

## SISTEME PROTECTOARE ANTIOXIDANTE

Maria Greabu\*, R. Olinescu\*, D. Crocnan\*, B. Voiculescu\*\*,

## REZUMAT

După cum afirmă Commoner, "Omul secolului XX conține Sr-90 în oase, I-131 în tiroidă, DDT în grăsimi și ascorbat în plămâni, dar trăiește mai bine decât strămoșii lui", organismul uman, ca și al altor viețuitoare dispune de resurse încă insuficient cunoscute, de mecanisme biochimice și imunologice complexe, care permit o adaptare și rezistență la noxe moderate. Organismul uman se adaptează în măsura posibilităților prin activarea sistemelor de protecție capabile să-i confere un grad remarcabil de rezistență.

Deoarece activarea oxigenului este un proces instabil și ubicuitar, acceptarea lui ca element de bază al vieții s-a efectuat numai după elaborarea pe cale evolutivă a unor sisteme antioxidante de protecție. Acestea se caracterizează printr-o mare varietate și complexitate.

**Cuvinte cheie:** radicali liberi, antioxidanți, superoxid dismutază

Activarea  $O_2$  este un proces inevitabil, care se petrece în natură și deci în toate viețuitoarele. Acceptarea oxigenului ca element de bază al vieții s-a efectuat numai după ce formele primitive celulare și-au elaborat pe cale evolutivă sisteme antioxidante de protecție [11]. Datorită creșterii complexității viețuitoarelor, a noilor condiții de mediu, s-au înmulțit și sursele de activare ale  $O_2$ , impunând viețuitoarelor găsirea unor noi sisteme de apărare, mai diversificate. Așa se explică existența în toate celulele aerobe a mai multor sisteme protectoare.

Aceste sisteme protectoare antioxidante au următoarele caracteristici:

- a) acționează fiecare în anumite etape ale activării oxigenului;
- b) sunt interconectate metabolic pentru a-și asigura regenerarea;
- c) pentru a-și asigura o eficiență maximă, enzimele antioxidante au cele mai mari viteze de reacții (exemplu pentru SOD,  $2 \cdot 10^9 M^{-1}s^{-1}$ ) și se găsesc în toate celulele aerobe în cantități apreciabile;
- d) specificitatea antioxidanților naturali este mică pentru eventuala potențare a eficienței lor. În plus, un antioxidant poate acționa asupra unui peroxid ( $H_2O_2$ ) la un nivel de concentrație, pentru ca la o concentrație mai mare, să mai intervină și al doilea sistem (ex., GSH peroxidaza și catalaza);
- e) în interiorul celulei, sistemele antioxidante sunt localizate în imediata apropiere a surselor de radicali (membrane, microzomi, mitocondrii), de

## ABSTRACT

## Antioxidant protective systems

As Commoner said "The human being of XX<sup>th</sup> century contain, Sr-90 in bones, I-131 in Thyroid Gland, DDT in lipoproteins, ascorbate in lungs but live longer and better than his ancestors". The human organism, like others forms of life has unknown resources, of complex biochemical and immunological mechanisms that permit its adaptation and resistance to different noxes. The human organism adapts to these noxes by activating its protective systems that are able to gave a remacable resistance.

As a matter of fact that the oxygen activation is un unstable and un ubiquitous process its acceptance as a basic element of life developed only after the elaboration on the evolution scale of some antioxidant protective systems. A great variety and complexity characterize these.

**Key words:** free radicals, antioxidants, superoxide dismutase

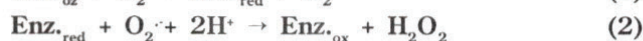
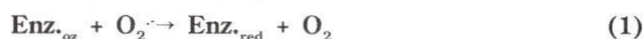
aceea enzimele pot fi găsite în mai multe fracțiuni subcelulare;

- f) dacă se admite existența unei rezerve potențiale funcționale în natură, deci o *redundanță*, sistemele antioxidante sunt un exemplu elocvent. Aceste sisteme alcătuiesc o apărare nespecifică, foarte eficientă, a cărei redundanță permite omului să reziste la noile noxe create de el însuși.

Există o intercalare a sistemelor enzimatică cu antioxidanți naturali și sintetici. În timp ce enzimele cu viteză mare de reacție acționează separat (SOD, catalază), cele implicate în descompunerea peroxidizilor sunt legate metabolic de glicoliză pentru regneerarea NADPH. Marea eficiență a antioxidanților (AO) constă în sinergismul acțiunii lor deci funcționează după mecanisme diferite și la niveluri variate ale evoluției radicalilor liberi (RL) în organism. Astfel AO oferă posibilitatea reglării și limitării excesului de RL sau de specii reactive (peroxizi).

## Superoxid dismutaza

Deși sunt multe substanțe și enzime redox care suferă modificări sub acțiunea  $O_2^{\cdot-}$ , în natură s-a favorizat apariția unor enzime care catalizează dismutarea superoxidului la viteze apropiate de cea a difuziei  $O_2$  ( $10^9 M^{-1}s^{-1}$ ). Reacțiile catalizate sunt de forma:



\* Dr. Biochim. R. Olinescu, Conf. Dr. Maria Greabu, Dr. Biofiz. D. Crocnan, Departamentul de Biochimie, Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila"

\*\* Asist. Dr. B. Voiculescu Departamentul de Anatomie, Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila"

Astfel de enzime, superoxid dismutaze (SOD), (E.C.1.15.1.1.) au în centrul activ atomi ai unor metale tranziționale, Cu, Zn, Mn, Fe, cea mai cunoscută fiind CuZnSOD din hematii compusă dintr-o aglomerare binucleară de aminoacizi, în care atomii de Cu și Zn sunt chelați în comun prin ciclul imidazol al histidinei din poziția 63. Enzima a fost descoperită în 1969 de Fridovich și McCord de la Universitatea Duke din Carolina, constituind o mare surpriză, deoarece substratul ei este aproape insesizabil. SOD este compusă din 2 subunități identice, nelegate covalent, conținând 2Zn și 2Cu, pentru o masă moleculară de 33 000.

La mamifere se găsește o a doua SOD, ce conține 2-4

atomi de Mn/moleculă, la o masă moleculară de 80 000, compusă din 4 subunități. Dacă primele două SOD au o localizare strict intracelulară, coexistând în aceeași celulă, dismutaza extracelulară, descoperită în 1982 de Marklund se găsește în spațiul interstițial, mai ales în cel pulmonar. Acest tip de SOD are o masă moleculară de 135 000 pentru 4 subunități și conține 4Cu și 4Zn [14].

Trebuie accentuat caracterul ei participant la sistemul de apărare nespecifică al organismului. În primul rând, SOD se găsește în toate celulele organismelor aerobe în mari cantități. În tabelul I sunt redată concentrațiile de SOD în țesuturi la om.

Tabelul I

Conținutul SOD de diferite tipuri în țesuturi la om, după Marklund [12]

ȚESUTUL	EXTRACELULAR	Cu-Zn	Mn
Suprarenală	180	22000	1200
Creier, materie cenușie	80	23000	900
Creier, materie albă	120	11000	280
Duoden	350	8000	310
Inimă	210	12000	1300
Rinichi, cortex	232	30000	1800
Rinichi, medular	420	16000	1100
Ficat	60	96000	2300
Plămâni	650	7600	380
Ovar	422	13200	147
Pancreas	650	10000	800
Uter	1750	8100	160
Splină	100	13000	320

Se remarcă marea proporție de CuZnSOD comparativ cu celelalte două tipuri. Deoarece s-au observat mari variații individuale, nu am redat decât valoarea medie. De asemenea, este foarte evidentă marea concentrație a SOD intracelulară în ficat, rinichi, creier, organe care sunt sediul unor intense procese metabolice, spre deosebire de plămâni, la care predomină schimburile respiratorii intercelulare și unde SOD extracelulară este în concentrație ridicată. Aceeași diferență de conținut se observă în cadrul aceluiași organ (creier, rinichi) legată de intensitatea proceselor metabolice. Desigur, contează nu numai intensitatea proceselor metabolice, dar și natura lor. Leucocitele sunt sediul unor intense procese metabolice unde se dezvoltă  $O_2^-$  și totuși, conținutul lor în SOD este destul de mic, probabil datorită rolului acestui radical și a prezenței celorlalte enzime protectoare (catalaza).

Datorită importanței acestei enzime, studiile de biochimie comparată au arătat o remarcabilă constanță a concentrației SOD în hematii, la speciile de mamifere, spre deosebire de marile variații ale catalazei și GSH peroxidazei. Mediile

activităților enzimei din rinichi, mușchi și inimă au arătat o diferență de 20% pentru CuZnSOD și de 60% pentru MnSOD la mai multe specii. În schimb, SOD extracelulară variază cel mai mult atât comparativ între specii, cât și în localizarea în cadrul unui organism.

Dacă pentru alte enzime, modularea nivelului tisular este reglat de activitatea metabolică și aportul substraturilor, în cazul SOD, factorii implicați în reglare sunt mai complecși. Efectul inductiv al  $O_2^-$  asupra SOD a fost demonstrat clar la bacterii anaerobe sau facultativ aerobe. De asemenea, în radiorezistența extraordinară a bacteriei *Micrococcus radiodurans* a fost incriminat un mare conținut în SOD. Tumorile localizate la nivelul unor organe interne și supuse tratamentului cu antibiotice antraciclince (Adrimicină, Daunomicină) își măresc conținutul în CuZnSOD. Se știe că aceste antibiotice acționează prin eliberarea de  $O_2^-$  și  $H_2O_2$  rezultați din metabolizarea lor. O creștere a MnSOD s-a constatat în organele șoarecilor iradiați cu doze subletale de radiații X [23, 24]. Expunerea cronică a unor voluntari la 0,7

Tabelul II

Conținutul în SOD (CuZn) din plămâni de șobolani, după Marklund [12]

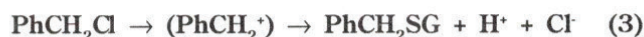
CONDIȚIA	SPECTROFOTOMETRIC		IMUNOLOGIC TITRU ANTICORPI
	Unități/plămân	$\mu$ g/plămân	
Control	2420 $\pm$ 52	126 $\pm$ 2,7	132 $\pm$ 6,9
85% $O_2$ (48 ore)	3590 $\pm$ 172	198 $\pm$ 8,9	196 $\pm$ 4,5

ppm ozon determină creșterea conținutului SOD și a GSH peroxidazei din sânge, ca un indice al adaptării. Același răspuns adaptativ a fost observat și la șobolani expuși unui mediu hiperoxic, când s-a putut măsura conținutul SOD pulmonar prin două metode, spectrofotometrică și imunologică. Același răspuns adaptativ a mai fost observat la intoxicații cu ierbicidul paraquat și la fumători.

Pe baza acestor date, încă de acum 15 ani s-a început experimentarea clinică a utilizării terapeutice a SOD purificate în condiții patologice foarte variate (displazie bronhopulmonară, cataractă, intoxicații chimice: paraquat, artrita reumatismală, efecte secundare ale tratamentului radioterapic sau cu citostatice, ischemii cerebrale, Parkinson, Alzheimer, etc.) Astfel sau comercializat medicamente conținând SOD purificat cum sunt Orgotein (SUA), Peroxinorm (Germania), Epurox (Romania) sau preparate nutritive. Tratamentul cu SOD purificat, deși a permis obținerea unor vindecări spectaculoase în unele cazuri, rămâne handicapat de problema penetrabilității enzimei la țintă (focar). De aceea, în multe laboratoare se testează înlocuitori lipofili ai SOD. ținând seama de implicațiile SOD în cancerogenează, proprietățile antimutagenice, antitumorale și radioprotectoare a complexului mai sus citat sunt remarcabile. Problema încă nerezolvată este toxicitatea mare a acestui complex, drept care se încearcă noi complexe cum sunt Cu<sup>2+</sup>-glicilhistidilizină, saliciliden-L-glutamocuprat.

### Glutacionul

Acest tripeptid (x-glutamyl-L-cisteinil-glicină) formează un component principal al apărării nespecifice împreună cu enzimele dependente. Glutacionul redus (GSH) este principalul transportor de grupări SH reactive. Datorită caracterului nucleofilic puternic, GSH va reacționa cu multe substanțe care au centri electrofili, cum este clorura de benzil (PhCH<sub>2</sub>Cl):



În multe cazuri, reacția poate decurge neenzimatic, dar de cele mai multe ori, GSH intervine drept componentă a unor enzime cum sunt CSH-transferaza, permițând detoxifierea xenobioticelor pe calea biosintezei acizilor mercapturici. Dar GSH acționează drept coenzimă și în alte enzime, ca GSH-peroxidaza și reductaza, de asemenea implicate în apărarea nespecifică. În plus, GSH este necesar și în alte funcții celulare, cum sunt menținerea integrității membranelor, structura citoplasmatică, conformația proteinelor, biosinteza AND și ARN.

Concentrațiile relativ mari de GSH (1-5 mM) din ficat și alte organe sunt suficiente pentru aceste solicitări. Biosinteza acizilor mercapturici și alte implicații în detoxifiere produc, în cazul unei intoxicații acute, o scădere până la epuizare a GSH intracelular. S-au acumulat suficiente date care demonstrează existența unui prag cirtic, concentrație de GSH sub care se accelerează formarea peroxizilor lipidici [10, 16].

**Tabelul III Scăderea GSH hepatic după administrarea unor compuși chimici**

COMPUSUL	DOZA, mg/kg	CALEA DE ADMINISTRARE	GSH, % DIN CONTROL
Iodură de metil	75	Oral (șobolan)	17
1,2 - Dicloretan	396	Oral	52
Cloroform	1000	Oral	53
Clorură de benzil	500	Oral	18
Bromobenzen	500	Oral	28
Naftalină	500	Oral	10
Fenantren	500	Oral	42
Paracetamol	200	i.p. (șoarece)	44
Acrilonitril	100	s.c. (șobolan)	65
Metacrilat de metil	814	i.p.	68
Aldehidă cinamică	525	i.p.	35

Administrarea experimentală a unor compuși (tabelul III) determină (după 2 ore) o scădere a GSH, care amplifică peroxidarea și favorizează instalarea stării de toxicitate. Scăderea GSH este un proces dinamic, reversibil cu condiția ca substanțele care au produs-o să nu inhibe și GSSG reductaza necesară refacerii GSH. Dacă aceasta se întâmplă, se va acumula GSSG intracelular. Din considerente osmotice, GSSG va fi expulzat din celulă cu ajutorul unei translocaze dependente de ATP și localizată în membrana celulară.

Conținutul de GSSG (glutacion oxidat) în efluxul hepatic este un indicator al gradului de toxicitate, deoarece depleția ireversibilă a GSH intracelular induce liză prin implicarea repartiției ionilor de calciu și a pompelor ionice [22].

Datorită solicitărilor multiple, GSH are un turnover variabil cu specificul organului și intensitatea proceselor metabolice: o oră în rinichi până la 5-7 zile în hematii, creier,

splină și plămâni. Biosinteza GSH este catalizată de două sintetaze, dar în condițiile unei mari solicitări (stres oxidativ), disponibilitatea cisteinei și, indirect, a metioninei constituie factorul limitant și esențial supraviețuirii [3, 8, 21].

Ca și în cazul SOD, s-a încercat experimental protejarea organismelor contra radiațiilor ionizante sau toxicității chimice, prin compuși care eliberează GSH *in vivo* [24, 25,]. Astfel de compuși cum sunt cisteamina, acetilcisteina, acid tiazolidincarbonic, oferă o protecție limitată, probabil datorită penetrabilității lipoflice reduse. În acest sens, redăm o parte din rezultatele obținute de Wright [20] de protejare a șoarecilor contra necrozei hepatice produsă prin administrarea i.p. de paracetamol. Starea necrotică este indicată de creșterea transaminazei (GPT) și a peroxidării lipidice (etan expirat) ca urmare a descompunerii peroxizilor lipidici (PxL).

Tabel IV

**Influența administrării GSH înglobat în liposomi  
asupra modificărilor biochimice produse prin administrarea  
de paracetamol (400 mg/kg)[3, 20]**

GSH (mL) 27 mg/ml	ETAN EXPIRAT moli/kg/4 ore	GPT SÂNGE U/L	GSH HEPATIC moli/mg PROTEINĂ
0	641 ± 36	3 642 ± 223	6,0 ± 3,4
50	80 ± 3,5	1 465 ± 37	7,1 ± 1,4
125	29 ± 8	272 ± 88	50,9 ± 6,5
250	34 ± 5	195 ± 68	41,5 ± 3,7
350	31 ± 6	241 ± 34	42,7 ± 5,7

Efectul protector al GSH administrat pe această cale este evident. Așa cum efectul necrotic al paracetamolului, deși doză-dependent, prezintă un prag de concentrație la 400 mg/kg, și în cazul GSH apare un prag la 300 ml (aproximativ 175 mg/kg). Nici un efect protector nu a fost obținut prin administrare de GSH, acetilcisteină în soluție, sau liposomi fără GSH.

Toxicitatea mare a metanolului (orbire la 7 ml) a fost atribuită producerii *in vivo* a formaldehidei și acțiunii ei oxidante asupra grupărilor SH. După injectarea unor doze letale de metanol (9 g/kg) sau de formaldehidă (0,14 g/kg) s-a obținut o protecție de 70% prin injectarea după toxic de cisteină (38 mg), 2-mercaptoetanol (27 mg) sau BAL, (2,3-dimercaptopropanol) (4 mg). Amintim că BAL este utilizat cu succes și în tratamentul intoxicațiilor cu arsenic, mercur sau aur [3, 8].

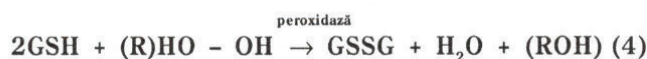
### Seleniul și glutation peroxidaza

Deși parțial cunoscut, rolul biochimic al seleniului (Se) este deosebit de interesant: necesar organismului în concentrații 0,04-0,1 ppm și toxic peste 4 ppm. În timp ce la om, toxicitatea Se este extrem de rară, pentru animalele domestice, simptomele clinice ale intoxicației cronice (pierderea în apetit și greutate sau păr) sunt destul de răspândite, în anumite regiuni geografice. Dacă doza letală variază în funcție de natura combinației chimice (4-120 mg/kg), planta *Astragalus* poate cumula peste 1000 ppm.

Încă nu se poate explica satisfăcător mecanismul prin care Se protejează organismele contra intoxicației cu Cd, Hg, Pb, Tl, deoarece concentrația acestora în țesuturi nu este micșorată, ba chiar crescută [17,18]. În plus, Se oferă un rol protector în intoxicații cu paraquat și benzen. Dar cel mai greu de explicat este relația inversă dintre conținutul în Se al solului din unele zone geografice și frecvența cancerului, infarctului de miocard și bolilor coronariene (ex. Noua Zeelandă). Numeroasele lucrări în acest domeniu au demonstrat doar că adaosul de Se crește conținutul în HDL și a activității GSH peroxidazei în sânge [10, 19].

În cazul intoxicațiilor cu metalele menționate, se pare că Se modifică natura legăturilor acestor metale cu proteinele tisulare, favorizând scăderea lor intracelulară și creșterea lor în sânge, de unde pot fi eliminate. În organism, Se este metabolizat în dimetil și trimetil seleniuri și poate selenometionină. De asemenea, Se se combină ușor cu grupările SH ale GSH și ale proteinelor. Prin formarea GSH peroxidazei (E.C.1.11.1.9.), legarea Se de proteine îi conferă o nouă calitate, aceea de a cataliza descompunerea peroxizilor de către GSH. Această enzimă cu o masă moleculară între 80 000-90 000 este compusă din 4 subunități legate prin 4 atomi de Se.

GSH peroxidaza însă poate avea aceleași proprietăți și fără includerea Se în moleculă, această variantă posedând și activități de GSH-transferază. Oricum, GSH peroxidazele reduc o gamă largă de peroxizi provenind de la AGPN, steroizi (colesterol, progesteronă), acizi nucleici (timină-OOH), prostaglandine (PGG<sub>2</sub>) și peroxid de hidrogen. Implicarea sigură a GSH peroxidazei în apărarea nespecifică a organismului are loc atât prin neutralizarea peroxizilor, conform reacției (4), dar mai ales, ajutând catalaza în acțiunea de descompunere a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Deși catalaza este o enzimă extrem de eficientă,



cu excepția hematiei, aceasta are o distribuție intracelulară diferită de cea a GSH peroxidazei. Implicarea Se în protecția față de cancerogeneza chimică se datorează GSH peroxidazei, de aceea în plămâni fumătorilor, conținutul de GSH peroxidază este cu 40% mai mare față de nefumători indicând un fenomen adaptativ protector [3, 8].

### Acidul ascorbic

Controversele despre utilizarea terapeutică a vitaminei C persistă nu numai în natura bolilor indicate, dar mai ales în cantitatea prescrisă, adepții entuziaști recomandând chiar și 2 g zilnic. Aceste controverse se păstrează și în acțiunea detoxifiantă, antioxidantă și imunologică a acestei vitamine, mai ales că și la nivel molecular implicarea ei este încă insuficient cunoscută.

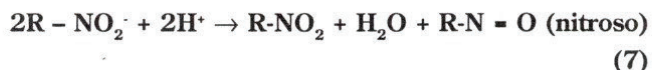
În organism, acidul ascorbic se găsește în echilibru cu acidul dehidroascorbic (DHA), predominând forma redusă, ascorbatul (AH). Or, ascorbatul reacționează ușor cu superoxidul, O<sub>2</sub><sup>-</sup>, cu o constantă de viteză de 2·10<sup>6</sup> moli s<sup>-1</sup> cu formare de radical ascorbat, A<sup>·</sup>.



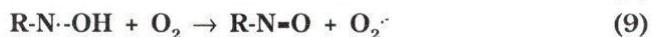
Reacția este inhibată de SOD. Pe de altă parte, sunt numeroase dovezi care atestă implicarea vitaminei C în biotransformarea substanțelor xenobiotice. În cazul multor substanțe (paraquat), ascorbatul oferă o protecție evidentă. În schimb, substanțele electrofile, în special nitroderivați (nitrofurani, cancerigenii nitrochinolinici) catalizează reacția (6), cu formarea unui radical semichinonic:



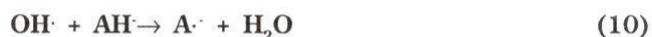
Acest radical, R-NO<sub>2</sub><sup>·</sup> va reacționa rapid ( $k = 10^8$  moli/l, s<sup>-1</sup>) cu altă moleculă identică



(7) sau cu formare de radical hidroxilaminic R-N·-OH (8), ori cu O<sub>2</sub> refăcând radicalul superoxid (9)



În concluzie, în funcție de concentrația sa locală și de prezența unor substanțe electrofile, acidul ascorbic va fi antrenat în reacțiile menționate mai sus. Așa se explică de ce ascorbatul în concentrații mici este pro-oxidant, favorizând peroxidarea (predomină reacțiile 10 și 11) [4, 14 18]. Efectul antioxidant al vitaminei C devine evident la concentrații mai mari, concluzie valabilă și la scara întregului organism. Pe lângă blocarea peroxidării, ascorbatul poate neutraliza radicali liberi, mai ales OH·.



În acest sens, ascorbatul pare a fi singurul inhibitor natural al acestuia



Refacerea ascorbatului, parțială, pare a fi asigurată în special prin reducere cu GSH printr-un sistem încă puțin studiat.

Încă nu se cunoaște semnificația corelației pozitive dintre semnalul RES al plasmei și concentrația ascorbatului sangvin.

### Alți antioxidanți naturali

**Vitamina E** sau a-tocoferolul este un antioxidant recunoscut, a cărui utilizare clinică crește în continuare. Marele avantaj al acestui antioxidant este marea sa liposolubilitate și capacitatea de a bloca toate fazele procesului de peroxidare. Penetrabilitatea tocoferolului în celulă se face printr-un receptor pentru lipoproteine de mică densitate (LDL). Dacă GSH este principalul AO neenzimatic hidrosolubil, vitamina E trebuie admisă ca cel mai important AO liposolubil, al cărui rol de bază este păstrarea integrității membranelor

După cum s-a arătat recent [11], vitamina E este strâns legată de metabolismul lipidelor și mai ales al AGPN. În acest sens, această vitamină protejează organismul față de acțiunea nocivă a unor substanțe xenobiotice care interferă cu lipidele, exemplu insecticide, unele hidrocarburi cancerigene. Datorită liposolubilității, vitamina E străbate bariera sânge-creier crescând nivelul slab în antioxidanți al creierului [5]. Controversată rămâne utilizarea terapeutică a vitaminei E datorită rezultatelor foarte variabile [7] Vitamina E reglează fluxul biliar, micșorând colesterolul și previne formarea calculilor.

**Ceruloplasmina** (feroxidaza, E.C.1.16.3.1.) este o proteină transportoare de Cu (8 atomi/moleculă) și principala oxidază plasmatică. Poate oxida o gamă largă de compuși naturali (catecolamine, Fe<sup>2+</sup>, tirozină) și sintetici (fenilendiamine, fenotiazine, difenilamine, aminofenoli) [6, 17, 20]. Pe lângă acțiunea detoxifiantă sangvină, ceruloplasmina are activitate dismutazică (mai mică decât SOD), inhibă peroxidarea AGPN (demonstrată *in vitro*) și acționează imunologic. Activitatea ceruloplasminei plasmatică crește

nespecific în unele boli (reumatism, infecții, cancer) și în intoxicații. Agenții hepatotoxici (CCl<sub>4</sub>) determină o scădere a nivelului sanguin [17] al ceruloplasminei [17, 11].

**Acidul uric** este ultimul antioxidant descoperit în organism. Recent [1], s-a descoperit că acidul uric nu este numai un produs de degradare al purinelor, dar inhibă peroxidarea AGPN, stinge <sup>1</sup>O<sub>2</sub>, protejând *in vitro* acizii nucleici, hematii, acidul hialuronic de acțiunea oxidantă a radicalilor O<sub>2</sub>·. În plus, acidul uric activează sinteza prostaglandinelor.

În salivă acidul uric este antioxidantul major, fiind secondat de albumină și acidul ascorbic. Albumina este principalul antioxidant din sânge, acidul uric și acidul ascorbic având un rol secundar [1, 15].

**Bilirubina** poate juca un rol dublu, prooxidant-AO, [10, 12] în funcție de mediu și concentrație. Capacitatea AO a bilirubinei este mai mare când aceasta este legată de albumină, forma majoră de transport, acționând ca scavenger de RL.

**Albumina** poate fi de asemenea inclusă printre AO atât prin capacitatea ei de a stinge formarea oxigenului singlet dar mai ales prin complexarea unor metale (Fe, Cu) sau legarea bilirubinei. Aportul de AO al albuminei este demonstrat de amplificarea stresului oxidativ în insuficiențele hepatice [10, 13].

**Carotenii** și vitamina A au efecte puternic antioxidante prin blocarea peroxidării și captarea oxigenului singlet. Mai cunoscute deși controversate, sunt valențele lor anticancerigene [9]. Ca sisteme antioxidante, activează și alți compuși: propolisul, flavonoizii, acidul fitic și polifenolii (din alimente), medicamente (aspirina, indometacin, diclofenac, alopurinol, etc.) sau alți compuși al căror rol principal este cu totul altul (glucoza, carnozina, taurina, estrogenii).

Existența atâtor antioxidanți naturali, enzimatici și neenzimatici, a căror acțiune de multe ori se suprapune, demonstrează evident necesitatea prezenței lor în toate celulele organismului. Aportul antioxidanților din alimentație (vitamine, carotenii) va mări apărarea nespecifică.

Strategia acțiunii AO constă în sacrificiul acestor substanțe pentru protejarea unor molecule de importanță biologică (AND, enzime, AGPN). AO constituie deci prima țintă în calea RL, fiind oxidați sau transformați în alți RL mai puțin nocivi. Reiese de aici importanța vitală a regenerării AO sau a aportului de AO.

### BIBLIOGRAFIE

1. Ames B. N., R. Cathcart, E. Schwiers, p. Hochstein, Acid uric provides an antioxidant defence in humans against oxidant and radical caused aging and cancer: a hypothesis, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.*, (1991), 81, 5633
2. Aust S. D., *J. Biol. Chem.*, (1987), 262, 1098
3. Chasseau L. F., în *Glutathione Metabolism and Function*, edit. I. M. Arias, W. B. Jakoby, Raven Press, New York, (1978), cap.3
4. Crocnan, D., R. Olinescu, Gr. Turcu, The protective effect of ascorbate on human plasma during UV photolysis, *Romanian. J. Biophys.*, (1996), 3 - 4, 71-80
5. Divarkaran P., *Metab. Brain. Dis.*, (1987), 2, 1
6. Ford M. G., N. N. Haloman, *Combating Resistance to Xenobiotics*, VCH London, (1987)
7. Frei B., R. Stocker, L. England, B. N. Ames, Ascorbate: the most effective antioxidant in human blood plasma, *Adv. In Experim. Med. and Biol.*, (1990), 264, 155.,

*Handbook of the Toxicology of Metals*, Elsevier, New York, (1986)

8. Greabu Maria, Niculina Mitrea, Fraga Paveliu, Glutathionul – funcții și conexiuni metabolice, *Farmacologia*, (1998), 5, 73

9. Greabu Maria, Niculina Mitrea, Actualități privind metabolismul carotenoizilor, *Farmacologia*, (1997), 9, 95

10. Greabu Maria, R. Olinescu, Fraga Paveliu, Studiu comparativ al peroxidizilor și al unor componente ale antioxidantilor din plasmă în insuficiența hepatică, *St. Cerc. Biochim.*, (1997), 40, 1-2, 3-7

11. Halliwell, B., How to characterise a biological antioxidant, *Free Rad. Res. Commun.*, (1990), 9, 1

12. Halliwell, B., Vitamin C; antioxidant or pro-oxidant in vivo?, *Free Rad. Res.*, (1996), 25, 439 – 448

13. Halliwell, B., Albumin – an important extracellular antioxidant? *Biochem. Pharmacol.*, (1988), 37, 569

14. Herbaczynska H., M. Wartonowicz, W. Wasek, Inhibitory effect of vitamin C and E on the oxygen radicals production in human polymorphonuclear leukocytes, *Europ. J. Clin. Invest.*, (1994), 24, 316 - 319

15. Moore S. K. A. C. Calder, N. J. Miller, C. A. Rice-Evans, Antioxidant activity of saliva and periodontal disease, *Free Rad. Res.*, (1994), 21, 6, 417.,

16. Liu, L., C. Dahlgren, H. Elwing, M. Lindquist, A simple chemiluminescent assay for the determination of reactive oxygen species in human neutrophils, *J. Immunol Methods*, (1996), 192, 173 – 179

17. Olinescu R., Vitamine, minerale și antioxidanți pentru sănătatea noastră, Ed. Infomedica, București, (1998),

p. 60

18. Olinescu R., *Peroxidarea în chimie, biologie și medicină*, Editura științifică, București, (1982), pp 137 - 188

19. Olinescu, R., Maria Greabu, Chemiluminescence and Bioluminescence (Roumanian), Ed. Tehnica, Bucharest, (1987), pp 187 - 194

20. Olinescu, R., D. Radu, V. Constantinescu, Comparative study of the phagocytic activity of leukocytes in patients with pneumoconioses and lung cancer, *Rev. Roum. Med. Int.*, (1992), 30, 45 - 52

21. Olinescu, R., Stela Niță, D. Săvoiu, On the significance of chemiluminescence induced by the blood polymorphonuclear leukocytes. Normal values, *Rev. Roum. Med. Int.*, (1993), 31, 109 - 118

22. Pronai, L., J. Ichikawa, K. Ichimori, S. Arimori, Association of enhanced superoxide generation by neutrophils from peripheral blood joint fluid and their leukocyte components in rheumatoid arthritis, *Clin. Experim. Rheumatol.*, (1991), 9, 149 - 155

23. Reiter, R. J., D. X. Tan, B. Poeggeler, Melatonin as free radicals scavenger: implications for aging and age - related diseases, *Annals New York Acad. Sci. U.S.*, (1993), 680, 575 – 584

24. Weglarz, L., M. Drodz, M. Goss, Effect of antiinflammatory drugs on the activity of antioxidative enzymes and in vivo peroxidation products in the liver and kidney of rat, *Comp. Biochem. Physiol.*, (1990), 96C, 83 - 86

25. Wright A. S., în *Developments in Science and Practice of Toxicology*, ed. A.W.Hayes, R.C.Schenell, Elsevier, London, 1983, p.311