



Fytoremediace III.

Petr Soudek

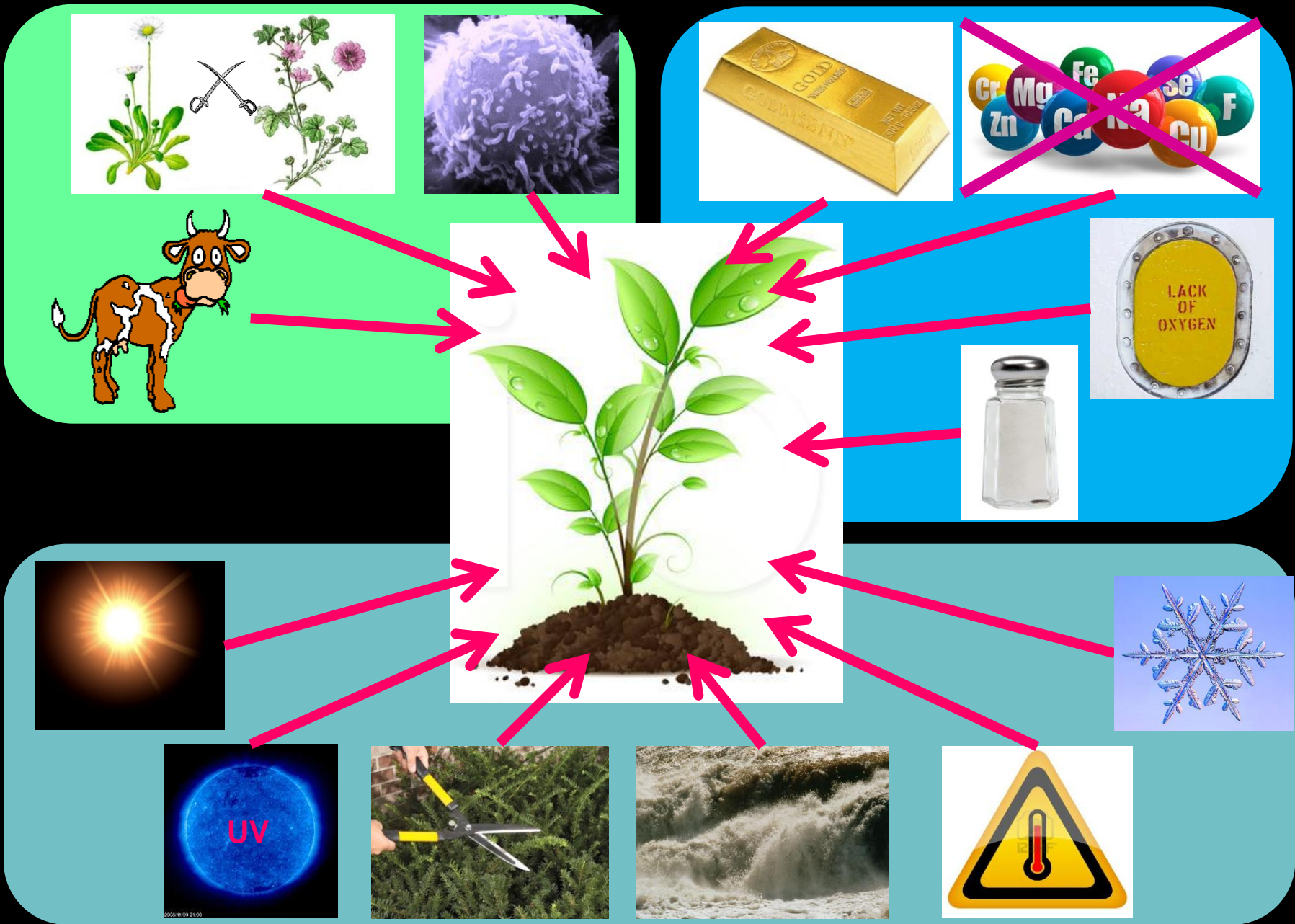
Laboratoř rostlinných biotechnologií
Ústav experimentální botaniky AV ČR, v.v.i.

DEFINICE STRESU

- **Stresové faktory (stresory)** – nepříznivé vlivy vnějšího prostředí
- **Stres** – obvykle se používá jako souhrnné označení stavu, ve kterém se rostlina nachází pod vlivem stresorů
- Problematika stresu je u rostlin komplikovanější než u živočichů – důvodem je přisedlost života (neumožňuje únik) a velkou mezidruhovou variabilitou a heterogenitou vnitřního prostředí (buněk, pletiv). Je proto těžké jasně stanovit, které podmínky už jsou stresové.
- **Adaptační schopnosti** – geneticky vázané předpoklady odpovědi na působení stresového faktoru
- **Aklimace** – přechodné zvýšení odolnosti získané pod vlivem stresoru



STRESOVÉ FAKTORY



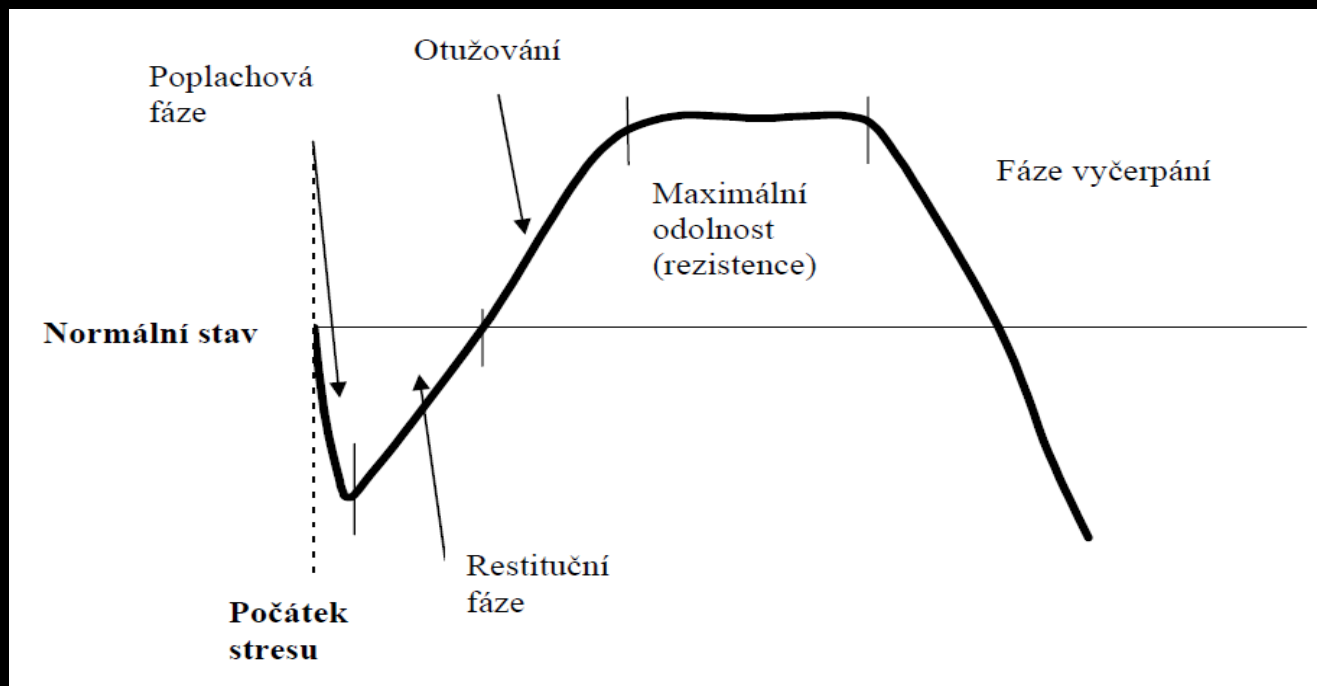
STIMULACE OBRANNÝCH SYSTÉMŮ

Antioxidant nebo enzym	Stresové podmínky stimulující zvýšenou koncentraci nebo aktivitu antioxidantů a enzymů
Peroxidázy	Chlad, vysoké CO ₂ , vysoká intenzita světla, ozón, sucho
Glutathion	Chlad, sucho, gama záření, vysoká teplota, vysoké CO ₂ , ozón
Polyaminy	Nedostatek K, P, Ca, Mg a dalších prvků Sucho, vysoká teplota, ozón
Superoxiddismutáza	Chlad, vysoké CO ₂ , vysoké světlo, nadbytek O ₂ , ozón

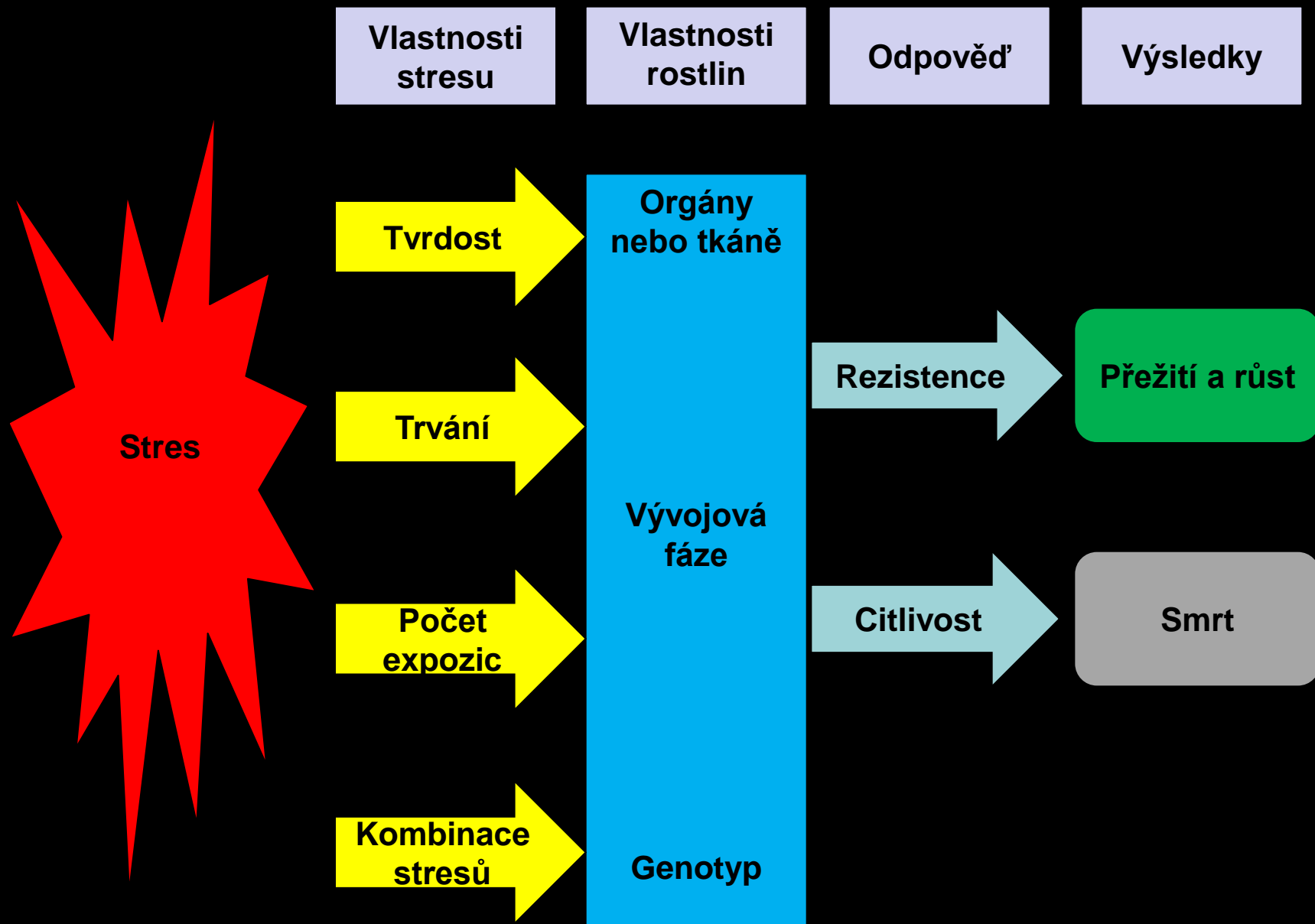


STRESOVÁ REAKCE

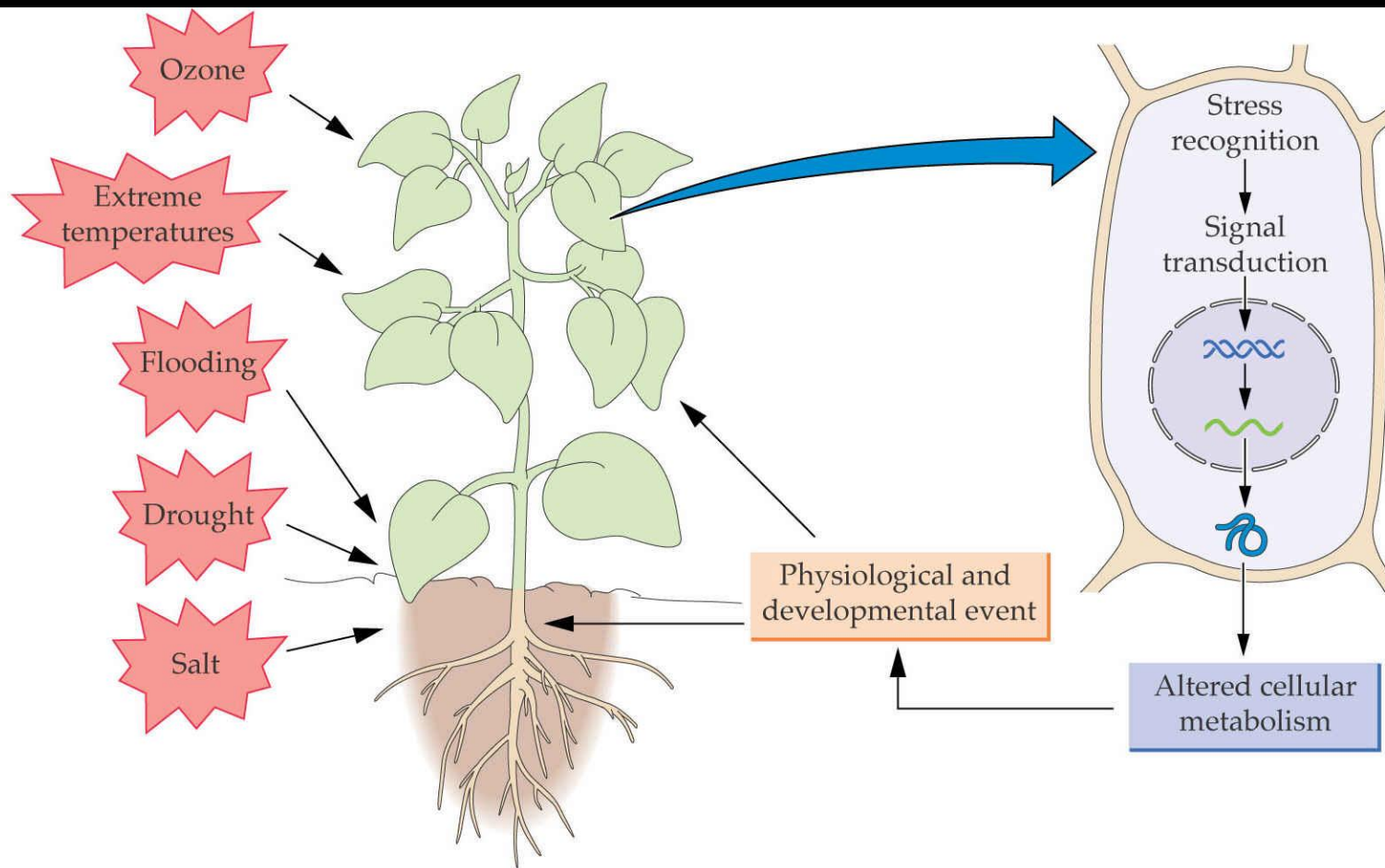
1. **Poplachová fáze** – narušení buněčných struktur a funkcí bezprostředně po začátku působení stresového faktoru
2. **Restituční fáze** – mobilizace kompenzačních mechanismů (do této fáze přechází stresová reakce v případě, že intenzita stresu nepřekračuje letální úroveň)
3. **Fáze rezistence** – zvýšení odolnosti rostliny vůči působícím faktorům
4. **Fáze vyčerpání** – může nastoupit při dlouhodobém a intenzivním působení stresového faktoru



PŮSOBENÍ STRESOVÝCH FAKTORŮ

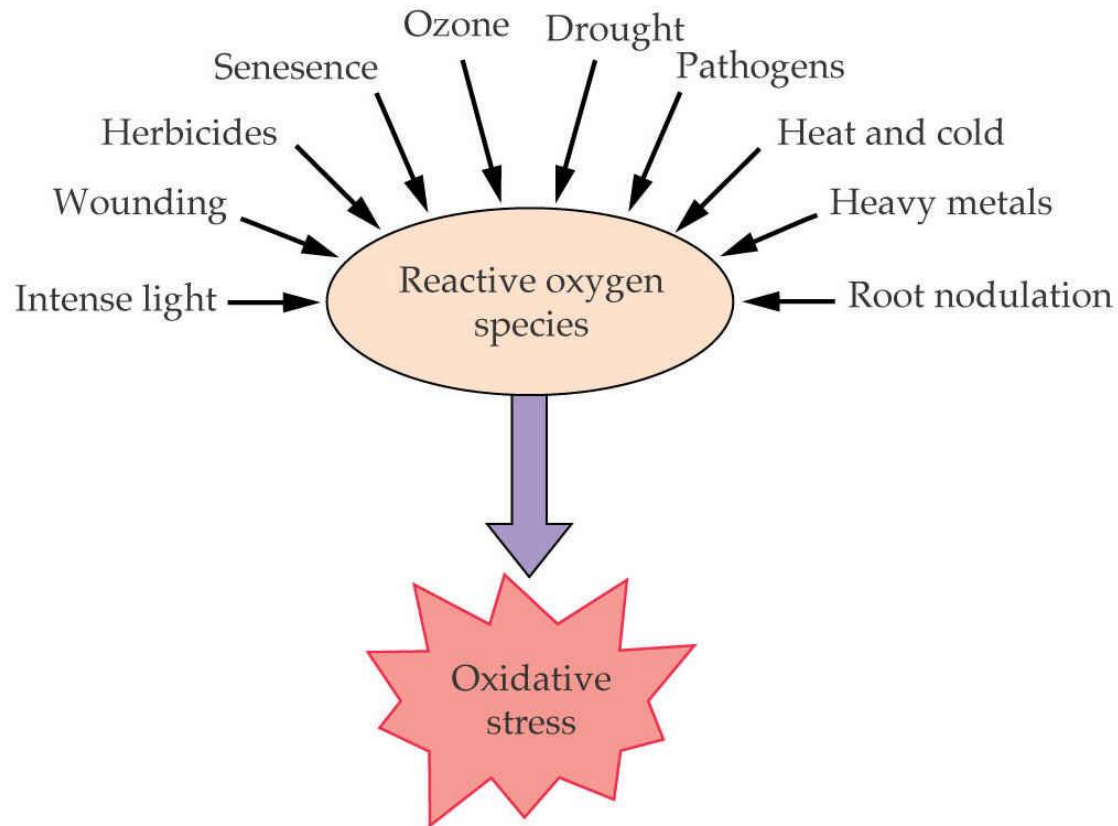


PŮSOBENÍ STRESOVÝCH FAKTORŮ



OXIDATIVNÍ STRES

- Oxidativní stres vzniká v podmínkách, které navozují vznik **aktivních forem kyslíku** (radikálů, ROS), které poškozují buňky



AKTIVNÍ FORMY KYSLÍKU

Tabulka I

Značení a molekulární struktury aktivních forem kyslíku v rostlinách

Sloučenina	Zkrácené značení	Struktura
Singletový kyslík	$^1\text{O}_2$	$\text{O}-\text{O}:$
Superoxidový anion-radikál	$\text{O}_2^{\bullet -}$	$[\ddot{\text{O}}=\ddot{\text{O}}:]^-$
Hydroxylový radikál	OH^\bullet	$\ddot{\text{O}}-\text{H}$
Hydroxylový ion	OH^-	$\ddot{\text{O}}-\text{H}$
Perhydroxylový radikál	$\text{O}_2\text{H}^\bullet$	$\ddot{\text{O}}=\ddot{\text{O}}-\text{H}$
Peroxid vodíku	H_2O_2	$\text{H}-\ddot{\text{O}}-\ddot{\text{O}}-\text{H}$

ZDROJE A ÚČINKY ROS

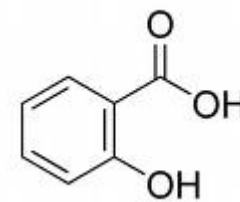
Forma kyslíku	Zdroj	Biologický efekt
O ₂	atmosferický kyslík, PSII, různé enzymy (superoxiddismutasa, katalasa)	inhibice fotosyntézy (preference oxygenasové reakce ribulosa-1,5-bisfosfátkarboxylasy/oxygenasy), náhodná produkce volných radikálů
O ₂ ⁻	osvětlené chloroplasty, PSII a PSI, mitochondrie v přítomnosti NADH, Fe-S proteiny, cytochrom P450, elektronový transportní řetězec v endoplasmatickém retikulu, herbicidy (paraquat a nitrofen), enzymové reakce: xanthinoxidasa, NAD(P)H oxidasa, aldehydoxidasa, urikáza (EC 1.7.3.3).	peroxidace lipidů, inaktivace enzymů, depolymerizace polysacharidů, reakce s H ₂ O ₂ za tvorby OH [•] , schopnost oxidovat síru, askorbát a NADPH, redukovat cytochrom c a ionty kovů
H ₂ O ₂	glykolátoxidasa v glyoxysomech, osvětlené chloroplasty - PSII, mitochondrie v přítomnosti NADH, β-oxidace mastných kyselin, Fe-S proteiny a enzymové reakce (SOD, glykolátoxidasa, aminoxidasa, oxalátoxidasa (EC 1.2.3.4), peroxidasy...)	inhibice fixace CO ₂ , inaktivace enzymů Calvinova cyklu, oxidace sulfhydrylů a flavonolů, substrát oxidační reakce
OH [•]	Haberova-Weissova reakce, Fentonova reakce	velmi silné oxidační činidlo, poškození DNA, peroxidace lipidů, degradace proteinů, produkce C ₂ H ₄
¹ O ₂	excitované chlorofylové molekuly v tripletovém stavu, znečištění vzduchu (NO ₂ , O ₃ , atd.)	mutageneze, peroxidace lipidů, fotooxidace aminokyselin

ROS

- ROS se formují během redoxních reakcí a během **nedokonalé redukce kyslíku** nebo **oxidace vody** v mitochondriálním nebo chloroplastovém elektronovém řetězci
- Vznik **singletního kyslíku** ($^1\text{O}_2$) dále stimuluje produkci dalších ROS (peroxid, superoxidový aniont, hydroxylový a perhydroxylový radikál).
- **Superoxidové anionty** vznikají také v chloroplastech, když jsou elektrony přeneseny na kyslík přímo z fotosystému I.
- ROS (zejména hydroxylový radikál) mají silně destruktivní účinky na lipidy, nukleové kyseliny a proteiny.
- Na druhou stranu ROS jako superoxidový aniont a peroxid jsou **nezbytné pro lignifikaci** a slouží také jako signály v obranné reakci při infekci

REAKCE BUNĚK NA ROS

- Reakci spouští samotný ROS
- Nárůst cytozolické **koncentrace Ca^{2+}** funguje jako druhý posel v dráze, které se účastní rostlinné hormony
- Ozón zvyšuje množství H_2O_2 , který stimuluje produkci **kyseliny salicylové** /hormon/. To vede ke zvýšení transkripce genů kódujících molekuly obranných sekundárních metabolitů, molekuly fungující jako bariéry (ligniny, kalóza, extenziny) a proteiny účastnící se obrany proti patogenům.
- Nadbytek ozónu indukuje také produkci **etylénu** (zvyšuje transkripci genů kódujících ACC syntázu a ACC oxidázu)

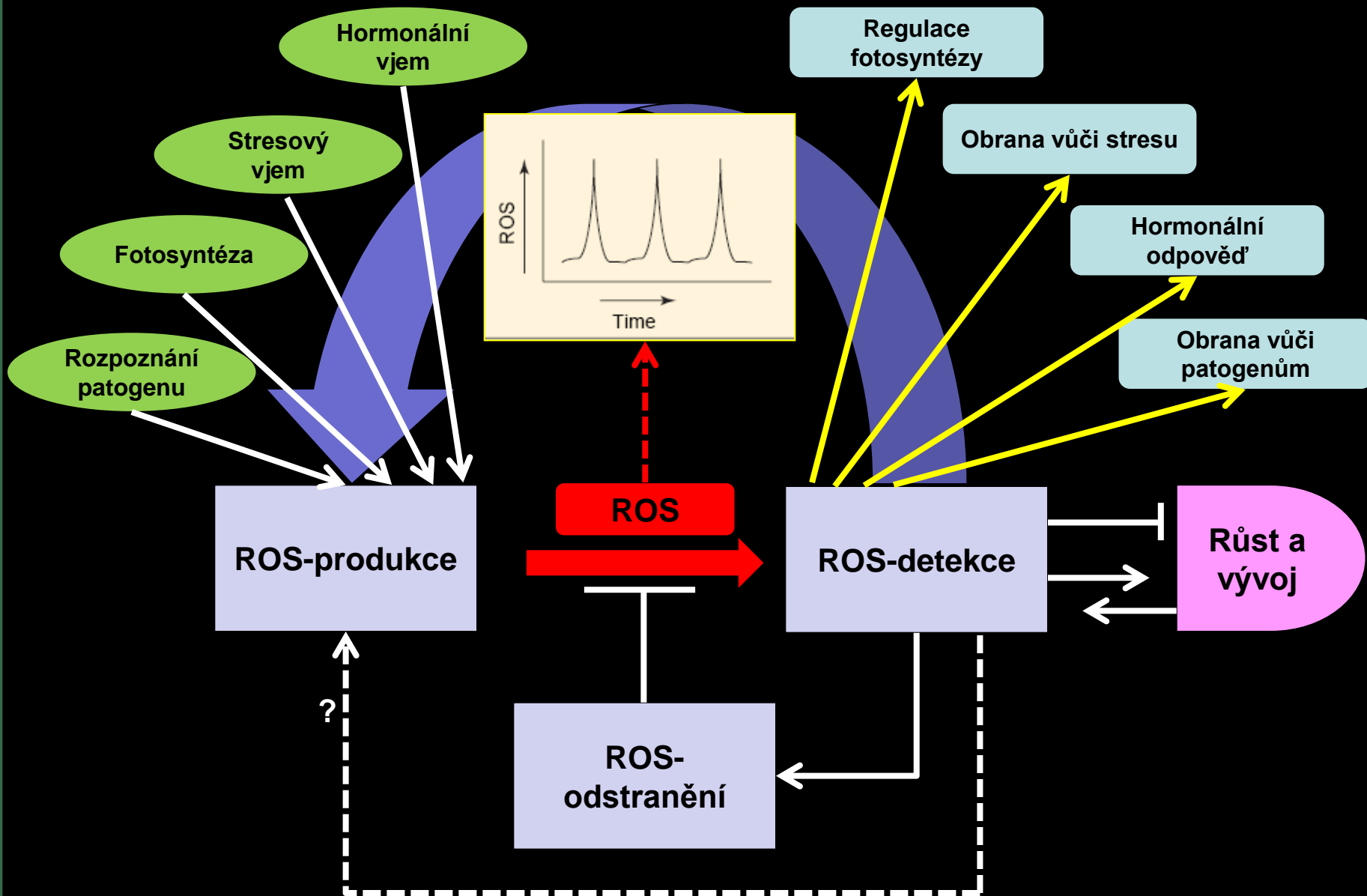


kys. salicylová

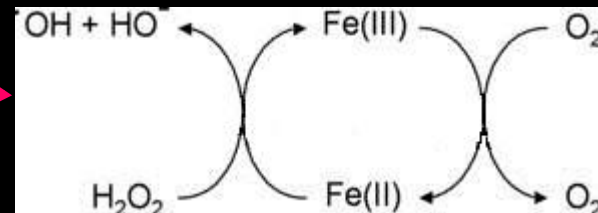
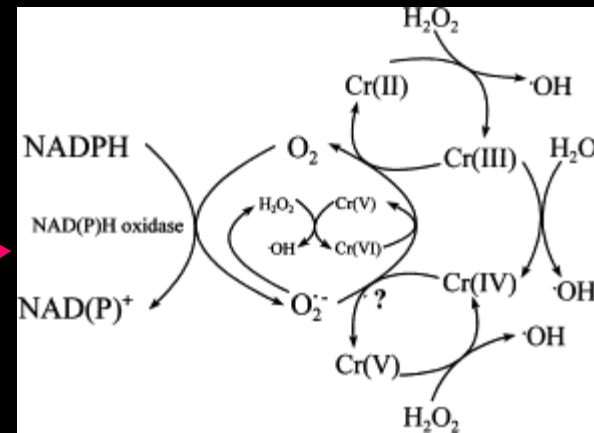
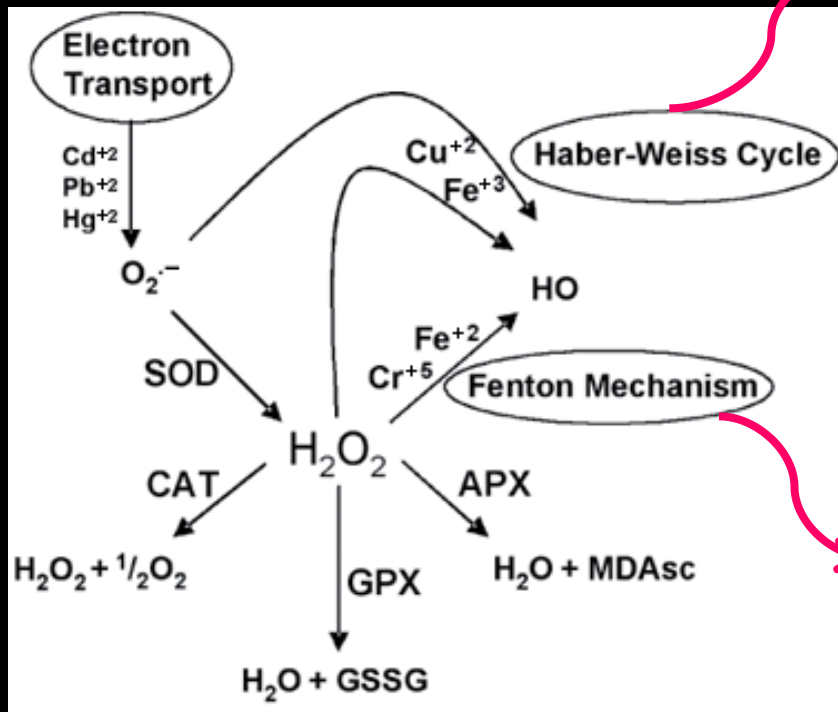
PROTISTRESOVÁ ÚLOHA ROS (ZEJMÉNA H₂O₂)

- **Hypersenzitivní reakce** při napadení patogenem
- Peroxid vodíku se zapojuje i do dalších obranných reakcí při napadení patogeny. Spolu s kyselinou salicylovou **indukuje tvorbu některých stresových proteinů**.
- Peroxid vodíku funguje jako **přenašeč signálu** pro expresi některých genů
- **Antimikrobiální účinek** ROS
- Přispívají ke **zpevnění buněčné stěny** a tím k větší odolnosti vůči stresovým faktorům. Peroxid vodíku je činidlo nezbytné při tvorbě ligninu z fenyylpropanoidních alkoholů a také se podílí na vzniku pevných vazeb mezi proteiny v b. stěně a na zvýšení jejich nerozpustnosti.

STRESOVÁ ODPOVĚĎ



INDUKCE ROS TĚŽKÝMI KOVY



ENZYMOVÁ PRODUKCE ROS

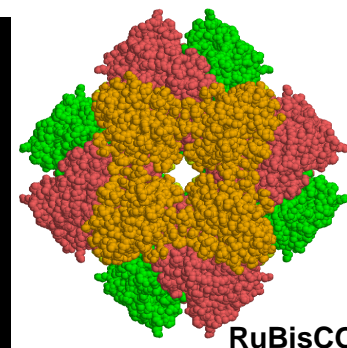
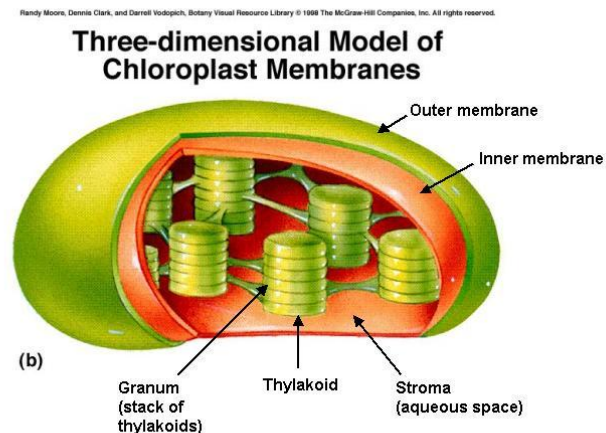
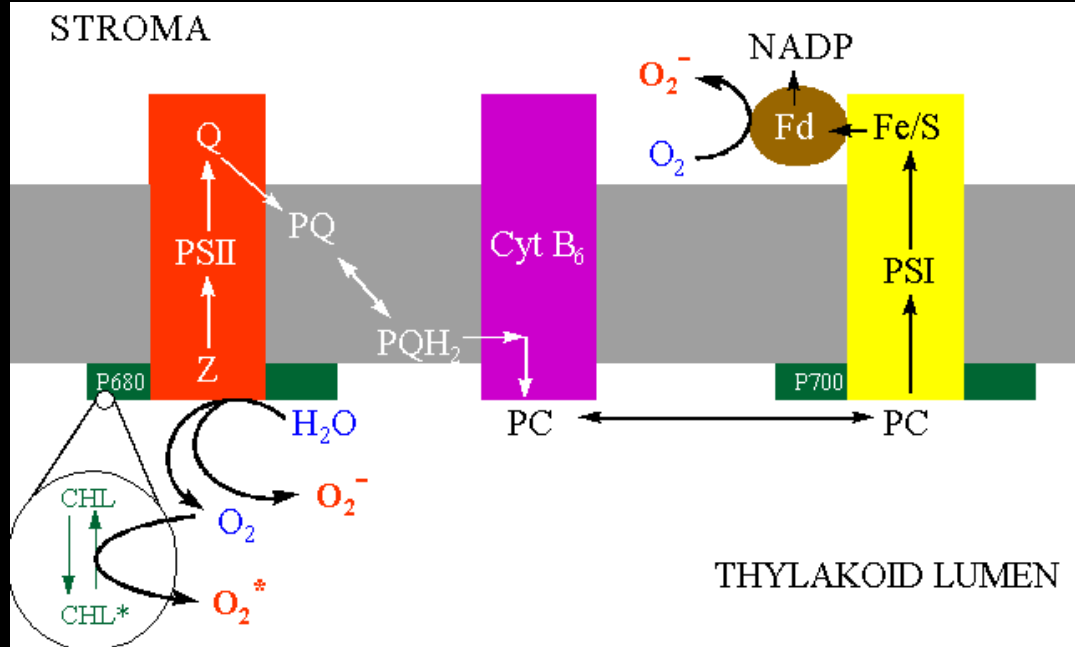
Enzym	Produkce ROS	Funkce
dihydroorotátdehydrogenasa	tvorba $O_2^{\cdot-}$	synthéza pyrimidinových nukleotidů
tryptofandioxygenasa	tvorba $O_2^{\cdot-}$	metabolismus tryptofanu
xanthinoxidasa	tvorba $O_2^{\cdot-}$	oxidace xanthinu na kys. močovou, metabolismus purinů
aldehydoxidasa	tvorba $O_2^{\cdot-}$	katalyzuje oxidaci aldehydu
lipoxygenasa	iniciace řetězové reakce peroxidace lipidů	peroxidace polynenasycených mastných kyselin
oxalátoxidasa	H_2O_2	katalyzuje oxidaci oxalátu
aminoxidasa	H_2O_2	oxidace biogenních aminů na aldehyd
prostaglandinsynthasa		synthéza prostaglandinů
guanylatcyklasa	redukují molekulární kyslík přímo bez tvorby $O_2^{\cdot-}$	Synthéza cGMP z guanosin trifosfátu (GTP)
glukosaoxidasa		katalyzuje oxidaci β -D-glukosy na D-glukono-1,5-lakton za produkce H_2O_2
D- a L-aminokyselinoxidasa		oxidační deaminace

ROS

Mechanismus	Lokalizace	ROS
Fotosyntetický elektronový transportní řetězec	Chloroplast	$O_2^{\cdot-}$
Respirační elektronový transportní řetězec	Mitochondrie	$O_2^{\cdot-}$
Glykolát oxidasa	Peroxisomy	H_2O_2
Excitovaný chlorofyl	Chloroplast	1O_2
NADPH-oxidasa	Plazmatická membrána	$O_2^{\cdot-}$
β -oxidace mastných kyselin	Peroxisomy	H_2O_2
Oxalát oxidasa	Apoplast	H_2O_2
Xanthin oxidasa	Peroxisomy	$O_2^{\cdot-}$
Peroxidasy (Mn, NADH)	Buněčná stěna	$H_2O_2, O_2^{\cdot-}$
Aminoxidasa	Apoplast	H_2O_2

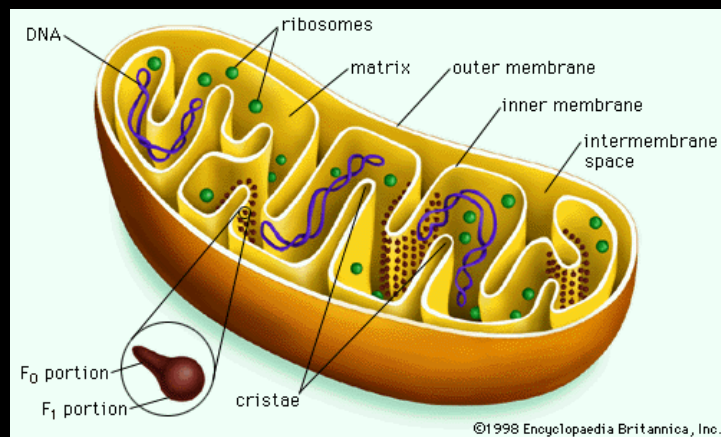
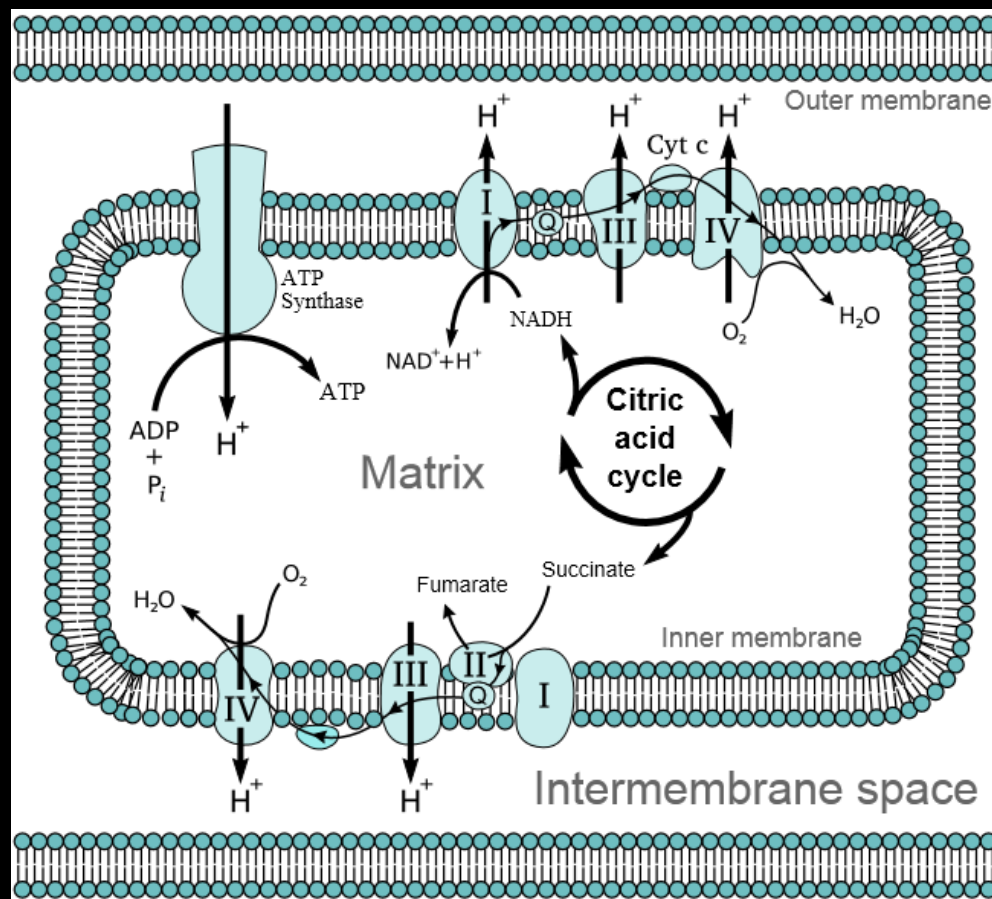
TVORBA ROS V CHLOROPLASTECH

- **Mehlerova reakce** v chloroplastech (fotoredukce kyslíku ve fotosystému I). Primárním produktem je **superoxid**, z něhož mohou vzniknout nebezpečnější hydroxylové radikály a peroxid vodíku. Snížení rychlosti sekundárních procesů fotosyntézy (fixace CO_2) ve stresu vede ke zvýšení tvorby ROS a k poškození buňky.
- **Fotoredukce kyslíku** je možná i ve fotosystému II (možná pozitivní funkce – **disipace excitační energie** chránící PS II před fotoinhibičním poškozením)
- Tvorba **singletového kyslíku** přenosem excitační energie z chlorofylu na kyslík v základním stavu
- **RuBisCO** - může fungovat nejen jako karboxyláza, i jako oxygenáza - na stejný substrát může vnášet

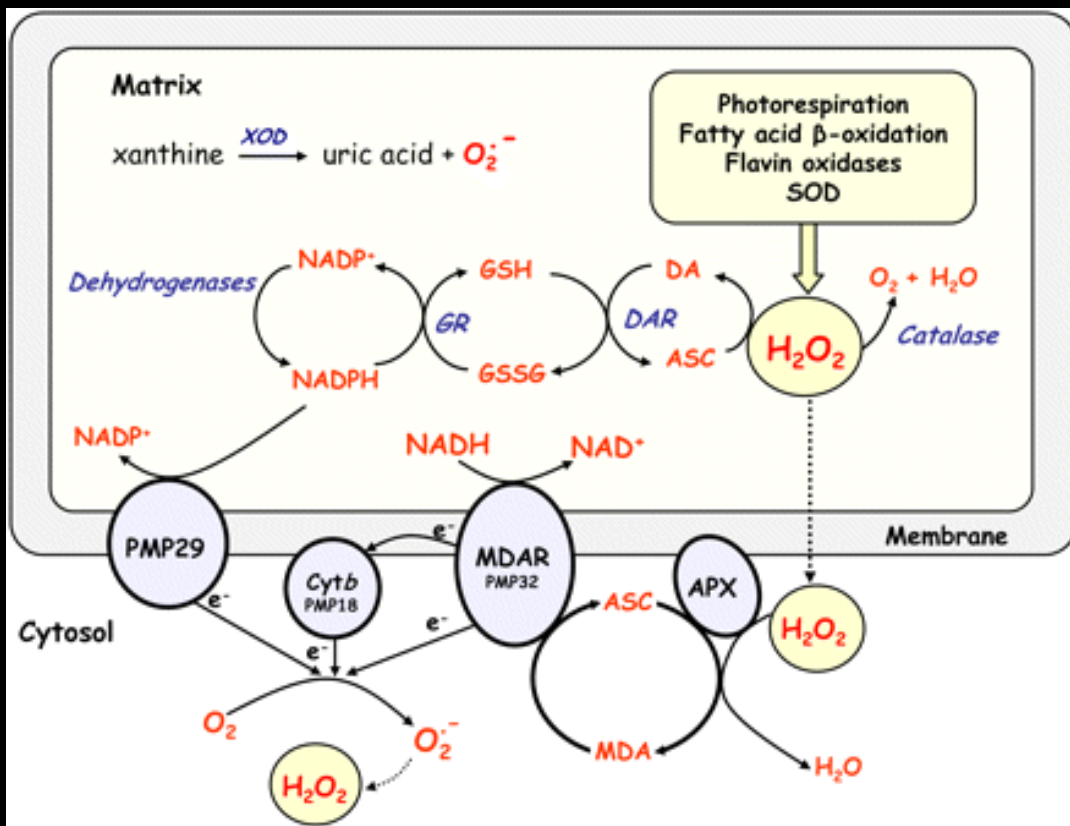


TVORBA ROS V MITOCHONDRÍÍCH

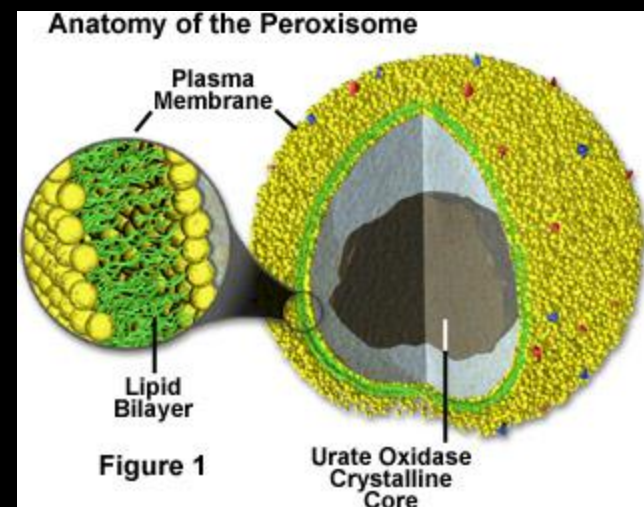
- ✓ NAD(P)H dehydrogenasy a Fe-S proteiny místem produkce ROS
- ✓ Tok elektronů přes ubichinon (Q), blokuje antimycin A (antibiotikum)



TVORBA ROS V PEROXIZÓMECH

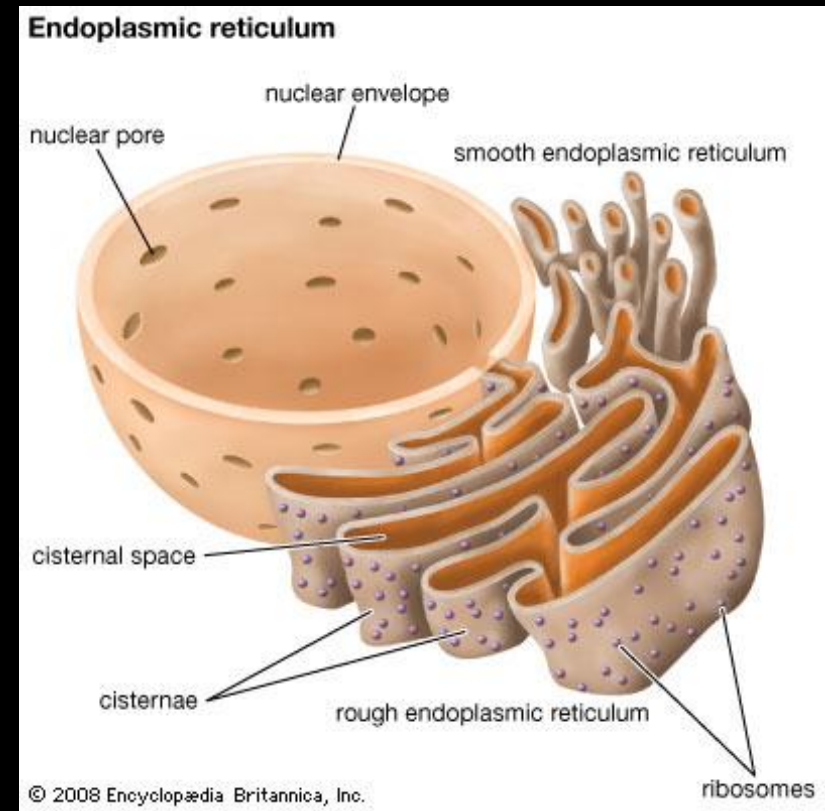


fotorespirace
 β -oxidace mastných kyselin
 glyoxylátový cyklus
 metabolismus ureidů
 metabolismus aktivních forem kyslíku



TVORBA ROS V ENDOPLAZMATICKÉM RETIKULU

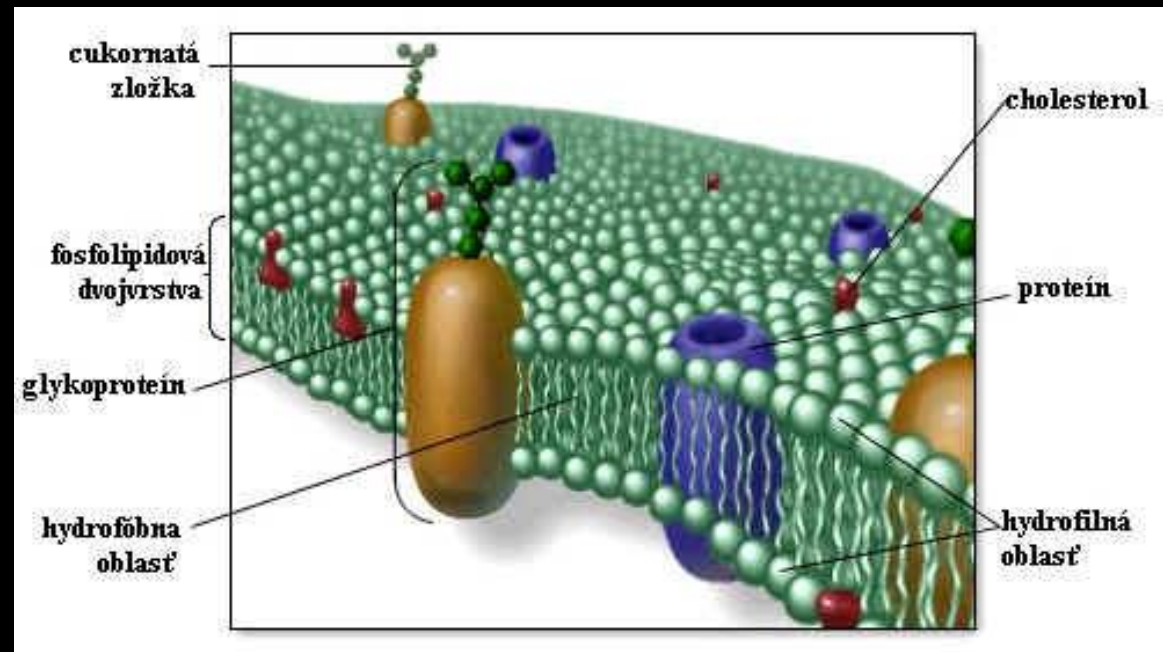
- Z reakcí probíhají např.:
 - Oxidace
 - Hydroxylace
 - Dealkylace
 - Deaminace
 - Dehalogenace



- Základním předpokladem reakcí je **aktivace kyslíku**
- Superoxid produkován NAD(P)H-dependentním elektronovým transportem
- Účast **cytochromu P450** (komplex P450-ROOH se může rozkládat na P450-RH a superoxid)

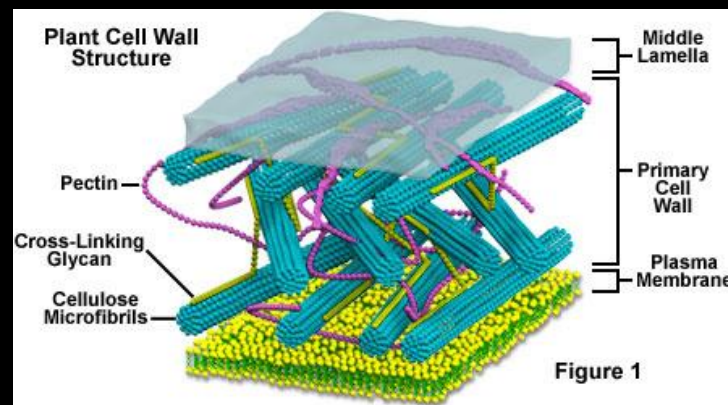
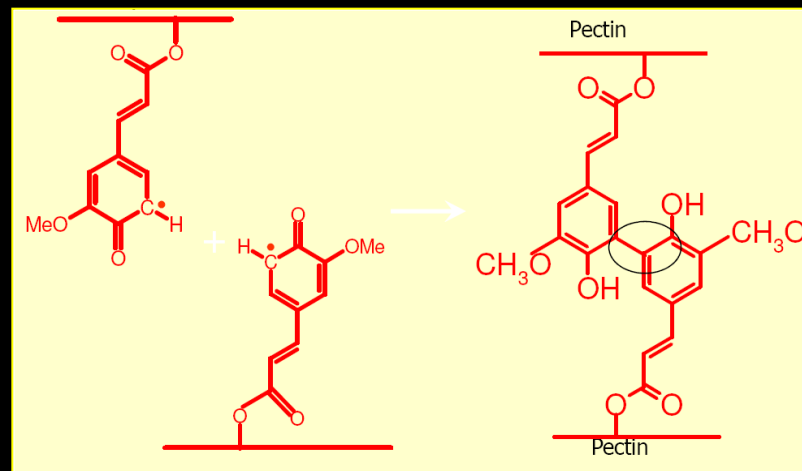
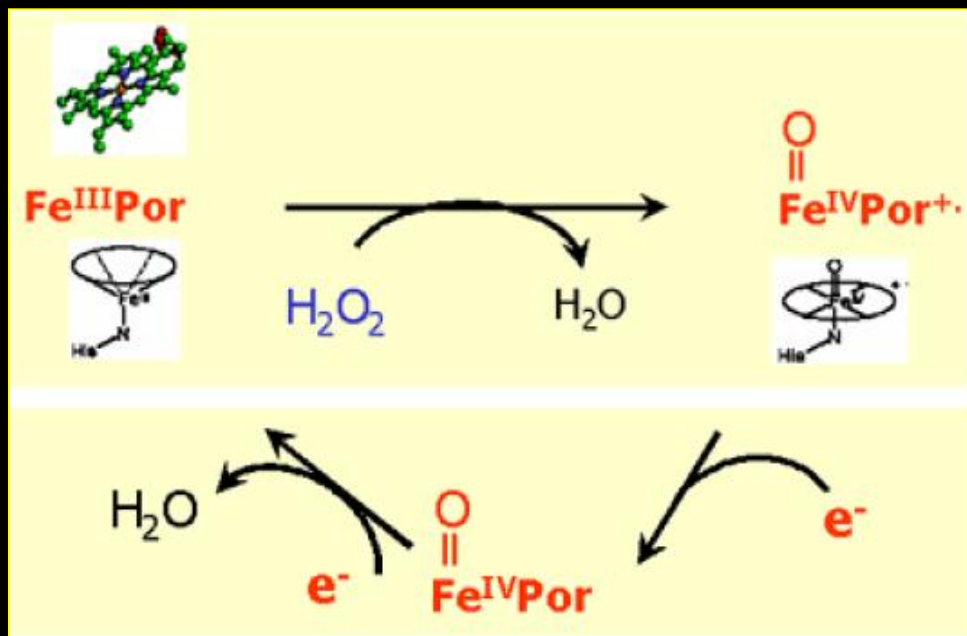
TVORBA ROS V PLAZMATICKÉ MEMBRÁNĚ

- ❑ NADPH-oxidasa - vícesložkový komplex obsahující cytochrom b_{558} (obsahuje FAD a dva hemy)
- ❑ Tok elektronů jde z NADPH cestou přes FAD a hemu na kyslík
- ❑ reakce $\text{NADPH} + 2 \text{O}_2 = 2 \text{O}_2^{\cdot -} + \text{NADP}^+ + \text{H}^+$
- ❑ Superoxid se uvolňuje na vnější povrch a přechází na H_2O_2



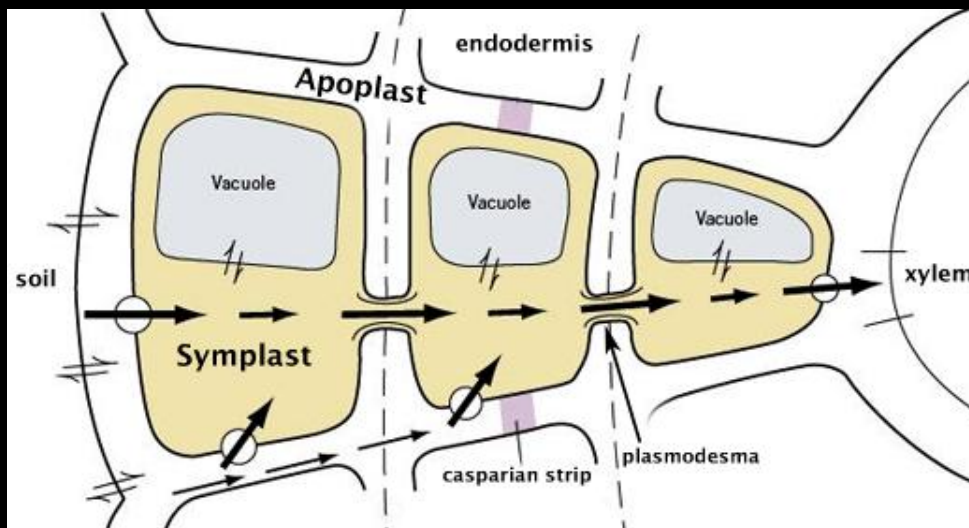
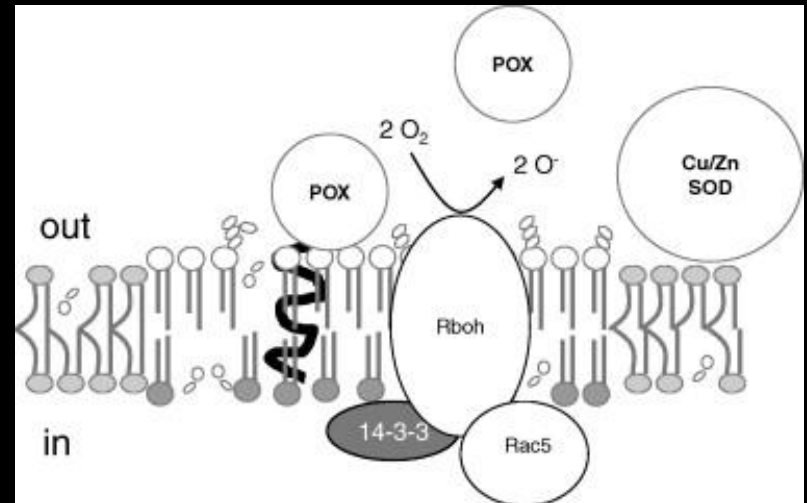
TVORBA ROS V BUNĚČNÉ STĚNĚ

- Tvorba superoxidu peroxidasami za spotřeby NADH
- Závislé na pH
- reakce $\text{Fe}^{2+}\text{-O-O} + \text{RH}_2 = \text{Fe}^{3+} + \text{R}^\cdot + \text{H}_2\text{O}_2$
- Tvorba fenypropanoidních prekurzorů ligninu a jejich následné zesíťování

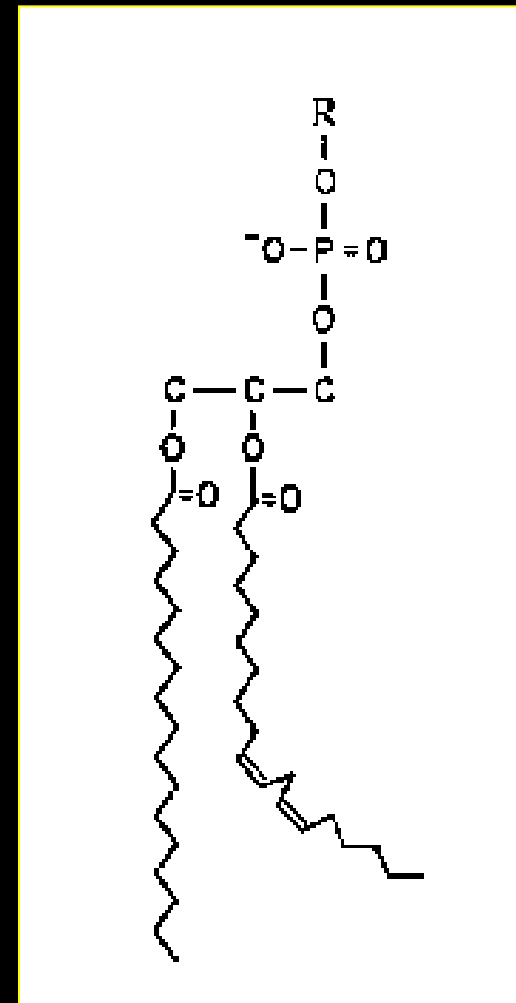
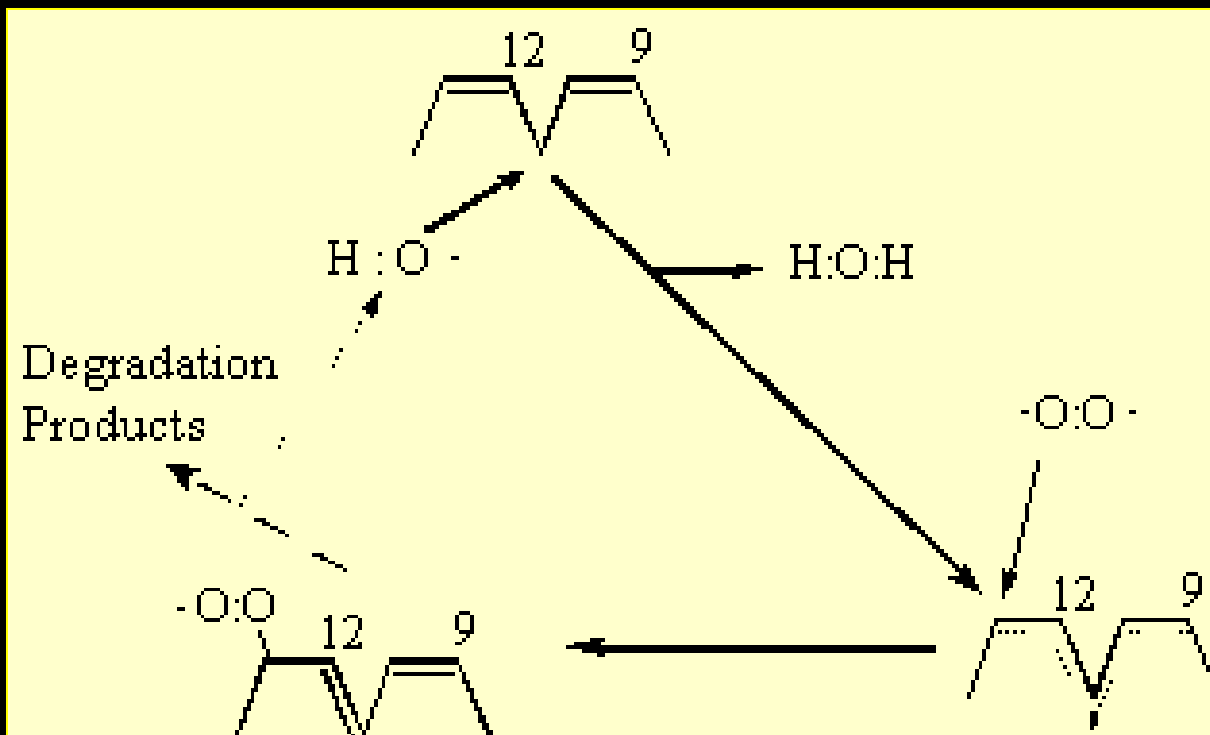


TVORBA ROS V APOPLASTU

- ❖ Zdrojem ROS oxalát oxidasa a aminoxidasa
- ❖ Vzniklý H_2O_2 možné využít pro **lignifikaci** a zesílení buněčné stěny



OXIDATIVNÍ POŠKOZENÍ LIPIDŮ



OXIDATIVNÍ POŠKOZENÍ PROTEINŮ

Oxidativní poškození proteinů zahrnuje:

- místně specifické modifikace aminokyselin
- fragmentaci peptidových řetězců
- hromadění produktů zesíťovacích reakcí
- změnu elektrického náboje
- zvýšení citlivosti na proteolýzu

Aminokyseliny v peptidech se liší v odolnosti vůči poškození a různé formy aktivního kyslíku se liší ve své potenciální reaktivitě.

Primární, sekundární a terciární struktura proteinů mění relativní odolnost některých aminokyselin.

Aminokyseliny obsahující **síru a thiolové skupiny** jsou velmi citlivé oblasti.

Jiné formy poškození proteinů volnými radikály jsou ireverzibilní:

- oxidace **železo-síra center** peroxidem ničí enzymatickou funkci
- mnoho AMK prodělá **specifickou ireverzibilní modifikaci** když je protein oxidován (tryptofan je snadno zesíťován do formy bityrosinu)

OXIDATIVNÍ POŠKOZENÍ DNA

- Aktivní kyslík a faktory generující **volné kyslíkové radikály** jako jsou třeba ionizující záření, indukují množství poškození DNA které zahrnují delece, mutace a jiné smrtelné genetické efekty.
- Poškození DNA ukázalo, že **cukr i báze jsou náchylné k oxidaci** zahrnující:
 - základní degradaci
 - poškození jednoho vlákna
 - cross-linking s proteiny
- Degradace báze má za následek produkci řady produktů včetně:
 - 8-hydroxyguaninu
 - hydroxymethyl močoviny
 - močoviny
 - thymin glycolu
 - thyminu a adeninu s otevřeným kruhem
 - nasycených produktů

OBRANNÉ MECHANISMY U ROSTLIN

- **Únik před stresem (*stress avoidance*)** – většinou se jedná o vyvinutí **ochranných struktur**, které brání průniku stresového faktoru do vnitřního prostředí rostliny (např. tlustá kutikula na listech, výrazná impregnace buněčných stěn, rezervoáry vody a snadno rozložitelných organických látek tlumící jejich nedostatek.) Tento způsob ochrany je **pasivní** a **dlouhodobý**. Další možností úniku před stresem je vhodné **načasování životních cyklů**.
- **Tolerance vůči stresu (*stress tolerance*)** – mechanismy aktivní odolnosti, které omezují negativní dopad stresorů až po jejich proniknutí k plazmatické membráně buněk a do symplastu. V takovém případě dochází ke spuštění řetězce změn – tzv. **stresová reakce**.

ÚNIK PŘED STRESEM

- preventivní mechanismy umožňující **snížení vlivů externích stresových faktorů**
- jedná se o nejrůznější adaptační mechanismy na:
 - anatomické (pohyb a zkroucení listů, uložení stomat ve specializovaných útvarech)
 - fyziologické (C₄ a CAM metabolismus)
 - molekulární úrovni (změny ve fotosyntetickém aparátu)

Avoidance	Lokalizace	ROS
Anatomické adaptace	listová struktura, epidermis	O ₂ ^{-•} , H ₂ O ₂ , ¹ O ₂
C ₄ nebo CAM metabolismus	chloroplasty, cytosol, vakuoly	O ₂ ^{-•} , H ₂ O ₂
Pohyb chloroplastů	cytosol	O ₂ ^{-•} , H ₂ O ₂ , ¹ O ₂
Snížení fotosyntézy	chloroplasty	O ₂ ^{-•} , H ₂ O ₂
Modulace antény a fotosystému	chloroplasty	O ₂ ^{-•} , ¹ O ₂
Alternativní oxidasy	chloroplasty, mitochondrie	O ₂ ^{-•}

TOLERANCE VŮČI STRESU

➤ Antioxidační enzymy

- Superoxid dismutasa
- Katalasa
- Glutathionperoxidasy
- Enzymy askorbát-glutathionového cyklu

➤ Antioxidanty

- Kyselina askorbová
- Redukovaný glutathion
- Tokoferol
- Karotenoidy
- Polyaminy



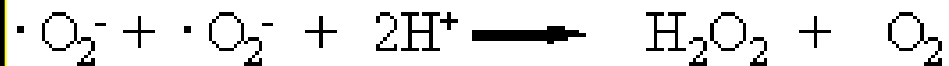
ANTIOXIDAČNÍ ENZYMY

Enzym	Lokalizace	ROS
Askorbát peroxidasa	cytosol, stroma plastidů, membrána plastidů, mitochondrie, peroxisomy, apoplast, kořenové hlízky	H_2O_2
Katalasa	peroxisomy	H_2O_2
Glutathion peroxidasa	cytosol	H_2O_2 , ROOH
Peroxidasy	buněčná stěna, cytosol, vakuoly	H_2O_2
Superoxid dismutasa	cytosol, peroxisomy, plastidy, kořenové hlízky, mitochondrie, apoplast	$O_2^{\cdot-}$
Thioredoxin peroxidasa	plastidy, cytosol, mitochondrie	H_2O_2

SUPEROXID DISMUTASA

SOD katalyzuje přeměnu superoxidu na peroxid vodíku a kyslíku:

Superoxide Dismutase



Mn-SOD: mitochondria

Fe-SOD: chloroplast

CuZn-SOD: chloroplast

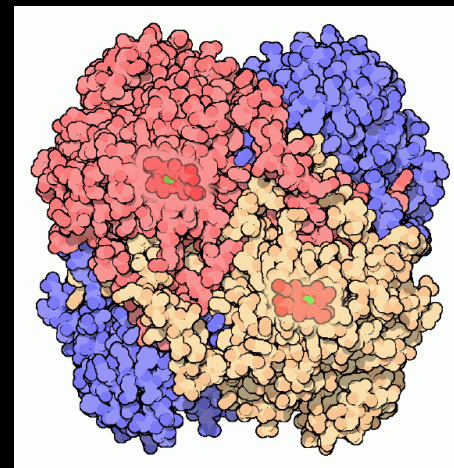
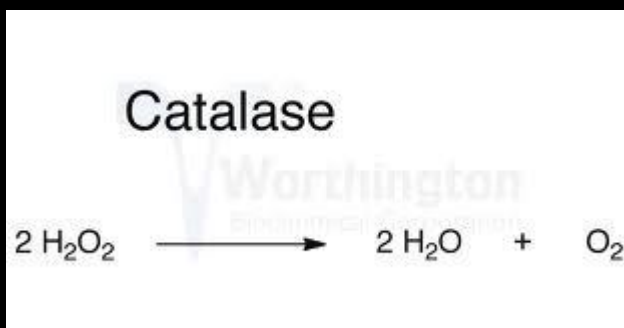
CuZn-SOD: cytosol

- **Mn-SOD** se nachází v mitochondriích eukaryotických buněk
- Některé **Cu/Zn-SOD** izoenzymy se nacházejí v cytosolu, jiné v chloroplastech vyšších rostlin
- **Fe-SOD** izoenzymy nejsou často přítomny v rostlinách, pokud jsou detekovány, pak v chloroplastech

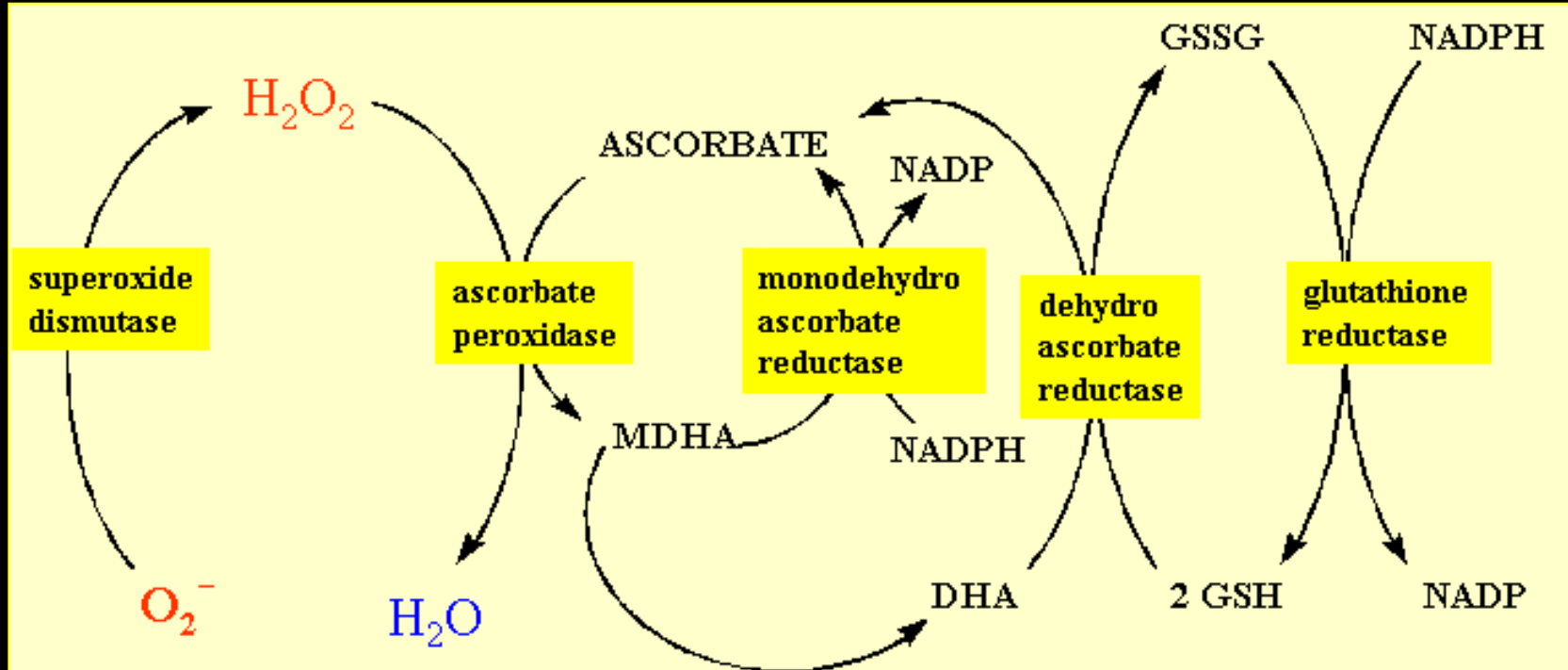


KATALASA

- Kataláza je enzym obsahující hem
- Katalyzuje rozklad peroxidu vodíku na vodu a kyslík
- Enzym se nachází ve všech aerobních eukaryotech
- Důležitý při odstraňování peroxidu vodíku vytvořeného v peroxisomech (microbodies):
 - oxidázami zapojenými do β -oxidace mastných kyselin
 - v glyoxalátovém cyklu (fotorespirace)
 - v purinovém katabolismu.



ENZYMY ASKORBÁT-GLUTATHIONOVÉHO CYKLU



- Foyerův-Halliwellův-Asadův cyklus
- Používá **neenzymové antioxidanty** askorbát a glutathion
- Probíhá v chloroplastech, peroxisomech, cytosolu a mitochondriích

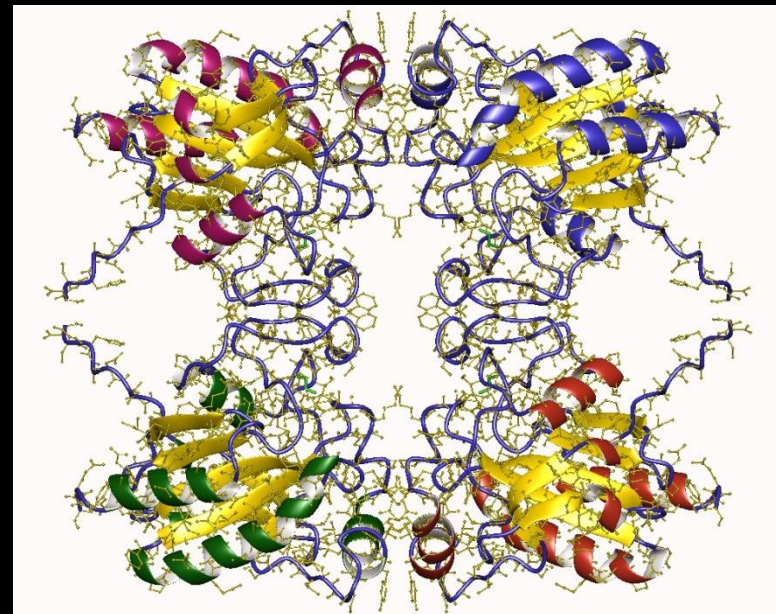
GLUTATHIONPEROXIDASA

Fosfolipidhydroperoxid-
glutathionperoxidasa

1.11.1.9

$2\text{GSH} + \text{PUFA-OOH} (\text{H}_2\text{O}_2) \leftrightarrow \text{GSSG} + 2\text{H}_2\text{O}$

- ✓ **zamezení peroxidace** membránových lipidů
- ✓ katalyzují redukci **peroxidu vodíku, organických peroxidů a peroxidů lipidů** s využitím glutathionu jako redukčního činidla
- ✓ fosfolipidhydroperoxidglutathionperoxidasa - zamezení poškození membránových struktur
- ✓ lokalizace v cytosolu a také v také v chloroplastech



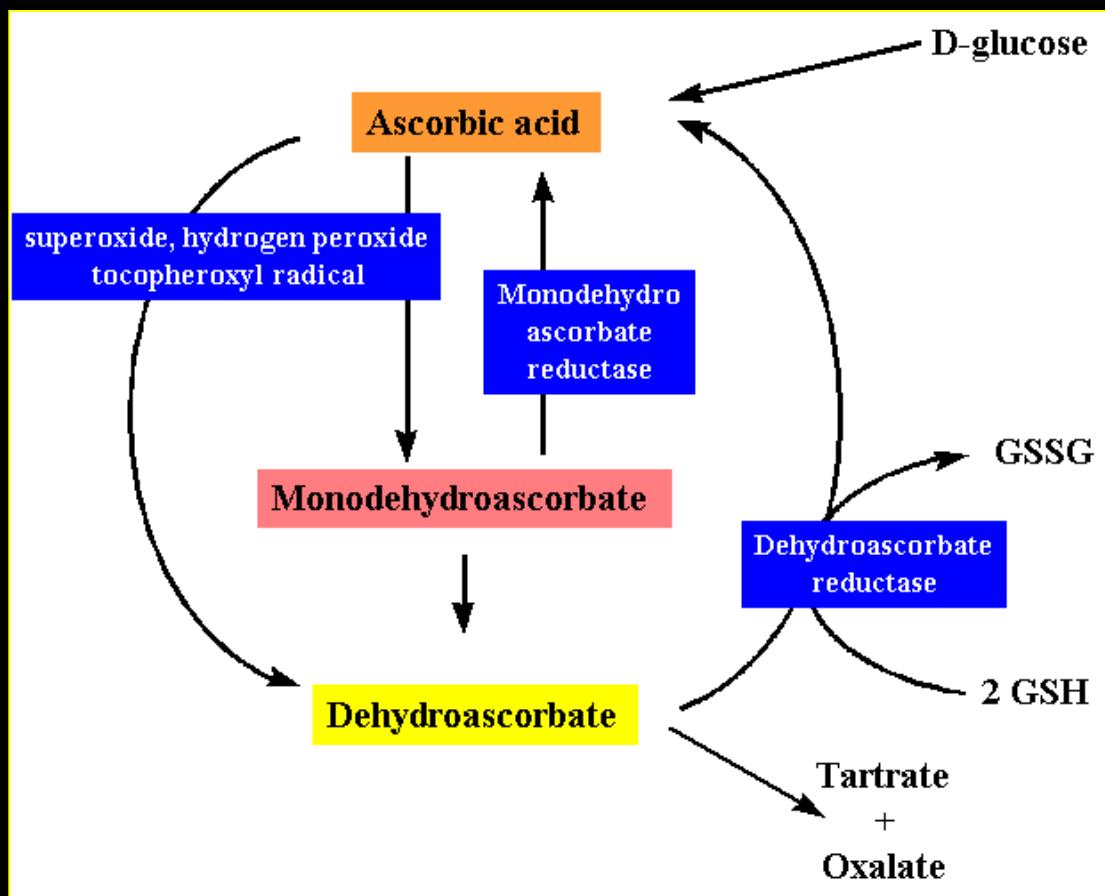
ANTIOXIDANTY

Antioxidant	Lokalizace	ROS
askorbát (vitamin C)	apoplast, cytosol, plastid, mitochondrie, peroxisom	H_2O_2 , $O_2^{\cdot-}$
β -karoten	plastid	1O_2
redukovaný glutathion	cytosol, apoplast, mitochondrie, plastid, peroxisom	H_2O_2
polyaminy (putrescin)	cytosol, mitochondrie, jádro, plastid	1O_2
α -tokoferol (vitamin E)	buněčné membrány	$ROOH$, 1O_2
zeaxanthin	chloroplast	1O_2
cukry (fruktan)	vakuola	OH^{\cdot} , OOH^{\cdot}

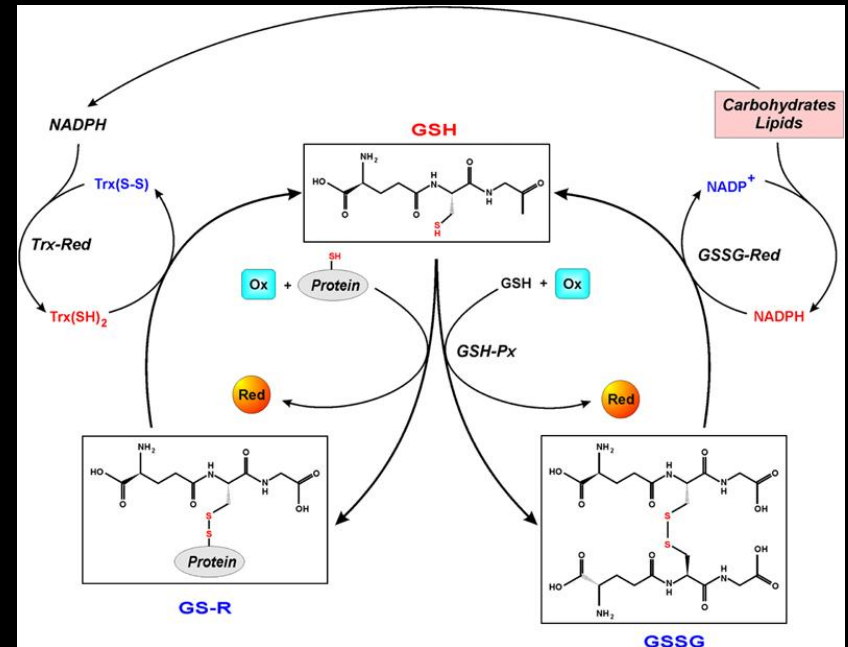
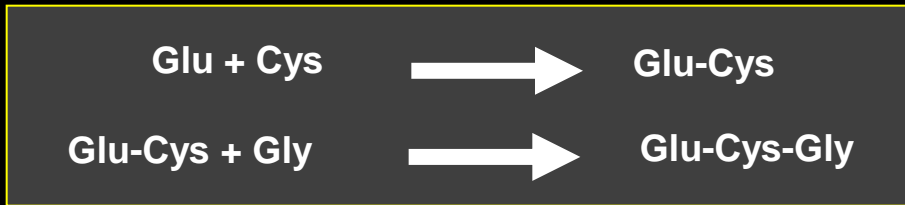


ASKORBÁT

- Významný **reduktant** mnoha radikálů
- Synthese v cytosolu z hexózových cukrů (D-glukosa)
- Za fyziologických podmínek se vyskytuje většinou v redukované formě
- V chloroplastech kofaktorem violaxantin de-epoxidasy



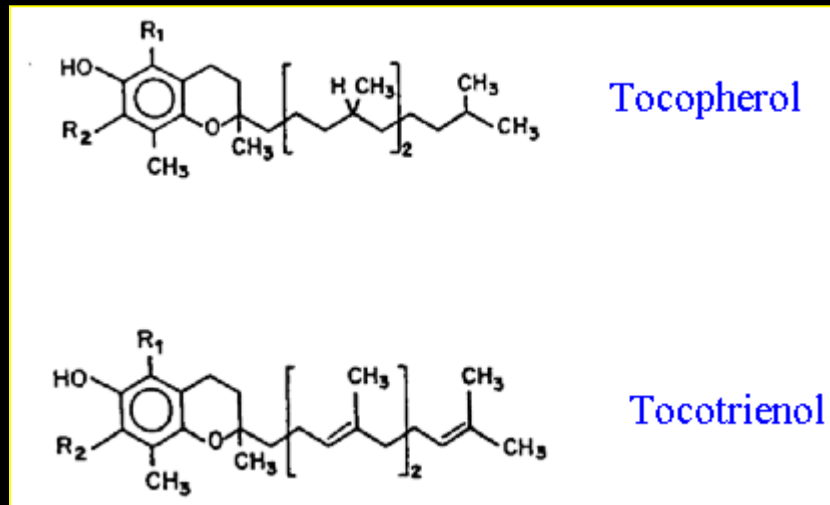
GLUTATHION



- Glutathion (GSH) je tripeptid (Glu-Cys-Gly)
- Antioxidační funkce je usnadněna sulfhydrylovou skupinu cysteinu
- Při oxidaci síra tvoří **thiyl radikál**, který reaguje s druhým oxidovaným glutathionem a tvořící sulfidu vazbu (GSSG).
- Zabraňuje **peroxidaci lipidů**
- Jednou z hlavních funkcí je zabránění oxidace SH skupin enzymů, která by způsobila inaktivaci

TOKOFEROL

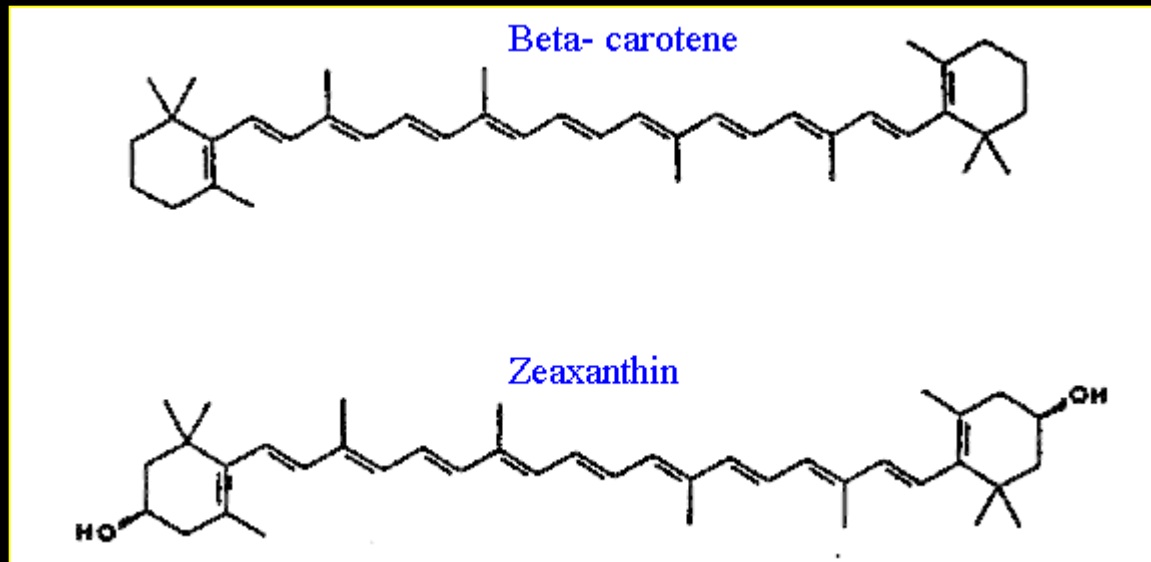
α -tokoferol (vitamin E)



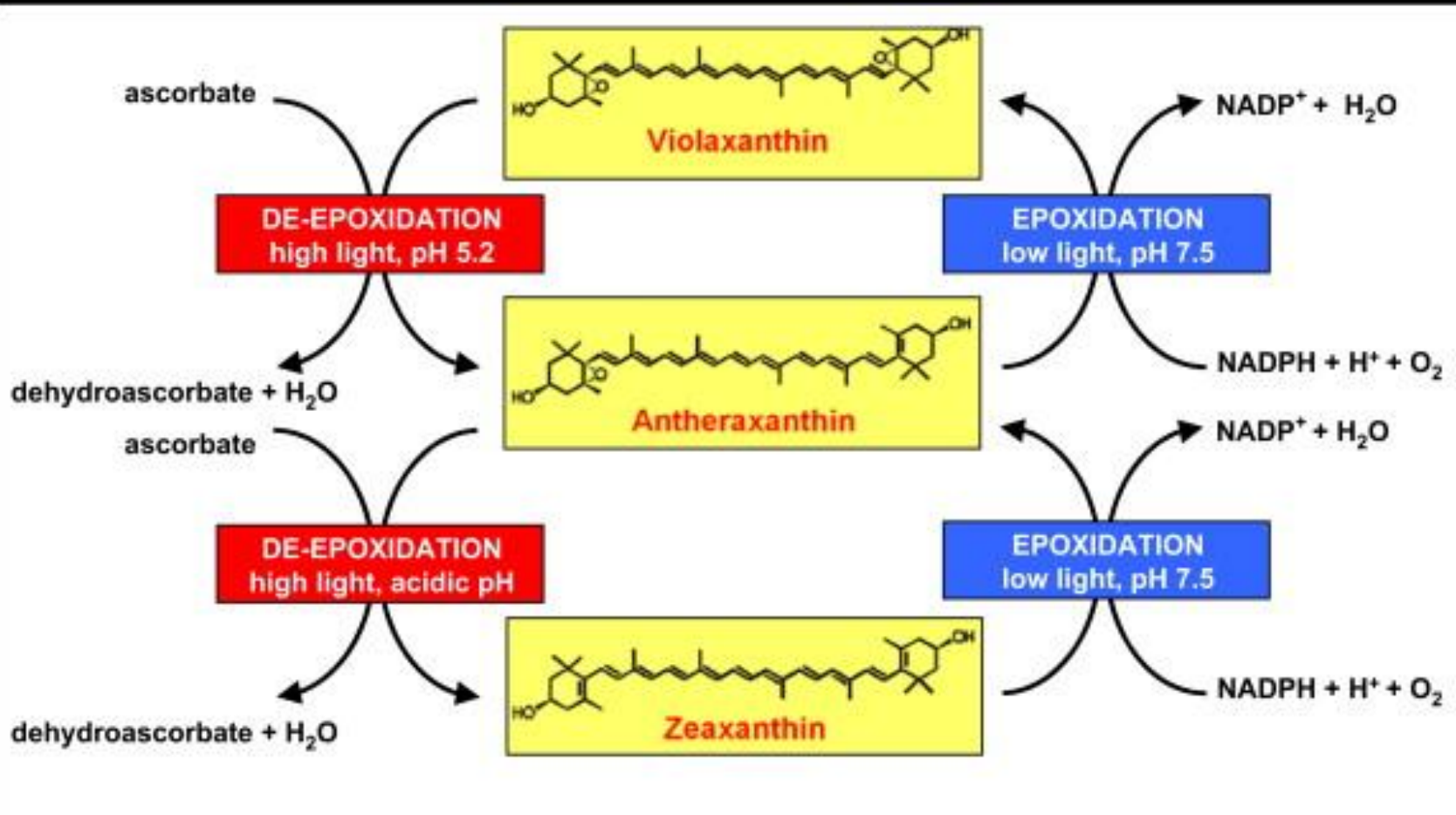
- α -tokoferol se nachází výhradně v buněčných membránách díky hydrofobnímu charakteru
- benzochinonový kruh je orientován na karbonylovou skupinu glycerolu (složky fosfolipidu)
- fytylový řetězec spojený s mastnými kyselinami v hydrofobní vnitřní oblasti membránové dvojvrstvy
- kyslíkový kruh se nachází v blízkosti povrchu membránové dvojvrstvy ale zůstává v lipidovém prostředí
- **tokoferoxyl radikál je stabilizován** plně substituovaným benzochinonovým kruhem a proto nepokračuje v propagaci radikálové reakce
- v podstatě dochází k terminaci reakce - tokoferol je **účinnou pastí pro volné radikály**

KAROTENOIDY

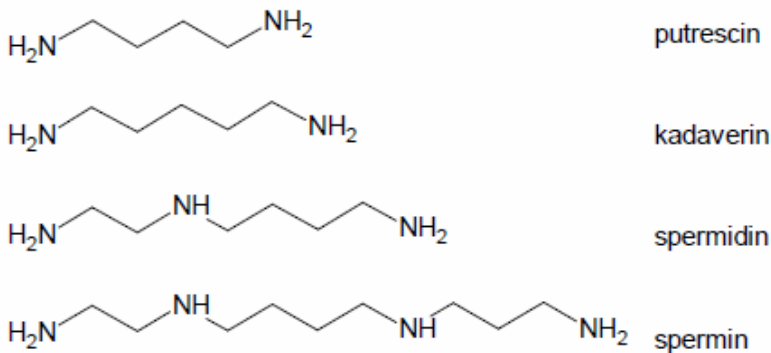
- karotenoidy jsou C_{40} isoprenoidy a tetraterpeny
- umístěny v plastidech fotosyntetických a nefotosyntetických rostlinných pletivech
- v chloroplastech funkce světlosběrných barviv
- schopnost **detoxikovat různé formy aktivního kyslíku a tripletový chlorofyl**



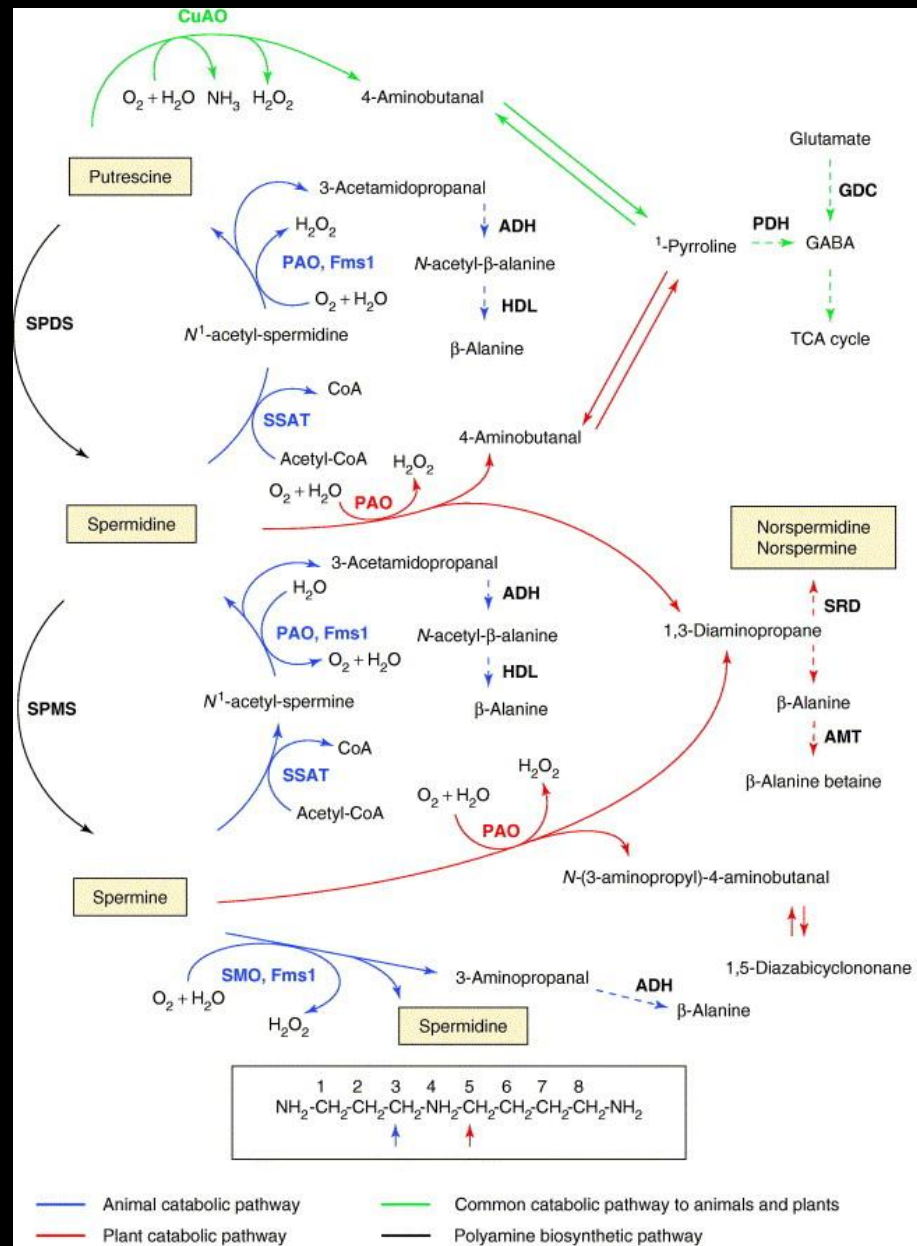
KAROTENOIDY



POLYAMINY



- lokalizovány zejména v cytoplasmě, ve vakuolách, mitochondriích a chloroplastech
- hrají důležitou roli v řadě vývojových procesů jako jsou růst kořenů, somatická embryogeneze, iniciace kvetení nebo vývoj květů a plodů
- rychle akumulují v rostlinách jako odezva na biotický a abiotický stres
- **konjugáty PA s kyselinou hydroxyskořicovou** jsou důležité pro jejich antioxidační aktivitu a schopnost vázat se na reaktivní formy kyslíku



POLYAMINY

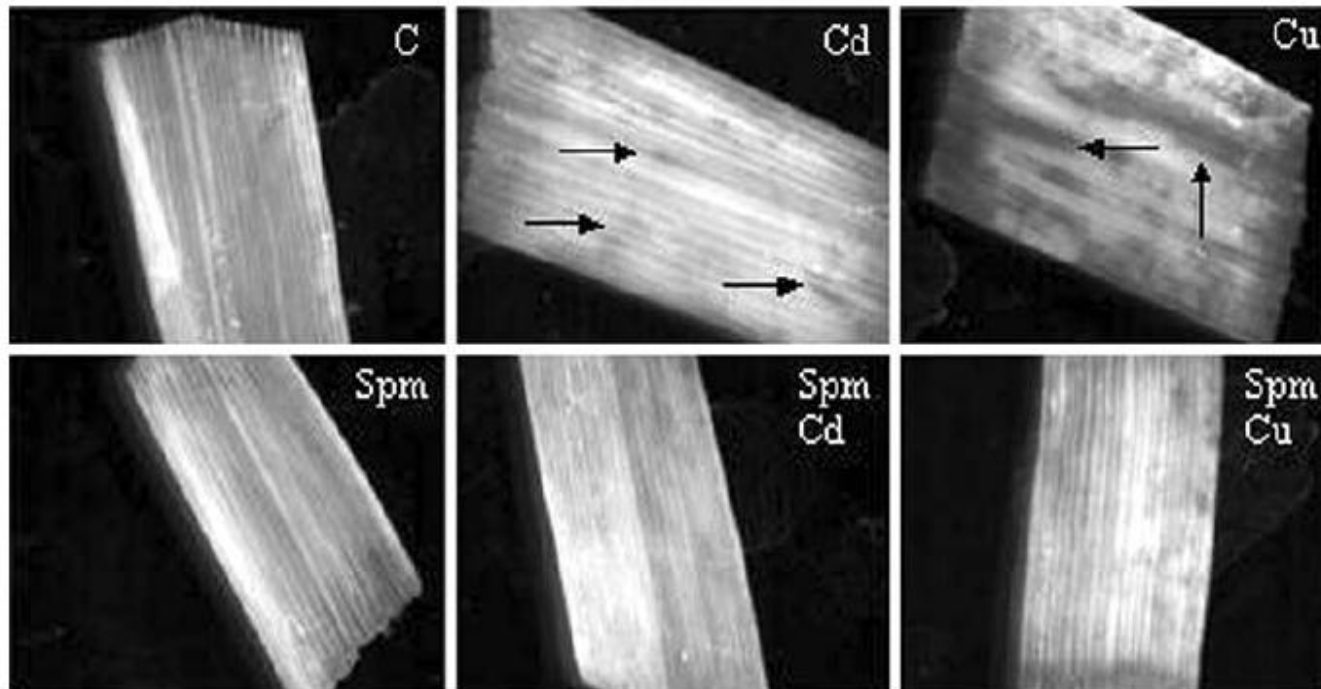
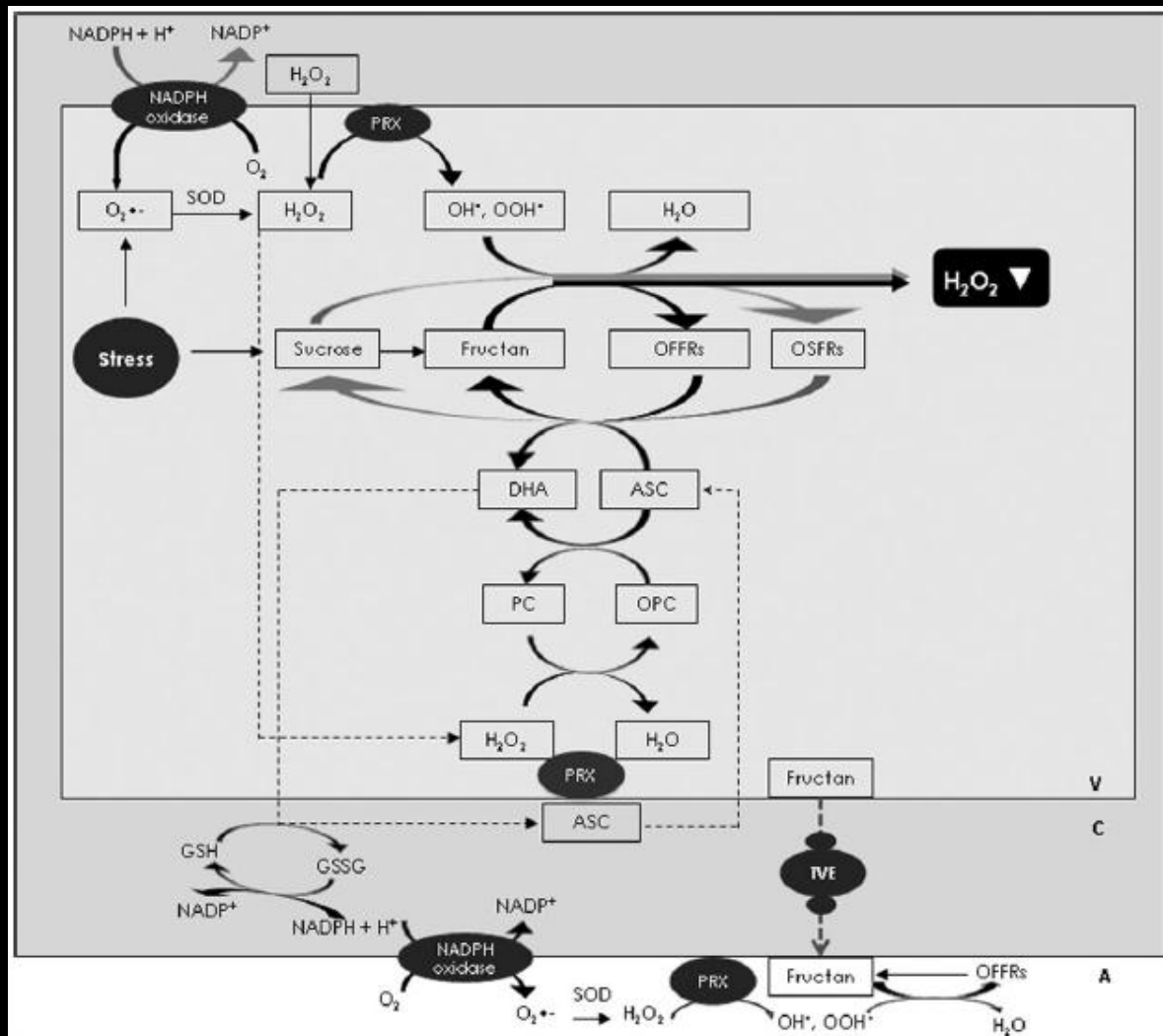


Figure 2. Histochemical detection of H₂O₂ in wheat leaf segments. Leaf segments were incubated for 14 h under continuous light. Spm pretreatment consisted of 6 h preincubation with 1 mM Spm before metal (Cd or Cu) incubation. Treatments are detailed in the figure. Leaves were infiltrated with 1 mg/ml DAB for 1 h under dark, and then illuminated until appearance of brown spots (see arrows) to evidence H₂O₂ formation. To visualize DAB deposits, leaves were bleached in boiling ethanol. The figure is representative of three different experiments.

CUKRY

- **Fruktan** - polymer fruktosy
- Rostliny ukládají zásobní energii jako fruktany → jsou schopny prospívat i při nízkých teplotách
- Vážou se na membrány, a tím pomáhají udržovat buňky neporušené.



OFFRs – oxidované volné radikály fruktanu

OSFRs – oxidované volné radikály sacharosy