

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Κατά την διάρκεια φλεγμονωδών ασθενειών τα επίπεδα του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) και του νιτρώδους ιόντος (NO_2^-) είναι ιδιαίτερα αυξημένα στα κύτταρα. Οι αιμοπρωτεΐνες μπορούν να χρησιμοποιήσουν αυτές τις ενώσεις ώστε να παράξουν παράγοντες νιτροποίησης. Αυτές οι αντιδράσεις είναι μεγάλης σημασίας, διότι συχνά ανιχνεύονται νιτροποιημένες πρωτεΐνες υπό παθοφυσιολογικές συνθήκες. Κάποιοι πιθανοί παράγοντες νιτροποίησης έχουν αναγνωρισθεί σε ζωντανούς οργανισμούς, αλλά πρώτα απαιτείται ο αποκλεισμός άλλων βιοχημικών διαδρομών υπεύθυνων για την βιολογική νιτροποίηση, καθώς και η ταυτοποίηση συγκεκριμένων πρωτεϊνικών-στόχων νιτροποίησης για την πλήρη κατανόηση του παθολογικού μηχανισμού δράσης.

Σε αυτή την εργασία μελετήθηκε η ικανότητα νιτροποίησης αμινοξέων τυροσίνης από την πρωτεΐνη λακτουπεροξειδάση (LPO), παρουσία υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) και νιτρώδων (NO_2^-). Η ικανότητα των υπεροξειδασών στην προαγωγή τέτοιων αντιδράσεων είναι γνωστή. Σε ρόλο προτύπου-μοντέλου χρησιμοποιήθηκε η πρωτεΐνη μυοσφαιρίνη (Mb) η οποία είναι ένας αποδεδειγμένος παράγοντας νιτροποίησης τόσο ενδογενών, όσο και εξωγενών αμινοξέων τυροσίνης, παρά το ότι οι μηχανιστικές λεπτομέρειες και τα ενδιάμεσα της αντίδρασης είναι άγνωστα.

Στο σύστημα Mb/ NO_2^-/H_2O_2 παρατηρήθηκε τόσο ενδογενής όσο και εξωγενής νιτροποίηση αμινοξέων τυροσίνης σε έναν καταλυτικό μηχανισμό εξαρτώμενο από τις αρχικές συγκεντρώσεις υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) και νιτρώδων (NO_2^-). Στο σύστημα LPO/ NO_2^-/H_2O_2 παρατηρήθηκε μόνο εξωγενής νιτροποίηση αμινοξέων τυροσίνης σε έναν καταλυτικό μηχανισμό παρόμοιο με αυτό της μυοσφαιρίνης, επίσης εξαρτώμενο από τις συγκεντρώσεις υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2), νιτρώδων (NO_2^-), αλλά και το pH. Δύο ανταγωνιστικές διαδρομές είναι πιθανότατα υπεύθυνες για τις παρατηρούμενες αντιδράσεις. Στην πρώτη, η εκάστοτε πρωτεΐνη LPO ή Mb αντιδράει ως υπεροξειδάση σχηματίζοντας δύο ενδιάμεσα τα οποία οξειδώνουν το υπόστρωμα. Το $MbFe^{IV}=O$ ενδιάμεσο οξειδώνει το νιτρώδες ανιόν σε διοξείδιο του αζώτου (NO_2), το οποίο στην συνέχεια αντιδράει με την φαινόλη και παράγει την νιτροφαινόλη. Στην δεύτερη περίπτωση του μηχανισμού του υπεροξειδίου του υδρογόνου αντιδράει με το δεσμευμένο στον αιμικό σίδηρο νιτρώδες και παράγει έναν ενεργοποιημένο νιτροποιητικό παράγοντα, πιθανότατα της μορφής LPO/ $MbFe^{III}-N(O)OO$.