

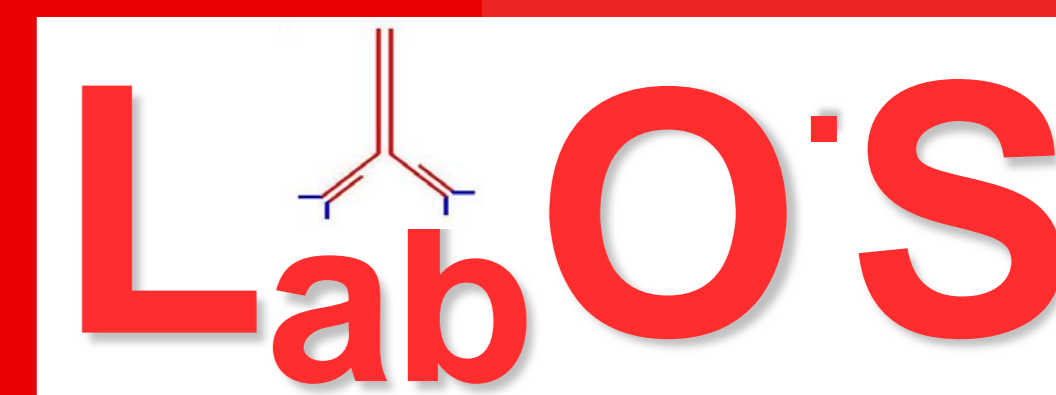
ČOVJEK

(od stanice do organizma)

LIPIDNA PEROKSIDACIJA U ČOVJEKA

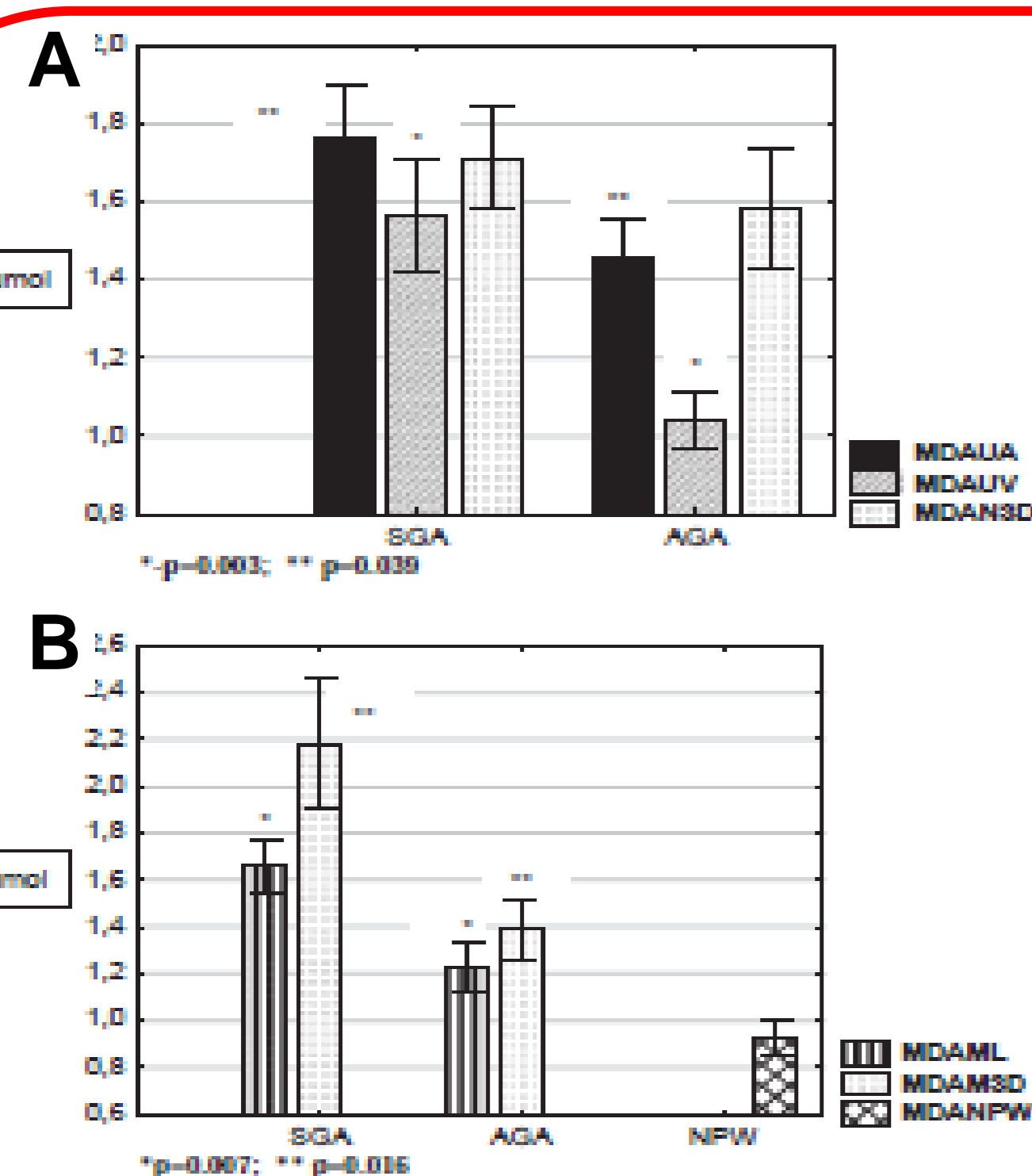
L. Andrišić, L. Milković, M. Jaganjac

Zavod za molekularnu medicinu, Laboratorij za oksidacijski stres (LabOS)



UVOD

Aerobni metabolizam podrazumijeva korištenje molekularnog kisika (O₂) u procesima neophodnim za normalno funkcioniranje stanica i cijelog organizma. Sekundarni i potencijalno štetni produkti takvog metabolizma su reaktivne kisikove tvari (ROS). U zdravom ljudskom organizmu i pri normalnim fiziološkim uvjetima uklanjanje ROSa je pod kontrolom endogenog antioksidacijskog sustava. Međutim, čovjek je svakodnevno izložen različitim utjecajima (fizički napor, prehrana, emocionalni stres, zračenje, infekcija ili upala) koji dovode do prekomjernog stvaranja reaktivnih kisikovih tvari (ROS). Ukoliko dođe do pomaka ravnoteže između stvaranja i uklanjanja ROSa nastupa oksidacijski stres. Poznato je da u niskim koncentracijama ROS mogu djelovati kao fiziološki medijatori staničnih funkcija dok su prekomjerne količine citotoksične i štetne za biološke makromolekule (proteine, nukleinske kiseline i lipide). Prilikom napada ROSa na lipide, sastavne dijelove biomembrana, koji čine prvu liniju obrane svake ljudske stanice i unutarstaničnih organela, nastupa lipidna peroksidacija. Tijekom lipidne peroksidacije dolazi do degradacije višestruko nezasićenih masnih kiselina, pri čemu nastaju reaktivni produkti (malondialdehid, 4-hidroksinonenal [HNE] i akrolein). Ti, takozvani sekundarni glasnici lipidne peroksidacije poput ROSa mogu reagirati sa svim biološkim makromolekulama, ali su puno stabilniji te ovisno o koncentraciji i mjestu nastanka mogu imati različit utjecaj na stanicu (od fizioloških do patofizioloških). Oni se također koriste kao biomarkeri oksidacijskog stresa, te je stoga neophodno razvijati nove metode za njihovu detekciju, koje bi se primjenjivale u znanstvenim istraživanjima i medicinskoj dijagnostici.

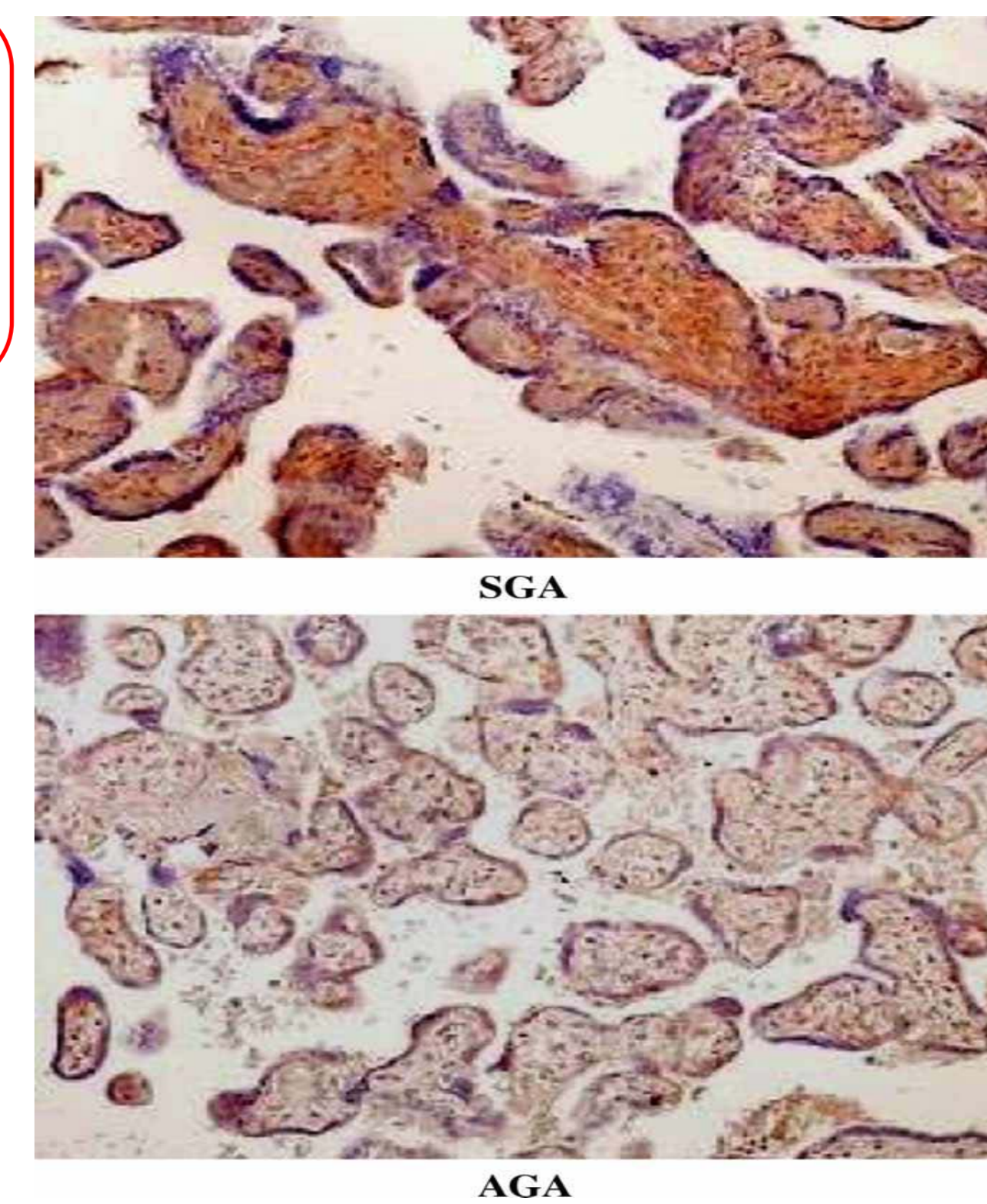


Slika 1. Vrijednosti MDA u krvi novorođenčadi (A) i majki (B):

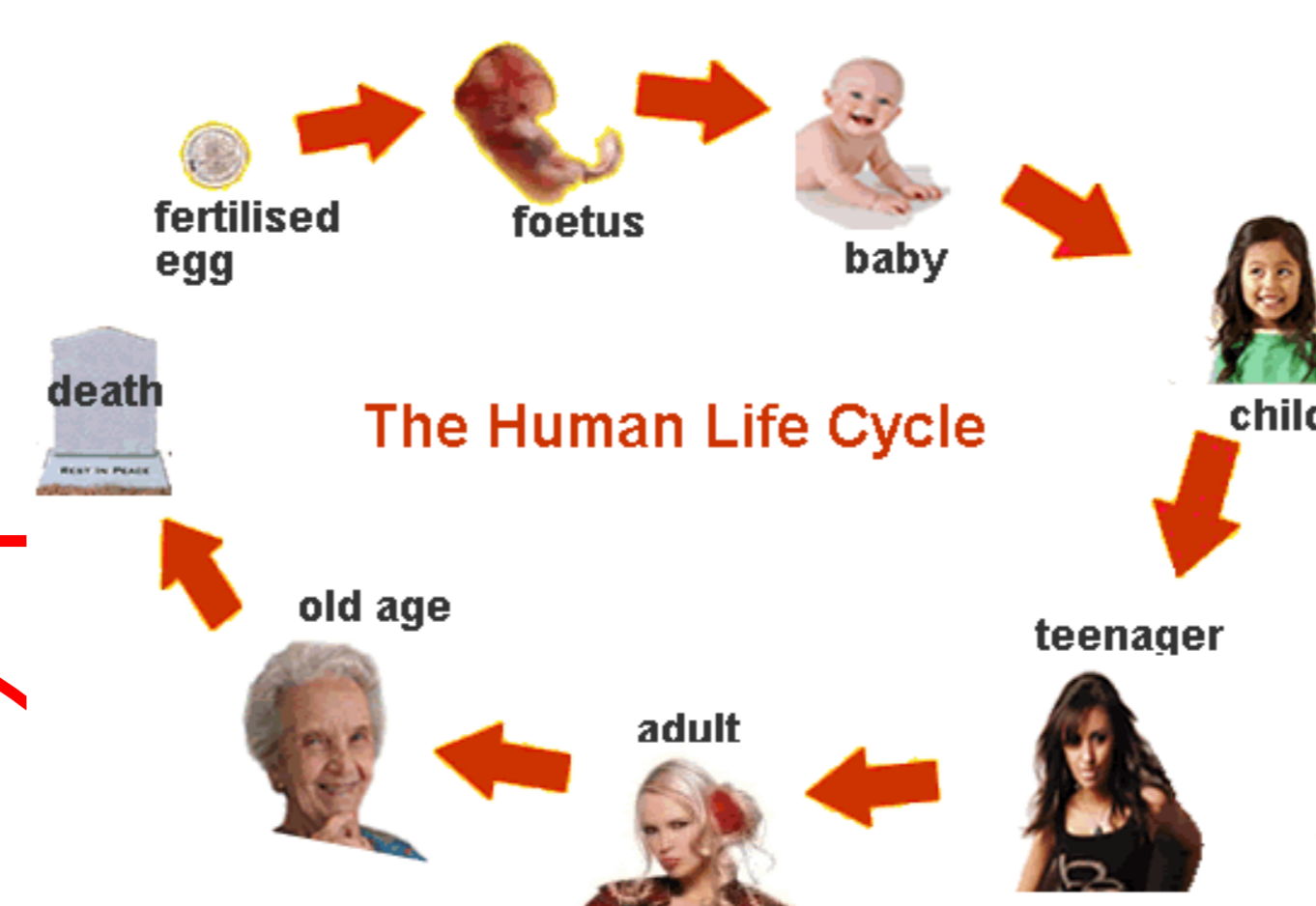
AGA = normalne veličine u skladu s uzrastom
SGA = mali za svoj uzrast
MDAUA = MDA iz umbilikalne arterije
MDAUV = MDA iz umbilikalne vene
MDAN3D = 3. dan kod novorođenčadi

MDAML= kod majki prilikom poroda
MDAM3D = majke 3. dan nakon poroda
MDANPW = kod žena koje nisu trudne

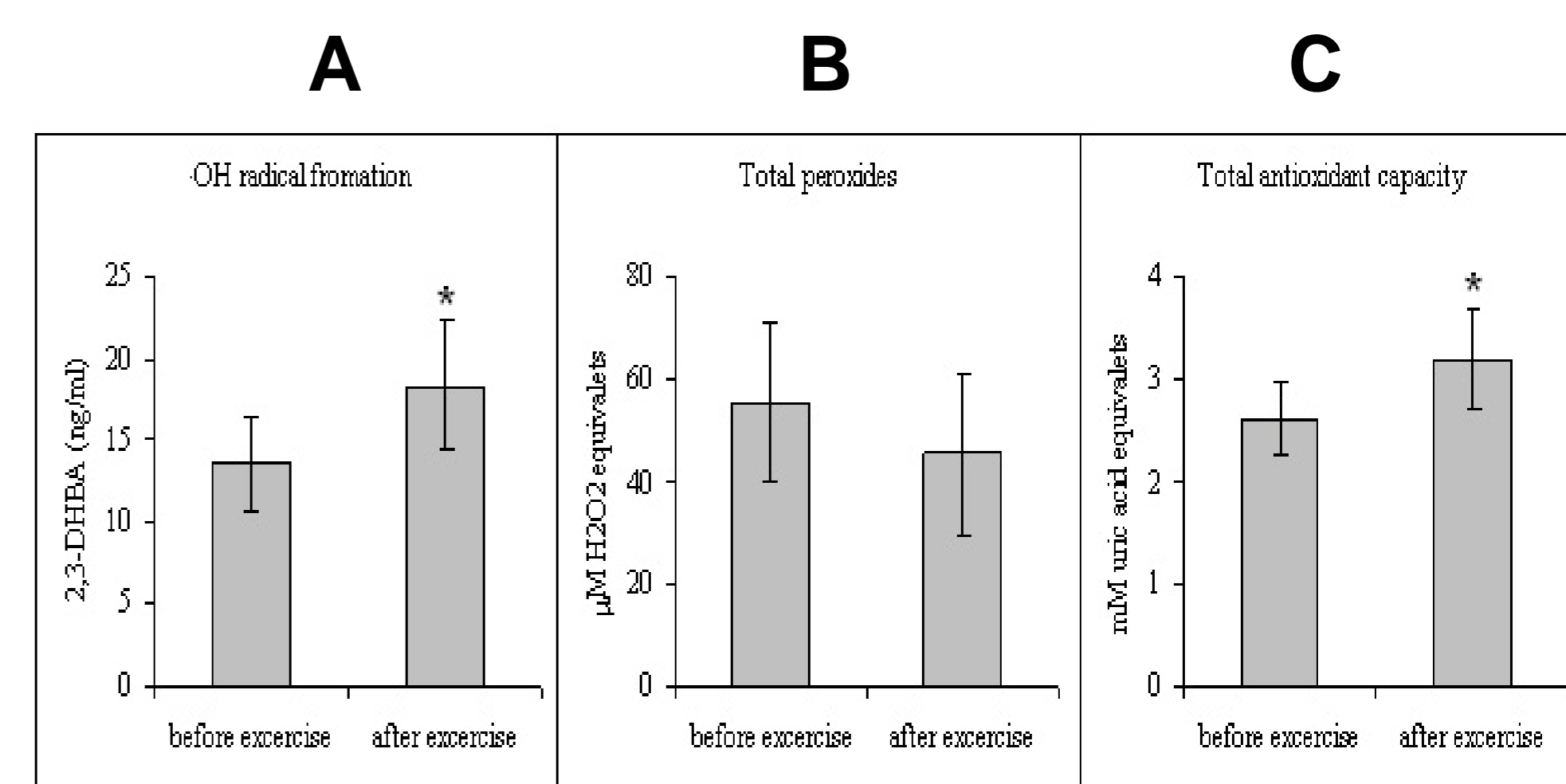
Slika 2. Imunohistokemija na HNE-proteinske konjugate u tkivu placente. Vidljiv je izrazit pozitivitet na HNE-proteinske konjugate u stromalnim stanicama kod novorođenčadi s manjom tjelesnom težinom za svoj uzrast (SGA).



Rezultati ukazuju da su i majke i novorođenčad izloženi oksidacijskom stresu tijekom i poslije poroda koji je posebno prisutan tijekom perinatalnog perioda novorođenčadi rođene s manjom tjelesnom težinom nego je normalno za taj uzrast (SGA). Nalaz lipidne peroksidacije u placenti SGA novorođenčadi ukazuje na njezinu potencijalnu ulogu u SGA patofiziologiji.

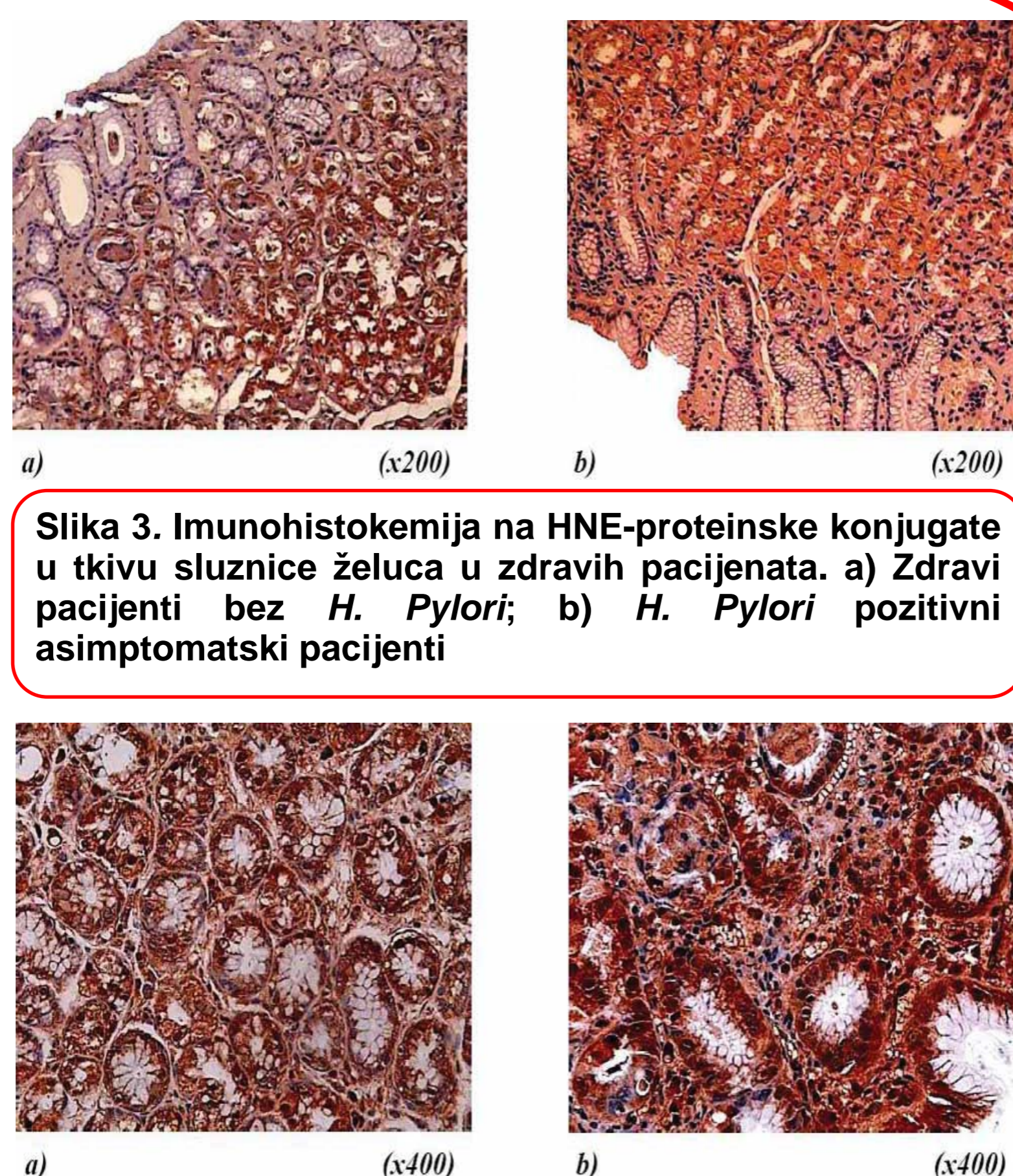


Ova studija upućuje na to da ergometrija, odnosno tjelovježba može koristiti kako bi se inducirao kratkotrajni fiziološki oksidacijski stres, koji za posljedicu ima povišenje endogenog antioksidacijskog odgovora. Sukladno tome, povećana razina endogenih antioksidanata bi štitila organizam od drugih štetnih utjecaja koji bi mogli narušiti oksidacijsku homeostazu organizma.



Slika 5. Parametri oksidacijskog stresa kod zdravih muških dobrovoljaca uzrokovani ergometrijom. Mjerene su koncentracije hidroksilnog radikala u plazmi (A), ukupni peroksidi u serumu (B) i ukupni antioksidacijski kapacitet seruma (C). *predstavlja značajnu razliku (p<0.05) u usporedbi sa vrijednostima prije vježbe.

Patogeneza želučanog ulkusa uzrokovano bakterijom *Helicobacter pylori* je u prijašnjim istraživanjima povezana sa oksidacijskim stresom i smanjenom antioksidacijskom zaštitom. U našem istraživanju dokazali smo da je i lipidna peroksidacija povezana sa pojavom ove bolesti, iako su manje količine HNE-histidinskih konjugata prisutne i u sluznici želuca zdravih pacijenata, što upućuje na fiziološku ulogu lipidne peroksidacije u želučanoj stjenici. Pozitivitet HNEa pojačavao se u slučaju infekcije s *H. pylori* kao i kod peptičnog ulkusa. Pratili smo distribuciju HNE-proteinskih konjugata u želučanoj sluznici pacijenta sa ulkusom dvanaesnika (DPU) izazvanim *H. pylori* prije liječenja i mjesec dana poslije liječenja. Uočena je preraspodjela i povećanje HNE-pozitiviteta u jezgri žljezdanih stanica u tijelu želuca nakon tretmana, što ukazuje na povećanje oksidacijskog stresa nakon tretmana. Nakon izlječenja od *H. pylori*, histološki pokazatelji upale su drastično sniženi, no količina HNE- proteinskih konjugata je i dalje povišena u antrumu, te dodatno povišena u tijelu želuca.



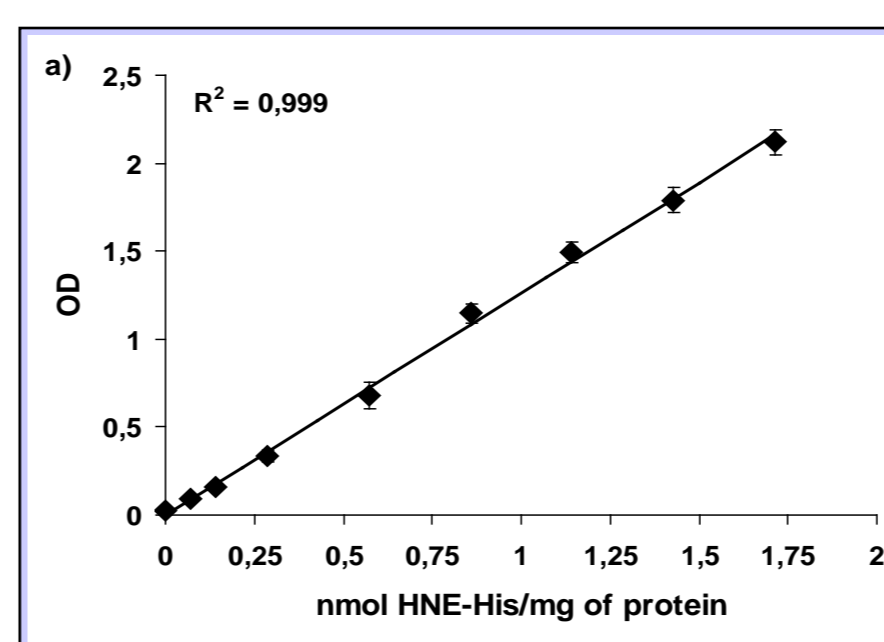
Slika 3. Imunohistokemija na HNE-proteinske konjugate u tkivu sluznice želuca u zdravih pacijenata. a) Zdravi pacijenti bez *H. Pylori*; b) *H. Pylori* pozitivni asimptomatski pacijenti

Slika 4. Imunohistokemija na HNE-proteinske konjugate u tkivu sluznice želuca u pacijenata sa DPU izazvanim *H. pylori*. a) prije tretmana; b) nakon tretmana.

Ovo istraživanje ukazuje na potrebu za povećanjem adjuvantnog antioksidacijskog tretmana za zaštitu sluznice želuca od razvoja oksidacijskog stresa i lipidne peroksidacije za vrijeme i nakon infekcije s *H. Pylori*.

BAŽDARNE KRIVULJE

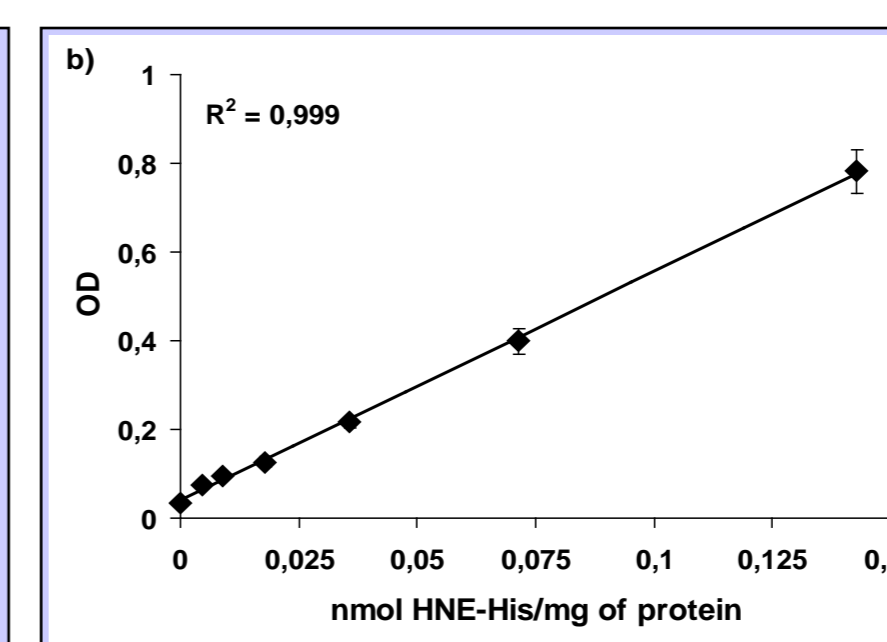
ELISA Stress



Patofiziološke koncentracije

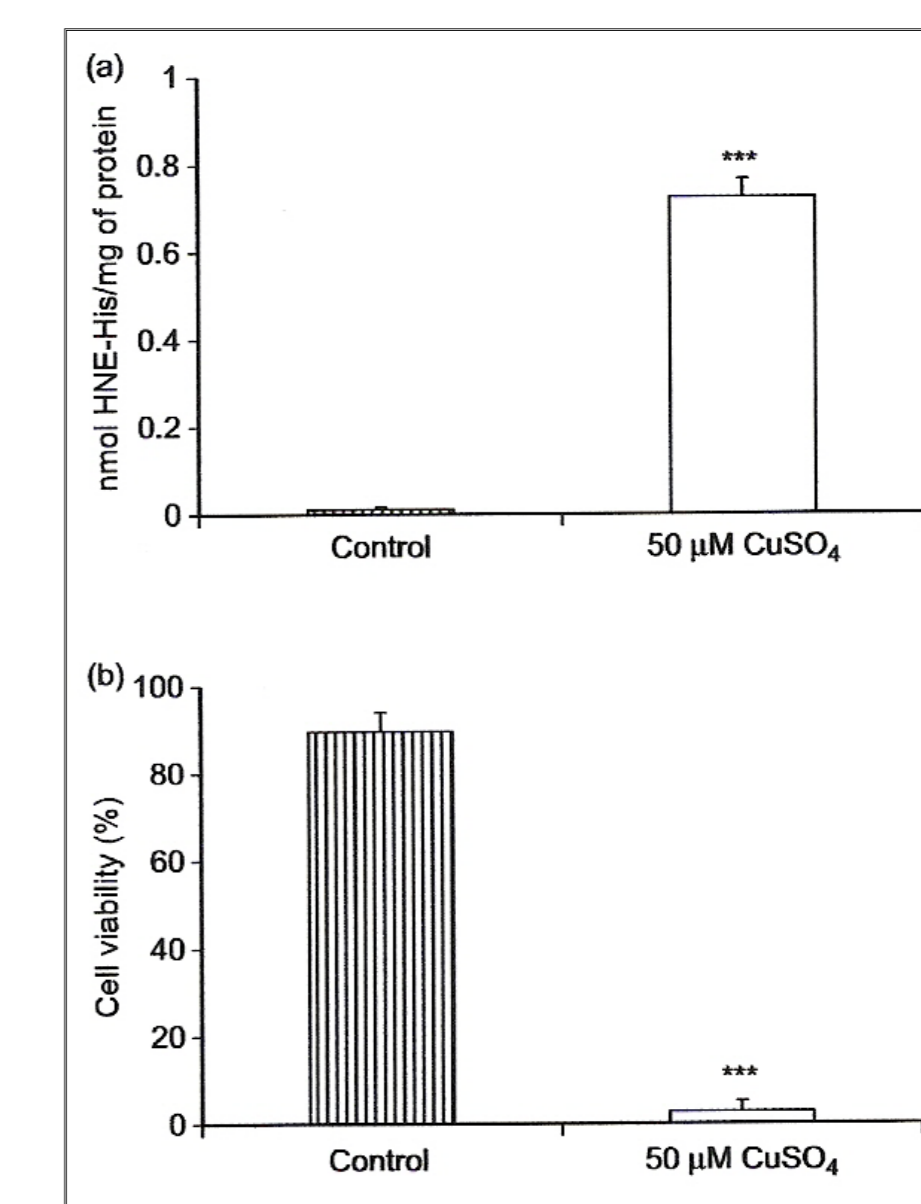
Raspon detekcije:
0-1.714 nmol HNE-His/mg proteina

ELISA Fine



Fiziološke koncentracije

Raspon detekcije:
0-0.143 nmol HNE-His/mg proteina



Slika 6. HNE-His konjugati mjereni ELISA-om ovisno a) i vijabilnost stanica mjerena metodom bojanja tripanskim modrilom u HOS staničnoj kulturi nakon tretmana sa CuSO₄. Rezultati su prikazani kao srednje vrijednosti ±SD(n=3). Usporedba srednjih vrijednosti je rađena korištenjem Studentovog testa gdje je p<0.05 statistički značajno (**p<0.001).

ZAKLJUČAK

Lipidna peroksidacija je prisutna u ljudskom organizmu tijekom cijelog života, od razvoja zametka u maternici do trenutka smrti i samim time ima značajnu ulogu u svakodnevnom životu. Ovisno o jačini oksidacijskog stresa i lipidne peroksidacije, posljedice za stanicu i organizam variraju od pozitivnih (hormeza) do štetnih koje dovode do pojave različitih bolesnih stanja.

ZAHVALA

Zahvaljujemo se voditelju laboratorija prof. dr. sc. Nevenu Žarkoviću, dr. med. kao i dr. sc. Suzani Borović-Šunjić, te vanjskim suradnicima iz zemlje i inozemstva. Studije su financirane projektima MZOŠ-a (projekt br. : 098-0982464-2519-Lipidi, slobodni radikali i njihovi glasnici u integrativnoj onkologiji) i COST akcije B35 "Lipid Peroxidation Associated Disorders".