

# ROLA WOLNYCH RODNIKÓW W PATOGENEZIE CHORÓB NEURODEGENERACYJNYCH\*

ROLE OF FREE RADICALS IN PATHOGENESIS OF NEURODEGENERATIVE DISEASES

Dorota Sokołowska<sup>1</sup>, Janusz Wendorff<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Klinika Neurologii Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Janusz Wendorff

<sup>2</sup> Zakład Neurologii, Rehabilitacji Neurologicznej i Kinezyterapii Uniwersytetu Humanistyczno-Przyrodniczego Jana Kochanowskiego w Kielcach

Kierownik Zakładu: prof. dr hab. n. med. Janusz Wendorff

## STRESZCZENIE

Celem pracy jest przedstawienie roli wolnych rodników (wr) w patogenezie postępujących chorób neurodegeneracyjnych. Wr powstają podczas stresu oksydacyjno-redukcyjnego wywołanego różnymi przyczynami endogennymi (genetyczne) oraz egzogennymi (zakażenie wirusami, niedobory żywnościowe). Wolne rodniki ze względu na swoją dużą reaktywność wchodzi w reakcję z białkami, lipidami i DNA, powodując ich uszkodzenie. Zaburzenia te widoczne są najwcześniej w mitochondriach. W chorobach neurodegeneracyjnych procesy oksydacyjno-redukcyjne ulegają zaburzeniu w różnych okolicach mózgu oraz mają różny stopień nasilenia. Nasilenie zaburzeń oksydacyjno-redukcyjnych koreluje z ciężkością objawów. Takie antyoksydanty, jak wit. C i wit. E mogą zmieniać przebieg choroby i mogą odgrywać rolę w terapii tych schorzeń. Prawidłowe reakcje oksydacyjno-redukcyjne są niezbędne do prawidłowego funkcjonowania organizmu.

**Słowa kluczowe:** wolne rodniki, choroby neurodegeneracyjne, witamina C, witamina E, przeciwutleniacze.

## SUMMARY

Presentation of role free radicals (FR) in pathogenesis of neurodegenerative, progressive diseases is the target of my study. F.R. are produced while oxidative stress, caused by various reasons endogenes (genetic) and egzogenes (deficiency of vitamin and viruses infection). F. R. are very reactive so they can react with proteins, lipids and DNA. F. R. cause their damage Disorders are primary noticed in mitochondria's. In neurodegenerative diseases, oxidative disorder are taken which in various regions of brain and various degrees of exertion. Biochemical evidence of oxidative stress is related to clinical phenotype severity. Antioxidants vit. C and vit. E may change the course disease and have potential therapeutic roles. Regular oxidative tests are necessary to correct functional of organism.

**Key words:** free radicals, neurodegenerative diseases, Vitamin C, Vitamin E antioxidants.

## WSTĘP

Stresem określamy odchylenie od fizjologicznego stanu homeostazy, wywołane różnymi czynnikami środowiskowymi, endogennymi oraz psychologicznymi [1]. Reakcja organizmu na te czynniki jest naturalnym zjawiskiem w zakresie mechanizmów wydolności organizmu. W przypadku długotrwałego działania lub nadmiernego nasilenia czynnika szkodliwego, ma on działanie uszkodzające. Organizm na poziomie komórkowym wykazuje zaburzenie w prawidłowym funkcjonowaniu. Metabolizm komórki jest „przekierowany” na нефизjologiczne alternatywne toru przemian metabolicznych. Uruchamiany zostaje

mechanizm ściśle określonych kolejnych, łańcuchowo pojawiających się zaburzeń.

### Mechanizm oksydacyjny i antyoksydacyjny

Najlepiej poznanym czynnikiem niepożądanym jest wytwarzanie reaktywnych form tlenu. Substancje te powstają w procesie oddychania komórkowego podczas cyklu Krebsa, który zachodzi w mitochondriach komórki. Przy udziale tlenu z substancji organicznych powstaje dwutlenek węgla i woda, a uwalniana energia jest zużywana lub gromadzona do szeregu reakcji i procesów metabolicznych zachodzących w komórce. Tlen cząsteczkowy jest utleniaczem, reagując ze związkami organicznymi, utlenia je, czyli

\* Praca powstała ze środków grantu nr 122/S/08 Uniwersytetu Humanistyczno-Przyrodniczego Jana Kochanowskiego w Kielcach.

pobiera od nich elektrony [2]. Sam w ten sposób ulega redukcji, podczas której przechodzi w reaktywne formy tlenu (RFT), takie jak:

$O_2^{\bullet -}$  – anionorodnik ponadtlenowy (jednoelektronowa redukcja tlenu),

$H_2O_2$  – nadtlenek wodoru (dwuelektronowa redukcja tlenu),

$\cdot OH$  – rodnik hydroksynowy (trójelektronowa redukcja tlenu),

$^1O_2$  – tlen singletowy.

Tlenek azotu i nadtlenek azotu są kolejnymi przykładami wolnych rodników. Reagują z tiolami (grupami sulfhydrylowymi-SH), powodując powstanie disulfidów białek, co prowadzi do inaktywacji enzymów komórkowych. Wolne rodniki mają wysoką reaktywność. Zapoczątkowują one powstawanie wolnych rodników substancji organicznych. Wolne rodniki związków organicznych mają odmienne właściwości biochemiczne niż wyjściowe związki, a ze względu na nadaną im zwiększoną reaktywność lawinowo wchodzi w kolejne niezaplanowane reakcje. Walka z nadmiarem wolnych rodników jest co najmniej trzyetapowa.

Po pierwsze, najważniejsze jest zapobieganie powstawaniu RFT. W tych reakcjach uczestniczą trzy enzymy:

- dysmutaza ponadtlenowa (SOD) zawierająca Cu, Zn, Mn/ – aktywność jej wzrasta wraz z wiekiem [3],
- peroksydaza glutationowa,
- reduktaza glutationowa (aktywność spada wraz z wiekiem).

Po drugie, gdy łańcuch reakcji powstawania wolnych rodników zostanie uaktywniony, następuje proces terminacji – przerywania niekontrolowanych reakcji produkcji wolnych rodników związków organicznych przez obronę antyoksydacyjną. Uczestniczą w tej fazie kolejne enzymy oraz wit. C i wit. E. W następnej kolejności uruchamiane są procesy naprawcze, szczególnie DNA i białek.

W wielu chorobach układu nerwowego dochodzi do wzrostu czynników utleniających lub spadku antyoksydantów. Podobne zmiany zachodzą w procesie starzenia się. Starzenie się organizmu jest głównym czynnikiem ryzyka w występowaniu chorób neurodegeneracyjnych. Wolne rodniki, reagując z kwasami tłuszczowymi dwuwarstwowej błony lipidowej komórki, zmieniają jej właściwości, takie jak jej półpłynny stan i przepuszczalność. Proces ten zachodzi poprzez peroksydację lipidów. W reakcji z białkami wolne rodniki powodują ich inaktywację.

Reagując z DNA i RNA, mogą być przyczyną mutacji genowych oraz zaburzeń transkrypcji i translacji genów.

Proces uszkodzający wolnych rodników jest najbardziej nasilony w mitochondriach komórkowych,

gdzie DNA mitochondrialne pozostaje w bezpośrednim pobliżu łańcucha oddechowego. Dowodem na to jest zwiększenie stężenia w mitochondriach 8-hydroksyguanozyny (będącej produktem utleniania guaniny w DNA), w stosunku do DNA w jądrze komórkowym [1]. Efektem zaburzonej funkcji mitochondriów jest nadmierna produkcja wolnych rodników. Mózg przy 2% stosunku ciężaru człowieka zużywa 20% tlenu i 25% glukozy pobieranych przez człowieka. W czasie aktywności mózgu zwiększa się zużycie glukozy, szczególnie przez astrocyty, w których zachodzi glikogenoliza i glikoliza. Podczas glikolizy powstaje kwas mlekowy, który jest utleniany w neuronalnych mitochondriach i w wyniku oksydatywnej fosforylacji dostarcza na dwie cząsteczki kwasu mlekowego 36 cząsteczek ATP. Mózg jest szczególnie wrażliwy na zaburzenia równowagi oksydacyjno-redukcyjnej, ponieważ zachodzi w nim wzmożony metabolizm tlenowy, przy stosunkowo niskiej aktywności enzymów obronnych-antyoksydacyjnych oraz wysokiej zawartości nienasyconych kwasów tłuszczowych. W rezultacie nieprawidłowych procesów utleniania w komórkach układu nerwowego gromadzą się aldehydy, izoprostanoidy z peroksydacji lipidów, grupy karboksylowe białek oraz utlenione zasady azotowe kwasów nukleinowych. W komórce najszybciej dochodzi do uszkodzenia mitochondriów, w wyniku czego następuje spadek produkcji energii i gromadzenia jej w ATP. W podeszłym wieku błona mitochondriów jest mniej elastyczna, następuje nadmierny wyrzut protonów [3]. W mózgu istnieją dwa systemy regulacyjne i kontrolujące metabolizm energetyczny. Są to dwa układy neurotransmisyjne działające poprzez noradrenalinę oraz wazoaktywny peptyd jelitowy VIP (układy te wpływają przede wszystkim na astrocyty, jak również na komórki śródbłonna naczyń krwionośnych) oraz drugi system działający na zasadzie sprzężenia zwrotnego zachodzącego w astrocytach pomiędzy zużyciem APT i aktywnością fosfofruktokinazy a oksydacyjną fosforylacją. U osób w podeszłym wieku następuje zmniejszenie zużycia glukozy oraz zmniejszenie przepływu krwi przez mózg. Następuje redukcja stosunku zużytej glukozy do wytwarzanej energii, czyli przy mniejszym zużyciu glukozy nie zmniejsza się zużycie tlenu [1].

## CEL

W artykule przedstawiono najnowsze doniesienia o roli równowagi oksydacyjno-redukcyjnej w patogenezie wybranych chorób neurodegeneracyjnych oraz o roli antyoksydantów, takich jak wit. C i wit. E, w zapobieganiu i leczeniu tych chorób. Najlepiej

poznany, często opisywanymi chorobami neurodegeneracyjnymi są u dzieci zespół Retta, a u dorosłych stwardnienie boczne zanikowe (SLA), choroba Alzheimerera, choroba Parkinsona oraz choroba Huntingtona. Autorzy przedstawiający patogenezę w poszczególnych chorobach zwyrodnieniowych układu nerwowego podkreślają udział szeregu zaburzeń reakcji oksydacyjno-redukcyjnych.

**Zespół Retta (ZR)** jest postępującym zespołem neurodegeneracyjnym, dotyczącym głównie dziewczynek. Przyczyną schorzenia może być mutacja genu MECP2 położonego na chromosomie X w locus q28. Sposób dziedziczenia jest określony jako dominujący sprzężony z płcią. W 99,9% przypadków zespół Retta występuje sporadycznie, bardzo rzadko rodzinnie. U niektórych rodziców istnieje możliwość wystąpienia mozaiki genetycznej. U dziewczynek po okresie prawidłowego rozwoju w okresie noworodkowym i niemowlęcym występuje regres dotychczasowych umiejętności. Pojawiają się objawy neurologiczne, takie jak: napady drgawkowe, małowłowie, apraksja, alalia, hipo- lub amimia, hipertonia mięśniowa, hiperrefleksja, stereotypia ruchowa [3]. Rozwój psychiczny jest zaburzony (brak rozwoju mowy, brak prezentacji potrzeb, zachowania autystyczne). Wielu autorów podkreśla, że kluczową rolę w mechanizmie zaburzeń ZR ma stres oksydacyjno-redukcyjny [4]. Badacze ci stwierdzili zwiększenie poziomu żelaza w surowicy krwi, a zmniejszenie jego stężenia w erytrocytach. Uważają, że przyczyną tego zjawiska jest peroksydacja błony komórkowej erytrocytów, co powoduje zwiększenie przepuszczalności dla jonów żelaza. Oksydaza proliny występująca w mitochondriach mózgu ulega dezaktywacji (prolina nie jest rozkładowa). Obserwuje się zwiększenie stężenia proliny. W rezultacie spada przeżywalność komórek. Autorzy na podstawie badań twierdzą, że występuje korelacja między nasileniem objawów zespołu Retta a nasileniem zaburzeń oksydacyjno-redukcyjnych. U podłoża tych zależności pozostaje hipoksja komórkowa.

**Choroba Parkinsona** występuje najczęściej u ludzi wieku 50–65 lat, rzadko poniżej 40 roku życia. Rodzinne i dziedziczne występowanie choroby zdarza się stosunkowo rzadko. U podłoża tej choroby leży zanik komórek istoty czarnej mózgu oraz mniej lub bardziej nasilone zmiany w innych jądrach podkorowych i w korze mózgu. Badania biochemiczne wykazały zmniejszenie ilości dopaminy. Niedobór dopaminy zaburza równowagę pomiędzy synapsami dopaminergicznymi i cholinergicznymi. Najczęściej obserwowanym deficytem mitochondrialnym w ch. Parkinsona jest obniżona aktywność kompleksu I wraz ze zmniejszeniem ilości koenzymu Q. W istocie czarnej obserwowana jest obecność produktów peroksydacji

lipidów i białek oraz kompleksów nitrazolowych [1]. W korze mózgu okolicy czołowej w mitochondriach spada aktywność (Mn-SOD) oraz spada produkcja ATP, w efekcie obserwuje się zmniejszenie objętości mitochondriów [5]. Autorzy odnotowywali zmniejszone stężenie tlenu w płatach czołowych, które koreluje z nasileniem objawów choroby; 30–48% spadek masy mitochondriów u ludzi w podeszłym wieku jest rozumiany jako wynik osłabionego oddychania. W rezultacie następuje zmniejszenie produkcji ATP, a jednocześnie wytwarzanej energii. U pacjentów z ch. Parkinsona spadek objętości mitochondriów dochodzi do 38%–59% [5]. Autorzy upatrują przyczyny tego zjawiska w spadku aktywności enzymów oksydacyjnych (Mn-SOD). Zaburzenia oksydacyjno-redukcyjne w neuronach dopaminergicznym oraz korze czołowej prowadzą do zaburzeń produkcji białek, w tym dopaminy (efektem zaburzeń w korze czołowej jest spadek funkcji poznawczych).

**Stwardnienie boczne zanikowe SLA** to kolejna choroba neurodegeneracyjna, w której stwierdzono patologię w zakresie równowagi oksydacyjno-antyoksydacyjnej. Choroba ta dotyczy obwodowego neuronu ruchowego (komórek ruchowych rdzenia i opuszki) oraz ośrodkowego neuronu ruchowego (dróg korowo-rdzeniowych). Postępujący zanik dotyczy komórek ruchowych, w tym komórek olbrzymich Betza i piramidowych średniej wielkości w korze okolicy czołowej. Choroba prowadzi do śmierci w ciągu 3–5 lat. W tym schorzeniu obserwuje się również zaburzenie metabolizmu energetycznego, jest to wyrażone poprzez zmniejszenie zużycia glukozy w korze mózgu. W przeciwieństwie do innych chorób neurodegeneracyjnych aktywność niektórych enzymów łańcucha oddechowego jest podwyższona. Mitochondria ulegają obrzękowi, wakuolizacji i zmieniają kształt. W stwardnieniu bocznym zanikowym występuje stres nitrooksydacyjny [1]. W modelu SLA u myszy odkryto mutację genu kodującego dysmutazę ponadtlenkową SOD1, co prowadzi do postawienia hipotezy, że i u podłoża tej choroby leżą zaburzenia oksydacyjno-redukcyjne. Pacjenci z mutacją genu CNTF warunkującego powstanie SOD1 oraz genu TXNRD1 ujawniają początek choroby wcześniej niż inni chorzy, szczególnie w rodzinnej postaci SLA [6]. W wyniku reakcji tlenu azotu z triolami (grupami sulfhydrolowymi-SH) następuje ich utlenienie do disulfidów. Reakcja ta powoduje utratę aktywności szeregu enzymów, w tym antyoksydacyjnych. Obserwowano podwyższenie stężenia proliny w wyniku braku jej rozkładu z powodu inaktywacji rozkładających ją enzymów [6]. Rozważane jest znaczenie przebytej grypy i mutagennego działania wirusów grypy. Również w innych chorobach neurodegeneracyjnych, takich jak ch. Alzheimerera, ch. Parkinsona, obserwuje się

mutację genów TXNRD1, TXNRD2, TRX i PRDX1. Są to geny ekspresyjne procesów oksydacyjnych.

**Choroba Alzheimera** jest chorobą pojawiającą się w późnym wieku, w 98% są to sporadyczne przypadki. Choroba ta prowadzi do postępującego otępienia, a następnie do śmierci. Zmiany dotyczą głównie nowej kory i hipokampa. Patologia naczyń mózgowych jest głównym czynnikiem ryzyka w ch. Alzheimera. Późna postać choroby najczęściej występuje u osób z nadciśnieniem tętniczym, cukrzycą i miażdżycą. Allel E4 genu kodującego apolipoproteinę E jest czynnikiem ryzyka zarówno dla miażdżycy, jak i ch. Alzheimera. Podwyższenie poziomu hormonów kortykosterydów również zwiększa ryzyko tej choroby.  $\beta$  amyloid, będący głównym składnikiem płytek starczych i złożeń amyloidu w chorobie Alzheimera, powstaje poprzez rozkład białek APP przez  $\beta$  sekretazę i V-sekretazę. Zauważono że  $\beta$  amyloid warunkuje produkcję wolnych rodników uszkadzających DNA. Zdania badaczy są podzielone, niektórzy uważają, że istnieją geny odpowiedzialne za hypermetylację DNA, inni zaś uważają, że ujawnienie się choroby zależy od genów ekspresyjnych, które zostają uaktywnione przez zakażenie wirusami, np. wirusem grypy [7]. W błonie komórkowej odkryto proteazę Asp2-, mającą właściwości profilaktyczne i terapeutyczne w ch. Alzheimera [1]. Ostatnio w próbach leczenia zaczęto stosować takie antyoksydanty, jak kwas askorbinowy, glutation, wit. E. Z badań eksperymentalnych i założeń teoretycznych powstała próba zapobiegania i leczenia chorób neurodegeneracyjnych niesterydowymi środkami przeciwzapalnymi (aspiryna, indometacyna).

Teoria zaburzeń oksydacyjno-redukcyjnych, która mówi, że są one podłożem lub następstwem neurodegeneracyjnej choroby daje nam podstawę i nadzieję, do wzięcia pod uwagę leczenia w przyszłości takimi antyoksydantami, jak **wit. C i wit E**. Mogą one pozytywnie skutkować w zapobieganiu lub być leczeniem wspomagającym w tych chorobach.

**Wit. C** jest antyoksydantem ze względu na swoje silne właściwości redukcyjne. Jest uważana za najistotniejszy antyoksydant płynów pozakomórkowych, ale również odgrywa ważną rolę w ochronie stanu oksydacyjno-antyoksydacyjnego wewnątrz komórki. Askorbinian dla człowieka jest witaminą, czyli nie umiemy jej wytwarzać, musimy ją pobierać z zewnątrz. W reakcjach z oksydantami wit. C ulega redukcji jednoelektronowej, tworząc nietrwały wolny rodnik askorbinowy, lub dwuelektrodowej w wyniku, której powstaje dehydroaskorbinian – również stosunkowo nietrwały. W dużych stężeniach askorbinian wykazuje właściwości antyoksydacyjne, ale w małych stężeniach ma działanie stymulujące powstawanie wolnych rodników,

zwłaszcza w obecności jonów metali przejściowych [2]. Wit. C jest koofaktorem różnych enzymów, włączając w to syntetazę katecholamin [9]. Dostarczana jest do mózgu za pośrednictwem białka transportującego SVCT2. Największa jej koncentracja w mózgu występuje w gruczołach wydzielania dokrewnego. Odgrywa rolę w działaniu układu dopaminergicznego, cholinergicznego i GABA-ergicznego. Wielu autorów podkreśla jej ważną rolę w dojrzewaniu układu nerwowego, zapobieganiu miażdżycy oraz chorobom neurodegeneracyjnym [8]. Inni autorzy podkreślają rolę zapobiegawczą w oksydacyjnym uszkodzeniu DNA w nasieniu ludzkim.

**Tokoferol**, czyli wit. E, jest koenzymem enzymatycznym, jego głównym zadaniem jest funkcja antyoksydacyjna. U człowieka niedobór wit. E powoduje skrócenie życia erytrocytów, zaburzenie neurologiczne, obniżenie odporności oraz zwiększa prawdopodobieństwo wystąpienia niektórych nowotworów. Wit. E jest rozpuszczalna w tłuszczach, występuje w błonach komórkowych i lipoproteinach osocza. Jej zadaniem jest usuwanie powstałych wolnych rodników oraz terminacja reakcji peroksydacji lipidów [2]. Wit. E wspomaga pracę dendrytów i produkcję neuroprzekazników oraz moduluje pracę limfocytów podczas zapalenia mózgu wywołanego wirusem opryszczki. Limfocyty T wytwarzane są w mózgu przez parenchymę [10].

## PODSUMOWANIE

Z opinii wielu autorów wynika, że w postępujących chorobach neurodegeneracyjnych istotną rolę odgrywa nieprawidłowa równowaga oksydacyjno-redukcyjna. Uszkodzenie dotyczy różnych okolic mózgu i jest modelowane przez czynniki zewnętrzne, takie jak wirusy grypy, opryszczki, czy niedobory żywnościowe, lub jest uwarunkowana genetycznie (różna ekspresja genów). Otwarta jest nadal sprawa skutecznego leczenia powyższych chorób. Prace przytaczanych autorów wiążą nadzieję z podawaniem dużych dawek antyoksydantów, jak np. wit. C i wit. E, w leczeniu i zapobieganiu powyższym chorobom. Znaczeniu wolnych rodników i selenu w padaczce u dzieci jest poświęcona oddzielna praca autorów, która ukaże się w Aktualnościach Neurologicznych. Stan współczesnej wiedzy związanej z procesami oksydacyjno-antyoksydacyjnymi w patogenezie niektórych chorób neurologicznych nie jest nadal pełny, co przemawia za kontynuacją przez autorów badań nad wpływem antyoksydantów (np. selenu) na przebieg padaczki u dzieci.



**PIŚMIENNICTWO**

- [1] Srebro Z, Lach H. Stres metaboliczny w chorobach neurodegeneracyjnych i psychicznych. Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellońskiego, Kraków 2002; 46–60.
- [2] Bartosz G. Druga twarz tlenu. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2006.
- [3] Kopeć Z. Kompendium zespołów i rzadkich chorób dziecięcych. Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich, Warszawa 1984; 501.
- [4] De Felice C, Cicoli L, Leoncini S et al. Systemic oxidative stress in classic Rett syndrome. *Free Radial Biology & Medicine* 2009; 47: 440, 448.
- [5] Nararro A, Boveris A, Bandez MJ et al. Human brain cortex: mitochondria oxidative damage and adaptive response in Parkinson disease and in dementia with Lewy bodies. *Free Radial Biology & Medicine* 2009; 46: 1574–1580.
- [6] Mitchell J, Morris A, de Bellerocche J. Thioredoxin reductase 1 haplotypes modify familial amyotrophic lateral sclerosis onset. *Free Radial Biology & Medicine* 2009; 46: 202–211.
- [7] Zawia NH, Lahiri DK, Cardozo-Pelaez F. Epigenetics, oxidative stress, and Alzheimer disease. *Free Radial Biology & Medicine* 2009; 46: 1241–1249.
- [8] Harison FE, May JM. Vitamin C function in the brain: virol role of the ascorbate transport SVCT2. *Free Radial Biology & Medicine*, 2009; 46: 719–730.
- [9] Chattejee IB, Majumder AK, Nandi BK et al. Synthesis and some major functions of vitamin C in animals. *Ann NY Acad Sci* 258; 24–47.
- [10] Sheridan AP, Beck MA. The dendritic and T cell responses to herpes simplex virus-1 are modulated by dietary vit. E. *Free Radial Biology & Medicine* 2009; 46: 1581–1588.

**Adres do korespondencji:**

prof. dr hab. n. med. Janusz Wendorff  
Klinika Neurologii, Instytut CZMP w Łodzi  
93-338 Łódź, ul. Rzgowska 281/289  
e-mail: janusz\_wendorff@o2.pl  
tel/fax 42 271 14 12

