

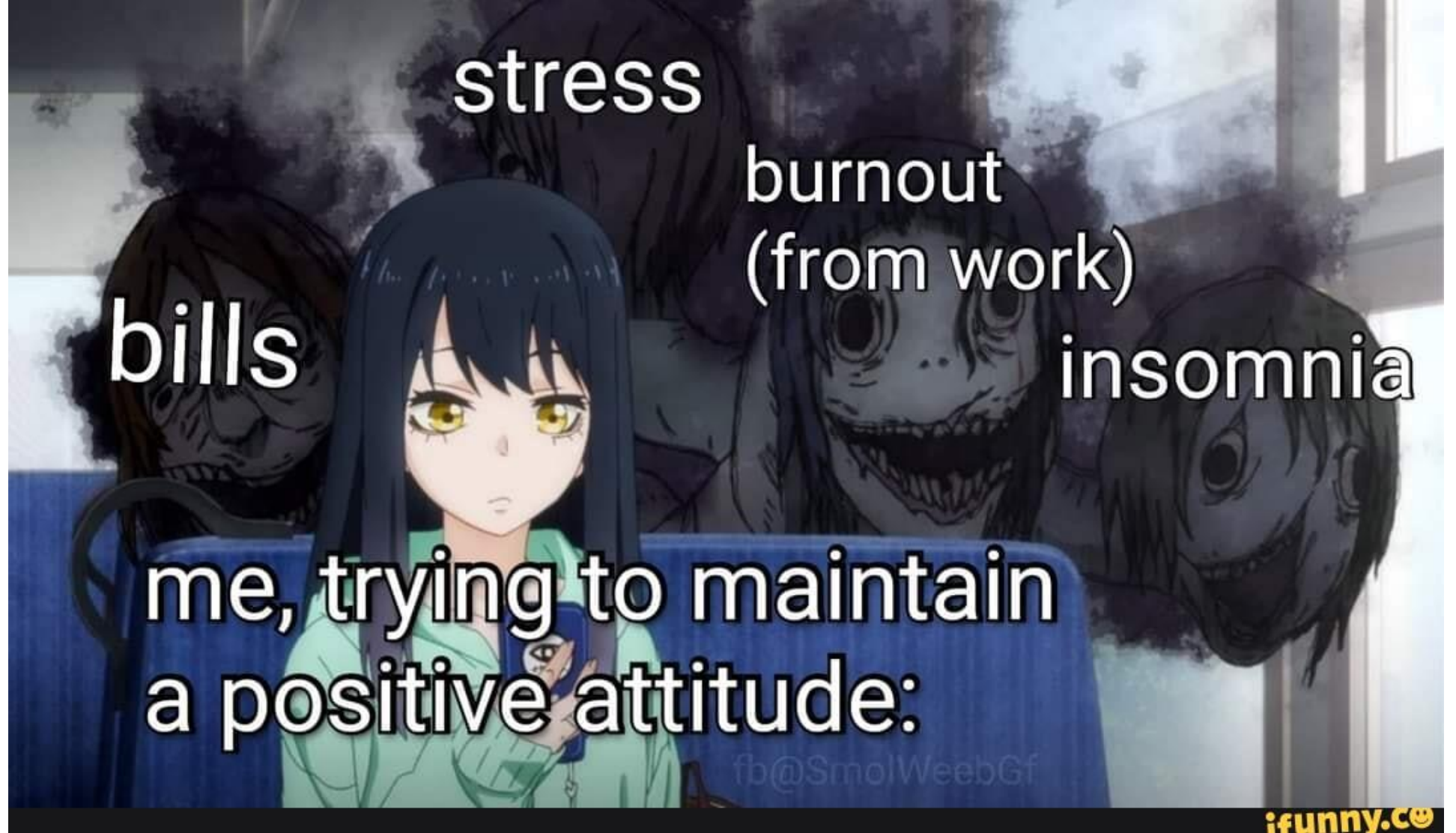
STRES

VŠEOBECNÝ ADAPTAČNÝ SYNDRÓM, ALOSTÁZA, BUNKOVÝ STRES

MUDR. MAREK BRENIŠIN, PHD.

ÚSTAV PATOLOGICKEJ FYZIOLOGIE LF UPJŠ

2024/2025



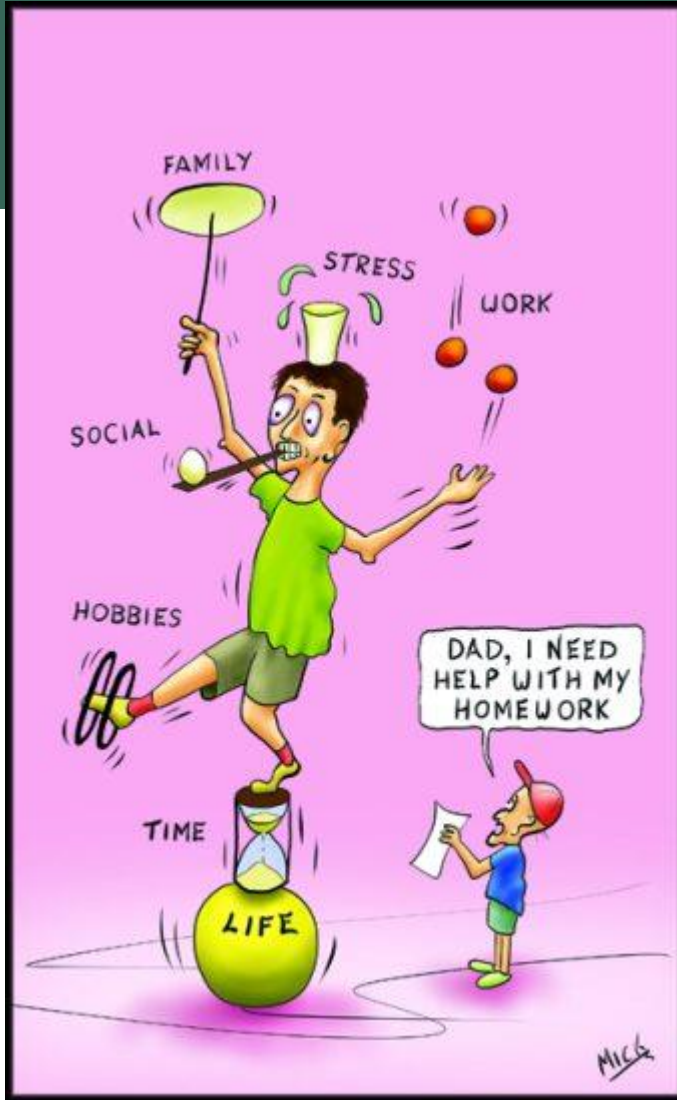
DISCLAIMER – „FAIR USE“

- Táto prezentácia je len na účely vzdelávania študentov medicíny v súlade so sekciou 107 zákona o copyrighte z roku 1976 (Section 107, Copyright Act of 1976: Allowance is made for “fair use” for purposes such as criticism, comment, news reporting, teaching, scholarship, education, and research).
Fair use is a use permitted by copyright statute that might otherwise be infringing.
All rights and credit go directly to its rightful owners. No copyright infringement is intended.) a autorským zákonom 185/2015 Z. z.
- Autorské práva sú uznané autorom publikácií a obrázkom použitých v texte
- Zdroje sú pod príslušným obrázkom
- „Fair use“ umožňuje použitie materiálov chránených autorskými právami aj bez získania súhlasu autorov v limitovanom rozsahu a to na účely komentovania, kritiky, správ, výskumu alebo pre pedagogické/akademické účely

STRES – FYZIOLOGICKÉ PROSTREDIE

- Každý organizmus je otvorený systém
- Konštantná interakcia s rôznymi environmentálnymi faktormi
- Impulzy pre alteráciu homeostázy
 - Reakcia organizmu
 - Lokalizovaná
 - Generalizovaná – všeobecný adaptačný syndróm (VAS)
- Stimuly veľkej intenzity môžu vyvolať nešpecifickú obrannú a adaptačnú odpoveď organizmu

STRES



SKLENENÝ MOST V ČÍNE



<https://www.zaujimavysvet.sk/wp-content/uploads/2015/10/most-10.jpeg>

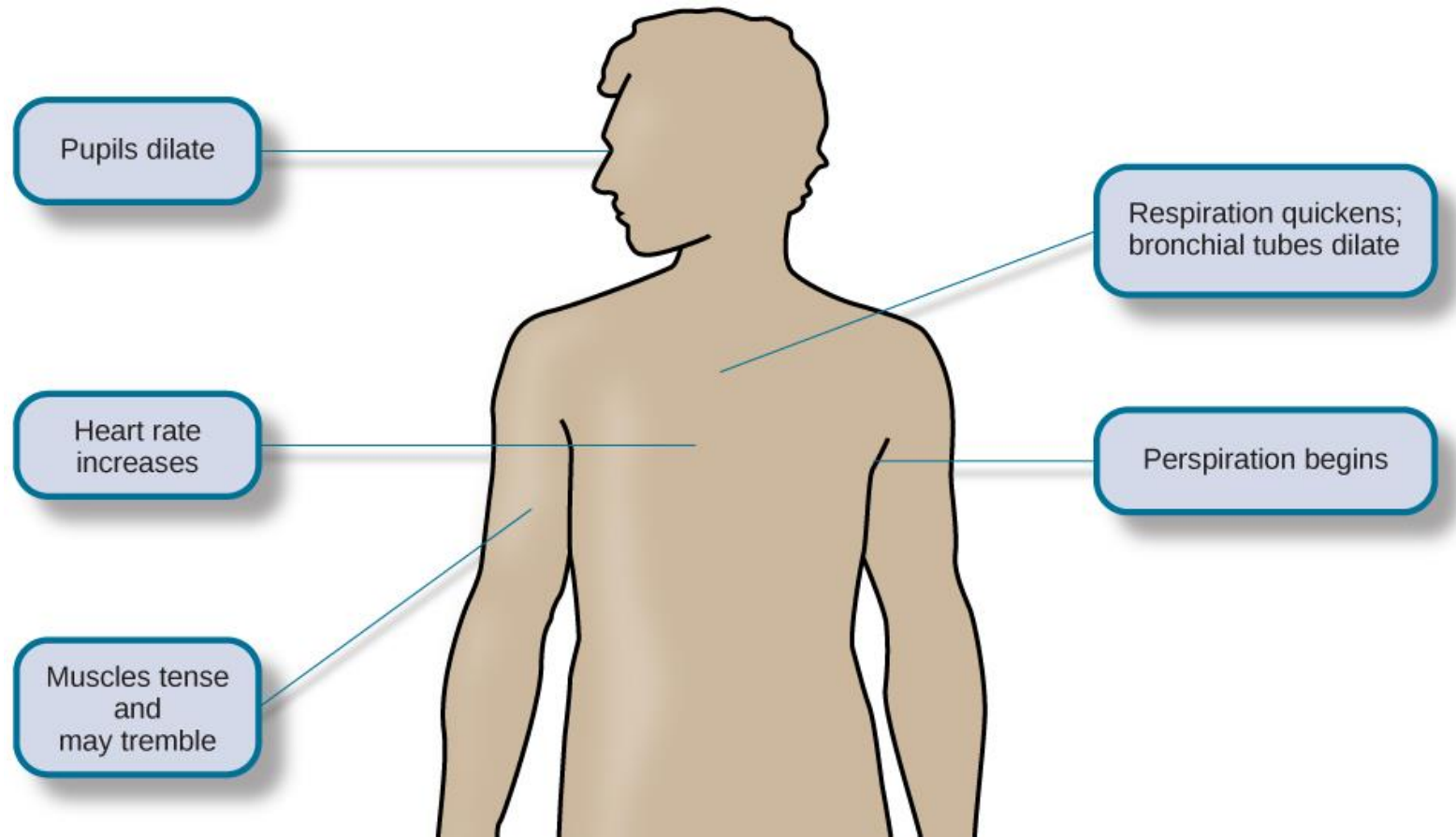
WALTER CANNON A ODPOVEĎ „BOJ-ÚTEK“

- Podľa Cannona (1932) – reakcia, ak osoba čelí silným emóciám alebo hrozbe
- Odpoveď sympatikového NS
 - Dreň nadobličiek -> sekrécia adrenalínu a noradrenalínu
 - Dilatácia zreničiek
 - Tachykardia
 - Tachy- a hyperpnoe
 - Zvýšené svalové napätie
 - „Motýliky v bruchu“
- Podľa Cannona -> mechanizmus podporujúci udržanie homeostázy
- Adaptácia -> nevyhnutná pre prežitie druhov



Walter B. Cannon

https://s3-us-west-2.amazonaws.com/courses-images/wp-content/uploads/sites/2293/2017/08/01/161129/CNX_Psych_14_01_Cannon2.jpg



https://s3-us-west-2.amazonaws.com/courses-images/wp-content/uploads/sites/2293/2017/08/01/161133/CNX_Psych_14_01_Fightflight.jpg

VŠEOBECNÝ ADAPTAČNÝ SYNDRÓM (VAS)

- Nešpecifická stereotypný obranná odpoveď organizmu
- Spúšťač -> stresor
 - Fyzikálne, chemické, biologické, psychické, etc.
 - Situácie/scenáre nepriaznivé pre organizmus
- Vždy rovnaký priebeh
- Neuroendokrinná regulácia
 - Synergia nervového a endokrinného systému
 - Potlačenie imunitnej odpovede – preferovaná nešpecifická reakcia
- Ciele
 - Vyriešenie stresovej udalosti
 - Adaptácia alebo vytrvanie (tréning)

VŠEOBECNÝ ADAPTAČNÝ SYNDRÓM (VAS)

- Hans Selye (1936)
 - Pôvodne výskum pohlavných hormónov u potkanov – neúspešne
 - Všímal si negatívne stimuly na potkanoch
 - Extrémny chlad, poranenie pri chirurgických zákrokoch, nadmerná fyzická námaha, šok a p.
 - Pozoroval makroskopické zmeny
 1. Zväčšenie nadobličiek
 2. Zmenšovanie týmusu a lymfatických uzlín
 3. Ulcerácie na žalúdočnej sliznici



Hans Selye

https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/e7/Portrait_Hans_Selye.jpg



Poštová známka z roku 2009 príležitosti konania
2nd Annual World Conference on Stress

https://s3-us-west-2.amazonaws.com/courses-images/wp-content/uploads/sites/2293/2017/08/01161137/CNX_Psych_14_01_Hans.jpg

VAS - FÁZY

1. Štádium alarmu/poplachu

- Okamžitá reakcia na stresor
- Približne zodpovedá Cannonovmu konceptu „boj-útek“
- Odolnosť organizmu mierne znížená
- Ideálne je vyriešenie stresora v tejto fáze

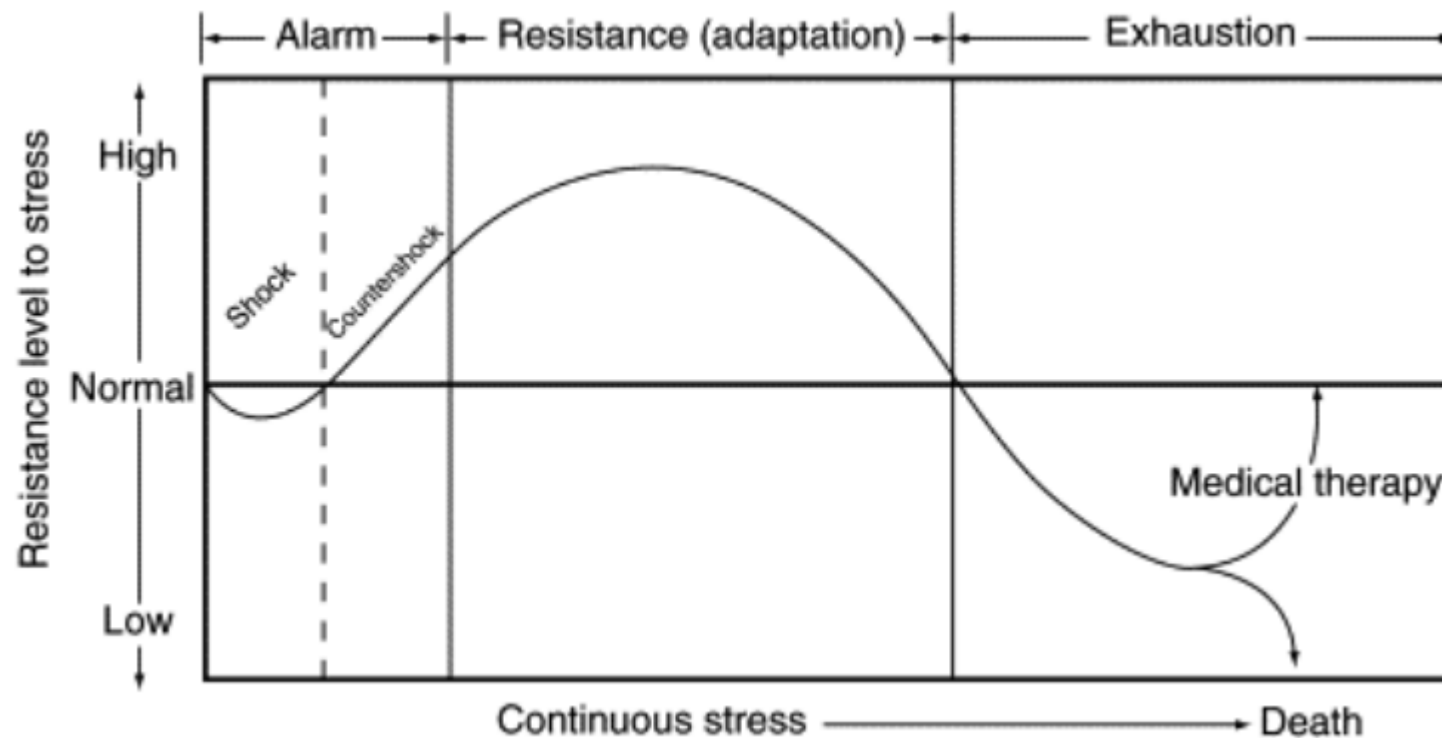
2. Štádium rezistencie

- Prispôsobenie sa stresu
- Zvýšená odolnosť organizmu
 - Zapojenie rezerv a kompenzačných mechanizmov – neutralizácia dopadu stresu

3. Štádium vyčerpania

- Vyčerpanie rezerv/kompenzačných mechanizmov
- „Splatenie dlhu“ – orgány a tkanivá môžu vykazovať známky opotrebovania
- Môže sa rozvinúť ochorenie alebo nastať smrť

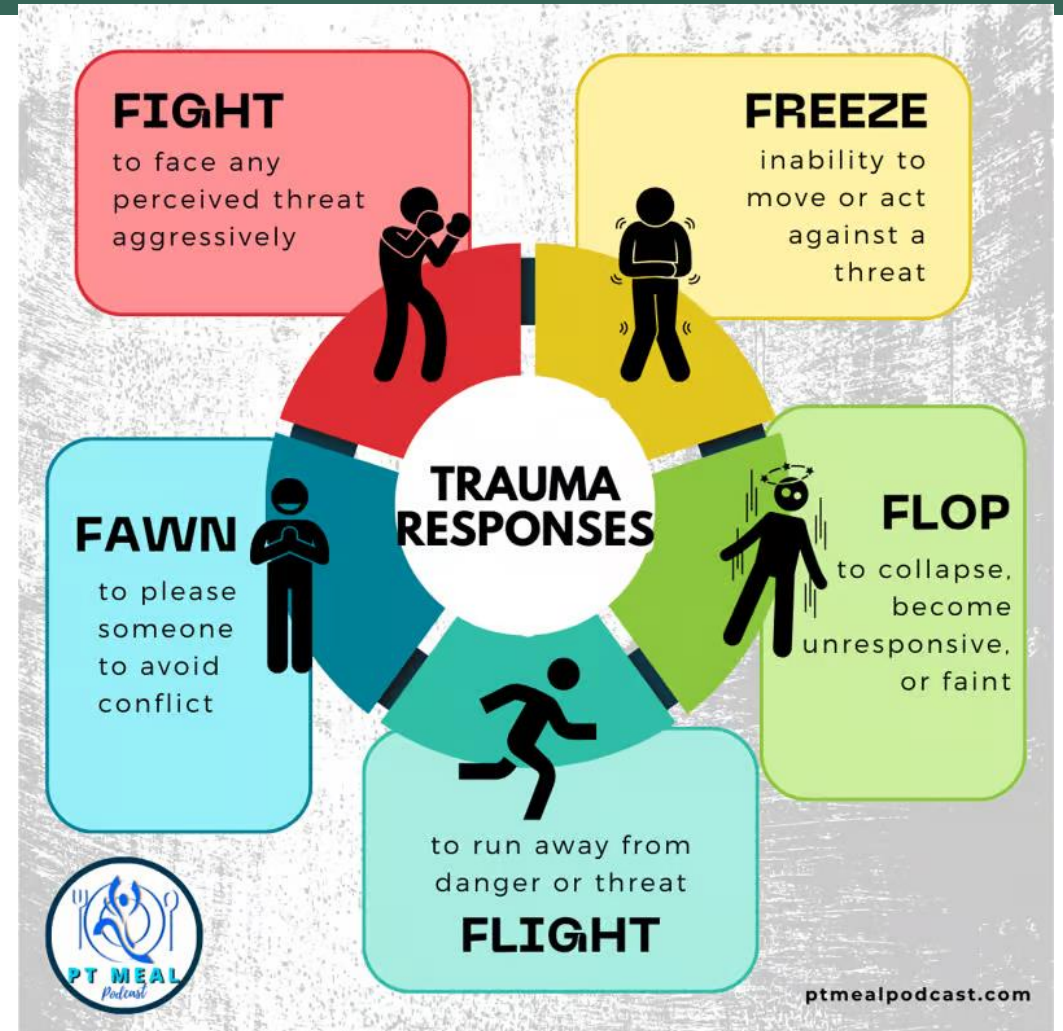
VAS - ŠTÁDIÁ



ODPOVEĎ NA STRES

- Iničiálne – „zmrznutie“, ustrnutie
- Alterácia sa mení medzi „fight-flight-freeze-flop-fawn“
 - Situácia
 - Vzory správania
 - Stav tela
 - Zdroje okolia
 - Energetické zásoby a p.

<https://images-cf.getpodpage.com/cdn-cgi/image/quality=70,fit=contain,format=auto,width=799/https://s3.us-west-1.amazonaws.com/redwood-labs/showpage/uploads/images/1da7411b-b192-4cfa-a2f1-ddd6500bd57c.png>



ALTERÁCIA KONCEPTU STRESOVEJ ODPOVEDE – 5 F

- „Flop“
 - „Vypnutie“ tela v odpovedi na stres
 - Osoba nereaguje fyzicky/mentálne
 - Napr. zvieratá „predstierajú smrť“, obeť znásilnenia
- „Fawn“
 - Ústretové správanie v snahe upokojiť/uprosiť agresora
 - Cieľ – vyhnúť sa konfliktu, dosiahnuť pocit bezpečia
 - Často prehliadaný!
 - Napr. Štokholmský syndróm

REGULAČNÉ MECHANIZMY – INICIÁLNA ODPOVEĎ

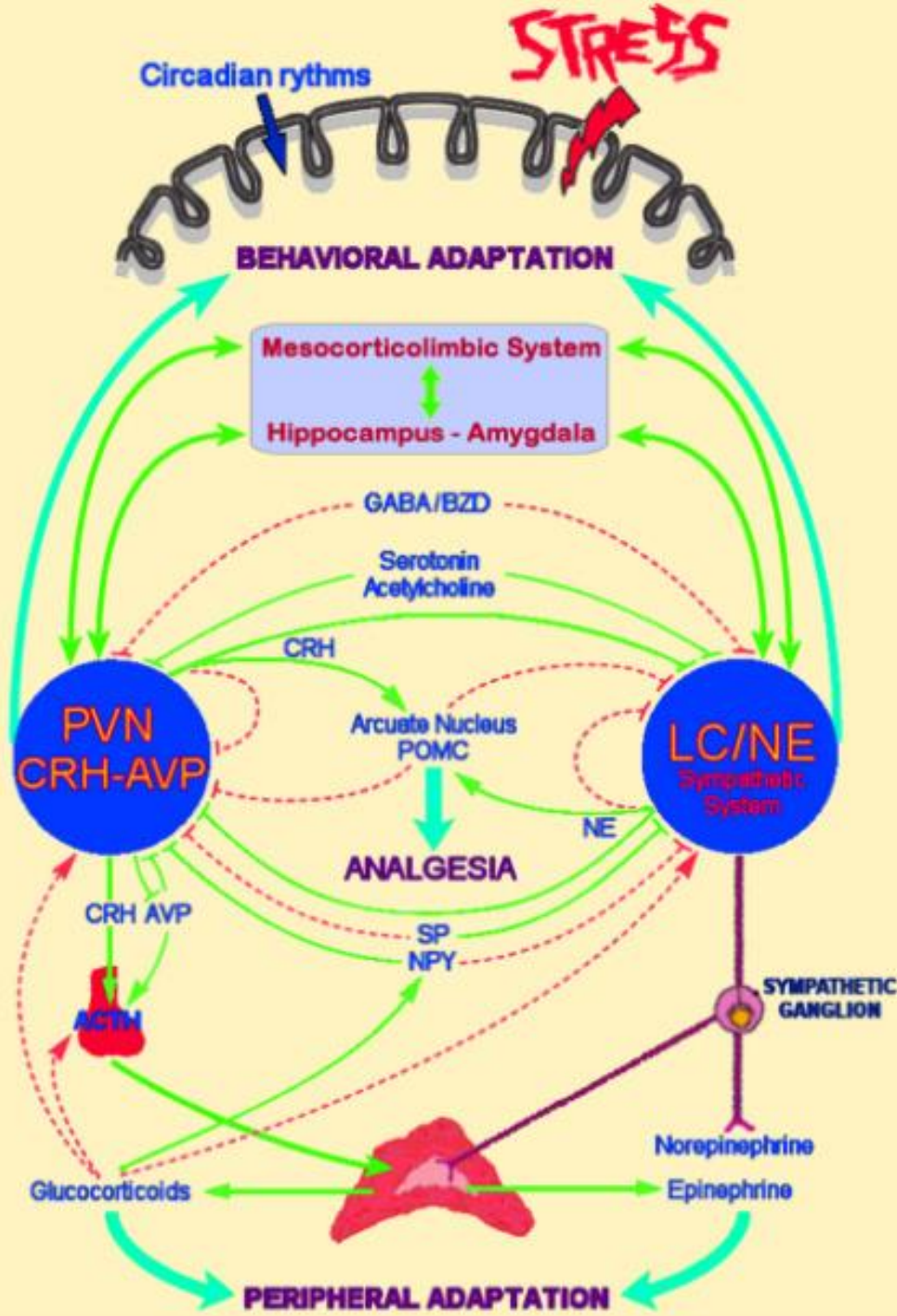
- Periférne impulzy prenesené do
 - Mozgovej kôry
 - Hypotalamu
 - Sympatikového nervového systému
- Hypotalamus ako hlavná štruktúra pre iniciáciu stresovej odpovede
- Zapojenie centrálnych štruktúr
 - Hypotalamus – ncl. paraventricularis
 - Predĺžená miecha – ncll. paragigantocellulares a parabrachiales
 - Locus coeruleus
- Periférne elementy
 - Sympatoadrenálna os (SAA)
 - Os hypotalamus-hypofýza-nadobličky (HPA)

REGULAČNÉ MECHANIZMY – CENTRÁLNE ŠTRUKTÚRY

- Klúčové komponenty (hypotalamus)
 - Ncll. paraventricularis
 - CRH neuróny
 - AVP neuróny
 - Loci coerulei
 - Centrálné katecholamínerné neuróny (NE)

REGULAČNÉ MECHANIZMY – CENTRÁLNE ŠTRUKTÚRY

- Mechanizmy a spätné väzby
 - NE stimulujú CRH-R1 receptory na CRH neurónoch
 - CRH neuróny stimulujú α 1-adrenergne receptory na NE neurónoch
 - Ultrakrátke inhibičné feedbacky v CRH a NE neurónoch
 - Supresia presynaptických CRH a α 2-receptorov kolaterálnymi vláknami
 - Stimulačná inervácia zo sympatikového a cholínerného systému
 - Inhibícia
 - GABA/BZD (kys. gama-aminomaslová/benzodiazepínový) systém
 - Opioidný systém
 - Glukokortikoidy
 - α 2-adrenoreceptory a opiátové receptory sú separátne, ich efekt mediovaný skrz G-proteíny (Gi podjednotka)



REGULAČNÉ MECHANIZMY – CENTRÁLNE ŠTRUKTÚRY

- Efekt CRH na CRH-receptoroch
 - CRH-R1 – najmä predná hypofýza, neokortex a cerebellum, nadobličky, GIT, koža, ovária, testes
 - CRH-R2 – (nižšia afinita k CRH) – periférne cievy, priečne-pruhované svaly, GIT, srdce, subkortikálne štruktúry mozgu (napr. laterálne septum, amygdala, hypotalamus, mozgový kmeň)
- AVP (vazopresín) – synergický efekt s CRH cez $VI\beta$ receptory - \uparrow sekrécie ACTH
 - Produkcia najmä z ncll. paraventricularis
 - Stimulovaný najmä produkciou grelínu
- Endokanabinoidy inhibujú produkciu ACTH

REGULAČNÉ MECHANIZMY – CENTRÁLNE ŠTRUKTÚRY

- CRH a AVP (PVN) neuróny stimulujú POMC kaskádu v ncl. arcuatus
 - POMC neuróny vysielajú impulzy do CRH a AVP neurónov (PVN), LC/NE neurónov a potláčajú bolesť
 - Stimulácia produkcie β -endorfínov -> Analgézia a modulácia nálady
- Neuropeptid Y (NPY)
 - \uparrow CRH neurónov, \downarrow sympatikového NS
 - Tiež modulácia KVS a metabolizmu -> adaptácia
- Substancia P
 - \downarrow CRH neurónov, \uparrow centrálneho katecholaminergického systému
 - Signifikantná úloha pri chronickom zápale a bolestivých stavoch
- Iné neuropeptidy
 - Rodina peptidov Tyr-MIF-I, teneurín-C-terminálne asociované peptidy (TCAP), oxytocín, cholecystokinín, galanín...

REGULAČNÉ MECHANIZMY – SYMPATOADRENÁLNA OS (SAA)

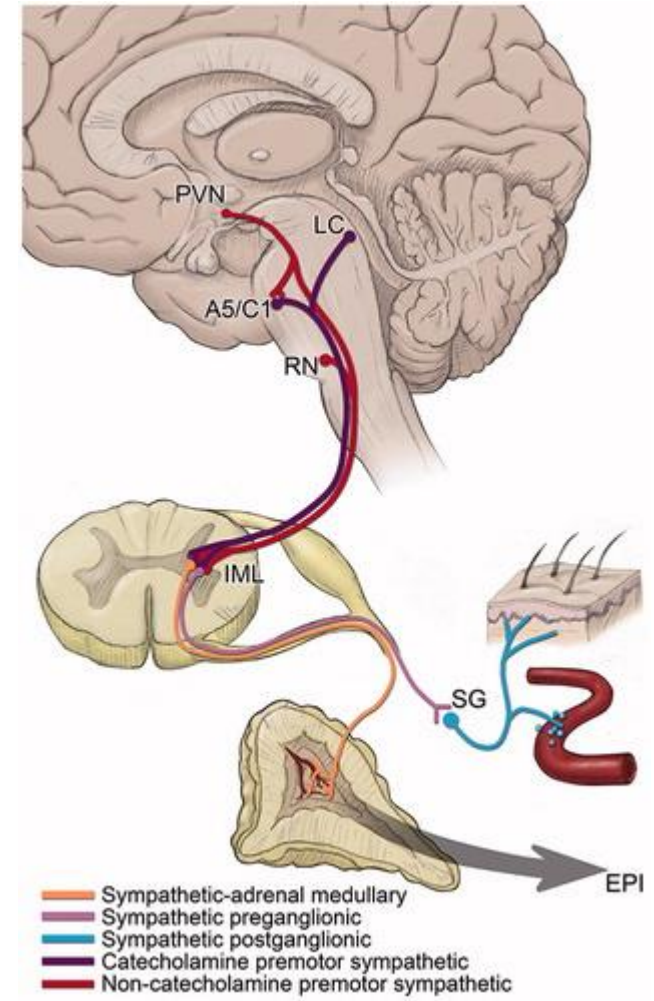
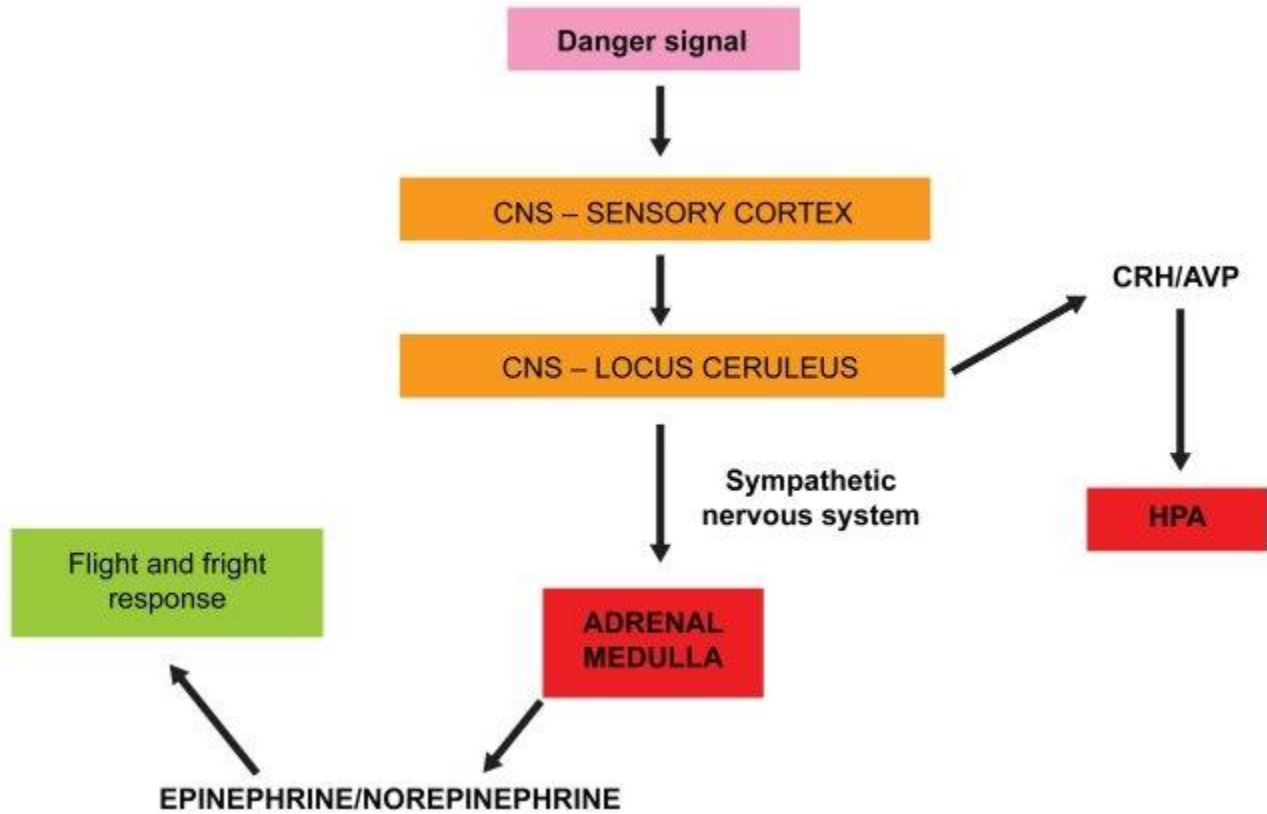
- Fylogeneticky starší systém
- Odpovedá na centrálné impulzy
- Duálna aktivita sympatika (SNS) a parasympatika (PNS)
 - Účinok môže byť synergický alebo antagonistický podľa konkrétneho orgánu/systemu
- SNS
 - Eferentná inervácia (intermediolaterálny stípec miechy)
 - Pregangliový neurotransmitter – acetylcholín
 - Postgangliový – katecholamíny (najmä noradrenalín)
 - Cieľové tkanivá
 - Dreň nadobličiek – uvoľnenie noradrenalínu a adrenalínu

REGULAČNÉ MECHANIZMY – SYMPATOADRENÁLNA OS (SAA)

- Doba účinku
 - Štádium alarmu/poplachu
- Účinky
 - Kardiovaskulárne - ↑frekvencia, ↑sila kontrakcie, ↑tlak krvi, ↑koagulácie
 - Respiračné – hyperpnoe, tachypnoe
 - GIT - ↓motility, ↑sekrécie HCl
 - Endokrinné - ↓inzulínu, ↑glukagónu -> glykogenolýza
 - Muskulo-skeletálne – zvýšenie svalovej sily, rýchlejšie reflexy (ale menej presné)

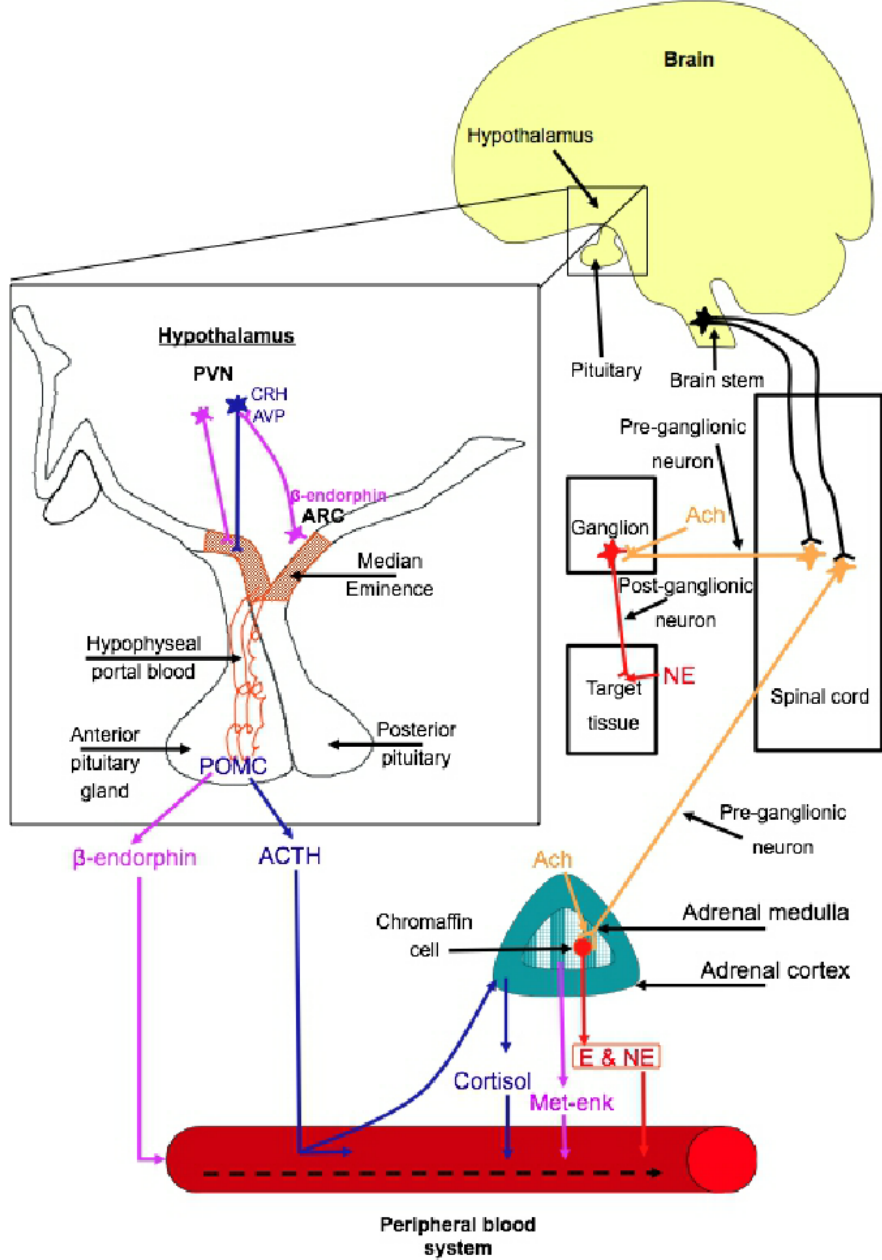
REGULAČNÉ MECHANIZMY – SYMPATOADRENÁLNA OS (SAA)

- Jemné vyladenie osi SAA
 - Niektoré neuróny produkujú neuropeptidy a substancie ako ATP, NO, lipidové mediátory zápalu
 - Noradrenergé vazokonstrikčné neuróny – CRH, NPY, somatostatín, galanín
 - Cholínergné neuróny – vazoaktívny intestinálny peptid (VIP), substancia P, peptid odvodený od génu pre kalcitonín („calcitonin gene-related peptid, CGRP)
 - Preganglionické vlákna a interneuróny
 - Neurotenzín, enkefalín
 - Aferentné vlákna
 - VIP, substancia P

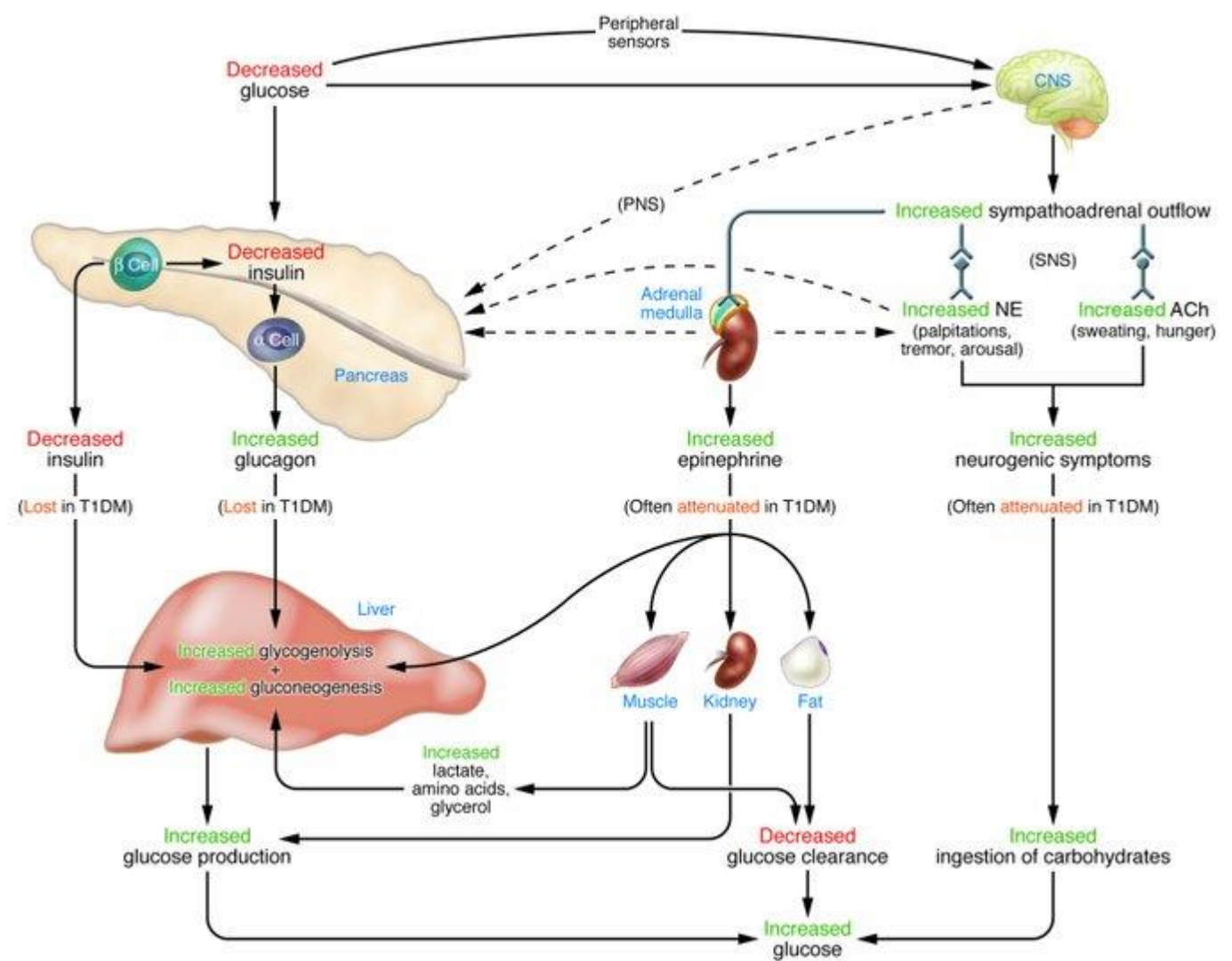


<https://www.researchgate.net/publication/42834085/figure/fig1/AS:202946953388033@1425397732723/Schema-of-sympathetic-adrenalin-medullary-axis-of-stress-response-Abbreviations-CNS.png>

https://www.tandfonline.com/cms/asset/099bd950-717c-432b-8ddc-f19ed03e2b2c/ists_a_1192120_f0003_c.jpg



<https://www.researchgate.net/publication/221923286/figure/fig1/AS:305078843002887@1449747872170/Schematic-diagram-of-the-sympatho-adrenal-medullary-system-hypothalamo-pituitary-adrenal.png>

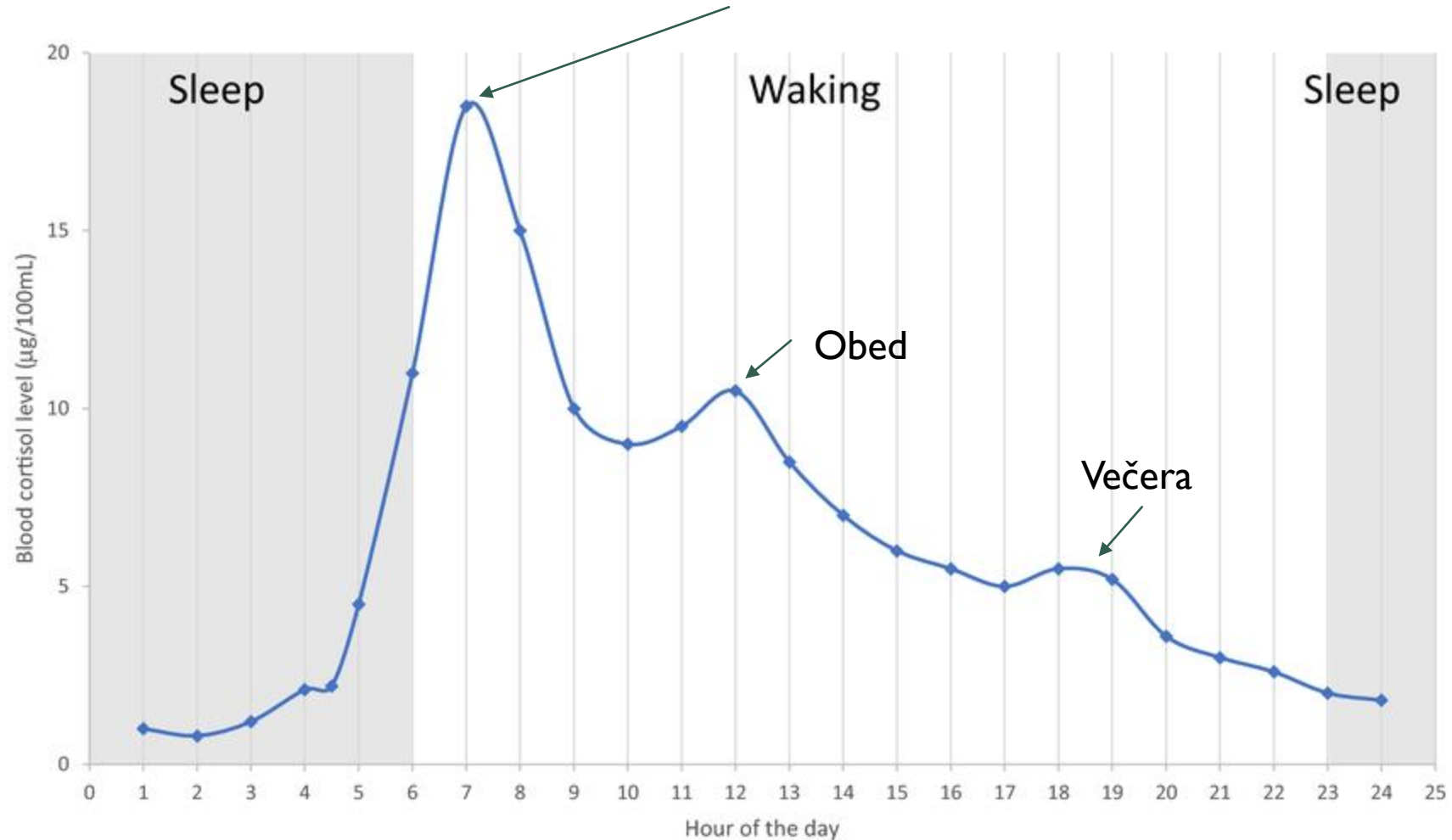


<https://dm5migu4zj3pb.cloudfront.net/manuscripts/28000/28735/medium/JCI0628735.fl.jpg>

REGULAČNÉ MECHANIZMY – OS HYPOTALAMUS-HYPOFÝZA-NADOBLIČKY (HPA)

- Os HPA je nevyhnutná pre adaptáciu pri strese
- Uvoľnenie CRH do hypotalamicko-hypofyzálnej portálnej cirkulácie -> sekrécia ACTH
 - CRH skrz CRH-R1 receptory
 - AVP skrz AVP-V1 a V3 receptory ako synergický efekt
- Počas situácie bez stresu sú CRH a AVP produkované nasledovne
 - Cirkadiánnny rytmus (max. 30 min. po zobudení, minimum počas polnoci)
 - Ultradiánnny rytmus – sekrécia oboch v malých pulzoch (interval 1 – 2 hodiny)
- Regulovaná jedným alebo viacerými pacemakermi CNS (“CLOCK“ systém)
- Vek, BMI, pohlavie môžu podnietiť pulzatilnú sekréciu aj počas noci
 - Možná úloha počas insomnie, spánkového apnoe, psychických zmien?

Odpoď korigzolu na prebudenie („Cortisol awakening response“ (CAR))



Poznámka – „snacking“, svetlo a fyzická aktivita môžu spôsobiť nárast pulzov (ultradiánny rytmus a vplyv na cirkadiánny)

REGULAČNÉ MECHANIZMY – OS HYPOTALAMUS-HYPOFÝZA-NADOBLIČKY (HPA)

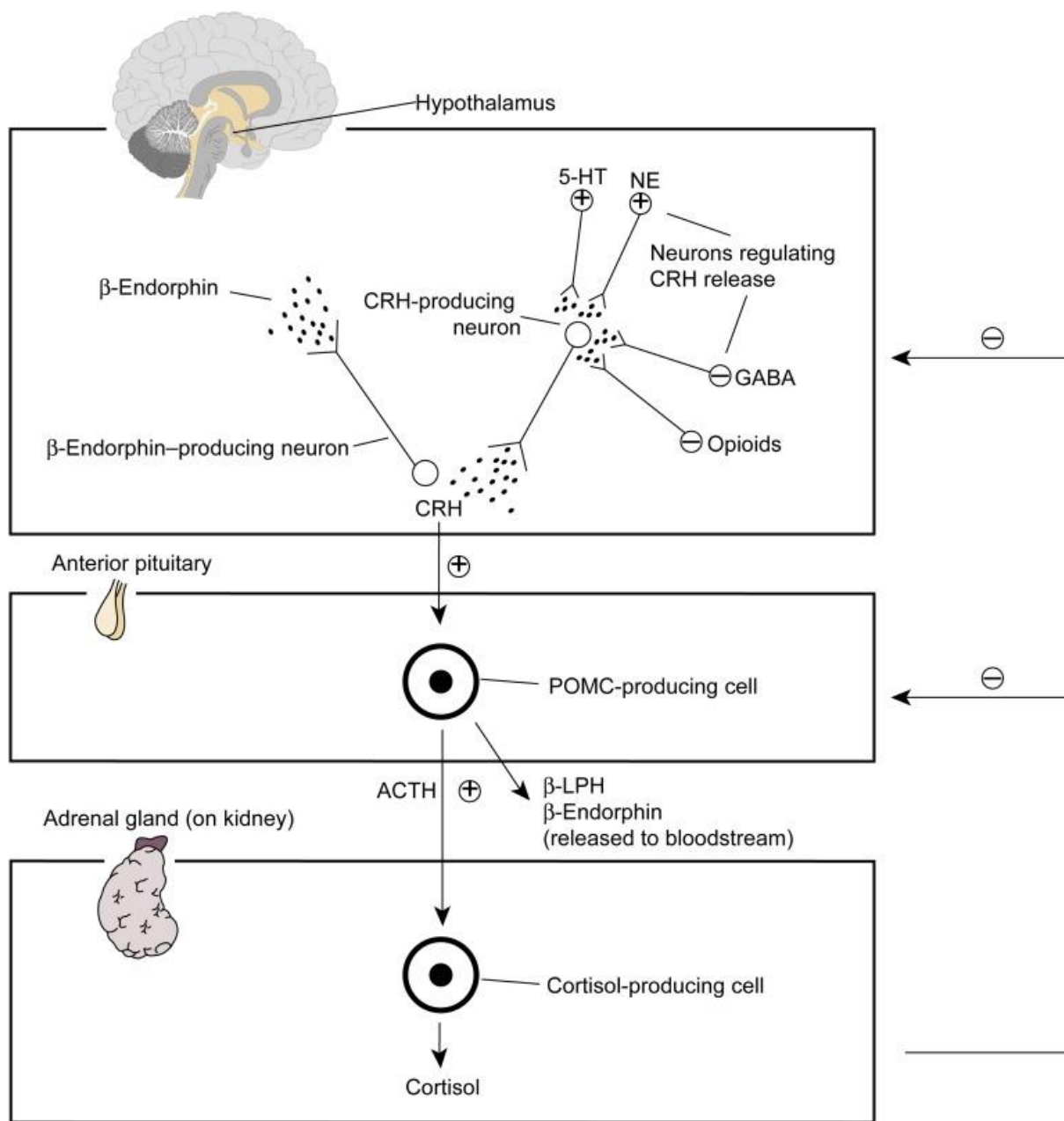
- Počas amplitúdy stresu a synchronizácie CRH a AVP sa zvyšuje frekvencia a intenzita pulzov
 - Angiotenzín II, cytokíny, lipidové zápalové mediátory ako synergisti
 - Nikotín môže aktivovať os HPA cez CRH-R1 (alebo AVP-V(1b) v prípade blokácie CRH-R1)
- ACTH pôsobí na kôru nadobličiek
 - Zóna fasciculata – glukokortikoidy
 - Zóna reticularis – androgény
 - Zóna glomerulosa – mineralokortikoidy (mierny až stredne intenzívny vplyv)
- Kortizol produkovaný nadobličkami je regulovaný aj
 - Cytokínmi (dreň nadobličiek, systémová cirkulácia)
 - Nervovými signálmi (vegetatívny NS)

REGULAČNÉ MECHANIZMY – OS HYPOTALAMUS-HYPOFÝZA-NADOBLIČKY (HPA)

- Glukokortikoidy pôsobia na intracelulárnej úrovni (superrodina nukleárných receptorov -> GR α , GR β)
 - Inaktívna -> hetero-oligoméry s proteínmi tepelného šoku („heat shock proteins“ - HSPs) a imunofylín
 - Aktivácia ligandmi -> uvoľnenie GRs -> homodimerizácia -> nukleárna translokácia -> väzba na glukokortikoidy-responzívne elementy (GRE)
 - Transaktivácia/transrepresia génov
 - Transaktivácia -> nežiaduci efekt glukokortikoidov
 - Transrepresia -> protizápalové účinky (inhibícia kaskád AP-I, NF- κ B, etc.)
 - Posttranslačná regulácia GRs reguluje stabilitu receptorov a nukleárnu translokáciu
 - Fosforylácia, acetylácia, ubikvitinácia, SUMOylácia, etc.

REGULAČNÉ MECHANIZMY – OS HYPOTALAMUS-HYPOFÝZA-NADOBLIČKY (HPA)

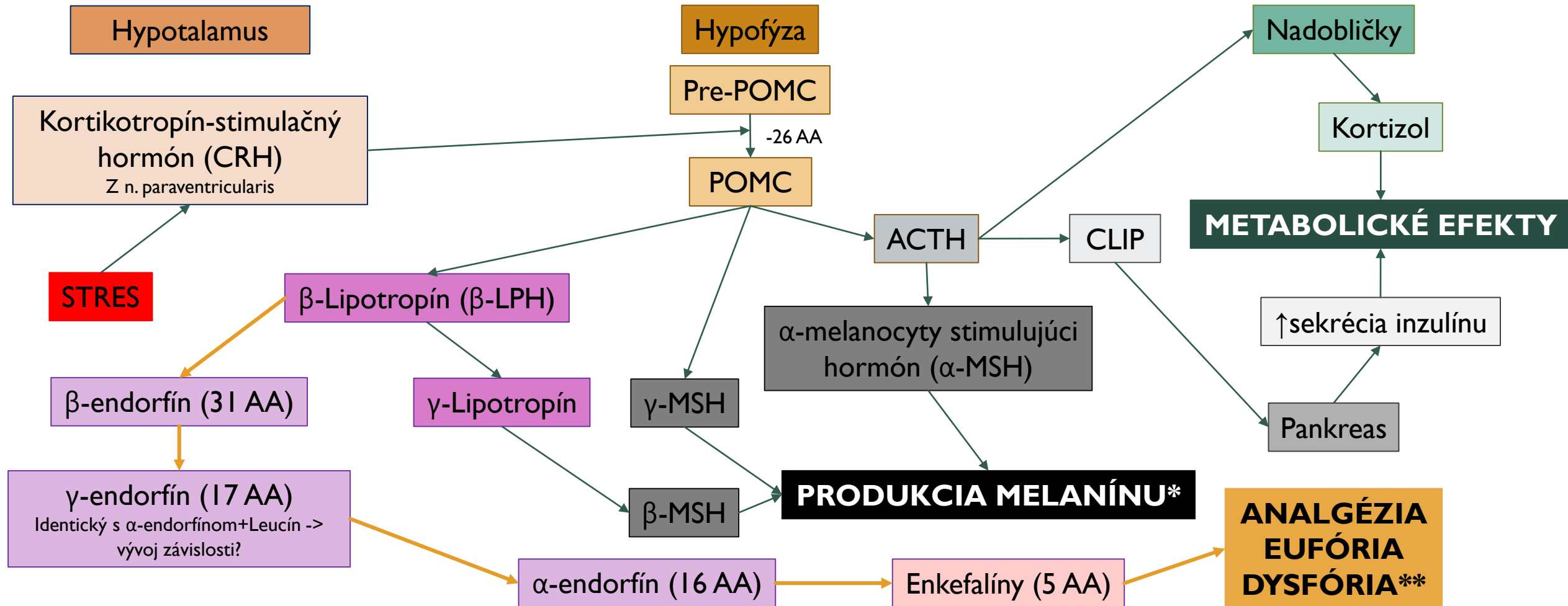
- Iné dôležité efekty GRs
 - Stabilizácia mRNA glukokortikoidy-responzívnych elementov
 - Nervové bunky
 - Miera sekrécie špecifických proteínov (?)
 - Alterácia elektrického potenciálu (?)
 - Non-genómové efekty (?)
 - Mitochondriálne funkcie a energetický metabolizmus
 - $GR\alpha$, $GR\beta$ skrížené reakcie potencujú prežitie bunky
 - Atenuácia osi TRH-TSH
 - ↓ hladiny T3
- Intenzívna ultradiánna sekrécia môže mať nežiaduci účinok na bunky a ich prežívanie!
 - Odhad kumulatívneho poškodenia



Stres môže prekonať negatívne feedbacky

*produkcia melanínu je intenzívnejšia počas kortikálnej insuficiencie, než stresu
**oranžová označuje analgetickú cestu, zapojené sú všetky typy endorfínov

KASKÁDA PROOPIOMELANOKORTÍNU (POMC)



REGULAČNÉ MECHANIZMY – OS HYPOTALAMUS-HYPOFÝZA-NADOBLIČKY (HPA)

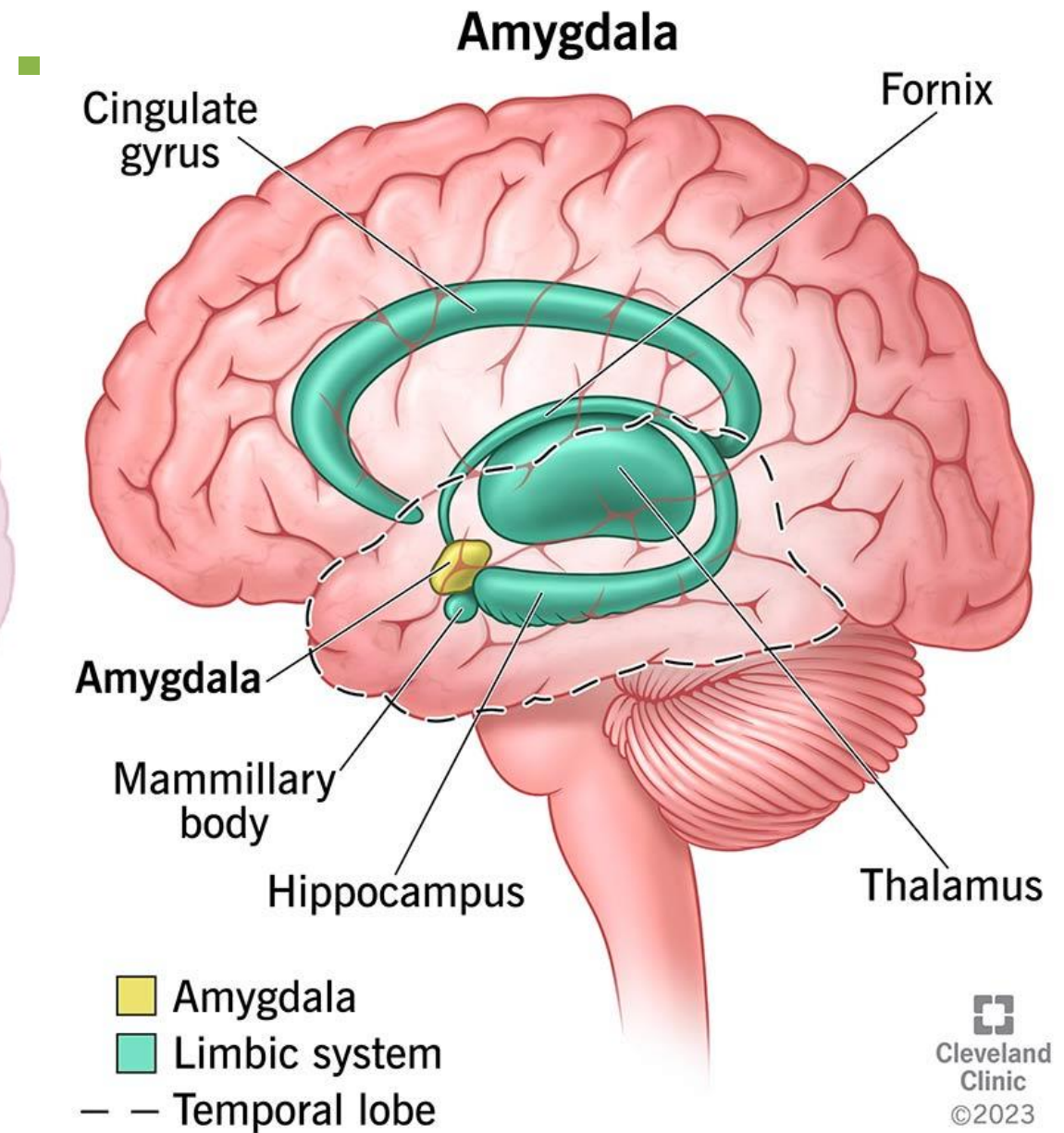
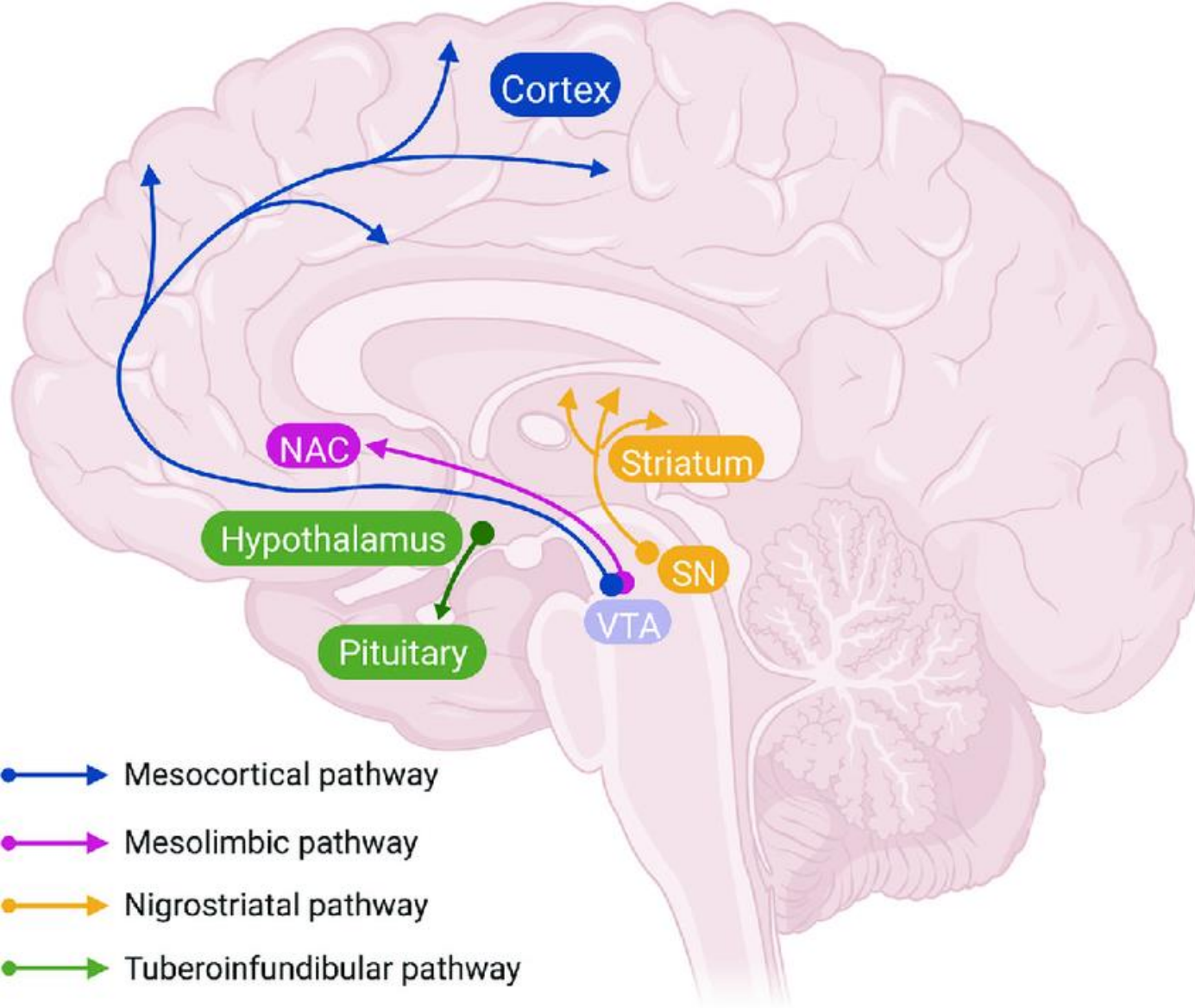
- Glukokortikoidy vykonávajú negatívny feedback aj na úrovni hypofýzy, aj na úrovni hypotalamu
- Systém receptorov glukokortikoidov v CNS
 - Typ I
 - Hlavné receptory pre mineralokortikoidy
 - Nízke dávky glukokortikoidov -> aktivačný efekt
 - Typ II
 - Odpoveď na vysoké dávky glukokortikoidov
 - Aktivácia alebo inhibícia systémov
 - Vykonávajú negatívny feedback kortizolu

REGULÁCIA NÁLADY A SPRÁVANIA POČAS STRESU

- Mezulimbický a mezokortikálny systém
 - Inervácia neurónmi CRH (PVN) a LC/NE neuróny -> aktivácia katecholamínmi a glukokortikoidmi počas stresu
 - Mezokortikálny systém
 - Dopamínerné neuróny (ventrálneho tegmentu,VT) -> frontálny kortex – potlačenie stresu, kognitívna evaluácia, anticipácia
 - Mezulimbický systém
 - Dopamínerné neuróny (VT) -> ncl. accumbens – odmena, motivácia, posilnenie väzby
 - Môže byť cieleňé psychoaktívnymi látkami napr. kokaínom

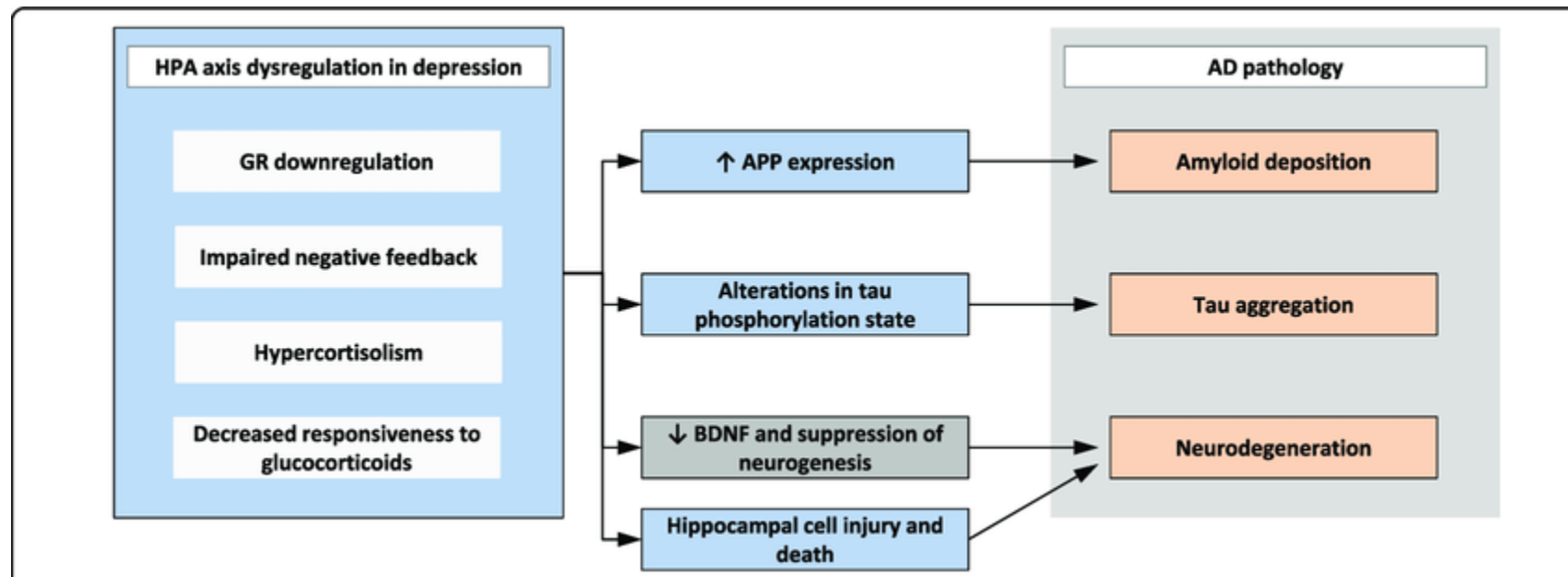
REGULÁCIA NÁLADY A SPRÁVANIA POČAS STRESU

- Amygdala
 - Aktivácia ascendentnými katecholamínernými neurónmi z mozgového kmeňa
 - Správanie spojené so strachom
 - Nevyhnutné pre zotavenie sa a emočná analýza stresorov
 - CRH-peptidergné neuróny odpovedajú na glukokortikoidy
 - Stimulácia systémom stresu a úzkosti
 - Signály posielané do parvocelulárnej oblasti PVN – neuroendokrinné, autonómne a behaviorálne efekty
 - Spojenia amygdaly k stria terminalis a hypotalamu
- Hipokampus
 - Inhibičný efekt na amygdalu a PVN CRH + LC/NE
 - Inhibícia osi HPA a stresovej odpovede
 - Atrofia hipokampu môže viesť k prolongovanej odpovedi a intenzívnejšiemu stresu
- CRH-R1 má rozhodujúcu rolu v týchto procesoch



JE ALZHEIMEROVA CHOROBA OCHORENIE SPOJENÉ SO STRESOM?

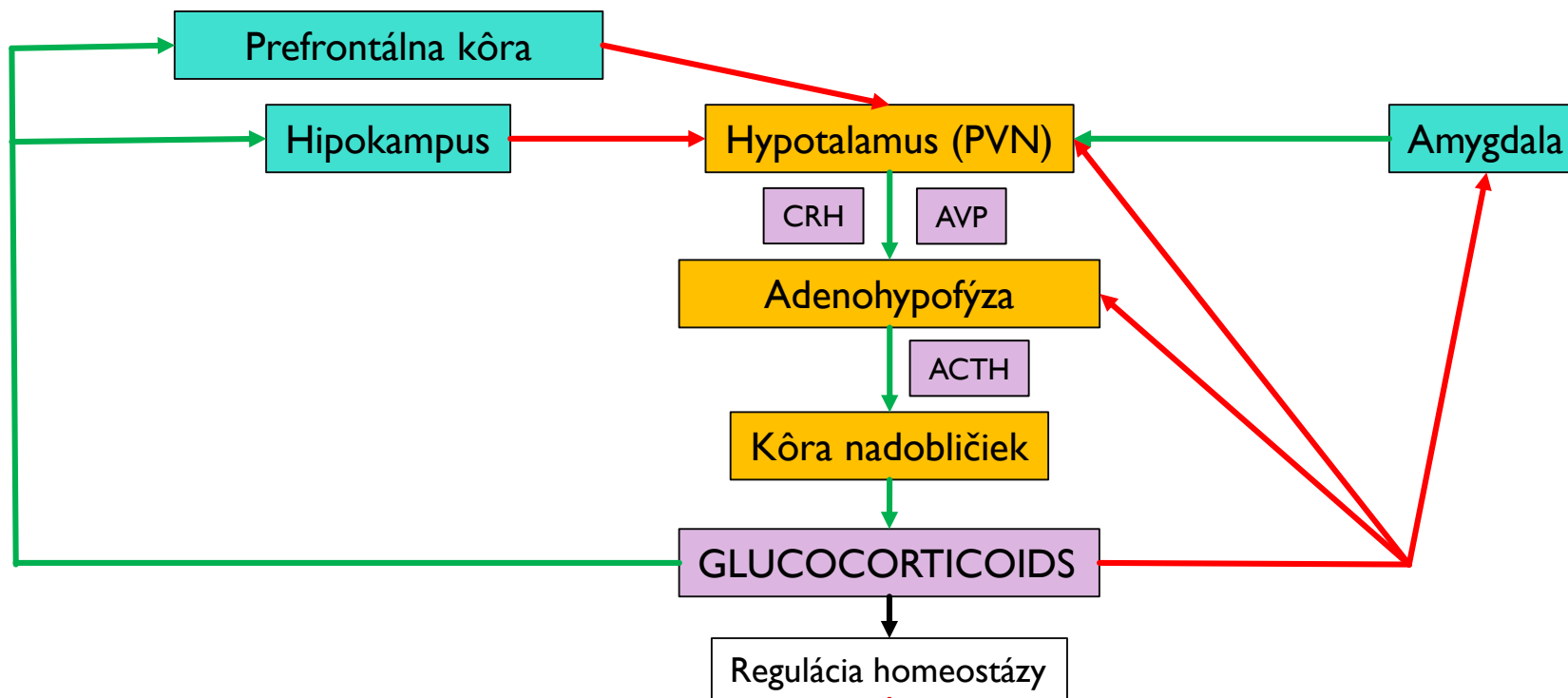
- Limbický systém je negatívne ovplyvnený nadmernou dávkou glukokortikoidov
 - Atrofia a kortikálna atrofia
 - Deficit učenia a pamäte, poruchy emócií, excitotoxicita, neuro-zápal a oxidatívny stres
- Dysregulácia osi HPA pri Alzheimerovej chorobe
 - Upregulácia amyloidogénnej cesty
 - Intenzívna a abnormálna fosforylácia proteínu Tau
- Ustálenie bludného kruhu
 - Progresia AD <-> dysregulácia osi HPA
- Posilnená exocytóza v chromafinných bunkách
 - Katecholamíny, ATP, opiody -> supresia napät'ovo-regulovaných kalciových kanálov a impulzov
 - Ovplyvnenie adreálneho medulárneho systému -> nesprávna odpoveď „fight-or-flight“



*BDNF – neurofický faktor odvodený od mozgového faktora

<https://www.researchgate.net/publication/341520714/figure/fig1/AS:893257953341443@1589980700701/mpact-of-HPA-axis-dysregulation-in-depression-on-AD-pathology-HPA-axis.png>

AKÚTNY STRES

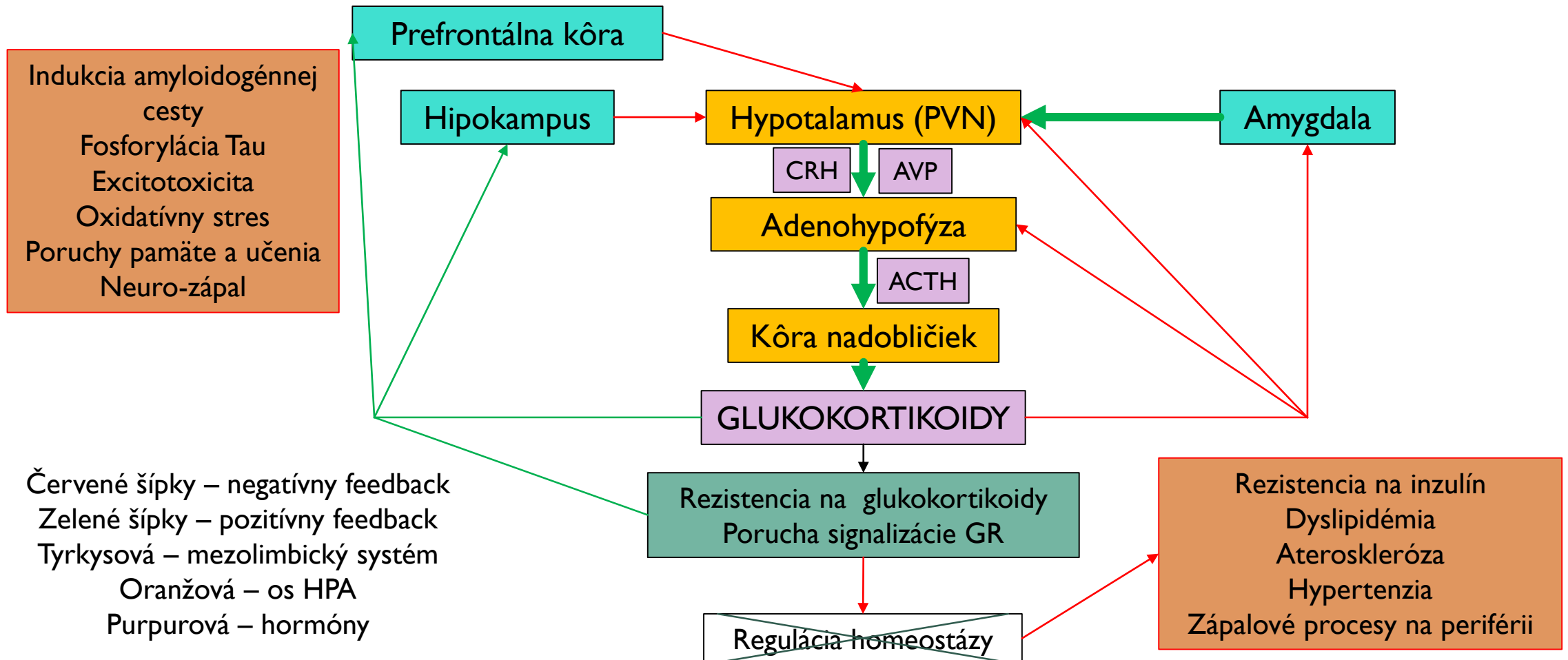


Červené šípky – negatívny feedback
 Zelené šípky – pozitívny feedback
 Tyrkysová – mezolimbický systém
 Oranžová – os HPA
 Purpurová – hormóny

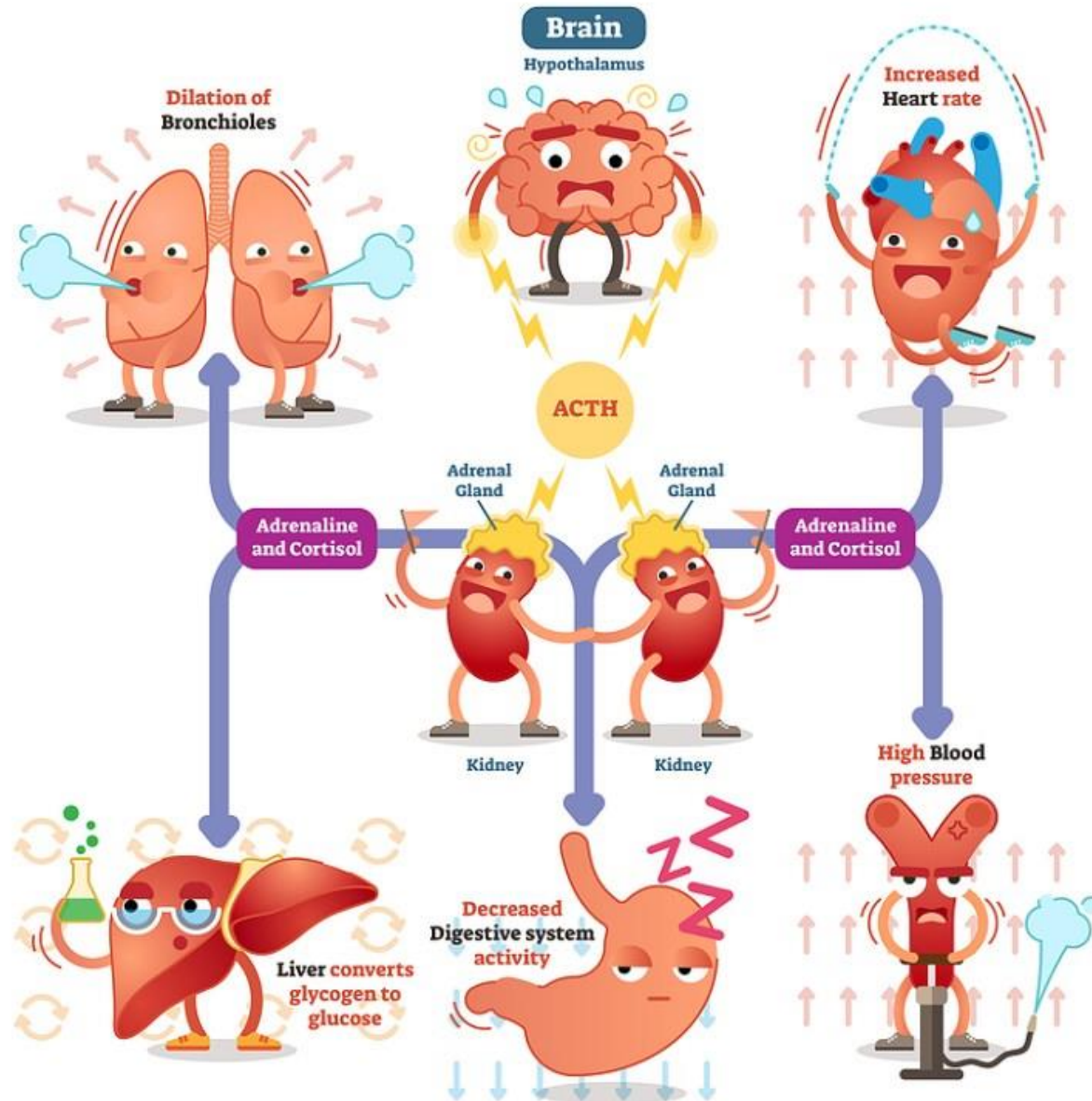
↑ Glykolýza
 ↑ Lipolýza
 ↑ Proteolýza
 ↑ Tachykardia
 ↑ arteriálneho TK

↓ Immunita
 ↓ Rast
 ↓ Trávenie
 ↓ Reprodukčné funkcie

CHRONICKÝ STRES

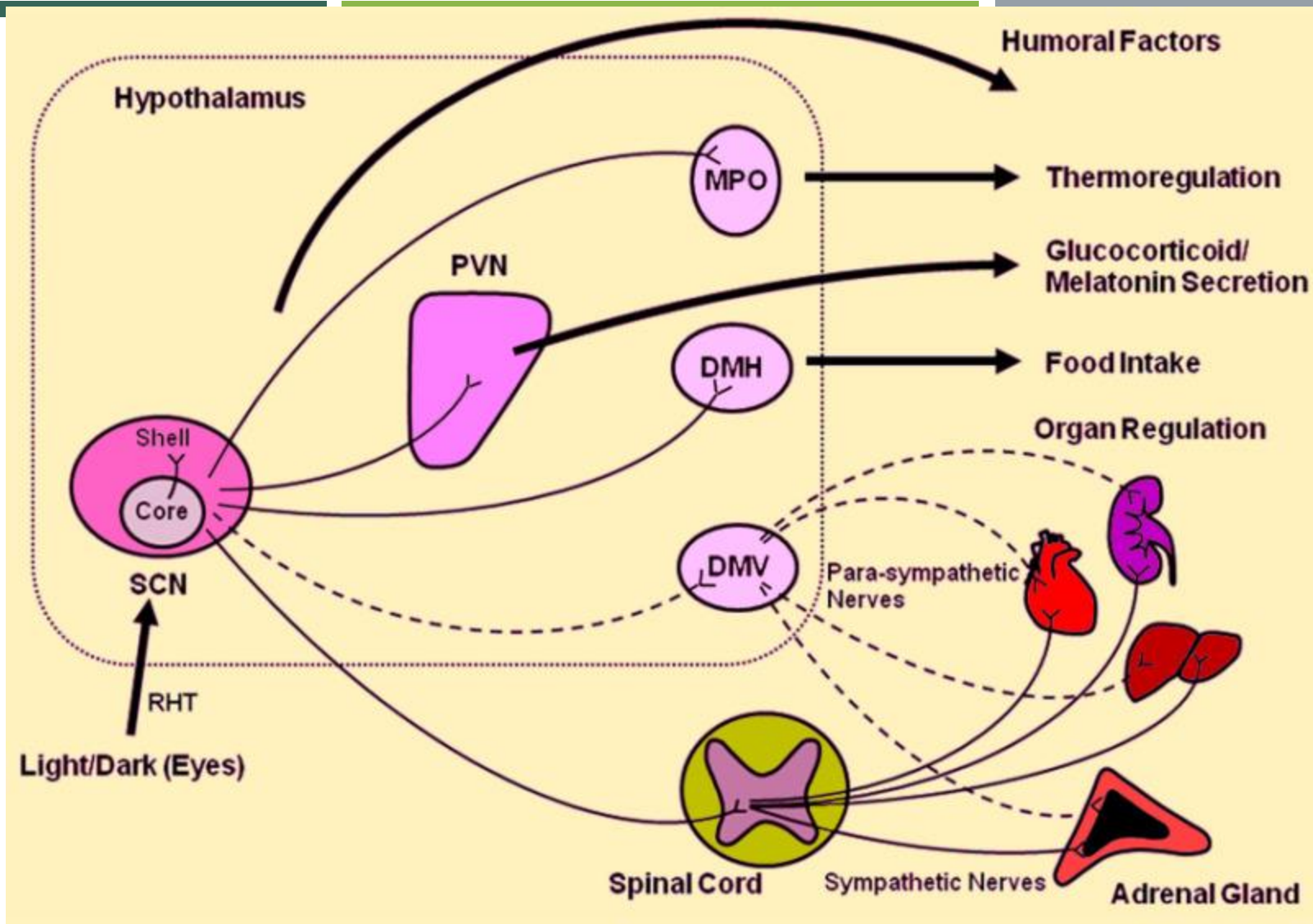


STRESS RESPONSE SYSTEM



“CLOCK“ SYSTÉM


- Štruktúry v CNS a na periférii generujúce a udržiavajúce diurnálny rytmus organizmu
- Klasifikácia
 - Centrálny – ncl. suprachiasmaticus -> „MASTER CLOCK“
 - Periférne – v jednotlivých orgánoch
- Funkcia (regulácia)
 - Sekrécia melatonínu
 - Sekrécia hormónov hypofýzy
 - Spánok
 - Príjem jedla
 - Telesná teplota



KASKÁDY SYSTÉMU “CLOCK” – „MASTER CLOCK”

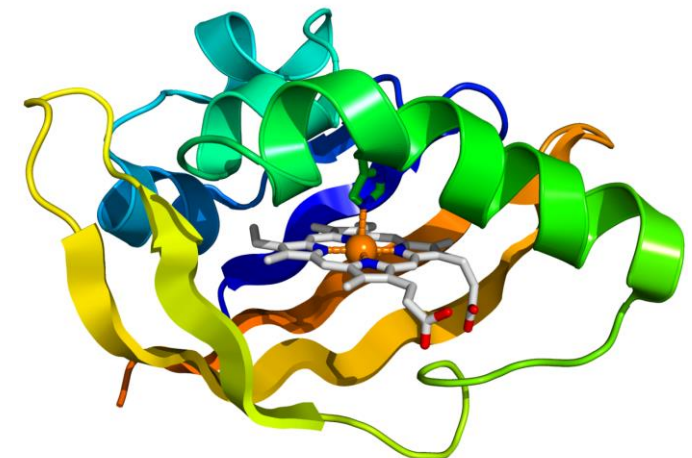
- Aferentné
 - Retinohypotalamický trakt
 - Vnímanie svetla/tmy – impulzy z retiny do ncl. suprachiasmaticus
- Eferentné
 - CNS
 - Ncl. paraventricularis
 - Mediálna preoptická area
 - Ncl. dorsomedialis
 - Gl. pinealis
 - ANS
 - Sympatikus a parasympatikus

BUNKOVÉ EFEKTY SYSTÉMU CLOCK

- Prepájanie svetelných impulzov so systémom „MASTER CLOCK“
 - P42/44 mitogénmi-aktivovaná proteínkináza (MAPK)
 - Mitogénmi- a stresom-aktivovaná proteínkináza I (MSK)
 - Cieľ kaskády MAPK
 - Generácie cirkadiánnych rytmov
 - Podobné procesy na centrálnej aj periférnej úrovni systému CLOCK
 - Transkripčné faktory
 - CLOCK – circadian locomotor output cycles kaput
 - Bmal1 – brain-muscle-arnt-like protein 1
-  Vytvorenie heterodimérov

BUNKOVÉ EFEKTY SYSTÉMU CLOCK

- Heterodimér CLOCK/Bmal1
 - Spúšťa transkripciu rôznych génov (napr. AVP (ADH, diuretický hormón), etc.)
 - Udržiava pozitívny feedback transkripcie a translácie cez tzv. PAS domény
- PAS domény
 - Per („period circadian protein“)-arnt („aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator protein“)-Sim („single-minded protein“)
 - Malé „senzory“ interagujúce s rôznymi molekulami
 - Tvorba cirkadiánnych rytmov
 - CLOCK – 1 PAS doména, Bmal1 – 2 PAS domény



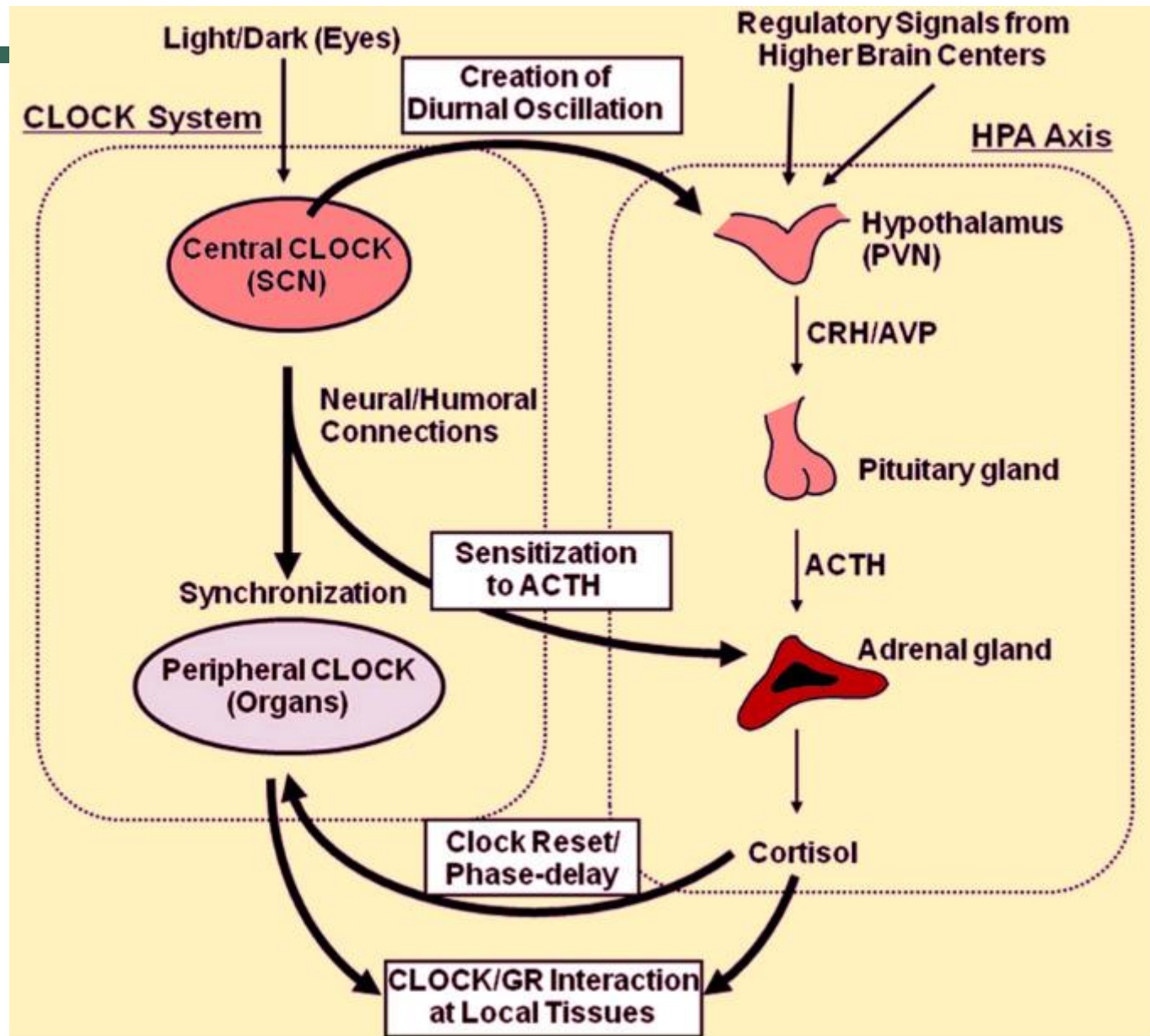
BUNKOVÉ EFEKTY SYSTÉMU CLOCK

- Clock/Bmal1 upregulujú nasledujúce gény
 - Per (period 1, 2, 3)
 - Cry (Cryptochrome 1, 2)
- Heterodimerizácia Per a Cry -> transport do jadra spolu s Clock/Bmal1 -> downregulácia ďalšej transkripcie Per a Cry
- Noc
 - Degradácia represorového komplexu pre Per/Cry -> začiatok nového cyklu
- Trvanie cyklu – cca. 24 hodín – (23 – 25 hodín – „ranné vtáča“ vs. „nočná sova“)

- Alterácia cAMP
 - Vlastnosti CLOCK systému – amplitúda, fáza, periodicitá
- Vplyv ďalších proteínov – úloha nejasná
 - Timeless, Dec1, Dec2, Rev-erb α , „retinoic acid receptor-related orphan receptor α “ (ROR α) a E4bp4

CENTRÁLNY VS. PERIFÉRNÝ „CLOCK“

- Centrálny CLOCK môže synchronizovať periférny CLOCK
 - Neurálne a humorálne prepojenia stále nejasné
- Periférny CLOCK je do určitej miery autonómny voči centrálnej regulácii
 - Poškodenie centrálného systému môže viesť k separátnemu rytmu pre každý orgán
 - Funkčnosť aj bez centrálnych impulzov
- Os SCN-PVN
 - Diurnálna variácia GKs podľa cyklu „svetlo/tma“ (vzostup, resp. pokles)
 - Kontribúcia osi SCN-ANS
 - Sekrécia GK regulovaná cez katecholamíny, neuropeptid Y
 - Reset adrenálneho CLOCK moduláciou senzitivity voči ACTH



CENTRÁLNY VS. PERIFÉRNÝ „CLOCK“

- Syntéza GK je rezponzívna voči proteínu StAR v nadobličkách
 - Diurnálna oscilácia StAR
- Os HPA reguluje periférny CLOCK ale nie centrálny!
 - SCN neobsahuje receptory pre GK (GKRs)
 - Ovplyvnenie periférnych a centrálnych tkanív (PVN)
 - Pôsobenie cez GRE (glukokortikoidy-responzívne elementy)
 - Alterácia génov súvisiacich s CLOCK – Per 1, Per 2
 - Clock/Bmal 1 acetyľujú GKRs a znižujú ich aktivitu

*StAR – steroidogénny akútny regulačný proteín

CLOCK A STRES – FYZIOLOGIA A PATOLOGIA

- Centrálny CLOCK – protektívny feedback proti nadmernému účinku GK
 - Zvýšenie periférnej rezistencie na GK v nevyhnutných prípadoch
 - Účinok skrz acetyláciu GKR na periférnej aj centrálnej úrovni
- Prolongovaný stres
 - Rozpojenie/deynschronizácia centrálnej regulácie
 - Posilnenie autonómie periférnych tkanív
 - Udržiavanie/chronický hyperkortikalizmus spojený so stresom
 - Môže byť mierny, ale aj funkčný/manifestný
 - Rozvoj rôznych patologických stavov
 - Metabolické, KVS, etc.

KATECHOLAMÍNY POČAS STRESU

- Hlavne v štádiu alarmu/poplachu
- ↑Frekvencia srdca
- ↑Tlak krvi
- ↑Glykogenolýza
- ↑Bronchodilatácia
- Zmena vzoru prietoku krvi
 - ↑Ostražitosť
 - ↓Trávenie a tvorba moču
- ↑Metabolizmus
- ↑Koagulácia

ÚČINOK KATECHOLAMÍNOV POČAS STRESU

Tkanivo	Receptor	Účinok
myokard	β_1	↑kontraktilita a frekvencia
cievy	α	vazokonstrikcia
	β_2	vazodilatácia
obličky	β	↑aktivita renínu
črevá	α, β	↓motilita, ↑tonus sfinkterov
pankreas	α	↓sekrécia inzulínu a glukagónu
	β	↑sekrécia inzulínu a glukagónu
pečeň	α, β	↑glykogenolýza
tukové tkanivo	β	↑lipolýza
koža (apokrinné žľazy)	α	↑potenie
bronchioly	β_2	dilatácia
Väčšina tkanív	β	↑kalorigenéza

ÚČINOK GLUKOKORTIKOIDOV A KORTIZOLU POČAS STRESU

- Najmä počas fázy rezistencie
- ↑Glukoneogenéza
- ↓Senzitivita na inzulín
- ↓GH
- ↓T4, T3
- ↓Imunitná/zápalová odpoveď
 - Modulácia TNF- α , IL-1, IL-6
- ↑Mobilizácia tukov a proteínov
 - Anti-anabolický, katabolický účinok
- ↑Retencia vody a sodíka (obličky)
- ↑Hypervolémia
- ↑Tlak krvi
- ↑Neutrofily
- ↓Eozinofily
- ↓Lymfocyty
- ↑Trombocytov a koagulácie

Holmes and Rahe Stress Scale (adults)

toolshero

#	Adult life events	Score
1	Death of spouse	100
2	Divorce	73
3	Marital separation	65
4	Prison sentence	63
5	Death of an immediate family member	63
6	Personal injury or illness	53
7	Getting married	50
8	Dismissed from job	47
9	Marital reconciliation	45
10	Retirement	45
11	Change in health of family member	44
12	Pregnancy	40
13	Sexual difficulties	39
14	Gaining a new family member	39
15	Business readjustment	39
16	Change in financial state (debts)	38
17	Death of a dear friend	37
18	Change to a different line of work	36
19	Change in frequency of arguments	35
20	Major mortgage	32
21	Foreclosure of mortgage or loan	30
22	Change in responsibilities at work	29

#	Adult life events	Score
23	Child leaving home	29
24	Trouble with in-laws	29
25	Outstanding personal achievement	28
26	Spouse starts or stops work	26
27	Starting or ending school	26
28	Change in living conditions	25
29	Revision of personal habits	24
30	Trouble with boss	23
31	Change in working hours or conditions	20
32	Change in residence	20
33	Change in schools	20
34	Change in recreation	19
35	Change in church activities	19
36	Change in social activities	18
37	Minor mortgage or loan	17
38	Change in sleeping habits	16
39	Change in number of family reunions	15
40	Change in eating habits	15
41	Trips	13
42	Major holiday	12
43	Minor violation of law	11

Skóre	Riziko závažnej zdravotnej komplikácie
0 - 150	Nízke
151 - 300	Cca 50 %
301+	Cca 80 %



Memoski, '15

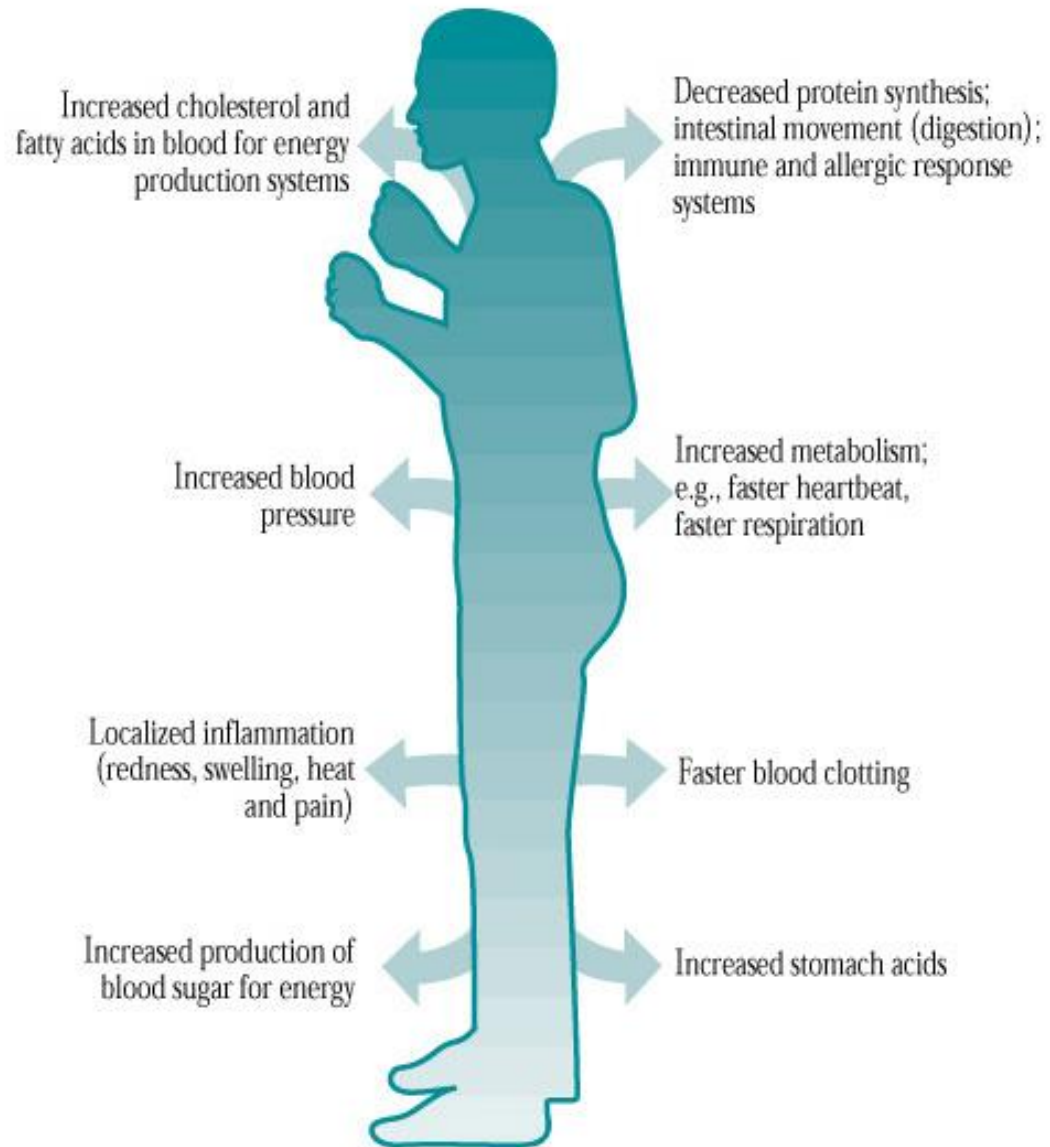
ZMENY ORGANIZMU POČAS STRESU – FÁZA ALARMU/POPLACHU

Prejav/Parameter	Zmena/Popis
Hlavný cieľ	Registrácia stresu
Rezistencia organizmu	Znížená
Hlavný zdroj energie	Glykémia Glykogenolýza
Reflexy	Silnejšie Menej presné
Cirkulácia krvi	Centralizácia Zvýšený tlak krvi Tachykardia Hypervolémia
Koagulácia	Intenzívnejšia
Hlavná regulačná os	Sympatoadrenálna (SAA, neskôr HPA)

ZMENY ORGANIZMU POČAS STRESU – FÁZA ALARMU/POPLACHU

Prejav/Parameter	Zmena/Popis
Bronchy	Dilatácia
Oči	Mydriáza
Zmysly	Zostrené
Tyroidálne hormóny	Elevácia
Hlavná stratégia	„Fight-flight-freeze-fawn-flop“ Vyriešiť stresor rýchlo, efektívne „jedným rozhodujúcim úderom“

STRESS



https://encrypted-tbn3.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcT64c2DxzFn9RsXSbfHhZusluSABB2yQRIAQo_ZpxNQghM5PIHu

ZMENY ORGANIZMU POČAS STRESU – FÁZA REZISTENCIE

Prejav/Parameter	Zmena/Popis
Hlavný cieľ	Adaptácia
Rezistencia organizmu	Zvýšená
Hlavný zdroj energie	Glukoneogenéza
Reflexy	Varírujú
Cirkulácia krvi	Centralizácia Zvýšený tlak krvi Tachykardia Hypervolémia
Koagulácia	Intenzívnejšia
Hlavná regulačná os	Os hypotalamus-hypofýza-nadobličky

ZMENY ORGANIZMU POČAS STRESU – FÁZA REZISTENCIE

Prejav/Parameter	Zmena/Popis
Bronchy	Nejasné
Tyroidálne hormóny	Znížené (supresia TSH)
Imunitný systém	Nešpecifická odpoveď Neutrofília Lymfocytopenia Eozinopenia Protizápalový účinok
Metabolizmus	Rezistencia na inzulín Mobilizácia lipidov
Hlavná stratégia	Allostická stratégia I (kontinuálna)/2 (rýchla) Tréning

ZMENY V ORGANIZME POČAS STRESU – FÁZA VYČERPANIA

Prejav/Parameter	Zmena/Popis
Hlavný cieľ	Prežitie (ak je možné)
Rezistencia organizmu	Znížená/Vyčerpaná
Hlavný zdroj energie	Glukoneogenéza
Reflexy	Slabšie, oneskorené
Cirkulácia krvi	Náchylná ku kolapsu
Koagulácia	Intenzívnejšia
Hlavná regulačná os	Os hypotalamus-hypofýza-nadobličky

ZMENY V ORGANIZME POČAS STRESU – FÁZA VYČERPANIA

Prejav/Parameter	Zmena/Popis
Imunitný systém	Nadmerná supresia
Metabolizmus	Akumulácia katabolitov Laktátová acidóza
Hlavná stratégia	-

BEHAVIORÁLNA A FYZICKÁ ADAPTÁCIA POČAS STRESU

Behaviorálne	Fyzické
Adaptívna zmena správania	Adaptívne presmerovanie energie
Zvýšená ostražitosť a vnímanie	Kyslík a živiny presmerované do nervového systému a častí dôležitých pre zvládnutie stresu
Zvýšená kognícia, bdelosť a sústredenie sa	Zmena tonusu KVS, zvýšený tlak krvi a frekvencia srdca
Potlačenie nutkania na jedenie	Zvýšenie frekvencie respirácie
Potlačenie reprodukčného správania	Zvýšená glukoneogenéza a lipolýza
Inhibícia gastrickej motility, stimulácia motility čriev	Detoxikácia od toxických produktov
Zaistenie stresovej odpovede (správanie)	Inhibícia reprodukčnej a rastovej hormonálnej osi
	Zaistenie stresovej odpovede (organizmus)
	Zaistenie zápalovej/imunitnej odpovede

WHAT PEOPLE DO IN HORROR MOVIES,

STARE AT THE KILLER AS HE COMES CLOSER

VIA FUNNYPICSONLY.COM

PSYCHOEMOTÍVNY STRES

- Stresová odpoveď pôvodne vyvinutá proti fyzickej hrozbe
- Emócie, reálne alebo hypotetické situácie môžu aktivovať SAA alebo HPA osi
 - Prvá signálna sústava – špecifické, reálne impulzy ovplyvňujúce receptory alebo vnímanie reči (sekundarizácia)
 - Druhá signálna sústava – reč, abstraktné myslenie
- Stresová odpoveď sa vyvíja podľa všeobecného adaptačného syndrómu
- Manifestácia
 - „Zamrznutie“, poruchy reči
 - Ovplyvnenie jemnej motoriky
 - „Okno“ („Blackout“)

OCHORENIA SPOJENÉ SO STRESOM

- Ateroskleróza a hypertenzia
 - Hyperkinetická cirkulácia, silnejšie pulzové vlny
- Trombembolizmus, cievna mozgová príhoda
 - Trombocytémia, intenzívnejšia koagulácia
- Infarkt myokardu (alebo akútny koronárny syndróm)
 - Zvýšená spotreba kyslíka myokardom
 - Katecholamíny podnecujú rast a remodeláciu komôr (sympatikový NS)
- Metabolický syndróm
 - Inzulínová rezistencia -> hyperinzulinémia
 - Dyslipidémia, hyperlipidémia

OCHORENIA SPOJENÉ SO STRESOM

- Zvýšenie náchylnosti k infekciám
 - Potlačenie imunity, neutrofília, pokles buniek špecifickej imunity (napr. lymfocyty)
- Autoimunitné ochorenia
 - Supresia T_{reg} lymfocytov
- Predĺženie hojenia rán
 - Katabolický účinok GK
- Vredová choroba žalúdka a duodéna
- Syndróm vyhorenia
 - Neuspokojivý manažment stresu
 - Strata motivácie do práce
 - Predpoklad k depresii a apatii



https://www.darlingdowns.health.qld.gov.au/__data/assets/image/0014/105161/20211122-burnout-864x486px.jpg
<https://media.post.rvohealth.io/wp-content/uploads/sites/4/2021/10/150247-all-about-burnout-1296-infograph-body-819x1024.png>

Signs of Burnout



Exhaustion



Dreading work



Trouble sleeping



Depression



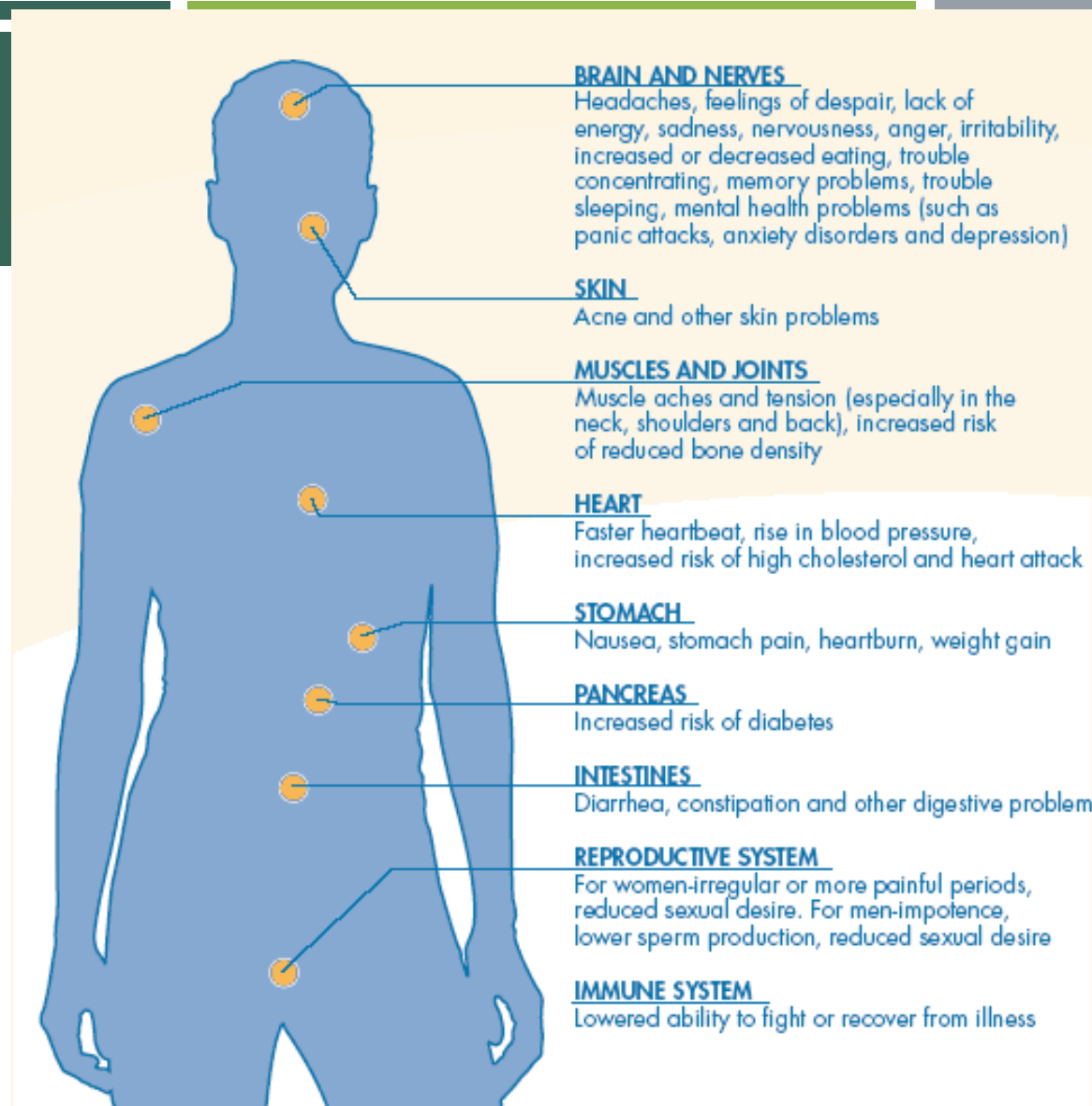
"Drowning"



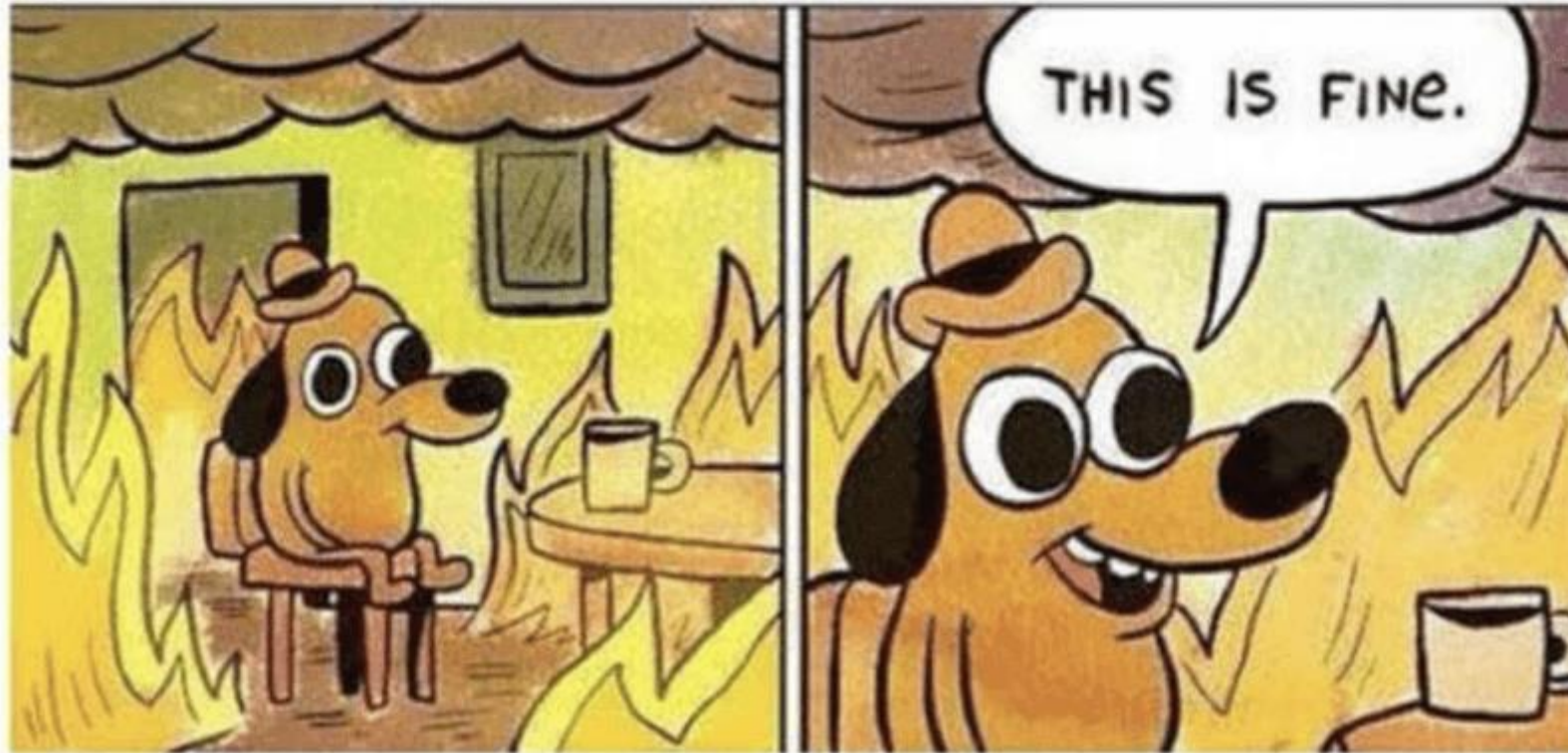
Short temper



No time for
non-work-related things



Basically how I'm handling life right now





ALOSTÁZA

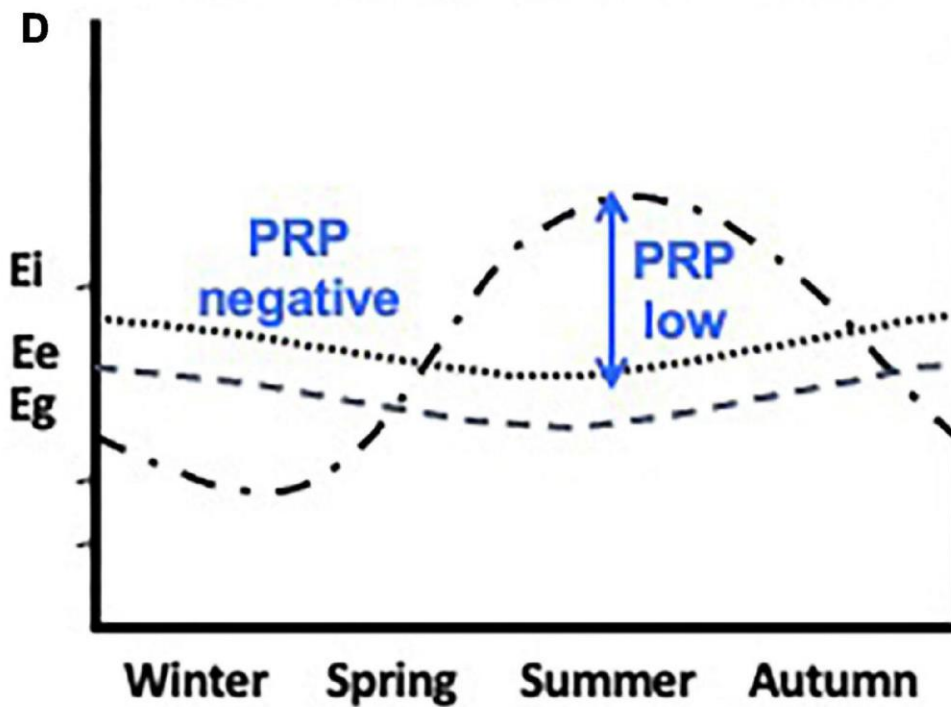
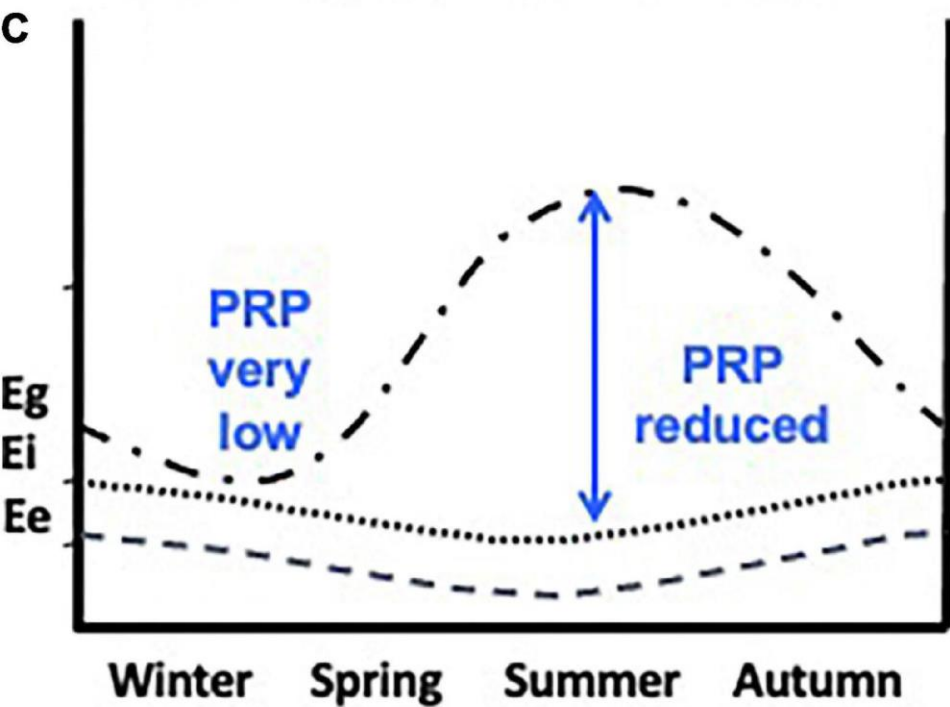
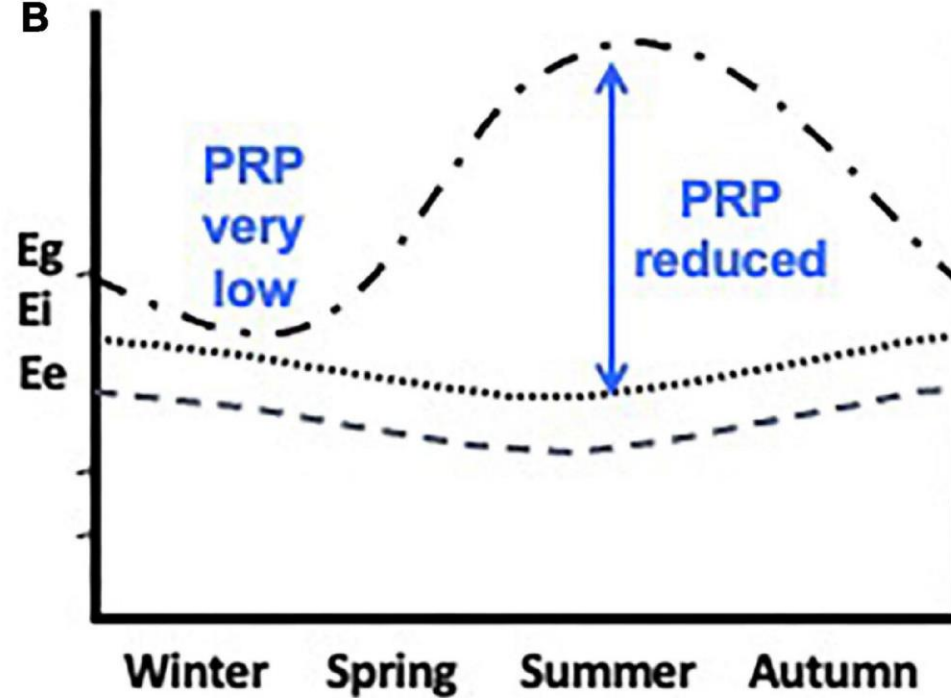
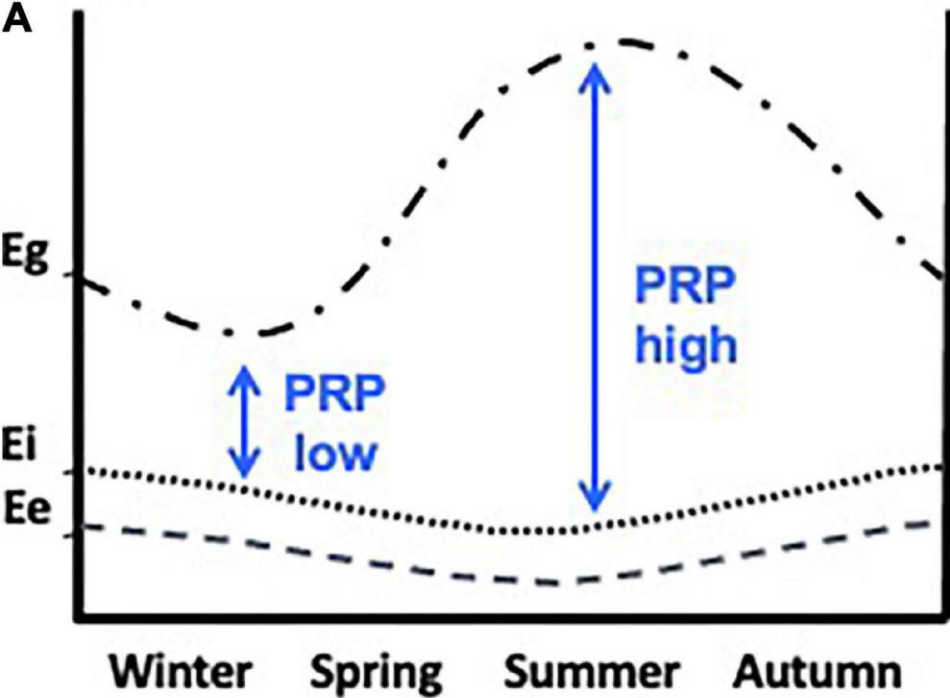


ALOSTÁZA

- Sterling a Eyer (1998) uviedli termín „alostáza“ ohľadom zmien v organizme počas zvýšených nárokov alebo nežiaducich situácií
 - Homeostáza je rezervovaná pre procesy nevyhnutné pre základné prežitie a existenciu
- Posun vo fyziológii k (občasným) nepriaznivým podmienkam

ALOSTÁZA – KĹÚČOVÉ POJMY

- Alostatická zát'až
 - Cena a následky adaptácie na zmenu prostredia a/alebo v rámci organizmu
 - Faktory pri nevyhnutnosti čeliť nežiaducim fyziologickým alebo fyzikálnym situáciám
- Anamnéza/história „štádia núdze“ („Emergency life-history stage“- ELHS)
 - Energetické zdroje vyčerpané, možné narušenie kompenzácie
 - Možné reverzibilné, ireverzibilné poškodenie alebo smrť
- Porucha potenciálu rezistencie („Perturbation resistance potential“ - PRP)
 - Rozdiel medzi alostatickou zát'ažou a dostupnosťou zdrojov



Scenáre

- A)**
- Dostupná potrava
 - Možnosť energeticky náročných činností (migrácia, plznutie, reprodukcia)
 - Nenáročné prežitie zimy
- B)**
- Kumulatívne zdroje nezmenené, nárast požiadaviek (ochorenie, nárast populácie)
 - Problémové párenie, etc.
 - Prežitie zimy otázne
- C)**
- Pokles kumulatívnych zdrojov, nároky nezmenené (sucho)
 - Prežitie zimy – podobne ako B
- D)**
- Redukcia zdrojov + nárast požiadaviek (sucho + nárast populácie)
 - Prežitie náročné, ohrozené zachovanie druhu
 - Extrémne klimatické podmienky môžu spustiť alostatickú odpoveď počas zimy

https://www.frontiersin.org/files/Articles/954708/fevo-10-954708-HTML/image_m/fevo-10-954708-g003.jpg

ALOSTATICKÉ PREŤAŽENIE

- Nároky na odpoveď môžu byť špecifikované ako

$$E = E_e + E_i + E_o$$

- Kde E_e – bazálne prežitie, E_i – bazálne rutiny, E_o – nepredvídateľné výkyvy
- Hladina glukokortikoidov sa môže meniť paralelne s alostatickou záťažou
- Alostatické preťaženie môže byť
 - Typ I – alostatická záťaž prevyšuje rezervy energie a dostupné zdroje
 - Typ II – alostatická záťaž neprevyšuje rezervy energie a dostupné zdroje
 - Napr. dostupnosť jedla (endogénne) alebo kumulatívne zdroje prostredia

TYPY ALOSTATICKÉHO PREŽAŽENIA

Parameter		Typ I	Typ II
Energetická bilancia		Negatívna	Neutrálna až pozitívna
Intenzita stresoru		Veľmi vysoká	Mierna až stredná
Frekvencia		Jednorázová	Opakovaná
Katecholamíny		Nárast, potom pokles	Nárast, potom pokles
Glukokortikoidy		Nárast, potom pokles	Chronicky zvýšené
Trvanie		Krátke	Dlhé
Následky	Včasné vyriešenie	Žiadne/minimálne (reverzibilné) poškodenie	N/A
	Stredné trvanie	Reverzibilné až ireverzibilné poškodenie	Adaptácia Reverzibilné až ireverzibilné poškodenie Možné ochorenia spojené so stresom
	Prolongované/ perzistencia	Ireverzibilné poškodenie až smrť	Porucha adaptácie Iminentné ochorenia spojené so stresom

Výsledky sa môžu meniť v závislosti od intenzity a frekvencie stresorov, odchýlky od príkladov sú prípustné

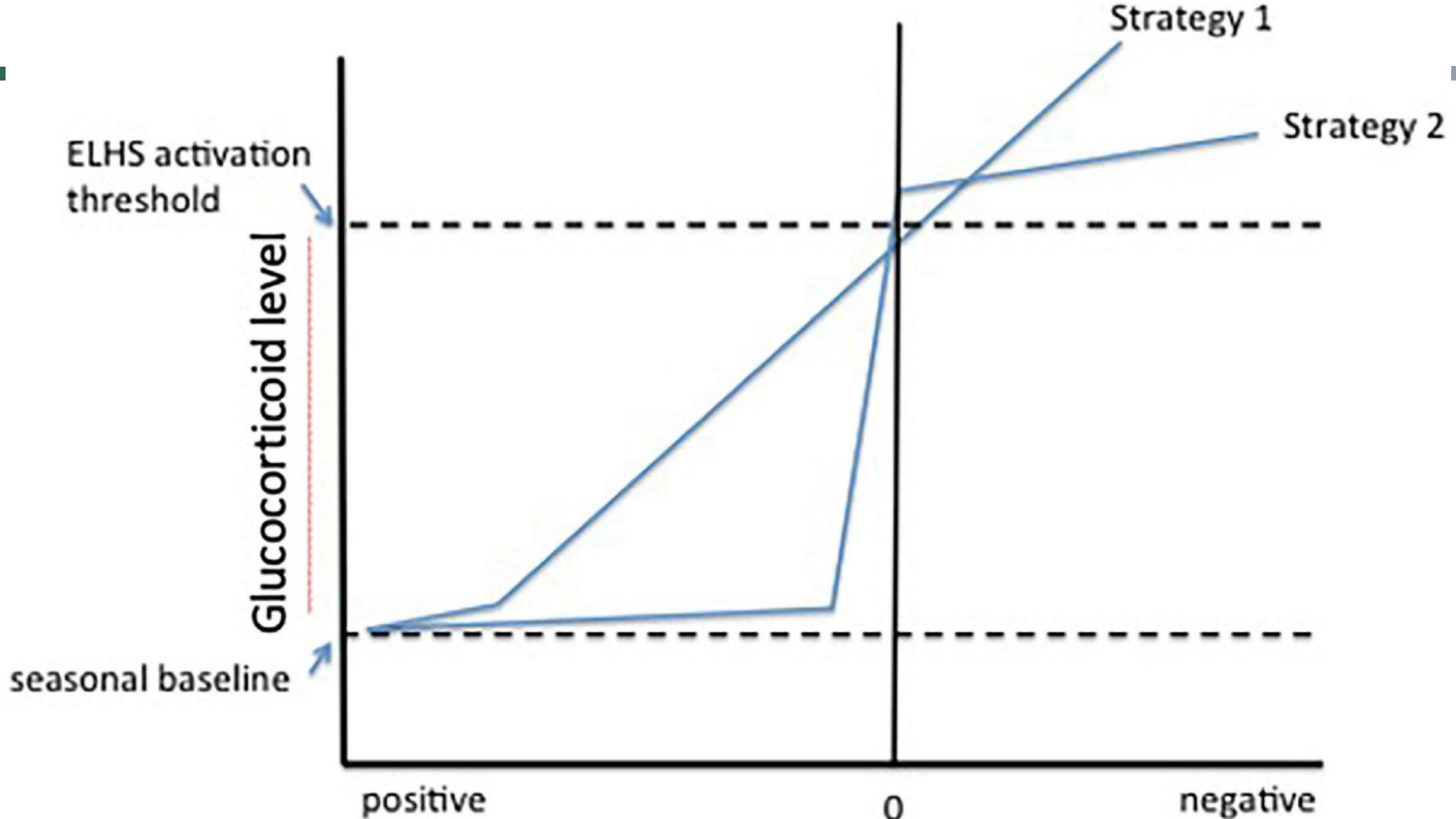
STRATÉGIE PROTI ALOSTATICKÉMU PREŽAŽENIU

Stratégia 1

- Lineárny nárast koncentrácie glukokortikoidov voči alostatickej záťaži
- PRP neustále využívané ako mechanizmus zvládania stresu
- Konštantná odpoveď na stres

Stratégia 2

- Koncentrácia glukokortikoidov stabilná, potom prudký nárast
- PRP klesá, ale bez odpovede
- Iba negatívna bilancia alebo akútne vnímanie stresu
- “Jeden rozhodujúci úder/chod’ si po to“ („dealing one decisive blow/go and make a run for it“)



- Perturbation Resistance Potential (PRP)

GLUKOKORTIKOIDY A PRAH ODPOVEDE

- Analýza zdrojov, plánovanie stratégie
- Neuroendokrinná cesta
 - Hypotalamus -> aktivácia „nastavenia ELHS“ -> elevácia glukokortikoidov
- Vzdialenosť iniciácie úteku
 - Korist' volí útek ako najvýhodnejšiu možnosť
 - Môže sa líšiť od vzdialenosti predátora, vzorov správania, dostupnosť únikových trás a úkrytov, stavu tela, maskovania, etc.
- „Rushing“ stratégia -> viac času, možnosť chýb z nedostatku plánovania a prípravy
- Expektačná stratégia -> lepšie plánovanie, nemusí byť dostatok času a priestoru na uskutočnenie

PREDÁTOR VS. KORISŤ (STRATÉGIA 2)

- Po detekcii predátora zajac volí „stuhnutie“ („freeze“)
- Útek po dosiahnutí iniciačnej vzdialenosti
- Výmena priestoru za zdroje



Zbadanie predátora

Približovanie predátora

Úkryt odhalený



PREDÁTOR VS. KORISŤ (STRATÉGIA I)



Matka králika brániaca mladé

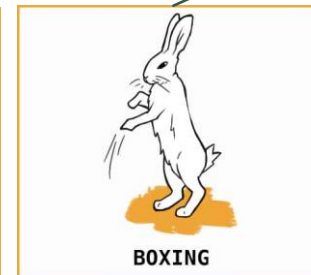
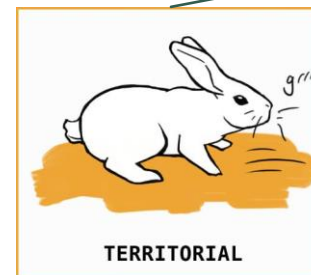
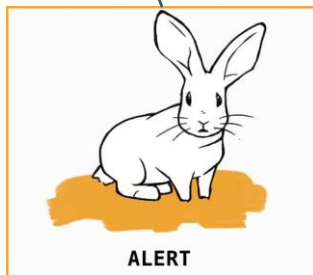
- Starostlivá analýza hrozby
- Najprv „stuhnutie“
- Varovné/teritoriálne správanie
- Boj/útek



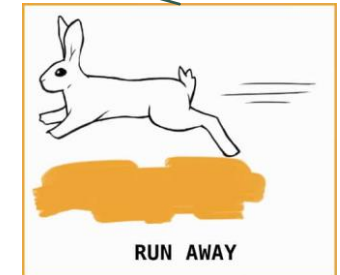
Zbadanie predátora

Približovanie predátora

Úkryt prezradený



or





ENDOGENNÝ ANALGESTICKÝ SYSTÉM



ENDOGENNÝ ANALGESTICKÝ SYSTÉM (EAS)

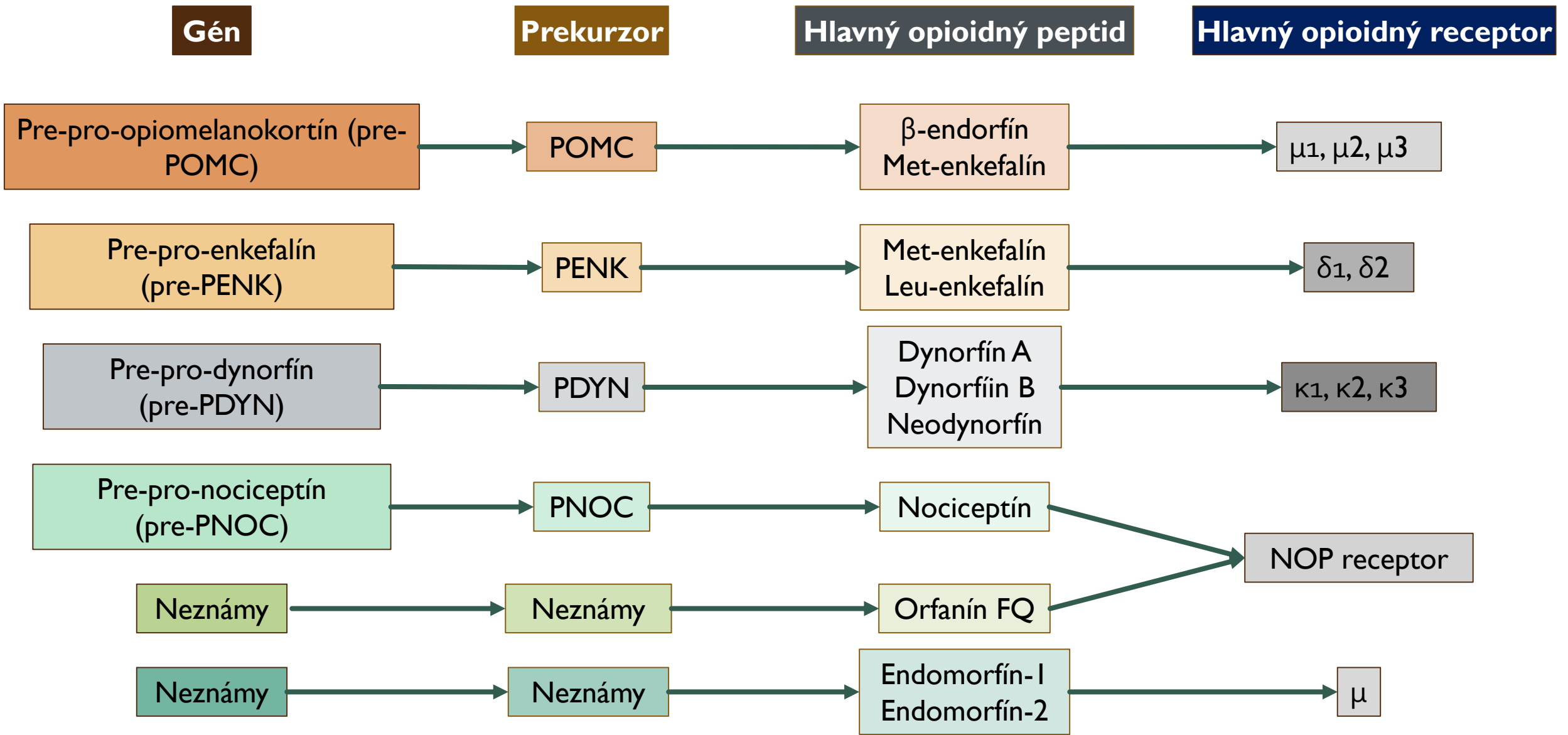
- Systém kaskád aktivovaných počas stresu alebo intenzívnej fyzického/psychického/emočného tlaku na organizmus
- Funkcia
 - Modulácia bolesti (obvykle potlačenie)
 - Neuroprotektia (potlačenie oxidatívneho stresu, Δ -opioidný receptor)
 - Útlm respirácie (hlavne μ -opioidné receptory)
 - Homeostáza iónov (δ -opioidné R, redukcia nerovnováhy indukovanej hypoxiou)
 - Zápcha
 - Eufória (dysfória)
 - Kardioprotektia
 - Sedácia

EAS – SIGNÁLNE LÁTKY A ICH ÚČINOK NA MOLEKULÁRNEJ/RECEPTOROVEJ ÚROVNI

- Typ látky
 - Neurotransmitter/Neuromodulátor
- Mechanizmus
 - Alterácia elektrických vlastností cieľových neurónov
 - Inhibičný efekt
 - Aktivácia kanálov GIRK (G-protein coupled inwardly rectifying potassium)
 - Agonistický-R -> ↓adenylylcykláza -> ↓cAMP -> K⁺ eflux -> hyperpolarizácia
 - Inhibícia VGCC (voltage-gated calcium channels)
 - ↓produkcie neurotransmiterov
 - Inhibícia adenylylcyklázy -> ↓signalizácie cAMP
 - ↑signalizácia MAPK– rôzne kaskády („pro-survival“)

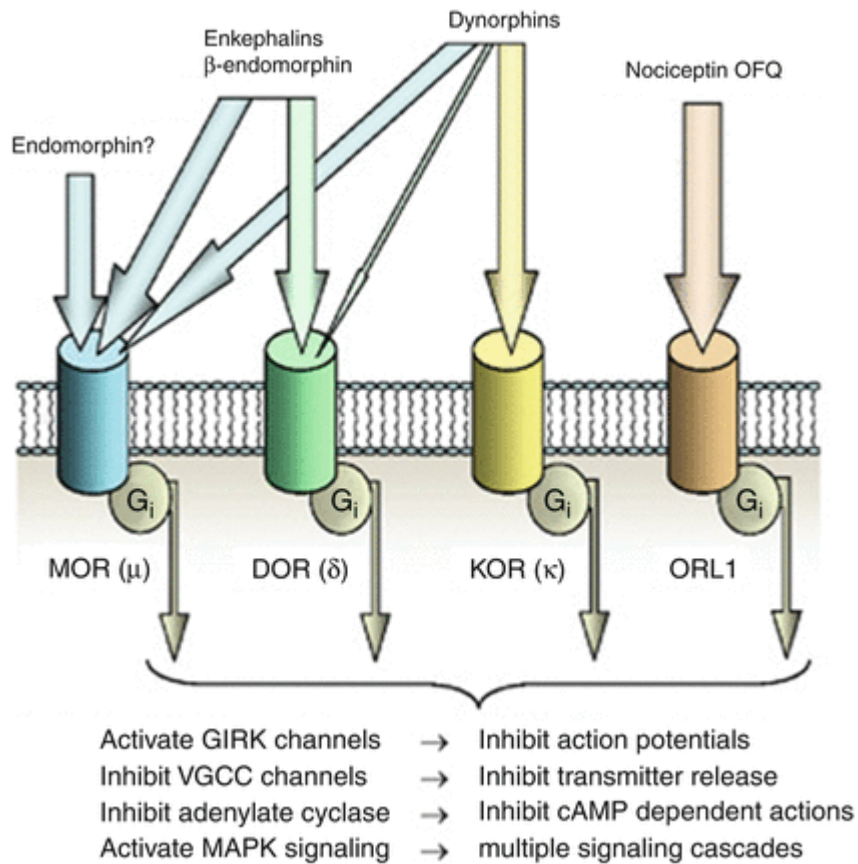
NEUROTRANSMITERY/NEUROMODULÁTORY

- Podskupiny
 - Endorfíny
 - Enkefalíny
 - Dynorfíny
 - Nociceptín/orfanín FQ
 - Endomorfín

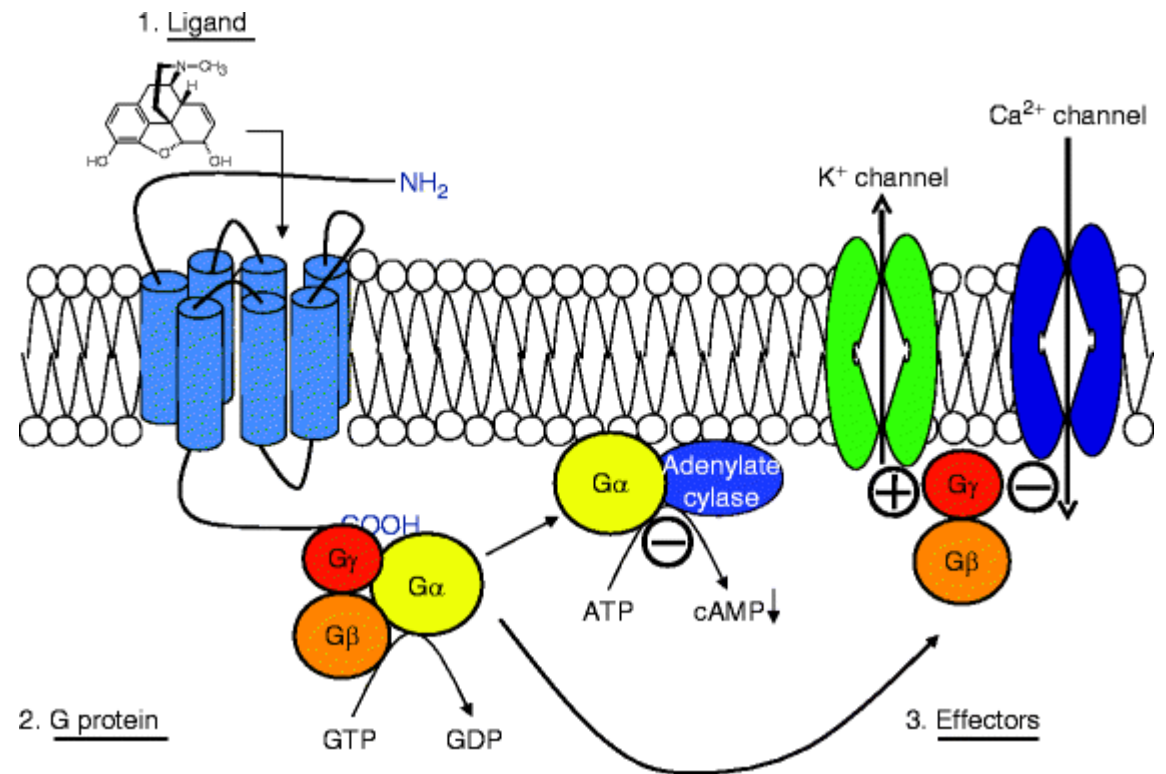


EAS – OPIOIDNÉ RECEPTORY

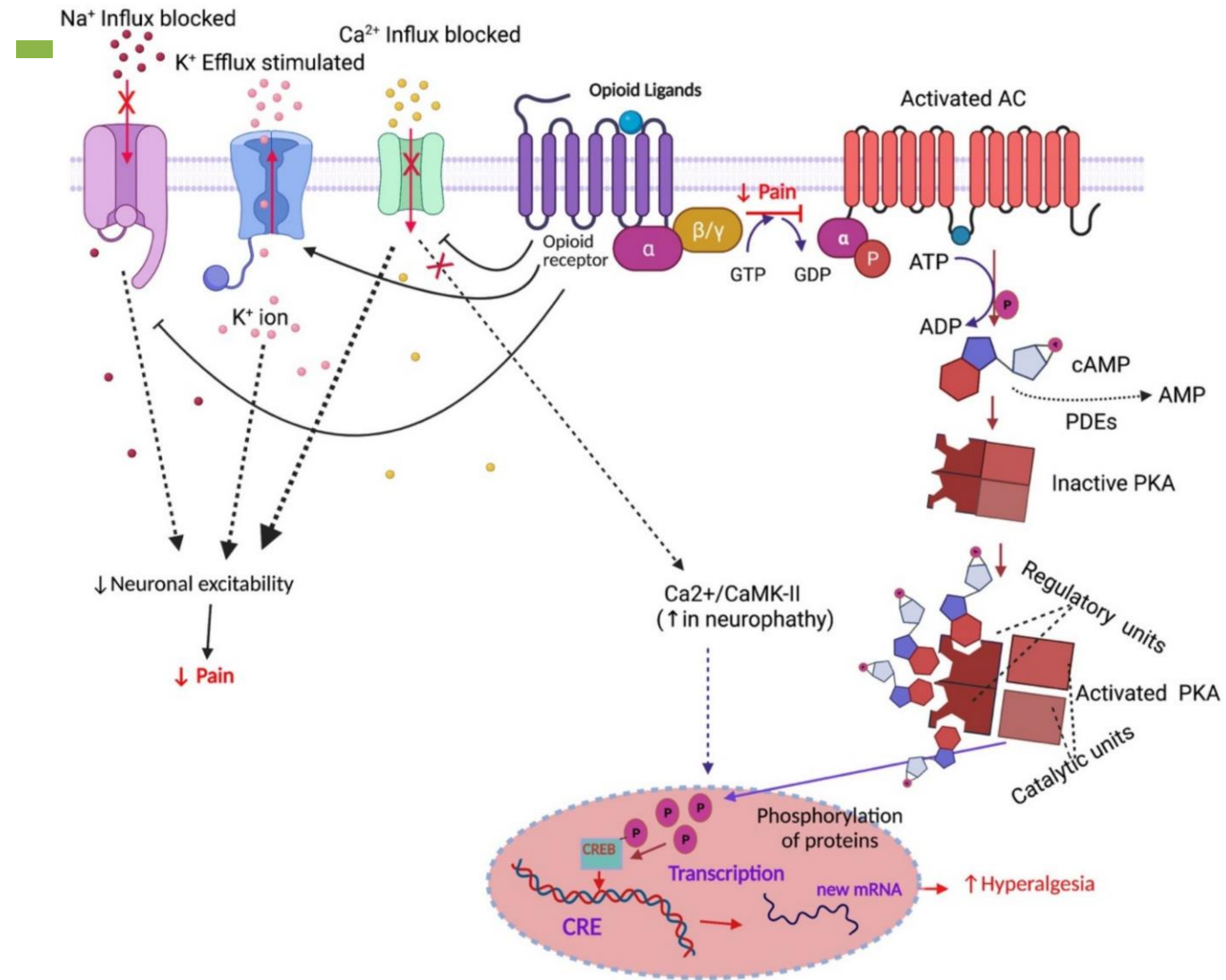
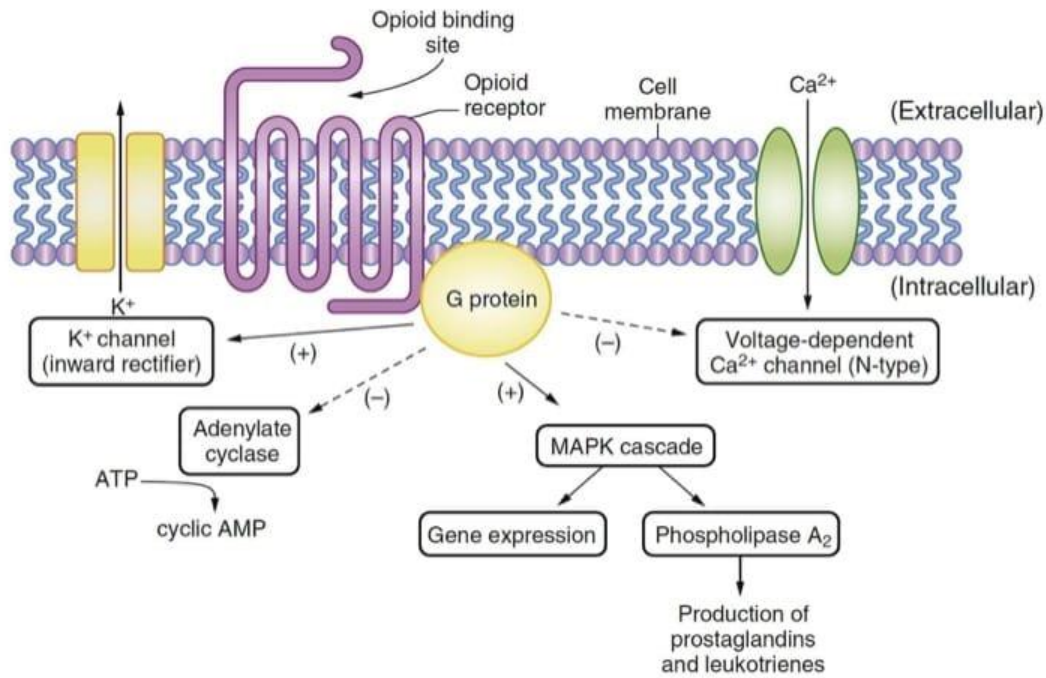
- Receptory spriahnuté s G-proteínmi
 - Heptahelikálne
 - Podjednotky – 2x $\alpha\beta\gamma$ (G-proteín) + receptor -> α -podjednotky sa oddelia a aktivujú
- Podtypy
 - δ -opioidný receptor
 - κ -opioidný receptor
 - μ -opioidný receptor
 - Nociceptín/orphanín FQ receptory
 - ϵ -opioidný receptor (predpoklad – centrálna analgézia)
 - ζ -opioidné receptory (*rastové a vývinové efekty, fyziologické a tumorigénne*)



https://media.springernature.com/lw685/springer-static/image/prt%3A978-3-642-36172-2%2F14/MediaObjects/978-3-642-36172-2_14_Part_Fig1-159_HTML.gif



https://static.cambridge.org/binary/version/id/urn:cambridge.org:id:binary:20161221073529645-0126:9780511781933:89666fig31_5.gif?pub-status=live



<https://www.nextlevelcme.com/storage/app/public/photos/11/9.2.jpg>

https://www.mdpi.com/pharmaceuticals/pharmaceuticals-14-01091/article_deploy/html/images/pharmaceuticals-14-01091-g001.png

Opioidy môžu indukovať aj hyperalgiu (tiež ospalosť, letargiu, pruritus)

- Pravdepodobne cez upreguláciu proteínkinázy C a *N*-metyl-*D*-aspartátové receptorov (NMDA)
- Cez μ -receptory
- Metabolity ako morfín-3-glukuronid môže interagovať s GABA a NMDA

EFEKTY OPIOIDOV NA ICH RECEPTOROCH (SÚVISIACICH SO STRESOM)

Podtyp receptora	Endogénny ligand	Funkcia
μ_1	Endorfíny > Enkefalíny > Dynorfíny	Supraspinálna a spinálna analgezia
μ_2		Sedácia Inhibícia respirácie, antitusický efekt Posilnenie KVS systému ↓ tranzit GIT, zvracanie Modulátor sekrécie neurotransmitterov a hormónov Senzorimotorická integrácia Eufória
μ_3		Vazodilatácia
δ	Enkefalíny > Endorfíny & Dynorfíny	Supraspinálna a spinálna analgezia Modulátor sekrécie neurotransmitterov a hormónov Posilnenie kognitívnych funkcií Intenzívnejší čuch Integrácia motoriky

EFEKTY OPIOIDOV NA ICH RECEPTOROCH (SÚVISIACICH SO STRESOM)

Podtyp receptora	Endogénny ligand	Funkcia
κ	Dynorfíny >> Endorfíny & Enkefalíny	Supraspinaálna a spinálna analgézia Psychotomimetický efekt ↓tranzit GIT, jedenie Homeostáza vody, diuréza Dysfória
NOP	Nociceptín Orfanín FQ	Analgézia* Hyperalgézia*

*efekt závisí od koncentrácie ligandov



BUNKOVÝ STRES



BUNKOVÝ STRES

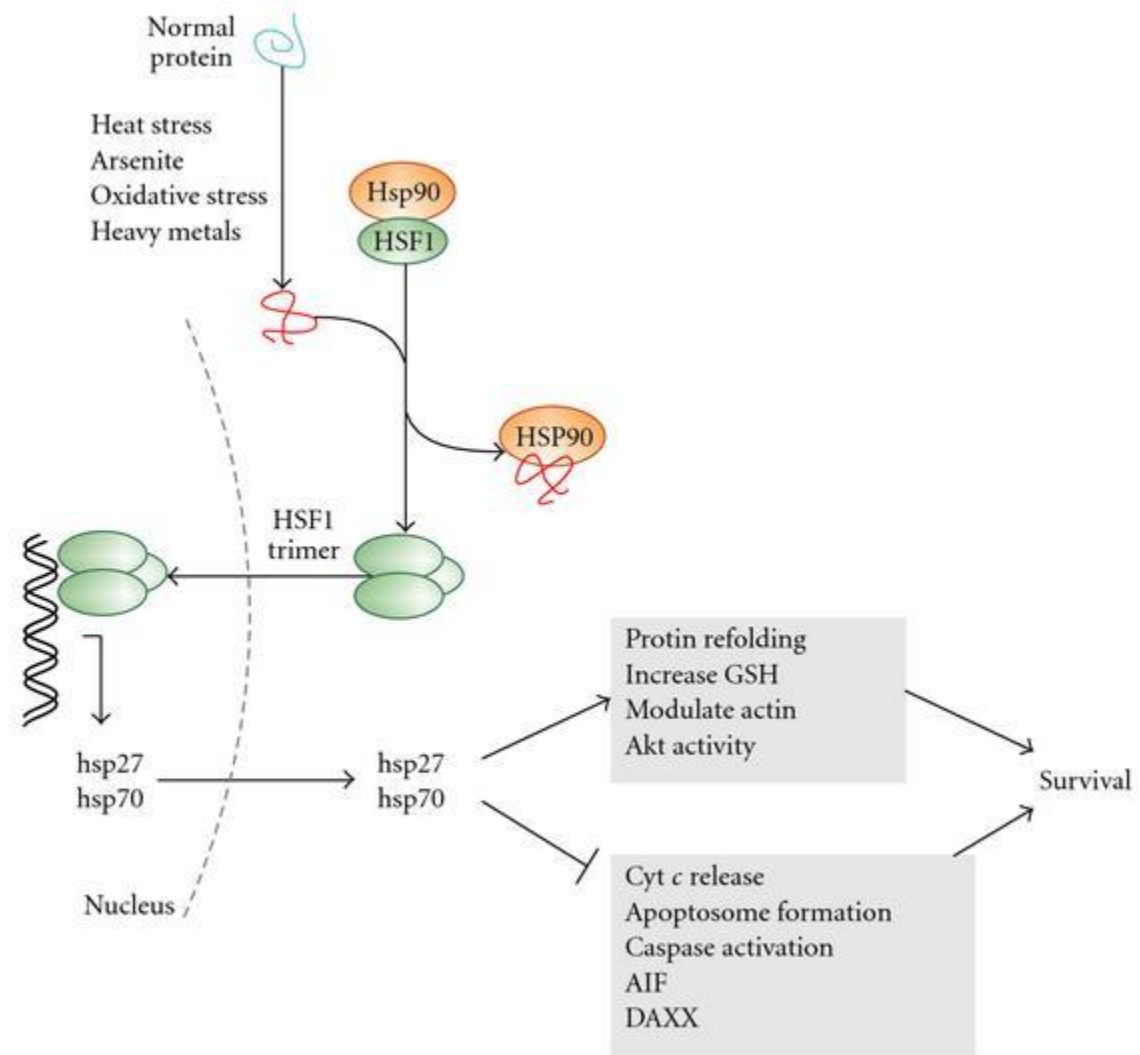
- Bunka odpovedá na stres s cieľom zvládnuť situáciu, umožniť jej zotavenie alebo spustiť kaskády bunkovej smrti pri nezvratnom/nadmernom poškodení
- Signálne kaskády prežitia
 - Odpoveď „tepelného šoku“ („the heat shock“)
 - Odpoveď „rozložených proteínov“ (nesprávne zložených, „unfolded protein response“)
 - Odpoveď poškodenia DNA
 - Odpoveď na oxidatívny a nitrozatívny stres
- Stresom indukovaná bunková smrť
 - Apoptóza, autofágia, nekróza
 - Vid' „typy bunkovej smrti“ pre detaily

ODPOVEĎ TEPELNÉHO ŠOKU

- Protektívna bunková odpoveď pri expozícii teplu (nárast 3 – 5 °C)
 - Aktivovaná tiež počas oxidačného stresu, intoxikácie ťažkými kovmi, chemoterapeutikami, absencii trofických faktorov
- Hlavný cieľ
 - Prevencia akumulácie nesprávne zložených proteínov
 - Prevencia apoptózy, nekrózy, etc.
 - Oprava a opätovné zloženie poškodených proteínov

ODPOVEĎ TEPELNÉHO ŠOKU – FAKTORY A PROTEÍNY

- Faktory odpovede tepelného šoku
 - Transkripčné faktory expresie protektívnych génov
 - HSF1 – odpoveď na tepelný šok, vývin
 - HSF2 – diferenciácia, asistancia efektu HSF1
 - HSF4 - diferenciácia
 - *HSF3 iba vo vtáčích bunkách (redundantný voči HSF1)*
- Proteíny tepelného šoku (Hsp)
 - Združené v podrodinách – 110, 90, 70, 60, 40, 15 – 30 kDa
 - Účinok ako chaperóny – oprava a zloženie nesprávne zložených proteínov
 - Prevencia apoptózy (oboch kaskád)
 - Konštantná expresia – napr. Hsp90 (prevencia predčasného skladania proteínov)
 - Inducibilné – napr. Hsp27, Hsp70



ODPOVEĎ TEPELNÉHO ŠOKU - MECHANIZMUS

- Iniciálna expozícia
 - Prevencia transkripcie a translácie -> redukcia rizika akumulácie nesprávne zložených proteínov
- HSF1 odpojený z Hsp90 + ko-chaperóny
 - Trimerizácia -> nukleárna translokácia
 - Väzba na “heat shock elements“ -> enhancia promótorov Hsps
- Hsp90 opravuje a znovu skladá poškodené proteíny
 - Takisto prevencia presunu Aif z mitochondrií do cytoplazmy

ODPOVEĎ TEPELNÉHO ŠOKU - MECHANIZMUS

- Hsp27, Hsp70
 - Blokáda uvoľnenia pro-apoptotických faktorov (napr. cytochróm c) z mitochondrií
 - Hsp27
 - Inhibícia uvoľnenia cytochrómu c, prokaspázy-3
 - Udržiavanie integrity aktínu
 - Inhibícia proteínu DAXX (blokáda prepojenia Fas receptorov a IRE1 (senzor stresu ER) na ASK1 a JNK pro-apoptotickú signalizáciu)
 - Interakcia so Ser/Thr-Akt-kinázou (prežívanie buniek)
 - Hsp70
 - Inhibícia prokaspáz-3, -7, Apaf-1, AIF (apoptózu-indukujúci faktor)
 - Komplex s ko-chaperónmi – DnaJ/Hsp40, BAG-1 (anti-apoptotické)

*IRE1 – inositol-requiring protein 1

ODPOVEĎ „ROZLOŽENÝCH PROTEÍNOV“/“THE UNFOLDED PROTEIN RESPONSE“ (UPR)

- Lokalizácia – endoplazmatické retikulum (ER)
 - Spracovanie sekrečných a membránových proteínov
 - Posttranslačné modifikácie – glykozylácia, formovanie disulfidických mostíkov, správne skladanie a oligomerizácia
- ER stres
 - Agregácia nesprávne zložených proteínov v ER
 - Spúšťače
 - Nedostatok (hladovanie) glukózy
 - Inhibícia glykozylácie proteínov
 - Porucha homeostázy Ca^{2+}
 - Nedostatok kyslíka

ODPOVEĎ „ROZLOŽENÝCH PROTEÍNOV“/“THE UNFOLDED PROTEIN RESPONSE“ (UPR)

- Akumulácia „rozložených“ proteínov v ER -> aktivácia IRE1, PERK, ATF6
 - Niektoré tkanivá aktivujú ďalšie faktory - OASIS, CREB-H, Tisp40, Luman
- Cieľové gény UPR
 - Molekulárne chaperóny ER
 - Katalyzátory skladania proteínov
 - Komplex Sec61 – podjednotky systému translokácie
 - ERAD („ER-associated degradation“) molekuly
 - Gény pre antioxidanty



IRE1

PERK

ATF6

**UNFOLDED
PROTEIN RESPONSE**

IREI, PERK A ATF6 POČAS ODPOVEDE „UPR“

■ Transmembránové proteínkinázy typu I

1. IREI

- Štiepenie mRNA pre XBPI -> „spliced“ typ **XBPI**

2. PERK

- Fosforylácia α -podjednotky eIF2 (eIF2 α) -> \downarrow eIF2
- **ATF4** aktivácia (CAP-nezávislá cesta)
 - Fosforylácia Nrf2 -> \uparrow antioxidačnej kapacity -> redoxná homeostáza

■ Transmembránové proteínkinázy typu II

1. ATF6

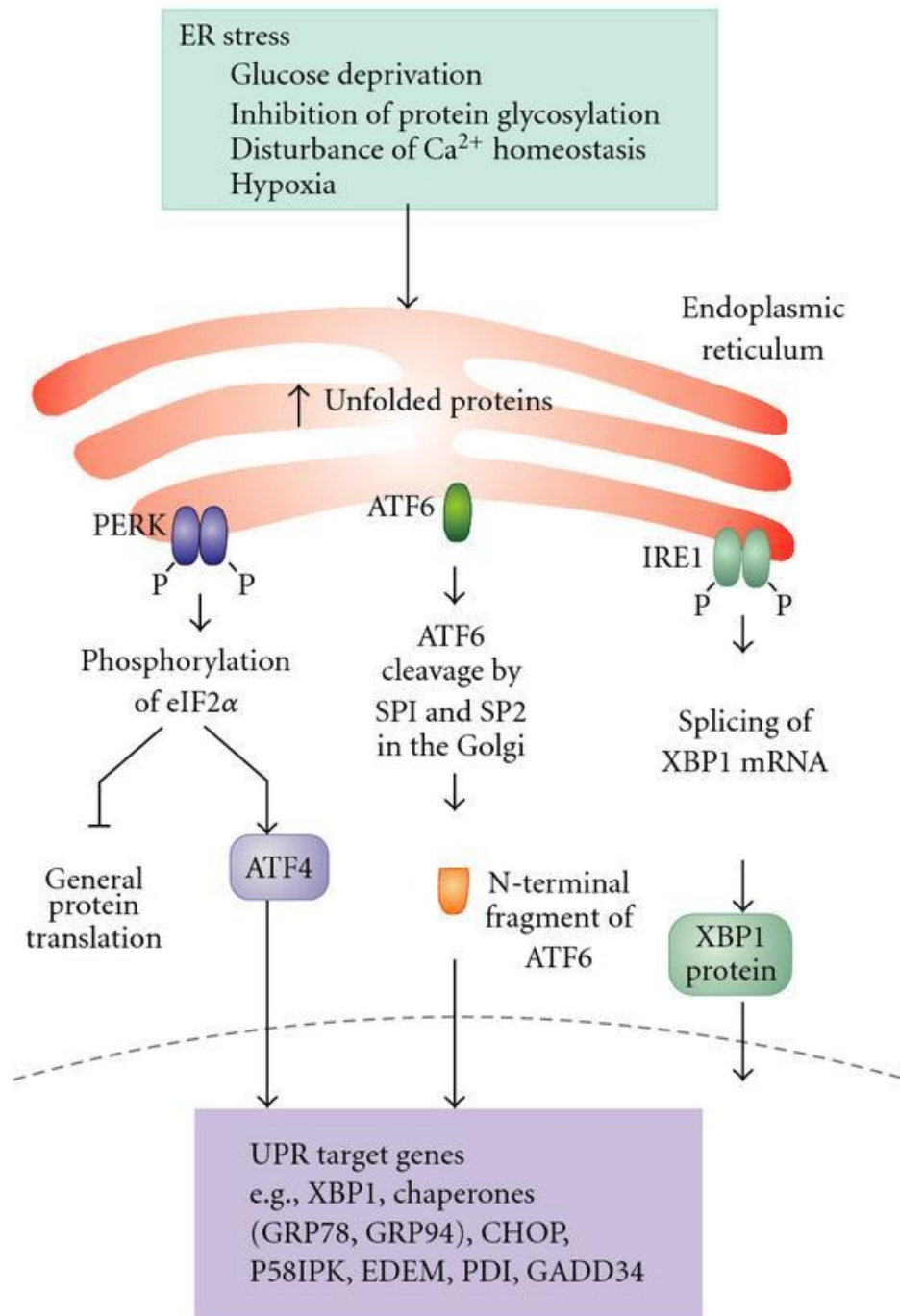
- Štiepený prostredníctvom SPI a SP2 počas stresu ER
- **N-terminálny fragment ATF6** ako efektor

Aktivácia
cieľových génov
UPR

MECHANIZMY UPR

- Hlavný cieľ
 - Udržať rovnováhu nálože proteínov a „skladacej“ kapacity ER
 - Zlepšenie sekrécie trofických a rastových faktorov
- ER-indukovaná apoptóza
 - Prekročenie „skladacej“ kapacity
 - Kaskády
 - Kaspázy-12/-4 -> štiepenie prokaspázy-9 (nezávislé na cytochróme c/Apaf1)
 - CHOP – ↓expresia Bcl2, ↑expresia Bim
 - IRE1-JNK – IRE1 väzba na ASK 1 a Traf2 -> aktivácia JNK

CHOP – C/EBP homológny proteín; Bcl2 – „B-cell lymphoma“ 2, Bim – Bcl2-interagujúci mediátor bunkovej smrti, ASK1 – signály apoptózy regulujúca kináza 1 (alias MAP3K5), Traf2 – faktor 2 asociovaný s TNF-receptorom, Apaf1 – faktor 1 aktivujúci apoptotické proteázy



CIEĽOVÉ GÉNY UPR

- ER stres -> aktivácia ERSE -> transkripcia glukózou-regulovaných proteínov (GRPs)
- GRPs
 - Ochrana proti hypoxii/ischémii, excitotoxicite glutamátu, neurodegenerácii
 - Molekulárne chaperóny – rozpoznanie nesprávne zložených proteínov a ich oprava
 - GRP78/Bip – prevencia aterosklerózy (ochrana endoteliálnych buniek, inhibícia SREBP)
 - GRP94
 - ORP150/GRP170 – zvyšovanie senzitivity tkanív na inzulín
 - Oxidoreduktázy
 - PDI, ERp72, aGRP58/ERp57

UPR A OCHORENIA

- Zlyhanie udržania prežitia buniek prostredníctvom C/EBPs homológnych proteínov (CHOP) môže prispieť k rozvoju
 - Ischemicko/reperfúzneho poškodenia
 - Diabetes mellitus
 - Aterosklerózy
 - Endokrinopátií
 - Vývojové poruchy
 - Neurodegeneratívne ochorenia
 - Nádory

ODPOVEĎ POŠKODENIA DNA

- Protektívna odpoveď voči poškodeniu integrity DNA
 - Zmeny/poškodenie nukleotidov – oprava excíziou nukleotidu (NER), bázy (BER), „DNA mismatch“ (MMR)
 - Jednovláknové zlomy („single-strand breaks“ - SSB)
 - Dvojvláknové zlomy (DSB)
- Spúšťače
 - Expozícia radiácii, UV svetlu
 - Polycyklické uhľovodíky
 - Protinádorové lieky – interkalačné, alkylujúce, „cross-linking“ látky, inhibítory topoizomerázy, analógy nukleotidov
- DNA je zraniteľnejšia počas replikácie -> generovanie SSBs
 - SSBs sú tiež využívané na opravy dsDNA

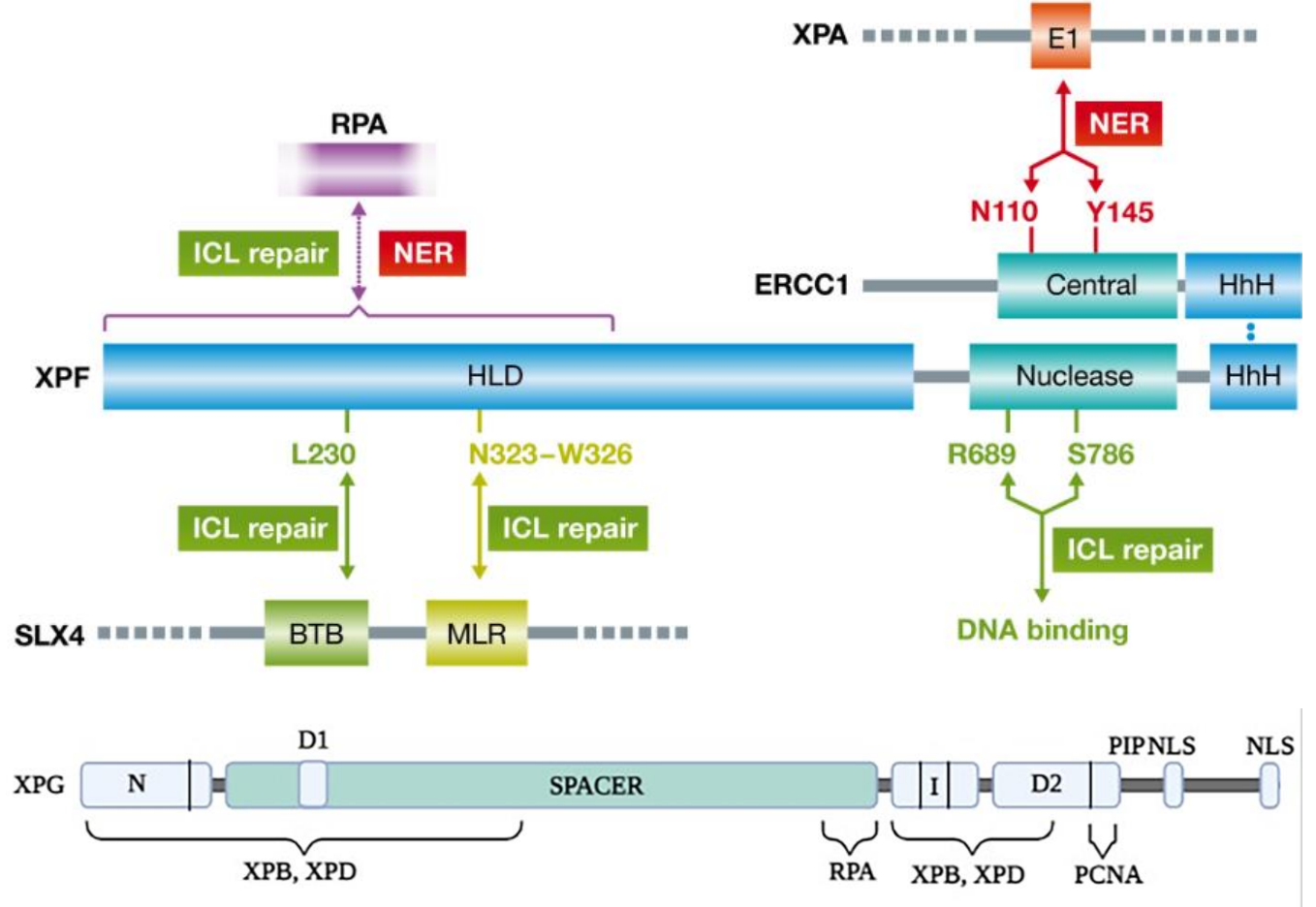
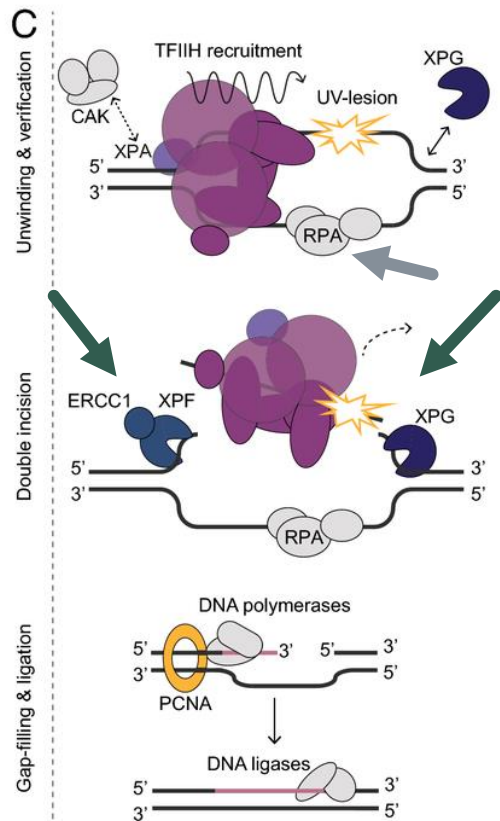
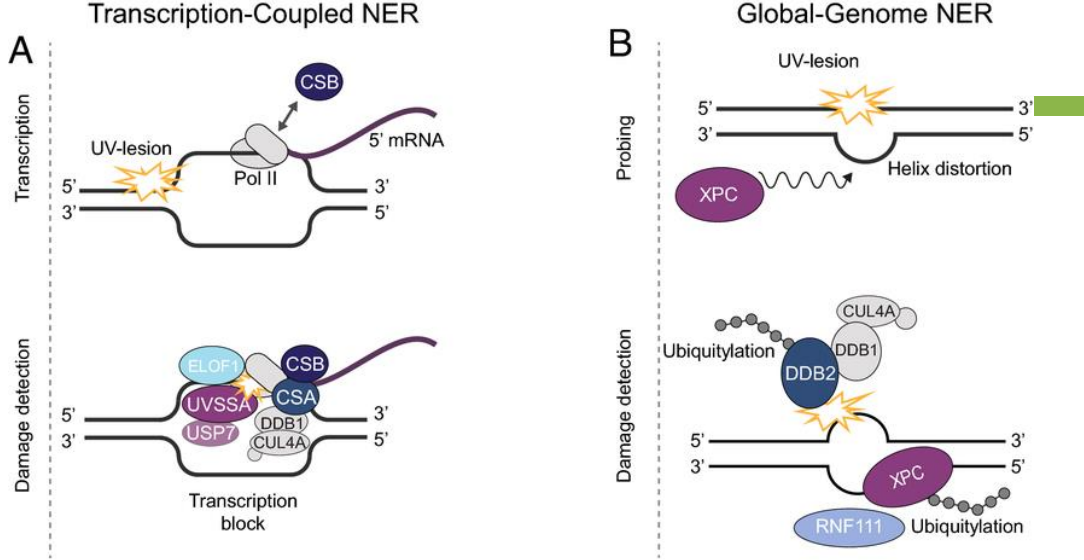
OPRAVA EXCÍZIOU NUKLEOTIDU („NUCLEOTIDE EXCISION REPAIR“ - NER)

- Detekcia poškodenia DNA (vypuklé – „bulky“ lézie)
 - Spojená s transkripciou (TC-NER)
 - DNA polymeráza II (Pol II) detekuje poškodenie -> regrutovanie CSB
 - Pol II + CSB -> regrutovanie CSA -> formácia komplexu CRL4CSA (+DDBI, CUL4A, RBX1)
 - CRL4CSA reaguje s ELOF1, ubikvitinácia CSB, Pol II (degradácia)
 - regrutovanie UVSSA + USP7 -> regrutovanie TFIIH -> de-ubikvitinácia CSB
 - Globálna genómová (GG-NER)
 - DDB2 formuje komplex CRL4DDB2 -> detekcia poškodenia -> väzba s XPC (auto-ubikvitinácia komplexu a ubikvitinácia XPC)
 - Stabilná väzba s XPC -> regrutovanie TFIIH -> rozpojenie XPC

CSA, CSB – proteíny Cockanovho syndrómu A, B; CRL4 – „culling 4-RING“-ubikvitínligáza; DDB1 – „damage specific“ DNA-viažuci proteín 1; CUL4A – „cullin 4A“, RBX1 – „Ring-box“ I, ELOF1 – faktor elongácie I; TFIIH – trankripčný faktor II H; UVSSA – UV stimulovaný rámčový („scaffold“) proteín A; USP7 – ubikvitín špecifická peptidáza 7; DDB2 – „DNA damage“-viažuci proteín 2;

OPRAVA EXCÍZIOU NUKLEOTIDU (NER)

- Jadro mechanizmu NER
 - Stabilné UVSSA alebo XPC verbujú TFIIH -> rozvinutie DNA (helikázovou aktivitou)
 - TFIIH ako hlavný verifikátor poškodenia
 - XPA nahradí komplex TFIIH CAK -> zvýšenie helikázovej aktivity
 - RPA sa viaže k nepoškodenému vláknu
 - Spolu s XPA dohliadajú na umiestnenie endonukleáz
 - ERCCI-XPF na 5' pozíciu lézie
 - XPG na 3' pozíciu lézie
 - Excízia oligonukleotidov
 - PCNA umiestňuje DNA polymerázu- δ -> polymerizácia a ligácia DNA



RPA – replikačný proteín A – hlavný senzor poškodenia DNA a regrutér endonukleáz (svetlozelená šípka)

<https://www.researchgate.net/publication/358936217/figure/fig1/AS:1149288776253440@1651023205508/Nucleotide-excision-repair-mechanism-A-Transcription-coupled-NER-Pol-II-stalling-at-UV.png>

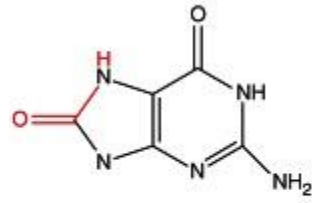
https://media.springernature.com/full/springer-static/image/art%3A10.1007%2Fs11033-022-07324-1/MediaObjects/11033_2022_7324_Fig1_HTML.png?as=webp

<https://www.embopress.org/cms/asset/aa9c98b7-9e38-4033-88f5-2a2a70ccc655/embj201797489-fig-0001-m.png>

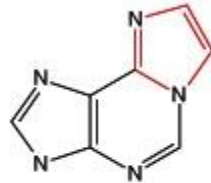
OPRAVA EXCÍZIOU BÁZY

- Oprava nukleotidu zasiahnutého oxidáciou, deamináciou, alkyláciou, metyláciou, etc. (nevypuklé – „non-bulky“ lézie; nedochádza k závažnému ovplyvneniu helikálnej štruktúry)
- Mechanizmus opravy
 1. Rozpoznanie poškodenia – DNA-glykozylázou (II typov) -> vyklopenie („flip out“) bázy a vznik abázického miesta
 2. Excízia bázy AP (apurínovou/apyrimidínovou) endonukleázou I (APEI)
 3. Incízia AP-lyázou – štiepenie blokujúcej C-O-P väzby zapurínového 3' konca
 4. End-processing – mediované PNKP - formovanie –OH skupiny (3' koniec) a fosfátovej skupiny (5' koniec)
 5. Reparačná syntéza
 1. „Short patch“ – 1 nukleotid
 2. „Long patch“ – cca 2 – 13 nukleotidov

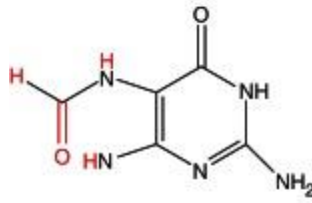
Purine lesions



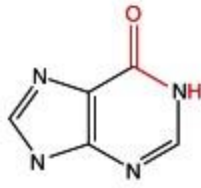
8-Oxoguanine
(oxidation)



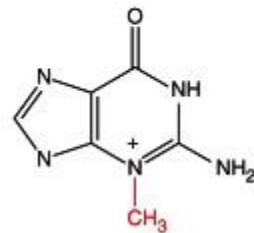
Ethenoadenine
(lipid peroxidation)



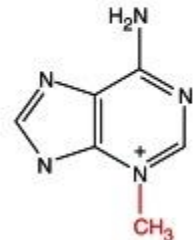
FapyG
(oxidation)



Hypoxanthine
(deamination)

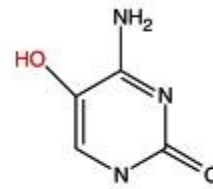


3-Methylguanine
(alkylation)

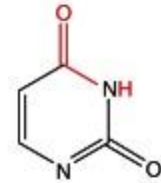


3-Methyladenine
(alkylation)

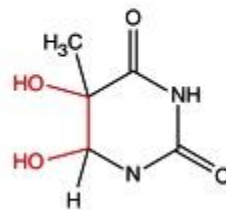
Pyrimidine lesions



5-Hydroxycytosine
(oxidation)

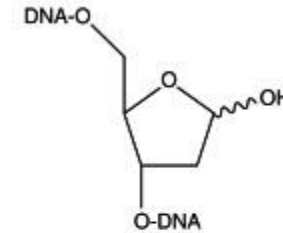


Uracil
(deamination)

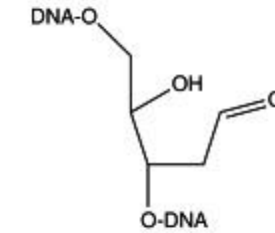


Thymine glycol
(oxidation)

Abasic sites



Hemicetal



Aldehyde



Rôzne lézie purínových, pyrimidínových nukleotidov a zmeny na abázickej pozícii

https://cdn.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/blobs/2dba/3683898/ed65ddb5609b/cshperspect-DAM-012583_F1.jpg

OPRAVA „SHORT PATCH“ VS. „LONG PATCH“

Short patch (1 nukleotid)

5. Reparačná syntéza

- Katalyzovaná DNA polymerázou β (ev. náhrada DNA pol λ)
 - Inzercia jedného nukleotidu a odstránenie 5'-deoxyribózafosfátu

6. Ligácia

- DNA-ligáza III a kofaktor (XRCCI)

Long patch (cca 2 – 13 nukleotidov)

5. Reparačná syntéza

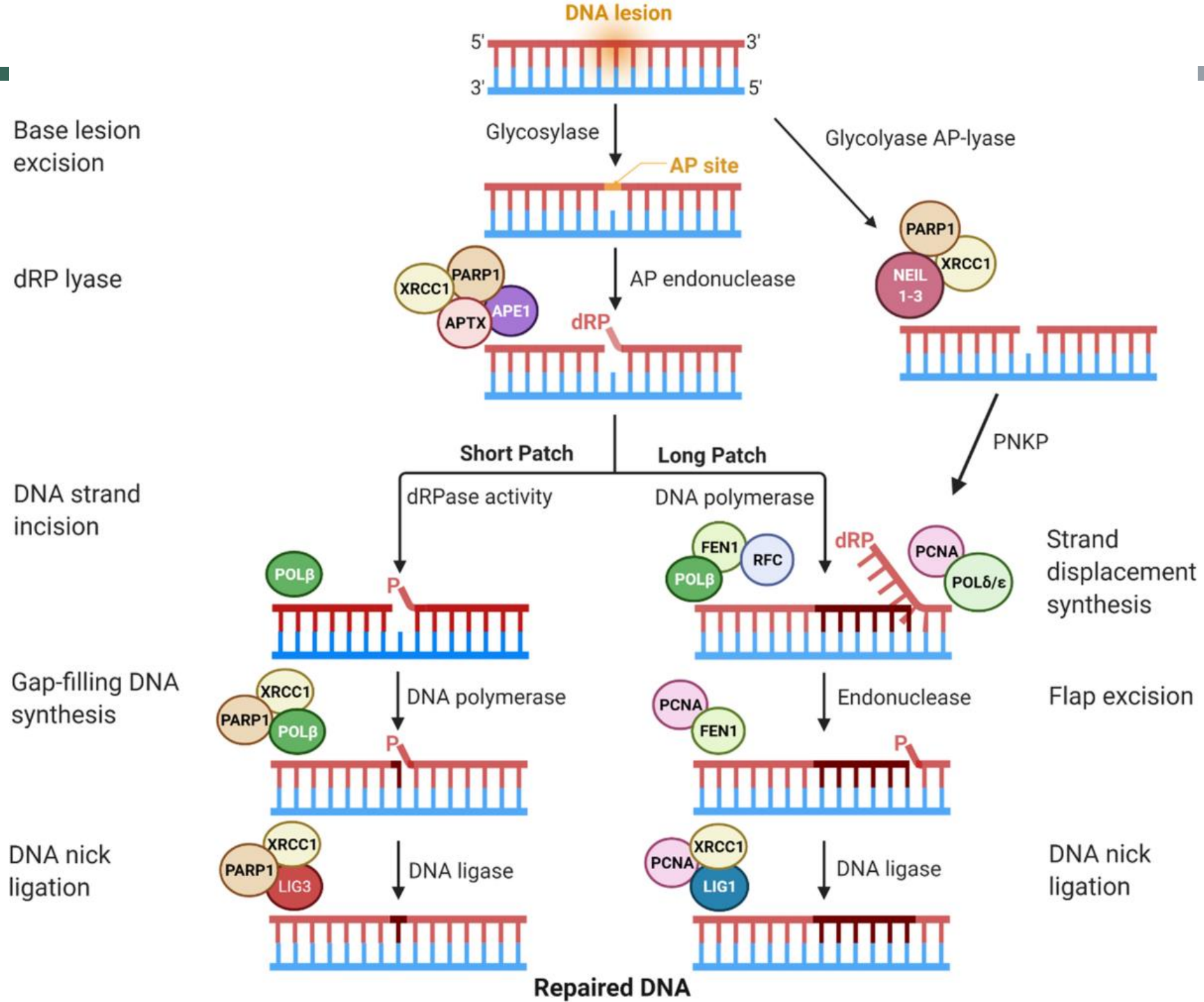
- Katalyzovaná DNA polymerázou β (ev. náhrada DNA pol λ)
- Mediovaná DNA polymerázami δ, ϵ (kofaktor PCNA)
 - Podobne ako pri replikácii DNA

6. Flap endonukleáza I (FEN1)

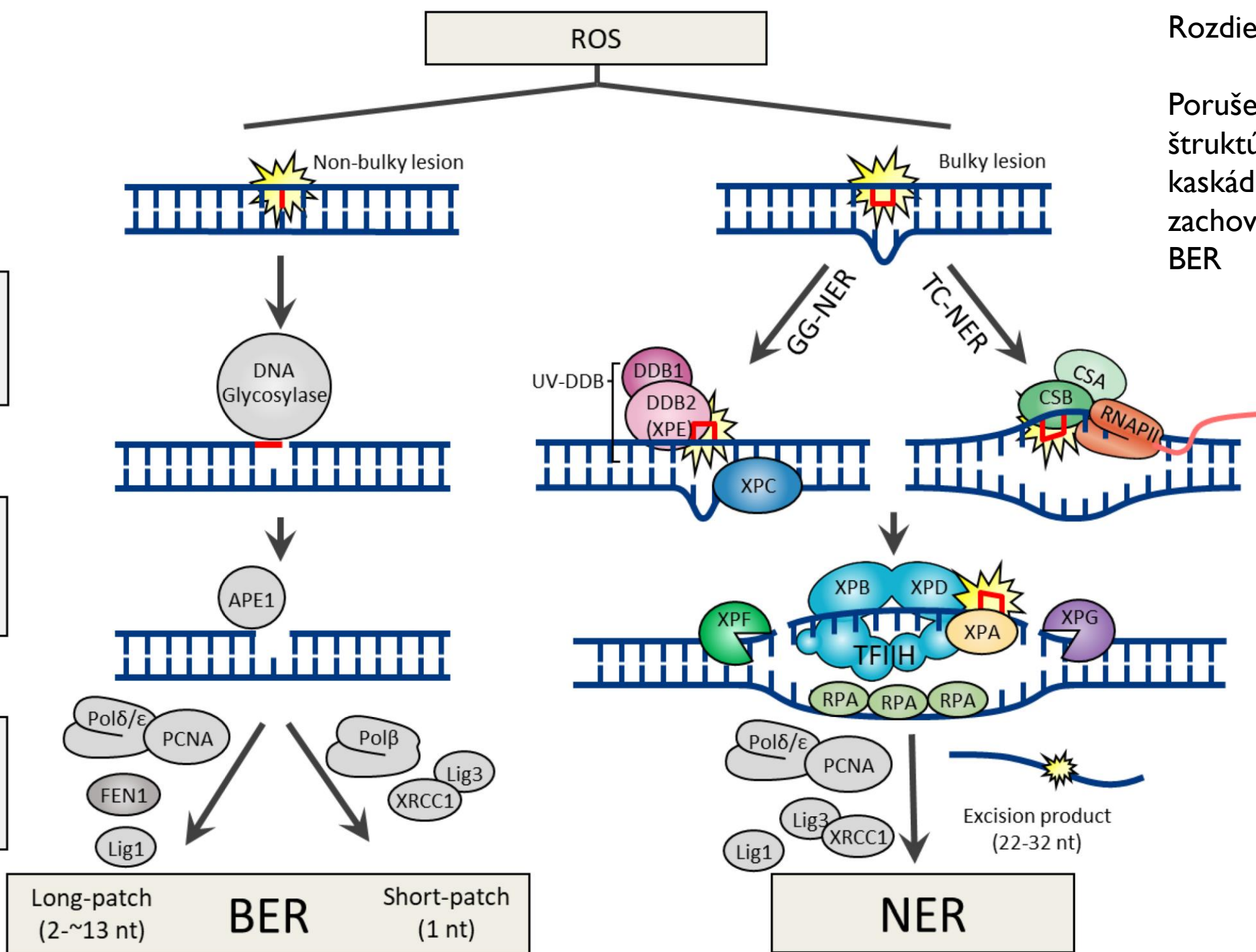
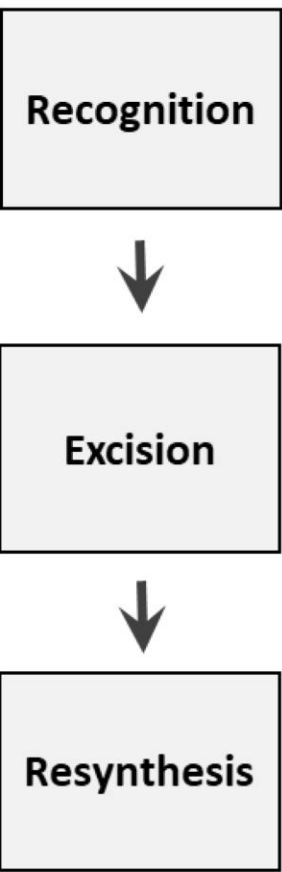
- Preferencia preklopenia reťazca nukleotidov cez 5' (podobne ako odstraňovanie Okazakiho fragmentov)

7. Ligácia

- DNA ligáza I



Porušenie helikálnej štruktúry stimuluje kaskádu NER, pri jej zachovaní sa uprednostní BER



„DNA MISMATCH“ OPRAVA (MMR)

- Systém odstraňovania chýb v DNA spôsobených nesprávnou inzerciou, deléciou alebo začlenením báz počas replikácie, rekombinácie alebo pri detekcii náhodného poškodenia DNA
- Špecifická pre vlákno DNA
- Faktory
 - MSH proteíny (MutS homologické proteíny) – diméry MSH2/MSH6 (MutS α) a MSH2/MSH3 (MutS β)
 - MutS α – substitúcia báz a „small-loop“ oprava (<10 nukleotidov), MutS β – „small-loop“ a „large-loop“ (cca 10 nukleotidov)
 - MLH proteíny (MutL homologické proteíny) – MutL α (MLH1+PMS2), - β (MLH1+PMS1), - γ (MLH1+MLH3)
 - Najvýznamnejšia je MutL α (+PCNA) – slúži podobne ako endonukleázy -> umožňuje efekt exonukleáz a opravu
- Zlyhanie alebo insuficiencia vedie k mikrosatelitovej nestabilite („microsatellite instability“) – 100 – 1000-násobne vyššia frekvencia chýb - možná úloha v karcinogéze (napr. kolorektálny karcinóm, Lynchov syndróm)

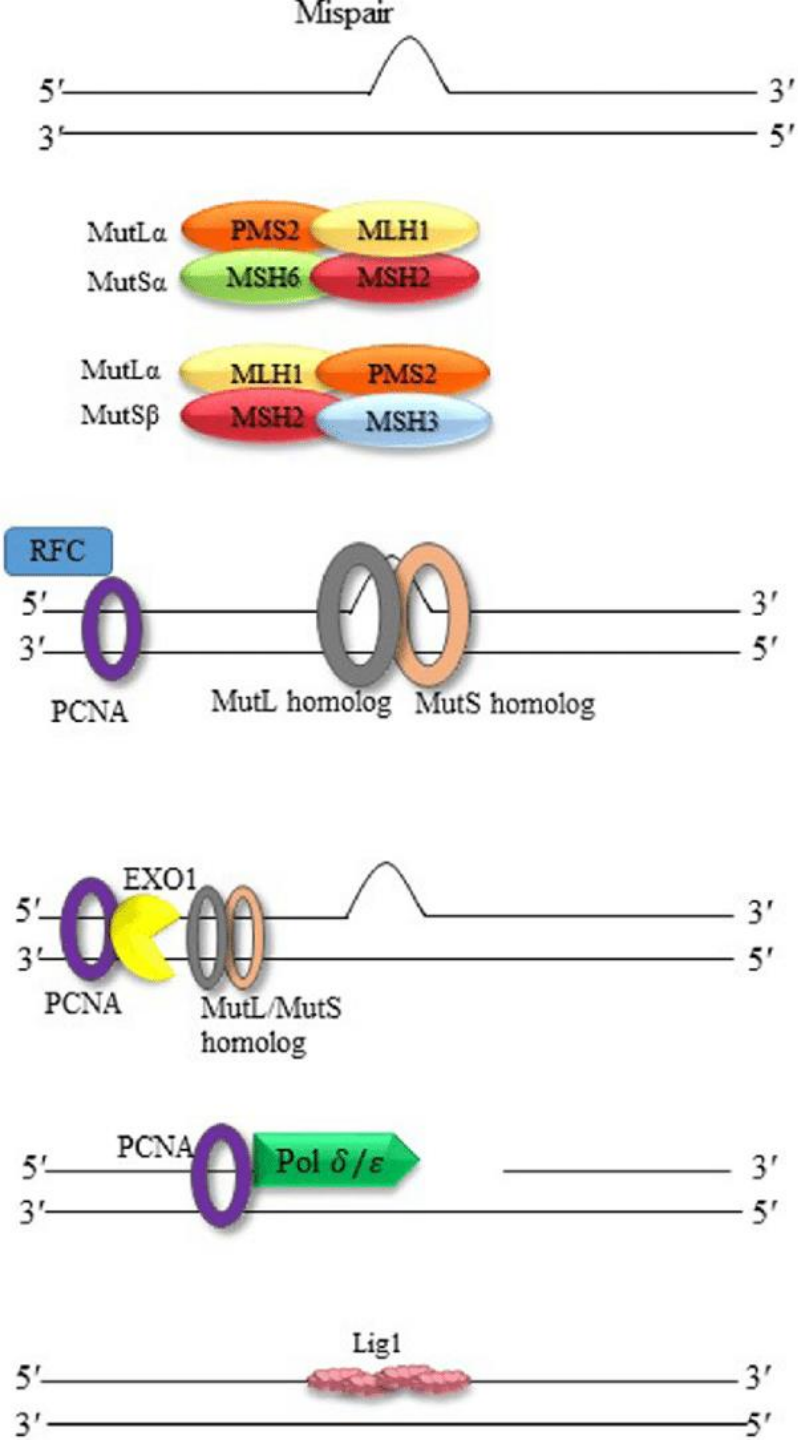
„DNA MISMATCH“ OPRAVA (MMR)

■ Navrhované mechanizmy

1. Statická („trans“) aktivácia – MSH/MLH komplex sa usporiada okolo poškodenej časti (dnes obsolétna)
2. Dynamická („cis“) aktivácia
 - a) Translokácia závislá na hydrolýze – vytváranie „slučky“ až do dosiahnutia zlomu vlákna (vyžaduje väzbu ATP ev. hydrolýzu)
 - b) „Molecular Switch Sliding Clamp“ (MSSC) – komplex sa vytvorí pri poškodenom mieste a migruje, až nájde zlom vlákna ev. PCNA (oštiepenie RFC – rekrutácia exonukleázy I, pôsojacej v smere 5' -> 3')

■ Priebeh (MSSC)

1. Rozpoznanie poškodenia prostredníctvom MSH
2. Rekrutácia MLH za použitia ATP a migrovanie komplexu k najbližšiemu PCNA
3. Excízia časti DNA s poškodeným nukleotidom – exonukleáza I
4. Syntéza DNA polymerázami δ , ϵ a spojenie ligáciou (DNA ligáza I)

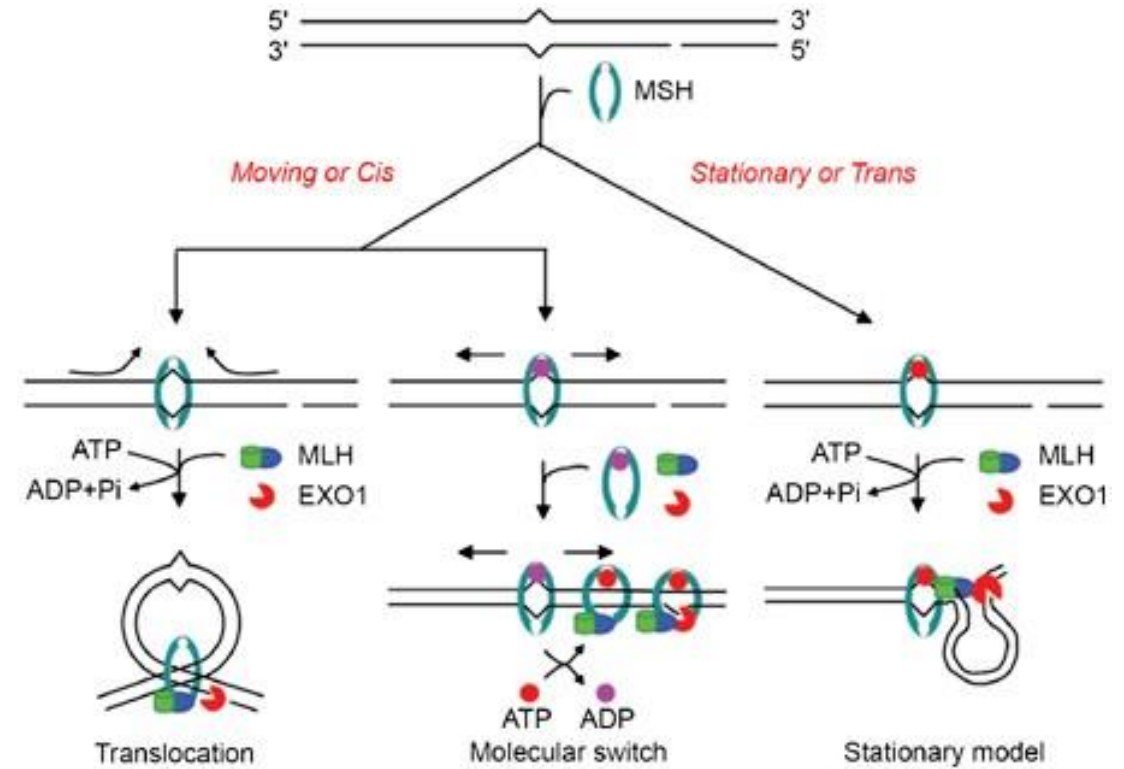


Lesion detection

Excision

Resynthesis

Ligation

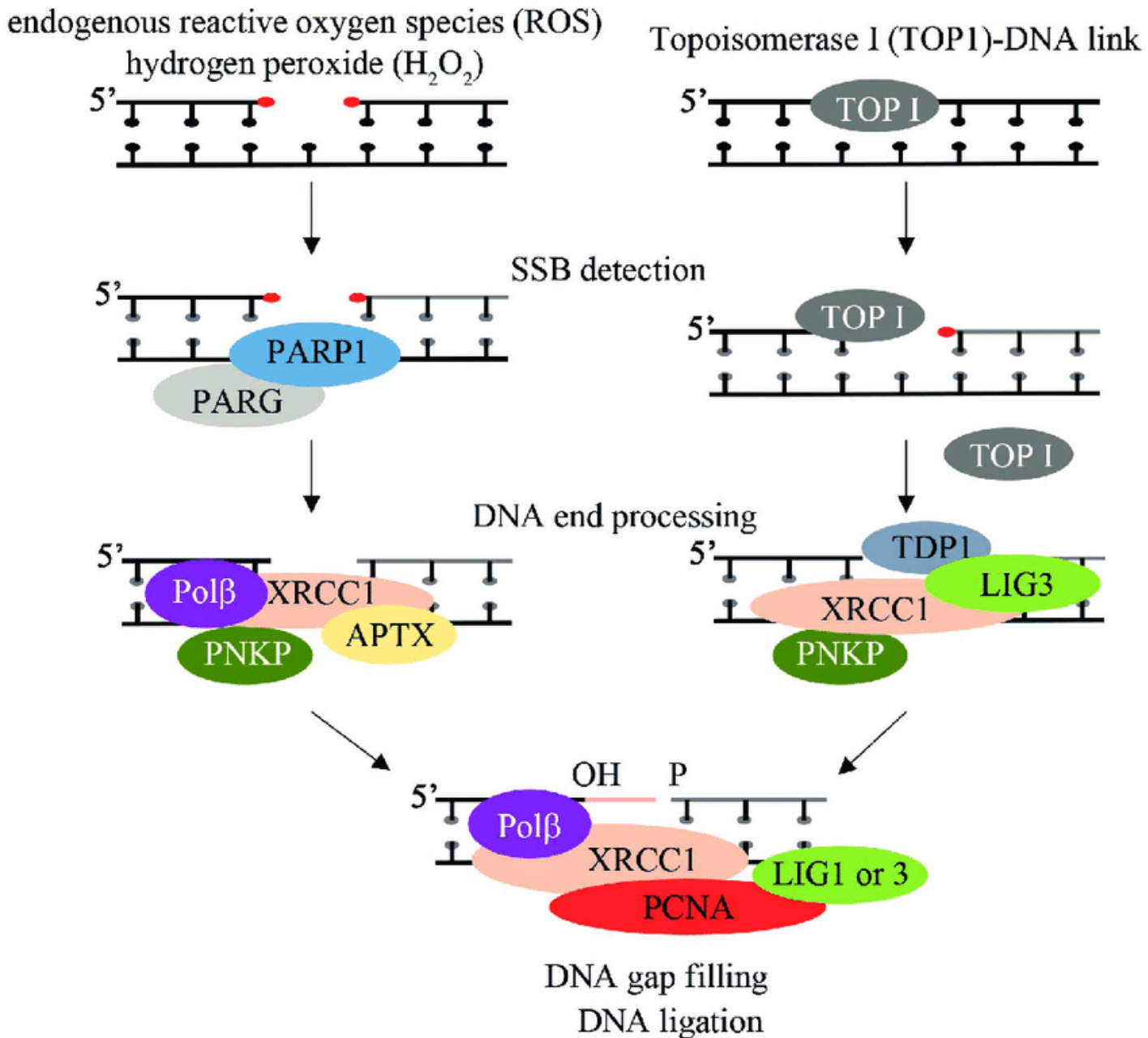


<https://www.researchgate.net/profile/Fatemeh-Alikarami/publication/343681567/figure/fig1/AS:941990179000320@1601599368428/Schematic-illustration-of-mammalian-MMR-MMR-machinery-is-initiated-once-MutS-identifies.png>

https://media.springernature.com/full/springer-static/image/art%3A10.1038%2Fcr.2007.115/MediaObjects/41422_2008_Article_BFcr2007115_Fig1_H_TML.jpg?as=webp

OPRAVA JEDNOVLÁKNOVÝCH ZLOMOV

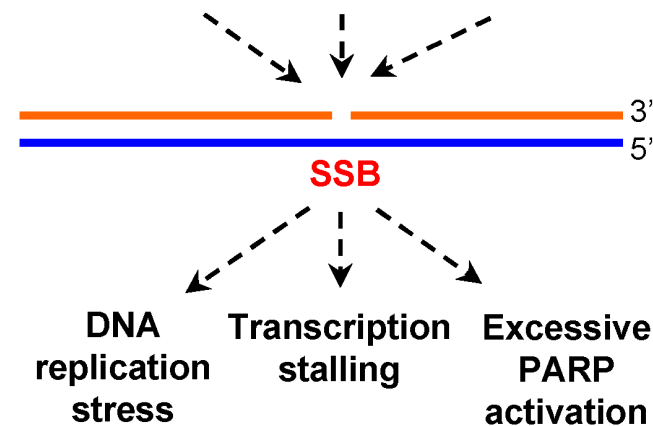
- Zlomy vznikajúce buď pri replikácii alebo vystavení mutagénom (ROS, ionizujúce žiarenie, deaminácia, alkylácia, etc.) alebo počas opráv BER
- Považovaná za podtyp BER – hlavná úloha faktorov PARP a XRCCI ev. TOPI
- Mechanizmus
 1. Detekcia jednovláknového zlomu prostredníctvom PARP1/PARP2 (spotreba NAD⁺)/topoizomerázou I (TOPI) -> automodifikácia a modifikácia proteínov, napr. histónov
 2. Odstránenie blokujúcej skupiny z 5' alebo 3' konca – APEI
 3. Reparačná syntéza – DNA polymerázy δ , ϵ , ev. B
 4. Ligácia DNA – DNA ligáza III, ev. I
- Úloha faktora XRCCI – prepájanie PARP, DNA polymeráz a DNA ligáz
- Zlyhanie vedie k cca 10- až 12-násobnej akumulácii chýb -> potenciálna úloha v karcinogenéze



DNA sugar or
base damage

DNA repair
intermediate

Abortive
Top1



Subcellular
localization:
1) Nucleus
2) Mitochondria

Genome Instability

Cancer

Neuro-
degenerative
diseases

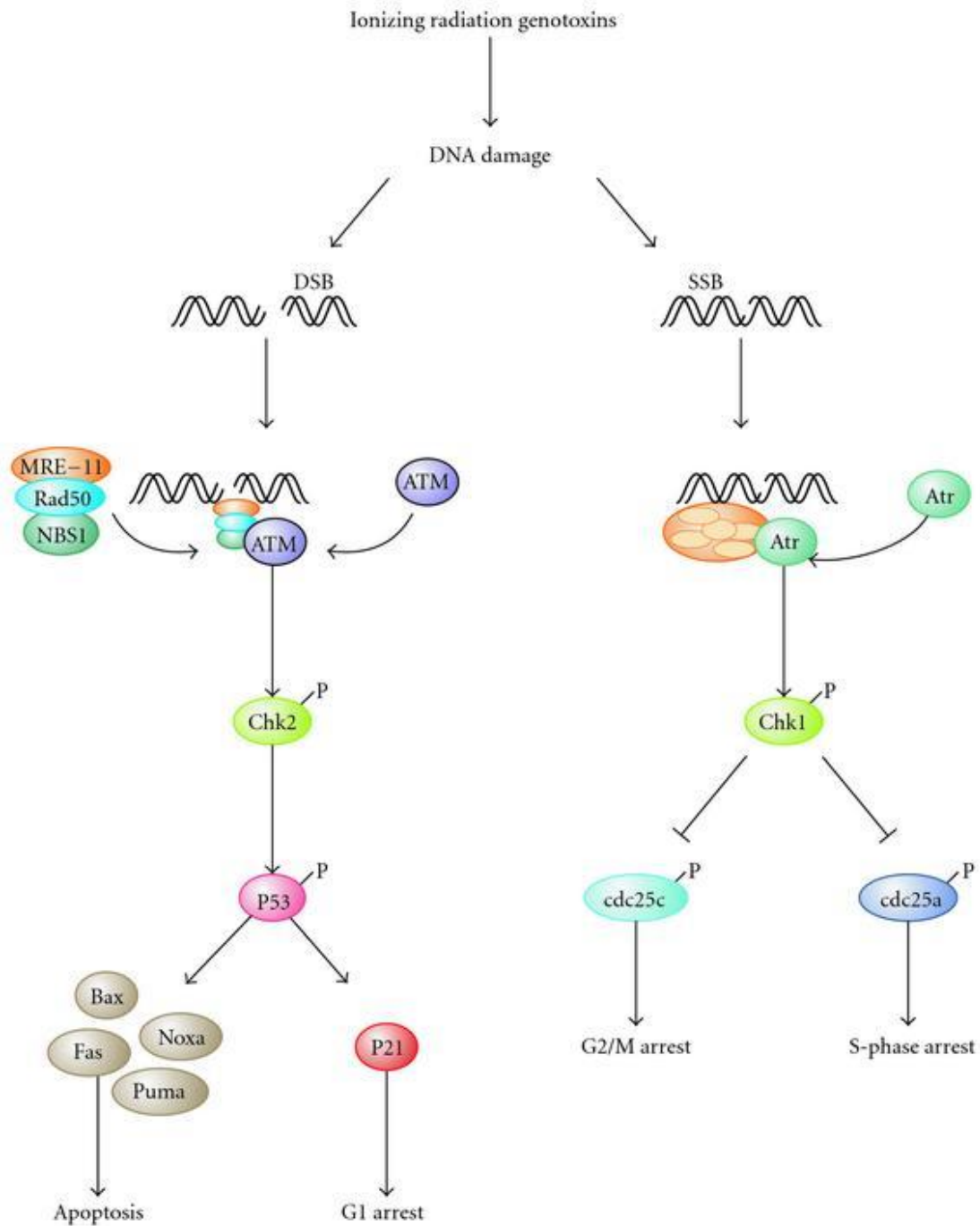
Heart failure

<https://www.researchgate.net/publication/304614066/figure/fig/AS:614088711356421@1523421566647/DNA-single-strand-break-SSB-repair-DNA-SSBs-could-result-from-oxidative-attacks-by.png>

https://www.mdpi.com/ijms/ijms-19-02389/article_deploy/html/images/ijms-19-02389-g001.png

OPRAVA DVOJVLÁKNOVÝCH ZLOMOV

- Detekcia DSBs
 - ATM („ataxia teleangiectasia mutated“) regrutovaná do komplexu MRN
 - Väzba k poškodenému vláknu -> fosforylácia Chk2 (checkpoint kináza 2) a p53
 - P53 indukuje transkripciu
 - Regulačných proteínov – p21 (G1 „arrest“)
 - Pro-apoptických faktorov – CD95 (FasR), PUMA, BAX
 - Reguluje mitochondriálnu (vnútornú) cestu apoptózy
 - Je možné poškodenie opraviť?
 - ÁNO – začiatok opravy DNA
 - NIE – upregulácia NF- κ B, p53, JNK, alebo MAPK/ERK -> bunková smrť



DSBs -> ATM a Chk2 regrutácia
 SSBs -> ATR a Chk1 regrutácia

Stanovenie rozsahu poškodenia

Zástava bunkového cyklu

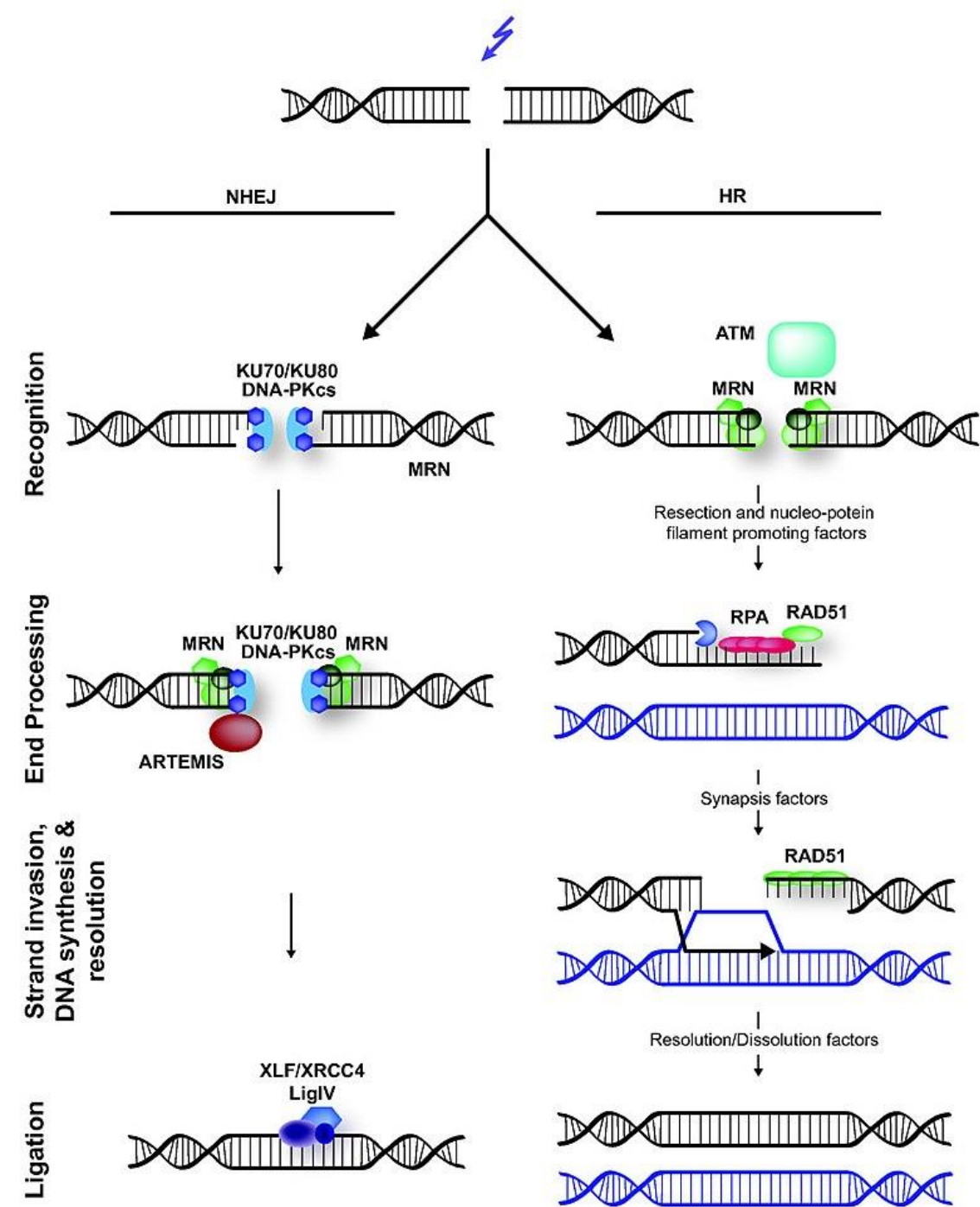
Bunková smrť

ATR – „ataxia teleangiectasia and Rad3 related“

<https://static.hindawi.com/articles/ijcb/volume-2010/214074/figures/214074.fig.003.jpg>

OPRAVA DVOJVLÁKNOVÝCH ZLOMOV

- Kaskáda spájania non-homológnych koncov („Non-homologous end-joining pathway“ - NHEJ)
 - Opravné proteíny ako DNA-PK (DNA-dependentná proteínkináza), Ku70, Ku80
 - Oprava spojov medzi vláknami DNA
 - Slúži ako kaskáda prežitia pri (malígnych) nádoroch
 - Takisto dôležitá pri „V(D)J“ rekombinácii B- a T-lymfocytov – „náchylná k chybám“ – zvyšuje diverzitu sekvencií kódovaných génmi (porucha vedie k SCID)
- Homológna rekombinácia (HR)
 - Rad51 promótuje homológne párovanie



NHEJ kaskáda (vľavo), HR (vpravo)

MRN komplex – skladá sa z Mre I I, Rad50 a Nbs I

Artemis – faktor promótujúci NHEJ

- Kódovaný DCLRE1C génom

Rad51 – promócia

Rozhodnutie o voľbe medzi HR a NHEJ sa udeje počas prvého kroku opravy!

OPRAVA POŠKODENIA DNA - SÚHRN

- Oprava dvojláknových zlomov spolupracuje s kaskádami pre SSBs a opravy poškodených nukleotidov (NER, BER), ev. nesúladu DNA (MMR)
- DNA oprava môže stav zlepšiť, ale aj byť náchylná k rozvoju nových mutácií!
 - Malígne nádory môžu potláčať reparačné kaskády alebo cielene využívať ich chybovosť (napr. NHEJ)
 - Možná úloha pri kongenitálnych, vývinových, či neurodegeneratívnych ochoreniach (napr. Alzheimerova choroba – delécia génu pre DNA pol β ; ataxia s okulárnou motorickou apraxiou podtyp 1, 4)
 - Zlyhávanie srdca (?), KVS-ochorenia (?)

ODPOVEĎ NA OXIDAČNÝ A NITROZATÍVNÝ STRES

- Rovnováha medzi reaktívnymi formami kyslíka (ROS) a dusíka (RNS)
- Zdroje ROS a RNS
 - Endogénne
 - Exogénne
- Antioxidačná obrana
 - Enzymatická
 - Superoxiddizmutáza (SOD), kataláza (CAT), glutatiónreduktáza (GRed) a peroxidáza (GPX)
 - Neenzymatická
 - Vitamín C, E
 - Glutatión, Transferín, feritín, hemopexín, kyselina močová, flavonoidy, karotenoidy, ubichinón...

ZDROJE OXIDAČNÉHO A NITROZATÍVNEHO STRESU

Endogénne	Exogénne
Oxidatívna fosforylácia	Radiácia – ionizujúce, gama, UV-žiarenie
Respiračné vzplanutie	Ultrazvuk
NO-syntáza (endoteliálna, inducibilná, neurálna)	Ozón, oxidy dusíka a iné znečisťovatele
Metabolizmus kyseliny arachidonovej	Xenobiotiká (ťažké kovy, adriamycín, primachín...)
Systémy monooxygenáz - cytochróm P 450	Fajčenie
Ischemicko-reperfúzne poškodenie	
Glykácia proteínov	

ROS A RNS

Voľné radikály		Molekuly bez nespárovaných elektrónov	
Reaktívne formy kyslíka			
Superoxid	$\cdot\text{O}_2^-$	Peroxid vodíka	H_2O_2
Hydroxylový radikál	$\text{HO}\cdot$	Ozón	O_3
Perhydroxyradikál	$\text{HOO}\cdot$	Singletonový kyslík	$^1\text{O}_2$
Reaktívne formy dusíka			
Oxid dusnatý	$\text{NO}\cdot$	Peroxynitrit	OONO^-
Oxid dusičitý	$\text{NO}_2\cdot$	Kyselina peroxynitritová	HOONO
		Alkylperoxynitrit	ROONO^-
Reaktívne organické molekuly			
Alkylový radikál	$\text{R}\cdot$	Alkylhydroperoxid	ROOH
Alcoxylový radikál	$\text{RO}\cdot$	Alkylperoxynitrit	ROONO^-
Peroxylový radikál	$\text{ROO}\cdot$		
Tiolový radikál	$\text{RS}\cdot$		
Iné			
		Kyselina hypochlórna	HOCl

PRODUKCIA ROS - REAKCIE

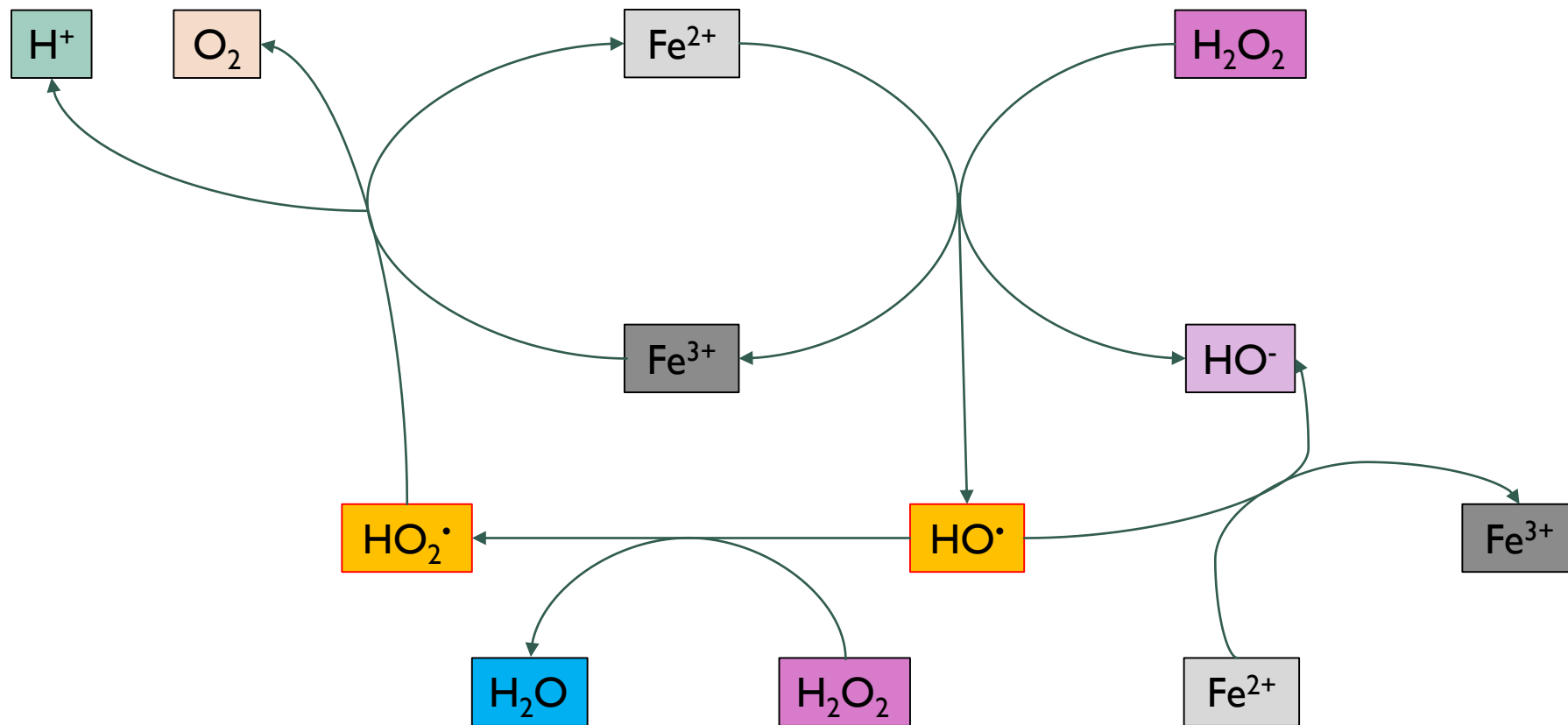
- Fentonova reakcia



- Haber-Weissova reakcia (Fentonova reakcia na báze superoxidu, zjednodušená)

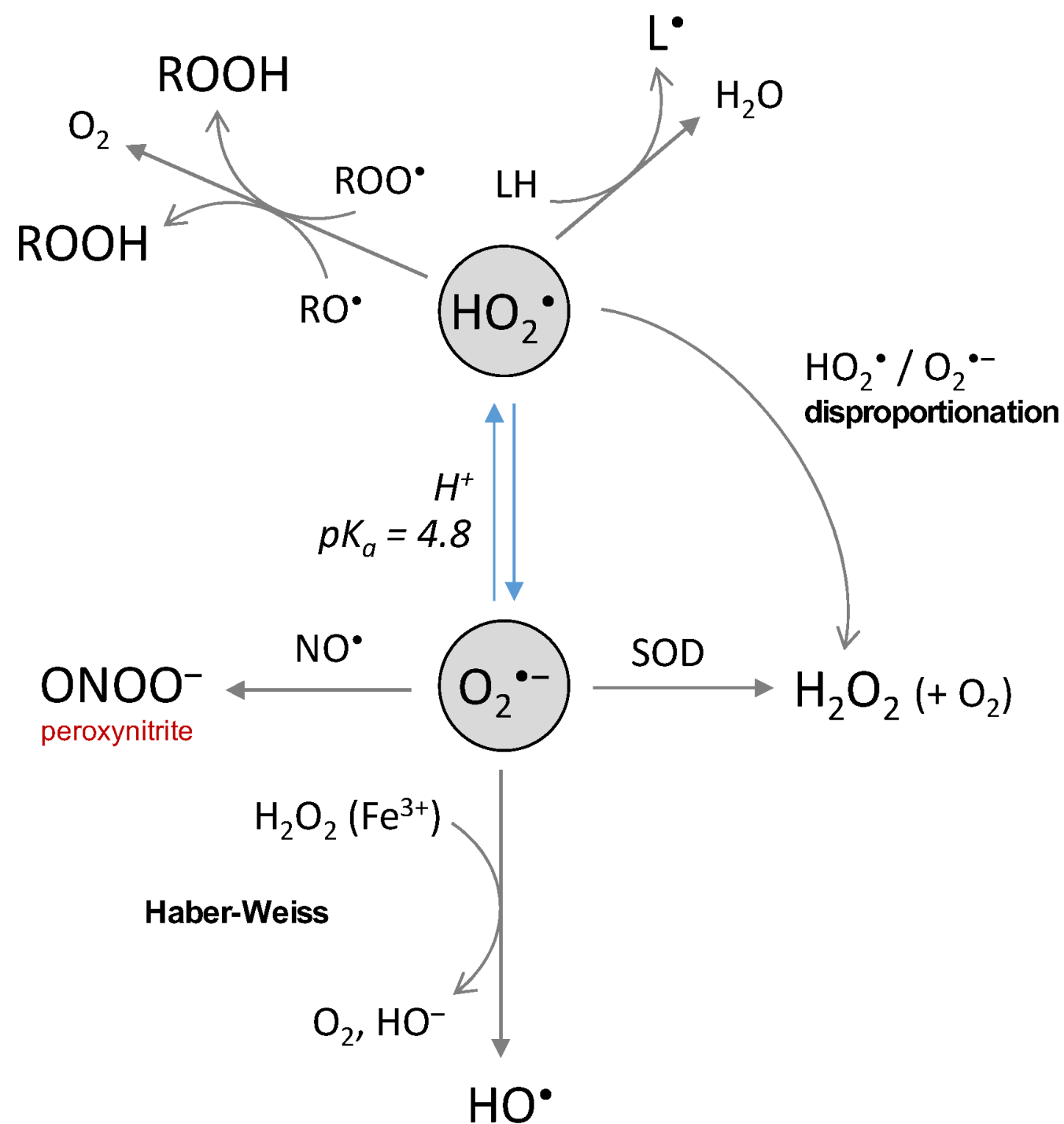


FENTON-HABER-WEISSOV CYKLUS



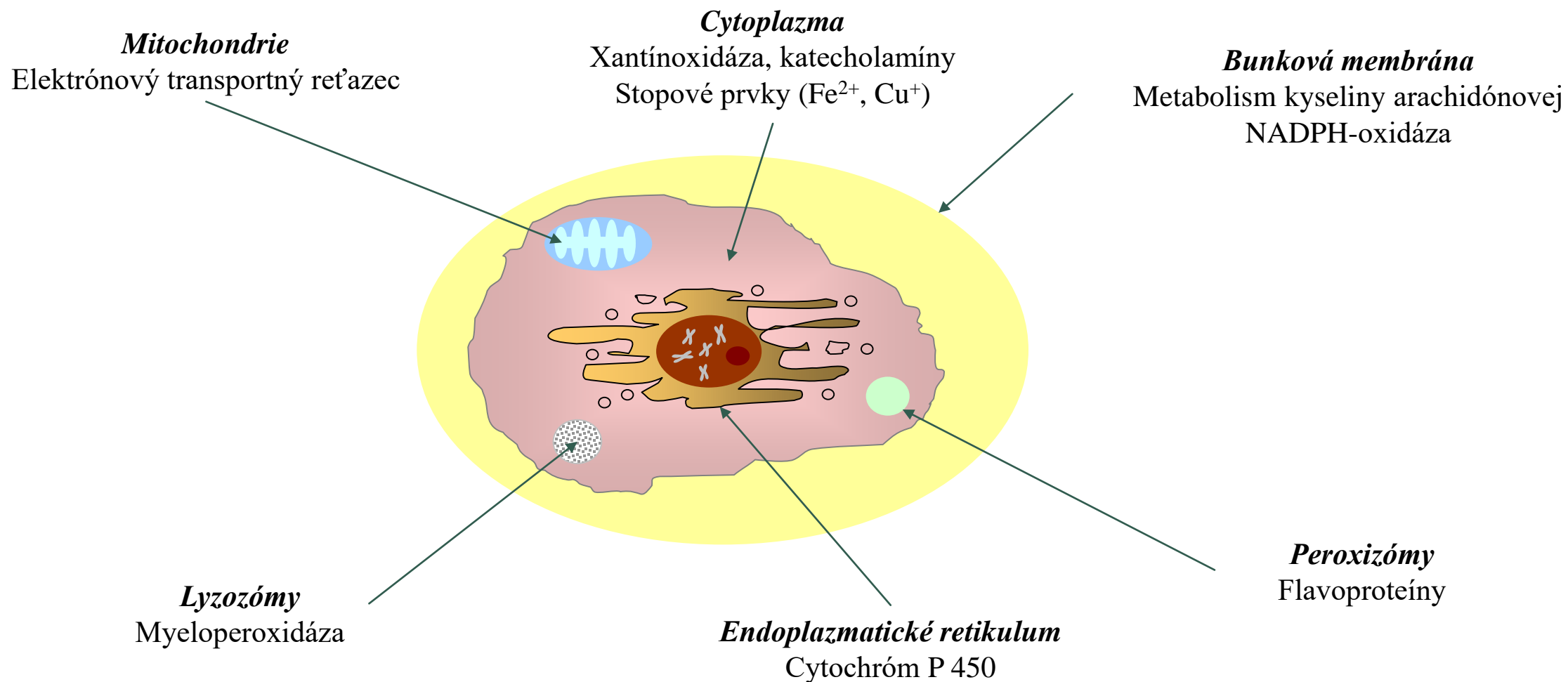
HO₂[·] - hydroperoxylový radikál

HYDROPEROXYL - ZABUDNUTÝ RADIKÁL?

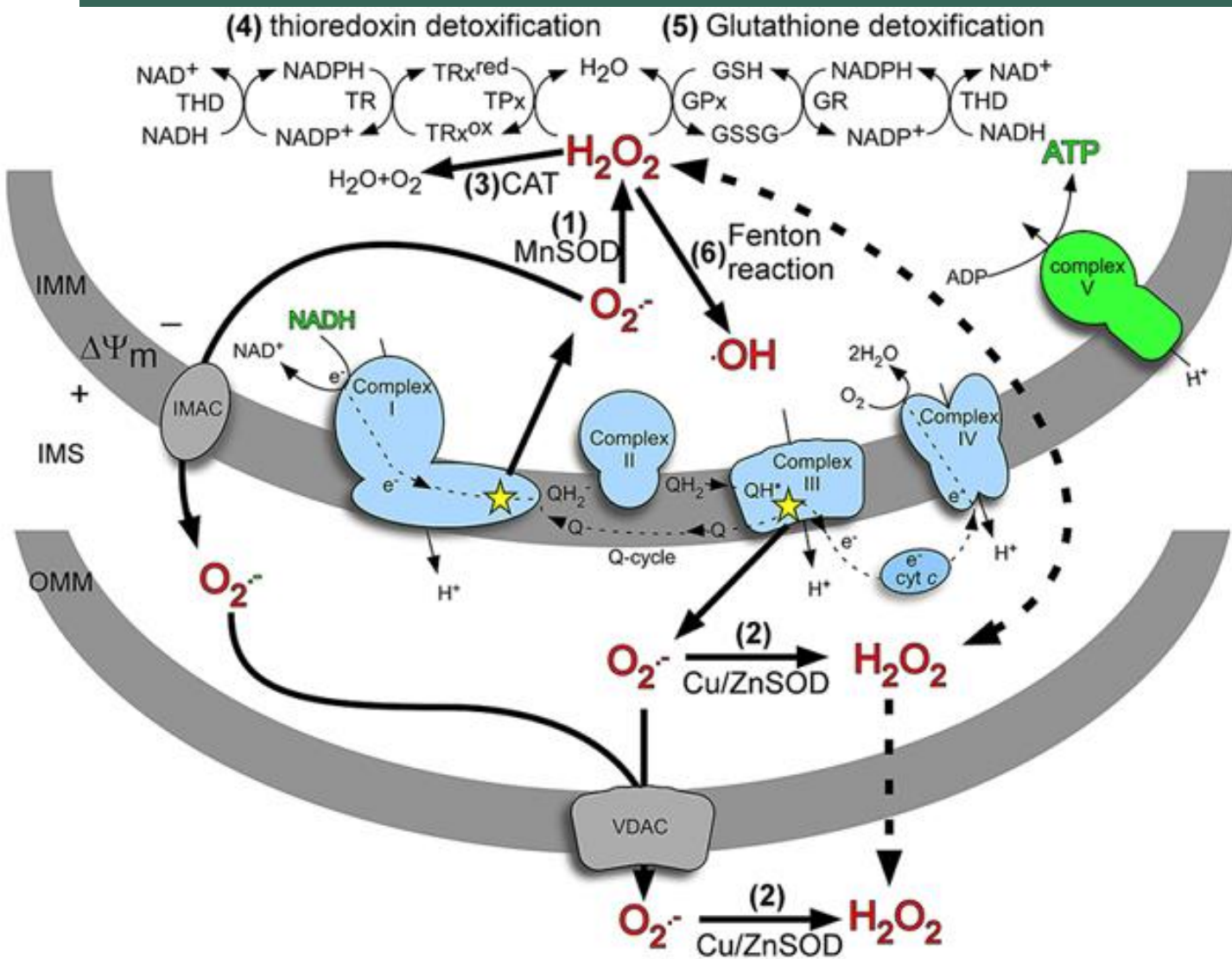


- pH < 4.7
 - Prevaha hydroperoxylového radikálu
- pH > 4.8
 - Prevaha superoxidového aniónu

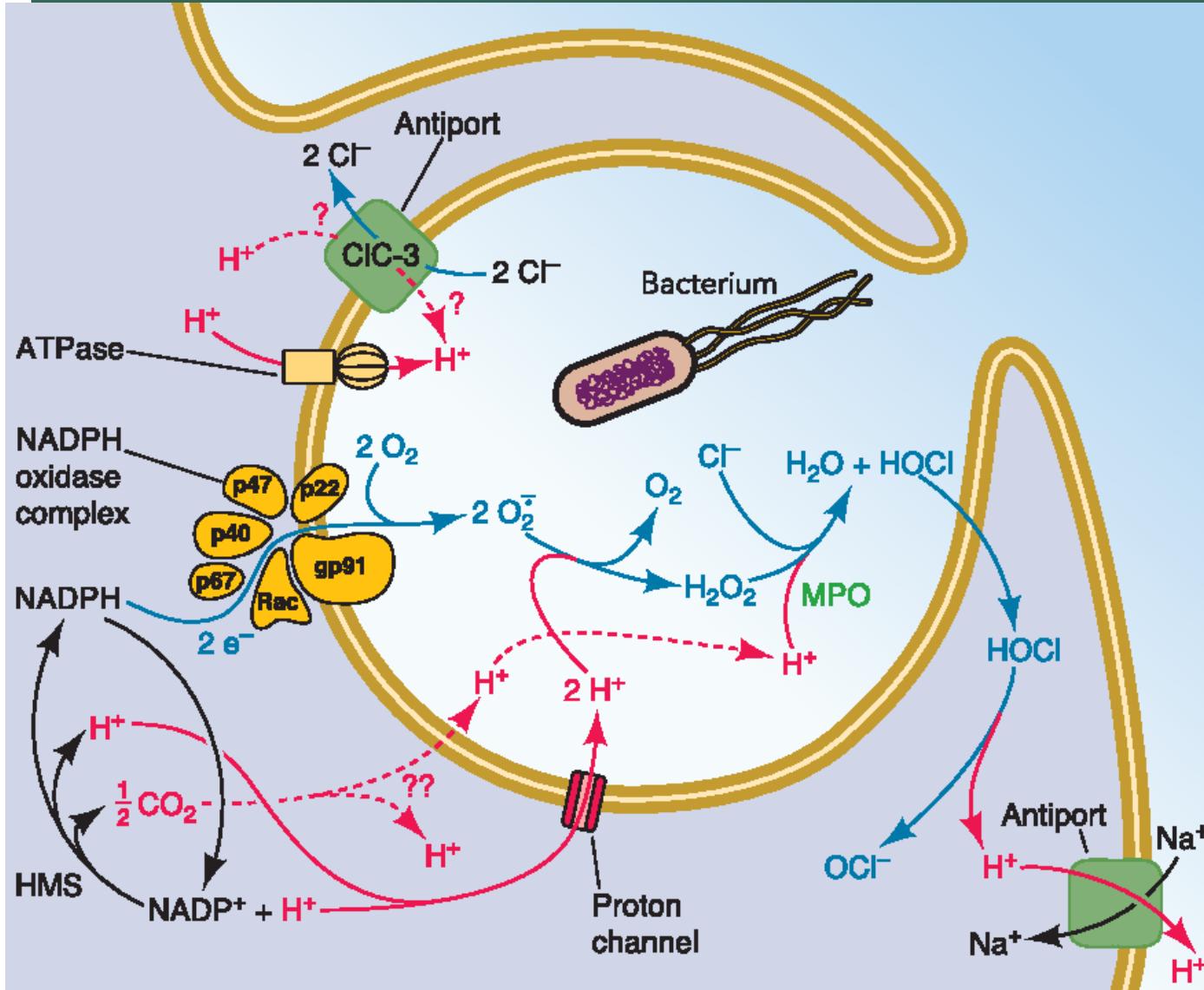
PRODUKCIA ROS



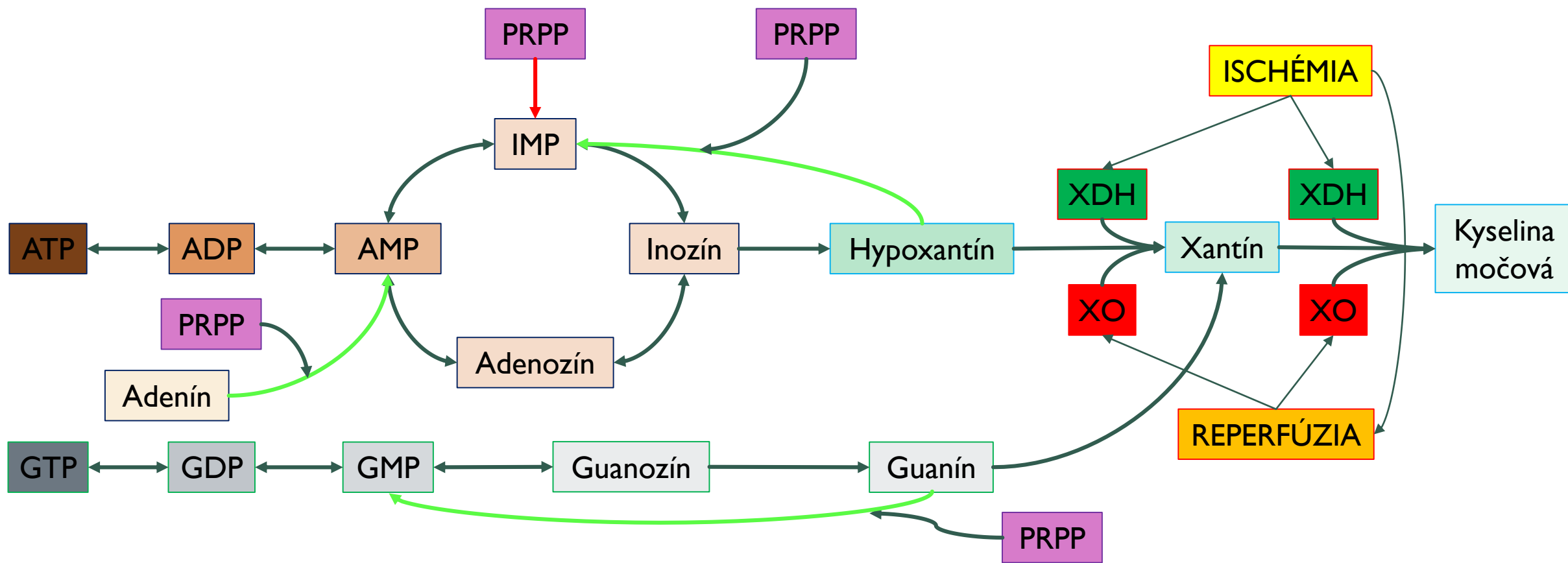
ELEKTRONOVÝ TRANSPORTNÝ REŤAZEC



RESPIRAČNÉ VZPLANUTIE



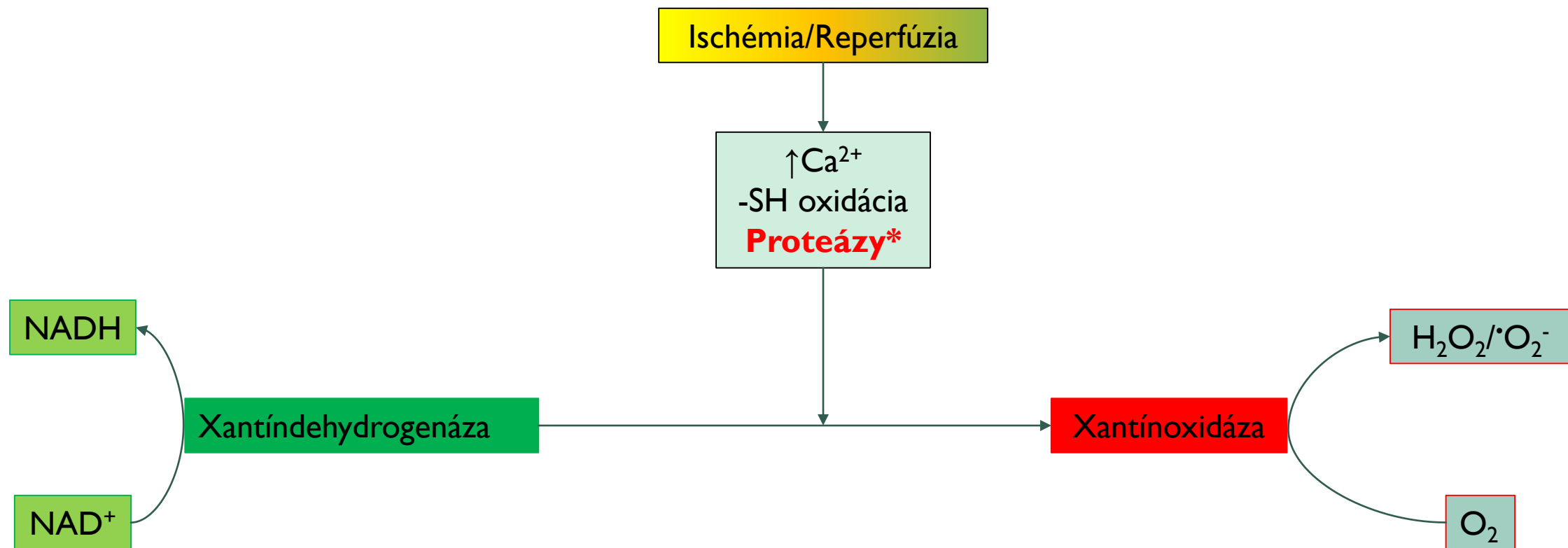
ISCHEMICKO-REPERFÚZNE POŠKODENIE – XANTÍNDEHYDROGENÁZA VS. OXIDÁZA



PRPP – Fosforibozylidifosfát, IMP – inozínmonofosfát, XDH – xantíndehydrogenáza, XO – xantínoxidáza

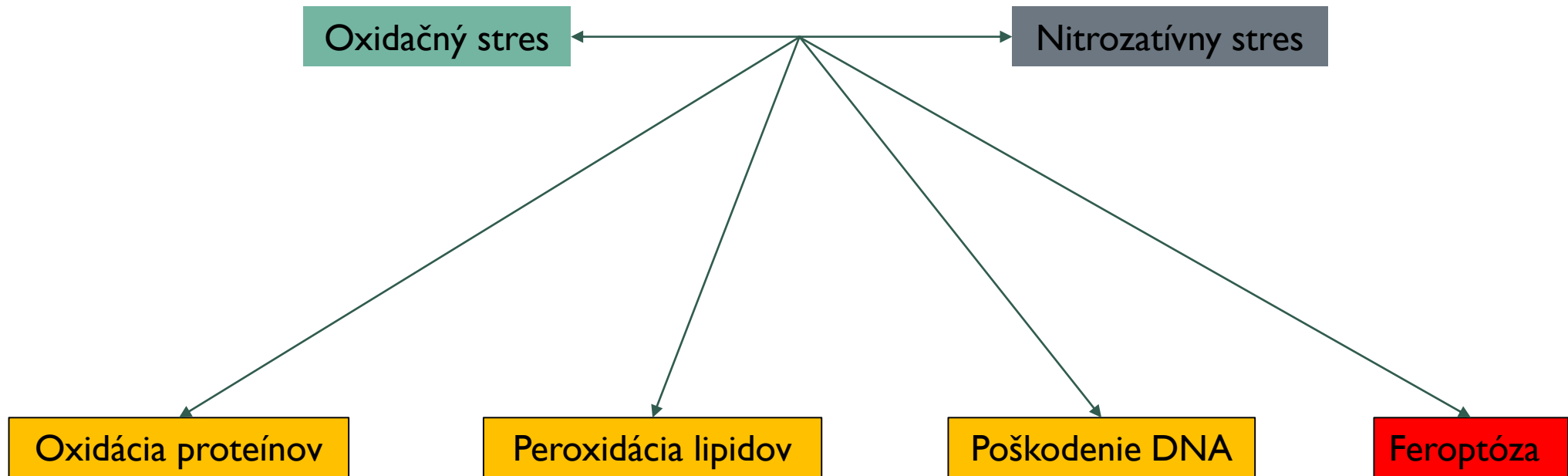
Červená – syntéza de novo
Svetlozelená – „recyklačná“ („salvage“) kaskáda

ISCHEMICKO-REPERFÚZNE POŠKODENIE – XANTÍNDEHYDROGENÁZA VS. OXIDÁZA



*proteázy – trypsín/chymotrypsín, ireverzibilná konverzia XDH na XO

POŠKODENIE MEDIOVANÉ ROS A RNS



MAKROMOLEKULY POŠKODENÉ ROS A RNS

	Lipidy	Proteíny	DNA
Ciele	<ul style="list-style-type: none">• Dvojité väzby polynасыtených mastných kyselín• Tvorba reaktívnych intermediátov a produktov (malóndialdehyd - MDA)	<ul style="list-style-type: none">• -SH skupiny• Tvorba a zlomy disulfidických väzieb	<ul style="list-style-type: none">• dsDNA• Vytváranie mutácií• Prepojenia medzi vláknami DNA („crosslinks“)
Následky	<ul style="list-style-type: none">• Alterácia fluidity membrány• Alterácia funkcie transportných mechanizmov• Ovplynenie membránových enzýmov• Feroptóza	<ul style="list-style-type: none">• Ovplynenie enzýmov• Porucha mechanizmu transportu a rovnováhy iónov	<ul style="list-style-type: none">• Ovplynenie proteosyntézy• Zástava bunkového cyklu• Starnutie bunky• Karcinogenéza• Bunková smrť (apoptóza, nekróza, autofágia...)

ANTIOXIDAČNÁ OBRANA

1. Prevencia

- Vázba iónov
- Integrita štruktúr

2. Aktívna obrana

- Enzýmy
- Neenzymatické antioxidanty

3. Reparácia

- Proteolýza poškodených proteínov
- Lipolýza poškodených lipidov
- Oprava DNA

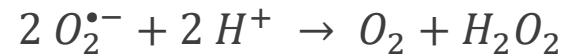
ENZYMATICKÉ ANTIOXIDANTY

- Superoxiddizmutáza
- Kataláza
- Tioredoxíny

- Glutatiónpoxidáza
- Glutatiónterazáza
- Glutatiónt-S-transferáza
 - Vid' systém glutatiónu

SUPEROXIDDISMUTÁZA

- Skupina enzýmov katalyzujúcich rozklad superoxidu na peroxid vodíka a kyslík



- Mikronutrienty – kovy prítomné na aktívnych miestach – Cu, Zn, Mn

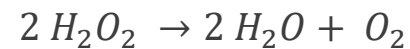
- Cu,Zn-SOD1 – cytoplazma
- Mn-SOD2 – mitochondrie
- Cu,Zn-SOD3 – extracelulárne

- $M^{n+1} - SOD + O_2^- \rightarrow M^{n+} - SOD + O_2$
- $M^{n+} - SOD + O_2^- \rightarrow M^{n+1} - SOD + H_2O_2$

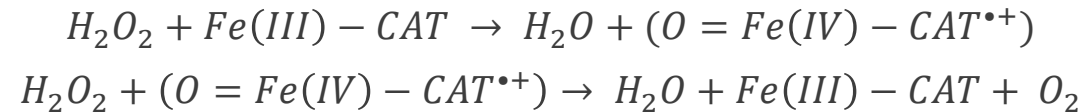
M = Cu (n=1), Mn (n=2), Fe (n=2), Ni (n=2; iba u prokaryotov)

KATALÁZA

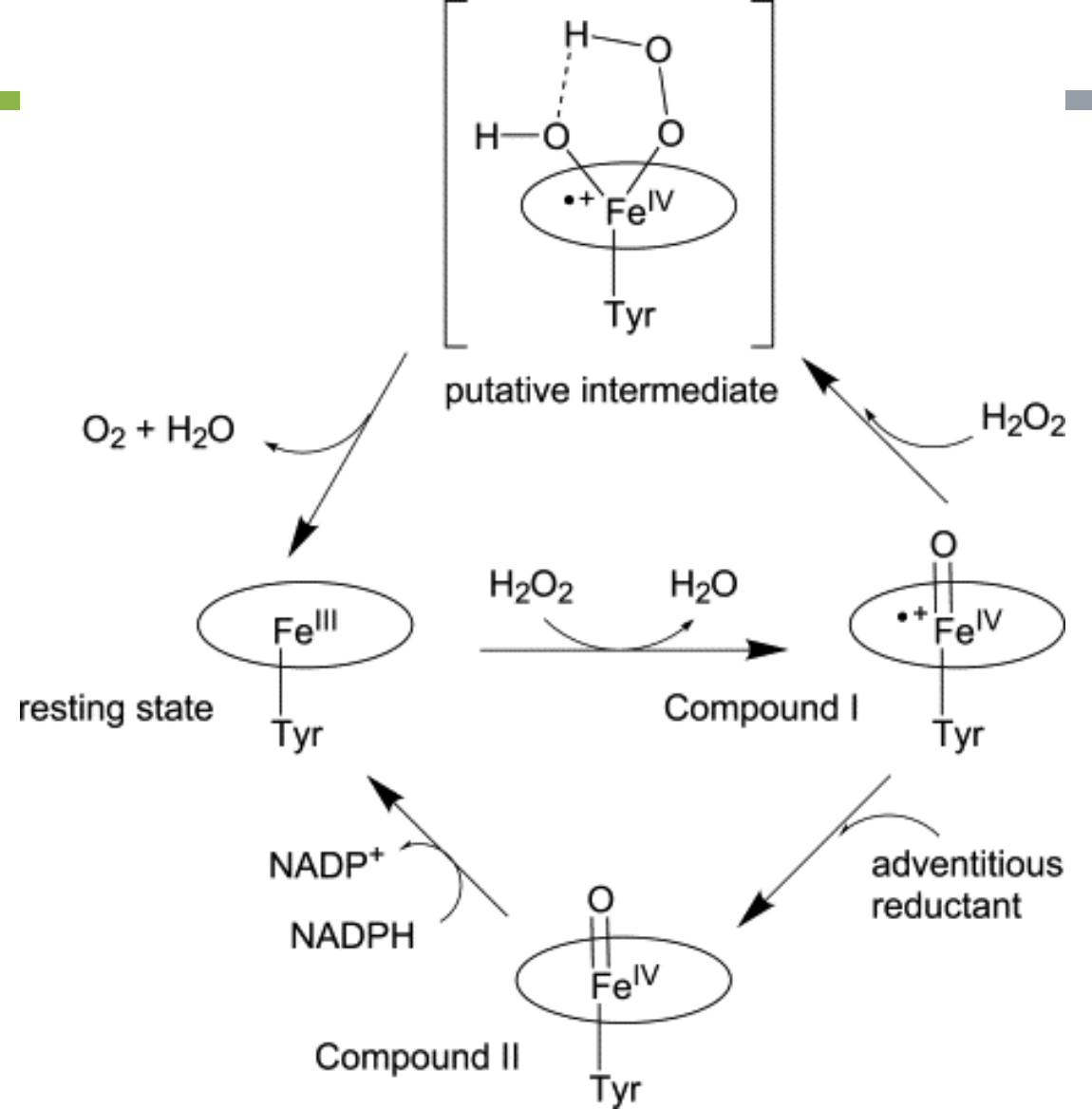
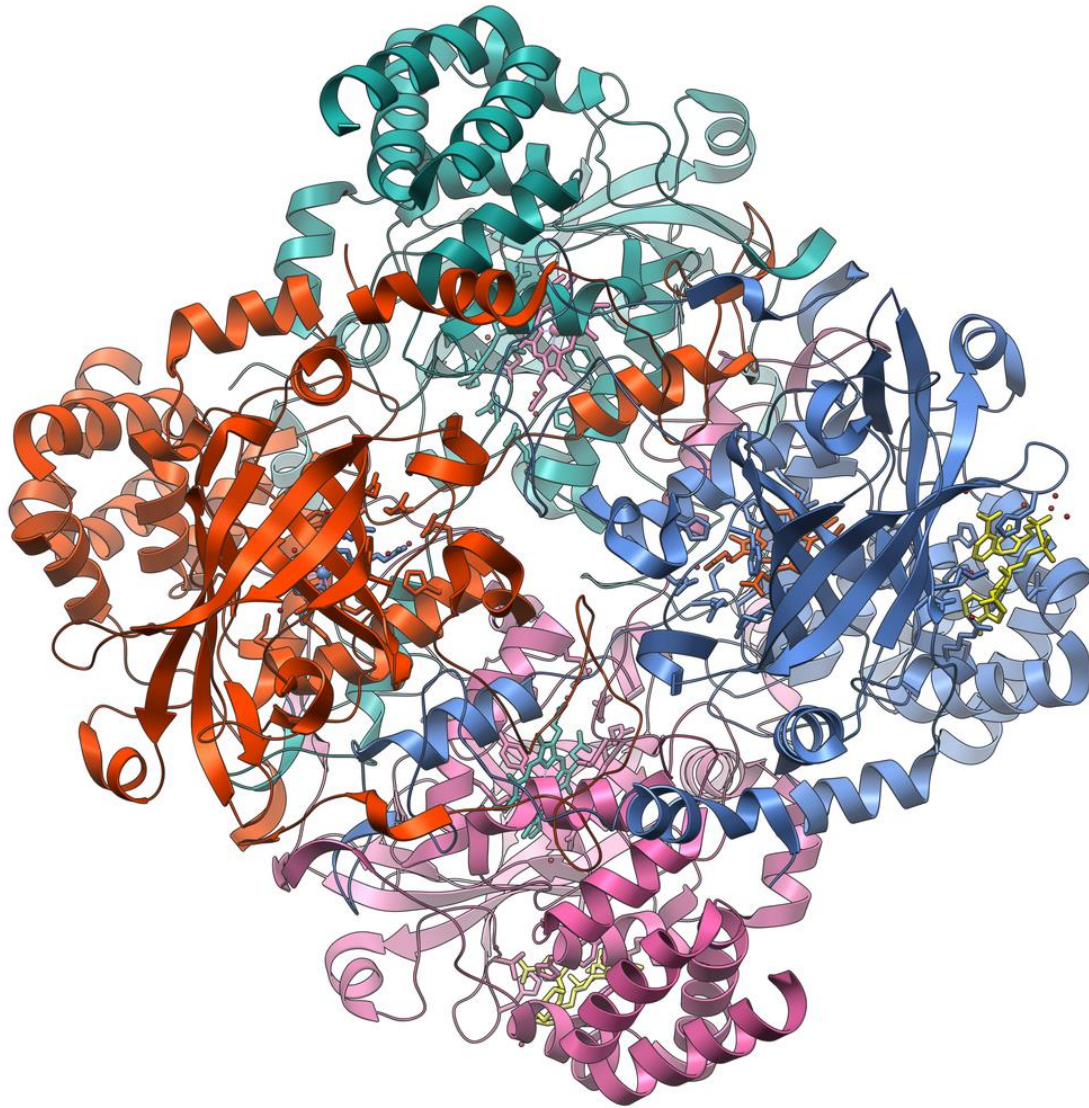
- Enzým katalyzujúci premenu peroxidu vodíka na kyslík a vodu
- Tetramér, 500+ AA každá časť
 - Štyri hémové skupiny na aktívnych miestach pre reakcie
- Optimálne pH pre činnosť – 6.8-7.5
- Lokalizácia – peroxizómy
- Zjednodušená rovnica



- Rovnica s čiastkovými reakciami*



*čiastkové reakcie sú len návrhom, presné mechanizmy nejasné



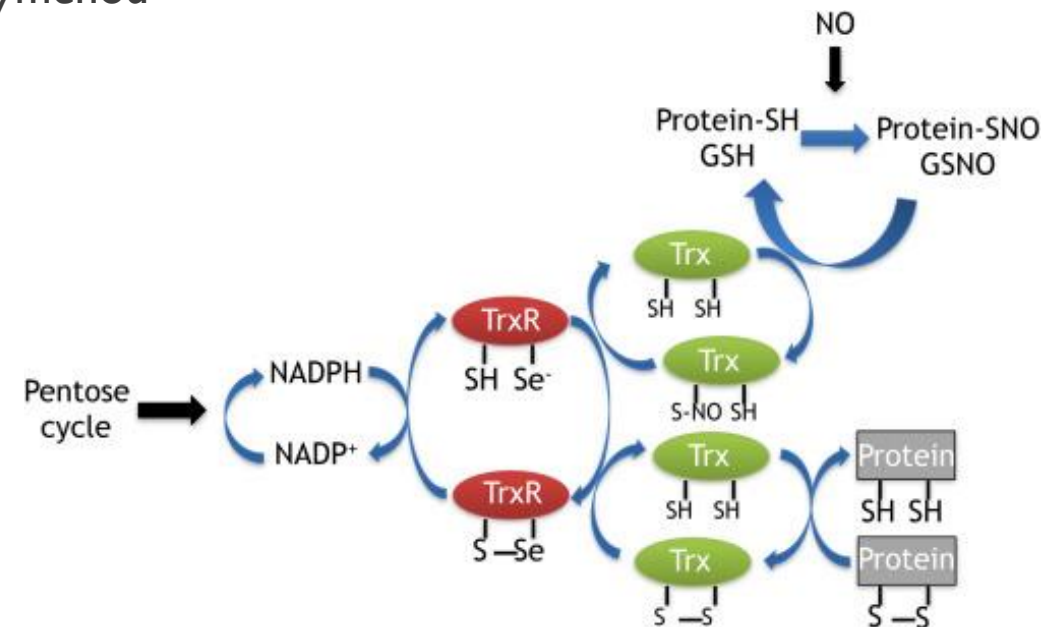
Hémové železo využíva kyslík na formáciu vysoko-valentného oxo-železa Fe(IV) na rozklad peroxidu vodíka

https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/7/71/Catalase_Structure.png/1024px-Catalase_Structure.png

<https://ars.els-cdn.com/content/image/3-s2.0-B0080437486081445-gr7.gif>

TIOREDOXÍNY

- Malé proteíny redukujúce oxidatívny a nitrozatívny stres
- Kódované génmi – TXN (9q31.3) a TXN2 (22q12.3)
- Redukcia iných proteínov výmenou cysteínovou tiol-disulfidovou výmenou
 - Dočasná väzba Trx-substrát → proteín redukovaný, Trx oxidovaný
- Lokalizácia
 - Tioredoxín 1 – cytosol, jadro
 - Tioredoxín 2 - mitochondrie



INÉ MAKROMOLEKULÁRNE ENDOGÉNNE ANTIOXIDANTY

- Transferín
- Feritín

- Haptoglobín
- Hemopexín

- Albumín

ANTIOXIDANTY S NÍZKOU MOLEKULOVOU HMOTNOSŤOU – GLUTATIÓNOVÝ SYSTÉM

- Glutatión (γ -Glutamylcysteinylglycín)
 - Tripeptid
 - Bohatý na tiolové skupiny (-SH)
- Funkcia
 - Antioxidant
 - Posttranslačná tiolová modifikácia
 - Detoxifikácia metylglyoxálu a formaldehydu
 - Údržba vitamínov C & E v redukovanom (aktívnom stave)
 - Syntéza leukotriénov a prostaglandínov
 - Konjugácia – glutatión-S-transferáza

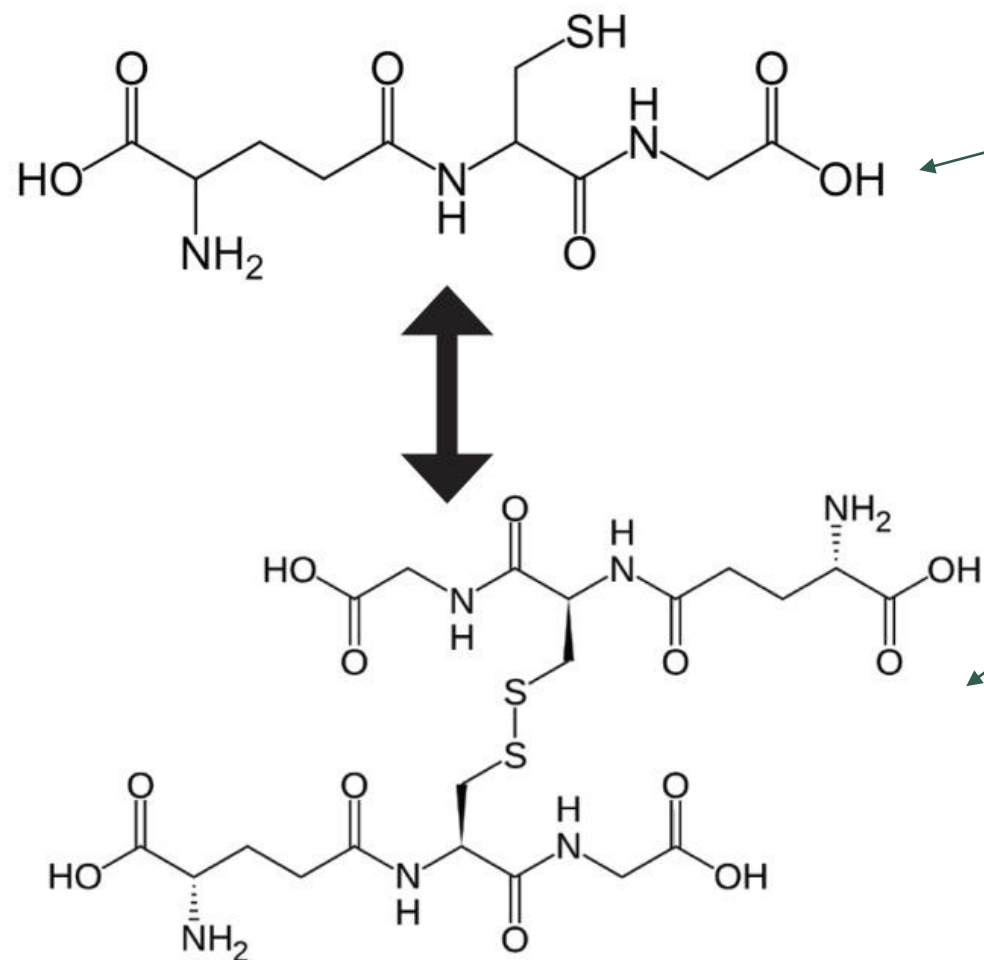
ANTIOXIDANTY S NÍZKOU MOLEKULOVOU HMOTNOSŤOU – GLUTATIÓNOVÝ SYSTÉM

- Pomer GSH/GSSG je determinant redoxného stavu buniek
 - “Fyziologicky“ – pomer 100+
 - Oxidačný/nitrozatívny stres – pomer 1-10
- GSH slúži aj ako tiolový pufer
 - Údržba -SH skupín proteínov v redukovanom (aktívnom) stave
- GSH syntetizovaný v cytosole -> pumpovaný do mitochondrií
 1. Syntéza de novo
 - Glutamát-cysteínligáza (GCL) – Glu + Cys
 - Glutatiónsyntetáza (vyžaduje ATP)
 2. Regenerácia GSH z GSSG – prostredníctvom glutatiónreduktázy (vyžaduje NADPH)
 3. Recyklácia cysteínu z konjugovaného GSH cez GGTP (vyžaduje NADPH)

GCL inhibovaná množstvom GSH; koncentrácia cysteínu slúži ako regulátor syntézy GSH - zápal, oxidačný stres alebo xenobiotiká zvyšujú syntézu GSH cez zvýšenú dostupnosť cysteínu recykláciou GSSG

GGTP – γ -glutamyltranspeptidáza

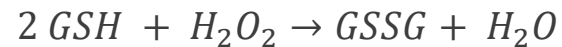
ANTIOXIDANTY S NÍZKOU MOLEKULOVOU HMOTNOSTŮU – GLUTATIÓNOVÝ SYSTÉM



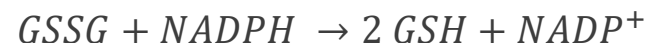
Redukovaný glutati3n (GSH) vs.
oxidovan3y glutati3n (GSSG)

ANTIOXIDANTY S NÍZKOU MOLEKULOVOU HMOTNOSŤOU – GLUTATIÓNOVÝ SYSTÉM

- Glutatiónperoxidáza (GPx)
 - Redukcia peroxidu vodíka alebo organických peroxidov na vodu za tvorby GSSG
 - Mnoho izoformiem obsahuje Se

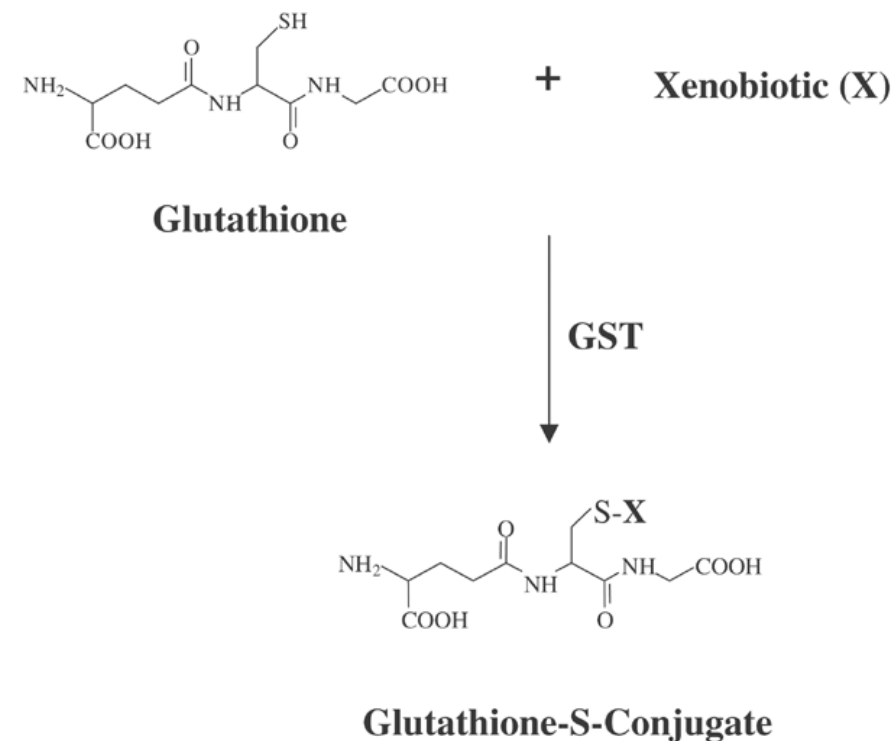


- Glutatiónreduktáza (GR)
 - Recyklácia GSH
 - Použitie prostetických skupín NADPH a FAD



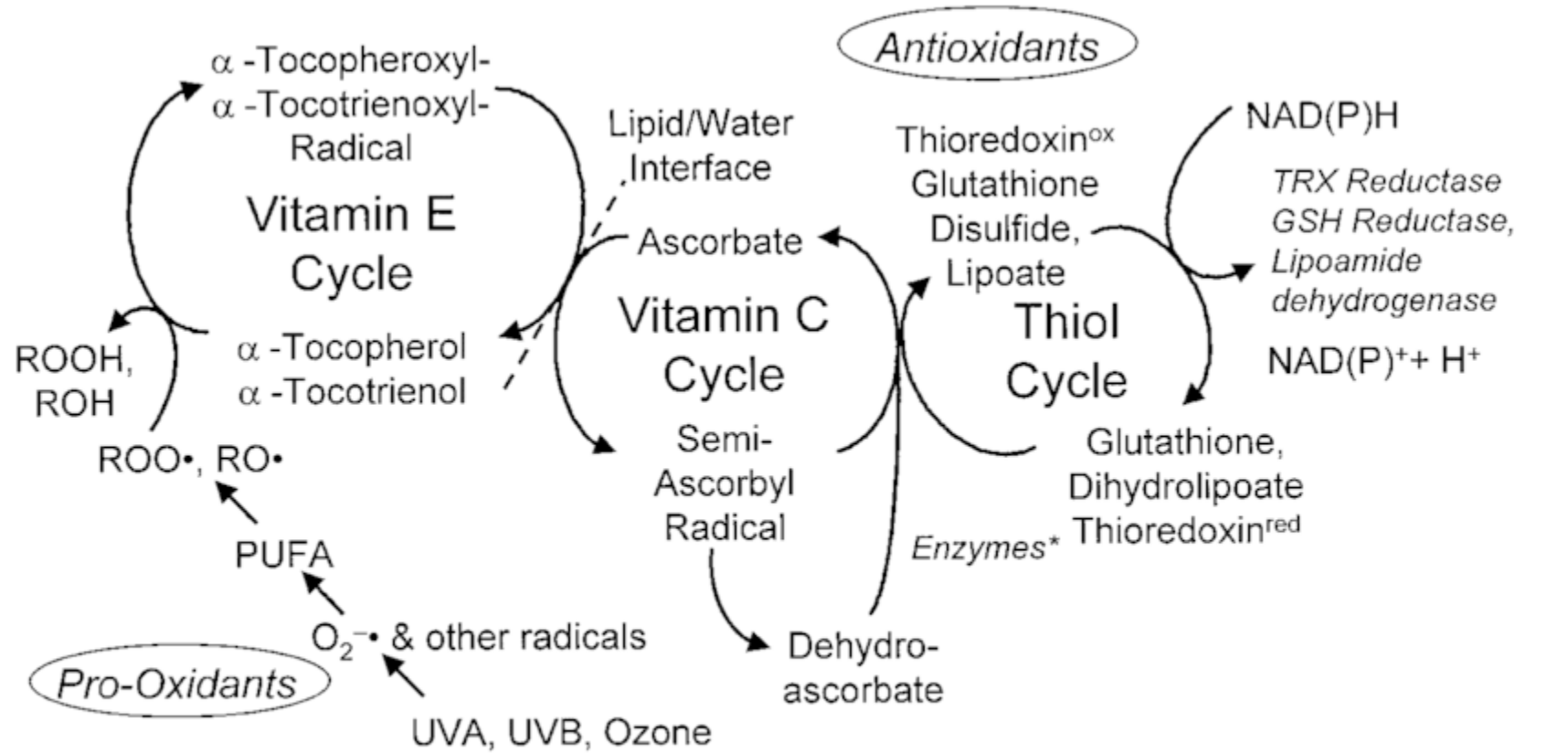
ANTIOXIDANTY S NÍZKOU MOLEKULOVOU HMOTNOSŤOU – GLUTATIÓNOVÝ SYSTÉM

- Glutatión-S-transferáza (GST)
 - Skupina izoenzýmov (α , δ , κ , μ , ω , θ , τ , ζ , mikrozomálne)
 - Konjugácia glutatiónu s xenobiotikami



ANTIOXIDANTY S NÍZKOU MOLEKULOVOU HMOTNOSŤOU – VITAMÍNY C & E

- Vitamíny C a E súčasťou antioxidantnej obrany
- Tokoferol (vit. E)
 - Lokalizovaný v membránach
 - Prevencia oxidácie fosfolipidov
 - Prevencia oxidácie proteínov
- Kyselina askorbová
 - Podporná úloha
 - Donácia elektrónov tokoferolu
 - Regenerovaná tiolovým cyklom



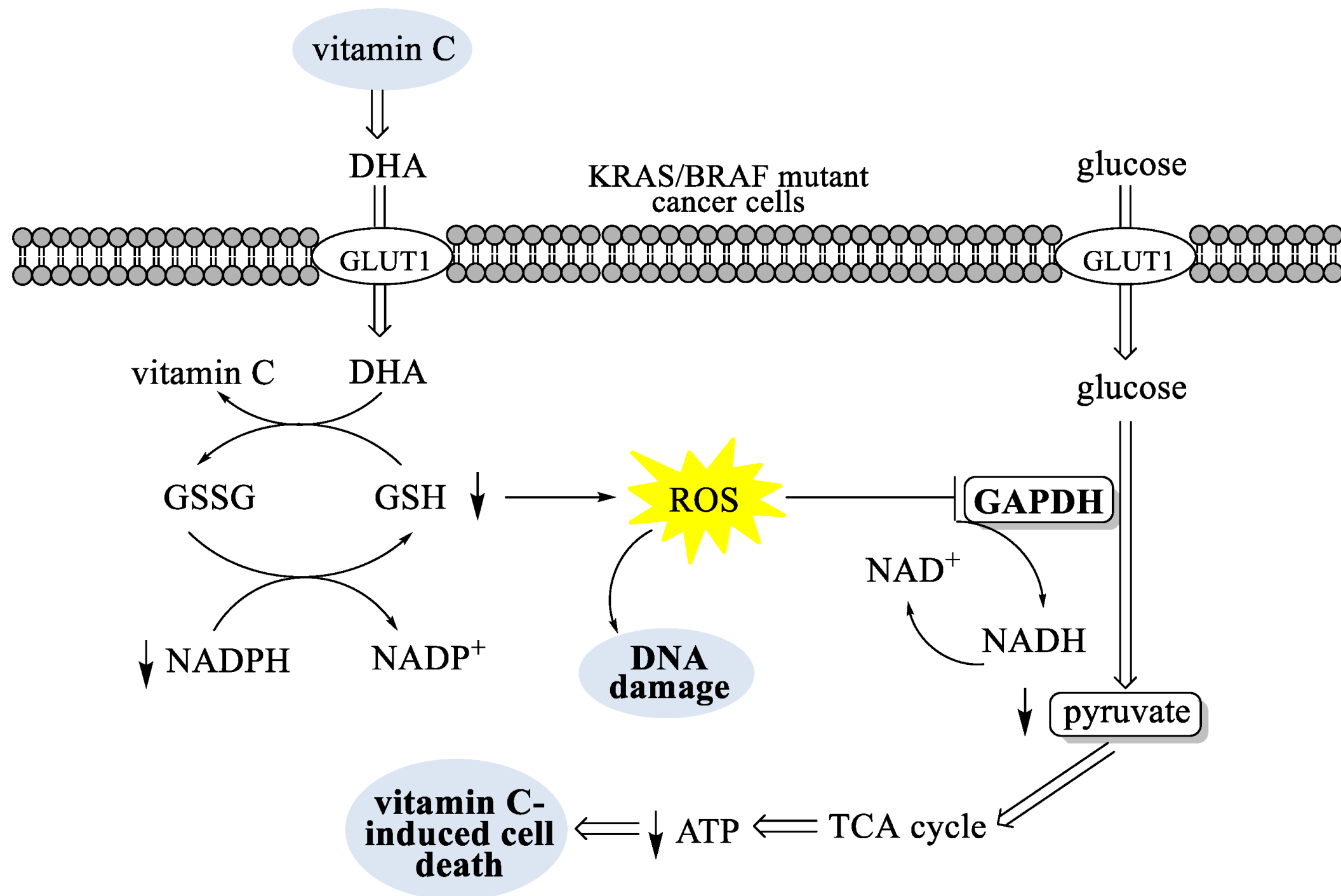
* 1) Thiol transferase (glutaredoxin)
3) Protein disulfide isomerase

2) Glutathione (GSH)-dependent dehydroascorbate reductase
4) Thioredoxin (TRX) reductase

VITAMÍN C AKO POTENCIÁLNA LIEČBA ONKOLOGICKÝCH OCHORENÍ?

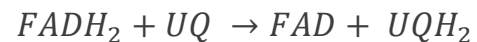
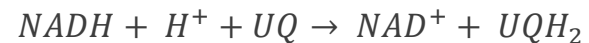
- Vysoké dávky kys. askorbovej majú prooxidačný potenciál
- Fáza I/II klinických skúšaní
- Selektívne zabíjanie buniek kolorektálneho karcinómu
 - KRAS-indukované
 - BRAF-indukované
- Účinky vysokých dávok kyseliny askorbovej
 - Indukcia oxidačného stresu
 - Inhibícia glykolýzy -> nedostatok energie
- Zvýšené vychytávanie dehydroaskorbovej kyseliny cez GLUT-1 transportéry
 - Deplécia GSH a NADPH -> \uparrow ROS – poškodenie DNA
 - \uparrow ROS -> pentózo-fosfátová cesta -> inhibícia GADPH -> \downarrow ATP -> energetická kríza

} Bunková smrť



ANTIOXIDANTY S NÍZKOU MOLEKULOVOU HMOTNOSŤOU – UBICHINÓN & KAROTENOIDY

- Ubichinón (UQ, koenzým Q₁₀)
 - Akceptácia 2 H⁺ -> ubichinol
 - Elektronové transportné komplexy („respiratory chain“)
 - Komplexy I a II – influx elektrónov, asistenčná úloha pri produkcii ATP



- Komplex III – elektróny na cytochróm b a 2 protóny do intermembránového priestoru mitochondrií



- Oxidácia mastných kyselín
- Syntéza pyrimidínových nukleotidov

ANTIOXIDANTY S NÍZKOU MOLEKULOVOU HMOTNOSŤOU – UBICHINÓN & KAROTENOIDY

- Karotenoidy, β -karotén, vitamín A
 - Odstraňovanie radikálov z lipidov

INÉ DÔLEŽITÉ ANTIOXIDANTY S NÍZKOU MOLEKULOVOU HMOTNOSŤOU

- Kyselina lipoová
- Kyselina močová
- Bilirubín
- Flavonoidy
- Melatonín

OCHORENIA SPOJENÉ S OXIDAČNÝM STRESOM

- Zápal
 - Artritída
 - Pankreatitída
 - Autoimunitné ochorenia
- Intoxikácie
 - fajčenie
 - polutanty
 - alkohol
 - adriamycín
 - tetrachlórmetán...

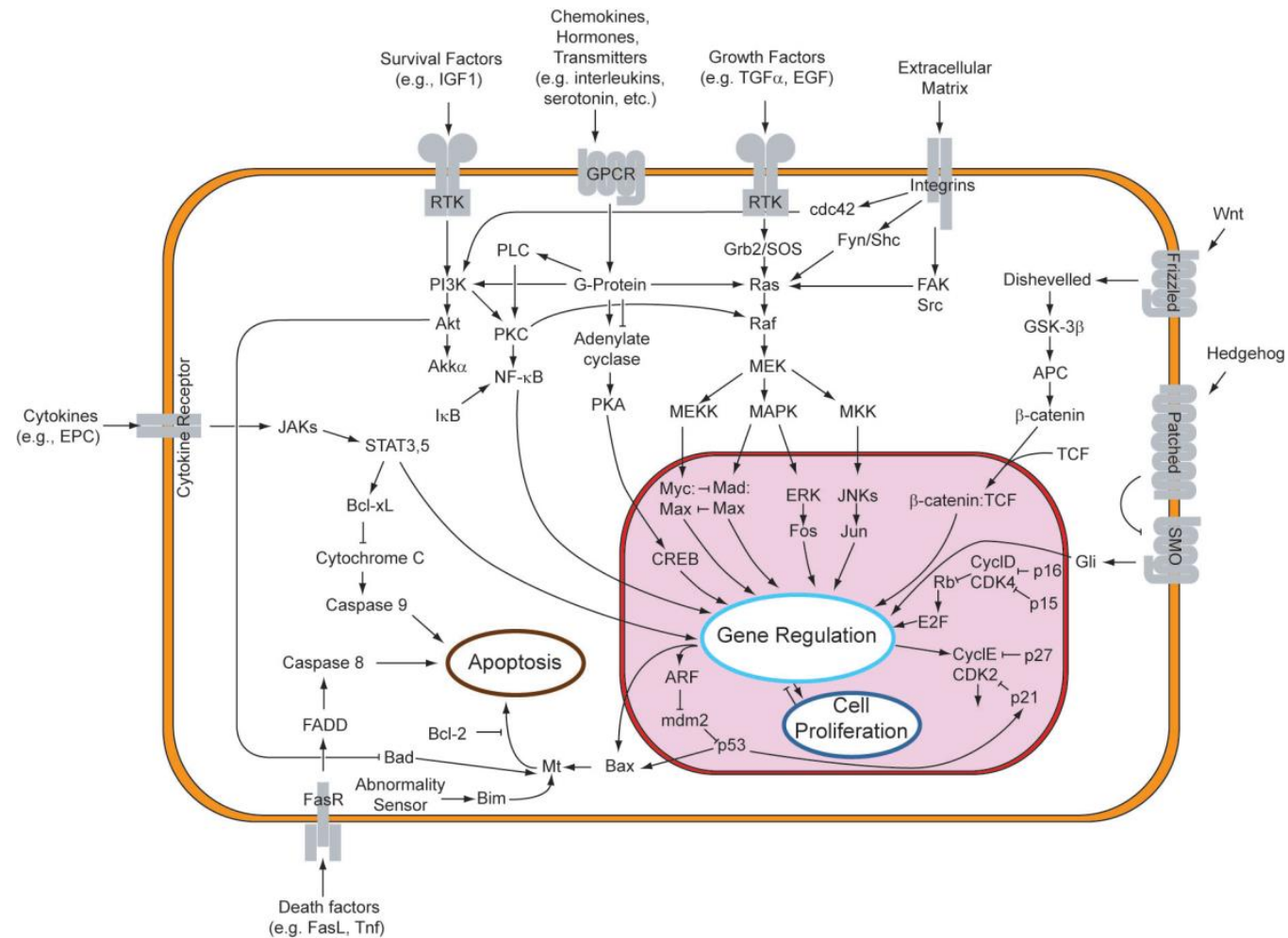
OCHORENIA SPOJENÉ S OXIDAČNÝM STRESOM

- Ischemicko-reperfúzne poškodenie
 - Ochorenie koronárnych tepien a infarkt myokardu
 - Ischémia mozgu
 - Transplantácie
- Rakovina
- Ateroskleróza
 - oxLDL
- Diabetes mellitus
- Hemochromatóza
- Infertilita

OCHORENIA SPOJENÉ S OXIDAČNÝM STRESOM

- Neurologické a psychiatrické ochorenia
 - Parkinsonova choroba
 - Alzheimerova choroba
 - Schizofrénia
 - Epilepsia
- Starnutie
- Šport a svalová práca

ROS V SIGNÁLNEJ TRANSDUKCII



ROS V SIGNÁLNEJ TRANSDUKCII

- Široké spektrum proteínov a génov cieľom ROS/RNS
 - Receptory rastových faktorov
 - Proteínkinázy
 - G-proteíny
 - Jadrové transkripčné faktory

Proteín	Funkcia	Faktory
EGFR	receptor	ROS, oxidačný stres
VEGFR	receptor	ROS, oxidačný stres
PDGFR	receptor	ROS, oxidačný stres
IR	receptor	ROS, oxidačný stres
MAPK	Proteínkináza	ROS, oxidačný stres
Src	Proteínkináza	ROS, UV žiarenie
Ras	G proteín	ROS, UV žiarenie
P53	Nukleárny transkripčný faktor	ROS, oxidačný stres, MAPK, hypoxia
NF-κB	Nukleárny transkripčný faktor	ROS, oxidačný stres, cytokíny
AP-1	Nukleárny transkripčný faktor	ROS, MAPK, cytokíny, UV žiarenie

MARKERY OXIDAČNÉHO STRESU

- Voľné radikály
 - Elektrónová paramagnetická rezonancia, pulzná rádiolýza
- Zdroje ROS/RNS
 - Xantínoxidáza, NO-syntáza
- Produkty oxidačného a nitrozatívneho stresu
 - Konjugované diény, lipidové peroxidy, malóndialdehyd, 4-OH-2-nonenál, oxLDL, poškodenie sacharidov
 - Karbonylové skupiny, peroxidy proteínov, poškodenie DNA, protilátky proti oxidovaným produktom, AGEs
- Stanovenie antioxidantov
 - GSH, askorbát, tokoferoly, ubichinón, karotenoidy a retinoidy, SOD, GPx, CAT
- Kapacita antioxidantov
 - TAS (celkový antioxidačný status), TRAP (celkový parameter antioxidantov radikálov)

ODPOVEĎ PROSTREDNÍCTVOM ROS & RNS PRI PREŽÍVANÍ BUNIEK A BUNKOVEJ SMRTI

- Peroxid vodíka
 - Uvoľnenie cytochrómu c z mitochondrií
 - Aktivácia transkripcie NF- κ B, AP-1 a p53
 - Upregulácia Fas-FasL
- NO \cdot
 - Inaktivácia antioxidačných enzýmov – CAT, GPx, SOD
 - Aktivácia kaspázy 3 -> \uparrow generácia ceramidu -> \uparrow prechodu cez permeabilnú mitochondriálnu membránu -> aktivácia systému Fas
- Nadmerná expresia Bcl-2 -> vyššie bunkové koncentrácie GSH
- P35 gén (bakulovírus) -> anti-apoptotický proteín
 - Masívne pohlcovanie voľných radikálov -> intervencia voči H₂O₂-indukovanej bunkovej smrti



ODPOVEĎ PROSTREDNÍCTVOM ROS & RNS PRI PREŽÍVANÍ BUNIEK A BUNKOVEJ SMRTI

- Kaspázy
 - Aktívne miesto obsahuje tiolové skupiny
 - Náchylné k oxidácii, alkylácia tiolov alebo S-nitrozylácia
 - Premena z apoptózy na nekrózu
- Pokles hladín ATP
 - Oxidanty bránia mitochondriám v tvorbe dostatočného množstva ATP -> zmena na nekrózu
- Iniciácia autofágie
 - ↓ATG4 -> akumulácia ATG8 -> formovanie autofagozómu
 - Krátkodobé - prežívanie
 - Dlhodobé – autofágia (typ bunkovej smrti)

PREŽITIE BUNIEK VS. BUNKOVÁ SMRŤ

- Odpoveď Hsps
 - Expresia Hsps bráni rozvoju bunkovej smrti (apoptóza, nekróza...)
 - Hlavný cieľ – vývoj tolerancie voči tepelnej energii
 - Faktor tepelného šoku („Heat-shock factor“ I - HSF1) môže indukovať expresiu Hsps vedúcu k apoptóze
- ER stres a IRE1
 - IRE1 aktivuje UPR
 - Iniciálne PERK, neskôr tiež ATF6, na konci aj IRE1
 - Pokus PERK, ATF6 vyriešiť stres
 - IRE1 – „prosurvival“ UPR, tiež ju ukončuje uvoľnením p58^{IPK} (inhibícia translácie)
 - Vyriešenie stresu -> prežitie bunky
 - Zlyhanie riešenia stresu
 - ASK1 aktivácia – JNK aktivácia (apoptóza)
 - IRE1 ako „spínač“ (útlm -> apoptóza, aktivácia -> prežívanie odpoveďou stresu ER)

OTÁZKY?

