

Karbonylový stres

Zvýšení reaktivních karbonylových sloučenin vede k **postupnému orgánovému poškození**. Může být způsobené jejich zvýšenou tvorbou nebo jejich sníženým odbouráváním (chyba eliminace – aldehyddehydrogenáza) a následným vylučováním.

Karbonylové sloučeniny mají velmi blízký vztah k oxidačnímu stresu, hyperlipidémii a hyperglykémii. Mezi karbonylové sloučeniny patří **glyoxal, glykoaldehyd, hydroxynonenal, methylglyoxal, 2-deoxyglukoson**. Tyto sloučeniny mohou vznikat ze sacharidů, aminokyselin a tuků.

K exkreci karbonylových sloučenin dochází **v ledvinách**. Dále je lze odstranit pomocí **enzymů** (aldozoreduktáza, aldehyddehydrogenáza a glyoxyláz). Všechny tyto enzymy potřebují pro svou funkci redoxní koenzymy (GSH, NADPH, NADH).

AGEs (advanced glycation end products)

Karbonylové sloučeniny neenzymaticky (Maillardova reakce) reagují s aminoskupinami proteinů za **vzniku AGEs** (produkty pokročilé glykace).

AGEs je heterogenní skupina látek, mezi které patří pentosidin, GOLD (glyoxal-lysine dimmer), MOLD (methylglyoxal-lysine dimmer)^[1].

Charakteristická je pro ně **žlutohnědá pigmentace** a fluorescence. Jsou schopny **modifikovat biologické struktury**. Reagují se specifickými receptory, např. **RAGE**. Mají význam v patogenezi chronických onemocnění a jejich komplikací jako je například (diabetes mellitus, chronické renální selhání, ateroskleróza, neurodegenerativní onemocnění a jiné).

U bílkovin pozměněných AGEs dojde ke **změně fyzikálních i chemických vlastností**. Ty zahrnují – změnu rozpustnosti, změnu náboje, nižší izoelektrický bod, crosslinking (zesítnění bílkovin), zvýšenou rezistenci k tepelné denaturaci a stabilitu vůči snížení pH.

RAGE receptor

RAGE je transmembránový protein, který slouží jako receptor pro produkty pokročilé glykace. Řadí se do imunoglobulinové superrodiny. Nejčastěji se vyskytuje na buňkách endotelu (oblasti typicky postižené aterosklerózou), makrofázích a na mikrogliích v mozkové tkáni.

Interakce AGEs-RAGE

Interakce mezi AGEs-RAGE způsobí intracelulární signalizaci. Zároveň vede k oxidačnímu stresu a aktivaci MAP-kináz. Tyto dva mechanismy vedou k aktivaci transkripčních faktorů např. NF-κB, který spouští kaskádu reakcí.

Působení RAGE receptoru v organismu

Aktivace NF-κB faktoru stimuluje tvorbu **cytokinů** (IL-1, TN-α, interferon γ) a **růstových faktorů** (IGF-1, PDGF). To má za následek expresi adhezivních molekul, zvýšení buněčné proliferace, zvýšení vaskulární permeability. Dále podněcuje migraci makrofágů, tvorbu endotelinu. Zvyšuje se syntéza kolagenu IV, proteoglykanů a fibronektinu. V místě zánětu podněcuje ve fagocytech tvorbu karboxymethyllysinu (CML).

Negativní působení AGEs v organismu

Komplikace při Diabetes mellitus

Chronické změny u diabetu jsou následkem hyperglykémie, která vede ke zvýšené **glykaci proteinů** a následnému oxidačnímu a karbonylovému stresu. Samotný karbonylový a oxidační stres vede k tvorbě AGEs a ALEs.

Tento mechanismus ovšem není jediný, který vede k orgánovým poškozením při diabetu. Například **samotná hyperglykémie zvyšuje množství AGEs a ALEs** (neenzymatická glykace) – dochází k poruše lipidového metabolismu. Třeba si uvědomit, že vznik komplikací při diabetu není způsoben jedním mechanismem. Jedná se o **komplexní** a do jisté míry kaskádovitý proces, který je značně propojen.

Metabolické změny

Neenzymová glykace – Maillardova reakce.

Dochází k intracelulární hyperglykémii ve tkáních, kde není potřeba inzulin (oční čočka, nervová tkáň, ledviny). Glukóza se metabolizuje na sorbitol a fruktózu a to vyvolává hyperosmolaritu buněk a tím vzniklé **osmotické poškození buňky**. Sorbitol **poškozuje iontové pumpy**, což vede k neuropatiím a aneurysmatům v sítnici.

Makrovaskulární komplikace

Urychlený rozvoj aterosklerózy, který vede k ICHS, ICHDK.

Mikrovaskulární komplikace

Nefropatie vede k selhávání ledvin. Ukládají se depozita v basální membráně, což vede k jejímu ztlustění a změně náboje. Dále dochází k sekreci růstových faktorů, zvýšení vaskulární permeability, zhuštění a zmnožení mezangiální matrix. Proteiny cévní stěny se modifikují (crosslinking). Dochází ke glykaci a oxidaci LDL částic a kolagenu, což vede k poškození endotelu.

Retinopatie má několik forem. Neproliferativní forma je charakterizována vznikem mikroaneurysmat, drobným krvácením, exsudáty, edémem. Preproliferativní forma avaskulárními úseky, plošným krvácením. A proliferativní forma tvorbou nových cév, fibrózou a krvácením do sklivce.

Ostatní komplikace

- Diabetická noha – Vzniká na základě neuropatie a současného poškození malých a velkých cév. Vznikají otoky, vředy. Do místa se mohou dostat infekce, dochází k nekróze tkáně a gangréne.
- Diabetická neuropatie.
- Arteriální hypertenze.

Komplikace při chronickém selhání ledvin

Diabetická nefropatie

Karbonylový stres poškozuje ledviny prostřednictvím AGEs, ALEs sloučenin, které modifikují biologické struktury (viz poškození vlivem AGEs) nebo dochází k diabetické nefropatii. Ve výsledku toto vede k narušení funkce ledvin (vyučování katabolitů, regulace iontové, vodní a acidobazické rovnováhy).

Amyloidóza spojená s dialýzou.

β -2-mikroglobulin, který je součástí amyloidových depozit, je vlivem oxidačního a karbonylového stresu modifikován a postupně dochází k přitahování monocytů a makrofágů a tvorbě cytokinů.

Spojení s peritoneální dialýzou

Karbonylový stres má také význam v peritoneální dialýze, kdy dochází k autooxidaci glukózy na dikarboxylové sloučeniny, což následně vede k vzniku AGEs a následnému selhání peritoneální dialýzy. Tomu lze předejít separací glukózy od elektrolytového roztoku.

Urémie

Urémie vede vlivem karbonylového a oxidačního stresu (narušené rovnováhy) ke vzniku karbonylových sloučenin (glyoxal, glykoaldehyd, metylglyoxal, 3-deoxyglukozon), produktům radikálových reakcí (hydroperoxydy, NO, ox-LDL) a konečným produktům vzniklým oxidačním a karbonylovým stresem (AOPP – advanced oxidation protein products; AGEs – advanced glycation end products. V uremické plazmě se hromadí například pentosidin, GOLD, MOLD^[1]; ALEs – advanced lipoperoxidation end products).

- Nedostatečná clearance reaktivních forem dusíku a kyslíku;
- snížená antioxidační ochrana (enzymy a jejich kofaktory, antioxidační vitaminy, deplece thiolů, hypoalbuminémie – souvislost s malnutricí).

Komplikace při ateroskleróze

Ateroskleróza je patobiologický pochod (proces), při kterém dochází k poškození cévní stěny a vzniku ateromových ložisek. Oba tyto mechanismy postupně způsobí uzávěr tepny a následné ischemické poškození tkáně. Na patogenezi aterosklerózy má vliv mnoho po sobě jdoucích procesů.

Působení lipoproteinových částic

Lipoproteinové částice (LDL, VLDL) cirkulující v krvi pronikají do subendotelového prostoru intimy. Tyto částice mohou být modifikovány glykací, oxidačním stresem a karbonylovým stresem. Vzniká **glykovaný LDL, glyko-oxidovaný LDL, oxidovaný-LDL**. Všechny tyto částice interagují s proteoglykany v mezibuněčné matrix intimy a způsobují tak strukturní modifikace proteinů a crosslinking (zesíťování).

Zvětšuje se množství extracelulární matrix, čímž dochází ke **ztlustění endotelu**. Dále dochází k poškození endotelu a **zvýšuje se prokoagulační aktivita** (adheze a agregace trombocytů). V daném místě vzniká zánět a objevují se protizánětlivé faktory (TNF α , IL-1). Blokace syntézy NO, což snižuje vlastní vazodilataci cévní stěny.

Působení makrofágů

Další důležitou roli v rozvoji aterosklerózy mají makrofágy. Makrofágy mají na svém povrchu tzv. Scavenger receptory. Těmito receptory je zajištěna **akumulace LDL-částic a cholesterolu v makrofázích**. Jednoduše řečeno pohlcují tyto částice a tím se mění na pěnové buňky. Pěnové buňky uvolňují lipidy extracelulárně (tvorba

ateromového plátu) a produkují růstové faktory pro buňky hladkého svalstva. Dále uvolňují kyslíkové radikály a hydrolázy, které způsobují další modifikaci proteinů.

Modifikované LDL-částice mají **chemotaktické účinky** na monocyty (podporují expresi VCAM a dalších adhezivních proteinů v buňkách hladké svaloviny). V dalším kroku se takto přivolané monocyty zachycují a pronikají do cévní stěny, kde se mění v makrofágy. Ty se posléze mění v již zmíněné pěnové buňky. Takto vzniká ateromový plát. Uvnitř ateromového plátu postupně dochází k **nekróze pěnových buněk**, což může způsobit narušení a rozpad plátu. Takto může vznikat trombus a s ním související komplikace.

Terapeutické možnosti redukce karbonylového stresu

V dnešní době se u používaných látek předpokládá schopnost zasáhnout do tvorby produktů karbonylového stresu. Mezi udávané látky patří **aminoguanidin**^[2](obr.), který brání zesíťování. Reakce probíhá atakem nukleofilní hydrazinové skupiny na karbonyl. Tímto vznikají tzv. hydrazony.

Vzhledem k úzké souvislosti oxidačního a karbonylového stresu můžeme podávat **antioxidační léčbu** např: vitamin E, GSH, lipoová kyselina a jiné.

