. W wyniku tych procesów powstają reaktywne formy tlenu (RFT), którymi

oprócz wolnych rodników są także tlen singletowy i nadtlenek wodoru. Jak wiadomo, RFT są niezwykle reaktywne, działają szybko i nieswoiście. Posiadają zdolność wchodzenia w reakcje chemiczne ze składnikami komórek, takimi jak białka, lipidy i kwas dezoksyrybonukleinowy DNA, tym samym pozbawiając je ich funkcji biologicznej.

## ŹRÓDŁA RTF

Reaktywne formy tlenu mogą powstawać w organizmie w wyniku działania czynników zewnętrznych, takich jak nieprawidłowa dieta, palenie tytoniu czy spożywanie alkoholu. Dodatkowym źródłem wytwarzania wolnych rodników w nadmiarze mogą być zanieczyszczenia środowiskowe i przemysłowe, promieniowanie jonizujące oraz wzmożone tempo oddychania w trakcie wysiłku fizycznego. Jednak ze względu na ciągłość działania, bardziej istotna jest wewnątrzkomórkowa generacja reaktywnych form tlenu, związana z zachodzącymi w organizmie procesami metabolicznymi, takimi jak oddychanie tlenowe czy procesy zapalne [1]. Głównym źródłem powstawania reaktywnych form tlenu w organizmie jest mitochondrialny łańcuch oddechowy. Łańcuch ten składa się z czterech kompleksów lipoproteiny, pomiędzy którymi przekazywane są elektrony. Transport elektronów zapewniają przenośniki takie jak koenzym  $Q_{10}$  (spinający kompleks I i II) i cytochrom c (spinający kompleks III i IV). Reakcje dwuelektronowej redukcji cząsteczki tlenu wiążą się z przekazywaniem parzystej ilości wodorów lub elektronów na tlen będący substratem kompleksu IV. Szacuje się, że około 2-5% przenoszonych przez kompleksy elektronów, może opuścić łańcuch oddechowy i wejść w jednoelektronowe reakcje z tlenem, co z kolei prowadzi do powstawania wolnych rodników tlenowych [2]. Przyłączenie elektronu do cząsteczki tlenu prowadzi do powstania rodnika ponadtlenkowego ( $O_2^{\cdot-}$ ). Anionorodnik ponadtlenkowy po przyłączeniu drugiego elektronu może zostać przekształcony w inne formy RFT, np. produktu nierodnikowego, ale bardzo reaktywnego nadtlenu wodoru,  $H_2O_2$ . Dołączenie trzeciego elektronu powoduje generację wysoce reaktywnego rodnika hydroksylowego ( $HO^{\cdot}$ ), który posiada zdolność wchodzenia w reakcje praktycznie ze wszystkimi istotnymi biologicznie związkami występującymi w organizmie [3].

Źródłem RFT w mitochondriach mogą być także reakcje enzymów oksydazy monoaminowej i dehydrogenazy  $\alpha$ -ketoglutaranowej. Wiele rodników powstaje również w wyniku naturalnych procesów detoksykacyjnych ustroju, np. w metabolizmie ksenobiotyków. Endogennym źródłem wolnych rodników są również komórki śródbłonka naczyń płuc, eozynofile, neutrofile, a także monocyty i makrofagi [2, 3].

## ZNACZENIE RFT W FIZJOLOGII

Rodniki są obecne w każdej żywej komórce, a ich koncentracja w tkankach zmienia się w szerokich granicach w wyniku działania różnych związków chemicznych, promieniowania, chorób, stresów czy też starzenia się organizmu. Ujawniono wielokierunkowy charakter działania RFT, który uzależniony jest od ich stężenia w komórce.

Wiadomo iż niskie stężenia RFT są niezbędne do przebiegu wielu procesów przebiegających w organizmie i mogą pełnić wiele korzystnych funkcji, o tyle wyższe stężenia mogą być szkodliwe i nieodwracalnie uszkadzać zarówno

struktury komórek, jak i tkanki organizmu, reagując z biologicznie ważnymi makrocząsteczkami. Przekroczenie określonych stężeń RFT w komórkach oraz przewlekła ekspozycja na działanie wolnych rodników prowadzi do stresu oksydacyjnego [8]. Konsekwencją stresu oksydacyjnego są: uszkodzenia mitochondriów, peroksydacja lipidów, uszkodzenia w obrębie błony komórkowej i jej receptorów oraz uszkodzenia jądrowego i mitochondrialnego DNA [1].

Udowodniono iż RFT pełnią funkcję mediatorów i regulatorów metabolizmu komórkowego, wpływają na przekazywanie sygnałów do komórek i w obrębie komórek oraz stymulują transport glukozy do komórek, a także serotoniny do trombocytów [4]. Podkreśla się ich rolę w regulacji ekspresji genów i aktywacji białek odpowiedzialnych za podziały komórkowe.

Wykazano udział RFT w procesach immunologicznych organizmu. Warto zwrócić uwagę na zjawisko „wybuchu tlenowego” wykorzystywane przez granulocyty czy monocyty do eliminacji patogenów [6]. Poprzez zwiększenie przepuszczalności ścian naczyń włosowatych, RFT odpowiadają za prawidłowy przebieg reakcji zapalnej w organizmie. Biorą udział w usuwaniu leków z organizmu, skurczach mięśni, wydzielaniu hormonów oraz w regulacji napięcia naczyniowego [5]. W warunkach fizjologicznych biorą one także udział w tworzeniu wysokoenergetycznych związków fosforowych, detoksykacji ksenobiotyków oraz w owulacji. Pełnią także istotną rolę w procesach starzenia – decydują o śmierci lub przeżyciu komórek. Należy zwrócić uwagę na fakt, iż niskie stężenia RFT indukują procesy różnicowania komórek, natomiast wyższe stężenia kierują komórkę na drogę apoptozy. Dzięki temu, komórki które uległy uszkodzeniom zostają wyeliminowane i nie stanowią zagrożenia dla organizmu [7].

## MECHANIZMY OBRONY ANTYOKSYDACYJNEJ

Szkodliwe działanie reaktywnych form tlenu w ustroju jest równoważone przez związki zwane antyoksydantami (przeciwtleniaczami). Są to substancje, których celem jest zapobieganie oksydacji cząsteczek i przekształcanie rodników w formy nieaktywne, dzięki czemu zmniejsza się liczba uszkodzeń komórek wynikająca z nadmiernego stężenia RFT w organizmie [9]. W miejscu, w którym stężenie RFT jest wyższe niż być powinno, uruchamiane są mechanizmy obronne. Rodzaj użytego antyoksydantu w reakcji z rodnikiem lub inną reaktywną formą tlenu zależy od rodzaju rodnika, miejsca jego powstania oraz struktury jaką atakuje [4].

Istnieje pewna grupa czynników i mechanizmów obronnych, wchodzących w skład antyoksydacyjnego układu obronnego ADS (*antioxidant defense system*). Ze względu na mechanizm działania antyoksydanty dzieli się na enzymatyczne i nieenzymatyczne, przy czym wśród antyoksydantów nieenzymatycznych można wyróżnić związki pochodzenia zarówno endogennego, jak i egzogennego. Stanowią one trzy linie obrony komórek przed RFT [9]. Elementy

pierwszej linii obrony zapobiegają wytwarzaniu wolnych rodników, należą tu: dysmutaza ponadtlenkowa, katalaza i peroksydaza glutationowa. Mechanizmy naprawcze, czyli druga linia obrony, ma na celu przerwanie łańcuchowych reakcji wolnorodnikowych, wymienić tu można witaminę A, C i E, bilirubinę, glutation, kwas moczowy, karnitynę i flawonoidy. Natomiast trzecią linię obrony stanowią mechanizmy, które naprawiają lub eliminują uszkodzone przez działalność RFT komórki [10].

## ENZYMY ANTYOKSYDACYJNE

Wśród związków o działaniu antyoksydacyjnym, główną rolę pełnią przeciwutleniające endogenne, najczęściej enzymy. Głównymi składnikami enzymatycznego układu antyoksydacyjnego są: dysmutaza ponadtlenkowa SOD (*SuperOxide Dismutase*), katalaza (KAT), peroksydaza glutationowa (GPx) oraz reduktaza glutationowa (GR) [11, 12].

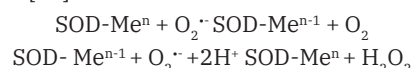
Podstawowym enzymem antyoksydacyjnym jest dysmutaza ponadtlenkowa, która zatrzymuje łańcuchową reakcję powstawania uszkodzeń spowodowanych przez wolne rodniki. Przekształca ona bardziej toksyczny anionorodnik ponadtlenkowy w mniej toksyczny nadtlenek wodoru, który następnie jest rozkładany przez katalazę i peroksydazę [10, 13].

W zależności od miejsca występowania w organizmie ssaków, wyróżnia się trzy izoformy enzymu dysmutazy ponadtlenkowej [14–16]:

- **Cu-ZnSOD (SOD1)** – cynkowo-miedziowa dysmutaza ponadtlenkowa, występująca głównie w cytozolu komórek wątroby, jąder i nerek, a także w erytrocytach i komórkach ośrodkowego układu nerwowego. Jej obecność stwierdzono również w takich organellach komórkowych jak jądro komórkowe, lizosomy czy peroksyzomy. SOD1 jest białkiem wykazującym odporność na wysoką temperaturę oraz na działanie enzymów proteolitycznych;
- **Mn-SOD (SOD2)** – manganowa dysmutaza ponadtlenkowa, występuje głównie w mitochondriach, chociaż jej niewielkie ilości stwierdzono także w przestrzeniach zewnątrzkomórkowych i peroksyzomach. W wyniku działania stresu oksydacyjnego, a także pod wpływem TNF- $\alpha$ , IL-1 czy liposacharydów dochodzi do wzrostu aktywności enzymu SOD2. Z kolei wysokie pH prowadzi do jej obniżenia;
- **EC-SOD (SOD3)** – zewnątrzkomórkowa dysmutaza ponadtlenkowa, to izoenzym dysmutazy występujący w tkankach, osoczu krwi i płynach ustrojowych, takich jak: limfa, maź stawowa, płyn śródmiąższowy i mózgowo-rdzeniowy. W tkankach występuje głównie w macierzy pozakomórkowej oraz na powierzchni komórek, gdzie występuje w stężeniu 20-krotnie wyższym niż w osoczu. Tkankowa EC-SOD stanowi 90–99% EC-SOD w organizmie, około 1% EC-SOD znajduje się w układzie naczyniowym, w równowadze pomiędzy osoczem a śródbłonkiem. Także w naczyniach krwionośnych, płucach i łożysku występuje duża ilość tego enzymu. Mniejsze ilości odnoto-

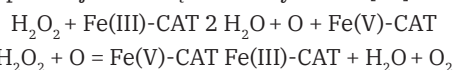
wano w mięśniach szkieletowych, wątrobie, mózgu i nerce. Podobnie jak cynkowo-miedziowa dysmutaza, EC-SOD jest termostabilna i oporna na działanie wysokich stężeń mocznika i wysokiego pH. Zapobiega szkodliwemu działaniu anionorodnika ponadtlenkowego w przestrzeniach międzykomórkowych i w naczyniach krwionośnych, gdzie jest najważniejszym enzymem antyoksydacyjnym. Aktywność EC-dysmutazy ściany naczyń krwionośnych jest znacznie większa niż aktywność tego enzymu narządów mięsnych. EC-SOD podobnie jak Cu-ZnSOD, wykazuje aktywność peroksydazową, unieczynniając  $H_2O_2$ .

Wszystkie izoformy dysmutazy ponadtlenkowej należą do grupy metaloenzymów i katalizują reakcję dysmutacji anionorodnika ponadtlenkowego do nadtlenku wodoru i wody. Reakcja ta odbywa się w dwóch etapach i obrazują ją równania [14]:



Katalaza to enzym należący do klasy oksydoreduktaz. Miejscem występowania katalazy są peroksyzomy, mitochondria oraz retikulum endoplazmatyczne. Wysoką aktywność tego enzymu wykazano także w cytozolu komórek wątroby, nerek, w erytrocytach, szpiku i błonach śluzowych. Katalaza to enzym o podwójnej aktywności. W zależności od stężenia  $H_2O_2$  w komórce, może wykazywać aktywność katalazową lub peroksydazową. Gdy stężenie nadtlenku wodoru jest wysokie, katalaza usuwa go, przekształcając w wodę i tlen. Natomiast gdy stężenie  $H_2O_2$  jest małe, katalaza wykazuje zdolność peroksydazową i w obecności odpowiedniego donoru (np. etanol, metanol, mrówczan, azotyny, chinony) usuwa nadtlenek wodoru, jednocześnie utleniając te związki [17].

Podstawową funkcją enzymu katalazy (CAT) w komórkach jest udział w reakcji dysproporcjonowania nadtlenku wodoru. Reakcja ta przebiega w dwóch etapach. W pierwszym etapie następuje redukcja nadtlenku wodoru do wody z udziałem jonów żelaza  $Fe^{3+}$  układu hemowego. W tym miejscu powstaje związek I –  $Fe(V)$  – CAT. Drugi etap to utlenienie kolejnej cząsteczki nadtlenku wodoru przez związek I, w wyniku czego powstaje tlen cząsteczkowy i woda [17].



Katalaza współdziałając z peroksydazą i reduktazą glutationową odgrywa istotną rolę w ochronie erytrocytów przed skutkami stresu oksydacyjnego, ponieważ są one narażone na działanie dużych stężeń tlenu. Jedna cząsteczka katalazy w ciągu minuty może przekształcić około 6 mln cząstek nadtlenku wodoru do wody i tlenu. Dodatkowym atutem tego enzymu jest jego aktywność w szerokim zakresie pH (5,0–10,5) [17].

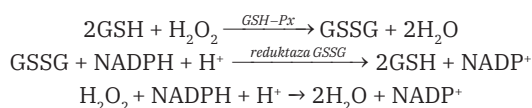
Kolejnymi elementami antyoksydacyjnego układu enzymatycznego są peroksydazy glutationowe (GPx). Enzymy te

zawierają w miejscu aktywnym selen, który występuje pod postacią selenocysteiny. Z tego względu peroksydazy glutationowe zwane są również selenoperoksydazami. Peroksydaza glutationowa zlokalizowana jest głównie w cytozolu, ale także w mitochondriach i w jądrze komórkowym. W związku z procesami detoksykacyjnymi jakie zachodzą w wątrobie, aktywność tego enzymu jest tam najwyższa, podobnie jak we krwi i w płucach. Obecnie znane są co najmniej cztery izoformy GPx, które różnią się między sobą miejscem występowania oraz strukturą podjednostek. Należą tutaj [18]:

- cGPx – klasyczna, cytozolowa peroksydaza glutationowa, jej główną funkcją jest redukcja nadtlenu wodoru i wodoronadtlenków organicznych, wyłączając wodoronadtlenki lipidowe;
- PH-GPx – peroksydaza glutationowa wodoronadtlenków lipidowych, zdolna do redukcji wodoronadtlenków fosfolipidowych, występuje w cytozolu i jest częściowo związana z błonami komórek;
- eGPx – peroksydaza glutationowa, inaczej zwana pozakomórkową peroksydazą, zlokalizowana w surowicy, posiada zdolność katalizowania wodoronadtlenków lipidowych i nadtlenu wodoru;
- GI-GPx – peroksydaza żołądkowo-jelitowa, redukuje nadtlenek wodoru i nadtenki organiczne, ale nie redukuje wodoronadtlenków fosfolipidowych.

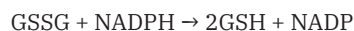
Peroksydaza glutationowa odgrywa szczególną rolę w mitochondriach, gdzie brak jest enzymu katalazy, bowiem bierze ona udział w usuwaniu szkodliwego nadtlenu wodoru [18].

Najlepiej poznaną postacią GPx jest postać klasyczna (cGPx), która występuje m.in. w erytrocytach. Główną funkcją tego enzymu jest ochrona komórek przed stresem oksydacyjnym oraz neutralizacja nadtlenu wodoru (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) i nadtlenu organicznych (LOOH) w reakcjach wewnątrz- i zewnątrzkomórkowych w obecności zredukowanej postaci glutationu GSH [13]. Produktem końcowym reakcji glutationu z nadtlenu wodoru jest dwusulfid glutationu (GSSG), który jest związkiem szkodliwym. Aby przeciwdziałać gromadzeniu się GSSG w komórce, peroksydaza glutationowa pozostaje w związku z reduktazą glutationu (GSHR), która z kolei jest zdolna do odtwarzania zredukowanej postaci glutationu kosztem utleniania NADPH [7].



Reduktaza glutationowa (GR) to flawoenzym, należący do rodziny oksydoreduktaz i jednocześnie ostatni z omawianych enzymów antyoksydacyjnych. Jego głównym celem jest utrzymanie odpowiedniego poziomu zredukowanego glutationu (GSH) w komórkach, dzięki zdolności przekształcania postaci niezredukowanej glutationu (GSSG) do GSH. Katalizuje także reakcje wzajemnych przemian

grup sulfhydrylowych i disiarczków, do czego wykorzystuje NADPH jako czynnik redukujący [18, 19].



## PRZECIWIUTLENIACZE NIEENZYMATYCZNE

Usuwanie wolnych rodników za sprawą działania wysoce wyspecjalizowanych systemów enzymatycznych, wspomagane jest udziałem przeciwutleniaczy nieenzymatycznych [20]. Są to substancje ochronne, które przekazują wolnym rodnikom swoje elektrony, dzięki czemu tracą one zdolność utleniania innych składników. Inaczej nazywane są zmiataczami wolnych rodników i stanowią zabezpieczenie komórek przed reakcjami wolnorodnikowymi. Wśród nich wyróżnia się związki egzogenne (rozpuszczalne w wodzie i w tłuszczach) oraz endogenne [9].

Do grupy antyoksydantów egzogennych zalicza się:

- **kwask askorbinowy (witamina C)** – dobrze rozpuszcza się w wodzie, duża zawartość tej witaminy obecna jest w owocach cytrusowych, dzięki róży, czarnych porzeczkach, winogronach, a także w pomidorach. Witamina C jest jednym z najsilniejszych antyoksydantów. Przeciwdziała procesom oksydacyjnym wywołanym przez działanie wolnych rodników. Najbardziej skuteczne działanie wykazuje wobec rodników takich jak O<sub>2</sub>, O<sub>2</sub><sup>-</sup> i ·OH [21];
- **α-tokoferol (witamina E)** – rozpuszczalny w tłuszczach, chroni błony komórkowe, lipidy i lipoproteiny przed utlenieniem oraz utrzymuje odpowiedni potencjał oksydujący. Jego rola polega na zmiataniu wolnych rodników organicznych oraz wygaszaniu tlenu singletowego [20];
- **witamina i prowitamina A (β-karoten)** – β-karoten oraz inne karotenoidy posiadają zdolność wygaszania działania wolnych rodników, poprzez przenoszenie elektronów lub tworzenie z nimi adduktów, wykazują również działanie przeciwnowotworowe i opóźniające procesy starzenia. β-karoten wykazuje zdolność usuwania tlenu singletowego i nadtlenu lipidów [1, 22];
- **flawonoidy i antocyjany** – występują w roślinach takich jak: arnika górską, rumianek, lukrecja, miłorząb japoński, chmiel, zielona i czarna herbata, posiadają zdolność wychwytywania wolnych rodników, chronią przed utlenianiem lipidów oraz posiadają działanie przeciwzapalne i przeciwmutagenne [23];
- **koenzym Q<sub>10</sub>** – jest przeciwutleniaczem rozpuszczalnym w tłuszczach, wiąże wolne rodniki i hamuje procesy peroksydacji lipidów oraz zapobiega oksydacyjnym modyfikacjom DNA i białek. Ponadto posiada zdolność regeneracji witaminy E [24];
- **glutation** – rozpuszczalny w wodzie tripeptyd zawierający cysteinę, powszechnie występujący we wszystkich komórkach eukariotycznych roślinnych i zwierzęcych. Jest silnie skoncentrowany w wątrobie. Może występować w formie zredukowanej (GSH) i utlenionej (GSSG). W komórkach eukariotycznych znajdują się trzy główne rezer-

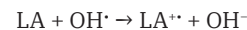


wuary GSH. W cytozolu znajduje się niemal 90% komórkowego GSH, 10% w mitochondriach oraz niewielki procent w retikulum endoplazmatycznym [25]. Glutation jest wielofunkcyjną cząsteczką, pełniącą zróżnicowane funkcje wpływające na procesy zachodzące w komórkach. Stanowi jeden z ważniejszych elementów antyoksydacyjnego systemu obrony komórki. Jego obecność konieczna jest do utrzymania równowagi oksydo-redukcyjnej i przeciwdziałania efektom stresu oksydacyjnego. Posiada zdolność do redukcji nadtlenu wodoru oraz utrzymuje odpowiedni poziom grup tiolowych w białkach (-SH) w formie zredukowanej. GSH posiada także zdolność bezpośredniego reagowania z anionorodnikiem nadtlenu i rodnikiem hydroksylowym. Ponadto bierze udział w detoksykacji ksenobiotyków i ich metabolitów, a także pestycydów i jonów metali ciężkich [18, 26].

## INNE ANTYOKSYDANTY

- **Melatonina.** Jest hormonem produkowanym przez szyszynkę. W małych stężeniach rozpuszcza się zarówno w wodzie, jak i tłuszczach, dlatego może pełnić funkcję przeciwutleniacza hydrofilowego i hydrofobowego. Stwierdzono, że hormon ten jest skuteczniejszym zmiataczem rodników niż witamina E i glutation [27]. W połączeniu z innymi przeciwutleniaczami jej efekt antyoksydacyjny jest silniejszy, co wskazuje na synergizm wzajemnego oddziaływania antyoksydantów. Udowodniono, że witamina C przyczynia się do regeneracji hormonu szyszynkowego. Funkcje jakie pełni melatonina to przede wszystkim ochrona jąder komórkowych zawierających strukturę DNA [9]. Ponadto doświadczenia wykazały, że melatonina hamuje procesy utleniania lipidów, białek i DNA, a także pośredniczy w stymulowaniu aktywności antyoksydacyjnej enzymów [20].
- **Kwas  $\alpha$ -liponowy (LA).** Jest ośmiowęglowym, nasyconym kwasem tłuszczowym, w którym dwa atomy siarki połączone są z atomami węgla 6, 7 i 8, tworząc pierścień ditiolowy. W wyniku redukcji tego pierścienia powstaje forma zredukowana – kwas dihydroliponowy (DHLA). Obecność niepolarnego łańcucha alifatycznego warunkuje dobrą rozpuszczalność LA i DHLA w rozpuszczalnikach organicznych. Natomiast umiarkowana długość tego łańcucha i obecność grupy karboksylowej powodują, że związki te wykazują również ograniczoną rozpuszczalność w wodzie [28]. Oprócz syntezy *de novo*, pokarm jest drugim źródłem kwasu liponowego w komórkach ssaków. Najwięcej kwasu liponowego zawierają: drożdże, szpinak, brokuły, pomidory, brukselka oraz owoce [29].
- **Kwas  $\alpha$ -liponowy i dihydroliponowy.** Wykazują silne działanie przeciwutleniające i działają jako zmiatacze wolnych rodników. LA reaguje z tlenem singletowym ( $^1O_2$ ), rodnikiem hydroksylowym ( $HO^\cdot$ ), kwasem podchlorałym ( $HOCl$ ) i nadtlenoazotynem ( $ONOO^\cdot$ ). Nie posiada zdolno-

ści do zmiatania anionorodnika nadtlenu ( $O_2^{\cdot-}$ ) i nadtlenu wodoru ( $H_2O_2$ ). Kwas dihydroliponowy neutralizuje rodnik nadtlenu ( $O_2^{\cdot-}$ ), kwas podchlorały ( $HOCl$ ) oraz rodniki peroksyłowe ( $LOO^\cdot$ ). Ponadto skutecznie unieszkodliwia także rodniki hydroksylowe ( $HO^\cdot$ ). Nie wykazuje zdolności zmiatania singletowych form tlenu i podobnie jak kwas liponowy nadtlenu wodoru ( $H_2O_2$ ). Zdolność zmiatania wolnych rodników mają także niektóre metabolity LA: bisnorliponian i tetranorliponian [29, 30]. Wchodząc w reakcję z rodnikowymi i nierodnikowymi ROS, kwas  $\alpha$ -liponowy przekształca się w kationorodnik kwasu liponowego ( $LA^+$ ), co obrazuje równanie:



- **Kationorodnik  $LA^+$ .** Jest znacznie mniej reaktywny niż np. rodnik hydroksylowy, ale w dalszym ciągu stanowi zagrożenie dla komórki. Jest on jednak łatwo przekształcany w LA przy udziale innych antyutleniaczy wewnątrzkomórkowych, które mogą być regenerowane przez DHLA [28, 30].
- **Kwas dihydroliponowy (DHLA).** Silny reduktor (bardziej aktywny niż LA), dzięki czemu ma zdolność regeneracji zredukowanych form witaminy C i E oraz przedłuża ich efektywność. Ponadto posiada większą zdolność regenerowania witaminy C niż zredukowana forma glutationu. DHLA może redukować także utlenione formy koenzymu  $Q_{10}$ . Z kolei kwas  $\alpha$ -liponowy bezpośrednio wydłuża czas życia witaminy C, glutationu i koenzymu  $Q_{10}$  oraz pośrednio witaminy E [29].  
Zapobieganie stresowi antyoksydacyjnemu przez kwas  $\alpha$ -liponowy i dihydroliponowy wiąże się także ze zdolnością do chelatowania jonów metali. Jony żelaza, miedzi czy kobaltu w postaci niezwiązanej z białkami mogą powodować generowanie wolnych rodników, np. rodnika hydroksylowego. Kwas LA i DHLA tworzą w roztworach trwałe związki kompleksowe z jonami metali przejściowych i w ten sposób eliminują je ze środowiska. LA wiąże kationy miedzi, kadmu, cynku i ołowiu, natomiast DHLA jony  $Cu^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$ ,  $Hg^{2+}$ , a także redukuje  $Fe^{3+}$  do  $Fe^{2+}$  [29].

## NATURALNE ŹRÓDŁA ANTYOKSYDANTÓW

Spowolnienie procesu starzenia możliwe jest dzięki stosowaniu diety bogatej w składniki o właściwościach antyoksydacyjnych. Poza działaniem przeciwstarzeniowym, taka dieta stanowi istotną rolę w profilaktyce chorób takich jak: cukrzyca, miażdżycy, choroba Alzheimera czy Parkinsona. W obecnych czasach istnieje wiele czynników, które przyczyniają się do zwiększenia wytwarzania wolnych rodników. Są to m.in. zanieczyszczenia powietrza, siedzący tryb życia czy spożywanie posiłków „w biegu”. Aby zapobiec rozwojowi chorób związanych z nagromadzeniem wolnych rodników, skuteczne może być stosowanie diety bogatej w witaminę E, witaminę C, cynk, magnez, czy selen. Najnowsze badania wskazują na to, że warzywa i owoce oprócz wyżej wymienionych przeciwutleniaczy, zawiera-

ją także inne substancje o działaniu antyoksydacyjnym, są to na przykład flawonoidy oraz inne związki fenolowe [31].

Bogatym źródłem substancji o właściwościach przeciwutleniających są owoce. Duże zawartości polifenoli i antocyjanów obecne są w owocach aronii czy borówki czernicy. Również jabłka, wiśnie, truskawki, jeżyny, owoce czarnego bzu i dzikiej róży czy też żurawina są źródłem wielu cennych substancji biologicznie aktywnych. Warzywa także charakteryzują się zdolnością wiązania wolnych rodników, jednak posiadają słabsze zdolności przeciwutleniające niż owoce. Na szczególną uwagę zasługują: czosnek, jarmuż, szpinak, brokuły oraz buraki, które są dobrym źródłem kwercetyny. Pomidory cenione są za wysoką zawartość likopenu, który również jest związkiem o silnych właściwościach przeciwutleniających [32].

Przeciwutleniacze zawarte w owocach i warzywach posiadają właściwości prozdrowotne. Zaleca się zwiększenie ich podaży w codziennej diecie w celu zwiększenia potencjału antyoksydacyjnego organizmu. Należy jednak pamiętać, że dodatkowa suplementacja antyoksydantów może prowadzić do zaburzenia homeostazy prooksydacyjno-antyoksydacyjnej. Skutkiem tego jest zmniejszenie aktywności enzymów antyoksydacyjnych i jednocześnie zmniejszenie odporności organizmu na działanie wolnych rodników. To z kolei może wpłynąć na przyspieszenie procesów starzenia i rozwój wielu chorób związanych ze stresem oksydacyjnym [33].

## PODSUMOWANIE

Opisane enzymy oraz przeciwutleniacze nieenzymatyczne pełnią istotną rolę w ochronie komórek organizmu przed reaktywnymi formami tlenu (RFT). Jako składniki antyoksydacyjnego systemu obronnego (ADS), chronią przed szkodliwym działaniem wolnych rodników powstających w procesach takich jak na przykład zapalenie czy niedokrwienie. Ponadto utrzymują równowagę pro- i antyoksydacyjną w momencie zwiększonego stężenia wolnych rodników. Witaminy antyoksydacyjne posiadają zdolność unieszkodliwiania nagromadzonych RFT, a także zwiększają możliwości obronne innych endogennych antyoksydantów. W celach profilaktycznych duże znaczenie ma suplementacja egzogennych antyoksydantów, w szczególności poprzez stosowanie diety bogatej w naturalne źródła tych substancji.

## LITERATURA / REFERENCES

1. Czajka A. Wolne rodniki tlenowe a mechanizmy obronne organizmu. *Now Lek*. 2006;75(6):582-586.
2. Potargowicz E, Szerszenowicz E, Staniszewska M, Nowak D. Mitochondria jako źródło reaktywnych form tlenu. *Postępy Hig Med Dosw*. 2005;59:259-266.
3. Piotrowska A, Bartnik E. Rola reaktywnych form tlenu i mitochondriów w starzeniu. *Postępy Biochem*. 2014;60(2):240-247.
4. Łuszczewski A, Matyska-Piekarska E, et al. Reaktywne formy tlenu – znaczenie w fizjologii i stanach patologii organizmu. *Reumatologia*. 2007;45(5):284-289.
5. Jopkiewicz S. Stres oksydacyjny Część I. Stres oksydacyjny jako czynnik rozwoju chorób cywilizacyjnych. *Med Środowiskowa*. 2018;21(2):48-52.
6. Skiba M, Pedrycz A, Cichacz B. Reaktywne rodniki tlenowe – skuteczność antyoksydantów w terapii. *J Polish Hyperb Med Technol Soc*. 2016;54(1):41-48.
7. Zabłocka A, Janusz M. Dwa oblicza wolnych rodników tlenowych. *Postępy Hig Med Dosw*. 2008;62:118-124.
8. Puzanowska-Tarasiewicz H, Starczewska B, Kuźmicka L. Reaktywne formy tlenu. *Bromat Chem Toksykol*. 2008;41(4):1007-1015.
9. Jopkiewicz S. Stres oksydacyjny Część II. Profilaktyka powstawania uszkodzeń wolnorodnikowych. *Med Środowiskowa*. 2018;21(2):53-59.
10. Kuzdraliński A. Antyoksydanty. [www.e-biotechnologia.pl/artykuly/antyoksydanty](http://www.e-biotechnologia.pl/artykuly/antyoksydanty). Accessed 14.03.2018.
11. Stolarzewicz IA, Ciekot J, Fabiszewska AU, Białecka-Florjańczyk E. Roślinne i mikrobiologiczne źródła przeciwutleniaczy. *Postępy Hig Med Dosw*. 2013;67:1359-1373.
12. Gałęcka E, Jacewicz R, Mrowicka M, Florkowski A. Enzymy antyoksydacyjne – budowa, właściwości, funkcje. *Pol Merk Lek*. 2008;25(147):266-268.
13. Sikora N, Znajewska Z, Dąbrowska G. Wybrane mechanizmy obronne organizmów przed stresem oksydacyjnym ze szczególnym uwzględnieniem dysmutaz ponadtlennokowych. *Eduk Biol i Środowiskowa*. 2017;4:19-31.
14. Skólmowska M, Kmieć M. Enzymosomy antyoksydacyjne – właściwości i zastosowanie. *Postępy Hig Med Dosw*. 2011;65:640-644.
15. Wołoncej M, Milewska E, Roszkowska-Jakimiec W. Pierwiastki śladowe jako aktywatory enzymów antyoksydacyjnych. *Postępy Hig Med Dosw*. 2016;70:1483-1498.
16. Skrzycki M, Czczot H. Zewnątrzkomórkowa dysmutaza ponadtlennokowa (EC-SOD) – budowa, właściwości i funkcje. *Postępy Hig Med Dosw*. 2004;58:301-311.
17. Ścibior D, Czczot H. Katalaza – budowa, właściwości, funkcje. *Postępy Hig Med Dosw*. 2006;60:170-180.
18. Łukaszewicz-Hussain A. Rola glutationu i enzymów z nim związanych w procesach antyoksydacyjnych organizmu. *Med Pr*. 2003;54(5):473-479.
19. Deponte M. Glutathione catalysis and the reaction mechanisms of glutathione-dependent enzymes. *Biochim Biophys Acta - Gen Subj*. 2013;1830(5):3217-3266.
20. Gryszczyńska B, Iskra M. Współdziałanie antyoksydantów egzogennych i endogennych w organizmie człowieka. *Now Lek*. 2008;77(1):50-55.
21. Rutkowski M, Matuszewski T, Kędziara J, et al. Witaminy E, A i C jako antyoksydanty. *Pol Merkur Lek*. 2010;29(174):377-381.
22. Kisała J. Antyutleniacze pochodzenia roślinnego i syntetycznego – ich rola i właściwości. *Zesz Nauk Zakładu Chem i Toksykol Żywności Uniw Rzesz*. 2009;11:109-114.
23. Puzanowska-Tarasiewicz H, Kuźmicka L, Tarasiewicz M. Antyoksydanty a reaktywne formy tlenu. *Bromatol i Chem Toksykol*. 2010;43(1):9-14.
24. Dominiak K, Jarmuszkiewicz W. Różne oblicza mitochondrialnego koenzymu Q. *Postępy Biochem*. 2019;65(4):271-277.
25. Lu SC. Regulation of glutathione synthesis. *Mol Asp Med*. 2009;30(1-2):42-59.
26. Bukowska B. Funkcje glutationu oraz czynniki zmniejszające jego stężenie. *Med Pr*. 2005;56(1):69-80.
27. Bartosz G. *Druga twarz tlenu. Wolne rodniki w przyrodzie*. Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN; 2003.
28. Malińska D, Winiarska K. Kwas liponowy – charakterystyka i zastosowanie w terapii. *Postępy Hig Med Dosw*. 2005;59:535-543.
29. Huk-Kolega H, Skibska B, Kleniewska P, et al. Rola kwasu liponowego w zdrowiu i chorobie. *Pol Merkur Lek*. 2011;31(183):183-185.
30. Skorupa A, Michalkiewicz S. Kwas  $\alpha$ -liponowy – antyutleniacz antyutleniaczy – właściwości i metody oznaczania. *Wiadomości Chem*. 2017;71:817-842.
31. Sadowska A, Żebrowska-Krasuska M, Świdwerski F. Przeciwutleniacze w żywności. *Postępy Tech Przetwórstwa Spożywczego*. 2012;2(1):100-104.
32. Wawrzyniak A, Krotki M, Stoparczyk B. Właściwości antyoksydacyjne owoców i warzyw. *Med Rodz*. 2011;1:19-23.
33. Michalak A, Krzeszowiak J, Markiewicz-Górka I. Starzenie się organizmu a stres oksydacyjny oraz zmniejszona sprawność systemów naprawczych. *Postępy Hig Med Dosw*. 2014;68:1483-1491.