

ARKADIUSZ CZAJKA

WOLNE RODNIKI TLENOWE A MECHANIZMY OBRONNE ORGANIZMU

REACTIVE OXYGEN SPECIES AND MECHANISMS OF BODY PROTECTION

Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych
Akademii Medycznej im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
Kierownik: prof. dr hab. med. Jacek Juszczyk

Streszczenie

Każda komórka bierze udział w reakcjach oksydacyjno-redukcyjnych, które prowadzą do powstania wolnych rodników tlenowych. Powstają one głównie w hepatocytach i w pobudzonych makrofagach wątrobowych oraz w komórkach nacieku zapalnego. Wykazują działanie destrukcyjne, gdyż utleniając główne składniki komórki, doprowadzają do uszkodzenia lub wadliwego funkcjonowania wielu struktur komórkowych, a w konsekwencji do dysfunkcji komórki. W celu przeciwdziałania tym zmianom w organizmie wykształciło się wiele mechanizmów chroniących przed generowaniem wolnych rodników tlenowych i uczestniczących w ich przemianie w nieaktywne pochodne. Mechanizmy te obejmują związki, pochodzenia zarówno egzo- i endogennego, które tworzą złożony system antyoksydacyjny o właściwościach enzymatycznych i nieenzymatycznych. W obronie biorą udział niskocząsteczkowe antyoksydanty oraz białka enzymatyczne, usuwając wolne rodniki tlenowe. W przypadku znacznego wzrostu rodników tlenowych, przy braku sprawnie działających mechanizmów antyoksydacyjnych pojawia się stres oksydacyjny, który jest elementem składowym molekularnych mechanizmów wielu chorób. Ponieważ wolne rodniki tlenowe mogą działać jako cząsteczki sygnałowe, odgrywają zasadniczą rolę w prawidłowym funkcjonowaniu komórki oraz w etiologii różnych chorób. Obecnie istnieje wiele metod pozwalających ocenić parametry stresu oksydacyjnego.

SŁOWA KLUCZOWE: wolne rodniki tlenowe, antyoksydanty, stres oksydacyjny, antyoksydacyjny układ ochronny.

Summary

Every cell takes part in chemical reactions of oxidation and reduction of biomolecules. These reaction pathways can lead to the production of free radicals. Reactive oxygen species (ROS) are generated in hepatocytes, activated macrophage or infiltrating cells. The excess ROS react with organic substrates and oxidation of these biomolecules can damage them, inhibiting normal function and finally causing death cell. During evolution organism developed an extensive, highly effective group of protective agents and defense mechanisms the so-called antioxidant defense system (ADS). Basic antioxidants are either exogenous or endogenous and includes enzymes and agents which prevent the start of oxidative damage or control its spread. Antioxidants remove ROS and can be divided into following categories: small molecule and large molecule (enzyme) antioxidants. Oxidative stress occurs when the generation of ROS in a system exceeds the system's ability to neutralize and eliminate them and plays a central role in many human diseases. ROS can act as cell signaling or messenger agents which means that they play a role in normal cellular function as well as in various disease etiologies. Today many technologies and products exist for research biomarkers related to oxidative stress.

KEY WORDS: reactive oxygen species, antioxidants, oxidative stress, antioxidant defense system.

Słownik skrótów:

1. ROS (*reactive oxygen species*) – wolne rodniki tlenowe
2. NADPH – (*reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate*) – zredukowana fosforanu dinukleotydu nikotynamidoadeninowego
3. NADH – (*reduced nicotinamide adenine dinucleotide*) – forma zredukowana dinukleotydu nikotynamidoadeninowego
4. ADS (*antioxidant defense system*) – antyoksydacyjny układ ochronny
5. GSH (*reduced glutathione*) – zredukowana forma glutationu
6. GSSG (*oxidized glutathione*) – utleniona forma glutationu
7. SOD (*superoxide dismutase*) – dysmutaza ponadtlenkowa
8. Gpx (*glutathione peroxidase*) – peroksydaza glutationu
9. CAT (*catalase*) – katalaza
10. MDA (*malondialdehyde*) – malonyldialdehyd
11. HCVcAg (*hepatitis C virus core protein*) – białko rdzeniowe wirusa zapalenia wątroby typu C

12. TAS (*total antioxidant status*) – całkowity potencjał antyoksydacyjny osocza
13. TRAP (*total radical-trapping antioxidant parameter*) – całkowita zdolność zmiatania wolnych rodników.

W ostatnich latach wzrosła liczba badań związanych z metaboliczną rolą tlenu. Wiadomo było, że tlen wykorzystywany w procesach metabolicznych, służący jako bardzo korzystnie energetycznie utleniacz, może także szkodzić. Cząsteczka tlenu może ulegać redukcji do cząsteczki wody w reakcjach dwuelektronowych oraz na drodze procesu jednoelektronowego. W wyniku tych procesów powstają wolne rodniki tlenowe. Wolnymi rodnikami tlenowymi (synonimy: reaktywne formy tlenu, aktywne postacie tlenu, tlenowe związki reaktywne) – ROS (*reactive oxygen species*) nazywamy cząsteczki zdolne do niezależnej egzystencji, zawierające co najmniej jeden atom tlenu i posiadające

co najmniej jeden lub więcej niesparowanych elektronów. Stan taki jest niekorzystny metabolicznie ze względu na wysoką reaktywność, krótki czas życia wolnych rodników oraz niezwykłą łatwość wchodzenia w reakcje chemiczne ze składnikami komórek.

Źródła wolnych rodników tlenowych

Wiele rodników tlenowych powstaje w wyniku naturalnie zachodzących procesów metabolicznych w organizmie, jakim jest oddychanie tlenowe oraz procesy zapalne [1]. Wolne rodniki oddziałują na komórki sygnalizujące lub cząsteczki przekaźnikowe, co wskazuje że odgrywają istotną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu komórki [5]. Uczestniczą w wielu procesach, m.in. w skurczach mięśni, wydzielaniu hormonów, w funkcjonowaniu układu obronnego, regulacji napięcia naczyniowego. Warunkują aktywność bakterioobójczą i bakterioostatyczną śliny. Biorą udział w usuwaniu leków z ustroju. O ich bezpośrednim destrukcyjnym działaniu na organizm możemy mówić wówczas, gdy są wytworzone w nadmiarze.

Tlenowe związki reaktywne są wytwarzane w mitochondrialnym łańcuchu oddechowym przez oksydazę NADPH, dysmutazę ponadtlenkową, oksydazy flawo-protein doprowadzając do zniszczenia DNA, RNA i białek w komórce [1, 2]. Kompleksy łańcucha oddechowego (I, III i IV) przenoszą parzystą ilość wodorów lub elektronów na tlen (reakcje dwuelektronowe). Te kompleksy to: I – dehydrogenaza NADH, III – kompleks cytochromów bc_1 , IV – oksydaza cytochromowa c [3, 4]. Mimo to część z nich „przecieka”, tzn. opuszcza łańcuch oddechowy redukując tlen na drodze procesu jednoelektronowego, prowadząc do wytworzenia wolnych rodników tlenowych [5, 6]. Głównymi kompleksami odpowiedzialnymi za „przeciekanie” elektronów są kompleks I oraz ubichinon [5]. Przyłączenie elektronu do cząsteczki tlenu przekształca tę cząsteczkę w anionorodnik ponadtlenkowy, główny przedstawiciel wolnych rodników w organizmie. Przyłączenie drugiego elektronu przyczynia się do powstania nadtlenu wodoru, najważniejszego prekursora wolnych rodników. Z kolei dołączenie trzeciego elektronu wytwarza toksyczny rodnik hydroksylowy, natomiast przyłączenie następnego elektronu generuje cząsteczkę wody, czyli związku niereaktywnego wobec składników komórki [6]. Wytworzony rodnik hydroksylowy wywiera destrukcyjny wpływ na komórkę, ponieważ niezbędne mu elektrony zdobywa ze związków w niej występujących [6] (tab. 1.).

Tab. 1. Tlenowe związki reaktywne i ich prekursorzy [1, 5]

Rodniki	Prekursorzy wolnych rodników
rodnik hydroksylowy anionorodnik	Nadtlenoazotyn ONOO ⁻
ponadtlenkowy rodnik	Kwas podchlorawy HOCl
wodronadtlenkowy rodnik alkoksylowy	Nadtlenek wodoru H ₂ O ₂
rodnik nadtlenu	Tlen singletowy ¹ O ₂
rodnik nadtlenu	Ozon O ₃

Endogennymi źródłami wolnych rodników są także komórki śródbłonna naczyń płuc. Dodatkowym źródłem są granulocyty kwasochłonne i obojętnochłonne, monocyty oraz makrofagi. Wiele rodników tworzy się w reakcjach biologicznych, np. w metabolizmie ksenobiotyków jako czynnik naturalnych procesów detoksykacyjnych w ustroju [5].

Wiele czynników zewnętrznych (egzogennych) może spowodować przyspieszenie ich powstawania w nadmiarze, np. nieprawidłowa dieta, palenie tytoniu i spożywanie alkoholu. Wzmoczone tempo oddychania podczas wysiłku fizycznego, zanieczyszczenia środowiskowe i przemysłowe, działanie promieniowania jonizującego stanowi dodatkowe źródło wytwarzania znacznej ilości wolnych rodników.

Antyoksydacyjny układ ochronny

W ustroju działanie ROS jest równoważone przez antyoksydanty (przeciwutleniacze). Są to substancje, które hamują stopień oksydacji cząsteczek i powodują przekształcenie się tych rodników w nieaktywne pochodne.

Skutecznie działającą grupę czynników ochronnych i mechanizmów naprawczych organizmu stanowi antyoksydacyjny układ ochronny – ADS (*antioxidant defense system*), który zabezpiecza komórki przed działaniem ROS [7, 8, 9]. ADS posiada rozbudowany system naprawczy, którego funkcja polega na uniemożliwieniu inicjacji reakcji utleniania oraz naprawie już powstałych uszkodzeń. W skład ADS wchodzi zmiatacze wolnych rodników, enzymy antyoksydacyjne oraz antyoksydanty prewencyjne. Dzięki ich działaniu produkcja wolnych rodników zostaje znacznie ograniczona, a powstałe już wolne rodniki zamieniane są na O₂ lub H₂O.

Usuwanie wolnych rodników odbywa się poprzez dwa mechanizmy:

1. System nieenzymatyczny, który tworzą substancje ochronne, które same przekazują wolnym rodnikom swoje elektrony, czyli przechodzą w postać utlenioną, która charakteryzuje się małą reaktywnością i tym samym uniemożliwiają utlenianie innych składników. Związki te określamy jako zmiatacze wolnych rodników. Reagują one z wolnymi rodnikami zabezpieczając komórki przed reakcjami wolnorodnikowymi. Wśród nich wyróżniamy związki egzogenne (rozpuszczalne w wodzie i w tłuszczach) oraz endogenne. Do związków egzogennych należy m.in.:

– Kwas askorbinowy (witamina C) – związek rozpuszczalny w wodzie, utleniając się chroni komórki przed atakiem wolnych rodników. Na ilość tego antyoksydanta ma wpływ wiele czynników, takich jak: dieta, styl życia, przebyte choroby, natężenie procesów metabolicznych.

– A-tokoferol (witamina E) – związek rozpuszczalny w tłuszczach, chroni przed utlenieniem błony komórkowej, lipidy i lipoproteiny oraz utrzymuje odpowiedni potencjał oksydoredukcyjny [5]. Jego główna rola polega na zmiataniu wolnych rodników organicznych, terminacji reakcji peroksydacji lipidów oraz wygaszaniu tlenu singletowego [10]. Obniżenie jej zawartości w błonach

biologicznych, np. w erytrocytach przyczynia się do nasilenia procesów peroksydacji lipidów oraz wzrostu przepuszczalności błon.

– Witamina i prowitamina A (β -karoten) – o właściwościach immunogennych spełniają podobną rolę ochronną jak witamina E. β -karoten wykazuje zdolność usuwania tlenu singletowego i nadtlenu lipidów, chroniąc w ten sposób komórki m.in. przed nowotworami i starzeniem się organizmu [11]. Stwierdzono, że stężenie β -karotenu i innych karotenoidów, takich jak: luteina, zeaksantyna, likopen, β -kryptoksantyna, α -karoten zmniejsza się wraz z wiekiem, z kolei stężenie witaminy A wzrasta u osób powyżej setnego roku życia [12],

– rozpuszczalny w tłuszczach koenzym Q_{10} , który ma zdolność regenerowania witaminy E i wzmacniania jej antyoksydacyjnej wydajności,

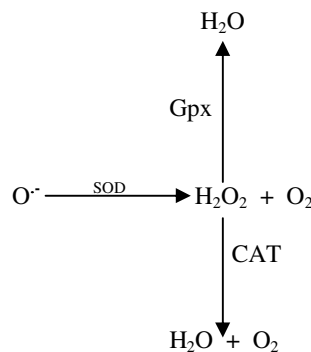
– flawonoidy – związki występujące w roślinach,
– kreatynina, neopteryna, melatonina, antocyjaniny, bilirubina, hormony płciowe (estron, estradiol) [5].

Do związków endogennych należy zredukowany glutation (GSH) – tripeptyd zbudowany z kwasu glutaminowego, cysteiny i glicyny. Stanowi podstawowy wewnątrzkomórkowy mechanizm układu antyoksydacyjnego, chroniący komórki wątrobowe przed szkodliwym działaniem nadtlenu, toksyn oraz wolnych rodników [13]. Odbywa się to za pośrednictwem reakcji nieenzymatycznej lub katalizowanych przez S-transferazę glutationową.

Jedną z przyczyn obniżenia stężenia GSH jest obniżenie jego syntezy. Szybkość syntezy glutationu zależy głównie od dostępności jego prekursorów – cysteiny i metioniny oraz aktywności enzymów biorących udział w jego syntezie, m.in. syntetazy γ -glutamylcysteinowej i cystationazy. W wątrobie obniżona synteza GSH wpływa na funkcjonowanie całego organizmu, gdyż narząd ten jest głównym źródłem glutationu dla krwi. W przewlekłym zakażeniu HCV stwierdza się zmniejszenie stężenia glutationu we krwi pełnej w porównaniu z osoczowym [14]. Wskazuje to na upośledzenie rezerwy wewnątrzkomórkowej i wewnątrzwątrobowej [14]. W badaniach własnych stwierdzono znaczną redukcję GSH w erytrocytach, u chorych na przewlekłe wirusowe zapalenie wątroby typu B i C [13, 15].

Obniżenie stężenia GSH może być także wynikiem jego zużycia w reakcjach z wolnymi rodnikami, wytworzonymi w nadmiernej ilości, czemu towarzyszy wzrost stężenia utlenionej formy glutationu (GSSG) oraz obniżenie potencjału utleniającego GSH/GSSG. Za główną przyczynę obniżenia się stosunku GSH/GSSG uważa się zmiany w aktywności enzymów biorących udział w metabolizmie glutationu [16],

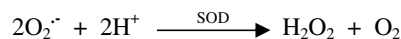
2. System enzymatyczny tworzą wyspecjalizowane enzymy, które przeprowadzają reakcje usuwające wolne rodniki oraz zapobiegają ich powstawaniu (ryc. 1.).



Ryc. 1. Główne enzymy usuwające reaktywne formy tlenu [5].

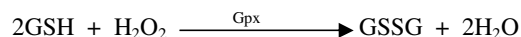
Do tych enzymów należy m.in.:

– SOD – enzym katalizujący reakcje rozkładu anionorodnika ponadtlenkowego do nadtlenu wodoru i tlenu cząsteczkowego:

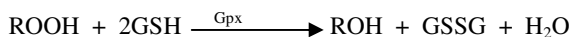


SOD jest metaloenzymem i stanowi zasadniczy mechanizm obrony przeciwko toksycznemu oddziaływaniu nadtlenu w komórkach [8]. Występuje w dwóch postaciach: wewnątrz- i zewnątrzkomórkowej. Wyróżniamy 3 izoforny dysmutazy ponadtlenkowej. Postać wewnątrzkomórkowa zlokalizowana jest w cytoplazmie i zawiera w centrum aktywnym miedź i cynk (Cu/Zn-SOD; SOD-1) oraz w macierzy mitochondrialnej z manganem w centrum aktywnym (Mn-SOD; SOD-2). Na zewnątrz komórek znajduje się pozakomórkowa dysmutaza ponadtlenkowa EC-SOD; SOD-3 (EC-extra-cellular), zawierająca również miedź i cynk

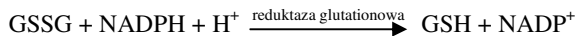
– Gpx jest selenoenzymem i bierze udział w redukcji nadtlenu wodoru do wody i przekształca zredukowany glutation w jego postać utlenioną, czyli w disulfid glutationu (GSSG):



Redukuje również nadtlenuki organiczne (np. nadtlenuki lipidów) do alkoholi:



Aby nie doszło do inaktywacji białek przez powstały GSSG, z peroksydazą glutationową współdziała reduktaza glutationowa, enzym odtwarzający zredukowaną formę glutationu kosztem utleniania NADPH:



lub jest aktywnie usuwany na zewnątrz komórki kosztem energii zgromadzonej w ATP [5].

Wyróżniamy 4 postaci tego enzymu. Klasyczna forma – cGPx – występuje głównie w erytrocytach i pełni rolę ochronną przed stresem oksydacyjnym, zwłaszcza nadtlenkiem wodoru. Peroksydaza GI-GPx występuje w przewodzie pokarmowym i w wątrobie. Jej zadaniem jest ochrona przed nadtlenkami i ksenobiotykami. Forma osoczowa – pGPx – zlokalizowana jest głównie w nerkach i jej funkcja polega na obronie przestrzeni pozakomórkowej. Czwartą postać stanowi peroksydaza glutationowa wodorotlenków fosfolipidów – PHGPx, która chroni błony komórkowe przed peroksydacją lipidów

– CAT – hemoproteina zlokalizowana w peroksyzomach – poprzez rozkład nadtlenu wodoru do wody i tleniu stanowi mechanizm obronny komórki przed działaniem nadtlenu wodoru, silnym utleniaczem powodującym uszkodzenie komórek.

Zdolności antyoksydacyjne organizmu zależą również od zawartości i działania innych białek o właściwościach antyoksydacyjnych. Antyoksydanty prewencyjne zapobiegają wytwarzaniu się nowych ROS i zapobiegają peroksydacji lipidów. W osoczu krwi rolę tę pełnią m.in. ceruloplazmina, ferrytyna, transferyna, albumina – białka, które łączą się z uwolnionymi jonami metali przejściowych, np. miedzi i żelaza zawierającymi niesparowane elektrony, stanowiąc zabezpieczenie przed reakcjami wolnorodnikowymi [5, 16]. Badania *in vitro* wykazują, że albumina chroni erytrocyty przed peroksydacją wywołaną przez jony miedzi, dzięki wiązaniu tych jonów, zapobiegając w ten sposób powstawaniu rodnika hydroksylowego z nadtlenu wodoru [5]. Białka wiążące jony żelaza – ferrytyna i transferyna – zapobiegają pozabiałkowej akumulacji jonów żelaza, z kolei ceruloplazmina bierze udział w przemianie anionorodnika ponadtlenkowego oraz w utlenianiu jonów żelaza [16]. Właściwości antyoksydacyjne wykazuje także kwas moczowy, który wiąże jony metali i wychwytuje rodnik hydroksylowy. Meucci i wsp. wykazali, że białka i kwas moczowy wzajemnie się uzupełniają w pełnieniu funkcji antyoksydacyjnej [17].

System obrony antyoksydacyjnej zachodzi w trzech etapach. Pierwszy etap polega na niedopuszczeniu do powstawania wolnych rodników tlenowych, za co odpowiadają enzymy antyoksydacyjne, drugi etap stanowią zmiatacze, które przerywają łańcuchowe reakcje wolnorodnikowe. Trzeci etap odpowiada za usuwanie skutków reakcji ROS ze składnikami komórek i polega na odtwarzaniu prawidłowej struktury uszkodzonych cząsteczek [5].

Stres oksydacyjny

W warunkach prawidłowych istnieje równowaga pomiędzy powstawaniem wolnych rodników a ich usuwaniem (wymiataniem). Wzrost wytwarzania wolnych rodników, zmniejszenie ilości zmiataczy, zmniejszenie aktywności systemów enzymatycznych odpowiedzialnych za ich usuwanie i spadek aktywności antyoksydacyjnej powoduje, że nie są one skutecznie usuwane przez mechanizmy obronne organizmu. Dochodzi do zachwiania równowagi w kierunku reakcji utleniania, co określa się mianem stresu oksydacyjnego. Narządami szczegól-

nie narażonymi na stres oksydacyjny są: układ oddechowy, układ krążenia, mózg i narząd wzroku. Następstwem stresu oksydacyjnego, przy braku sprawnie działających mechanizmów naprawczych komórki, jest utlenianie błon komórkowych, zmiana struktury oraz modyfikacji funkcji białek, uszkodzenie DNA, przyczyniając się do powstania mutacji, co może inicjować rozwój choroby nowotworowej. Stres oksydacyjny jest ważnym czynnikiem w patogenezie wielu chorób, m.in. układu krążenia, płuc, oczu, zapalenia wątroby, zapalenia trzustki, cukrzycy, chorób degeneracyjnych układu nerwowego. ROS w istotny sposób przyczyniają się do przyspieszenia procesów starzenia, akumulacji produktów oksydacyjnych uszkodzeń, odgrywają istotną rolę w procesach karcinogenezy [16].

Jednym z następstw stresu oksydacyjnego jest zmniejszenie stężenia ATP w komórce. Wyraża się to m.in. poprzez uszkodzenie mitochondriów, hamowanie glikolizy (głównie dehydrogenazy aldehydu 3-fosfoglicerynowego), zwiększone zużycie ATP, niezbędne do usunięcia GSSG na zewnątrz komórek. Konsekwencją stresu oksydacyjnego jest zmniejszenie stężenia GSH, a zwiększenie stężenia GSSG. Wzmoczone uwalnianie GSSG z wątroby do krwi stanowi wskaźnik stresu oksydacyjnego [5]. Nasilone reakcje utleniania przyczyniają się do zwiększenia peroksydacji lipidów, a spadku GSH, co stymuluje wzrost aktywności enzymów kaskady przemian kwasu arachidonowego: cyklooksygenazy i lipooksygenazy, jak również powodują napływ jonów wapnia do komórki, co prowadzi do uszkodzenia błony komórkowej i jej receptorów. Następstwem stresu oksydacyjnego jest zwiększenie przepuszczalności błony cytoplazmatycznej, powodując jej depolaryzację, czyli obniżenie różnicy potencjału elektrycznego pomiędzy wnętrzem komórki a środowiskiem pozakomórkowym.

Konsekwencją stresu oksydacyjnego jest także uszkodzenie jądrowego i mitochondrialnego DNA (mtDNA), które z powodu braku sprawnie działających mechanizmów naprawy DNA, braku ochrony przez chromatynę oraz powstawania wolnych rodników w procesie fosforylacji oksydacyjnej jest bardziej narażone na niszczące działania wolnych rodników niż DNA jądrowe [2, 18, 19]. Prowadzi to do uszkodzenia mtDNA oraz składników łańcucha transportu elektronów kodowanych przez mtDNA [20, 21] i śmierci komórki.

Jednym z procesów, w którym istotną rolę odgrywają ROS jest zjawisko apoptozy, czyli programowanej śmierci komórki [5]. ROS powodują uszkodzenie komórki inicjujące apoptozę lub są sygnałem do jej inicjacji – co wynika z obniżenia aktywności mechanizmów antyoksydacyjnych. Następstwem apoptozy jest m.in. zwiększenie przepuszczalności wewnętrznej błony mitochondrialnej i redystrybucja cytochromu c z mitochondriów do frakcji cytozolowej [2, 5, 14, 22].

W wyniku stresu oksydacyjnego dochodzi do peroksydacji lipidów [5]. Peroksydacja to proces utleniania nienasyconych kwasów tłuszczowych, wchodzących w skład fosfolipidów, w którym powstają nadtlenki tych związków. Głównym produktem peroksydacji lipidów jest MDA.

Stężenie MDA wzrasta w warunkach zwiększonego wytwarzania ROS w organizmie, co powoduje zmianę przepuszczalności błony komórkowej, rozprzęganie fosforylacji oksydacyjnej w mitochondriach, co w ostateczności może pobudzać apoptozę [1].

Udowodniono toksyczny wpływ HCVcAg na mitochondria, który osłabia aktywność tych organelli i prowadzi do stresu oksydacyjnego [14]. Ostatnie badania dowodzą także o oddziaływaniu ROS na dynamikę replikacji HCV-RNA, co odgrywa istotną rolę w patogenezie HCV [23]. ROS powodują zahamowanie replikacji HCV-RNA w hepatocytach, ponieważ wykazują zdolność do redukcji białka NS3 i NS5A [23]. Z kolei w przypadku HIV wolne rodniki tlenowe aktywują replikację HIV-RNA, wskutek indukcji czynnika jądrowego – NFκB (*nuclear factor*) [5, 23].

Metody badań reaktywnych form tlenu

Do oceny sprawności całkowitego potencjału antyoksydacyjnego osocza (TAS) w ustroju służy całkowita zdolność zmiatania wolnych rodników (TRAP). Całkowity potencjał antyoksydacyjny osocza to zdolność organizmu do obrony przed działaniem wolnych rodników, polegająca na ich inaktywowaniu do substancji o obojętnym ładunku. TRAP określa zdolność do wymiatania i hamowania wytwarzania wolnych rodników [24]. Do oceny TRAP służy oznaczanie takich antyoksydantów jak: stężenie kwasu moczowego, witaminy E i C, MDA, SOD, Gpx, GSH oraz grup tiolowych białek [25]. Oznaczanie tych parametrów jest miarą równowagi i wskaźnikiem wyczerpania antyoksydantów w organizmie.

Przy zastosowaniu technik biologii molekularnej, np. ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy – PCR (*polymerase chain reaction*), techniki Northern-blot i Western-blot można analizować oddziaływanie ROS na aktywność replikacji HCV-RNA [23]. Parametrami określającymi stres oksydacyjny jest także oznaczanie produktów peroksydacji lipidów (MDA i 4-hydroksyalkenów – 4-HAE), utleniania białek (akonitazy i α_1 -antyproteinyazy) oraz utleniania DNA (8-hydroksy-2'-deoksyguanozyny, 8-OHdG). Obecnie istnieją testy laboratoryjne stosowane do oznaczania parametrów stresu oksydacyjnego metodą immunoenzymatyczną ELISA lub kolorymetrycznie [5].

Piśmiennictwo

- Pawliczak R.: Rola wolnych rodników tlenowych w zapaleniu. *Pol. Merk. Lek.*, 2003, 14, 493–6.
- Mandavilli B. S., Santos J.H., van Houten B.: Mitochondrial DNA repair and aging. *Mutat. Res.*, 2002, 509, 127–51.
- Bleeker-Rovers C. P., Kadir S. W., van Leusen R. et al.: Hepatic steatosis and lactic acidosis by stavudine in an HIV-infected patient. *Neth. J. Med.*, 2000, 57, 190–3.
- Kłyszczko-Stefanowicz L.: Mitochondria. *Cytobiochemia*. PWN, Warszawa 1998, 579–622.
- Bartosz G.: *Druga twarz tlenu*. PWN, Warszawa 2003.
- Matuszkiewicz A.: Białka i kwas moczowy jako potencjalne zmiatacze wolnych rodników w organizmie sportowca wyczynowego. *Med. Sport.*, wyd. 5, 2000, 106, 31–39.
- Vertuani S., Angusti A., Manfredini S.: The antioxidants and pro-antioxidants network: an overview. *Curr. Pharm. Des.*, 2004, 14, 1677–94.
- Ray G., Husain S.A.: Oxidants, antioxidants and carcinogenesis. *Indian J. Exp. Biol.*, 2002, 11, 1213–32.
- Bonnefoy M., Draï J., Kostka T.: Antioxidants to slow aging, facts and perspectives. *Presse Med.*, 2002, 25, 1174–84.
- Chow C.K., Ibrahim W., Wei Z. et al.: Vitamin E regulates mitochondrial hydrogen peroxide generation. *Free Radic. Biol. Med.*, 1999, 27, 580–87.
- Blot W., Li J.Y., Taylor P.R. et al.: Nutrition intervention trials in Linxian, China: supplementation with specific vitamin-mineral combinations, cancer incidence and disease-specific mortality in the general population. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1993, 85, 1483–92.
- Mecocci P., Polidori M.C., Troiano L. et al.: Plasma antioxidant and longevity: a study on healthy centenarians. *Free Radic. Biol. Med.*, 2000, 28, 1243–48.
- Świątek K.: Zredukowana forma glutationu u chorych na wirusowe zapalenie wątroby. *Hepatol. Pol.*, 1996, 3, 191–6.
- Juszczak J.: *Hepatitis C*. Termedia wyd. II, Poznań 2005.
- Świątek K., Juszczak J.: Reduced glutathione concentration in erythrocytes of patients with acute and chronic viral hepatitis. *J. Viral Hep.*, 1997, 4, 139–141.
- Augustyniak A., Skrzydlewska E.: Zdolności antyoksydacyjne w starzejącym się organizmie. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2004, 58, 194–201.
- Meucci E., Littarru C., Deli G. et al.: Antioxidant status and dialysis: plasma and saliva antioxidant activity in patients with fluctuating urate levels. *Free Rad. Res.*, 1998, 29, 367–76.
- Krähenbühl S.: Mitochondria: Important for drug toxicity? *Hepatology*, 2001, 34, 334–6.
- Bartnik E.: Choroby dziedziczne II. Defekt genomu mitochondrialnego. *Biologia molekularna w medycynie. Elementy genetyki klinicznej*. Bal J. (red.). PWN, Warszawa 2001, 149–56.
- Cote H.C.F., Brumme Z.L., Craib K. J.P. et al.: Mitochondrial DNA level as a marker of nucleoside toxicity: Changes in mitochondrial DNA level as a marker of nucleoside toxicity in HIV-infected patients. *N. Engl. J. Med.*, 2002, 346, 811–20.
- Walker U.A., Setzer B., Venhoff N.: Increased long-term mitochondrial toxicity in combination of nucleoside analogue reverse-transcriptase inhibitors. *AIDS*, 2002, 16, 2165–73.
- Wei Y. H., Lee H. C.: Oxidative stress, mitochondrial DNA mutation, and impairment of antioxidant enzymes in aging. *Exp. Biol. Med.*, 2002, 227, 671–82.
- Choi J., Lee K.J., Zheng Y. et al.: Reactive oxygen species suppress hepatitis C virus RNA replication in human hepatoma cells. *Hepatology*, 2004, 39, 81–89.
- Schlesier K., Harwat M., Bohm V. et al.: Assessment of antioxidant activity by using different in vitro methods. *Free Radic. Res.*, 2002, 36, 177–87.
- Ceriello A., Bortolotti N., Falletti E. et al.: Total radical-trapping antioxidant parameter I NIDDM patients. *Diabetes Care*, 1997, 20, 194–7.

Adres do korespondencji:

Arkadiusz Czajka
Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych Akademii Medycznej
w Poznaniu
ul. Św. Wincentego 2, 61-003 Poznań,
tel. (061) 8773671 w. 322

