

Received: 2003.04.22

Accepted: 2003.08.08

Published: 2004.03.30

Zdolności antyoksydacyjne w starzejącym się organizmie

Antioxidative abilities during aging

Agnieszka Augustyniak, Elżbieta Skrzydlewska

Zakład Chemii Nieorganicznej i Analitycznej Akademii Medycznej w Białymstoku

Streszczenie

W ostatnich latach proces starzenia coraz częściej jest wiązany z destrukcyjnym działaniem wolnych rodników tlenowych (RFT) lub innych utleniaczy na składniki komórki. Szkodliwe działanie RFT objawia się również akumulacją produktów oksydacyjnych uszkodzeń w starzejącym się organizmie. W celu przeciwdziałania tym zmianom organizm wykształcił mechanizmy chroniące komórki przed działaniem oksydantów. Należą do nich związki hamujące generację wolnych rodników lub uczestniczące w ich przemianie w nieaktywne pochodne. Związki te, pochodzenia zarówno egzo-, jak i endogennego, tworzą system antyoksydacyjny, a ze względu na mechanizm działania dzieli się je na enzymatyczne i nieenzymatyczne. Zmiany aktywności enzymów antyoksydacyjnych: SOD, CAT, GSH-Px, GSSG-R wraz z wiekiem zależą od wielu czynników m.in. rasy, płci zwierząt oraz narządu i lokalizacji subkomórkowej enzymu. Obniżenie aktywności tych enzymów w procesie starzenia może wskazywać na modyfikacje cząsteczek enzymów spowodowane bezpośrednio lub pośrednio przez RFT, natomiast wzrost aktywności często można traktować jako odpowiedź adaptacyjną komórki na nadprodukcję RFT. W procesie starzenia dochodzi również do zmniejszenia stężenia GSH, co może być spowodowane obniżeniem jego syntezy lub zwiększonym zużyciem tego antyoksydanta w reakcjach z wolnymi rodnikami generowanymi w nadmiernej ilości. W osoczu krwi ważną funkcję ochronną pełnią albumina, ferrytyna, transferyna, ceruloplazmina, białka, które chelatują, katalizujące reakcje wolnorodnikowe, jony metali przejściowych. Zawartość tych białek również ulega zmianie wraz z wiekiem. Oprócz zmian w stężeniu endogennych składników układu antyoksydacyjnego, w procesie starzenia się organizmu, dochodzi również do zmiany stężeń antyoksydantów egzogennych, dostarczanych do organizmu wraz z pożywieniem. Najważniejsze z nich to witaminy E, C, A oraz β -karoten, których stężenie może wzrastać lub maleć w okresie starości. Rozbieżności te mogą być spowodowane wpływem czynników zewnętrznych, takich jak: dieta, przebyte choroby i inne.

Słowa kluczowe:

starzenie • enzymy antyoksydacyjne • antyoksydanty nieenzymatyczne

Summary

Biological aging is associated with increased cellular levels of reactive oxygen species (ROS) as well as the formation and accumulation of oxidized biomolecules. During evolution, organisms developed a highly-efficient and adaptive antioxidant defense system. Antioxidants can generally be divided into two categories: enzymatic and non-enzymatic. During the aging process the activity of antioxidant enzymes, e.g. SOD, CAT, GSH-Px, and GSSG-R, depends on factors such as race, gender, tissue and subcellular localization of enzymes. The age-dependent decrease in antioxidant enzyme activity may be attributed to oxidative modifications of enzymes. During the aging process, ROS may also lead to the induction of some enzyme activity which is explained as an adaptive phenomenon. The decrease in GSH concentration with age can be explained by decreased GSH synthesis and/or increased GSH consumption in the removal of peroxides and xenobiotics. In plasma albumin, ferritin, transferrin, and caeruloplasmin exert protective action. Plasma proteins can inhibit ROS generation and lipid peroxidation by chelating free transition metals. Plasma protein concentrations changes with age. The major exogenous antioxidants,

mostly derived from the diet, are vitamin E, C, A, and β -carotene. During the aging process the level of vitamins may decrease or increase, depending on such factors as diet, and diseases.

Key words: aging • antioxidant enzymes • non-enzymatic antioxidants

Full-text PDF: http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_58/5343.pdf

Word count: 3953

Tables: –

Figures: 1

References: 80

Source of support: Praca finansowana z grantu KBN 6P05F01720.

Adres autorki: dr hab. Elżbieta Skrzydlewska, Zakład Chemii Nieorganicznej i Analitycznej AM, ul. Mickiewicza 2a, 15-230 Białystok, e-mail: skrzydle@amb.edu.pl

W ostatnich latach coraz częściej przyczyną procesu starzenia się organizmu upatruje się w bezpośrednim destrukcyjnym działaniu na organizm utleniaczy, w tym również wolnych rodników tlenowych (RFT) oraz w ich udziale w patogenezie wielu chorób wieku starszego, takich jak: miażdżyca, niedokrwienie, uszkodzenie serca, mózgu i płuc oraz choroby, neurodegeneracyjne [3,16]. Po raz pierwszy wolnorodnikową teorię starzenia sformułował Harman, który wykazał, że inicjowane przez wolne rodniki procesy utleniania składników komórki, powodują liczne ich uszkodzenia i zaburzenia funkcji fizjologicznych komórki [25]. Obecnie uważa się, że za destrukcję składników komórki w procesie starzenia są odpowiedzialne zarówno wolne rodniki jak i inne utleniacze, powstające w wyniku procesów metabolicznych, a których wytwarzanie nasila się wraz z wiekiem [6,62]. Szkodliwe działanie RFT objawia się również akumulacją oksydacyjnie zmodyfikowanych składników komórki w starzejącym się organizmie. Nasilona akumulacja może być wynikiem osłabionego działania mechanizmów naprawczych komórki lub systemów degradujących uszkodzone fragmenty.

Istotną rolę w przeciwdziałaniu powstawaniu wolnorodnikowych uszkodzeń pełnią związki hamujące generację wolnych rodników lub uczestniczące w ich przemianie w nieaktywne pochodne. Związki te, pochodzenia zarówno endo- jak i egzogenne tworzą system antyoksydacyjny, a ze względu na mechanizm działania dzieli się je na enzymatyczne i nieenzymatyczne [12].

ANTYOKSYDANTY ENDOGENNE

Do podstawowych składników enzymatycznego układu antyoksydacyjnego należą m. in. współdziałające z sobą dysmutaza ponadtlenkowa (SOD; E.C. 1.15.1.1) i katalaza (CAT; E.C.1.11.1.6) (ryc.1).

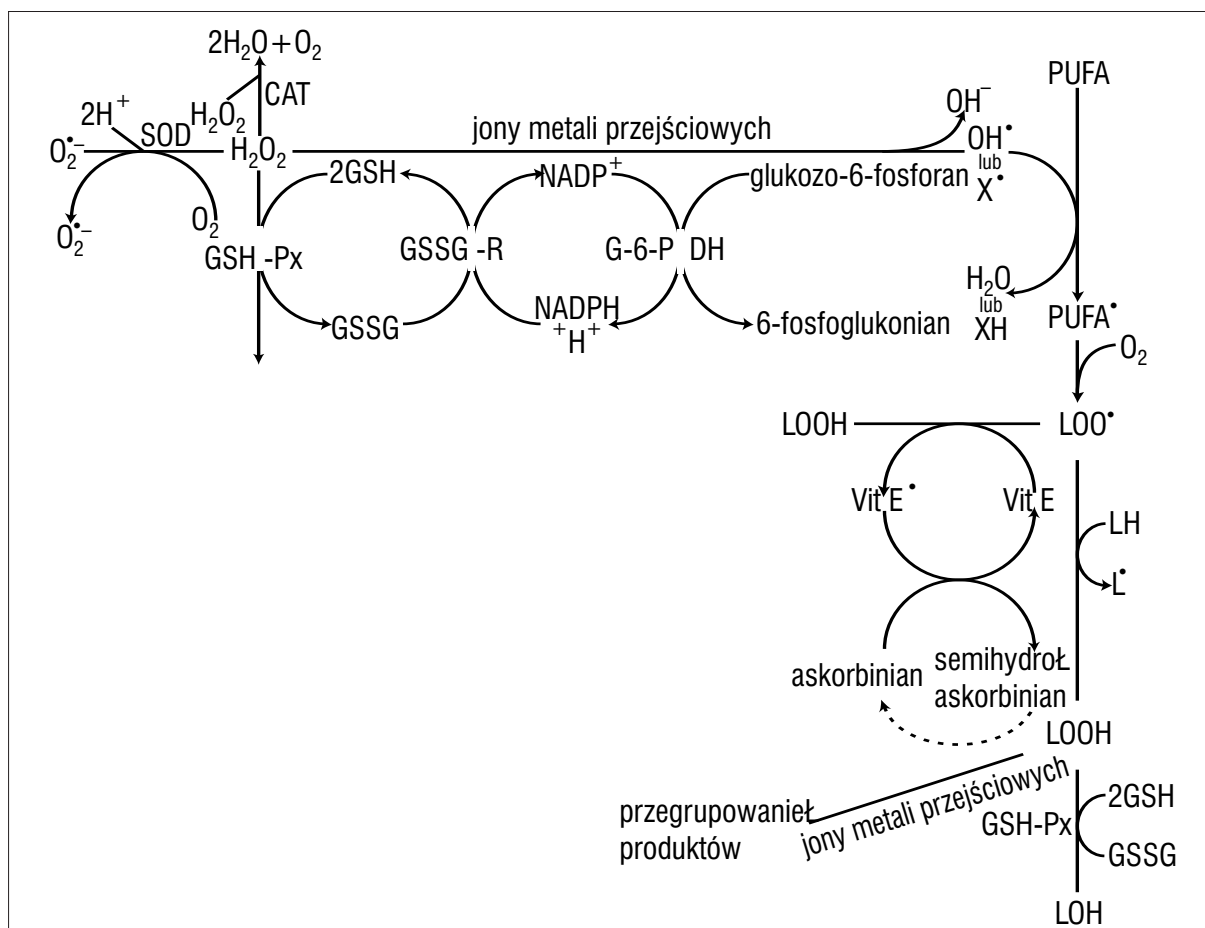
Dysmutaza ponadtlenkowa

W zależności od miejsca występowania w organizmie ssaków można wyróżnić trzy izoformy dysmutazy ponadtlenkowej: zależną od jonów manganu – mitochondrialną (Mn-SOD; SOD-2), zależną od jonów miedzi i cynku – cytoplazmatyczną (Cu, Zn-SOD; SOD-1) oraz pozakomórkową (EC-SOD) [29]. Dysmutaza ponadtlenkowa jest enzymem katalizującym reakcję dysmutacji aniono-

rodnika ponadtlenkowego do nadtlenu wodoru, który jest następnie rozkładany przez katalazę – enzym umiejscowiony przede wszystkim w peroksyzomach.

Ze względu na to, że na aktywność dysmutazy ponadtlenkowej ma wpływ wiele czynników, dotychczasowe doniesienia dotyczące wpływu starzenia się organizmu na aktywność tego enzymu nie są jednoznaczne. Wykazano, że kierunek zmian aktywności dysmutazy ponadtlenkowej podczas starzenia się organizmu może zależeć od gatunku zwierzęcia. Uważa się, że różnice międzygatunkowe mogą być spowodowane różną szybkością przemian metabolicznych, w tym również wytwarzania wolnych rodników [65]. Wykazano, że największa aktywność SOD charakteryzuje człowieka, następnie słonia azjatyckiego, szympansa i konia, czyli te gatunki zwierząt, u których genetycznie zaprogramowany proces starzenia trwa najdłużej i jednocześnie szybkość przemian metabolicznych jest najmniejsza [5,69,74]. Reguła ta nie zawsze jest jednak słuszna. Stwierdzono np., że aktywność cytosolowej dysmutazy ponadtlenkowej w wątrobie szczura obniża się z wiekiem, a nie zmienia się w wątrobie myszy [49]. Mimo że szybkość przemian metabolicznych u myszy jest dwukrotnie wyższa niż u szczura wykazano, że szybkość generowania anionrodnika ponadtlenkowego przez mitochondria szczura i myszy jest zbliżona, natomiast stężenie nadtlenu wodoru jest wyższe w mitochondriach wątroby szczura niż myszy [63,64].

Zmiany aktywności dysmutazy ponadtlenkowej podczas starzenia się organizmu zależą również od rasy i płci zwierząt oraz narządu i lokalizacji subkomórkowej enzymu [53]. Wykazano, że aktywność tego enzymu w cytosolu wątroby starych szczurów samców w porównaniu do młodych osobników pozostaje niezmienną w ras takich jak Sprague-Dawley i Donryu, a obniża się u szczurów rasy Wistar i Fischer 344 [17,59]. Narządem szczególnie narażonym na oksydacyjne modyfikacje jest mózg. Powodem tego jest duże zużycie tlenu, duża zawartość lipidów, a także stosunkowo mała zawartość enzymów antyoksydacyjnych. Szczególnie istotne zmiany aktywności enzymów antyoksydacyjnych obserwuje się w mitochondriach mózgu, które są głównym źródłem anionrodnika ponadtlenkowego i nadtlenu wodoru [68]. Stwierdzono, że aktywność dysmutazy ponadtlenkowej, szczególnie Mn-SOD w mitochondriach mózgu szczura znacząco ob-



Ryc. 1. Mechanizmy działania związków antyoksydacyjnych w obecności powstających w organizmie wolnych rodników; SOD – dysmutaza nadadtlenkowa; GSH-Px – peroksydaza glutationowa; GSSG-R – reduktaza glutationowa; G-6-P DH – dehydrogenaza glukozy-6-fosforanowa; Vit E – witamina E; Vit E[•] – rodnik tokoferylowy; GSH – glutation zredukowany; GSSG – glutation utleniony; X[•] – inne wolne rodniki; XH – inaktywowane wolne rodniki; PUFA – wielonienasycone kwasy tłuszczowe; PUFA[•] – rodnik wielonienasyconego kwasu tłuszczowego; L[•] – rodnik alkilowy (lipidowy); LOO[•] – rodnik nadadtlenkowy (nadttlenolipidowy); LOOH – wodoronadtlenek lipidowy; LOH – alkohol lipidowy; O₂^{•-} – anion-rodnik nadadtlenkowy; OH⁻ – rodnik hydroksylowy; OH[•] – anion hydroksylowy; O₂ – tlen cząsteczkowy; H₂O₂ – nadttlenek wodoru

niża się wraz z wiekiem [68]. Natomiast w mózgu samic myszy aktywność tego enzymu wzrasta z wiekiem do około 17 miesiąca życia zwierząt, po czym ulega obniżeniu [37]. Ocena aktywności dysmutazy nadadtlenkowej ze względu na lokalizację subkomórkową wykazuje, że aktywność enzymu cytosolowego w płucach szczurów samców wzrasta, a mitochondrialnego obniża się wraz z wiekiem, natomiast całkowita aktywność SOD w mózgu, wątrobie i płucach samic i samców w różnym wieku pozostaje niezmienną [40]. Uważa się, że wzmożona aktywność dysmutazy nadadtlenkowej, jak też zawartość odpowiadającego jej genu jest wynikiem działania czynników transkrypcyjnych uaktywnionych przez nasilony wraz z wiekiem stres oksydacyjny [57,67]. Z kolei przypadki wskazujące na obniżanie aktywności SOD w procesie starzenia tłumaczy się inaktywacją tego enzymu przez nadttlenek wodoru wytwarzany w nadmiernej ilości wraz z wiekiem [1,55,68]. Oprócz modyfikacji cząsteczek dysmutazy nadadtlenkowej przez RFT, powodem obniżania aktywności tego enzymu mogą być reakcje z produktami peroksydacji lipidów, a także reakcje zachodzące w procesie nieenzymatycznej glikozylacji zwanej glikacją

[59]. Stwierdzono, że na skutek wzmożonej glikacji cząsteczek SOD dochodzi do obniżenia aktywności tego enzymu w osoczu osób starszych [42,75]. Zmodyfikowane cząsteczki dysmutazy nadadtlenkowej występujące w komórkach starych fibroblastów wykazują dużą wrażliwość termiczną i są wyjątkowo podatne na inaktywację, co w konsekwencji może się przyczynić do akumulacji nieaktywnych postaci tego enzymu [66]. Jednak badania wartości mas cząsteczkowych, a także składu aminokwasowego białka Cu, Zn-SOD wyizolowanego z wątroby szczurów 3-, 12- i 24-miesięcznych zaprzeczają temu, że wraz z wiekiem dochodzi do akumulacji oksydacyjnie zmodyfikowanych, nieaktywnych izoform tego enzymu [21]. Powodem tego może być szybka przemiana metaboliczna w wątrobie i innych tkankach oraz/lub stosunkowo szybko zachodzące procesy syntezy i metabolizmu białek enzymatycznych [26]. Ponieważ funkcjonowanie SOD w cytoplazmie jest uwarunkowane dostępnością jonów miedzi i cynku, obniżenie aktywności SOD może być również związane z niedoborem tych jonów. Prawidłowość taką obserwuje się w erytrocytach człowieka, gdzie obniżenie w starszym wieku stężeń jonów miedzi

i cynku jest powodem obniżenia aktywności dysmutazy ponadtlenkowej [4,7,73]. Jednak badania zawartości jonów miedzi i cynku w wątrobie szczurów 3-, 12-, 24-miesięcznych wykazują jedynie niewielkie obniżenie zawartości jonów miedzi u szczurów starszych, co nie wpływa na zmiany aktywności Cu, Zn-SOD wraz z wiekiem [21].

Z powyższych danych wynika, że zmiany aktywności dysmutazy ponadtlenkowej wraz z wiekiem nie są jednoznaczne. Jest to prawdopodobnie spowodowane wpływem dodatkowych czynników, takich jak gatunek, rasa, płeć zwierząt, a także lokalizacja subkomórkowa enzymu, w zależności od których w starzejącym się organizmie nasilają się procesy powodujące wzrost bądź obniżenie aktywności tego enzymu.

Katalaza

Katalaza jest hemoproteiną występującą głównie w wątrobie, erytrocytach i nerkach, przy czym w peroksysoinach wątroby ssaków może stanowić aż 16% wszystkich białek [14]. Enzym ten katalizuje reakcję dysmutacji nadtlenu wodoru. Zmiany aktywności katalazy w procesie starzenia, podobnie jak dysmutazy ponadtlenkowej, zależą od różnych czynników, które mogą wpływać na wzrost lub obniżenie aktywności tego enzymu. Wzrost aktywności i ekspresji genu tego enzymu wraz z wiekiem obserwuje się w wątrobie szczurów [57], co można traktować jako odpowiedź adaptacyjną komórki na zwiększone wytwarzanie jej substratu – nadtlenu wodoru podczas starzenia się organizmu [29]. Natomiast do obniżenia aktywności katalazy, a także poziomu odpowiadającego jej mRNA dochodzi w mózgu i nerkach szczura [68]. W organizmie człowieka starzeniu się może towarzyszyć zarówno wzrost, jak i obniżenie aktywności katalazy w erytrocytach, natomiast do obniżenia aktywności dochodzi w fibroblastach skóry i osoczku krwi [60].

Sugeruje się, że podwyższona w starszym wieku aktywność zarówno dysmutazy ponadtlenkowej jak i katalazy może w pewnym stopniu wyrównywać zmniejszone zdolności antyoksydacyjne organizmu spowodowane obniżeniem stężenia podstawowego antyoksydanta nieenzymatycznego, jakim jest glutation zredukowany (GSH).

Glutation

Zredukowany glutation odgrywa główną rolę w systemie enzymów uczestniczących bezpośrednio i pośrednio w działaniu antyoksydacyjnym. GSH jako kosubstrat peroksydazy glutationowej (GSH-Px; E.C.1.11.1.9) bierze udział w reakcjach redukcji nadtlenu wodoru i nadtlenu lipidów [27]. Powstający w tych reakcjach disulfid glutationu jest redukowany przez NADPH w reakcji katalizowanej przez reduktazę glutationową (GSSG-R; E.C.1.6.4.2). Niezbędny w reakcji NADPH powstaje w wyniku działania dehydrogenazy glukozy-6-fosforanowej (G-6-PDH; E.C.1.1.1.49) lub dehydrogenazy izocytrynianowej (E.C.1.1.1.42) (ryc.1).

Podstawową rolą glutationu w organizmie jest utrzymywanie grup sulfhydrylowych białek w stanie zredukowanym, co jest realizowane z udziałem enzymów z grupy transhy-

drogenaz glutationowych. GSH bierze również udział w usuwaniu z komórki substancji szkodliwych, takich jak ksenobiotyki i ich metabolity oraz produkty peroksydacji lipidów, a odbywa się to za pośrednictwem reakcji nieenzymatycznych lub katalizowanych przez S-transferrazę glutationową (E.C.3.1.2.7) [57]. Koniugaty różnych związków z GSH powstają głównie w wątrobie i są wydzielane do żółci przez system zależny od ATP [31]. W starszym wieku dochodzi jednak do zmniejszenia wypływu żółci co uwiadcza się obniżeniem aktywności γ -glutamylotransferrazy (E.C.2.3.2.2) we krwi oraz szybkości usuwania powstających połączeń z wątroby [24]. Procesowi starzenia się zarówno zwierząt, jak i człowieka może towarzyszyć zarówno wzrost jak i obniżenie stężenia zredukowanego glutationu w różnych narządach [27,30,57]. Jedną z przyczyn obniżenia zawartości GSH wraz z wiekiem może być obniżenie jego syntezy [38,72]. Szybkość syntezy glutationu zależy przede wszystkim od dostępności prekursorów glutationu – cysteiny i metioniny oraz aktywności enzymów biorących udział w jego syntezie, m.in. syntetazy γ -glutamylcysteinowej (E.C.6.3.2.2) i cystationazy (E.C.4.4.1.8) [38]. Zaobserwowano, że wraz z wiekiem dochodzi do zmniejszenia stężenia cysteiny w organizmie muszki i myszy [46,54]. Szczególnie istotne obniżenie stężenia tego aminokwasu wraz z wiekiem obserwuje się w wątrobie szczurów i w soczewce człowieka [38,46]. Do obniżenia syntezy GSH w dużym stopniu przyczynia się mała aktywność syntetazy γ -glutamylcysteinowej w korze mózgu, sercu, wątrobie i soczewkach zwierząt obserwowana w okresie starości [38]. Przyczyną małej aktywności tego enzymu może być obniżenie ekspresji genu syntetazy γ -glutamylcysteinowej oraz mRNA obu podjednostek tego enzymu [38]. Prekursorem glutationu m.in. w soczewce jest metionina, która w reakcji katalizowanej przez cystationazę ulega przemianie do cysteiny. Wykazano, że w soczewkach starych zwierząt cystationaza nie wykazuje aktywności katalitycznej, w związku z czym GSH nie może być syntetyzowany z metioniny [72]. Obniżenie syntezy GSH jest szczególnie istotne w przypadku tkanek i narządów zawierających małe stężenie GSH i innych antyoksydantów, np. w mózgu. Również w wątrobie obniżona synteza GSH może mieć istotne znaczenie w funkcjonowaniu całego organizmu, gdyż narząd ten jest głównym źródłem glutationu dla krwi i rezerwuarem prekursora GSH – cysteiny dla innych narządów [38].

Obniżenie stężenia GSH może być także wynikiem jego zużycia w reakcjach z wolnymi rodnikami generowanymi w nadmiernej ilości w procesie starzenia, czemu często towarzyszy wzrost stężenia utlenionej postaci glutationu – disulfidu glutationu (GSSG) oraz obniżenie potencjału utleniającego GSH/GSSG [33,56]. Wykazano, że do wzrostu stężenia disulfidu glutationu dochodzi wraz z wiekiem w mitochondriach wątroby, nerki i mózgu szczurów [58]. Jednak za główną przyczynę obniżenia stosunku GSH/GSSG w procesie starzenia uznaje się zmiany w aktywności enzymów uczestniczących w metabolizmie glutationu.

Uważa się, że w większości przypadków wraz z wiekiem dochodzi raczej do obniżenia aktywności enzymów mających wpływ na redukcję disulfidu glutationu, takich jak reduktaza glutationowa oraz dehydrogenaza glukozy-6-

fosforanu, niż wzrostu aktywności enzymów biorących udział w utlenianiu zredukowanej postaci glutationu, takich jak peroksydaza i transferaza glutationowa [72].

Reduktaza glutationowa

Reduktaza glutationowa (GSSG-R; E.C.1.6.4.2) jest enzymem występującym w cytosolu i w mitochondriach komórki. Dotychczasowe dane na temat aktywności reduktazy glutationowej w procesie starzenia się organizmu wskazują zarówno na jej obniżenie, brak zmian, jak i na podwyższenie aktywności [52,53]. Zróżnicowanie wyników może być związane z tym, iż aktywność tego enzymu zależy nie tylko od wieku zwierząt, ale również od ich płci. Aktywność reduktazy glutationowej w cytosolu wątroby samców szczura ulega wraz z wiekiem najpierw podwyższeniu, a następnie obniżeniu, natomiast w przypadku samic obserwuje się zależność odwrotną [52]. Ponadto stwierdzono, że w procesie starzenia dochodzi do obniżenia aktywności reduktazy glutationowej w mitochondriach wątroby samców przy jednoczesnym braku zmian w przypadku samic [53]. Z kolei w mózgu myszy obserwuje się wraz z wiekiem systematyczny wzrost aktywności tego enzymu, najbardziej znaczący u zwierząt najstarszych [37]. W procesie starzenia się ludzi wykazano obniżanie się aktywności GSSG-R w erytrocytach, co jest tłumaczone zmniejszeniem zdolności katalitycznych enzymu lub obniżeniem zawartości ryboflawiny [39].

Peroksydaza glutationowa

Mniejszy wpływ na zmiany stężenia zredukowanego glutationu w procesie starzenia się organizmu ma peroksydaza glutationowa (GSH-Px), która katalizuje reakcje utleniania GSH do disulfidu glutationu.

Aktywność peroksydazy glutationowej w organizmie zwierząt może ulegać obniżeniu, podwyższeniu, jak i nie wykazywać zmian wraz z wiekiem [50]. Stwierdzono, że w procesie starzenia obserwuje się obniżenie aktywności GSH-Px w nerce i surowicy krwi, brak istotnych zmian w mózgu i sercu oraz podwyższenie aktywności i poziomu mRNA peroksydazy glutationowej w wątrobie szczura [57,68]. Również we frakcji cytosolowej wątroby szczura aktywność GSH-Px ulega na ogół podwyższeniu obniżając się dopiero w grupie zwierząt najstarszych [52]. Odwrotnie zmienia się aktywność tego enzymu wraz z wiekiem w erytrocytach myszy, u których wzrost aktywności obserwuje się między 2 a 17 miesiącem życia, a u osobników starszych (20–21 miesięcy) aktywność GSH-Px ulega obniżeniu [37]. Ponadto zmiany aktywności peroksydazy glutationowej wraz z wiekiem zależą od płci zwierząt, czego dowodem jest to, iż w mitochondriach samców szczura obserwuje się wzrost, a w mitochondriach samic obniżenie aktywności tego enzymu [52].

W procesie starzenia się ludzi wykazano, że aktywność tego enzymu ulega podwyższeniu w fibroblastach skóry, obniża się w osoczu krwi, natomiast w płytkach krwi pozostaje bez zmian [2, 60]. Na zmiany aktywności GSH-Px w procesie starzenia ludzi mają również wpływ, takie czynniki jak pochodzenie geograficzne badanych osób, czy też czynniki indywidualne, takie jak uzależnienie od alkoholu,

tytoniu czy przebyte choroby [29]. W erytrocytach ludzi różnej narodowości wykazano, że u Polaków między 4 a 80 rokiem życia dochodzi do wzrostu aktywności peroksydazy glutationowej, a do obniżenia u Francuzów [35].

Przyczyną wzrostu aktywności peroksydazy glutationowej w procesie starzenia może być nadmierne wytwarzanie nadtlenu wodoru spowodowane wzmożoną aktywnością dysmutazy nadadtlenkowej w odpowiedzi na nasilony wraz z wiekiem stres oksydacyjny i zwiększoną generację anionorodnika nadadtlenkowego [29,37]. W narządach, w których nie dochodzi do wzrostu aktywności peroksydazy glutationowej w procesie starzenia, np. w mózgu myszy, generowany w nadmiarze nadtlenek wodoru, a szczególnie powstający z niego reaktywny rodnik hydroksylovowy może inicjować uszkodzenia składników komórki, głównie lipidów, które następnie ulegają akumulacji. Wskazuje to, że podwyższona w procesie starzenia aktywność GSH-Px może wpływać ochronnie w stosunku do fosfolipidów błonowych poprzez hamowanie procesu ich peroksydacji [29].

Aktywność GSH-Px w dużym stopniu zależy od zawartości selenu występującego w centrum aktywnym tego enzymu. Stwierdzono, że zawartość selenu w różnych tkankach szczura wzrasta wraz z wiekiem, natomiast w osoczu ludzi starszych zawartość tego pierwiastka może ulegać obniżeniu, podwyższeniu lub pozostawać bez zmian [11,13]. Jednak w większości przypadków w surowicy krwi mężczyzn obserwuje się wraz z wiekiem obniżenie stężenia selenu, natomiast u kobiet dochodzi do wzrostu [30]. Obniżenie zawartości selenu towarzyszy również chorobom wieku podeszłego, co stwierdzono w osoczu, erytrocytach i pełnej krwi [10].

Białka osocza krwi i kwas moczowy

Zdolności antyoksydacyjne organizmu zależą również od zawartości i działania innych białek endogennych wykazujących właściwości antyoksydacyjne. W osoczu krwi rolę tę pełni m.in. albumina, ferrytyna, transferyna, ceruloplazmina – białka, które wiążąc jony metali przejściowych zmniejszają nasilenie reakcji wolnorodnikowych.

Ze względu na efektywność wychwytywania reaktywnych form tlenu szczególną rolę w osoczu krwi pełni albumina, której zdolności antyoksydacyjne są prawdopodobnie związane z obecnością grup sulfhydrylowych [45]. Zdolność albuminy do wiązania jonów miedzi (II) zapobiega powstawaniu rodnika hydroksylovowego z nadtlenu wodoru [23]. Wykazano, że stężenie albuminy w osoczu osób starszych pozostaje niezmienione, mimo iż proces syntezy tego białka wraz z wiekiem ulega spowolnieniu. Stwierdzono natomiast, że obniżenie stężenia tego białka w osoczu krwi towarzyszy chorobom wieku podeszłego [45]. Istotną rolę antyoksydacyjną w organizmie pełni również białka wiążące jony żelaza, szczególnie ferrytyna, która zapobiega pozabiałkowej akumulacji jonów Fe oraz transferyna. Stwierdzono, że stężenie ferrytyny ulega podwyższeniu, a transferyny obniżeniu w osoczu krwi starzejących się organizmów [10,77]. Przyczyną podwyższenia stężenia ferrytyny może być zwiększenie szybkości syntezy tego białka na skutek zachodzenia procesów

adaptacyjnych. Podobnym zmianom jak ferrytyna ulega, wiążąca jony miedzi (II), ceruloplazmina, której zdolności antyoksydacyjne polegają na przemianie anionorodnika ponadtlenkowego, a także utlenianiu jonów żelaza (II) [10]. Stwierdzono, że stężenie ceruloplazminy w osoczu krwi wzrasta z wiekiem u osób zdrowych oraz dotkniętych chorobami wieku podeszłego [79]. Zdolność do wiązania jonów metali przejściowych, a także do wychwytywania rodnika hydroksylowego ma kwas moczowy. Stężenie tego kwasu może wzrastać lub obniżyć się w osoczu krwi starzejących się ludzi [23,41].

ANTYOKSYDANTY EGZOGENNE

Podczas starzenia się organizmu, oprócz zmian w stężeniu endogennych składników układu antyoksydacyjnego, dochodzi również do zmiany stężeń antyoksydantów egzogennych, dostarczanych do organizmu wraz z pożywieniem.

Witamina E

Najważniejszym antyoksydantem egzogennym mającym charakter hydrofobowy i w związku z tym działającym ochronnie w stosunku do błon biologicznych jest witamina E. Działanie antyoksydacyjne witaminy E, w skład której wchodzi α -, β -, γ -, δ -, ϵ -, ξ -, ν -tokoferole, polega głównie na zmiataniu wtórnych wolnych rodników organicznych, terminacji reakcji peroksydacji lipidów oraz wygaszaniu tlenu singletowego [15]. Witamina E jest ponadto ważnym źródłem elektronów potrzebnych do redukcji nadtlenoazotynu, generowanego w dużych stężeniach w procesie starzenia [36,71]. Spośród tokoferoli szczególnie duże znaczenie ma obecny w organizmie w największej ilości α -tokoferol, będący najbardziej aktywną postacią witaminy E [70]. Badania stężenia α -tokoferolu wykazały, że u zwierząt wraz z wiekiem może dochodzić zarówno do wzrostu jak i obniżenia stężenia tego antyoksydanta w różnych tkankach [28,40]. Wzrost zawartości witaminy E w okresie starości może być wynikiem podwyższonej absorpcji jelitowej [28]. Wprowadzona do organizmu witamina E akumuluje się w tkankach szczególnie narażonych na oksydacyjne uszkodzenia np. w ścianach naczyń krwionośnych. Stwierdzono, że stężenie α -tokoferolu w ścianie aorty szczura jest około 70-krotnie podwyższone u zwierząt 19 miesięcznych w porównaniu z 4–6 miesięcznymi [70]. Jednak w ścianie aorty szczurów 32–35 miesięcznych stężenie tej witaminy jest nieznacznie obniżone w porównaniu ze zwierzętami 19 miesięcznymi [70]. Powodem tego obniżenia może być duże zużycie witaminy E, m.in. w reakcji z anionorodnikiem ponadtlenkowym, którego zawartość w ścianie aorty bardzo starych zwierząt (32–35 miesięcznych) jest ponad 2-krotnie wyższa niż u szczurów 19 miesięcznych [70]. Do istotnego wzrostu α -tokoferolu u starych szczurów dochodzi także w wątrobie, która jest głównym miejscem magazynowania tokoferoli oraz w sercu [70]. Podwyższone stężenie tej witaminy obserwuje się również w surowicy krwi szczurów starych [70]. Wykazano również, że wzrost stężenia γ -tokoferolu w surowicy szczurów starych, jest około 5-krotnie wyższy niż α -tokoferolu. W związku z tym zakłada się, iż spośród badanych tokoferoli, γ -tokoferol, stanowiący 10% całej puli tokoferoli, ma najsilniejsze właściwości antyoksydacyjne [70].

W procesie starzenia się ludzi wykazano, że zarówno stężenie α -, jak i γ -tokoferolu, na ogół ulega obniżeniu [13,32]. Szczególne następstwa mogą wynikać z obniżenia stężenia witaminy E w błonach komórkowych, np. erytrocytów. Spowodowane tym zmniejszenie zdolności antyoksydacyjnych błon sprzyja nasileniu peroksydacji lipidów błonowych i w konsekwencji powoduje zmniejszenie płynności oraz wzrost przepuszczalności błon [76]. Powodem małego stężenia α -tokoferolu w okresie starości może być obniżenie przyswajalności tej witaminy z pożywienia [10]. Jednak u osób, które przekroczyły setny rok życia stężenie witaminy E w osoczu jest zdecydowanie wyższe niż w grupie osób do 60 roku życia [41]. Duże stężenie witaminy E u „stulatków“ może zapewniać nie tylko skuteczną ochronę antyoksydacyjną, ale jest to również czynnik gwarantujący prawidłowe funkcjonowanie innych mechanizmów homeostatycznych w organizmie [41]. Ponadto właściwe stężenie witaminy E w organizmie jest niezbędne do prawidłowego funkcjonowania systemu immunologicznego [43,44,48], a także zmniejsza ryzyko zachorowania na nowotwory [9] i choroby serca [34].

W wyniku reakcji witaminy E z rodnikami lipidowymi powstają rodniki tokoferylowe, które mogą być redukowane ponownie do witaminy E z udziałem witaminy C [61].

Witamina C

W reakcji redukcji rodników tokoferylowych przez witaminę C, a także w reakcjach tej witaminy z anionorodnikiem ponadtlenkowym, czy też rodnikiem hydroksylowym powstaje rodnik semihydroaskorbinianowy, który nie jest zbyt reaktywny i ulega reakcji dysproporcjonowania z powstaniem askorbinianu i dehydroaskorbinianu. Redukcja powstałego dehydroaskorbinianu odbywa się z udziałem reduktazy dehydroaskorbinianowej (E.C.1.8.5.1) i GSH, których aktywność i stężenie ulegają wraz z wiekiem obniżeniu [22]. Ze względu na egzogenne pochodzenie witaminy C stężenie jej może ulegać obniżeniu z powodu zaburzeń w absorpcji z przewodu pokarmowego oraz narastającego wraz z wiekiem zużycia [8]. W surowicy krwi szczurów stwierdzono zmniejszenie stężenia witaminy C między 3 a 12 miesiącem życia i brak dalszych zmian u szczurów starszych [17]. W wątrobie natomiast obserwuje się zależność odwrotną, do obniżenia stężenia askorbinianu dochodzi dopiero między 18 a 24 miesiącem życia szczurów [78]. Szczególnie istotne podwyższenie stężenia witaminy C obserwuje się w mikrosomach wątroby starych samic szczurów [18]. Brak zmian zawartości witaminy C pomiędzy 6 a 26 miesiącem życia szczurów wykazano w tkankach, takich jak: serce, nerka i mózg [51].

Badania stężenia witaminy C w osoczu krwi starzejących się ludzi wykazały, że poziom tego antyoksydanta może ulegać obniżeniu lub nie zmieniać się wraz z wiekiem [41,80]. Przyczyn rozbieżności upatruje się we wpływie czynników zewnętrznych, takich jak: dieta, styl życia lub przebyte choroby. Na stężenie witaminy C w organizmie wpływają również czynniki zależne od płci, takie jak: natężenie procesów metabolicznych oraz obecność hormonów płciowych [47]. Stwierdzono, że stężenie askorbinianu jest mniejsze w osoczu krwi mężczyzn, co można

wyjaśnić obniżonym kanalikowym wchłanianiem zwrotnym kwasu askorbowego [20].

β-karoten

Innym egzogennym antyoksydantem jest β-karoten, który ma szczególną zdolność usuwania tlenu singletowego i nadtlenków lipidów. Pozwala to chronić komórki zarówno przed zmianami związanymi ze starzeniem się organizmu, jak i chorobami wieku starszego, takimi jak np. nowotwory [9]. Oprócz β-karotenu także inne karotenoidy, m.in. luteina, zeaksantyna, likopen, β-kryptoksantyna, mogą skutecznie chronić przed skutkami nasilonego stresu oksydacyjnego [19]. Stwierdzono, że stężenie karotenoidów takich jak, luteina, zeaksantyna, likopen, β-kryptoksantyna, α-karoten, β-karoten obniża się w osoczu krwi ludzi w procesie starzenia, natomiast stężenie metabolitu β-karotenu – witaminy A zmienia się podob-

nie jak stężenie witaminy E, czyli znacząco wzrasta u osób, które przekroczyły setny rok życia [41].

Analizując powyższe dane można przypuszczać, że obniżenie całkowitej zdolności antyoksydacyjnej organizmu jest tylko jednym z powodów zwiększonej podatności starzejących się organizmów na działanie stresu oksydacyjnego. Obniżona odporność na wzmożoną w okresie starości generację wolnych rodników wydaje się także związana z modyfikacjami składników komórki oraz z towarzyszącym temu obniżeniem metabolizmu komórkowego. Uważa się, iż znaczne ilości energii w komórce są zużywane do syntezy, a także utrzymania właściwej struktury i funkcji antyoksydantów endogennych. W związku z tym obniżenie poziomu energetycznego komórki może być przyczyną tego, że komórki stare są mniej odporne na stres oksydacyjny niż młode.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Adachi T., Wang J., Wang X.L.: Age-related change of plasma extracellular – superoxide dismutase. *Clin. Chim. Acta*, 2000; 290: 169-178
- [2] Alejendro D.B., Martha S.B., Nestor O.B.: Superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in human blood: influence of sex, age, and cigarette smoking. *Clin. Biochem.*, 1997; 30: 449-454
- [3] Ames B.N., Shigenaga M.K., Hagen T.M.: Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993; 90: 7915-7922
- [4] Andersen H.R., Nielsen Y.B., Nielsen F., Grandjean P.: Antioxidative enzyme activities in human erythrocytes. *Clin. Chem.*, 1997; 43: 562-568
- [5] Bajra G.: Rate of generation of oxidative stress-related damage and animal longevity. *Free Radic. Biol. Med.*, 2002; 33: 1167-1172
- [6] Beckman K., Ames B.N.: The free radical theory of aging matures. *Physiol. Rev.*, 1998; 78: 547-581
- [7] Bertger W.J., Fish T.J., O'dell B.L.: Effects of dietary copper and zinc on erythrocyte stability and superoxide dismutase activity. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1979; 158: 279-282
- [8] Blanchard J., Conrad K. A., Garry P. J.: Effects of age and intake on vitamin C disposition in females. *Eur. Clin. Nutr.*, 1990; 44: 447-460
- [9] Blot W., Li J.-Y., Taylor P.R., Guo W., Dawsey S., Wang G.Q., Yang C.S., Zheng S.F., Gail M., Li G.Y.: Nutrition intervention trials in Linxian, China: supplementation with specific vitamin-mineral combinations, cancer incidence and disease-specific mortality in the general population. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1993; 85: 1483-1492
- [10] Bunker V.W.: Free radicals, antioxidant and ageing. *Med. Lab. Sci.*, 1992; 49: 299-312
- [11] Burch R.E., Sullivan J.F., Jetton M.M., Hahn H.K.: The effect of aging on trace element content of various rat tissues: I. Early stages of aging. *Age*, 1979; 2: 103-107
- [12] Camougrand N., Rigoulet M.: Aging and oxidative stress: studies of some genes involved both in aging and in response to oxidative stress. *Respir. Physiol.*, 2001; 128: 393-401
- [13] Campbell D., Bunker V.W., Thomas A.J., Clayton B.E.: Selenium and vitamin E status of healthy and institutionalized elderly subjects: analysis of plasma, erythrocytes and platelets. *Br. J. Nutr.*, 1989; 62: 221-227
- [14] Chance B., Oshino N.: Kinetics and mechanisms of catalase in peroxisomes of the mitochondrial fraction. *Biochem. J.*, 1971; 122: 225-233
- [15] Chow C.K., Ibrahim W., Wei Z., Chan A.C.: Vitamin E regulates mitochondrial hydrogen peroxide generation. *Free Radic. Biol. Med.*, 1999; 27: 580-587
- [16] Darley-Usmar V., Starke-Reed P.E.: Antioxidants: strategies for interventions in aging and age-related diseases. A workshop sponsored by the National Institute on Aging and by the Office of Dietary Supplements. *Antioxidant Redox Signal*, 2000; 2: 375-377
- [17] De A.K., Darad R.: Age-associated changes in antioxidants and antioxidative enzymes in rats. *Mech. Aging Dev.*, 1991; 59: 123-128
- [18] Devasagayam T.P.A.: Senescence-associated decrease of NADPH-induced lipid peroxidation in rat liver microsomes. *FEBS Lett.*, 1986; 205: 246-250
- [19] Gale C.R., Hall N.F., Phillips D.I.W., Martyn C.N.: Plasma antioxidant vitamins and carotenoids and age related cataract. *Ophthalmology*, 2001; 108: 1992-1998
- [20] Garry P.J., Vanderjagt D.J., Hunt W.C.: Ascorbic acid intakes and plasma levels in healthy elderly. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1987; 498: 90-99
- [21] Ghezzi-Schöneich E., Esch S.W., Sharov V.S., Schöneich C.: Biological aging does not lead to the accumulation of oxidized Cu, Zn-superoxide dismutase in the liver of F344 rats. *Free Radic. Biol. Med.*, 2001; 30: 858-864
- [22] Grimble R.F., Hughes R.E.: The glutathione: dehydroascorbate oxidoreductase activity of guinea pigs from two different age groups. *Life Sci.*, 1968; 7: 383-386
- [23] Halliwell B., Gutteridge J.M.: *Free Radical in Biology and Medicine*. III edition. Oxford University Press, Inc. New York, 1999
- [24] Handler J.A., Genell C.A., Goldstein R.S.: Hepatobiliary function in senescence male Sprague-Dawley rats. *Hepatology*, 1994; 19: 1496-1503
- [25] Harman D.: Aging: A theory based on free radical and radiation chemistry. *J. Gerontol.*, 1956; 11: 298-300
- [26] Hasselgren P.O., Pedersen P., Sax H.C., Warner B.W., Fischer J.E.: Methods for studying protein synthesis and degradation in liver and skeletal muscle. *J. Surg. Res.*, 1988; 45: 389-415
- [27] Hernanz A., Fernandez-Vivanocos E., Montiel C., Vazquez J.J., Arnalich F.: Changes in the intracellular homocysteine and glutathione content associated with aging. *Life Sci.*, 2000; 67: 1317-1324
- [28] Hollander D., Dadufalza V.: Lymphatic and portal absorption of vitamin E in aging rats. *Dig. Dis. Sci.*, 1989; 34: 768-772
- [29] Inal M.E., Kanbak G., Sunal E.: Antioxidant enzyme activities and malondialdehyde levels related to aging. *Clin. Chim. Acta*, 2001; 305: 75-80
- [30] Inal M.E., Sunal E., Kanbak G.: Age-related changes in the glutathione redox system. *Cell. Biochem. Funct.*, 2002; 20: 61-66
- [31] Ishikawa T.: The ATP-dependent glutathione S-conjugate export pump. *TIBS*, 1992; 17: 463-468
- [32] Jiang Q., Christen S., Shigenaga M.K., Ames B.N.: γ-Tocopherol, the major form of vitamin E in the US diet, deserves more attention. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2001; 74: 714-722
- [33] Jones D.P., Mody V.C., Carlson J.L., Lynn M.J., Sternberg P. Jr.: Redox analysis of human plasma allows separation of pro-oxidant events of aging from decline in antioxidant defences. *Free Radic. Biol. Med.*, 2002; 33: 1290-1300

- [34] Kushi L.H., Folsom A.R., Prineas R.J., Mink P.J., Wu Y., Bostik R.M.: Dietary antioxidant vitamins and death from coronary heart disease in postmenopausal women. *N. Engl. J. Med.*, 1996; 34: 1156-1162
- [35] Laila G., Yues A., Bernard H., Claude J., Gerard C., Gerard S.: Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in blood. *Clin. Chem.*, 1991; 37: 1932-1937
- [36] Lee J., Hunt J.A., Groves J.T.: Manganese porphyrins as redox-coupled peroxynitrite reductases. *J. Am. Chem. Soc.*, 1998; 120: 6053-6061
- [37] Leutner S., Eckert A., Müller W.E.: ROS generation, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in the aging brain. *J. Neural. Transm.*, 2001; 108: 955-967
- [38] Liu R.M., Choi J.: Age-associated decline in γ -glutamylcysteine synthetase gene expression in rats. *Free Radic. Biol. Med.*, 2000; 28: 566-574
- [39] Masaaki K., Masatoshi S., Nihal S.A.: Antioxidant system and erythrocyte life-span in mammals. *Comp. Biochem. Physiol.*, 1993; 106B: 477-487
- [40] Matsuo M., Gomi F., Dooley M.M.: Age-related alterations in antioxidant capacity and lipid peroxidation in brain, liver, and lung homogenates of normal and vitamin E-deficient rats. *Mech. Ageing Dev.*, 1992; 64: 273-292
- [41] Mecocci P., Polidori M.C., Troiano L., Cherubini A., Cecchetti R., Pini G., Straatman M., Monti D., Stahl W., Sies H., Franceschi C., Senin U.: Plasma antioxidants and longevity: a study on healthy centenarians. *Free Radic. Biol. Med.*, 2000; 28: 1243-1248
- [42] Melov S., Schneider J.A., Day B.J., Hinerfeld D., Coskun P., Mirra S.S., Crapo J.D., Wallace D.C.: A novel neurological phenotype in mice lacking mitochondrial manganese superoxide dismutase. *Nat. Genet.*, 1998; 18: 159-163
- [43] Meydani M.: Vitamin E. *Lancet.*, 1995; 345: 170-175
- [44] Meydani S.N., Meydani M., Blumberg J.B., Leka L.S., Siber G., Lozewski R., Thompson C., Pedrosa M.C., Diamond R.D., Stollar B.D.: Vitamin E supplementation and *in vivo* immune response in healthy elderly subjects: a randomised trial. *JAMA*, 1997; 277: 1380-1386
- [45] Misra D.P., Loudon J.M., Staddon G.E.: Albumin metabolism in elderly patients. *J. Gerontol.*, 1975; 30: 304-306
- [46] Nakata K., Kawase M., Ogino S., Kinoshita C., Murata H., Sakaue T., Ogata K., Ohmori S.: Effects of age on levels of cysteine, glutathione and related enzyme activities in livers of mice and rats and an attempt to replenish hepatic glutathione level of mouse with cysteine derivatives. *Mech. Ageing Dev.*, 1996; 90: 195-207
- [47] Oreopoulos D.G., Lindeman R.D., Vanderjagt D.G., Tzamaloukas A.H., Bhagavan H.N., Garry P.D.: Renal excretion of ascorbic acid: Effect of age and sex. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1993; 12: 537-542
- [48] Pallast E.G., Schouten E.G., de Waart F.G., Fonk H.C., Doekes G., von Blomberg B.M., Kok F.J.: Effect of 50- and 100-mg vitamin E supplements on cellular immune function in non institutionalised elderly persons. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1999; 69: 1273-1281
- [49] Reiss U., Gershon D.: Comparison of cytoplasmic superoxide dismutase in liver heart and brain of aging rats and mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1976; 73: 255-262
- [50] Rikans L.E., Hornbrook K.R.: Lipid peroxidation, antioxidant protection and aging. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1997; 1363: 116-127
- [51] Rikans L.E., Moore D.R.: Effect of aging on aqueous-phase antioxidants in tissues of male Fischer rats. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1988; 966: 269-275
- [52] Rikans L.E., Moore D.R., Snowden C.D.: Sex dependent differences in the effects of aging on antioxidant defence mechanisms of rat liver. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1991; 1074: 195-200
- [53] Rikans L.E., Snowden C.D., Moore D.R.: Effect of aging on enzymatic antioxidant defences in rat liver mitochondria. *Gerontology*, 1992; 38: 133-138
- [54] Ritchie J.P., Lang C.A.: A decrease in cysteine levels causes the glutathione deficiency of the aging mosquito. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1988; 187: 235-240
- [55] Salo D.C., Pacifini R.E., Davies K.N.J.: Superoxide dismutase is preferentially degraded by a proteolytic system from red blood cells following oxidative modification by hydrogen peroxide. *Free Radic. Biol. Med.*, 1988; 5: 335-339
- [56] Samiec P.S., Drews-Botsch C., Flagg E., Kurtz J.C., Sternberg P. Jr., Reed R.L., Jones D.P.: Glutathione in human plasma. Decline in association with aging, age related macular degeneration and diabetes. *Free Radic. Biol. Med.*, 1998; 24: 699-704
- [57] Sanz N., Diez-Fernandez C., Andres D., Cascales M.: Hepatotoxicity and aging: endogenous antioxidant systems in hepatocytes from 2-, 6-, 18-, 30-month-old rats following a necrogenic dose thioacetamide. *Biochim. Biophys. Acta.*, 2002; 1587: 12-20
- [58] Sastre J., Pallardo F.V., Vina J.: Glutathione, oxidative stress and aging. *Age*, 1996; 19: 129-139
- [59] Semsei I., Rao G., Richardson A.: Changes in the expression of superoxide dismutase and catalase as a function of age and dietary restriction. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1989; 164: 620-625
- [60] Shindo Y., Akiyama J., Yamazaki Y., Saito K., Takase Y.: Changes in enzyme activities in skin fibroblasts from persons of various ages. *Exp. Gerontol.*, 1991; 26: 29-35
- [61] Sies H., Stahl W., Sundquist A.R.: Antioxidant functions of vitamins E and C, beta-carotene and other carotenoids. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1992; 669: 7-20
- [62] Sohal R.S.: Role of oxidative stress and protein oxidation in the aging process. *Free Radic. Biol. Med.*, 2002; 33: 37-44
- [63] Sohal R.S., Svensson I., Brunk U.T.: Hydrogen peroxide production by liver mitochondria in different species. *Mech. Ageing Dev.*, 1990; 53: 209-215
- [64] Sohal R.S., Svensson I., Sohal B.H., Brunk U.T.: Superoxide anion radical production in different animal species. *Mech. Ageing Dev.*, 1989; 49: 129-135
- [65] Sohal R.S., Mockett R.J., Orr R.C.: Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis. *Free Radic. Biol. Med.*, 2002; 33: 575-586
- [66] Somville M., Houben A., Raes M., Houbion A., Henin V., Remacle J.: Alteration of enzymes in ageing human fibroblasts in culture. III. Modification of superoxide dismutase as an environmental and reversible process. *Mech. Ageing Dev.*, 1985; 29: 35-51
- [67] Storz G., Tartaglia L.A., Ames B.N.: Transcriptional regulator of oxidative stress inducible genes: direct activation by oxidation. *Science*, 1990; 248: 189-194
- [68] Tian L., Cai Q., Wei H.: Alterations of antioxidant enzymes and oxidative damage to macromolecules in different organs of rats during aging. *Free Radic. Biol. Med.*, 1998; 24: 1477-1484
- [69] Tolmasoff J.M., Ono T., Cutler R.G.: Superoxide dismutase: correlation with life span and specific metabolic rate in primate species. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1980; 77: 2777-2781
- [70] van der Loo B., Labugger R., Aebischer C.P., Skepper J.N., Bachschmid M., Spitzer V., Kilo J., Altwegg L.: Cardiovascular aging is associated with vitamin E increase. *Circulation*, 2002; 105: 1635-1638
- [71] van der Loo B., Labugger R., Skepper J.N.: Enhanced peroxynitrite formation is associated with vascular aging. *J. Exp. Med.*, 2000; 192: 1751-1743
- [72] Vina J., Sastre J., Anton V., Bruseghini L., Esteras A., Asensi M.: Effect of aging on glutathione metabolism. Protection by antioxidants. *W: Free Radical and Aging*, red.: Emerit I., Chance B. Birkhauser Verlag, Basel, 1992
- [73] Wasowics W., Kantorski J., Perek D.: Concentration of zinc and zinc-cooper superoxide dismutase activity in red blood cells in normal and children with cancer. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*, 1989; 27: 413-418
- [74] Wickens A.P.: Ageing and the free radical theory. *Respir. Physiol.*, 2001; 128: 379-391
- [75] Yan H., Harding J.J.: Glycation-induced inactivation and loss of antigenicity of catalase and superoxide dismutase. *Biochem J.*, 1997; 328: 599-605
- [76] Yanagawa K., Hiroshi T., Egashira T., Sakai K., Takasaki M., Matsu-miya T.: Age related changes in α -tocopherol dynamics with relation to lipid hydroperoxide content and fluidity of rat erythrocyte membrane. *J. Gerontol. Biol. Sci.*, 1999; 9: B379-B383
- [77] Yip R., Johnson C., Dallman R.: Age related changes in laboratory values used in the diagnosis of anaemia and iron deficiency. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1984; 39: 427-436
- [78] Yu B.P., Laganieri S., Kim J.W.: Influence of life-prolonging food restriction on membrane lipoperoxidation and antioxidant status. *W: Oxygen Radicals in Biology and Medicine*, red.: Simic M.G., Taylor K.A., Ward J.F., Von Sonntag C., Plenum Press, New York, 1989
- [79] Yunice A.A., Lindeman R.D., Czerwiński A.H., Clark M.: Influence of age and sex on serum copper and ceruloplasmin. *J. Gerontol.*, 1974; 29: 277-281
- [80] Zarling E.J., Mobarhan S., Bowen P., Kamath S.: Pulmonary pentane excretion increases with age in healthy subjects. *Mech. Ageing Dev.*, 1993; 67: 141-147