

Received: 2010.10.20
Accepted: 2011.01.28
Published: 2011.02.19

Wpływ reaktywnych form tlenu na ośrodkowy układ nerwowy

The influence of reactive oxygen species on the central nervous system

Marzena Gutowicz

Katedra i Zakład Biochemii, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Streszczenie

Stres oksydacyjny w komórkach organizmu to przewaga potencjału oksydacyjnego nad statusem antyoksydacyjnym. Przyczyną stresu oksydacyjnego są reaktywne formy tlenu (RFT) powstające podczas niepełnej redukcji cząsteczki tlenu w łańcuchu oddechowym oraz wiele reakcji biochemicznych zachodzących w komórce. Skutkiem działania RFT są uszkodzenia błon komórkowych, zmiany strukturalne i funkcjonalne białek enzymatycznych i nieenzymatycznych, zaburzenia w budowie DNA. Przyczyną stresu oksydacyjnego może być nie tylko nadmierne wytwarzanie wolnych rodników, ale również spadek aktywności enzymów antyoksydacyjnych i/lub obniżenie poziomu czynników redukujących.

Mózg jest narządem szczególnie wrażliwym na działanie reaktywnych form tlenu ze względu na dużą zawartość nienasyconych kwasów tłuszczowych, intensywny metabolizm tlenowy i stosunkowo małą aktywność enzymów antyoksydacyjnych. Liczne dane wskazują na udział stresu oksydacyjnego w patogenezie wielu chorób neurodegeneracyjnych.

Słowa kluczowe:

ośrodkowy układ nerwowy • reaktywne formy tlenu • stres oksydacyjny

Summary

Oxidative stress can be defined as a rise of oxidative potential or decrease of antioxidant status. Oxidative stress is caused by reactive oxygen species (ROS) which are produced by one-electron reduction of oxygen in the electron transport chain, as well as many other reactions. Effects of ROS can result in cellular membrane damage, structural and functional changes in enzymatic and non-enzymatic proteins, and damage to the DNA structure. Excessive generation of free radicals, decrease of enzymatic antioxidant activity, and/or reducing agents are considered as the main causes of oxidative stress.

Since the brain contains a large amount of polyunsaturated fatty acids, consumes up to 20% of oxygen used by the whole body, and shows low antioxidant activity, it seems to be especially vulnerable to oxidative stress.

Numerous data show the significant role of oxidative stress in pathogenesis of many neurodegenerative diseases.

Key words:

central nervous system • reactive oxygen species • oxidative stress



Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=933486>

Word count: 3919

Tables: –

Figures: 2

References: 111

Adres autorki: dr n. med. Marzena Gutowicz, Katedra i Zakład Biochemii, Warszawski Uniwersytet Medyczny, ul. S. Banacha 1, 02-097 Warszawa; e-mail: mgutowicz@wum.edu.pl

Wykaz skrótów: **DA** – dopamina; **DHA** – kwas dokozaheksaenowy; **DOPA** – 3,4-dihydroksyfenyloalanina; **DOPAC** – kwas dihydroksyfenylooctowy; **GABA** – kwas gamma-aminomasłowy; **GSH** – zredukowany glutation; **HO₂[•]** – rodnik wodoronadtlenkowy; **L[•]** – lipidowy rodnik alkilowy; **LOO[•]** – lipidowy rodnik nadtlenkowy; **MAO** – oksydaza monoaminowa; **MDA** – dialdehyd malonowy; **NF-κB** – jądrowy czynnik transkrypcyjny κB (nuclear factor κB); **NO** – tlenek azotu; **NOS** – syntaza tlenu azotu; **O₂^{-•}** – anionrodnik ponadtlenkowy; **•OH** – rodnik hydroksylowy; **ONOO⁻** – nadtlenoazotyn; **OUN** – ośrodkowy układ nerwowy; **RFT** – reaktywne formy tlenu; **SOD** – dysmutaza ponadtlenkowa; **WNKT** – wielonienasycone kwasy tłuszczowe; **WRT** – wolne rodniki tlenowe.

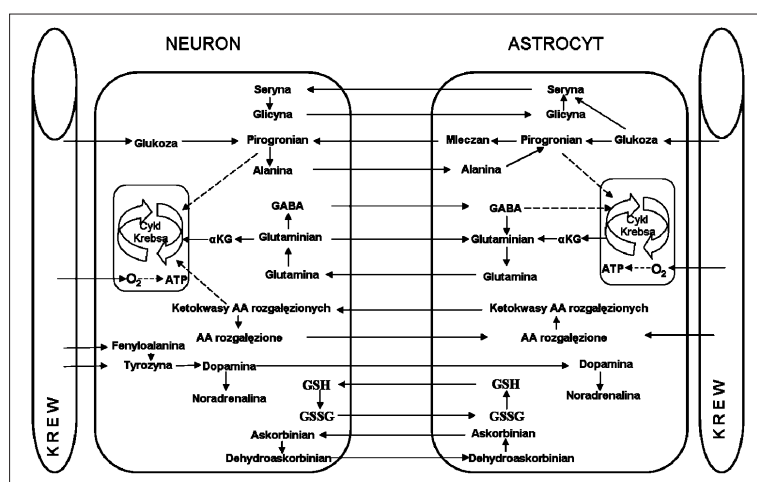
W skład OUN wchodzi mózgowie i rdzeń kręgowy, zbudowane z kilku typów komórek, z których najważniejszymi są neurony i glie. Zadaniem neuronów jest odbieranie, analizowanie, przetwarzanie i wysyłanie sygnałów do narządów efektorowych. Komunikacja międzyneuralna odbywa się poprzez synapsy z udziałem różnych neuroprzekazników (acetylocholina, noradrenalina, glutaminian, serotonina, dopamina, GABA, NO i in.).

Komórki gleju można podzielić na makroglej (astrocyty i oligodendrocyty) i mikroglej. Komórki te nie przekazują impulsów nerwowych, ale pełnią funkcje pomocnicze. Głównym zadaniem oligodendrocytów jest tworzenie osłonek mielinowych aksonów i współdziałanie w procesach metabolicznych neuronów. Komórki mikrogleju uczestniczą w obronie immunologicznej, większość z nich to makrofagi osiadłe usuwające ze środowiska różne patogeny i obumarłe neurony [92,96]. System antyoksydacyjny i detoksykacyjny neuronów jest mało wydajny, dlatego większość funkcji obronnych przejęły astrocyty, które kontrolują gospodarkę energetyczną neuronów, procesy oksydacyjno-antyoksydacyjne oraz równowagę jonową. Magazynują i wydzielają takie antyoksydanty jak glutation czy kwas askorbinowy,

służą za magazyn substancji toksycznych i produktów przemiany materii. Astrocyty wychwytyują z krwi glukozę, wbudowują ją w glikogen oraz przekształcają w mleczan i dostarczają go neuronom, a także syntetyzują ciała ketonowe na potrzeby neuronów. Ponadto wydzielają czynniki wzrostowe, uczestniczą w tworzeniu synaps i transmisji synaptycznej, a także regulują neurogenezę w hipokampie i strefie podkomorowej [47,98].

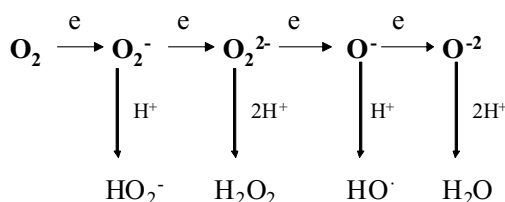
WOLNE RODNIKI TLENOWE I ICH POCHODNE W MÓZGU CZŁOWIEKA

Mózg człowieka to prawie 2% masy ciała, a zużywa 20% całkowitej ilości tlenu pobieranego przez organizm. Jak wiadomo tlen jest niezbędny do życia, gdyż dzięki niemu możliwe jest uzyskanie energii w procesie utleniania, ale może też działać toksycznie, ponieważ w wielu układach biologicznych zostaje przekształcony w reaktywne formy (RFT). Do reaktywnych form tlenu należą zarówno wolne rodniki tlenowe (WRT) jak i związki, które mają zdolność ich generowania. Prawie 90% RFT powstaje w łańcuchu oddechowym, ale ich źródłem są również reakcje katalizowane przez oksydazy, cytochrom P-450, procesy hydroksylacji niektórych ksenobiotyków, promieniowanie



Ryc. 1. Wzajemna wymiana składników między astrocytem i neuronem

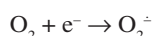
jonizujące, jony metali przejściowych, zanieczyszczenia środowiskowe i wiele innych czynników [11,28]. Wolne rodniki są to atomy lub cząsteczki zawierające jeden lub więcej niesparowanych elektronów na orbitalu walencyjnym. Charakterystyczną cechą WRT jest ich duża reaktywność i krótki okres półtrwania wynikający z dążenia do sparowania elektronów przez odebranie lub oddanie ich innym cząsteczkom. W wyniku działania reaktywnych form tlenu dochodzi do wielorakich uszkodzeń wewnątrzkomórkowych, takich jak peroksydacja lipidów błon komórkowych, inaktywacja enzymów, uszkodzenie DNA, zmiany strukturalne w cząsteczkach białek i węglowodanów. Oksydacyjnie zmodyfikowane związki i cząsteczki zaburzają homeostazę komórek nerwowych, co może prowadzić do ich śmierci w wyniku apoptozy lub nekrozy [8,100]. Liczne badania wskazują, że reaktywne formy tlenu mogą się przyczyniać do rozwoju wielu chorób neurodegeneracyjnych. Większość RFT powstaje podczas jedno-, dwu- lub trójelektronowej redukcji cząsteczki tlenu w łańcuchu oddechowym.



Ryc. 2. Wolne rodniki tlenowe

Anionorodnik ponadtlenkowy $\text{O}_2^{\cdot -}$

W wyniku jednoelektronowej redukcji tlenu powstaje anionorodnik ponadtlenkowy:



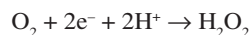
Głównym „producentem” $\text{O}_2^{\cdot -}$ w mózgu są mitochondria (zwłaszcza I kompleks łańcucha oddechowego oraz koenzym Q_{10}). Anionorodnik ponadtlenkowy powstaje również podczas „wybuchu tlenowego” w oligodendrocytach w wyniku działania oksydazy NAD(P)H oraz w innych reakcjach oksydoredukcyjnych. Bogatym źródłem $\text{O}_2^{\cdot -}$ są mikrosomy, gdzie działa łańcuch transportu elektronów i system monoooksygenaz zależnych od cytochromu P-450. W peroksydach głównym źródłem $\text{O}_2^{\cdot -}$ jest oksydaza ksantynowa utleniająca hipoksyantynę i ksantynę do kwasu moczowego oraz łańcuch transportu elektronów związany z reduktazą NADH i cytochromem b5. Autooksydacja adrenaliny, noradrenaliny i związków tiolowych również prowadzi do powstania anionorodnika ponadtlenkowego. Anionorodnik ponadtlenkowy nie należy do najbardziej reaktywnych WRT, ale ma zdolność utleniania jonów metali przejściowych, przez co może inaktywować enzymy, których te metale są kofaktorami. Ma także zdolność utleniania cysteiny, co zmienia konformację białek i może pozabawiać enzymy aktywności biologicznej [20,41,48,110].

Znacznie silniejszym utleniaczem jest sprotonowana postać anionorodnika ponadtlenkowego czyli rodnik

wodoronadtlenkowy (HO_2^\cdot), który łatwiej dyfunduje przez błony i szybciej wchodzi w reakcję ze związkami o ładunku ujemnym. Jest on także głównym inicjatorem peroksydacji lipidów [94].

Nadtlenek wodoru H_2O_2

Podczas dwuelektronowej redukcji cząsteczki tlenu powstaje nadtlenek wodoru:



Powstaje on również w wyniku dysmutacji dwóch anionorodników ponadtlenkowych. Proces ten może przebiegać spontanicznie, ale w komórce ponad 90% tego typu reakcji zachodzi z udziałem dysmutazy ponadtlenkowej (SOD):



Nadtlenek wodoru powstaje także w wyniku działania oksydazy D-aminokwasowej, glikolanowej, aldehydowej i wielu innych oksydoreduktaz, które współpracują z FADH_2 jako koenzymem. W mózgu istotnymi „producentami” H_2O_2 są oksydazy monoaminowe (MAO) utleniające dopaminę do kwasu dihydroksyfenylooctowego (DOPAC) oraz reakcje samoutleniania dopaminy do melanin [50,68]:



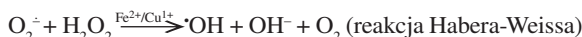
Duże ilości nadtlenku wodoru powstają w fagocytujących komórkach mikrogleju podczas „wybuchu tlenowego”. Reaktywność H_2O_2 jest najniższa ze wszystkich RFT. Jednak długi okres półtrwania oraz brak ładunku elektrycznego powoduje, że H_2O_2 może swobodnie dyfundować przez błony komórkowe działając daleko od miejsca powstania. Bezpośrednio nie utlenia lipidów błonowych ani DNA, ale może utleniać grupy tiolowe, fenolowe, tioestrowe, czy indolowe różnych związków. W komórce nadtlenek wodoru rozkładany jest do wody przez katalazę i peroksydazę glutationową [11,30].

Rodnik hydroksylowy $\cdot\text{OH}$

H_2O_2 w obecności jonów metali grup przejściowych wytwarza rodnik hydroksylowy:



Rodnik hydroksylowy może też powstać w reakcji nadtlenku wodoru z anionorodnikiem ponadtlenkowym z udziałem jonów metali [62]:



W mózgu głównym źródłem żelaza do reakcji Fentona i Habera-Weissa są ferrytyna, neuromelanina oraz mikroglej. Rodnik hydroksylowy należy do najbardziej agresywnych WRT. Może on być donorem i akceptorem elektronu, więc może być zarówno reduktorem i utleniaczem. Dzięki bardzo dużej reaktywności i małej swoistości substratowej $\cdot\text{OH}$ może atakować wszystkie cząsteczki z jakimi zetknie się w komórce. Rodnik hydroksylowy uszkadza białka przez utlenienie reszt aminokwasów oraz grup sulfhydrylowych. Modyfikuje również zasady azotowe w DNA, co



może powodować pęknięcia podwójnej helisy. Narażone na jego działanie są zwłaszcza nienasycone kwasy tłuszczowe, co jest wyjątkowo niebezpieczne dla tkanki mózgowej, która aż w 60% zbudowana jest z lipidów. Duże ilości $\cdot\text{OH}$ powstają w fagocytujących oligodendrocytach w reakcji katalizowanej przez mieloperoksydazę [49,15].

Rodnik hydroksylowy w mózgu hamuje aktywność oksydaz monoaminowych (MAO-A, MAO-B), enzymów odpowiedzialnych za katabolizm takich neuroprzekaźników jak dopamina, noradrenalina czy serotonina. Przyczynia się też do utraty neuronów w niedokrwieniu mózgu, w chorobach Parkinsona i Alzheimerza. W reakcji $\cdot\text{OH}$ z dopaminą powstaje 6-hydroksydopamina uznawana za główny czynnik odpowiedzialny za patogenezę choroby Parkinsona [6,81].

Tlenek azotu NO

Do wolnych rodników zaliczamy też tlenek azotu wytwarzany głównie przez syntazę tlenu azotu z argininy i O_2 . W neuronach występuje izoenzym konstytutywny syntazy NO (nNOS), natomiast w makrofagach i gleju indukowany (iNOS). Aktywność nNOS zależna jest od jonów wapnia i kalmoduliny. NO w mózgu pełni funkcję neuroprzekaźnika i neuromodulatora, jednak ze względu na swój wolnorodnikowy charakter może również działać toksycznie. Zaobserwowano wzrost stężenia tlenu azotu w mózgu osób ze stwardnieniem rozsianym [102].

Tlenek azotu łatwo wchodzi w reakcję z żelazem kompleksów żelazowo-siarkowych i hemu, inaktywując takie białka jak cytochromy, hemoglobina czy katalaza. Może też uwalniać żelazo z ferrytyny, co jest szczególnie niebezpieczne w niektórych strukturach mózgu [63,82]. Nadmierne wytwarzanie NO może prowadzić do degeneracji neuronów, ponieważ jest on inhibitorem oksydazy cytochromowej – ostatniego enzymu łańcucha oddechowego. NO i inne WRT utleniają aktywne reszty cysteiny w neurograninie – neuronalnej kinazie białkowej C, a liczba powstałych mostków disiarczkowych zależy od nasilenia stresu oksydacyjnego. Wiążąc się z grupą hemową cykazy guanylowej NO aktywuje ją i za pomocą powstałego cGMP wywołuje różnorodne skutki biologiczne. Łatwo wiąże się z glutationem lub z innymi związkami tiolowymi tworząc tzw. nitrozotiole, które odgrywają ważną rolę w transporcie, magazynowaniu i metabolizmie NO [80,95]. W wyniku reakcji tlenu azotu z anionorodnikiem ponadtlenkowym powstaje wysokoreaktywny nadtlenoazotyn (ONOO^-), który nitrozuje białka, zasady azotowe w DNA, hamuje glikolizę (a więc też syntezę ATP), uszkadza fosfolipidy błon synaptycznych. ONOO^- zaburza fosforylację białek i jest aktywatorem kinazy tyrozynowej onkogenu *src*. obniża też stężenie GSH oraz hamuje aktywność syntetazy glutaminowej. W neuronach nadtlenoazotyn aktywuje apoptozę, natomiast w astrocytach ją hamuje [36,57,58].

STRES OKSYDACYJNY W OUN

W sprawnie funkcjonujących komórkach OUN panuje równowaga między powstawaniem wolnych rodników a ich usuwaniem. Przesunięcie równowagi w kierunku tworzenia RFT generuje stres oksydacyjny. Inaczej mówiąc, stres oksydacyjny jest to wzrost potencjału utleniającego do poziomu zagrażającego stabilności struktur komórkowych [89].

Zużywając 20% tlenu mózg jest szczególnie narażony na atak wolnych rodników. Około 5% tlenu, który jest wykorzystywany w łańcuchu oddechowym w mitochondriach oraz w peroksysomach i mikrosomach zamieniane jest w jego reaktywne formy [48,52]. Ze względu na swój kształt, neurony wykazują bardzo niekorzystny stosunek powierzchni do objętości, dlatego najbardziej narażone na działanie wolnych rodników są błony komórkowe, w których może wystąpić wiele szkodliwych procesów, takich jak: zmiana płynności błon spowodowana peroksydacją lipidów, modyfikacja aktywności enzymów błonowych, utlenianie grup tiolowych białek błonowych, rozpręgnięcie transportu błonowego, zmiana charakteru antygenowego błon oraz deregulacja potencjału błonowego. Przyczyną stresu oksydacyjnego w mózgu może być nadmierne wytwarzanie wolnych rodników, obniżenie aktywności enzymów antyoksydacyjnych i/lub obniżenie stężenia czynników redukujących [56,69].

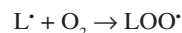
WPŁYW REAKTYWNYCH FORM TLENU NA SKŁADNIKI KOMÓREK OUN

Lipidy

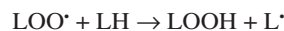
Najpowszechniej występującym procesem wolnorodnikowym w komórce jest łańcuchowa peroksydacja lipidów, polegająca na utlenianiu reszt wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (WNKT), które wchodzi w skład fosfolipidów błonowych i lipoprotein. Proces ten może zachodzić nieenzymatycznie w wyniku reakcji wolnorodnikowych, bądź z udziałem enzymów, takich jak cyklooksygenazy i lipooksygenazy. Proces nieenzymatycznej autooksydacji można podzielić na trzy etapy: inicjację, prolongację i terminację. Inicjację peroksydacji lipidów mogą zapoczątkować takie RFT jak: ozon, NO, ONOO^- , rodnik hydroksylowy i wodoronadtlenkowy, a także pośrednio jony metali przejściowych [3,37,71]. W wyniku usunięcia wodoru z grupy metylenowej nienasyconego kwasu tłuszczowego przez rodnik tlenowy powstaje rodnik alkilowy z niesparowanym elektronem przy atomie węgla:



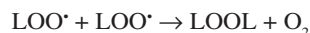
Rodnik alkilowy może reagować z tlenem i powstaje rodnik nadtlenkowy:



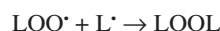
W fazie prolongacji rodnik nadtlenkowy reaguje z innym nienasyconym kwasem tłuszczowym generując wodoronadtlenek lipidowy i kolejny rodnik alkilowy:



LOO^{\cdot} i L^{\cdot} mogą utleniać kolejne cząsteczki kwasów tłuszczowych, jest to reakcja łańcuchowa, w wyniku której może dojść do autooksydacji kilkuset cząsteczek WNKT. Terminacja peroksydacji może zająć w reakcji dysproporcjonowania dwóch rodników alkilowych lub nadtlenkowych [77,85]:



lub w reakcji między dwoma różnymi rodnikami:



Produkty peroksydacji ulegają dalszym przemianom do fragmentów o różnej długości. Najbardziej znanym wyznacznikiem autooksydacji lipidów jest dialdehyd malonowy (MDA), ale oprócz niego powstaje wiele innych związków o charakterze aldehydów, ketonów, epoksydów czy węglowodorów np. w wyniku peroksydacji kwasu arachidonowego powstaje ponad 60 różnych związków. W trakcie metabolizmu kwasu arachidonowego powstaje również anionorodnik ponadtlenkowy (w wyniku działania lipooksygenazy) i rodnik hydroksylowy (w wyniku działania cyklooksygenazy). Końcowe produkty β -degradacji WNKT reagują z innymi lipidami, z grupami tiolowymi i aminowymi białek, z zasadami azotowymi kwasów nukleinowych i aminocukrami wywołując różnorakie skutki, takie jak: zmiana właściwości antygenowych białek, inaktywacja enzymów, zahamowanie replikacji i transkrypcji, mutageneza i kancerogeneza [11,109]. Najgroźniejszy z metabolitów – 4-hydrokso-2-nonenal hamuje glikolizę, syntezę białek i kwasów nukleinowych. Upośledza transport glukozy i glutationu, uszkadza neurony cholinergiczne i przyspiesza apoptozę komórek nerwowych [18]. Mózg człowieka w ponad 60% składa się z lipidów, a większość z nich to fosfolipidy błonowe z resztami nienasyconych kwasów tłuszczowych. Peroksydacji szczególnie łatwo ulegają kwas arachidonowy (20:4n-6) i dokozaheksaenowy (22:6n-3; DHA), które stanowią główną pulę WNKT w mózgu. Podczas peroksydacji DHA powstają związki zwane neuroprostanami, gdyż znaleziono je głównie w neuronach. Poza tym duże stężenie żelaza w niektórych strukturach mózgu dodatkowo przyspiesza utlenianie lipidów. Aldehydowe produkty peroksydacji lipidów mogą kowalencyjnie wiązać się w reakcji Michaela z grupami tiolowymi białek lub z glutationem, obniżając ich stężenie w komórce. Mogą też tworzyć zasady Schiffa z wolnymi grupami aminowymi aminokwasów lub wiązać się z zasadami azotowymi DNA inicjując procesy mutagenezy i kancerogenezy. Stężenie produktów peroksydacji lipidów u chorych na Parkinsona jest 8-krotnie wyższe niż u osób zdrowych [5,17,38].

Białka

Duża aktywność metaboliczna i tlenowa mózgu jest szczególnie niebezpieczna dla białek. Reaktywne formy tlenu uszkadzają strategiczne aminokwasy, takie jak cysteina, seryna, tyrozyna czy treonina zmieniając aktywność enzymów i właściwości białek nieenzymatycznych [99]. Pod ich wpływem może dojść do utlenienia zarówno łańcucha polipeptydowego, jak i reszt aminokwasowych. Może to prowadzić do fragmentacji polipeptydu, tworzenia wiązań krzyżowych, zmian struktury aminokwasów, co powoduje najczęściej utratę biologicznych funkcji białka, ale może też spełniać funkcje regulatorowe [11,84].

Większość WRT ma zdolność inicjacji oksydacji białek, ale najgroźniejszy jest rodnik hydroksylowy. $\cdot\text{OH}$ zwykle odrywa proton przy węglu α wytwarzając rodnik alkilowy, który reagując z tlenem tworzy rodnik alkoksylowy. Oba te rodniki mogą utleniać kolejne aminokwasy, co prowadzi do pęknięć w łańcuchu polipeptydowym. Oderwanie protonu przy węglu γ glutaminianu lub asparaginianu może również spowodować fragmentację białka [29,99]. Najbardziej wrażliwe na działanie WRT są aminokwasy siarkowe i aromatyczne. Cysteina utlenia się do różnych

pochodnych (w zależności od czynnika utleniającego i dostępu tlenu) lub do cystyny, a metionina do sulfotlenków. Tyrozyna może zostać utleniona do 3,4-dihydroksyfenyloalaniny (DOPA) lub może tworzyć wiązania krzyżowe z drugą tyrozyną. W wyniku utlenienia tryptofanu powstaje formylokinureina i kinureina, a histydyny 2-oksohistydyna. Aminokwasy z wolną grupą hydroksylową, aminową lub amidową często utleniane są do pochodnych karbonylowych będących głównym wyznacznikiem oksydacyjnych uszkodzeń białek. Pochodne te mogą reagować z lizyną tworząc wiązania krzyżowe [16,25,60,83].

Również tlenek azotu może zmieniać funkcje wielu białek i enzymów. Reagując z grupą hemową cytochromu P-450 hamuje jego aktywność. Indukuje też białko p53 (supresor onkogenezy), wywołując apoptozę komórek nerwowych. NO tworząc nitrozo-żelazowo-siarkowy kompleks z akonitazą blokuje cykl Krebsa, a także w zależności od stężenia, może hamować poszczególne enzymy łańcucha oddechowego i dehydrogenazę pirogronianową. Zahamowanie aktywności enzymów związanych z metabolizmem energetycznym jest zabójcze dla neuronów, ze względu na ich duże zapotrzebowanie na ATP [10,32,64].

Wysoce reaktywnym czynnikiem utleniającym jest również nadtlenoazotyn, który oprócz zdolności oksydacyjnych wykazuje aktywność nitrowania (przyłączanie NO_2) i nitrozowania (przyłączanie NO) reszt aminokwasów. W wyniku reakcji ONOO⁻ z pierścieniem arylowym tyrozyny powstaje 3-nitrotyrozyna lub 2,5-dinitrotyrozyna, co powoduje inaktywację takich enzymów jak: SOD-1, syntetaza glutaminowa, syntaza prostacyklin i in. [35,36].

Wynikiem działania RFT jest zmiana aktywności białek regulatorowych, co jest szczególnie niebezpieczne dla metabolizmu komórek nerwowych. Reaktywne formy tlenu zaburzają funkcjonowanie kaskad przekazywania sygnałów wewnątrzkomórkowych oraz modyfikują czynniki transkrypcyjne genów odpowiedzi na stres oksydacyjny poprzez zmianę ich konformacji i/lub utlenienie strategicznych aminokwasów, takich jak cysteina, tyrozyna, czy seryna. Do białek szczególnie wrażliwych na szok tlenowy należą tioredoksyna, transferaza S-glutationowa oraz tzw. kinazy stresu – enzymy uaktywniane przez białka bogate w cysteinę, których konformacja została zmieniona przez wolne rodniki [2,24].

Oksydacyjnie uszkodzone białka zazwyczaj tracą aktywność biologiczną, mają też tendencję do tworzenia agregatów, ponieważ przestają być rozpoznawane przez proteasomy oraz nie ulegają ubikwitynacji. Stężenie grup karbonylowych – głównego markera oksydacji białek – w istocie czarnej jest dwukrotnie wyższe u chorych na Parkinsona niż u osób zdrowych [91,69].

Kwasy nukleinowe

DNA ze względu na swe funkcje, czyli przechowywanie, powielanie i przekazywanie informacji genetycznej, jest bardziej odporny na działanie RFT niż inne składniki komórki. Najgroźniejszym dla DNA jest rodnik hydroksylowy, który uszkadza zarówno zasady azotowe, reszty cukrowe, jak i wiązania fosfodiesterowe, powodując modyfikację nukleotydów oraz pęknięcia nici DNA. Najczęstszym



uszkodzeniom ulegają reszty tymidyny prowadząc do powstania dimerów oraz różnych nadtlenków. W wyniku reakcji $\cdot\text{OH}$ z guaniną powstaje 8-hydroksyguanina, a to prowadzi do mutacji typu transwersji G-C \rightarrow T-A. Utlenienie podwójnych wiązań w pierścieniu cytozyny prowadzi do powstania 5-hydroksycytozyny. Równie groźnym jak $\cdot\text{OH}$ jest nadtlenoazotyn, który oprócz utleniania nukleotydów ma też zdolność ich nitrowania. W reakcji z guaniną tworzy 8-nitroguaninę, powodując transwersję G-C \rightarrow T-A. RFT zwiększają stężenie jonów wapnia w komórce, co prowadzi do aktywacji kinaz białkowych zależnych od Ca^{2+} odpowiedzialnych za fosforylację czynników transkrypcyjnych [72,78].

Modyfikacje zasad, delecje, addukty pirymidynowe, wywołane WRT prowadzą do zaburzeń w asocjacji czynników transkrypcyjnych, zmiany ramki odczytu, zwiększonej ekspresji protoonkogenów, pęknięć chromosomów i wielu innych anomalii często dla komórki letalnych [27].

Mitochondria ze względu na obecność łańcucha oddechowego generują najwięcej wolnych rodników. Mitochondrialny materiał genetyczny jest szczególnie narażony na mutacje wywołane RFT, ponieważ nie jest chroniony przez białka histonowe i błonę jądrową oraz nie ma sekwencji intronowych [12]. Jak wrażliwy jest DNA mitochondrialny świadczy to, że nawet w „zdrowych” mitochondriach stwierdzono szesnastokrotnie większe stężenie 8-hydroksyguaniny niż w DNA jądrowym [13]. Sześćdziesiąt dwa procent mitochondriów znajduje się w dendrytach a 23% w synapsach, czyli większość energii wytwarzanej przez neurony zużywana jest na odbiór i przekazywanie sygnałów nerwowych, dlatego tak niebezpieczne dla układu nerwowego są jakiegokolwiek modyfikacje w mitochondrialnym materiale genetycznym. W większości chorób neurodegeneracyjnych stwierdzono dysfunkcję mitochondriów spowodowaną stresem oksydacyjnym [9,43].

STRES OKSYDACYJNY A CHOROBY NEURODEGENERACYJNE

Przyczyny wielu chorób neurodegeneracyjnych nie zostały do końca wyjaśnione. Wiele różnych czynników może mieć wpływ na etiologię tych schorzeń: czynniki genetyczne, toksyny (endogenne i środowiskowe), zakażenia bakteryjne i wirusowe. Podejrzewa się też udział RFT w patogenezie chorób Parkinsona, Alzheimer, w stwardnieniu rozsianym czy stwardnieniu zanikowym bocznym. Wiele badań wskazuje na wzrost poziomu RFT w udarach i uszkodzeniach mózgu, a nawet w chorobach psychicznych [50,44].

Neurony są szczególnie wrażliwe na zaburzenia oksydacyjne, ze względu na nasilony metabolizm tlenowy, dużą zawartość nienasyconych kwasów tłuszczowych oraz relatywnie niski poziom antyoksydantów (zarówno enzymatycznych jak i nieenzymatycznych). Nawet krótkotrwałe niedotlenienie powoduje wzrost stężenia RFT i uszkodzenia lipidów, białek i DNA [56,109].

Choroba Alzheimer (AD) – charakterystycznym objawem tej choroby są złogi beta-amyloidu w przestrzeni międzykomórkowej oraz odkładanie cytoskieletarnych białek tau wewnątrz neuronów. Poza tym następuje utrata neuronów cholinergicznym w przodomózgowiu, zmiany w synapsach kory mózgowej i hipokampa [59].

W mózgu osób zmarłych i płynie mózgowo-rdzeniowym chorych zaobserwowano podwyższone stężenie 4-hydroksynonenalu i dialdehydu malonowego – produktów peroksydacji lipidów, wzrost stężenia neuroprostanów, produktów peroksydacji kwasu dekozaheksaenowego oraz grup karbonylowych – produktów utleniania białek. Stwierdzono także wzrost stężenia 8-hydroksyguaniny – markera oksydacyjnych uszkodzeń DNA, przy obniżonej aktywności transferazy glutationowej, ważnego zmiatacza utlenionych produktów przemian metabolicznych [19,65,70]. U nosicieli genu ApoE-epsilon-4, kodującego apolipoproteinę E, stwierdzono nasilenie stresu oksydacyjnego w hipokampie [87]. Ze względu na obecność łańcucha oddechowego mitochondria są najbardziej narażone na utlenianie swoich składników. W mitochondriach pacjentów z AD występuje trzy razy więcej uszkodzeń niż u osób zdrowych, stwierdzono też zmniejszoną aktywność oksydazy cytochromowej w korze czołowej i skroniowej, co prowadzi do akumulacji produktów niepełnej redukcji cząsteczki tlenu, a zwłaszcza rodnika hydroksylowego [74,101].

Niektórzy badacze sugerują udział procesów zapalnych w patogenezie choroby Alzheimera, co prowadzi do aktywacji mikrogleju i nasilenia stresu oksydacyjnego spowodowanego wybuchem tlenowym [22]. Dotychczas nie ma jednoznacznych opinii czy to powstające złogi beta-amyloidu aktywują stan zapalny i nadmierne wytwarzanie rodników, czy też stres oksydacyjny i czynniki prozapalne powodują odkładanie się złogów i hiperfosforylację białka tau.

Choroba Parkinsona (PD) – polega na postępującym zaniku neuronów dopaminergicznym istoty czarnej. Prowadzi to do niedoborów dopaminy, co skutkuje zaburzeniami neuromotorycznymi. Jak dotychczas nie ustalono jednoznacznej przyczyny choroby Parkinsona, wydaje się, że tych przyczyn może być bardzo wiele od genetycznych po środowiskowe. Spośród wszystkich przypadków 90% to tzw. sporadyczna postać Parkinsona, a 10% rodzinna [107]. W kilku rodzinnych postaciach PD stwierdzono mutację w genie kodującym alfa-synukleinę (PARK1), parkinę (PARK2) lub hydrolazę C-końca ubikwityny UCH-L1 (PARK5). Mutacje w genach PARK powodują powstawanie błędnie sfałdowanych białek oraz białek, które nie degradują w proteasomach i ulegają agregacji w postaci ciał Lewy’ego [61,106].

Inna teoria zakłada długotrwałą ekspozycję na niewielkie dawki środków trujących, takich jak pestycydy, ołów czy konserwanty [53].

Kolejna teoria sugeruje działanie czynnika inicjującego zapalenie, może to być patogen, czasowe niedotlenienie czy stres oksydacyjny. Pod wpływem czynnika inicjującego obumiera niewielka liczba neuronów, to powoduje aktywację mikrogleju i sekrecję cytokin, które z kolei aktywują w neuronach receptory TNF, to włącza szlak apoptotyczny poprzez aktywację kaspaz [55,73].

Teoria wolnorodnikowa zakłada udział RFT w patogenezie choroby Parkinsona. Wytwarzaniu nadmiernych ilości wolnych rodników sprzyjają duże stężenia żelaza i dopaminy w neuronach istoty czarnej. Dopamina jest metabolizowana przez monooksygenazy, a jednym z produktów tej reakcji jest H_2O_2 , który w reakcji Fentona z udziałem

jonów żelaza przekształcany jest w najbardziej reaktywny rodnik hydroksylowy. $\cdot\text{OH}$ reaguje też z samą dopaminą i powstaje neurotoksyczna 6-hydroksydopamina, która uważana jest za jeden z czynników wywołujących chorobę Parkinsona [21,108]. O udziale stresu oksydacyjnego w PD świadczy wzrost poziomu produktów utleniania białek, lipidów i kwasów nukleinowych, oraz spadek stężenia zredukowanego glutationu i enzymów antyoksydacyjnych [15,51]. Poziom produktów utleniania DNA w istocie czarnej chorych na Parkinsona jest 16-krotnie wyższy niż u osób zdrowych [111].

W wielu przypadkach zaobserwowano w istocie czarnej spadek aktywności kompleksu I łańcucha oddechowego oraz wzrost wytwarzania anionorodnika nadtlenkowego i rodnika hydroksylowego, co prowadziło do utraty mitochondriów i śmierci neuronów. Potraktowanie szczurów rotenonem – inhibitorem kompleksu I spowodowało degenerację neuronów w substancji czarnej i objawy podobne do PD [46,93].

W latach osiemdziesiątych ub.w. zaobserwowano objawy parkinsonizmu u młodych narkomanów zażywających heroinę. Podczas produkcji „ulicznej heroiny” powstaje metylofenylotetrahydropirydyna (MPTP). Związek ten jest metabolizowany w komórkach gleju przez oksydazę monoaminową do bardzo toksycznego MPP⁺, który przenika do neuronów dopaminergicznych z udziałem transporterów DAT. MPP⁺ pobudza uwalnianie dopaminy z zakończeń synaptycznych, uwalnia żelazo z neuromelaniny nasilając reakcję Fentona oraz blokuje kompleks I łańcucha oddechowego powodując śmierć neuronów [54,88].

Stwardnienie zanikowe boczne (ALS). Jest to choroba zwyrodnieniowa układu nerwowego o postępującym przebiegu i nieznaną jak dotąd etiologią. W chorobie tej dochodzi do zaniku neuronów motorycznych prowadzące do niewydolności mięśni, paraliżu i śmierci. Prawie 10% przypadków ALS to tzw. rodzinna postać, z czego 2–5% polega na mutacji w genie kodującym miedziowo-cynkową dysmutazę nadtlenkową (SOD1). Wiele badań nad tym typem ALS wskazuje na podwyższone stężenie nadtlenku wodoru, rodnika hydroksylowego oraz produktów utleniania lipidów, białek i DNA [4,40,90].

W sporadycznej postaci ALS (niezwiązanej z mutacją w genie SOD1) również zaobserwowano wzrost stężenia grup karbonylowych i nitrotyrozyny, produktów utleniania i nitrowania białek w rdzeniu kręgowym i płynie mózgowo-rdzeniowym [31,103]. A także znaczący wzrost poziomu 4-hydroksynonenalu i 8-hydroksyguanineiny produktów utleniania lipidów i DNA we krwi i płynie mózgowo-rdzeniowym pacjentów z ALS [69,97]. W mózgach osób zmarłych na ALS stwierdzono spadek aktywności oksydazy cytochromowej i peroksydazy glutationowej oraz wzrost stężenia nitrotyrozyny [33,79].

Inne choroby OUN

U dużej grupy pacjentów ze stwardnieniem rozsianym (MS) stwierdzono polimorfizm genów kodujących transferazy glutationowe, zwłaszcza z klas mi i pi, co prowadzi do obniżenia potencjału detoksykacyjnego i antyoksydacyjnego [67].

Natomiast w płynie mózgowo-rdzeniowym pacjentów z MS zaobserwowano wzrost stężenia dialdehydu malonowego oraz spadek aktywności peroksydazy glutationowej [23].

Również u pacjentów z chorobą Huntingtona stwierdzono wyższe stężenie MDA we krwi, oraz wyższe stężenie 8-hydroksyguanineiny w mózgu [26,42].

U osób z zespołem Downa występuje nadekspresja dysmutazy nadtlenkowej, co skutkuje nadmiernym wytwarzaniem H_2O_2 i wystąpieniem stresu oksydacyjnego [76].

W surowicy pacjentów z udarem niedokrwiennym stwierdzono podwyższone stężenie MDA oraz obniżoną aktywność większości enzymów antyoksydacyjnych [1].

Również w przypadku bakteryjnego zapalenia opon mózgowych stwierdzono w płynie mózgowo-rdzeniowym wzrost parametrów stresu oksydacyjnego wyrażonego peroksydacją lipidów. Nastąpił też wzrost aktywności dysmutazy nadtlenkowej i transferazy glutationowej oraz spadek stężenia zredukowanego glutationu [34].

Niektórzy badacze twierdzą, że część przypadków chorób psychicznych może mieć podłoże wolnorodnikowe. U wielu pacjentów leczonych z powodu schizofrenii zaobserwowano wzrost aktywności SOD, natomiast u pacjentów z nieleczoną schizofrenią stwierdzono obniżoną aktywność SOD oraz podwyższone stężenie MDA [66,104].

Coraz więcej badań wskazuje na powiązanie stresu oksydacyjnego z chorobami związanymi z ośrodkowym układem nerwowym, choć nie zawsze można stwierdzić czy stres ten jest przyczyną, czy skutkiem danej choroby. Na pewno istnieje wiele różnych przyczyn mogących spowodować lub nasilić dane schorzenie np. nieodpowiednia dieta, niezdrowy tryb życia, zanieczyszczenia środowiskowe, czy też używki, choć niektórzy badacze twierdzą, że niektóre używki, takie jak kawa, nikotyna czy alkohol wręcz obniżają ryzyko zachorowania na chorobę Parkinsona [14].

POZYTYWNE DZIAŁANIE RFT W OUN

Reaktywne formy tlenu oprócz szkodliwego działania pełnią również role pozytywne: wcześniej wspomniany „wybuch tlenowy” chroni komórki nerwowe przed patogenami, WRT biorą udział w neuromodulacji, neurotransmisji i regulacji plastyczności synaps. Wpływają na ekspresję genów, podział i różnicowanie się komórek oraz wewnętrzna homeostazę jonów wapnia [39,105].

Aktywność cykazy guanylowej oraz stężenie cyklicznego GMP uzależnione jest od zmian stężenia tlenu azotu, nadtlenku wodoru i anionorodnika nadtlenkowego [86]. Podwyższone stężenia H_2O_2 i nadtlenków lipidów generują syntezę prostaglandyn, leukotrienów i melanin. O_2^- jest substratem takich enzymów jak oksydaza galaktozoowa, dioksygenaza indofenolowa, dihydroksylaza dopaminy i in., a także wpływa na metabolizm ksenobiotyków i agregację płytek krwi [11,45].

RFT regulują procesy przekazywania sygnałów między neuronami i w ich obrębie, regulują funkcje receptorów poprzez odwracalne utlenianie grup tiolowych białek. Małe



stężenia H_2O_2 pobudzają czynnik jądrowy NF- κ B – aktywator ekspresji genów kodujących SOD, tioredoksynę, cytokiny i in. [73]. NO uczestniczy w kontroli odpowiedzi immunologicznej i reguluje napięcie naczyń krwionośnych [7].

Zarówno nadmierne wytwarzanie wolnych rodników, jak i ich niedobór może być dla organizmu szkodliwe, dlatego tak ważna jest równowaga między mechanizmami pro- i antyoksydacyjnymi.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Adibhatla R.M., Hatcher J.F.: Lipid oxidation and peroxidation in CNS health and disease: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antioxid. Redox Signal.*, 2010; 12: 125–169
- [2] Adler V., Yin Z., Tew K., Ronai Z.: Role of redox potential and reactive oxygen species in stress signaling. *Oncogene*, 1999; 18: 6104–6111
- [3] Afanas'ev I.B.: Free radical mechanisms of aging processes under physiological conditions. *Biogerontology*, 2005; 6: 283–290
- [4] Agar J., Durham H.: Relevance of oxidative injury in the pathogenesis of motor neuron diseases. *Amyotroph. Lateral Scler. Other Motor Neuron Disord.*, 2003; 4: 232–242
- [5] Alessandri J.M., Guesnet P., Vancassel S., Astorg P., Denis I., Langelier B., Aïd S., Poumès-Ballihaut C., Champeil-Potokar G., Lavialle M.: Polyunsaturated fatty acids in the central nervous system: evolution of concepts and nutritional implications throughout life. *Reprod. Nutr. Dev.*, 2004; 44: 509–538
- [6] Alper G., Girgin F.K., Ozgönül M., Mentş G., Ersöz B.: MAO inhibitors and oxidant stress in aging brain tissue. *Eur. Neuropsychopharmacol.*, 1999; 9: 247–252
- [7] Amitai Y.: Physiologic role for „inducible” nitric oxide synthase: A new form of astrocytic-neuronal interface. *Glia*, 2010; 58: 1775–1781
- [8] Andreoli T.E.: Free radicals and oxidative stress. *Am. J. Med.*, 2000; 108: 650–651
- [9] Attwell D., Iadecola C.: The neural basis of functional brain imaging signals. *Trends Neurosci.*, 2002; 25: 621–662
- [10] Ball S.: Chemia szarych komórek. *Neurochemia i toksykologia ośrodkowego układu nerwowego*. Medyk Sp. z o. o. Warszawa 2003
- [11] Bartosz G.: *Druga twarz tlenu. Wolne rodniki w przyrodzie*. Wydawnictwo Naukowe PWN. Warszawa 2006
- [12] Beal M.F.: Aging, energy, and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Ann. Neurol.*, 1995; 38: 357–366
- [13] Beckman K.B., Ames B.N.: Endogenous oxidative damage of mtDNA. *Mutat. Res.*, 1999; 424: 51–58
- [14] Benedetti M.D., Bower J.H., Maraganore D.M., McDonnell S.K., Peterson B.J., Ahlskog J.E., Schaid D.J., Rocca W.A.: Smoking, alcohol, and coffee consumption preceding Parkinson's disease: a case-control study. *Neurology*, 2000; 55: 1350–1358
- [15] Berg D., Youdim B.H., Riederer P.: Redox imbalance. *Cell Tissue Res.* 2004; 318: 201–213
- [16] Berlett B.S., Stadtman E.R.: Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 20313–20316
- [17] Brenna J.T., Diau G.Y.: The influence of dietary docosahexaenoic acid and arachidonic acid on central nervous system polyunsaturated fatty acid composition. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, 2007; 77: 247–250
- [18] Bruce-Keller A.J., Li Y.J., Lovell M.A., Kraemer P.J., Gary D.S., Brown R.R., Markesbery W.R., Mattson M.P.: 4-Hydroxynonenal, a product of lipid peroxidation, damages cholinergic neurons and impairs visuospatial memory in rats. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, 1998; 57: 257–267
- [19] Butterfield D.A., Lauderback C.M.: Lipid peroxidation and protein oxidation in Alzheimer's disease brain: potential causes and consequences involving amyloid beta-peptide-associated free radical oxidative stress. *Free Radic. Biol. Med.*, 2002; 32: 1050–1060
- [20] Cadenas E.: Mitochondrial free radical production and cell signaling. *Mol. Aspects Med.*, 2004; 25: 17–26
- [21] Cadet J.L., Brannock C.: Free radicals and the pathobiology of brain dopamine systems. *Neurochem. Int.*, 1998; 32: 117–131
- [22] Cagnin A., Brooks D.J., Kennedy A.M., Gunn R.N., Myers R., Turkheimer F.E., Jones T., Banati R.B.: *In-vivo* measurement of activated microglia in dementia. *Lancet*, 2001; 358: 461–467
- [23] Calabrese V., Scapagnini G., Ravagna A., Bella R., Butterfield D.A., Calvani M., Pennisi G., Giuffrida Stella A.M.: Disruption of thiol homeostasis and nitrosative stress in the cerebrospinal fluid of patients with active multiple sclerosis: evidence for a protective role of acetylcarnitine. *Neurochem. Res.*, 2003; 28: 1321–1328
- [24] Chakraborti S., Chakraborti T.: Oxidant-mediated activation of mitogen-activated protein kinases and nuclear transcription factors in the cardiovascular system: a brief overview. *Cell Signal.*, 1998; 10: 675–683
- [25] Chavko M., Auker C.R., McCarron R.M.: Relationship between protein nitration and oxidation and development of hyperoxic seizures. *Nitric Oxide*, 2003; 9: 18–23
- [26] Chen C.M., Wu Y.R., Cheng M.L., Liu J.L., Lee Y.M., Lee P.W., Soong B.W., Chiu D.T.: Increased oxidative damage and mitochondrial abnormalities in the peripheral blood of Huntington's disease patients. *Biochem Biophys. Res. Commun.*, 2007; 359: 335–340
- [27] Cheng K.C., Cahill D.S., Kasai H., Nishimura S., Loeb L.A.: 8-Hydroxyguanine, an abundant form of oxidative DNA damage, causes G→T and A→C substitutions. *J. Biol. Chem.*, 1992; 267: 166–172
- [28] Chong Z.Z., Li F., Maiese K.: Oxidative stress in the brain: Novel cellular targets that govern survival during neurodegenerative disease. *Prog. Neurobiol.*, 2005; 75: 207–246
- [29] Ciolino H.P., Levine R.L.: Modification of proteins in endothelial cell death during oxidative stress. *Free Radic. Biol. Med.*, 1997; 22: 1277–1282
- [30] Conner E.M., Grisham M.B.: Inflammation, free radicals, and antioxidants. *Nutrition*, 1996; 12: 274–277
- [31] Cookson M.R., Shaw P.J.: Oxidative stress and motor neurone disease. *Brain Pathol.*, 1999; 9: 165–186
- [32] Dawson V.L., Dawson T.M.: Nitric oxide in neuronal degeneration. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1996; 211: 33–40
- [33] Delanty N., Dichter M.A.: Oxidative injury in the nervous system. *Acta Neurol. Scand.*, 1998; 98: 145–153
- [34] de Menezes C.C., Dorneles A.G., Sperotto R.L., Duarte M.M., Schetinger M.R., Loro V.L.: Oxidative stress in cerebrospinal fluid of patients with aseptic and bacterial meningitis. *Neurochem. Res.*, 2009; 34: 1255–1260
- [35] Denicola A., Radi R.: Peroxynitrite and drug-dependent toxicity. *Toxicology*, 2005; 208: 273–288
- [36] Di Stasi A.M., Mallozzi C., Macchia G., Petrucci T.C., Minetti M.: Peroxynitrite induces tryptophan nitration and modulates tyrosine phosphorylation of synaptic proteins. *J. Neurochem.*, 1999; 73: 727–735
- [37] Dix T.A., Aikens J.: Mechanisms and biological relevance of lipid peroxidation initiation. *Chem. Res. Toxicol.*, 1993; 6: 2–18
- [38] Dmitriev L.F.: The involvement of lipid radical cycles and the adenine nucleotide translocator in neurodegenerative diseases. *J. Alzheimers Dis.*, 2007; 11: 183–190
- [39] Dröge W.: Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol. Rev.*, 2002; 82: 47–95
- [40] Elliott J.L.: Zinc and copper in the pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 2001; 25: 1169–1185
- [41] Faraci F.M.: Reactive oxygen species: influence on cerebral vascular tone. *J. Appl. Physiol.*, 2006; 100: 739–743
- [42] Fiskum G., Murphy A.N., Beal M.F.: Mitochondria in neurodegeneration: acute ischemia and chronic neurodegenerative diseases. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 1999; 19: 351–369
- [43] Gibson G.E., Ratan R.R., Beal M.F.: Mitochondria and oxidative stress in neurodegenerative disorders. *Ann. NY Acad. Sci.*, 2008; 1147: xi–xii
- [44] Gilgun-Sherki Y., Melamed E., Offen D.: Oxidative stress induced neurodegenerative diseases: the need for antioxidants that penetrate the blood brain barrier. *Neuropharmacology*, 2001; 40: 959–975
- [45] Gondko R.: Czy przemiany rodników tlenowych w organizmie przebiegają cyklicznie? *Postępy Biochemii*, 1995; 41: 243–247
- [46] Greenamyre J.T., Betarbet R., Sherer T.B.: The rotenone model of Parkinson's disease: genes, environment and mitochondria. *Parkinsonism Relat. Disord.*, 2003; 9: S59–S64
- [47] Guzmán M., Blázquez C.: Is there an astrocyte-neuron ketone body shuttle? *Trends Endocrinol. Metab.*, 2001; 12: 169–173
- [48] Halliwell B.: Reactive oxygen species and the central nervous system. *J. Neurochem.*, 1992; 59: 1609–1623

- [49] Halliwell B.: Role of free radicals in the neurodegenerative diseases: therapeutic implications for antioxidant treatment. *Drugs Aging*, 2001; 18: 685–716
- [50] Halliwell B., Clement M.V., Long L.H.: Hydrogen peroxide in the human body. *FEBS Lett.*, 2000; 486: 10–13
- [51] Hirrlinger J., Schulz J.B., Dringen R.: Effects of dopamine on the glutathione metabolism of cultured astroglial cells: implications for Parkinson's disease. *J. Neurochem.*, 2002; 82: 458–467
- [52] Ischiropoulos H., Beckman J.S.: Oxidative stress and nitration in neurodegeneration: cause, effect, or association? *J. Clin. Invest.*, 2003; 111: 163–169
- [53] Jenner P.: Parkinson's disease, pesticides and mitochondrial dysfunction. *Trends Neurosci.*, 2001; 24: 245–247
- [54] Johannessen J.N., Markey S.P.: Assessment of the opiate properties of two constituents of a toxic illicit drug mixture. *Drug Alcohol Depend.*, 1984; 13: 367–374
- [55] Kim Y.S., Joh T.H.: Microglia, major player in the brain inflammation: their roles in the pathogenesis of Parkinson's disease. *Exp. Mol. Med.*, 2006; 38: 333–347
- [56] Koczyńska E., Torliński L., Ziółkowski M.: Wpływ uzależnienia od alkoholu na parametry stresu oksydacyjnego. *Postepy Hig. Med. Dośw.*, 2001; 55: 95–111
- [57] Koppal T., Drake J., Butterfield D.A.: *In vivo* modulation of rodent glutathione and its role in peroxynitrite-induced neocortical synaptosomal membrane protein damage. *Biochim. Biophys. Acta*, 1999; 1453: 407–411
- [58] Koppenol W.H.: The basic chemistry of nitrogen monoxide and peroxynitrite. *Free Radic. Biol. Med.*, 1998; 25: 385–391
- [59] Law A., Gauthier S., Quirion R.: Say NO to Alzheimer's disease: the putative links between nitric oxide and dementia of the Alzheimer's type. *Brain Res. Brain Res. Rev.*, 2001; 35: 73–96
- [60] Levine R.L., Stadtman E.R.: Oxidative modification of proteins during aging. *Exp. Gerontol.*, 2001; 36: 1495–1502
- [61] Li H., Guo M.: Protein degradation in Parkinson disease revisited: it's complex. *J. Clin. Invest.*, 2009; 119: 442–445
- [62] Liczmanski A.E.: Toksyczność tlenu. Uszkodzenie żywych komórek. *Postepy Biochemii*, 1988; 34: 273–291
- [63] Litvinov D.I., Dubovaia V.I., Vasil'ev M.G., Lekishvili M.V., Prasolov V.S., Turpaev K.T.: Effect of catalase on the expression of NO-dependent genes in primary chondrocytes. *Mol. Biol.*, 2003; 37: 482–485
- [64] Liu P.K., Robertson C.S., Valadka A.: The association between neuronal nitric oxide synthase and neuronal sensitivity in the brain after brain injury. *Ann. N Y Acad. Sci.*, 2002; 962: 226–241
- [65] Lovell M.A., Xie C., Markesbery W.R.: Decreased glutathione transferase activity in brain and ventricular fluid in Alzheimer's disease. *Neurology*, 1998; 51: 1562–1566
- [66] Mahadik S.P., Mukherjee S.: Free radical pathology and antioxidant defense in schizophrenia: a review. *Schizophr. Res.*, 1996; 19: 1–17
- [67] Mann C.L., Davies M.B., Boggild M.D., Aldersea J., Fryer A.A., Jones P.W., Ko Ko C., Young C., Strange R.C., Hawkins C.P.: Glutathione S-transferase polymorphisms in MS: their relationship to disability. *Neurology*, 2000; 54: 552–557
- [68] Maragos W.F., Young K.L., Altman C.S., Pocerlich C.B., Drake J., Butterfield D.A., Seif I., Holschneider D.P., Chen K., Shih J.C.: Striatal damage and oxidative stress induced by the mitochondrial toxin malonate are reduced in clorgyline-treated rats and MAO-A deficient mice. *Neurochem. Res.*, 2004; 29: 741–746
- [69] Mariani E., Polidori M.C., Cherubini A., Mecocci P.: Oxidative stress in brain aging, neurodegenerative and vascular diseases: an overview. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.*, 2005; 827: 65–75
- [70] Markesbery W.R., Carney J.M.: Oxidative alterations in Alzheimer's disease. *Brain Pathol.*, 1999; 9: 133–146
- [71] Marnett L.J.: Oxy radicals, lipid peroxidation and DNA damage. *Toxicology*, 2002; 181–182: 219–222
- [72] Marnett L.J., Riggins J.N., West J.D.: Endogenous generation of reactive oxidants and electrophiles and their reactions with DNA and protein. *J. Clin. Invest.*, 2003; 111: 583–593
- [73] McCord J.M.: The evolution of free radicals and oxidative stress. *Am. J. Med.*, 2000; 108: 652–659
- [74] Mecocci P., MacGarvey U., Kaufman A.E., Koontz D., Shoffner J.M., Wallace D.C., Beal M.F.: Oxidative damage to mitochondrial DNA shows marked age-dependent increases in human brain. *Ann. Neurol.*, 1993; 34: 609–616
- [75] Mogi M., Togari A., Kondo T., Mizuno Y., Komure O., Kuno S., Ichinose H., Nagatsu T.: Caspase activities and tumor necrosis factor receptor R1 (p55) level are elevated in the substantia nigra from parkinsonian brain. *J. Neural. Transm.*, 2000; 107: 335–341
- [76] Muchová J., Sustrová M., Garaiová I., Liptáková A., Blazíček P., Kvasnicka P., Püeschel S., Duracková Z.: Influence of age on activities of antioxidant enzymes and lipid peroxidation products in erythrocytes and neutrophils of Down syndrome patients. *Free Radic. Biol. Med.*, 2001; 31: 499–508
- [77] Niki E., Yoshida Y., Saito Y., Noguchi N.: Lipid peroxidation: mechanisms, inhibition, and biological effects. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2005; 338: 668–676
- [78] Ohshima H.: Genetic and epigenetic damage induced by reactive nitrogen species: implications in carcinogenesis. *Toxicol. Lett.*, 2003; 140-141: 99–104
- [79] Okado-Matsumoto A., Fridovich I.: Amyotrophic lateral sclerosis: a proposed mechanism. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002; 99: 9010–9014
- [80] Oszejka K., Szemraj J., Bartkowiak J.: Udział tlenu azotu w regulacji ekspresji genów. *Postepy Biochemii*, 2007; 53: 254–262
- [81] Palumbo A., Napolitano A., Barone P., d'Ischia M.: Nitrite- and peroxide-dependent oxidation pathways of dopamine: 6-nitrodopamine and 6-hydroxydopamine formation as potential contributory mechanisms of oxidative stress- and nitric oxide-induced neurotoxicity in neuronal degeneration. *Chem. Res. Toxicol.*, 1999; 12: 1213–1222
- [82] Peuchen S., Bolaños J.P., Heales S.J., Almeida A., Duchon M.R., Clark J.B.: Interrelationships between astrocyte function, oxidative stress and antioxidant status within the central nervous system. *Prog. Neurobiol.*, 1997; 52: 261–281
- [83] Pfeiffer S., Schmidt K., Mayer B.: Dityrosine formation outcompetes tyrosine nitration at low steady-state concentrations of peroxynitrite. Implications for tyrosine modification by nitric oxide/superoxide *in vivo*. *J. Biol. Chem.*, 2000; 275: 6346–6352
- [84] Ponczek M.B., Wachowicz B.: Oddziaływanie reaktywnych form tlenu i azotu z białkami. *Postepy Biochemii*, 2005; 51: 40–45
- [85] Porter N.A., Caldwell S.E., Mills K.A.: Mechanisms of free radical oxidation of unsaturated lipids. *Lipids*, 1995; 30: 277–290
- [86] Provost C., Choufani F., Avedanian L., Bkaily G., Gobeil F., Jacques D.: Nitric oxide and reactive oxygen species in the nucleus revisited. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 2010; 88: 296–304
- [87] Ramassamy C., Averill D., Beffert U., Bastianetto S., Theroux L., Lussier-Cacan S., Cohn J.S., Christen Y., Davignon J., Quirion R., Poirier J.: Oxidative damage and protection by antioxidants in the frontal cortex of Alzheimer's disease is related to the apolipoprotein E genotype. *Free Radic. Biol. Med.*, 1999; 27: 544–553
- [88] Ravindranath V.: Metabolism of xenobiotics in the central nervous system: implications and challenges. *Biochem. Pharmacol.*, 1998; 56: 547–551
- [89] Roediger B., Armati P.J.: Oxidative stress induces axonal beading in cultured human brain tissue. *Neurobiol. Dis.*, 2003; 13: 222–229
- [90] Rotilio G., Aquilano K., Ciriolo M.R.: Interplay of Cu,Zn superoxide dismutase and nitric oxide synthase in neurodegenerative processes. *IUBMB Life*, 2003; 55: 629–634
- [91] Saitoh M., Nishitoh H., Fujii M., Takeda K., Tobiume K., Sawada Y., Kawabata M., Miyazono K., Ichijo H.: Mammalian thioredoxin is a direct inhibitor of apoptosis signal-regulating kinase (ASK) 1. *EMBO J.*, 1998; 17: 2596–2606
- [92] Sawicki W.T.: *Histologia*. Wydawnictwo lekarskie PZWL, 2008
- [93] Sayre L.M., Perry G., Smith M.A.: Oxidative stress and neurotoxicity. *Chem. Res. Toxicol.*, 2008; 21: 172–188
- [94] Scandalios J.G.: Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 2005; 38: 995–1014
- [95] Sheline Y.I.: Hippocampal atrophy in major depression: a result of depression-induced neurotoxicity? *Mol. Psychiatry*, 1996; 1: 298–299
- [96] Siegal G.L., Alberts R.W., Brady S.T., Price D.L.: *Neurocellular anatomy*. Basic Neurochemistry. Molecular, cellular and medical aspects. Elsevier Academic Press, 2006
- [97] Simpson E.P., Henry Y.K., Henkel J.S., Smith R.G., Appel S.H.: Increased lipid peroxidation in sera of ALS patients: a potential biomarker of disease burden. *Neurology*, 2004; 62: 1758–1765
- [98] Song H., Stevens C.F., Gage F.H.: Astroglia induce neurogenesis from adult neural stem cells. *Nature*, 2002; 417: 39–44
- [99] Stadtman E.R., Levine R.L.: Protein oxidation. *Ann. N Y Acad. Sci.*, 2000; 899: 191–208



- [100] Stoian I., Oros A., Moldoveanu E.: Apoptosis and free radicals. *Biochem. Mol. Med.*, 1996; 59: 93–97
- [101] Sullivan P.G., Brown M.R.: Mitochondrial aging and dysfunction in Alzheimer's disease. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 2005; 29: 407–410
- [102] Svenningsson A., Petersson A.S., Andersen O., Hansson G.K.: Nitric oxide metabolites in CSF of patients with MS are related to clinical disease course. *Neurology*, 1999; 53: 1880–1882
- [103] Tohgi H., Abe T., Yamazaki K., Murata T., Ishizaki E., Isobe C.: Remarkable increase in cerebrospinal fluid 3-nitrotyrosine in patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Ann. Neurol.*, 1999; 46: 129–131
- [104] Tylec A., Jarzab A., Stryjecka-Zimmer M., Wójcicka A.: Stres oksydacyjny w schizofrenii. *Pol. Merk. Lek.*, 2007; 23(133): 74–77
- [105] Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T., Mazur M., Telser J.: Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2007; 39: 44–84
- [106] Vila M., Przedborski S.: Genetic clues to the pathogenesis of Parkinson's disease. *Nat. Med.*, 2004; 10: S58–S62
- [107] Weintraub D., Comella C.L., Horn S.: Parkinson's disease – Part 1: Pathophysiology, symptoms, burden, diagnosis, and assessment. *Am. J. Manag. Care*, 2008; 14: S40–S48
- [108] Youdim M.B., Bakhle Y.S.: Monoamine oxidase: isoforms and inhibitors in Parkinson's disease and depressive illness. *Br. J. Pharmacol.*, 2006; 147: S287–S296
- [109] Zajdel A., Wilczok A., Slowinski J., Orchel J., Mazurek U.: Aldehydic lipid peroxidation products in human brain astrocytomas. *J. Neurooncol.*, 2007; 84: 167–173
- [110] Zasadowski A., Wysocki A.D., Barski D., Spodniewska A.: Some aspects of reactive oxygen species (ROS) and antioxidative system agent's action. Short review. *Acta Toxicol.*, 2004; 12: 5–19
- [111] Zhang J., Perry G., Smith M.A., Robertson D., Olson S.J., Graham D.G., Montine T.J.: Parkinson's disease is associated with oxidative damage to cytoplasmic DNA and RNA in substantia nigra neurons. *Am. J. Pathol.*, 1999; 154: 1423–1429

Autorka deklaruje brak potencjalnych konfliktów interesów.