

## GLUTATHION – AKTUÁLNÍ BIOMOLEKULA

MVDr. Vladimír Kopřiva, Ph.D.  
DOPLŇKOVÝ STUDIJNÍ MATERIÁL  
KÓD AKTIVITY 2110/4-4up

Glutathion je významnou biomolekulou, která se vyskytuje v živočišných buňkách, s nejčastější lokalizací v hepatocytech. Jeho výskyt je v poměrně vysoké koncentraci, nejčastěji v rozmezí uváděných hodnot 1-10 mmol/l. Z jeho biochemické aktivity vyniká především antioxidační funkce a podíl na ochraně buněk.

### *Glutathion a jeho biochemie*

Glutathion je chemicky tripeptid, složením gama-glutamyl-cysteinyl-glycin. Vyskytuje se ve dvou formách – redukované a oxidované. V redukované formě jde o triol (zkr. GSH) a v oxidované formě o bisulfid (zkr. GSSG).

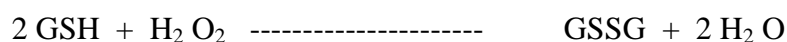
Biochemicky významná je především jeho biosyntéza s ohledem na postavení v celkovém metabolismu buňky a antioxidační účinky.

**Biosyntéza glutathionu** probíhá dvoustupňově. V prvním stupni reaguje kyselina glutamová s cysteinem a za katalýzy gama-glutamylcysteinsynthasy vzniká gama-glutamylcystein. Ve druhém stupni biosyntézy reaguje gama-glutamylcystein s glycinem za vzniku redukované formy glutathionu (zkr. GSH). Druhý reakční stupeň katalyzuje glutathionsynthasa. Energetickým donorem je pro obě reakce ATP

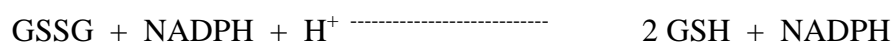
Princip **antioxidačního účinku** glutathionu je založen na skutečnosti, že GSH je slabé redukční činidlo vzhledem k obsahu sulfhydrylové skupiny v přítomném cysteinu. Mechanismus účinku při působení volných kyslíkových radikálů spočívá v oxidaci sulfhydrylové skupiny, vzniká disulfidická skupina a z glutathionu následně vzniká dimer glutathiondisulfid (zkr. GSSG). Oxidovaná forma glutathionu je účinkem glutathionreduktasy přeměněna zpět na redukovaný glutathion (zkr. GSH). Na oxidaci glutathionu se podílí i dehydroaskorbát-reduktasa. Celý mechanismus oxidačních a redukčních změn glutathionu se označuje jako **askorbát-glutathionový cyklus**.

Rovnicemi lze vyjádřit schematicky uvedený děj následovně:

1) vznik oxidované formy glutathionu (zkr. GSSG)



2) regenerace oxidované formy glutathionu na redukovanou



Vedle své významné antioxidační role plní glutathion i další biochemické funkce. Jde především o následující metabolické děje:

- transport aminokyselin do buněk přes membránu v ledvinách enzymem gama-glutamyltransferasou,
- redoxní potenciál cytosolu,
- ochrana buněk před oxidačním stresem,
- ochrana triolových skupin proteinů,
- detoxikace volných radikálů,
- inhibice tvorby mutagenních látek,
- aktivní činnost v gastrointestinálním traktu,
- podíl na aktivizaci kyseliny askorbové v redukované formě,
- kofaktor vybraných oxidoreduktáz,
- ochrana DNA před oxidačním poškozením.

#### ***Glutathion a xenobiotické látky***

Glutathion se uplatňuje v detoxikaci xenobiotických látek. Ve vztahu ke glutathionu je důsledkem změna poměru redukované a oxidované formy. Zvýšená tvorba volných kyslíkových radikálů vede ke zvýšené zátěži prostředí a v hodnotách glutathionu dochází k poklesu redukováného glutathionu. Detoxikační děj lze vyjádřit následující rovnicí:

$R + GSH \rightarrow R-S-G$ , kde R je elektrofilní xenobiotikum a GSH má v tomto chemickém ději nukleofilní charakter. Glutathion tak lze prakticky využít jako ukazatel v monitoringu stavu vnějšího prostředí.

Při zvýšené tvorbě kyslíkových radikálů nebo zátěži organismu toxickými látkami dochází k poklesu množství redukováného glutathionu v buňkách a následně ve tkáních. Sledování hladiny GSH lze využít např. u ryb, kde má velký význam pro posouzení zdravotního stavu ryb a následně kvality rybí svaloviny.

#### ***Glutathion a jeho využití***

Glutathion lze využít jako marker oxidačního stresu. Za fyziologického stavu je intracelulárně lokalizováno více než 99% obsahu glutathionu v redukované formě (GSH). Z praktického využití jej lze označit za nový marker stresu, neboť jeho molekula je přítomna ve většině organismů a jejich organelách (buněčné jádro, mitochondrie, peroxisomy). Pro indikační využití slouží i jeho transportní schopnost ve vztahu k biomembrán. Přínosem je i dynamika změn obsahu glutathionu při vstupu cizorodých látek, což ukazuje na posouzení redoxního situace v buňkách.

K vlastní analýze stanovení glutathionu existuje celá řada moderních instrumentálních přístupů. Z bioanalytických metod jde především o spektrofotometrii, elektrochemické metody, kapalinovou chromatografii typu HPLC (vysokoúčinná), chromatografie na tenké vrstvě, chromatografie ionexová a elektroforéza.