

# Stres oksydacyjny w procesach uszkodzenia komórek

JULITA KULBACKA, JOLANTA SACZKO, AGNIESZKA CHWIŁKOWSKA

Akademia Medyczna we Wrocławiu, Katedra i Zakład Biochemii Lekarskiej, kierownik: prof. dr hab. A. Gamian

## Stres oksydacyjny w procesach uszkodzenia komórek

Kulbacka J.<sup>1</sup>, Saczko J.<sup>1</sup>, Chwiłkowska A.<sup>1</sup>

Akademia Medyczna we Wrocławiu, Katedra i Zakład Biochemii Lekarskiej

Stres oksydacyjny można określić jako zaburzenie równowagi między natężeniem procesów oksydacyjnych, które indukują powstawanie reaktywnych form tlenu (RFT) i przeciwdziałającym systemem obronnym – antyoksydacyjnym. U podłoża większości stanów patologicznych chorób leżą przewlekłe zmiany związane z kancerogennym działaniem wolnych rodników tlenowych. Reaktywne formy tlenu mogą powodować utlenienie tłuszczów, białek, DNA i w następstwie przyczynić się do uszkodzenia tkanek. Toksyczne produkty reakcji utleniania działają cytostatycznie na komórkę uszkadzając błony komórkowe oraz prowadząc komórkę do śmierci na drodze apoptozy lub nekrozy. Stan równowagi komórek utrzymuje się przez enzymy antyoksydacyjne, takie jak: dysmutaza nadtlenkowa, katalaza, transferaza S-glutationowa oraz inne substancje, jak np. glutation czy witaminy E, C i A. Związki te umożliwiają usuwanie nadmiaru RFT z komórek.

**Słowa kluczowe:** wolne rodniki, stres oksydacyjny, uszkodzenie komórki

Pol. Merk. Lek., 2009, XXVII, 157, 44

## Oxidative stress in cells damage processes

Kulbacka J.<sup>1</sup>, Saczko J.<sup>1</sup>, Chwiłkowska A.<sup>1</sup>

Medical University of Wrocław, Poland, Department of Medical Biochemistry

Oxidative stress may be defined as an imbalance between reactive oxygen species (ROS) and the antioxidant defense system. It is now known that oxidative stress is involved in most of pathological states and diseases. ROS and other oxidants can cause oxidation of lipids, proteins and DNA with following tissue damage. Toxic products of oxidation proceed cytostatic effects causing membrane damage and lead into cell death via apoptosis or necrosis. The redox status of the cell is maintained by antioxidant enzymes such as superoxide dismutase, catalase, glutathione S-transferase and other substances such as glutathione, vitamins E, C and A, which provide to eliminate ROS.

**Key words:** free radicals, oxidative stress, cells damage

Pol. Merk. Lek., 2009, XXVII, 157, 44

Brak równowagi pomiędzy generacją reaktywnych form tlenu (RFT), a zdolnościami antyoksydacyjnymi organizmu określa się, jako stres oksydacyjny. Wolne rodniki w żywych organizmach mogą powstawać również na skutek działania czynników zewnętrznych (np. promieniowania UV, promieniowania jonizującego) oraz podczas reakcji obronnych układu immunologicznego organizmu. Wytwarzanie wolnych rodników następuje również podczas prawidłowych procesów fizjologicznych w różnych przedziałach komórki. W warunkach fizjologicznych procesy te znajdują się pod ścisłą kontrolą organizmu, w wyniku działania enzymatycznych i nieenzymatycznych mechanizmów obronnych [25]. Wiadomo również, że wolne rodniki pośredniczą w istotnych dla komórki funkcjach, takich jak: wzrost komórek, proliferacja, różnicowanie czy apoptoza [8]. Zaburzenie tych mechanizmów pod wpływem różnych czynników chorobotwórczych lub oddziaływań zewnętrznych wywołuje znaczne zwiększenie stężenia rodników w organizmie, a w konsekwencji występowanie reakcji patologicznych prowadzących do uszkodzenia komórek i tkanek [8, 15].

Niszczące działanie rodników może obejmować praktycznie wszystkie występujące w organizmie biocząsteczki wywołując uszkodzenia na poziomie molekularnym oraz organeli komórkowych. Wolne rodniki w warunkach *in vitro* wywołują chemiczne modyfikacje oraz uszkadzają białka (agregacja i denaturacja), lipidy (peroksydacja), węglowodany i nukleotydy, indukują zmiany w strukturze DNA prowadzące do mutacji lub efektów cytotoxycznych itp. [2, 25].

Reaktywne formy tlenu i azotu (RFA) mogą nie tylko uszkadzać składniki komórki, ale również uczestniczyć w przeniesieniu sygnału, w różnicowaniu komórek i apoptozie. Reaktywne formy tlenu i RFA mogą aktywować czynniki transkrypcyjne (NF-κB). Patologiczna aktywacja tych procesów przez RFT może zaburzać prawidłowe funkcjonowanie komórki [21]. Główną rolę odgrywają reaktywne formy pochodzenia tleno-

wego:  $^1O_2$ ,  $O_2^-$ ,  $HO_2^*$ ,  $^*OH$  oraz  $H_2O_2$ . Rdnik  $^*OH$  jest bardzo reaktywny i reaguje z większością biocząsteczek ze stałymi szybkości k rzędu  $10^9 - 10^{10} \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , dlatego jego czas życia w matrycy biologicznej jest bardzo krótki (~1 ns) [2].

Reakcje rodnika  $^*OH$  polegają z reguły na odrywaniu atomów wodoru od atakowanych cząsteczek. Ze względu na dużą reaktywność i krótki czas życia rodniki hydroksylowe nie penetrują komórki, ale reagują z najbliższymi cząsteczkami. W wyniku tych reakcji powstają wtórne rodniki o różnicowanej reaktywności chemicznej. Może zostać zapoczątkowany ciąg przemian rodnikowych prowadzących do uszkodzeń komórki. Uszkodzenia powstają w miejscach często bardzo odległych od miejsca ataku rodnika hydroksylowego. Oznacza to, że pierwotnie utworzone centrum rodnikowe zlokalizowane w określonym fragmencie łańcucha białkowego ulega przeniesieniu w obrębie cząsteczki. Ważną rolę odgrywają w tym procesie aminokwasy zawierające w łańcuchu bocznym pierścienie aromatyczne (tryptofan, tyrozyna, histydyna) lub atom siarki (cysteina, metionina) [4, 8].

Poznanie mechanizmów reakcji rodnikowych zachodzących *in vitro* w wybranych modelowych układach biologicznych może przyczynić się do zrozumienia procesów rodnikowych zachodzących *in vivo* oraz przeciwdziałania ich negatywnym skutkom.

## PEROKSYDACJA LIPIDÓW

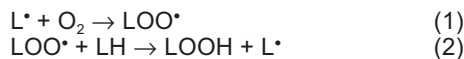
Duże znaczenie przypisuje się wolnym rodnikom w peroksydacji lipidów (LPO). Jest to wolnorodnikowy proces utleniania nienasyconych kwasów tłuszczowych lub innych lipidów, w którym powstają nadtenki tych związków [23].

Peroksydacja lipidów przebiega w trzech etapach: – inicjacji,

- propagacji,
- terminacji.

Inicjacja LPO polega na oderwaniu atomu wodoru od cząsteczki wielonienasyconego kwasu tłuszczowego lub reszty tego kwasu wchodzącej w skład fosfolipidu, głównego składnika budulcowego błon komórkowych. Zawarte w błonach komórkowych nienasycone kwasy tłuszczowe łatwo poddają się atakowi wolnych rodników. Peroksydacja lipidów może być zapoczątkowana przez rodnik hydroksylowy ( $\cdot\text{OH}$ ), oraz rodniki: nadtlenkowy ( $\text{LOO}\cdot$ ), alkoksylowy ( $\text{LO}\cdot$ ) lub alkilowy ( $\text{L}\cdot$ ) [26]. Peroksydacja lipidów może też być zainicjowana przez ozon, tlenek i dwutlenek azotu a także dwutlenki siarki i podchloryn [4].

Podczas reakcji propagacji (prolongacji) wolne rodniki alkilowe ( $\text{L}\cdot$ ) reagują z tlenem i tworzą wolne rodniki nadtlenkowe  $\text{LOO}\cdot$  (reakcja 1). Te z kolei mogą odrywać atomy wodoru od kolejnych cząsteczek wielonienasyconych kwasów tłuszczowych LH (reakcja 2). W tej reakcji wolny rodnik nie ginie, ale reaguje z następną cząsteczkę kwasu tłuszczowego:



Cykl ten powtarza się wielokrotnie, do momentu reakcji terminacji. Reakcja ta może zachodzić pomiędzy dwoma wolnymi rodnikami alkilowymi, nadtlenkowymi czy dwoma różnymi rodnikami, które występują w tym układzie. Produktami reakcji w błonach biologicznych są dimery fosfolipidów. Peroksydacja lipidów w komórce następuje w błonach zawierających również białka, a wolne rodniki powstające podczas peroksydacji mogą też reagować z tymi białkami. Powstają wtedy wolne rodniki białek, które uczestniczą w reakcjach terminacji i tworzą połączenia białko-lipidowe.

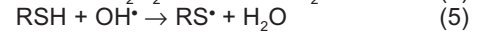
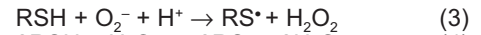
Komplikacją LPO jest zjawisko reinicjacji, podczas którego nadtlenki lipidów mogą ulegać rozkładowi. Zjawisko to może być również inicjowane przez jony metali przejściowych (Fe i Cu) [4, 23]. Dalsze przemiany produktów LPO zachodzą m.in. drogą  $\beta$ -eliminacji, co prowadzi do rozpadu reszt wielonienasyconych kwasów tłuszczowych i powstania kilku- i kilkunastowęglowych fragmentów. Jednym z nich jest dialdehyd malonowy – MDA (ang. malondialdehyde). Poza tym związkami powstają również inne aldehydy i hydroksyaldehydy (4-hydroksyalkenal, 2-alkenal, hepta-2,4-dienal, 5-hydroksyoktanal). Stężenie MDA w tkankach roślinie pod wpływem zwiększonego wytwarzania RFT [4, 18]. Aldehydy, które powstają podczas LPO mogą powodować pęknięcia nici DNA, są cytotoksyczne i działają mutagennie i kancerogennie [19].

Produkty peroksydacji lipidowej modyfikują właściwości fizyczne błon komórkowych. Zwiększa się przez to przepuszczalność błon dla jonów  $\text{H}^+$  i innych polarnych substancji, zmniejsza się różnica potencjałów elektrycznych po obydwu stronach dwuwarstwy lipidowej. Peroksydacja lipidów powoduje również zahamowanie aktywności niektórych enzymów błonowych i białek transportujących. Produkty LPO mogą również indukować ekspresję COX-2 (cyklooksygenaza-2) w makrofagach, istnieje zatem połączenie pomiędzy tlenową modyfikacją LDL, a aktywacją potencjału zapalnego makrofagów [13]. Ostatecznie komórka traci integralność błon wewnątrzkomórkowych i błony plazmatycznej [4, 17].

## DEGRADACJA BIAŁEK POD WPŁYWEM STRESU OKSYDACYJNEGO

Zmiany oksydacyjne w białkach są nieodłącznym efektem tlenowego metabolizmu komórkowego i mimo licznych układów ochronnych nie mogą zostać całkowicie wyeliminowane. Gromadzenie się utlenionych produktów białkowych upośledza

funkcje komórki i może doprowadzić nawet do śmierci komórki [3, 21]. Podczas stresu oksydacyjnego dochodzi do utlenienia komórkowych grup  $-\text{SH}$  bezpośrednio przez RFT: rodnik ponadtlenkowy ( $\text{O}_2^-$ ), nadtlenek wodoru ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) i rodnik wodorotlenkowy ( $\cdot\text{OH}$ ). Produktem utlenienia grup  $-\text{SH}$  są wówczas rodniki tyłowe  $\text{RS}\cdot$ , które ulegają dimeryzacji do disulfidów. Reakcje te zachodzą według wzorów [4, 21]:



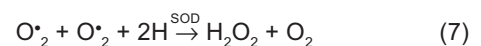
Uszkodzenie oksydacyjne grup  $-\text{SH}$  powoduje szybką utratę aktywności biologicznej białka, prowadzi do zaburzeń działania wielu transporterów i enzymów oraz narusza homeostazę wapniową. Największym zagrożeniem dla życia komórek w warunkach stresu oksydacyjnego jest utlenianie grup tiolowych w błonach. Może ono doprowadzić do dezintegracji błon i zwiększenia ich przepuszczalności. Reakcje RFT z białkami prowadzą nie tylko do utleniania białek, ale także do powstawania w białkach grup redukujących. Grupy te mogą redukować cytochrom c i metale. Mogą one powstawać w wyniku uszkodzenia aminokwasów aromatycznych. Grupy tiolowe białek są w równowadze z grupami tiolowymi glutationu (GSH), którego główną funkcją jest utrzymywanie  $-\text{SH}$  białek w stanie zredukowanym (redukcja mostków disulfidowych, co w wielu przypadkach jest niezbędne dla funkcjonalnej aktywności białek). Grupy tiolowe glutationu mogą uczestniczyć w usuwaniu elektrofilowych ksenobiotyków. Natomiast, GSH regeneruje takie antyoksydanty, jak witamina E, dzięki redukcji rodnika tokoferolowego. Dlatego glutation uważany jest za najważniejszy komórkowy „bufor tiolowy” [3, 4].

## MECHANIZMY OBRONNE PRZED DZIAŁANIEM WOLNYCH RODNIKÓW

Organizmy mające styczność z tlenem wytworzyły różne mechanizmy obronne chroniące ich integralność przed działaniem wolnych rodników. Jednym z elementów takiego systemu jest odpowiednia organizacja strukturalna komórek, która umożliwia izolację miejsc, w których zachodzą reakcje z wytwarzaniem rodników jako produktów ubocznych [10, 11]. Ważną rolę w ochronie przed rodnikami odgrywają różne mechanizmy metaboliczne. Podzielono je następująco [4, 15]:

- Reakcje z udziałem związków wygaszających wzbudzone cząsteczki (karetonoidy, witamina E).
- Mechanizmy nieenzymatyczne: ceruloplazmina, transferyna, poliamidy, jony metali przejściowych, sekwestr metali, metalotioneiny.
- Mechanizmy enzymatyczne: dysmutaza ponadtlenkowa (SOD), katalazy (CT), peroksydaza glutationowa (GPx), reduktaza glutationowa (GRd), S-transferaza glutationu (GST) oraz grupa fosfolipaz wydzielniczych  $\text{A}_2$  (sPLA<sub>2</sub>).
- Reakcje z udziałem białek szoku cieplnego (HSP) – białka opiekuńcze i proteazy.

Do najbardziej znanych naturalnych enzymów antyoksydacyjnych należą: dysmutaza ponadtlenkowa (SOD), katalaza i peroksydaza glutationowa. SOD (EC1.11.1.6) jest enzymem katalizującym reakcję dysmutacji anionorodnika ponadtlenkowego:



Występuje on w postaci wewnątrz- i zewnątrzkomórkowej. Postać wewnątrzkomórkowa ma formę mitochondrialną z manganem w centrum aktywnym (MnSOD) i cytoplazmatyczną z miedzią i cynkiem (Cu/Zn SOD). Postać zewnątrzkomórkowa (EC-SOD) rozkłada rodnik ponadtlenkowy w prze-

strzeni pozakomórkowej, dzięki czemu chroni powierzchnię naczyń przed działaniem rodnika ponadtlenkowego [7, 19].

Istotną rolę w ochronie komórek przed produktami utleniania, czyli w procesie odtruwania organizmu, odgrywają S-transferazy glutationowe (EC 3.1.2.7). Jest to grupa enzymów drugiej fazy metabolizmu, która przeciwdziała procesom nowotworzenia [4, 14]. Enzymy te odgrywają znaczącą rolę w detoksykacji i redukcji RFT oraz ich produktów. Katalizują reakcje sprzęgania glutationu z różnymi związkami elektrofilowymi (w tym z ksenobiotykami):



gdzie:

R – związek elektrofilowy;

GSH – glutation;

X – atom chlorowca lub inna grupa reaktywna (np. –OH).

Inną funkcją S-transferaz glutationowych w obronie przed RFT jest katalizowanie reakcji sprzęgania z glutationem aldehydowych produktów peroksydacji lipidów. Jedną z klas tych enzymów ma silne powinowactwo do 4-hydroksyaldehydów [28]. Izoenzymy GST sklasyfikowano, jako alfa, pi oraz teta. Wykazują one różną dystrybucję i charakterystykę w poszczególnych tkankach. S-transferaza glutationu pi (GST-pi) odgrywa ważną rolę w procesach detoksykacji, chroniących komórki przed uszkodzeniem DNA, w tym także komórki nowotworowe przed toksycznością leków przeciwnowotworowych. Wysokie stężenie GST-pi jest złym czynnikiem prognostycznym w raku jelita grubego oraz innych nowotworach (raku jajnika, niedrobnokomórkowym raku płuca, raku żołądka, przewlekłej białaczce limfatycznej i glejakach) [20, 28].

### Fosfolipazy wydzielnicze

Szlak fosfolipazy A<sub>2</sub> (EC 3.1.1.4) zaczyna się uwolnieniem fosfolipidów kwasu arachidonowego, który metabolizowany jest następnie do prostaglandyn przez cyklooksigenazę i do leukotrienów przez lipooksygenazę [4]. Do fosfolipaz wydzielniczych zaliczamy grupy: IB, IIA, IIC, IID, IIE, IIF, III, V, IX, X, XI, XII, XIII oraz XIV. Fosfolipaza charakteryzuje się małą masą cząsteczkową (13-14 kDa) i dużą zawartością wiązań disiarczkowych. Do głównych grup fosfolipaz wydzielniczych ssaków należą: grupa I – trzustkowe sPLA<sub>2</sub> i grupa II – nietrzustkowe sPLA<sub>2</sub> [6].

Fosfolipazy z grupy II katalizują powstawanie lipidowych mediatorów różnych procesów patologicznych, głównie o podłożu zapalnym. Takimi mediatorami są lizofosfolipidy i ich pochodne oraz kwas arachidonowy i jego pochodne, głównie eikozanoidy. Lizofosfolipidy indukują uszkodzenia tkanek, aktywują leukocyty zwiększając ich przenikanie przez błonę śródbłonka oraz inicjują proliferację komórek nowotworowych. Z kolei eikozanoidy, są zaangażowane prawie we wszystkich procesach patologicznych, a zwłaszcza przebiegu procesów zapalnych [6].

Fosfolipazy wydzielnicze uwalniane są do pozakomórkowej matryks, gdzie wiążą się z powierzchnią komórki i indukują syntezę prostaglandyn. Fosfolipazy A<sub>2</sub> są aktywowane przez RFT. Następuje to dzięki współdziałaniu kilku mechanizmów, w tym peroksydacji lipidów i uwolnieniu Ca<sup>2+</sup>, a także fosforylacji enzymu przez kinazę białkową C. Zwiększoną ekspresję sPLA<sub>2</sub> wykazuje kilka rodzajów tkanek nowotworowych, m.in. nowotwory piersi, żołądka, trzustki, prostaty, jelita cienkiego i okrężnicy [14, 17].

### STRES OKSYDACYJNY W PROCESACH FIZJOLOGICZNYCH I NOWOTWOROWYCH

Z danych doświadczalnych wynika, że komórki nowotworowe mają znacznie obniżoną aktywność niektórych enzymów antyoksydacyjnych, w porównaniu z komórkami prawidłowymi. Mała aktywność dysmutazy ponadtlenkowej i katalazy może prowadzić do stresu oksydacyjnego, którego skutkiem są uszkodzenia DNA w komórkach nowotworowych. Z kolei

nadekspresja GST-pi w odpowiedzi na tworzenie się komórek nowotworowych jest prawdopodobnie mechanizmem opornościowym dzięki któremu komórki mogą przeżyć [30].

Wykazano, że aktywność dysmutazy ponadtlenkowej jest zahamowana na skutek reakcji cząsteczek białka enzymatycznego z wolnymi rodnikami powstającymi zarówno w czasie metabolizmu etanolu, jak i acetaldehydu. Dotyczy to głównie rodnika hydroksylowego, a także rodnika 1-hydroksyetylowego, których wytwarzanie jest związane z indukcją cytochromu P-450 [10].

Reakcja dysmutazy ponadtlenkowej z rodnikiem 1-hydroksyetylowym prawdopodobnie polega na alkilowaniu reszt aminokwasowych łańcucha bocznego białka enzymu lub jest związana z przeniesieniem elektronu na jon miedzi grupy prostetycznej enzymu, co w obu przypadkach może prowadzić do inaktywacji SOD. Jednak szybkość wychwytywania rodnika 1-hydroksyetylowego przez dysmutazę ponadtlenkową jest mniejsza niż rodnika hydroksylowego. Wykazano, że z dużą szybkością zachodzi także reakcja pomiędzy SOD, a rodnikami hydroksynadtlenoalkilowymi, szczególnie z 1-hydroksyetylo-1-nadtleno-rodnikiem, którego powstawanie również wiąże się z metabolizmem etanolu [7, 10].

Szczególnie podatne na działanie wolnych rodników są aminokwasy aromatyczne i siarkowe. Badania wskazują, że ocena zawartości grup tiolowych jest lepszym wskaźnikiem stresu oksydacyjnego niż pomiar całkowitego statusu oksydacyjnego – TAC (ang. total antioxidative capacity) [3]. Następnym etapem oksydacyjnej modyfikacji jest zmiana aktywności białek. Utlenienie grup tiolowych może prowadzić do zmiany struktury trzeciorzędowej lub agregacji białek. Najczęściej dochodzi do inaktywacji.

Niektóre białka wymagają udziału wolnych rodników w pełnieniu funkcji biologicznych; są to m.in. S-transferazy glutationowe, cykloazy guanylanowa czy oksydaza glukozowa. Inne modyfikacje białek zależą od lipidów i węglowodanów. Modyfikacji tych dokonują pośrednie produkty peroksydacji lipidów, takie jak: rodnik alkoksylový (LO<sup>•</sup>) i (LOO<sup>•</sup>). Reagują one szczególnie łatwo z resztami histydylowymi i prolylowymi. Dotyczy to głównie białek błonowych uczestniczących w transporcie jonów: Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATP-azy i Ca<sup>2+</sup>-ATP-azy. Następnym etapem jest akumulacja jonów wapnia w cytozolu i zwiększona aktywacja wapniozależnych fosfolipaz i proteaz [27].

Reakcje oksydacyjne są szczególnie ważne, ponieważ mogą powodować osłabienie oddziaływań pomiędzy lipidami i białkami, modyfikacje i fragmentację białek błonowych oraz utratę integralności błony, prowadząc do śmierci komórki. Głównym procesem oksydacyjnym w błonach jest peroksydacja lipidów, która jest reakcją wolnorodnikową. Aktywne chemicznie związki powstałe w wyniku tych procesów mogą przemieszczać się do jądra komórkowego i reagować z DNA.

Produkty LPO stanowią grupę związków potencjalnie mutagenicznych i kancerogennych. Dużą toksycznością charakteryzuje się 4-HNE, natomiast najbardziej mutagenny jest MDA [18]. Większość metod oznaczania LPO opiera się na oznaczaniu poszczególnych produktów (4-hydroksynonenal, isoprostany, dialdehyd malonowy itd.) w ekstraktach komórkowych. Żadna z tych metod nie dostarcza informacji o wewnątrzkomórkowej lokalizacji tego procesu [23]. Istotne jest wyjaśnienie, w jakich organellach komórkowych jest indukowany stres oksydacyjny oraz jak się rozprzestrzenia. Badanie stężenia adduktów etanowych adeniny i cytozyny powstałych na skutek LPO w nabłonku okrężnicy, tkance polipa okrężnicy oraz raku okrężnicy wykazało, że mogą one być biologicznymi markerami ryzyka przekształcenia na wczesnym etapie zmiany łagodnej, spowodowanej uporczywym stanem zapalnym, w zmianę złośliwą [24]. Wykazano, że dzięki adduktom ε-DNA, można ocenić wydajność zapobiegawczego leczenia, np. stosowanych antyoksydantów [22, 23].

Wiele wewnętrznych przemian łączy Ca<sup>2+</sup> i metabolizm lipidów. W wielu przypadkach odnotowano szybkie uwalnianie metabolitów kwasu arachidonowego po terapii fotodynamicznej [16]. Z kolei uwalnianie kwasu arachidonowego i

synteza prostaglandyn  $E_2$  jest indukowane przez fosfolipazę  $A_2$  z grupy IIA [1]. Główną funkcją sPLA<sub>2</sub> II jest pośredniczenie i przekazywanie sygnałów w stanach zapalnych [31]. Istnieje hipoteza, że fosfolipaza  $A_2$  z grupy II jest czynnikiem regulującym procesy metaboliczne.

Ekspresja sPLA<sub>2</sub> jest indukowana poprzez cytokiny stanu zapalnego: TNF- $\alpha$  (ang. tumour necrosis factor  $\alpha$ ) i interleukinę 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), oraz regulowana przez cytokiny przeciwzapalne i glukokortykoidy [1]. Jensen i wsp. wykazali znaczące zwiększenie aktywności sPLA<sub>2</sub> podczas tworzenia naczyń krwionośnych tkanki nowotworowej oraz w nowotworach, które wykazują odległe przerzuty [12]. Autorzy zbadali aktywność sPLA<sub>2</sub> w mediach hodowlanych komórek raka żołądka (KATO III), okrężnicy (COLO 205) i komórek epitelialnych z żyły pępowinowej (HUVEC). Badania pokazały, że największe stężenie wydzielniczej fosfolipazy  $A_2$  jest w mediach komórek nowotworowych. W medium komórek prawidłowych obecność sPLA<sub>2</sub> była niewykrywalna [18].

Inni autorzy wykazali, że zahamowanie aktywności sPLA<sub>2</sub> powoduje zahamowanie proliferacji, indukcję apoptozy i spowolnienie angiogenezy [29]. Fosfolipaza  $A_2$  powoduje, że lipidy znajdujące się w błonach komórkowych ulegają przemianie do kwasu arachidonowego. Kwas ten następnie metabolizowany jest dwiema drogami w wyniku czego powstają: cyklooksigenaza (COX) i lipooksigenaza. Dane te sugerują, że zwiększenie ekspresji sPLA<sub>2</sub> będzie indukowało zwiększenie ekspresji COX-2. Z kolei zahamowanie sPLA<sub>2</sub> mogłoby zablokować tworzenie wtórnych przekaźników stanu zapalnego [1]. Dane eksperymentalne potwierdzają teorię, że poziom ekspresji sPLA<sub>2</sub>-IIA może być markerem zmian nowotworowych i stanów zapalnych oraz skuteczności stosowanej terapii [16].

## PIŚMIENNICTWO

1. Andreani M., Olivier J.L., Berenbaum F. i wsp.: *Transcriptional regulation of inflammatory secreted phospholipases A2*. Biochim. Biophys. Acta, 2000, 1488, 149-158.
2. Bailey M.S., Landar A., Darley-Usmar V.: *Mitochondrial proteomics in free radical research*. Free Rad. Biol. Med., 2005, 38, 175-188.
3. Balcerczyk A., Bartosz G.: *Thiols are main determinants of total antioxidant capacity of cellular homogenates*. Free Radic. Res., 2003, 37, 537-541.
4. Bartosz G.: *Druga twarz tlenu, Wolne rodniki w przyrodzie*. PWN. Warszawa, 2003.
5. Bukowska B.: *Funkcje glutationu oraz czynniki zmniejszające jego stężenie*. 2005, 56, 1, 69-80.
6. Capper E.A., Marshall L.A.: *Mammalian phospholipases A2: mediators of inflammation, proliferation and apoptosis*. Prog. Lipid Res., 2001, 40, 167-197.
7. Gałęcka E., Jacewicz R., Mrowicka M. i wsp.: *Enzymy antyoksydacyjne – budowa, właściwości, funkcje*. Pol. Merk. Lek., 2008, 25, 147, 266-268.
8. Gałęcka E., Mrowicka M., Malinowska K. i wsp.: *Wolne rodniki tlenu i azotu w fizjologii*. Pol. Merk. Lek., 2008, 24, 143, 446-448.
9. Gałęcka E., Mrowicka M., Malinowska K. i wsp.: *Wybrane substancje nieenzymatyczne uczestniczące w procesie obrony przed nadmiernym wytwarzaniem wolnych rodników*. Pol. Merk. Lek., 2008, 25, 147, 269-272.
10. Halliwell B.: *A super way to kill cancer cells*. Nat. Med., 2000, 6, 1105-1106.
11. Jawniak D., Jawniak R., Małek M. i wsp.: *Wpływ stresu oksydacyjnego na przebieg kliniczny ostrych białaczek mieloblastycznych*. Rep. Pract. Oncol. Radiother., 2004, 9, 157-160.
12. Jensen S., Andresen T.L., Davidsen J. i wsp.: *Secretory phospholipase A2 as a tumor-specific trigger for targeted delivery of a novel class of liposomal prodrug anticancer etherlipids*. Mol. Cancer Ther., 2004, 3, 1451-1458.
13. Kumagai T., Matsukawa N., Kaneko Y. i wsp.: *A Lipid Peroxidation-derived Inflammatory Mediator. Identification of 4-hydroxy-2-nonenal as a potential inducer of cyclooxygenase-2 in macrophages*. J. Biol. Chem., 2004, 279, 48389-48396.
14. L'Ecuyer T., Allebban Z., Thomas R. i wsp.: *Glutathione S-transferase overexpression protects against anthracycline-induced H9C2 cell death*. Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol., 2004, 286, 2057-2064.
15. Łagowska-Lenard M., Bielewicz J., Raszewski G. i wsp.: *Stres oksydacyjny w udarze mózgu*. Pol. Merk. Lek., 2008, 25, 147, 205-208.
16. Makowski M., Grzela T., Niderla J. i wsp.: *Inhibition of cyclooxygenase-2 indirectly potentiates antitumor effects of photodynamic therapy in mice*. Clin. Cancer Res., 2003, 9, 5417-5422.
17. Moor A.C.E.: *Signaling pathways in cell death and survival after photodynamic therapy*. J. Photochem. Photobiol. B: Biol., 2000, 57, 1-13.
18. Niedernhofer L.J., Daniels J.S., Rouzer C.A. i wsp.: *Malonaldehyde, a product of lipid peroxidation, is mutagenic in human cells*. J. Biol. Chem., 2003, 278, 31426-31433.
19. Nowis D., Legat M., Grzela T., Niderla J., Wilczek E., Wilczynski G.M., Głodkowska E., Mrowka P., Issat T., Dulak J., Jozkowicz A., Was H., Adamek M., Wrzosek A., Nazarewski S., Makowski M., Stokłosa T., Jakobiński M., Golab J.: *Heme oxygenase-1 protects tumor cells against photodynamic therapy-mediated cytotoxicity*. Oncogene, 2006, 25, 3365-3374.
20. Pająk B., Orzechowski A.: *Złożony charakter niewrażliwości immunologicznej ludzkiego raka jelita grubego na niektóre cytokiny (TNF- $\alpha$ , interferony) na przykładzie linii komórkowej COLO 205. Mechanizm niewrażliwości – z uwzględnieniem białek sygnałowych\**. Postępy Hig. Med. Dośw., 2004, 58, 428-437.
21. Ponczek M. B., Wachowicz B.: *Oddziaływanie reaktywnych form tlenu i azotu z białkami*. Postępy Biochem., 2005, 51, 140-145.
22. Przybyszewski W.M., Kasperczyk J., Stokłosa K. i wsp.: *Uszkodzenia DNA spowodowane przez produkty peroksydacji lipidów*. Postępy Hig. Med. Dośw., 2005, 59, 75-81.
23. Sakharov D.V., Elstak E.D.R., Chenryak B.V. i wsp.: *Prolonged lipid oxidation after photodynamic treatment. Study with oxidation-sensitive probe C11-BODIPY581/591*. FEBS Lett., 2005, 579, 1255-1260.
24. Schmid K., Nair J., Winde G. i wsp.: *Increased levels of promutagenic etheno-DNA adducts in colonic polyps of FAP patients*. Int. J. Cancer, 2000, 87, 1-4.
25. Sheu S-S., Nauduri D., Anders M.W.: *Targeting antioxidants to mitochondria: A new therapeutic direction*. Biochim. Biophys. Acta, 2006, 1762, 256-265.
26. Shevchuk I.N., Chekulayev V.A., Chekulayeva L.V.: *The role of lipid peroxidation and protein degradation in the photodestruction of ehrlich ascites carcinoma cells sensitized by hematoporphyrin derivative*. Exp. Oncol., 2002, 24, 216-224.
27. Skrzydlewska E., Farbiszewski R., Gacko M.: *Wpływ oksydacyjnej modyfikacji białek na równowagę proteazy-antyproteazy i proteolizę komórkową*. Postępy Hig. Med. Dośw., 1997, 51, 443-456.
28. Strange, R.C., Spiteri, M.A., Ramachandran, S. i wsp.: *Does glutathione S-transferase pi (GST-pi) a marker protein for cancer?* Mol. Cell. Biochem., 2003, 253, 319-327.
29. Taketo M.M., Sonoshita M.: *Phospholipase A2 and apoptosis*, Biochim. Biophys. Acta, 2002, 1585, 72-76.
30. Townsend D.M., Tew K.D.: *The role of glutathione-S-transferase in anti-cancer drug resistance*. Oncogene, 2003, 22, 7369-7375.
31. Triggiani M., Granata F., Giannattasio G. i wsp.: *Secretory phospholipases A2 in inflammatory and allergic diseases: Not just enzymes*. J. Allergy Clin. Immunol., 2005, 116, 1000-1006.

Otrzymano 24 marca 2009 r.

Adres: Julita Kulbacka, Akademia Medyczna we Wrocławiu, Katedra i Zakład Biochemii Lekarskiej, 50-368 Wrocław, ul. Chałubińskiego 10, tel. 071 784 13 75, fax. 071 784 00 85, e-mail: jkulbacka@gmail.com