

Природне науке • *Natural sciences* • *Естественные науки*

Оксидативни стрес и антиоксидативна заштита

Старење је један од најзначајнијих проблема којима су се људи бавили још од најстаријих времена. Први алхемичари су поставили себи за циљ да пронађу еликсир помоћу кога би се постигла бесмртност. И дан данас читави научни (мултидисциплинарни) тимови проучавају процес старења и његове узроке. Многи научни резултати допринели су расветљавању ове тајне, али коначан циљ још увек није постигнут. Крајем лета ове године у научној јавности је обелодањена, и у свим значајнијим светски медијима објављена, сензационална вест да је руски научник Владимир Скулачјов, професор на Институту за физичко-хемијску биологију, универзитета „Ломоносов“ у Русији, усавршио антиоксидант који успорава процес старења. Током истраживања које је трајало пуне четири деценије он је дошао до закључка да је узрок старења кисеоник, који се у организму 99% трансформише у нешкодљиву воду, а један посто се трансформише у веома токсични супероксидни радикал. Професор Скулачјов је синтетизовао препарат који неутралише управо овај радикал. Препарат је

већ дао одличне резултате у примени на лабораторијским мишевима. Осим тога, примена препарата у облику капи за очи у потпуности је довела до излечења катаракте. Коментаришући проналазак руског научника, професор Универзитета „Рокфелер“ и добитник Нобелове награде Гинтер Блобел изјавио је да су резултати сасвим реални и да до сада нисмо имали тако ефикасан антиоксидант.

Хиљаде добровољаца пријавило се да учествује у тестирању препарата. Да ли је заиста могуће потпуно спречити процес старења? Да ли ће сан алхемичара постати јава?

Да бисмо одговорили на питање шта су антиоксиданти, потребно је најпре предочити шта су оксиданти (и прооксиданти), који се најчешће генеришу из хемијских врста означених називом – слободни радикали.

Слободни радикали су атоми, јони или молекули, који имају један неспарен електрон у својој структури. Неспарени електрони су узрок њихове високе и неселективне реактивности и нестабилности. Слободни радикали могу бити

неутрални, али такође и позитивно или негативно наелектрисани. Неспарени електрон се може налазити на С-атому, као код алкил радикала (CH_3 , CH_3CH_2), на О-атому, као код алкоксил (RO), хидроксил (OH), пероксил (ROO), супероксид анјон-радикала (O_2). Неретко, неспарен електрон могу имати и атоми халогена (Cl), алкалних метала (Na), али и јони неких других метала: Cu^{2+} , Fe^{3+} .

Слободни радикали спадају у најреактивније хемијске врсте, и због своје високе хемијске реактивности лако ступају у реакцију, међусобно или са другим молекулима, при чему неспарени електрони образују хемијске везе; ослобађа се енергија, а систем прелази у ниже енергетско стање. На основу релативне стабилности, слободни радикали се деле на непостојане (краткоживеће) и постојане (дугоживеће). Стабилност слободних радикала представља термодинамичку карактеристику, која зависи од способности осталог дела молекула да стабилизује неспарени електрон, а резонанција и стерни ефекат (распоред атома у простору) су два главна фактора који утичу на ту стабилност.

У биолошким системима најпознатија слободнорадикалска реакција је ланчана реакција пероксидације липида која се састоји од три фазе: иницијације, пропагације и терминације. Ћелије аеробних организама су константно изложене дејству слободних радикала. Неконтролисана продукција прооксидативних врста оштећује већину важних биомолекула (липиди, днк, протеини, угљени хидрати), доводећи до њихове оксидације и нарушавања њихове основне животне функције.

Повећана продукција прооксиданата и/или смањена антиоксидативна за-

штита организма доводи до оштећења ткива и до обољења. Све заједно, уколико постоји генетска предиспозиција или излагање спољашњим факторима који делују стресно (дим цигарете, сунчева светлост, загађење итд.), равнотежа прооксиданти/антиоксиданти може бити нарушена. Овакво стање назива се оксидативни стрес, који је узрок или пратећи фактор у патологији многих обољења: запаљенски процеси, катаракта, старење, енфизем, неуролошки поремећаји, кардиоваскуларне болести и канцер.

Липидна пероксидација је процес који је одговоран за кварење хране. Током загревања и складиштења састојци хране подлежу хемијским трансформацијама, од којих су најважније реакције оксидације и декомпозиције производа оксидације. Последице су смањење нутритивне вредности и промена сензорних (органолептичких) карактеристика хране (боје, укуса и мириса). Због тога се током производње и обраде хране укључују разни заштитни процеси који имају за циљ спречавање ових реакција, нпр. омогућавањем инаktivације ензима који изазивају оксидацију, смањењем садржаја кисеоника, употребом одређених амбалажних материјала и метода паковања, снижењем температуре и на многе друге начине. Ипак, метод спречавања оксидације у храни који је данас од највећег интереса и који се приоритетно предлаже у научноистраживачким студијама јесте употреба антиоксиданата као инхибитора оксидације.

Деловање антиоксиданата заснива се на њиховој способности да делују као хватуачи слободних радикала, да дају електроне, разграђују хидропероксиде липида настале у фази пропагације (настајања), да елиминишу дејство атомског кисеоника, инхибирају неке ензиме.

АНТИОКСИДАТИВНА ЗАШТИТА

Први степен ћелијског одговора на оксидативни стрес јесте антиоксидативна одбрана и активирање система за репарацију ћелијских структура оштећених дејством слободних радикала. Иако живи организми подлежу старењу изазваном дејством прооксиданата, минимална акумулација оштећених ћелијских компонената се постиже вишеструким дејством антиоксидативних једињења и ензима који репарирају или уклањају оштећене компоненте. Антиоксиданти *in vivo* делују тако што се сами оксидују да би заштитили важне ћелијске компоненте од оксидације или каталитички конвертују (претварају) слободне радикале у мање реактивна једињења, а такође и разлажу и уклањају оксидационе производе.

Антиоксиданти, који се налазе у *in vivo* системима, генерално се могу сврстати у три групе: ензими; металопротеини; нискомолекуларни антиоксиданти.

Најбољу и тренутно важећу дефиницију антиоксиданта дали су *Halliwel* и *Gutteridge* (1990), по којој је „антиоксидант супстанца која, присутна у малим концентрацијама у односу на супстрат који се оксидише, значајно одлаже или инхибира оксидацију супстрата“. Ова дефиниција је погодна за молекуле малих молекулских маса, али не објашњава дејство ензима и металопротеина као антиоксиданата.

ЕНЗИМСКИ АНТИОКСИДАнти

У току еволуције код живих организама развили су се многобројни механизми антиоксидативне заштите. Примарну улогу у томе имају ензими. Они се могу поделити на:

- Примарне – који реагују директно са прооксидативним врстама (каталаза и супероксид дисмутаза);
- Секундарне – који регенеришу молекуле антиоксиданата малих молекулских маса (аскорбат дехидрогеназа и глутатион редуктаза).

МЕТАЛОПРОТЕИНИ

Тзв. прелазни метали под одређеним условима могу бити „прооксидативне врсте“ и изазвати прооксидативни ефекат. Од свих метала присутних *in vivo* гвожђе и бакар су најзаступљенији и најпроблематичнији са аспекта прооксидативне активности. Због тога се они налазе у веома малим количинама у слободном стању; углавном су везани за протеине, при чему граде стабилне металопротеине који немају прооксидативни ефекат.

501

НИСКОМОЛЕКУЛАРНИ АНТИОКСИДАнти

У ову групу антиоксиданата убрајају се неки витамини, тиоли, мокраћна киселина, хинони и хидрохинони, жучни пигменти, биогени амини, естроген, деривати хистидина, меланини, α-липоична, дихидролипоична киселина и њихови аналози, α-кетокиселине, индоли и једињења слична индолу и мелатонин.

ПРИРОДНИ АНТИОКСИДАнти

Лековита својства биљака позната су од најранијих времена људске цивилизације. Од тада па све до данашњих дана биљке су се употребљавале као храна, лекови, конзерванси, у религиозне сврхе, за украс, итд. Све до развоја хемије, а нарочито синтезе органских молекула у XIX веку, извор фармаколошки активних супстан-

ци биле су искључиво биљке. Велики број експеримената, радова и студија истиче позитивну улогу воћа, поврћа, житарица и других јестивих биљака, у превентиви и лечењу многих обољења код човека. Такође, резултати добијени у последњих неколико година указују на висок садржај природних антиоксиданата у биљкама. Најновија испитивања синтетичких антиоксиданата, нарочито терц-бутил-4-хидрокси анисол (ТБА) и терц-бутил-4-хидрокси толуен (ТБТ) стимулишу настајање карцинома у ткивима човека. У Јапану, САД и другим развијеним земљама синтетички антиоксиданти се све мање користе због њиховог пропратног токсичног ефекта. (Данас читава армија научника трага за довољно ефикасним и јефтиним природним антиоксидантима.)

Из стабљика, лишћа, цветова и плодова неких биљака, из клица кукуруза, зоби, пиринчаног семена, као и многих зачинских биљака, екстраховани су сирови екстракти јаким антиоксидационим особина. У овим екстрактима инструменталним аналитичким методама су установљена различита органска једињења, од којих доминантну улогу при оксидативном деловању имају полифенолна једињења као што су еугенол, карносол, росманол и росмарихинон.

Прехрамбена индустрија користи различита природна једињења, као адитиве, за побољшање конзервисања хране. Најновија истраживања указују да полифенолна једињења својим физичко-хемијским особинама и разноврсношћу структуре предствљају групу једињења која у организму доприносе добром физиолошком функционисању ћелија и заштити од оксидационих оштећења ћелија.

Да бисмо користили природне антиоксидансе у исхрани, они морају испуњавати следеће услове: не смеју имати непријатан

мирис и укус, морају бити растворљиви у мастима, не смеју бити токсични и скупи. Они такође морају да делују у веома малим количинама и да показују потребну антиоксидативну активност.

Многе биљне врсте садрже фенолна једињења која могу имати знатне антиоксидативне особине. Једно од таквих једињења је росмарихинон који представља активну компоненту рузмарина.

Сесамол представља активно фенолно једињење у сусаму и побољшава стабилност сусамовог уља у процесу липидне оксидације. Захваљујући њему сусамово уље у мањој мери подлеже липидној пероксидацији и има дужи рок употребе у доносу на сунцокретово, маслиново и репичино уље. Овас је одавно познат по својим антиоксидативним особинама. Преко 25 фенолних једињења је идентификовано у овсу. Многа од њих су деривати кафене и ферулне киселине

Фитохемикалије са најизраженијим антиоксидативним деловањем су полифенолна једињења, аскорбинска киселина, токофероли (витамин Е) и каротеноиди.

АСКОРБИНСКА КИСЕЛИНА

Велики број радова је објављен о примени аскорбинске киселине у прехрамбеној индустрији. *L*-аскорбинска киселина се може додати храни или састојцима хране са циљем да повећа хранљиву вредност хране. Поред добро познатих антиоксидативних особина, витамин Ц се користи и за спречавање процеса неензимског тамњења до кога долази при каталитичкој оксидацији полифенолних једињења у храни. Употребљава се и као агенс за спречавање корозије конзерви, за очување укуса, побољшање ароме и бистрине вина, за инхибицију формирања нитрозоамина и спречавање промене боје

конзервисаног и амбалажираног меса, побољшање квалитета теста итд. Синтетички добијена аскорбинска киселина класификована је као безбедан прехранбени адитив.

ТОКОФЕРОЛИ

Витамин Е представља групу од осам природних липофилних молекула, токоферола (α -, β -, γ - и σ -токоферол) и токотриенола (α -, β -, γ - и σ -токотриенол). Токофероли су есенцијални нутритивијенти и морају се уносити путем исхране. Присутни су у биљним уљима, од којих је најбогатије палмино уље.

Токофероли реагују са слободним радикалима и спречавају процес липидне пероксидације. На тај начин α -токоферол својим антиоксидативним својствима доприноси превенцијом кардиоваскуларних и неуролошких обољења, канцера и старења.

ПОЛИФЕНОЛНА ЈЕДИЊЕЊА

Као што је већ речено, велики број фитохемикалија има антиоксидативно деловање, али су полифенолна једињења привукла највећу пажњу истраживача. Полифенолна једињења су секундарни метаболити биљака различитих структурних карактеристика, са фенолним језгром као основним конституентом. Фенолне киселине и флавоноиди су од свих полифенола најчешће предмет научних истраживања. Полифенолна једињења су веома значајна како за органолептичке особине хране тако и за њене позитивне здравствене ефекте.

У литератури се најчешће као природни извори полифенолних једињења наводе зачинско и лековито биље. Међутим, полифенолна једињења су заступљена и у

другим природним изворима као што су махуне, коштуничаво воће, семе уљарица, житарице.

ФЛАВОНОИДИ

Термин „флавоноид“ означава биљне пигменте, у којима су два бензенова прстена повезана преко три C-атома. То су у води растворни жути, црвени или љубичасти пигменти распрострањени у свим биљним органима. Из биљака је изоловано и проучено преко 3000 флавоноида који су, с обзиром на степен оксидације централног пиранског прстена, подељени у дванаест класа: флаволи, изофлаволи, флаванони, флавоноли, флаванолни, флаванани, катехини, антоцијанидини, леукоантоцијанидини, халкони, дихидрохалкони и аурони.

Разноврсност и велики број структура флавоноида резултат су бројних модификација њихових основних структура као што су: додатне хидроксилације, O-метилације хидроксилих група, димеризације, везивање неорганског сулфата и најважније гликолизација хидроксилих група (настајање O-гликозида) или флавоноидног језгра (настајање C-гликозида).

Флавоноиди су распрострањени у свим зеленим биљкама, а нађени су и у нижим организмима. Позитивни ефекти флавоноида на здравље допринели су наглом порасту употребе биљних флавоноида као конституената функционалне хране. Флавоноиди су важни природни антиоксиданти и они делују антиоксидативно хелатизацијом јона тешких метала, предавањем атома водоника слободном радикалу, чиме се он неутралише и хватањем слободних радикала. Антиоксидативно деловање флавоноида условљено је њиховом структуром. Различити флавоноиди у зависности од структуре

показују различиту антиоксидативну активност.

Они смањују концентрацију слободних радикала у живим организмима, спречавају појаву оксидационог оштећења ћелија и бројне мутагене и канцерогене процесе који могу бити изазвани управо деловањем слободних радикала. Имајући у виду слободно-радикалску теорију старења по којој је процес старења последица деструктивног деловања слободних радикала и слабљења антиоксидативне заштите организма, то се може рећи да флавоноиди успоравају ове процесе и смањују деструкцију за организам изузетно значајног колагена.

Антоцијани и антоцијанидини, изразито љубичасте или црвене боје (зависно од pH вредности средине), представљају метаболичке продукте флаванона. Иначе, профил антоцијана у биљном ткиву је карактеристичан и користи се у таксономији, као и при одређивању степена кварења сокова и вина. Данас је све већи интерес за изоловање и употребу антоцијана, не само због тога што су они нетоксични природни пигменти, растворни у води и могу заменити синтетичке боје, већ и због њихових биоактивних особина. Антоцијани су додавани храни још од давнина. Били су компоненте традиционалних хербалних препарата које су користили Индијанци, Европљани и Кинези. Изоловани су из лишћа, воћа, корења или семена биљака. Екстракти богати антоцијанима користили су се за лечење хипертензије, пирексије, обољења јетре, дизентерије, дијареје, инфекција уринарног тракта и камена у бубрегу. Забележен је њихов утицај на побољшање вида и циркулације. Стандардизовани воћни концентрат који има висок садржај антоцијана декларисан је као природ-

на прехранбена боја са ознаком Е163 и дозвољен је за употребу у Европској Унији, САД, Канади и Јапану.

Закључак

Оксидативни стрес је узрок многих савремених болести као што су: запаљенски процеси, катаракта, старење, енфизем, неуролошки поремећаји, кардиоваскуларне болести и канцер. Примарна антиоксидативна заштита коју су током еволуције развили аеробни организми најчешће није довољна, тако да је неопходно да се у организам унесе супстанце са антиоксидативним деловањем које ће повећати и побољшати антиоксидативну заштиту. Као последица штетног деловања слободних радикала, а посебно супероксид-радикала, долази до процеса старења. Да би се ови процеси успорили и спречили, препоручује се примена антиоксиданаса. Истраживања су показала да природни антиоксиданси имају знатно боље физиолошке ефекте на здравље од вештачких антиоксиданаса. Од природних антиоксиданаса најзначајни су витамини Ц и Е, каротеноиди и природна фенолна једињења. Од природних фенолних једињења највећу антиоксидативну активност имају фенолне киселине и флавоноиди који су најчешће изоловани из лековитог и зачинског биља. Ова једињења треба да се користе као додаци храни са циљем да се спречи њено кварење, које је најчешће последица липидне пероксидације. Такође се препоручује уношење хране која је богата природним антиоксидансима, са циљем да се што дуже очува добро здравље и успоре процеси старења, што је други начин казивања за – адекватан стил живота.

Данијела Косић (Ниш)