

# Uloga vitamina E i vitamina E acetata na monolipidne i dvolipidne membrane

---

Pulić, Leona

Undergraduate thesis / Završni rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, Faculty of Science / Sveučilište u Splitu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:166:929399>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-10-19**

Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Science](#)



UNIVERSITY OF SPLIT



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Sveučilište u Splitu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Odjel za kemiju

Leona Pulić

**ULOGA VITAMINA E I VITAMIN E  
ACETATA NA MONOLIPIDNE I  
DVOLIPIDNE MEMBRANE**

Završni rad

Split, rujan 2024.



Ovaj rad izrađen je u Splitu 2024., pod vodstvom izv. prof. dr. sc. Barbare Soldo, a predan je na ocjenu Odjelu za kemiju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Splitu u svrhu stjecanja zvanja prvostupnice biologije (univ. bacc. biol.).

*Zahvaljujem divnoj mentorici izv. prof. dr. sc. Barbari Soldo na nesebično prenesnom znanju, razumijevanju i pomoći, kao i sestrama, prijateljima i ocu na potpori tijekom preddiplomskog studija. Posebno hvala mami na bezuvjetnoj ljubavi i podršci.*

## Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Splitu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Odjel za kemiju  
Ruđera Boškovića 33, 21 000 Split, Hrvatska

Završni rad

### ULOGA VITAMINA E I VITAMIN E ACETATA NA MONOLIPIDNE I DVLIPIDNE MEMBRANE

Leona Pulić

Vitamin E esencijalni je nutrijent s ključnom ulogom u zaštiti stanica od oksidativnog stresa i održavanju zdravlja. Obzirom da je riječ o supstanci koju ljudsko tijelo ne može samostalno sintetizirati, sve je češća industrijska proizvodnja kojom se dobiva esterizirani oblik, vitamin E acetat. Vitamin E acetat je stabilan i manje reaktivan oblik vitamina E. Iako zbog svoje otpornosti na oksidaciju, acetatna forma pruža brojne prednosti te se stoga često koristi u prehrambenim dodacima i kozmetici, važno je biti svjestan potencijalnih rizika, osobito kod inhalacije koja je u posljednje vrijeme sve aktualnija među mlađom populacijom. Tema ovog rada je istaknuti izrazito pozitivnu funkciju vitamina E u borbi protiv slobodnih radikala, ali obraditi i njegov potencijalno negativni utjecaj na ljudski organizam ukoliko dode do monolipidne membrane plućnog surfaktanta što za posljedicu može imati razvoj potencijalno terminalne bolesti "EVALI" (engl. "*E-cigarette or Vaping Use-Associated Lung Injury*") te na taj način predstaviti jedan veoma aktualan problem.

**Ključne riječi:** vitamin E, vitamin E acetat, biljna ulja, monolipidna membrana pluća, inhalacija

Rad je pohranjen u knjižnici Prirodoslovno-matematičkog fakulteta, Sveučilišta u Splitu

**Rad sadrži:** 37 stranica, 9 slika, 3 tablice i 31 literaturni navod, izvornik je na hrvatskom jeziku

**Mentor:** izv. prof. dr. sc. Barbara Soldo

**Ocjenjivači:** izv. prof. dr. sc. Barbara Soldo

izv. prof. dr. sc. Stjepan Orhanović

Doris Crnčević

Rad prihvaćen: 19. rujna 2024.

## Basic documentation card

University of Split  
Faculty of Science  
Department of chemistry  
Ruđera Boškovića 33, 21 000 Split, Croatia

B. Sc. Thesis

### THE ROLE OF VITAMIN E AND VITAMIN E ACETATE ON MONOLIPID AND BILIPID MEMBRANES

Leona Pulić

Vitamin E is an essential nutrient that plays a key role in protecting cells from oxidative stress and maintaining health. As it is a substance that the human body cannot synthesize itself, it is increasingly being produced industrially to obtain an esterified form, vitamin E acetate. Vitamin E acetate is a stable and less reactive form of vitamin E. Although the acetate form offers many advantages due to its resistance to oxidation and is therefore often used in food supplements and cosmetics, one must be aware of the potential risks, especially with inhalation, which has recently become increasingly common in the younger population. This paper aims to highlight the extremely positive function of vitamin E in the fight against free radicals, but also its potentially negative effects on the human body when the monolipid membrane of the pulmonary surfactant is attacked, which can lead to the development of a potentially fatal disease "EVALI" („*E-cigarette or Vaping Use-Associated Lung Injury*“).

**Keywords:** vitamin E, vitamin E acetate, vegetable oils, monolipid membrane, inhalation

Thesis deposited in the library of Faculty of Science, University of Split

**Thesis contains:** 37 pages, 9 pictures, 3 tables, and 31 references, original in: Croatian

**Mentor:** Barbara Soldo, *PhD, Assoc. Prof.*

**Reviewers:** Barbara Soldo, *PhD, Assoc. Prof.*

Stjepan Orhanović, *PhD, Assoc. Prof.*

Doris Crnčević

Thesis accepted: September 19th, 2024.

# SADRŽAJ

1. UVOD.....	2
2. OPĆI DIO .....	4
2.1. Vitamin E i bioraspoloživost.....	4
2.2. Struktura vitamina E .....	6
2.3. Struktura i antioksidacijska svojstva vitamin E acetata .....	8
3. PREGLEDNI DIO .....	10
3.1. Metabolizam vitamina E .....	10
3.2. Uloge vitamina E .....	12
3.3. Oksidativni stres i ROS.....	13
3.4. Antioksidativna uloga vitamina E.....	14
3.4.1. Građa dvolipidne membrane.....	16
3.5. Lipidna peroksidacija i mehanizam antioksidacijske aktivnosti.....	17
3.6. Građa monolipidne membrane.....	20
3.7. Djelovanje vitamin E acetata na monolipidnu membranu plućnog surfaktanta .....	21
3.8. “Vaping” i e-cigarete.....	23
3.9. Bolest EVALI i klinička slika .....	24
3.9.1. Liječenje.....	24
4. ZAKLJUČAK.....	26
5. REFERENCE I LITERATURA.....	27





# 1. UVOD

*"Ljudsko tijelo je nevjerojatno kompleksan stroj, rezultat milijuna godina evolucije. Njegova ljepota leži u načinu na koji sve njegove komponente rade zajedno." (R. Dawkins).*

Čovjekov je organizam tijekom evolucije uspostavio vrlo učinkovite regulacijske mehanizme za preciznu kontrolu stvaranja, aktivnosti i inaktivacije njegovih procesa. Međutim, iz različitih razloga svakodnevnog života: loša prehrana, adiktivi, učestali stres i sl., dolazi do narušavanja "uvježbanih" kemijskih procesa odnosno do tzv. oksidativnog stresa. Oksidativni stres (OS) predstavlja metaboličko stanje organizma praćeno povećanjem količine reaktivnih kisikovih molekula. Zbog toga je uloga antioksidansa važna za ljudsko zdravlje jer sudjeluju u zaštiti stanica od oštećenja uzrokovanih slobodnim radikalima. Slobodni radikali su nestabilne molekule koji mogu izazvati prethodno spomenuti oksidativni stres što može dovesti do različitih kroničnih bolesti: dijabetes, Alzheimerove bolesti i raka, te do disfunkcije imunološkog sustava, kao i rano starenje kože, propadanje oftamološkog sustava, najčešće kataraktu i makularnu degeneraciju. Antioksidansi su, dakle, supstance koje neutraliziraju slobodne radikale i pomažu u zaštiti stanica od OS-a te su zbog toga nerijetko povezani sa smanjenjem imflamacija i općenitim blagotvorim djelovanjem na iznimno složen organski sustav kao što je ljudsko tijelo. Glavna klasifikacija dijeli antioksidanse ili protuoksidanse na esencijalne i neesencijalne antioksidanse. Neesencijalni tj. oni koje ljudsko organizam može samostalno sintetizirati su: glutation, koenzim Q10 (ubikinon) i urosolna kiselina. Uz vitamin C (askorbinska kiselina), selen, beta-karoten i druge karotenoide, esencijalni antioksidans od nutricionističke koristi je i vitamin E. Premda danas postoje različita industrijska "rješenja", najizvorniji oblik vitamina E ipak je onaj koji se prirodno nalazi u raznim orašastim plodovima (bademi, lješnjaci, suncokretove sjemenke), biljnim uljima (ulja pšeničnih klica, suncokreta, maslinovo) i zelenom povrću te voću. Nezanemariva je uloga vitamina E, osim u prehrani, i u kozmetičkoj i farmaceutskoj industriji, kao i u industriji stočne hrane u kojoj se zbog financijske isplativosti kao i brzine pripravljanja te dostupnosti potrebnih resursa, ali i pogodnijih kemijskih svojstava ipak radije koristi vitamin E acetat, esterizirani sintetizirani oblik vitamina. Uz navedene industrije, vitamin E acetat od nedavno se počeo koristiti i u "vaping" industriji. Naime, korištenje vitamina E acetata u vapeovima (e-tekućine) postalo je posebno istaknuto 2019. godine kada su se počeli javljati slučajevi teških respiratornih bolesti povezanih s upotrebom e-cigareta i vape uređaja u Sjedinjenim Američkim Državama. Provedena

istraživanja su pokazala da je vitamin E acetat, koji se koristi kao razrjeđivač ili aditiv u tekućinama za vaping, povezan s zdravstvenim problemima pluća. Identificirana je bolest pod imenom “EVALI” (*e-cigarette or vaping product use-associated lung injury*) od strane Američkog centra za kontrolu i prevenciju bolesti. Od 2019. godine, provedena su mnoga istraživanja koja upućuju na negativno djelovanje ovog spoja ukoliko isti dođe do membrane plućnog surfaktanta što je paradoksalno uobičajenom djelovanju spomenutog vitamina na čovjekovo tijelo.

## 2. OPĆI DIO

### 2.1. Vitamin E i bioraspoloživost

Vitamin E (*lat. "vita", "amins"- "život", "aminokiselina"*) je premijerno otkriven 1922. godine od strane dvije znanstvenice, A. J. Evans i A. A. T. Emmet, koje su istraživale njegovu ulogu u reprodukciji u miševa. Prvi put je izoliran 1936. (George H. W. H. J. W. Pehrson) iz pšenice, točnije iz embrionalnog dijela pšeničnog zrna te je od tada isti predmet mnogih istraživanja najčešće zbog svojih antiinflamatornih svojstava. Prirodni oblik ovog vitamina dolazi iz biljaka, pretežno biljnih ulja i sjemenki. Tako ulja; soje, suncokreta, kukuruza, oraha; sjemenke: pamuka, palminih i pšeničnih klica sadrže relativno veće količine vitamina E ( $\geq 50$  mg vitamina E/100 g ulja) [1] koji u prirodnom obliku dolazi u 8 različitih izomera:  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - i  $\delta$ -tokoferol te  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ -tokotrienol. Premda je  $\alpha$ -tokoferol ( $\alpha$ T) zastupljen u voću i povrću, ipak najveći izvor  $\alpha$ -tokoferola, kao i  $\gamma$ -tokoferola ( $\gamma$ T), su biljne sjemenke i ulja koja nastaju ekstrakcijom iz istih te su stoga najčešće konzumirani u nutritivno zdravim prehranama (Tablica 1.). Primjerice,  $\alpha$ T se pretežno nalazi u kikirikiju, bademima i sjemenkama suncokreta, dok je  $\gamma$ T glavni izvor vitamina E u orasima, pekan orahu, pistacijama i sjemenkama sezama. Zbog široke upotrebe kukuruznog i sojinog ulja u prehrani,  $\gamma$ T predstavlja ~ 60-70% oblika vitamina E konzumiranog u tipičnoj američkoj prehrani, dok ga  $\alpha$ T slijedi sa udjelom 20-25% [2]. S druge strane svijeta, jedan od izvora ove liposolubilne supstance ( $\gamma$ T) karakteristični za Mediteran su, uz sojino ulje, i sjemenke rajčice. Uz tokoferole, pod terminom vitamin E podrazumijevamo i tokotrienole koji se smatraju manje korisnim u obrani protiv radikalnih čestica tj. pokazuju manja antioksidativna svojstva. Tokotrienoli ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  i  $\delta$ ) su manje zastupljene supstance u hranjivim tvarima, ipak najprisutniji su u palminom ulju, ječmu, annatto i još nekim žitaricama. Nerijetko su u namirnicama bogatim vitaminom E prisutne i višestruko nezasićene masne kiseline tzv. PUFA (*engl. polyunsaturated fatty acids*). Stoga su orasi, pekani orasi, pistacije i sezam ujedno i izvrstan izvor PUFA kiselina, dok je u biljnim uljima većinom zabilježena viša razina monozasićenih masnih kiselina (MUFA).

Krajem prošlog stoljeća potaknuta su istraživanja ne bi li se dokazala bolja antioksidativna aktivnost  $\gamma$ -tokoferola i poljuljalo do tada ukorijenjeno mišljenje da je najoptimalniji borac protiv oksidativnog staničnog stresa  $\alpha$ -tokoferol. I danas su aktivna istraživanja na ovu temu

jer se u literaturi nalaze oprečni stavovi; tako se  $\alpha$ T navodi kao najefikasniji antioksidans zbog postojanja alfa-tokoferol transportnog proteina ( $\alpha$ -TTP) u jetri koji selektivno prepoznaje i transportira isti u tkiva te  $\gamma$ T kao učinkovitiji protuoksidans zbog povoljnije strukture koja mu omogućuje bolju penetraciju u staničnu membranu (podnaslov: 2.2). Ipak,  $\alpha$ -tokoferol je prisutniji u ljudskom tijelu nego  $\gamma$ -tokoferol. Primjerice, koncentracije  $\alpha$ T-a u plazmi u nesuplementiranih osoba variraju od 20 do 30  $\mu$ M, dok koncentracija  $\gamma$ T-a pokazuje 5-10 puta nižu razinu. Potencijalno objašnjenje za ovakve odnose može se tražiti u manjem afinitetu  $\gamma$ T-a prema jetrenim proteinima koji su zaslužni za metabolizam vitamina E [3].

Zaključno, premda je riječ o supstanci koja je dostupna u prirodi na korist čovjeku, zbog širokog spektra raznih industrija koje beneficiraju od ovog antioksidansa, a ujedno i lakše kontrole kvalitete, dostupnosti i ekonomskih razloga, često se poseže za sintetičkim oblikom iste.

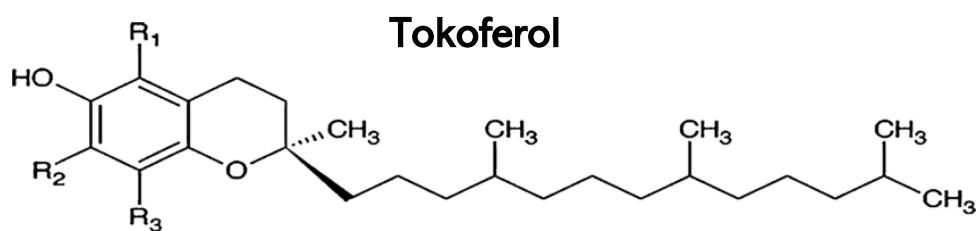
Tablica 1. Koncentracija  $\alpha$ -tokoferola u pojedinim namirnicama (izvor: [ResearchGate](#))

Klasifikacija hrane	Vrsta hrane	Prosječna koncentracija $\alpha$ -tokoferola (mg/100g)
mliječni proizvodi	maslac (80% masti)	2.11
	cheddar sir	0.78
biljna ulja	maslinovo ulje	22.3
	palmino ulje	15.9
	suncokretovo ulje	57.3
žitarice	zrno pšenice	10.2
povrće	špinat	3.98
	bosiljak	0.8
	rajčica	0.66
voće	mango, pulpa	2.05
	avokadox, pulpa	2.23
	kivi	0.96
orašasti plodovi	badem (s korom)	22.3
	svježi orah	1.6
	lješnjak	16.3

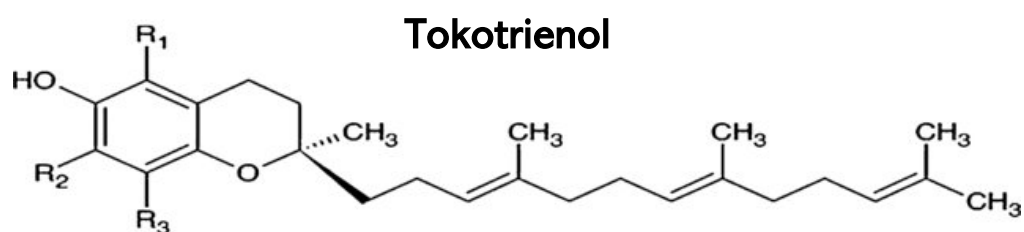
## 2.2. Struktura vitamina E

Vitamin E ljudski organizam ne može sintetizirati, a obzirom da djeluje kao snažan antioksidans, od vitalne je važnosti. Strukturalno, pojam “*vitamin E*” označava zajednički naziv za četiri tokoferola i četiri tokotrienola, detaljnije  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - i  $\delta$ - tokoferole i  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - i  $\delta$ - tokotrienole. Nešto više istražen i onaj od krucijalne važnosti za ljudsko metaboličko zdravlje ipak je tokoferol odnosno  $\alpha$ -tokoferol premda neka novija istraživanja prednost daju  $\gamma$ -tokoferolu [3] Iako obje varijacije pripadaju vitaminu E, razlikuju se po biološkoj dostupnosti i kemijskoj strukturi, a samim time i biološkoj aktivnosti te funkciji. Naime, tokoferoli u svojoj strukturi pokazuju kromanolni prsten i fitilni rep s tri kiralna centra (Slika 1.), dok tokotrienoli imaju nezasićeni bočni lanac s tri dvostruke veze uz kromanolni prsten (Slika 1.).  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - i  $\delta$ -tokoferoli razlikuju se u poziciji i broju metilnih skupina na kromanolnom prsten. Tako  $\alpha$ -tokoferol ima tri metilne skupine (pozicije: 5,7,8),  $\beta$ -tokoferol ima dvije metilne skupine (5,8),  $\gamma$ -tokoferol također dvije (7,8) i  $\delta$ -tokoferol jednu na poziciji 8 (Slika 1.). U okosnici strukture svih oblika ovog vitamina nalazi se kromanolni prsten i izoprenoidni ili bočni lanac. Kromanolni prsten je aromatski i sadrži -OH skupinu koja donira vodik što vitaminu E omogućava učinkovitu zaštitu staničnih membrana od oksidativnih oštećenja odnosno antioksidaciju. Aromatski prsten omogućuje stabilizaciju slobodnog elektrona, dok OH skupina ima ključnu ulogu u neutralizaciji slobodnih radikala kroz donaciju vodika (podnaslov: 3.5). Bočni lanac je dugačak i hidrofoban te sadrži 16 ugljikovih atoma raspoređenih u 4 izoprenske (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>) podjedinice. Karakteristika tokoferola je zasićenost bočnog lanca dok je on kod tokotrienola nezasićen.

a)



b)



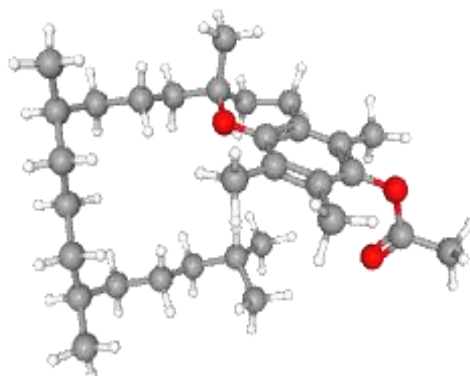
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
<b>α</b>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
<b>β</b>	H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
<b>γ</b>	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>
<b>δ</b>	H	H	CH <sub>3</sub>

Slika 1. Struktura tokoferola (a) i tokotrienola (b)

(izvor: [https://www.researchgate.net/publication/269042116\\_Vitamin\\_E\\_Transporters\\_in\\_Cancer\\_Therapy](https://www.researchgate.net/publication/269042116_Vitamin_E_Transporters_in_Cancer_Therapy))

## 2.3. Struktura i antioksidacijska svojstva vitamin E acetata

Vitamin E acetat, poznat i kao tokoferil acetat, sintetički je oblik vitamina E. Riječ je o viskoznom lipofilnom spoju u čijoj se jezgri također nalazi ista osnovica kao kod prirodnog vitamina E. Iz sjemenki, plodova ili ulja metodama hladnog prešanja i/iliekstrakcijom uz pomoć otapala izoliraju se  $\alpha$ -tokoferoli. Već je spomenuto da  $\alpha$ -tokoferol sadrži benzopiranski prsten s hidroksilnom skupinom (-OH) na 6C atomu i fitilni rep (Slika 2.), a zamjenom hidroksilnog vodika s acetatnom skupinom formira se acetatni ester (Slika 3.). Ovaj proces esterifikacije



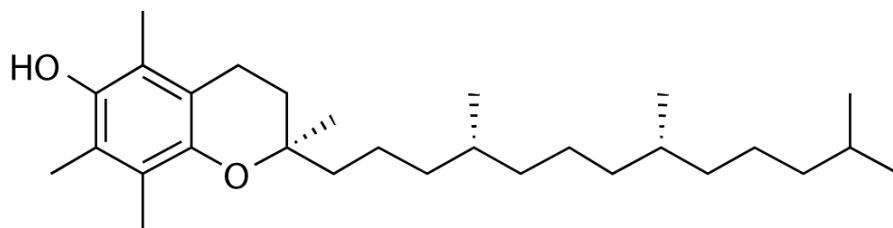
Slika 2. Struktura vitamin E acetata

(izvor: [NCBI](#))

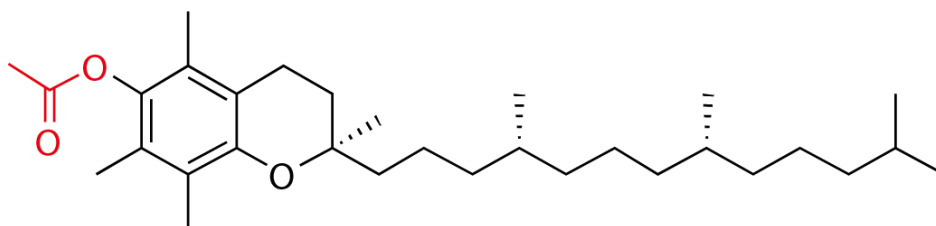
uključuje zamjenu vodikovog atoma i acetatne skupine koja nerijetko dolazi iz anhidrida octene kiseline ili acetil klorida. Još jedna razlika između  $\alpha$ -tokoferola i tokoferil acetata je i u stereoizomeriji. Naime, zbog prisutnosti tri asimetrična odnosno kiralna C-atoma na fitilnom lancu, stereoizomerija sintetičkih tokoferola pokazuje 8 različitih formi (RRR-, RSR-, RRS-, RSS-, SRR-, SSR-, SRS-, SSS-), dok prirodni tokoferoli imaju isključivo RRR stereoizomeriju.

Razlike u antioksidativnoj aktivnosti vitamina E i vitamin E acetata proizlaze iz nekoliko faktora uključujući različitu prostornu konfiguraciju molekula odnosno stereoizomeriju i kemijsku modifikaciju acetatnom skupinom. Acetiliranjem hidroksilne skupine tj. atoma vodika  $\alpha$ -tokoferola (kromanolni prsten) smanjuje se antioksidativna aktivnost vitamin E acetata jer hidroksilna skupina više nije dostupna za neutralizaciju slobodnih radikala. Ključna je, dakle, esterifikacija s acetatnom skupinom zbog koje je vitamin E acetat stabilnija molekula. To ju čini otpornijom na oksidaciju i razgradnju, zbog čega se često koristi u kozmetičkim proizvodima i dodacima prehrani. Vitamin E acetat smatra se provitaminom odnosno prekursorom vitamina koji se esterazama prevodi u  $\alpha$ T. Zbog niže reaktivnosti i više stabilnosti, vitamin E acetat pokazuje dugotrajniji učinak s obzirom na vitamin E, ali s druge strane, zbog dodatne kemijske reakcije hidrolize usporava se njegovo antioksidativno djelovanje.





Vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol)



Vitamin E acetat

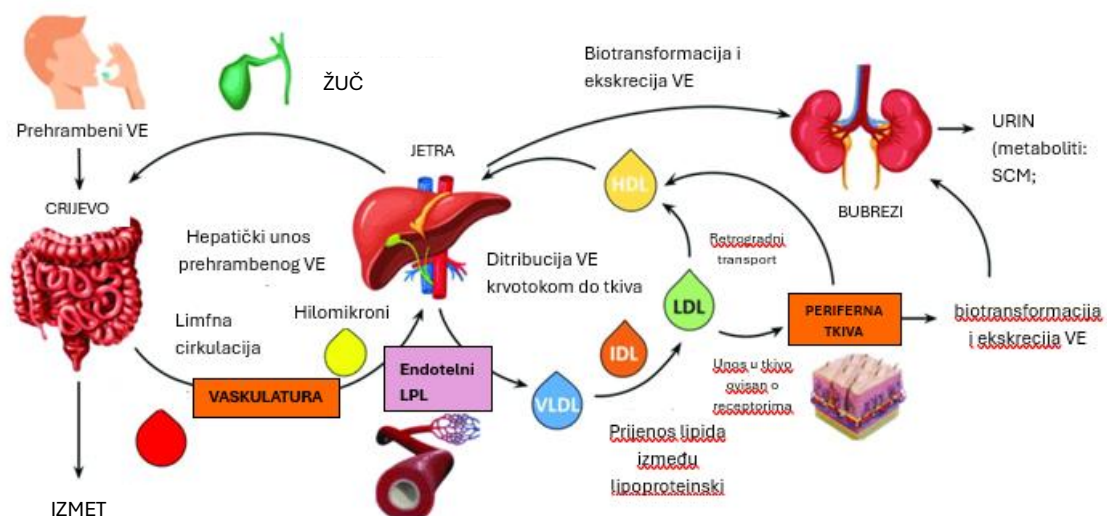
Slika 3. Razlika u strukturi vitamina E (gore) i vitamin E acetata (dolje)

(izvor: [https://www.researchgate.net/publication/332187881\\_Tocotrienols\\_tocopherols\\_and\\_tocomonoenols/figures?lo=1](https://www.researchgate.net/publication/332187881_Tocotrienols_tocopherols_and_tocomonoenols/figures?lo=1))

### 3. PREGLEDNI DIO

#### 3.1. Metabolizam vitamina E

Metabolizam definiramo kao ukupnost svih kemijskih reakcija koje se zbivaju u živim organizmima kako bi se održali životni procesi. Krajnji cilj metabolizma je transformacija tvari i energije kroz kompleksan sustav reakcija. Katabolistički put tokotrienola i tokoferola započinje oralnom primjenom što rezultira formacijom micela zajedno s žučnim kiselinama, kolesterolom, fosfoglicerolom i triacilglicerolom kojima iste putuju do crijevnog lumena odnosno crijevnih stanica u kojima se vrši apsorpcija blagotvornih tvari [4]. U izbočinama sluznice tankog crijeva nalaze se tzv. laktealne žile - specijalizirane limfne kapilare koje sudjeluju u apsorpciji masti i transportu hilomikrona. Hilomikroni su specifične lipoproteinske čestice nastale u enterocitima, detaljnije u endoplazmatskom retikulumu ili Golgijevom aparatu, a primarna im je funkcija transport masti; triacilglicerola, kolesterola, fosfolipida i vitamina, uključujući vitamin E. Vitamin E pakiran u hilomikronima ostaje „sačuvan“ pa je koncentracija vitamina E u hilomikronima gotovo u potpunosti jednaka koncentraciji iz oralno konzumirane hrane [5]. Hilomikroni prenose vitamin E limfnim sustavom do perifernih tkiva gdje se vežu na lipoproteinske receptore dok se ostaci hilomikrona dopremaju u jetru, središnji organ za metabolizam i detoksifikaciju organizma prije nego li se preuzmu od strane lipoproteina vrlo niske gustoće (VLDL) (Slika 4.).



Slika 3. Apsorpcija, distribucija, metabolizam i ekskrecija vitamina E

(izvor: [https://www.researchgate.net/figure/Schematic-representation-of-vitamin-E-metabolism-The-main-steps-of-the-intestinal\\_fig2\\_360694894](https://www.researchgate.net/figure/Schematic-representation-of-vitamin-E-metabolism-The-main-steps-of-the-intestinal_fig2_360694894))

U jetri se  $\alpha$ T preferencijalno veže za  $\alpha$ -tokoferol-transferni protein ( $\alpha$ -TTP), citosolni protein od 30,5 kDa koji pokazuje visoki afinitet za  $\alpha$ T [6]. Premda isto nije znanstveno uvriježeno, sugerirana teorija daljnjeg metabolizma vitamina E povezuje  $\alpha$ -TTP s aktivacijom ATP vezivnog kasetnog transportera A1 (ABCA1) [7] [8] čime se olakšava transport  $\alpha$ T-a do VLDL-a odnosno krvotoka. Naime,  $\alpha$ -TTP je protein koji spada među CARL-TRIO proteine (engl. *Catenin-Associated Adherens Junction Protein*) i isti pokazuje razlike u afinitetu prema različitim izomerima vitamina E što rezultira razlikama u njihovom metaboličkom putu. Snažni afinitet  $\alpha$ -TTP ima za  $\alpha$ T dok prema drugim oblicima vitamina E pokazuje mnogo slabiji afinitet [9]. Drugim riječima, prema  $\alpha$ -TTP-u,  $\alpha$ -TocH ima afinitet od 100%,  $\beta$ -tokoferol 38%,  $\gamma$ -tokoferol 9% i  $\delta$ -tokoferol tek 2% [10]. Protein  $\alpha$ -TTP, sprječava brzu razgradnju  $\alpha$ T-a, prenosi ga do lipoproteina niske gustoće (LDL), lipoproteina visoke gustoće (HDL) i drugih lipoproteina, koji ga transportiraju do raznih tkiva, a zatim i do ekskrecijskih organa. Može se zaključiti da je  $\alpha$ T na neki način zaštićen, no izomeri vitamina E koji nisu vezani za  $\alpha$ -TTP u jetri nastavljaju daljni metabolizam u vidu katabolizacije preko citokroma P450 (CYP4F2) i skraćivanja bočnih lanaca. Nastupa  $\beta$ -oksidacija izoprenoidnog bočnog lanca koja kao rezultat ima 13'-hidroksikromanol (13'-OH) te razne karboksikromanole i završni metabolit 3'-karboksikromanol (3'-COOH) ili (2'-karboksi-etil)-6-hidroksikromani (CEHC-ovi) [11]. Graduiranom  $\beta$ -oksidacijom uklanjaju se 2 ili 3 ugljikova atoma sa bočnog lanca u svakom ciklusu. Eksperimentom kojeg su Mustacich i sur. (2006.) proveli u štakora koji je oralno primio veću količinu vitamina E, točnije  $\alpha$ T-a,  $\omega$ -hidroksilacija i citokromska  $\beta$ -oksidacija 13'-ugljika odvijaju se u endoplazmatskom retikulumu jetre dok se naknadna  $\beta$ -oksidacija dugolančanih i kratkolančanih karboksikromanola odvija u peroksisomima i mitohondrijima [12]. Glavni put izlučivanja metabolita koji su nastali razgradnjom vitamina E je preko žuči koji se zatim ekskretira izmetom. Nevezani karboksikromanoli se primarno nalaze u izmetu dok se kratkolančani karboksikromanoli izlučuju putem urina. Konjugacijskim reakcijama, kao što su glukuronidacija i sulfatacija, povećava se topljivost metabolita vitamina E u vodi što u konačnici olakšava njihovu ekskreciju iz organizma.

Može se zaključiti da se vitamin E iz hrane distributira u tijelu ne samo apsorpcijom u stanicama sluznice crijeva, već da u njegovoj distribuciji aktivno sudjeluje i jetra. Brojni proteini i enzimi uključeni su u ADME (apsorpciju, distribuciju, metabolizam i ekskreciju) vitamina E u različitim koracima. Najistaknutiji je  $\alpha$ -TTP koji sprječava daljnju razgranju  $\alpha$ -tokoferola vezivanjem za njega u jetri. Suprotno djelovanju  $\alpha$ -TTP-a je djelovanje  $\omega$ -hidroksilaze koja pojačava

katabolističku aktivnost prema  $\beta$ -,  $\gamma$ - i  $\delta$ - tokoferolima. Tokotrienoli prolaze kroz sličan metabolički put kao i tokoferoli odnosno, bolje rečeno, kao ne- $\alpha$ -tokoferoli; apsorpcija kroz crijevne stanice, distribucija i hepatička razgradnja u vidu  $\omega$ -hidroksilacije i  $\beta$ -oksidacije te ekskrecija. Ipak, tokoferoli se u tijelu preferencijalno nakupljaju u organima, dok je nakupljanje tokotrienola specifično za masno tkivo što potencijalno može biti objašnjenje njihove fiziološke aktivnosti – antioksidacije.

### 3.2. Uloge vitamina E

Vitamin E ima mnoštvo uloga koje doprinose općem zdravlju tijela čovjeka. Tako primjerice, vitamin E može inhibirati aktivnost protein kinaze C, enzima koji je uključen u procese kao što su proliferacija stanica i agregacija trombocita što je važno za kontrolu rasta stanica i sprječavanje pretjerane koagulacije krvi [13]. Također, Mukherjee i sur. (1988.) dokazali su djelovanje vitamina E tj.  $\alpha$ -tokoferola na inhibiciju hidrolize fosfolipaze A2 (PLA2) na staničnoj membrani [14]. Fosfolipaza je katalizator hidrolize acil-esterske veze, među ostalim to je i reakcija kojom se oslobađa arahidonska kiselina koja se koristi uglavnom za sintezu molekula kao što su prostaciklini, prostaglandini i tromboksani čije su povišene koncentracije karakteristične za upalne procese. Obzirom da je prisutan u staničnoj membrani, uz antioksidativno djelovanje, vitamin E tamo djeluje i kao stabilizator. Premda u svojoj strukturi sadrži i OH skupinu (što mu omogućava stvaranje vodikovih veza s atomima kisika u lipidima), on u stanici ne djeluje kao klasična amfipatska molekula već dominiraju njegova hidrofobna svojstva. Zbog prethodno navedene liposolubilnosti, vitamin E se ugrađuje među hidrofobne repove fosfolipida u membrani čime se održava stabilnost membrane. Naime, kromanolni dio  $\alpha$ -T-a ima visoki afinitet prema lipidnim komponentama membrana čime se sprječava i pretjerana membranska fluidnost i rigidnost. Uz regulaciju enzimske aktivnosti i strukturalnu optimizaciju membrana, različiti izomeri vitamina E djeluju i na ekspresiju gena, modulaciju imunološkog odgovora i agregaciju tromba (kardiovaskularne disfunkcije) [15]. Neka istraživanja prijavljuju čak i pozitivni utjecaj na neuroprotekciju i reprodukciju [16], ali ipak u znanstvenoj literaturi vitamin E je najpoznatiji upravo zbog svojih antioksidativnih svojstava.

### 3.3. Oksidativni stres i ROS

Oksidativni stres definira se kao disbalans između oksidansa i protuoksidansa (poremećaj redoks ravnoteže). Ovaj pojam, opisan od strane Helmuta Sies-a 1985., označava, dakle, neravnotežu između proizvodnje oksidansa i antioksidativne obrane koja može rezultirati oštećenjem bioloških sustava zbog kemijskih reakcija takozvanih reaktivnih vrsta koje potječu od kisika i dušika tzv. slobodnih radikala. Slobodni radikal je atom, atomska skupina ili molekula koja ima jedan ili više nesparenih elektrona u vanjskoj ljusci. Isti mogu biti električki neutralni ili nabijeni tj. u obliku iona, a većina ih nastaje homolitičkim kidanjem kovalentne veze do koje dolazi najčešće djelovanjem svjetlosti (fotoliza) ili topline (piroliza). Zbog nesprenog elektrona, slobodni radikal je paramagnetičan, kemijski vrlo nestabilan i stoga silno reaktivan, a postojanje mu je ograničeno na vrlo kratko vrijeme (ROS/RNS, Tablice 2. i 3.). Radikali zato lako reagiraju međusobno, a mogu reagirati i s drugim molekulama ili se raspasti, tako stvarajući nove radikale koji opet mogu dalje reagirati što je osnova mnogih kemijskih lančanih reakcija. Premda ove reaktivne kisikove čestice mogu rezultirati oštećenjem makromolekula i bioloških sustava, ROS (engl. *reactive oxygen species*) su prisutne u stanici i u fiziološkim uvjetima odnosno nusprodukt su i “normalnog” aerobnog metabolizma. Naime, endogeni ROS-ovi proizvode se tijekom metaboličkih procesa normalnih stanica, dok egzogeni nastaju uslijed djelovanja različitih vanjskih utjecaja. Redoks signalizacija je proces u kojem se elektronski aktivirani radikali ponašaju kao glasnici u ljudskom tijelu, a ista se klasificira u dvije vrste: modulacija agonista receptora stanica sekundarnim posrednicima čime se aktivira generiranje ROS-a i odgovor na stres uslijed previsoke koncentracije radikala [17]. Dakle, ukoliko je riječ o standardnim i reguliranim uvjetima te koncentracijama, ROS djeluje kao sekundarni posrednik i sudjeluje u različitim biološkim putevima kao što su: tiredoksin, redoks efektorski faktor (Ref-1), željezo-regulacijski proteini (IRP), mitogenom aktivirana proteinska kinaza (MAPK), fosfoinozidna 3-kinaza (PI3) itd. [18]. S druge strane, ravnoteža može biti pomaknuta u smjeru nastanka viška slobodnih radikala što uzrokuje abnormalne mutacije npr. lipidnu peroksidaciju i posljedično apoptozu stanice. Obzirom da oksidativni stres inducira početak raznih bolesti (najčešće kardiovaskularnih ili neurodegenerativnih), cilj je obraniti tijelo od tih antagonista što je glavna zadaća antioksidansa kao što je i vitamina E.

Tablica 1. Simboli i poluvrijeme raspada pojedinih reaktivnih kisikovih čestica (ROS)

SLOBODNI RADIKAL (ROS)	SIMBOL	POLUVRIJEME RASPADA
Superoksidni	$O_2^{\cdot-}$	$10^{-6}$ s
Hidroksilni	$OH^{\cdot}$	$10^{-10}$ s
Alkoksilni	$RO^{\cdot}$	$10^{-6}$ s
Peroksilni	$ROO^{\cdot}$	17 s

Tablica 3. Simboli i poluvrijeme raspada reaktivnih dušikovih čestica (RNS)

SLOBODNI RADIKAL (RNS)	SIMBOL	POLUVRIJEME RASPADA
Dušikov oksid	$NO^{\cdot}$	0,1-2 s
Dušikov dioksid	$NO_2^{\cdot}$	1 s
Peroksinitrit	$ONOO^-$	1-2 s

### 3.4. Antioksidativna uloga vitamina E

Aerobni organizmi posjeduju enzimatske: katalaza, glutacion peroksidaza i superoksid dismutaza i neenzimatske antioksidanse: albumin, antocijanidine (cijanidin, delphinidin, malvidin itd.), flavonole (kaempferol, kvercetin, miricetin), flavone (apigenin i luteolin), izoflavone (daidzein i genistein), flavonone (eriodiktin, hesperetin i naringenin), folnu i galnu kiselinu, glutacion (GSH), lipoičnu kiselinu, ubikinol itd. Od vitamina, među antioksidansima nalaze se: vitamin A,  $\beta$  i  $\alpha$ -karoten, astaksantin,  $\beta$ -kriptoksantin, lutein, likopen i zeaksantin, vitamin C (askorbinska kiselina), vitamin K; filokinon i meankinon te od posebne važnosti za ovaj rad i onaj od visoke antioksidativne moći, vitamin E.

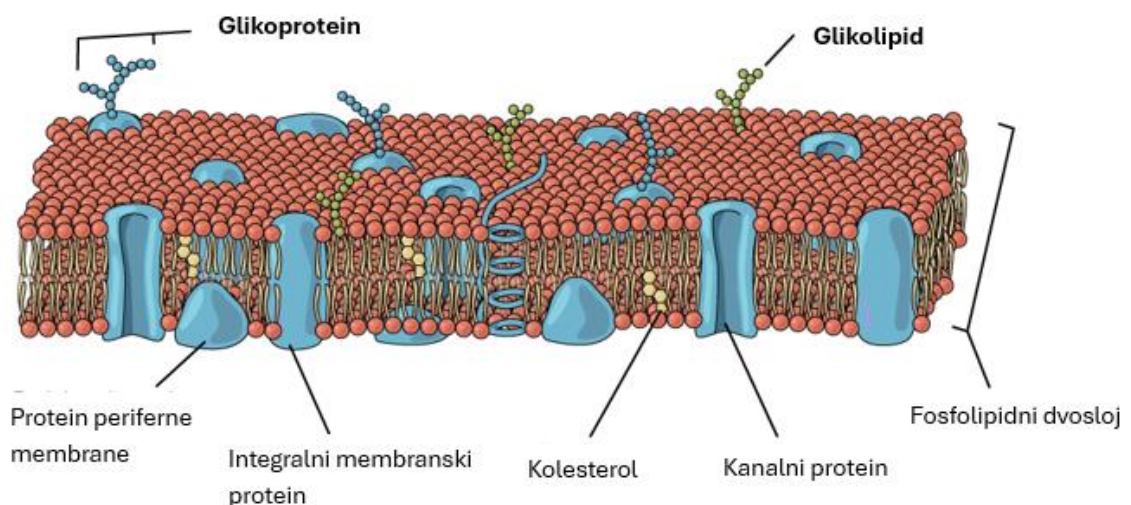
Obzirom da broj metilnih skupina na prstenu utječe na sposobnost molekule da neutralizira slobodne radikale i na njenu stabilnost u lipidnim membranama, antitoksidativni učinci ovise o položaju i broju navedenih skupina izomera vitamina E. Kao što je spomenuto u podnaslovu „Struktura vitamina E“, istraživanja (Maniam i sur., 1993.) su se bavila uspoređivanjem antioksidativne jakosti tokoferola i tokotrienola. Podsjetimo, vitamin E je skupina sličnih spojeva koji uključuju osam izomera, četiri tokoferola i četiri tokotrienola,

a njegova struktura sastoji se od kromanolnog prstena i izoprenskog bočnog lanca. Kromanolni aromatski prsten sadrži fenolnu hidroksilnu skupinu (-OH) na položaju 6, a položaji 5, 7, i 8 mogu biti supstituirani metilnim skupinama (-CH<sub>3</sub>) čiji broj i položaj određuje različite izomere vitamina E. Među tokoferolima, alfa-tokoferol ima tri metilne skupine na 5., 7., i 8. poziciji, beta-tokoferol dvije metilne skupine na 5. i 8. poziciji, gamma-tokoferol dvije metilne skupine na 7. i 8. poziciji, a delta-tokoferol jednu metilnu skupinu na 8. poziciji. Slična pravila vrijede i za tokotrienole, ali s nezasićenim bočnim lancem.

Muller i sur. uspoređivali su antioksidativnu aktivnost specifičnih izomera vitamina E različitim metodama, uključujući: ispitivanje feričke redukcije antioksidativne snage (engl. *ferric reducing antioxidant power*, FRAP), ispitivanje kapaciteta antioksidansa ekvivalentnih  $\alpha$ -T-u, ispitivanje scavenginga slobodnih radikala sa 2,2-difenil-1-pikrilhidrazilom (DPPH), ispitivanje kapaciteta apsorpcije kisikovih radikala (engl. *oxygen radical absorbance capacity*, ORAC) i dr., ne bi li usporedili razlike u intezitetu antioksidativnog djelovanja koje proizlaze iz razlika u strukturi [19]. Provedena istraživanja općenito su klasificirala snagu antioksidativne aktivnosti među izomerima vitamina E redom  $\alpha > \beta > \gamma > \delta$  te su donijela zaključak da je tokoferol jači antioksidans od tokotrienola [20].

### 3.4.1 Građa dvolipidne membrane

Vitamin E svoju ključnu ulogu izvršava u lipidnom dvosloju membrana. Prisutan je u cijelom tijelu, a lokaliziran u staničnim membrana gdje se zbog svojstva liposolubilnosti lako ugrađuje u fosfolipidni dvosloj djelujući kao neutralizator slobodnih radikala. Dvoslojne membrane čine više od 99% staničnih membrana u tijelu čovjeka. Iz iznesenog zaključujemo da su jednoslojne membrane vrlo rijetke i nalaze se u lipoproteinima krvotoka, izgrađuju adipocite i hepatocite te su prisutne u plućnom surfaktantu u alveolama pluća. Stanična membrana, također poznata kao plazmalema, složena je struktura koja obavija stanicu i odvaja njezin unutarnji sadržaj od vanjskog okruženja. Ona ima ključnu ulogu u održavanju stanične homeostaze i omogućava stanicama da funkcioniraju u dinamičnom okruženju obzirom da djeluje kao svojevrsna probirna pregrada. Struktura stanične plazma membrane objašnjava se po modelu kojeg su 1972. postavili Singer i Nicolson. *“Model tekućeg mozaika”* opisuje dvosloj lipida koji tvori strukturni matriks biomembrane. Hidrofobne molekule složene su kao kontinuirani dvosloj (masni „rep“ prema unutra, a polarne „glave“ prema van) (Slika 5.) debljine oko 5 nm koji daje stanici osnovnu strukturu i služi kao relativna zapreka većini hidrofilnih molekula. Uz fosfolipide, ostale amfipatske molekule u dvosloju su kolesterol i glikolipidi. Za transport molekula, enzimske funkcije i receptorske uloge zaslužni su proteini koji, ovisno o svojoj ulozi i položaju, mogu biti integralni ili periferni. Proteini također povezuju citoskelet sa izvanstaničnim matriksom i susjednim stanicama te predstavljaju svojevrsne strukturne veze tog kompleksa.



Slika 4. Građa dvolipidne membrane(izvor:<https://s3-us-west-2.amazonaws.c>)



### 3.5. Lipidna peroksidacija i mehanizam antioksidacijske aktivnosti

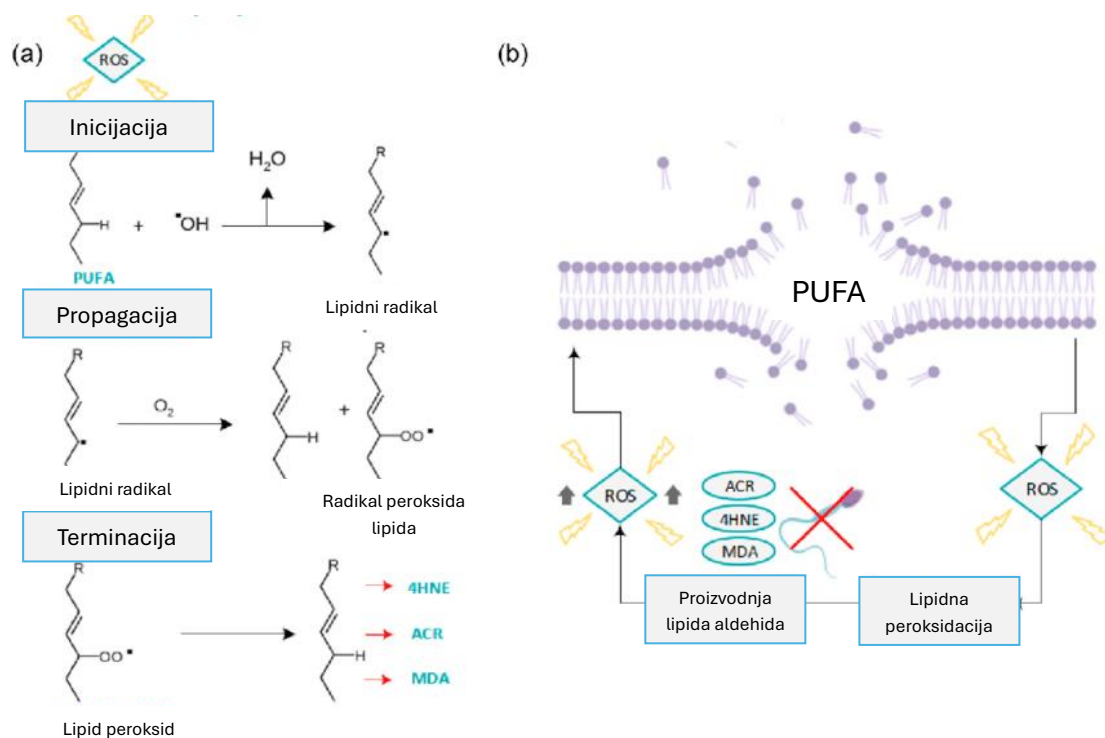
Pod pojmom “*lipidna peroksidacija*” podrazumijevamo skup kemijskih reakcija u kojima aktivni radikali napadaju lipide koji u svojoj strukturi sadrže ugljik-ugljik dvostruku vezu (C=C). Navedena reakcija se odvija na nezasićenim masnim kiselinama koje se dehidrogeniraju tj. uklanja se vodik sa ugljika, a pritom se insertira kisik i stvaranju se lipidni peroksilni radikali i hidroperoksidi. Uz nezasićene masne kiseline, radikali nerijetko napadaju i glikolipide, fosfolipide (PL) i kolesterol (Ch). Radikali su nestablini i izrazito reaktivni zato stupaju u kemijske reakcije i nestaju vrlo brzo (Tablice 2. i 3.). Naime, stanica proizvede oko 50 hidroksilnih radikala svake sekunde što znači da bi u jednom danu svaka stanica proizvela 40 milijuna istih [21]. Hidroksilni radikali uzrokuju oksidativno oštećenje stanica jer nespecifično napadaju biomolekule koje se nalaze na udaljenosti manjoj od nekoliko nanometara od mjesta njihovog stvaranja. Pod fiziološkim stanjem u stanici, odnosno pri niskim stopama peroksidacije lipida, stanice se oslanjaju na antioksidativni sustav kroz aktivaciju signalnih putova koji pojačavaju antioksidativne proteine. Ukoliko je koncentracija radikala u stanici previsoka, smatra se da u stanici tada vladaju toksični uvjeti pa stanica inducira *nekrozu* ili *apoptozu*, programiranu smrt što uzrokuje oštećenja DNA materijala, progresiju patoloških stanja i posljedično starenje organizma.

Navedeni proces lipidne peroksidacije (LP) odvija se u tri faze: inicijacija, propagacija i terminacija (Slika 6.) što se naziva teorijom hiperoksida (1943.).

- **Inicijacija ili pokretanje** je prva faza lipidne peroksidacije koja rezultira radikalima lipida. Reaktivna kisikova čestica kao što je hidroksilni radikal (HO•) stvara lipidne radikale. Smatra se da hidroksilni radikali u tijelu nastaju redoks cikliranjem Fentonovom reakcijom, (reakcija željeza ( $Fe^{2+}$ ) s vodikovim peroksidom ( $H_2O_2$ )) i Haber-Weissovom reakcijom (reakcija superoksida s feri željezom ( $Fe^{3+}$ )) (Slika 7.) [22].
- **Propagacija ili širenje**- radikali lipida ( $L\bullet$ ) nastali u prethodnoj fazi reagiraju s kisikom i pri tom nastaje radikal lipid peroksida  $LOO\bullet$  koji daljnje reagira s dodatnim nezasićenim masnim kiselinama što daje  $LOOH$  (lipid hiperoksid) koji je nestabilan i može se raspadati oslobađajući više radikala. Također, ovaj korak često uključuje metalne ione, poput željeza ( $Fe^{2+}$ ), koji mogu ubrzati reakciju stvaranjem dodatnih

radikala kroz spomenutu Fentonovu reakciju. Dakle, produkti ove lančane reakcije su ( $L\cdot$ ) i LOOH.

- **Terminacija ili završavanje** je posljednja faza lipidne peroksidacije. Lipidni peroksidi se mogu raspadati u različite produkte uključujući malondialdehid (MDA) i 4-hidroksinonen (4-HNE) što zovemo procesom degradacije, a ista može oštetiti biomolekule. Ipak, zbog postojanja antioksidansa kao što je vitamin E, većinom terminacija označava kraj procesa oksidacije lipida.

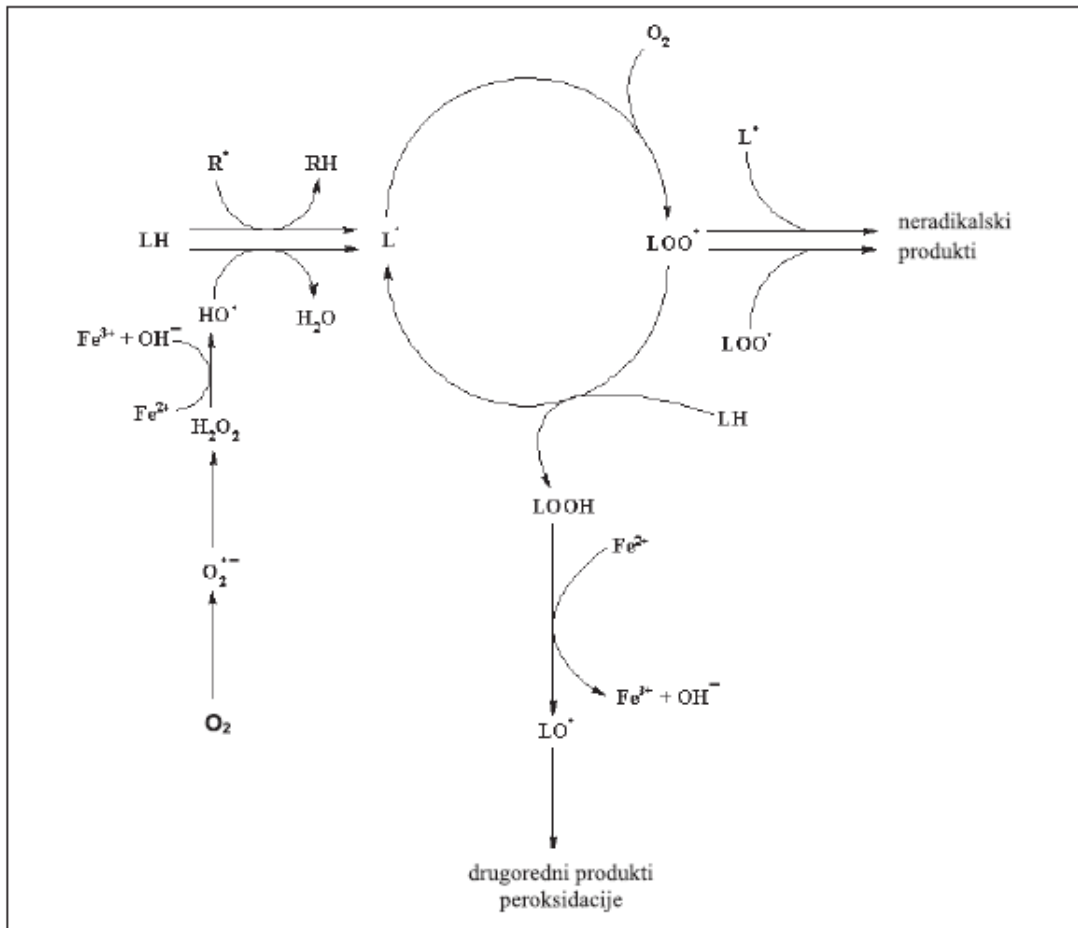


Slika 5. Lipidna peroksidacija i produkti oksidacije lipida: 4-hidroksi-nonenal (4HNE)- reaktivni aldehid koji nastaje oksidacijom polinezasićenih masnih kiselina; akrolein (ACR)- aldehid produkt oksidacije glicerida; malondialdehid (MDA)- produkt oksidacije linolne kiseline

(izvor: [Research gate](#))

U posljednjoj fazi, prisutnost vitamina E u reakciji donosi vodikove ione (vodik iz fenolne skupine kromanolnog prstena) radikalu lipid peroksida koji je nastao u prethodnoj fazi odnosno propagaciji koji se zatim pretvara u  $\alpha$ -Toc $\cdot$  ne bi li se formirao lipid peroksid. Osim toga,  $\alpha$ -Toc $\cdot$  može reagirati s drugim radikalima LOO $\cdot$  stvarajući slabo reaktivne ne-radikalne adukte (Slika 7.). Također su istraživanja dokazala da dva  $\alpha$ -Toc $\cdot$  formiraju slabo reaktivne ne-

radikalne dimere [23]. Zaključno, jedna molekula vitamina E “hvata” dvije molekule radikala peroksida, a izomeri koji ne posjeduju metilnu skupinu na položaju 5 kao što je  $\gamma$ T mogu uhvatiti dušikove reaktivne čestice (RNS) koje se također povećavaju tijekom upale.

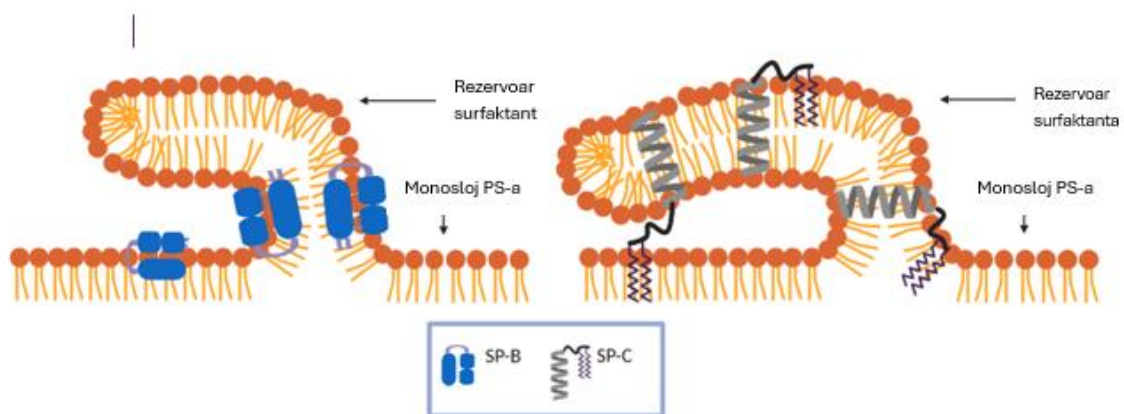


Slika 6. Lipidna peroksidacija

(izvor: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:184:513232>)

### 3.6. Građa monolipidne membrane

Monolipidna membrana je vrsta stanične membrane koja se sastoji od jednog sloja lipidnih molekula. Glavni tip lipida koji ju izgrađuju su fosfolipidi (kao i kod dvolipidne membrane) koji imaju hidrofobni „rep“ i hidrofilnu „glavu“. U monolipidnoj membrani, fosfolipidi su raspoređeni u jednom sloju, s hidrofilnim dijelovima okrenutim prema vanjskom okruženju (ako je riječ o vanjskoj membrani) i s hidrofobnim repovima usmjerenim prema unutrašnjosti. Također, uz fosfolipide, u strukturi se mogu nalaziti i glikolipidi i steroli kao što je kolesterol, premda manje zastupljeni nego u plazmatskoj membrani. Kao rezultat niže koncentracije kolesterola, fluidnost ovakve membrane je veća. Monolipidne membrane nisu karakteristične za ljudsko tijelo, no iste se ipak nalaze u plućima odnosno u plućnom surfaktantu. Plućni surfaktant luče pneumociti tipa II, a isti oblaže plućne alveole te za ulogu ima smanjivanje površinske napetosti tako smanjujući sklonost alveola kolapsu. Naime, monolipidna membrana plućnog surfaktanta građena je od fosfolipida i to dipalmitoilfosfatidilkolina (DPPC) koji čini oko 40-50%, fosfatidilkolina (PC), fosfatidilserina (PS), fosfatidilinozitola (PI) i fosfatidilglicerola (PG) te surfaktantnih proteina redom: SP-A, SP-B, SP-C i SP-D. Ovi su proteini ključni za funkciju surfaktanta. SP-B i SP-C igraju važnu ulogu u pravilnom rasporedu i stabilizaciji fosfolipida na površini alveola (Slika 8.), dok su SP-A i SP-D uključeni u imunološku obranu protiv patogena. Što se strukture tiče, lipofilni dio (odnosno hidrofobni repovi) fosfolipida orijentiran je prema zraku u alveolama, dok su hidrofilne glave okrenute prema vodenom sloju unutar alveola što učinkovito smanjuje površinsku napetost na sučelju zraka i vode.



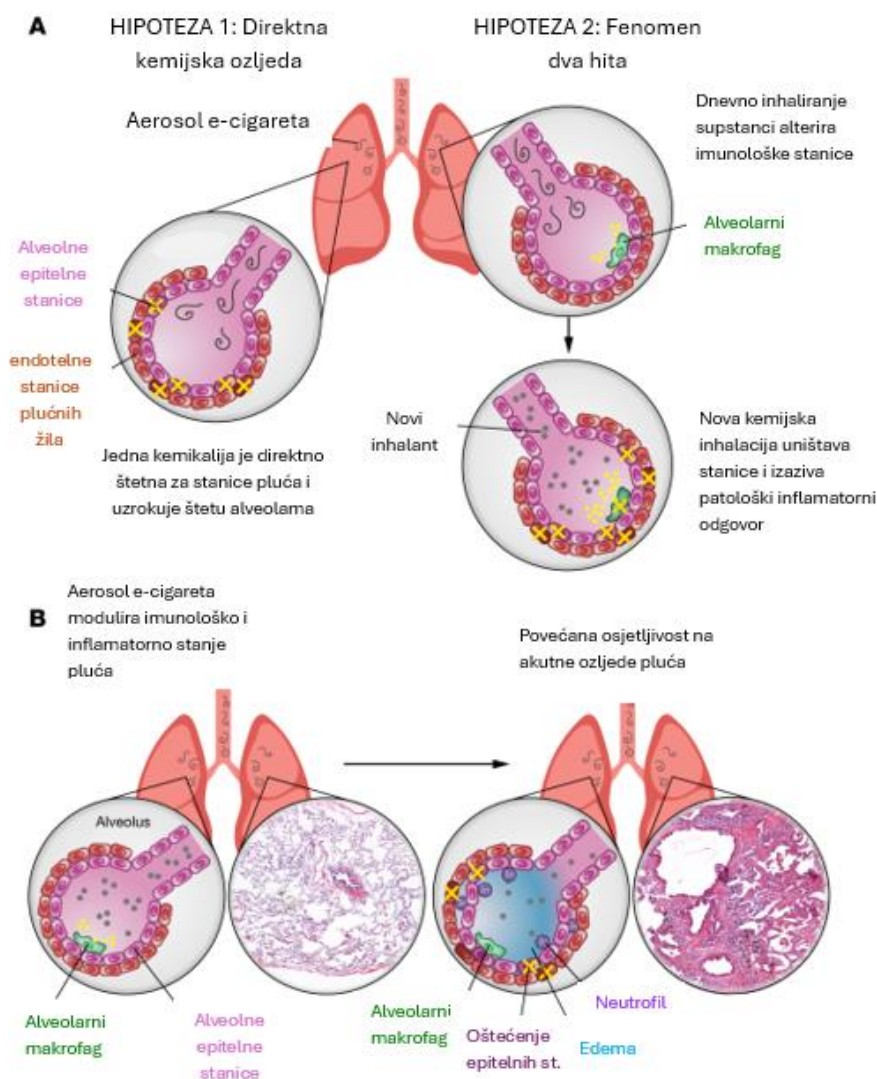
Slika 7. Istiskanje i preklapanje monolipidne membrane plućnog surfaktanta; SP-B i SP-C- uloga u u širenju surfaktanta preko površine plućnog tkiva i snižavanju površinske napetosti; SP-A i SP-D vežu se za razne bakterije, viruse, alergene i apoptotične stanice djelujući kao opsonini (izvor: [Research gate](#))

### 3.7. Djelovanje vitamin E acetata na monolipidnu membranu plućnog surfaktanta

Kako monoslojna i dvoslojna membrana pokazuju različitu strukturu, iste se razlikuju i u funkcijama odnosno svojstvima koje imaju. Premda obje varijacije membrana kao jednu od primarnih uloga imaju segregaciju unutarstaničnog i vanstaničnog sadržaja, monoslojna membrana koju nalazimo u plućnom surfaktantu na alveolama pluća, ipak nudi slabije barijerne mogućnosti.

Vitamin E acetat je laboratorijski sintetizirana forma vitamina E s izraženim lipofilnim karakterom što mu omogućava ugradnju u jednoslojnu membranu. Udisanjem pare koja sadrži vitamin E acetat, ovaj sintetizirani spoj ugrađuje se u plućni surfaktant, nanoskopski tanku membranu koja oblaže površinu alveola i regulira izmjenu plinova kisik-ugljičkov dioksid i stabilizira površinsku napetost prilikom disanja [24]. Dakle, ugrađivanjem vitamin E acetata u fosfolipidni sloj, membranska permeabilnost se povećava, a proporcionalno tome i njezina fluidnost što utječe na funkcionalnost membrane, a time i funkcionalnost surfaktanta. Iako nije još znanstveno potvrđeno, sumnja se da se termičkom obradom (zagrijavanjem) pri visokim temperaturama kao što je slučaj kod vapinga, vitamin E acetat može oksidirati. Ovom reakcijom nastaju spojevi koji mogu izazvati oštećenje lipidnih membrana putem peroksidacije lipida što dodatno destabilizira membranu i za posljedicu može imati razvoj inflamatornih procesa u plućima [25]. Izrazito je paradoksalna interakcija vitamin E acetata u kompleksu monolipidne membrane, obzirom da isti u svojim „fiziološkim uvjetima“ odnosno u dvolipidnim membrana djeluje kao antioksidans sprječavajući oksidativni stres stanice. Prisjetimo se, vitamin E i vitamin E acetat djeluju jako slično u tijelu, no zbog financijske isplativosti, industrije uglavnom proizvode vitamin E acetat koji se zbog esterizirane strukture hidrolizira staničnim esterazama pri čemu nastaje izvorni vitamin E i octena kiselina. Važno je napomenuti da su istraživanja na temu interakcije vitamin E acetata i monolipidne membrane mlađeg datuma i još uvijek nisu ponudila jasan dokaz štetnog djelovanja vitamin E acetata. Ponuđeno je hipotetno objašnjenje kontrasta različitih djelovanja vitamin E acetata u različitim membranama odnosno različitim organskim sustavima i temelji se na poremećaju redoks ravnoteže koja nastaje u stanici prilikom previsoke koncentracije vitamina E acetata koja se unese u tijelo udisanjem e-tekućine [26] [27]. Stanica nije prilagođena na takve uvjete i naglo povećanje koncentracije tvari u takvoj membrani može narušiti homeostazu i potencionalno inducirati oksidativni stres, a zatim i nekrozu/apoptozu stanice.

Nadalje, makrofazi također imaju ulogu u imunološkom sustavu prilikom razvoja bolesti EVALI. Iako je njihova uobičajena funkcija u plućima zaštita i čišćenje tkiva od stranih materija, prilikom udisanja vitamin E acetata isti postaju preopterećeni, a zatim i štetni. Kada makrofazi dođu u kontakt s inhaliranim vitamin E acetatom, njihova normalna funkcija se remeti te, kao odgovor na toksično stanje u stanici, oslobađaju proinflamatorne citokine što posljedično dovodi do respiratornog stresa [28].



Slika 8.

A) Lijevo- kemikalija uzrokuje nekrozu i apoptozu epitelnih i endotelnih stanica (žuti „X“)

Desno- redovito udisanje vape-a mijenja imunološki sustav, a alveolarni makrofazi prelaze u proinflamatorni fenotip s oslobađanjem upalnih citokina (žuti „o“)

B) Desno- vitamin E izravno je citotoksičan plućnim st. (žuti „X“), što dovodi do nekroze, regrutiranja i aktivacije neutrofila koja rezultira kolateralnim oštećenjima plućnim edemom

Ilustrator: Rachel Davidowitz

(izvor: [Koji mehanizmi stoje iza oštećenja pluća uzrokovanog vapingom?](#))

### 3.8. Vaping i e-cigarete

Pušenje ima dugu povijest koja seže nekoliko tisuća godina unatrag. Prvi poznati dokazi o pušenju potječu iz domorodačkih kultura Srednje i Južne Amerike. Tijekom 19. i 20. stoljeća, pušenje odnosno inhaliranje supstanci koje nastaje sagorijevanjem tvari, masovno se proširilo u vrijeme agresivnih marketinških kampanja. Tek u drugoj polovici 20. stoljeća počelo se shvaćati ozbiljne zdravstvene rizike povezane s pušenjem duhana što je dovelo do globalnih napora u smanjenju konzumacije duhana odnosno bolje rečeno, zamjene duhana sa “manje štetnim” izborom.

Prva elektronička cigareta, tzv. “vape” proizvedena je u Pekingu 2003. godine, a ubrzo nakon toga uvedena je u SAD i to 2006. godine od kada konzumacija istih pokazuje eksponencijalni rast. Nedavni podaci o prevalenciji također pokazuju da trenutna i svakodnevna upotreba stalno raste, s alarmantnim povećanjem od 78% u upotrebi među američkim srednjoškolcima samo od 2017. do 2018. godine ([\*Nacionalno istraživanje o upotrebi duhana među mladima \(2018.\)\*](#), NYTS). Statistički podaci NYTS-a iz 2018. donose postotke od 4,9% korisnika u srednjim školama i 20,8% korisnika među učenicima viših razreda srednjih škola. Kao što je prethodno navedeno, e-cigarete prvenstveno su na tržištu reklamirane kao supstituent klasičnim cigaretama. Premda se i dalje vode polemike je li vapeanje “zdravije” ili barem manje štetno od duhana, činjenica je da se konzumacijom e-cigareta i e-tekućina izbjegava nakupljanje Tar-e (engl. *total aerosol residue* - tvar koja se taloži u plućima uslijed udisanja duhana, a povezana je s razvojem raka pluća) i ostalih kancerogenih kemikalija. Riječ je o jednostavnom principu pretvaranja tekućine u aerosol dodavanjem topline. U okosnici je metalna zavojnica oko koje je omotan materijal čija je uloga propuštanje tekuće baze odnosno e-tekućine. Metalna zavojnica se zagrijava električnom strujom iz baterije i time stvara paru koju korisnik inhalira. Tekuća baza obično se sastoji od otapala propilen glikola i biljnog glicerina, uz dodatak arome i nikotina. U svom sastavu, u skorije vrijeme, u e-tekućinama pronađen je i vitamin E acetat čija su inače optimalna svojstva opisana ranije, a koji inhaliranjem uzorkuje bolest EVALI.

### 3.9. Bolest EVALI i klinička slika

EVALI je ozbiljna bolest pluća koja nastaje uporabom e-tekućina ili tzv. vapeova. Premda su i ranije e-cigarete prepoznate kao uzrok za širok spektar plućnih bolesti primjerice: lipidnu upalu pluća, akutnu eozinofilnu upalu pluća, *Bronhiolitis obliterans* (engl. "popcorn lung"), astmu, KOPB, difuzno alveolarno krvarenje, EVALI je ipak nedavno identificirana kao zaseban medicinski entitet. Izbijanje ove bolesti zabilježeno je u kolovozu 2019. godine od strane američkog CDC-a (*Centers for Disease Control and Prevention*) što je dovelo do čak 2807 hospitalizacija, uključujući 68 smrtnih slučajeva, do 20. veljače 2020. godine kada su intenzivna istraživanja prekinuta zbog pojave epidemije SARS-Cov2 [29]. Obzirom da je riječ o pulmonalnoj bolesti, klinička slika iste su najčešće respiratorni problem, primjerice: suhi kašalj sa varijacijama u intezitetu, bol u prsima i sl. Nerijetko je kod pacijenata uočena i dispneja odnosno kratkoća daha, a kod onih sa uznapredovalom bolesti i hemoptiza. Uz respiratorne probleme, većina oboljeli pati i od gastrointestinalnih, kardiovaskularnih i općih sistemskih problema. Detaljnije, neki od kliničkih simptoma i znakova pacijenata su: temperatura  $\geq 38$  °C, brzina otkucaja srca  $>100$  otkucaja/min, brzina disanja  $>20$  udisaja/min i zasićenost kisikom  $<95\%$ . Kod dijagnostičkih pretraga odnosno CT-a i rendgenskih slika pluća najčešći nalaz su bilateralne difuzne *ground-glass* infiltracije (zamagljeni izgledi na rendgenu) s prevalencijom u donjim dijelovima pluća i subpleuralnom poštešdom što sugerira upalni proces u plućima [30]. Također, kod težih slučajeva kod kojih je krucijalna hospitalizacija, rendgen može pokazivati i pleuralni izljev (11%) i pneumotoraks (2%).

#### 3.9.1 Liječenje

Obzirom da EVALI dijeli mnoge simptome s infekcijama pluća, najpopularniji lijekovi za borbu protiv iste su antiviralne supstance i antibiotici. Preporučena terapija su kortikosteroidi najčešće u vidu inhalacije uz pomoć inhalatora ili nebulizatora. Na istraživanju u SAD-u (Illinois i Winsconsin), većina hospitaliziranih pacijenata primala je glukokortikoide (92%), dokumentiranim poboljšanjem respiratornog statusa u 65 % slučajeva [31]. Također, kod težih slučajeva nerijetka je i terapija kisikom ne bi li se pluća obskrbila dovoljnom koncentracijom O<sub>2</sub>. Naravno, nema bolje protekcije od ove, ali i svake druge plućne bolesti, od prestanka pušenja.





## 4. ZAKLJUČAK

Endogeni ROS rezultat su različitih reakcija u tijelu na koje čovjek ne može nužno utjecati, no različiti egzogeni podražaji, kao što su ionizirajuće zračenje, ultraljubičaste zrake, duhanski dim, infekcije patogenima, toksini iz okoliša i izloženost herbicidima/insekticidima, izvori su *in vivo* proizvodnje ovih aktivnih i opasnih čestica. Prehrana i pametan unos nutrijenata znatno može popraviti stanje organizma ne bi li se isti svojim antioksidativnim svojstvima izborili protiv oksidativnog stresa koji se posljedično zbiva u stanici. Većina ljudi tada se okreće upravo vitaminima. Vitamin E se apsorbira u crijevima zatim se pakiran u hilomikronima transportira kroz limfni sustav do krvotoka ne bi li se distributirao po tijelu. Prisutan je u svim stanicama ljudskog tijela, a skladišti se u staničnim membranama i to onim dvoslojnim koje prevladavaju u organizmu. Lokaliziran u staničnoj membrani, vitamin E ispunjava svoju glavnu ulogu tj. antioksidaciju i to najčešće kroz inhibiciju lipidne peroksidacije. Pluća pak, uz to što imaju monoslojnu membranu koja nema jednako dobra barijerna svojstva kao i dvoslojna membrana, nemaju isti kapacitet za razgradnju vitamina E/vitamin E acetata kao gastrointestinalni trakt. Vitamin E acetat je laboratorijski pripremljen oblik istog vitamina koji se zbog svojih se izvrsnih svojstava koristi u mnogim industrijama, a u zadnja dva desetljeća i u industriji nikotinskih proizvoda. Interakcija vitamin E acetata i plućnih alveola odnosno monolipidne membrane pulmonarnog surfaktanta može rezultirati oštećenjima i posljedično bolešću EVALI. Dakle, iako su vapovi na tržište dospjeli kao svojevrsna „zdravija“ alternativa tradicionalnom pušenju, inhalacija ove otopine za posljedicu ima ozbiljnu i potencijalno terminalnu bolest što još jednom dokazuje da ljudsko tijelo zaista jest nevjerovatno kompleksan stroj.

## 5. REFERENCE I LITERATURA

- [1] G. Y. Lee and S. N. Han, “The role of vitamin E in immunity,” Nov. 01, 2018, *MDPI AG*. doi: 10.3390/nu10111614.
- [2] P. J. McLaughlin and J. L. Weihrauch, “Vitamin E content of foods,” *J Am Diet Assoc*, vol. 75, no. 6, pp. 647–665, 1979, [Online]. Available: <http://europepmc.org/abstract/MED/389993>
- [3] A. Pahrudin Arrozi *et al.*, “Comparative Effects of Alpha- and Gamma-Tocopherol on Mitochondrial Functions in Alzheimer’s Disease In Vitro Model,” *Sci Rep*, vol. 10, no. 1, Dec. 2020, doi: 10.1038/s41598-020-65570-4.
- [4] L. Schmölz, “Complexity of vitamin E metabolism,” *World J Biol Chem*, vol. 7, no. 1, p. 14, 2016, doi: 10.4331/wjbc.v7.i1.14.
- [5] M. G. Traber and H. J. Kayden, “Preferential incorporation of alpha-tocopherol vs gamma-tocopherol in human lipoproteins,” *Am J Clin Nutr*, vol. 49, no. 3, pp. 517–526, Mar. 1989, doi: 10.1093/AJCN/49.3.517.
- [6] N. Kono and H. Arai, “Intracellular Transport of Fat-Soluble Vitamins A and E,” *Traffic*, vol. 16, no. 1, pp. 19–34, Jan. 2015, doi: <https://doi.org/10.1111/tra.12231>.
- [7] J. Qian, S. Morley, K. Wilson, P. Nava, J. Atkinson, and D. Manor, “Intracellular trafficking of vitamin E in hepatocytes: the role of tocopherol transfer protein,” *J Lipid Res*, vol. 46, no. 10, pp. 2072–2082, 2005, doi: <https://doi.org/10.1194/jlr.M500143-JLR200>.
- [8] M. Shichiri *et al.*, “ATP-Binding cassette transporter A1 is involved in hepatic  $\alpha$ -tocopherol secretion,” *J Nutr Biochem*, vol. 21, no. 5, pp. 451–456, 2010, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2009.02.002>.
- [9] C. Panagabko *et al.*, “Ligand Specificity in the CRAL-TRIO Protein Family,” *Biochemistry*, vol. 42, no. 21, pp. 6467–6474, Jun. 2003, doi: 10.1021/bi034086v.
- [10] T. Miyazawa, G. C. Burdeos, M. Itaya, K. Nakagawa, and T. Miyazawa, “Vitamin E: Regulatory Redox Interactions,” Apr. 01, 2019, *Blackwell Publishing Ltd*. doi: 10.1002/iub.2008.

- [11] Q. Jiang, “Natural forms of vitamin E: Metabolism, antioxidant, and anti-inflammatory activities and their role in disease prevention and therapy,” 2014, *Elsevier Inc.* doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2014.03.035.
- [12] D. J. Mustacich, J. Shields, R. A. Horton, M. K. Brown, and D. J. Reed, “Biliary Secretion of  $\alpha$ -Tocopherol and the Role of the *mdr2* P-Glycoprotein in Rats and Mice,” *Arch Biochem Biophys*, vol. 350, no. 2, pp. 183–192, Feb. 1998, doi: 10.1006/ABBI.1997.0529.
- [13] J. E. Freedman, J. H. Farhat, J. Loscalzo, and J. F. Keaney, “ $\alpha$ -Tocopherol Inhibits Aggregation of Human Platelets by a Protein Kinase C-Dependent Mechanism,” *Circulation*, vol. 94, no. 10, pp. 2434–2440, Nov. 1996, doi: 10.1161/01.CIR.94.10.2434.
- [14] V. Chandra, J. Jasti, P. Kaur, C. Betzel, A. Srinivasan, and T. P. Singh, “First Structural Evidence of a Specific Inhibition of Phospholipase A2 by  $\alpha$ -Tocopherol (Vitamin E) and its Implications in Inflammation: Crystal Structure of the Complex Formed Between Phospholipase A2 and  $\alpha$ -Tocopherol at 1.8 Å Resolution,” *J Mol Biol*, vol. 320, no. 2, pp. 215–222, Jul. 2002, doi: 10.1016/S0022-2836(02)00473-4.
- [15] A. AZZI *et al.*, “Vitamin E Mediates Cell Signaling and Regulation of Gene Expression,” *Ann N Y Acad Sci*, vol. 1031, no. 1, pp. 86–95, Dec. 2004, doi: <https://doi.org/10.1196/annals.1331.009>.
- [16] A. Kaltsas, “Oxidative Stress and Male Infertility: The Protective Role of Antioxidants,” Oct. 01, 2023, *Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI)*. doi: 10.3390/medicina59101769.
- [17] C. G. Fraga, P. I. Oteiza, and M. Galleano, “Plant bioactives and redox signaling: (–)-Epicatechin as a paradigm,” *Mol Aspects Med*, vol. 61, pp. 31–40, Jun. 2018, doi: 10.1016/J.MAM.2018.01.007.
- [18] P. D. Ray, B. W. Huang, and Y. Tsuji, “Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling,” *Cell Signal*, vol. 24, no. 5, pp. 981–990, May 2012, doi: 10.1016/J.CELLSIG.2012.01.008.
- [19] L. Müller, K. Theile, and V. Böhm, “In vitro antioxidant activity of tocopherols and tocotrienols and comparison of vitamin E concentration and lipophilic antioxidant capacity in human plasma,” *Mol Nutr Food Res*, vol. 54, no. 5, pp. 731–742, May 2010, doi: <https://doi.org/10.1002/mnfr.200900399>.

- [20] Q. Jiang, “Natural forms of vitamin E: metabolism, antioxidant, and anti-inflammatory activities and their role in disease prevention and therapy,” *Free Radic Biol Med*, vol. 72, pp. 76–90, Jul. 2014, doi: 10.1016/J.FREERADBIOMED.2014.03.035.
- [21] Nick. Lane, *Oxygen : the molecule that made the world*. Oxford University Press, 2002.
- [22] A. Ayala, M. F. Muñoz, and S. Argüelles, “Lipid peroxidation: Production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal,” 2014, *Landes Bioscience*. doi: 10.1155/2014/360438.
- [23] G. Maulucci *et al.*, “Imaging Reactive Oxygen Species-Induced Modifications in Living Systems,” *Antioxid Redox Signal*, vol. 24, no. 16, pp. 939–958, Jun. 2016, doi: 10.1089/ars.2015.6415.
- [24] S. Srivastava, R. S. Phadke, G. Govil, and C. Rao, “Fluidity, permeability and antioxidant behaviour of model membranes incorporated with  $\alpha$ -tocopherol and vitamin E acetate,” *Biochim Biophys Acta*, vol. 734, pp. 353–362, 1983, [Online]. Available: <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:84481096>
- [25] L. Winnicka and M. A. Shenoy, “EVALI and the Pulmonary Toxicity of Electronic Cigarettes: A Review,” Jul. 01, 2020, *Springer*. doi: 10.1007/s11606-020-05813-2.
- [26] L. Kośmider *et al.*, “Carbonyl compounds in electronic cigarette vapors: effects of nicotine solvent and battery output voltage.,” *Nicotine Tob Res*, vol. 16 10, pp. 1319–26, 2014, [Online]. Available: <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:9375292>
- [27] M. L. Goniewicz *et al.*, “Levels of selected carcinogens and toxicants in vapour from electronic cigarettes,” *Tob Control*, vol. 23, no. 2, pp. 133–139, Mar. 2014, doi: 10.1136/tobaccocontrol-2012-050859.
- [28] K. J. Warren *et al.*, “Alveolar macrophages from EVALI patients and e-cigarette users: a story of shifting phenotype,” *Respir Res*, vol. 24, no. 1, Dec. 2023, doi: 10.1186/s12931-023-02455-w.
- [29] A. Marrocco, D. Singh, D. C. Christiani, and P. Demokritou, “E-cigarette vaping associated acute lung injury (EVALI): state of science and future research needs,” 2022, *Taylor and Francis Ltd*. doi: 10.1080/10408444.2022.2082918.

- [30] J. E. Layden *et al.*, “Pulmonary Illness Related to E-Cigarette Use in Illinois and Wisconsin — Final Report,” *New England Journal of Medicine*, vol. 382, no. 10, pp. 903–916, Mar. 2020, doi: 10.1056/nejmoa1911614.
- [31] L. Winnicka and M. A. Shenoy, “EVALI and the Pulmonary Toxicity of Electronic Cigarettes: A Review,” Jul. 01, 2020, *Springer*. doi: 10.1007/s11606-020-05813-2.