

Received: 2014.03.21  
Accepted: 2014.10.10  
Published: 2014.12.15

## Starzenie się organizmu a stres oksydacyjny oraz zmniejszona sprawność systemów naprawczych

The correlations between aging of the human body, oxidative stress and reduced efficiency of repair systems

Aleksandra Michalak, Jakub Krzeszowiak, Iwona Markiewicz-Górka

Katedra i Zakład Higieny Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

### Streszczenie

W artykule omówiono znaczenie stresu oksydacyjnego i obniżonej sprawności komórkowych procesów naprawczych w procesie starzenia się organizmu. Oksydacyjne uszkodzenia makrocząsteczek komórkowych (białek, lipidów, kwasów nukleinowych) powstają pod wpływem oddziaływania reaktywnych form tlenu (RFT). Stanowią one istotny mechanizm postrzegany jako jedna z przyczyn procesu starzenia i rozwoju wielu chorób. Najpoważniejsze skutki wynikają z uszkodzeń DNA, ponieważ prowadzą do mutacji, powstawania nowotworów oraz mogą być również przyczyną starzenia komórkowego. Jednak dobrze funkcjonujące systemy naprawcze (m.in. rekombinacja homologiczna) usuwają uszkodzenia i zapobiegają szkodliwym zmianom w komórkach. Do oksydacyjnej modyfikacji kwasów nukleinowych (oraz białek) dochodzi również w wyniku oddziaływania produktów peroksydacji lipidów. Białka i tłuszcze są także wyposażone w systemy naprawcze, jednak znacznie uboższe niż te odpowiedzialne za naprawę kwasów nukleinowych. Niestety wraz z wiekiem aktywność mechanizmów naprawczych ulega osłabieniu, co przyczynia się do wzrostu uszkodzeń komórkowych, a w konsekwencji schorzeń charakterystycznych dla wieku starczego: nowotworów, chorób neurodegeneracyjnych, czy miażdżycy.

**Słowa kluczowe:** starzenie się • stres oksydacyjny • komórkowe systemy naprawcze

### Summary

The article presents an current knowledge overview about the importance of oxidative stress and reduced efficiency of repair processes during the aging process of the human body. Oxidative damage to cellular macromolecules (proteins, lipids, nucleic acids), are formed under the influence of reactive oxygen species (ROS). They are the part of important mechanism which is responsible for the process of aging and the development of many diseases. The most important effects result from DNA damage, due to the mutations formation, which can lead to the development of tumors. However, a well - functioning repair systems (i.a. homologous recombination) remove the damage and prevent harmful changes in the cells. Lipid peroxidation products also cause oxidative modification of nucleic acids (and proteins). Proteins and fats also have repair systems, but much simpler than those responsible for the repair of nucleic acids. Unfortunately, with increasing age, they are more weakened, which contributes to increase numbers of cell damage, and consequently development of diseases specific to old age: cancer, neurodegenerative diseases or atherosclerosis.

**Keywords:** aging • oxidative stress • cellular repair mechanisms

**Full-text PDF:** <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?CID=1132010>

**Word count:** 3012  
**Tables:** –  
**Figures:** 2  
**References:** 41

**Adres autorki:** mgr Aleksandra Michalak, Katedra i Zakład Higieny Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, ul. J. Mikulicza-Radeckiego 7, 50-368 Wrocław;  
e-mail: [aleksandra.michalak@umed.wroc.pl](mailto:aleksandra.michalak@umed.wroc.pl)

**Wykaz skrótów:** **A** – adenina, **AGEs** – produkty zaawansowanej glikacji (advanced glycation end products), **BER** – naprawa przez wycinanie zasady (base excision repair), **C** – cytozyna, **CML** – karboksymetylolizyna (carboxymethyllysine), **G** – glicyna, **GSH** – glutation, **GS-SG** – disulfid glutationu, **8-OHdG** – 8-hydroksy-2'-deoksyguanozyna, **4-HHE** – 4-hydroksyheksanal, **4-HNE** – 4-hydroksynonenal, **HR** – rekombinacja homologiczna (homologous recombination), **MDA** – dialdehyd malonowy (malondialdehyde), **MetSOx** – sulfotlenek metioniny, **M1dG** – addukt pirymidopurynonu, **mtDNA** – mitochondrialny DNA (mitochondrial DNA), **nDNA** – jądrowy DNA (nuclear DNA), **NER** – naprawa przez wycinanie nukleotydu (nucleotide incision repair), **NHEJ** – niehomologiczne łączenie końców (nonhomologous end joining), **NIR** – naprawa przez nacięcie nukleotydu (nucleotide incision repair), **oxLDL** – utleniona lipoproteina niskiej gęstości (oxidised low-density lipoprotein), **p53** – gen degradacji nowotworów, **RFT** – reaktywne formy tlenu (ROS - reactive oxygen species), **SOD** – dysmutaza ponadtlenkowa (superoxide dismutase), **T** – tymina, **TBARS** – substancje reagujące z kwasem tiobarbiturowym (thiobarbituric acid reactive substances).

## WSTĘP

Starzenie się organizmu ma wymiar biologiczny, społeczny i emocjonalny. Wraz z upływem lat dochodzi do obniżenia sprawności mechanizmów naprawczych, rozwoju i akumulacji uszkodzeń komórek, narządów i całych układów. Stopniowe obniżanie się sprawności fizycznej ogranicza kontakty społeczne. Upośledzenie zdolności umysłowych również pogłębia stan wyobcowania i utrudnia radzenie sobie ze sprawami życia codziennego. Jednoczesne występowanie innych chorób przewlekłych, którym często towarzyszą dolegliwości bólowe lub inne przykre objawy powodują, że starość jest zwykle trudnym okresem dla wielu ludzi [10].

Upływające lata nie postarzają wszystkich w ten sam sposób. Przyczyny różnic można upatrywać w uwarunkowaniach genetycznych, a przede wszystkim w warunkach socjalno-bytowych, rodzaju wykonywanej pracy i stylu życia. Należy zatem zadać pytania, co łączy te czynniki, które nasilają starzenie się organizmu? Jaki molekularny mechanizm wpływa na tempo tego procesu? W 1956 r. Denham Harman opublikował artykuł pt. *Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry* [16], który wpłynął na rozwój wolnorodnikowej teorii starzenia się (free-radical theory of aging, FRTA). Według niej starzenie się organizmu jest zależne od sprawności enzymatycznych i nieenzymatycznych mechanizmów antyoksydacyjnych oraz od ilości generowanych reaktywnych form tlenu (RFT).

W pracy przeanalizowano rolę stresu oksydacyjnego w procesach starzenia się organizmu z uwzględnieniem

mechanizmów naprawczych uszkodzeń komórkowych oraz obrony antyoksydacyjnej.

## STRES OKSYDACYJNY A STARZENIE SIĘ

Organem charakteryzującym się dobrym metabolizmem tlenowym jest mózg. Mózg człowieka to zaledwie 2% masy ciała, a zużywa około 20% pobieranego tlenu. Struktury mózgowia są bardzo wrażliwe na uszkodzenia oksydacyjne z powodu intensywnego metabolizmu tlenowego, dużej zawartości nienasyconych kwasów tłuszczowych, przy jednoczesnej małej aktywności enzymów antyoksydacyjnych [13]. Stres oksydacyjny jest uważany za jeden z czynników uczestniczących w patogenie zmian neurodegeneracyjnych, takich jak: choroba Parkinsona, Alzheimer, stwardnienie rozsiane oraz stwardnienie zanikowe boczne. W przebiegu tych chorób stwierdza się upośledzone funkcjonowanie enzymów antyoksydacyjnych i/lub nadmierne wytwarzanie RFT. Prawdopodobnie w analogiczny sposób dochodzi do rozwoju otępienia starczego [15].

Obniżenie masy i siły mięśniowej (sarkopenia) również ma związek z działalnością reaktywnych form tlenu. Wraz z wiekiem dochodzi do upośledzenia funkcjonowania mitochondrialnego łańcucha oddechowego, przez co włókna mięśniowe są narażone na coraz większe ilości RFT. Reaktywne formy tlenu uszkadzają kanały wapniowe, powodując niewystarczające uwalnianie jonów  $Ca^{2+}$ , przez co dochodzi do obniżenia wydolności mięśni [12]. Spadek liczby mitochondriów oraz upośledzenie ich funkcji także zmniejsza zdolności tlenowego wytwarza-

nia ATP. Jednak za główną przyczynę sarkopenii uważa się degenerację układu nerwowego, zaopatrującego mięśnie. Zanik motoneuronów wynika z uszkodzenia osłonek mielinowych aksonów zaopatrujących mięśnie. Jedną z przyczyn uszkodzenia osłonek mielinowych jest działanie RFT, których generacja [2], jak już wspomniano nasila się z wiekiem.

Obecnie znanych jest wiele chorób, w patogenezie których RFT są uważane za głównych sprawców, a antyoksydanty niskocząsteczkowe za leki. Pogląd ten nie jest w pełni słuszny i upraszcza dość skomplikowane mechanizmy. Nie zawsze bowiem reaktywne formy tlenu są czynnikiem wyzwalającym wiele niekorzystnych zmian metabolicznych, prowadzących do procesu chorobowego. Wzrost stężenia RFT może być zarówno przyczyną jak i następstwem stanu chorobowego. Niemniej jednak ich wzmożona generacja [2] przyczynia się do uszkodzeń makromolekuł komórkowych, nasilenia stanów patologicznych i starzenia organizmu [9].

Na rycinie 1 przedstawiono zależności między procesem starzenia się organizmu, stresem oksydacyjnym a inicjacją niektórych chorób.

### **USZKODZENIA MAKROMOLEKUŁ W PROCESIE STARZENIA SIĘ ORGANIZMU**

#### **Oksydacyjne modyfikacje kwasów nukleinowych**

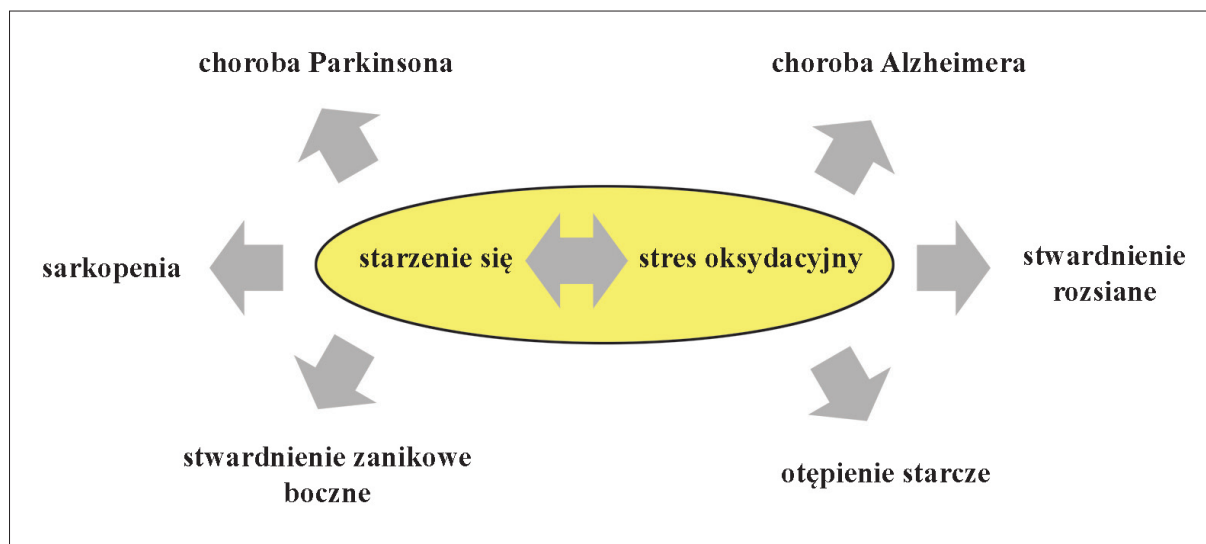
Do uszkodzeń DNA dochodzi w wyniku bezpośredniego oddziaływania RFT lub przez włączenie zmodyfikowanego nukleotydu w czasie powielania materiału genetycznego. Powoduje to pojedyncze lub podwójne pęknięcia nici DNA oraz transformację zasad azotowych. Uszkodzenia kwasów nukleinowych wynikają również z oddziaływania na nie produktów peroksydacji lipidów. Modyfikacje tego typu mogą wytworzyć wiązania sieciujące, prowadzące do powstania tzw. adduktów objętościowych, np. DNA-DNA, DNA-utlenione lipidy [32].

Częściej niż uszkodzenia w obrębie jądrowego DNA (nuclear DNA, nDNA) są obserwowane mutacje w DNA mitochondrialnym (mitochondrial DNA, mtDNA). W związku z brakiem intronów (niekodujących sekwencji DNA), powielany jest cały genom mtDNA, dlatego nawet niewielkie uszkodzenia mogą powodować poważne skutki, zwłaszcza jeśli dotyczą terminalnie zróżnicowanych komórek: neuronów i kardiomiocytów [26]. Sąsiedztwo łańcucha oddechowego, generującego RFT sprzyja uszkodzeniom mtDNA i błędom replikacyjnym białek, odpowiedzialnych za przeprowadzenie procesu fosforylacji oksydacyjnej [20]. Według jednej z hipotez, to właśnie mutacje mitochondrialnego DNA i malejąca z wiekiem aktywność mitochondriów są główną przyczyną starczych zaburzeń organizmu i zmian patologicznych [25].

Generowany podczas procesów oksydo-redukcyjnych w komórce, bardzo reaktywny rodnik hydroksylowy odpowiada za pęknięcie wiązań fosfodiesterowych, modyfikację zasad azotowych, reszt cukrowych oraz powstawanie połączeń sieciujących DNA z białkami [37,40]. Spośród zmodyfikowanych zasad azotowych najlepiej poznano: 8-oksy-2'-deoksyguanozyna oraz jej tautomeryczną postać: 8-hydroksy-2'-deoksyguanozyna. Ich obecność przyczynia się do powstawania mutacji punktowych o charakterze transwersji: G:C→T:A [32,40].

Według Olińskiego i wsp. oksydacyjne modyfikacje DNA mogą stanowić istotny czynnik wpływający na proliferację i zezłośliwienie nowotworów [29].

Zależność powstawania oksydacyjnych uszkodzeń DNA od wieku potwierdzają pomiary wykonane przez Wolfa i wsp. [38]. We wszystkich badanych tkankach, tzn. w sercu, wątrobie, mózgu oraz limfocytach krwi obwodowej starszych szczurów zaobserwowali oni wyższe stężenia 8-hydroksy-2'-deoksyguanozyny (8-OHdG), niż u młodszych zwierząt. Według nich zawartość 8-OHdG



**Ryc. 1.** Związek starzenia się organizmu ze stresem oksydacyjnym i rozwojem niektórych chorób

w limfocytach krwi obwodowej może stanowić biochemiczny wskaźnik postępujących wraz z wiekiem defektów w DNA.

W dokonany przez Zegarską i wsp. przeglądzie piśmiennictwa, przedstawiono trzy grupy genów odpowiedzialnych za proces starzenia się organizmu [41]:

Związane z obroną i niwelowaniem szkód powodowanych stresem oksydacyjnym (SOD, helikazy DNA, p53 – supresor nowotworu).

Związane z podziałem komórki (telomerazy, inhibitory cyklu komórkowego: p21, p16).

Zależne od regulatorów substancji energetycznych (np. regulatory wzrostu).

Z upływem lat spada jednak aktywność telomerazy, która warunkuje replikację telomerów (końcowy fragment chromosomu). Każda kolejna transkrypcja wiąże się ze skróceniem ich końcowych sekwencji (powtórzenia: TTAGGG), które stanowią tzw. „licznik” podziałów komórkowych, dlatego nazywane są molekularnym zegarem biologicznym [20]. Skrócenie długości telomeru do połowy skutkuje starzeniem komórki [1].

### Oksydacyjne modyfikacje białek

Reakcje silnych oksydantów (m.in. takich jak: rodnik hydroksylowy, nadtlenek wodoru, anionorodnik ponadtlenkowy, kwas podchlorawy, nadtlenoazotyn, azotany (III) i (V) czy tlenek azotu) z białkami powodują utlenianie reszt aminokwasowych i grup prostetycznych, zaburzają ich funkcje biologiczne lub całkowicie uniczywiają [20,37].

Produktami oddziaływania RFT na aminokwasy są m.in. takie związki chemiczne jak: 3-nitrozyna, hydroksyprolina, semialdehyd glutamylowy [24]. Tworzenie modyfikacji proteinowych może powodować fragmentację łańcucha polipeptydowego oraz powstawanie dimerów lub agregatów białkowych [39].

Te ostatnie są następstwem tworzenia się międzycząsteczkowych wiązań krzyżowych. Nadmierna ich kumulacja w organizmie jest związana z postępującym procesem starzenia się i rozwojem tzw. „starczych chorób”, czego przykładem jest zaćma. W wyniku utlenienia aminokwasów siarkowych (cysteiny i metioniny) dochodzi do fragmentacji oraz agregacji białka krystaliny, a w konsekwencji zmętnienia soczewki.

W miarę upływu lat i postępujących procesów patologicznych (m.in. choroba Alzheimera, Parkinsona, cukrzyca, miażdżyca, nowotwory) stwierdza się większe ilości nieodwracalnie uszkodzonych aminokwasów w organizmie człowieka. Najczęściej są to polipeptydy z dołączonymi do łańcuchów bocznych grupami karbonylowymi i hydroksylowymi [20]. W związku

ze wzrostem ich ilości w mózgu osób starszych, spada funkcjonalność komórek nawet do 10-20% w stosunku do ludzi młodych. Wraz z wiekiem dochodzi do wzmożonych procesów oksydacji białek i nasilonego procesu neurodegradacji [27].

Związana z wiekiem neurodegradacja wynika również ze zmian aktywności proteasomów, odpowiedzialnych za usuwanie uszkodzonych białek. Obserwuje się zahamowanie ich funkcji przez usieciowane agregaty białkowe, a także ich inaktywację w wyniku zmniejszenia ekspresji lub modyfikacje podjednostek [11,27].

Ze starzeniem się wiąże się także utrata funkcji biologicznych przez fibrynogen, który jest utleniany pod wpływem oddziaływania wolnych rodników lub żelaza. Stres oksydacyjny najprawdopodobniej przyczynia się także do tworzenia agregatów immunoglobulin, charakterystycznych dla reumatoidalnego zapalenia stawów [24].

Wraz z upływem lat osłabieniu ulegają także funkcje lizosomów, rozkładających wadliwe makrocząsteczki komórkowe, w tym białka. Według aktualnych, akceptowanych poglądów starzenie należy rozumieć jako skutek intensywnie zachodzących procesów utleniania białek, ich nieenzymatycznej glikozylacji (czyli glikacji) oraz osłabienia mechanizmów ich selektywnej degradacji [17]. Powstawanie zaawansowanych produktów glikacji (AGEs - advanced glycation end products) odgrywa istotną rolę w mechanizmie inicjacji wielu chorób charakterystycznych dla wieku starczego, stąd AGEs określany jest jako biologiczny wskaźnik starzenia się organizmu [4].

### Oksydacyjne modyfikacje tłuszczów

Reaktywne formy tlenu oprócz oddziaływania na kwasy nukleinowe i białka, zaburzają również strukturę tłuszczów, a proces ten nosi nazwę peroksydacji lipidów. Ulegają mu przede wszystkim reszty wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, będących głównym składnikiem fosfolipidów, które budują błony biologiczne [37]. W procesie peroksydacji lipidów wyróżniamy trzy etapy:

- inicjacji – usunięcie atomu wodoru z cząsteczki nienasyconego kwasu tłuszczowego,
- prolongacji – oddziaływanie rodników alkilowych z tlenem; powstawanie rodników nadtlenkowych, a w konsekwencji nadtlenku kwasu tłuszczowego,
- terminacji – w wyniku reakcji między dwoma wolnymi rodnikami - powstanie nierodnikowego produktu końcowego [39].

Najczęstszym skutkiem tych przemian są zaburzenia funkcjonowania błon biologicznych, objawiające się przede wszystkim zmianami w ich płynności i integralności komórek [37]. Do głównych produktów peroksydacji lipidów zaliczyć można: dialdehyd malonowy (MDA), 4-hydroksynonenal (4-HNE) oraz 4-hydroksyheksanal (4-HHE) [39]. Mogą oddziaływać zarówno z kwasami

nukleinowymi, jak i białkami, powodując dalsze uszkodzenia (zaburzenia ekspresji genów i syntezy białek; modyfikacje ich funkcji) oraz zakłócać przebieg niektórych procesów metabolicznych (np. rozprzęgnięcie fosforylacji oksydacyjnej) [20].

Podobnie jak w przypadku wzrostu poziomu uszkodzeń oksydacyjnych kwasów nukleinowych i białek wraz z wiekiem, zwiększa się również ilość produktów peroksydacji lipidów. Badania wskazują, że w osoczu krwi starzejącego się organizmu, stwierdza się wyższe stężenia TBARS (thiobarbituric acid reactive substances - produkty peroksydacji lipidów reagujące z kwasem tiobarbiturowym), niż u osób młodych. Dowodem są m.in. pomiary przeprowadzone przez Junqueira i wsp., wskazujące na zwiększony o 20-40% poziom produktów peroksydacji lipidów w osoczu krwi 50-latków w porównaniu do osób w wieku 20-29 lat [19]. Autorzy ci zaobserwowali również bardzo silną, dodatnią korelację między wiekiem, a stężeniem TBARS (współczynnik korelacji:  $r = 0,972$ ;  $p < 0,01$ ).

Z upływem lat u człowieka stopniowo upośledza się zdolność widzenia. Ma to związek z gromadzeniem się w siatkówce oka lipofuscyny - tzw. starczego barwnika. Odpowiedzialny za jego tworzenie i stopniową kumulację w komórkach postmitotycznych jest najprawdopodobniej proces utleniania tłuszczów. Lipofuscyna powstaje w wyniku reakcji produktów peroksydacji lipidów z makrocząsteczkami zawierającymi część aminową (np. aminofosfolipidy, białka) [8]. Według Sitte i wsp. obecność lipofuscyny hamuje aktywność proteasomów, utrudniając usuwanie zmienionych oksydacyjnie makromolekuł [35].

Wrażliwy na oddziaływanie RFT jest także cholesterol frakcji LDL. Do jego utlenienia (oxLDL) najprawdopodobniej dochodzi w wyniku transportu lipoprotein przez barierę śródbłonkową, co przyczynia się do rozwoju miażdżycy [20]. Wyniki badań Holvoeta i wsp. potwierdziły, że obecność oxLDL we krwi jest czynnikiem ryzyka rozwoju choroby wieńcowej u osób w podeszłym wieku (ze wzrostem jego stężenia we krwi - wzrost zachorowań: ryzyko względne: 2,25; 95% CI: 1,22-4,15) [18].

Według japońskich badań, stężenia MDA są dużo wyższe w mózgu zdrowych osób w starszym wieku i osób z chorobą Alzheimera niż u ludzi młodych. Ponadto u starszych zdrowych ludzi karboksymetylolizyna (CML - produkt zaawansowanej glikacji; wskaźnik wieku biologicznego) kuluje się w neuronach, a MDA w komórkach glejowych. Natomiast u osób z chorobą Alzheimera - wymienione produkty gromadzą się w obu rodzajach komórek. Obserwacje te mogą być podstawą do ustalenia właściwego mechanizmu rozwoju chorób neurodegeneracyjnych [5].

Produkty peroksydacji lipidów są uznawane za związki mutagenne, ponieważ oddziałują z kwasami nukleinowymi, powodując ich uszkodzenia, m.in. przez tworze-

nie z nimi adduktów (np. pirymidopurynonu: M1dG, powstającego w wyniku reakcji MDA z deoksyguanozyną). Nagromadzenie tego typu produktów w tkankach może inicjować proces kancerogenezy [32].

Wraz z postępującym procesem starzenia się organizmu, następuje wzrost wytwarzania produktów peroksydacji lipidów, które częściej oddziałują z makrocząsteczkami komórkowymi. Takie uwarunkowania albo prowadzą do śmierci komórki, albo sprzyjają niekontrolowanej proliferacji komórkowej [39].

#### SYSTEMY NAPRAWCZE OKSYDACYJNYCH MODYFIKACJI KWASÓW NUKLEINOWYCH

Sprawnie działające systemy naprawcze kwasów nukleinowych pełnią rolę ochronną przed mutacjami genowymi [31]. Wyróżnia się następujące mechanizmy naprawy DNA: (i) wycięcie zasad azotowych (base excision repair, BER), (ii) nacięcie nukleotydu (nucleotide incision repair, NIR), (iii) wycinanie nukleotydów (nucleotide excision repair, NER), (iv) rekombinacja homologiczna (homologous recombination, HR). W przypadku niesparowanych nukleotydów, zgodnie z zasadami komplementarności, aktywowany jest mechanizm korygujący (mis-match repair) [32,40].

Główną metodą usuwania i naprawy modyfikacji oksydacyjnych zarówno nDNA jak i mtDNA jest BER. Mechanizm ten umożliwia przede wszystkim usunięcie niewielkich adduktów DNA (N2,3-etenoguanina, 1,N6-etenoadenina) oraz innych modyfikacji kwasów nukleinowych [32]. W przypadku naprawy 8-oksyo-2'-deoksyguanozyny proces przebiega z wykorzystaniem swoistych enzymów. Początkowo fosfohydrolaza odpowiada za usunięcie wadliwego nukleotydu, a następnie glikozylaza hydrolizuje wiązanie N-glikozydowe, zawarte między zmodyfikowaną zasadą a 2'-deoksyrybozą [28,32,40]. Kolejnym etapem jest inicjacja krótkiej lub długiej ścieżki naprawy DNA. Pierwsza polega na zastąpieniu uszkodzonej zasady pojedynczym nukleotydem, natomiast w drugiej powstała przerwa w DNA wypełniana jest kilkoma nukleotydami (2-10) [23]. Nie wyjaśniono jeszcze, co jest odpowiedzialne za wybór każdej z tych ścieżek [30].

Mechanizm BER jest również aktywny w przypadku mtDNA. Zmiany powstałe w wyniku utlenienia guaniny do 8-oksoguaniny czy deaminacji cytozyny do uracylu są eliminowane z udziałem właściwych glikozydaz. Wymienione enzymy wykazują także aktywność liaz w obecności swoistych endonukleaz oraz polimerazy DNA  $\gamma$  [31].

W procesie NIR oksydacyjne uszkodzenia DNA są usuwane z udziałem endonukleaz, które rozrywają wiązania fosfodiesterowe kwasu nukleinowego na końcu 5' utlenionej zasady azotowej, natomiast końce 3'-hydroksylowe i 5'-fosforanowe pozostają wolne [32].

Mechanizm wycięcia nukleotydu to eliminacja adduktów (np. dimerów pirymidynowych), zaburzających strukturę DNA. Polega na nacięciu nici oraz eliminacji przez nukleazy uszkodzonego fragmentu DNA. System jest wspomagany przez aparat naprawczy sprzężony z transkrypcją (transcription coupled repair), który bierze udział w usuwaniu powstałych defektów [34]. Mechanizm ten nie występuje w przypadku mtDNA, co potwierdza teorię o jego ograniczonych systemach naprawy. Jednak mtDNA są wzbogacone w swoiste fosfatazy, które odpowiadają za eliminację zmodyfikowanych wolnych nukleotydów przed ich wbudowaniem do łańcucha kwasów nukleinowych [31].

Przy uszkodzeniu dużych fragmentów nici DNA inicjowany jest proces rekombinacji homologicznej. Błędy są usuwane w wyniku wymiany chromatyd siostrzanych lub homologicznych chromosomów [32]. Znacznie szybszym niż HR procesem naprawy nici DNA jest mechanizm łączenia niehomologicznych końców DNA (nonhomologous end joining, NHEJ). Niestety jest znacznie mniej dokładny i bardziej skłonny do generowania błędów [7].

W organizmie człowieka w ciągu doby może powstać nawet kilkaset tysięcy uszkodzeń DNA (np. 8-oksyo-2'-deoksyguanozyny). Możliwość radzenia sobie z powstałymi modyfikacjami dają właśnie rozwinięte mechanizmy naprawcze. Nie zawsze jednak efektywność tych procesów jest stuprocentowa i część nienaprawionych mutacji DNA może sprzyjać starzeniu komórek [40]. W młodym organizmie mechanizm ten pełni rolę ochronną przed nowotworzeniem. Uszkodzona komórka starzeje się, przestaje dzielić i dlatego nie dochodzi do niekontrolowanych podziałów. Jednak z wiekiem w związku z osłabieniem większości mechanizmów naprawczych, liczba takich uszkodzeń wzrasta, co powoduje ciągle wydzielanie mediatorów stanu zapalnego. Dochodzi do nadmiernego wytwarzania wolnych rodników, które wywołują kolejne uszkodzenia DNA. Powstaje zbyt duża liczba starzejących się i obumierających komórek. Ostatecznie skutkuje to tym, że w organizmie zaczynają przeważać procesy wzrostu komórek nowotworowych. Dlatego u osób starszych notuje się większą zachorowalność na nowotwory [1].

#### SYSTEMY NAPRAWCZE OKSYDACYJNYCH MODYFIKACJI BIAŁEK

W przypadku białek, mechanizmy naprawcze nie są tak dobrze rozwinięte, jak te występujące w kwasach nukleinowych. Dlatego, że zmodyfikowane białka i tłuszcze mogą zostać zastąpione nowo syntetyzowanymi cząsteczkami, natomiast oksydacyjne modyfikacje DNA mają dużo poważniejsze implikacje. Poznano tylko nieliczne tego typu systemy. Przy znacznym uszkodzeniu białkowych składników komórkowych przez wolne rodniki, najczęściej dochodzi do ich eliminacji. Nieodwracalnie zmodyfikowane białka są usuwane przez proteazy i system proteasomów [24]. Wraz z upływem lat (starzenia się organizmu) aktywność tych enzymów

słabnie i dochodzi do kumulacji uszkodzeń [39]. Uszkodzone białka, a nawet całe organelle mogą być także eliminowane przez mechanizm autofagii. Ze strawionych struktur komórkowych jest pozyskiwana energia do biosyntezy kolejnych makrocząsteczek. Niestety z wiekiem wydajność tego procesu maleje [6,22]. Najbardziej niekorzystne jest tworzenie się agregatów białkowych, ponieważ są odporne na degradację. Nagromadzenie ich w komórce powoduje utratę jej właściwości biologicznych [37]. Ostatecznością jest eliminacja całej komórki za pośrednictwem apoptozy w celu ochrony organizmu przed przedwczesnym starzeniem się lub rozwojem choroby nowotworowej [37,39]. Możliwość naprawy uszkodzeń mają sulfoaminokwasy, takie jak metionina czy cysteina. Oddziaływanie RFT powoduje ich oksydację, w wyniku czego powstaje sulfotlenek metioniny (MetSOx), natomiast utlenienie grupy tiolowej cysteiny prowadzi do utworzenia się wiązań disiarczkowych (np. GS-SG). Obecne w komórkach: reduktaza glutationowa (GSH-zależny enzym) oraz reduktaza sulfotlenku metioniny, przywracają pierwotną postać aminokwasów [20].

Zdarza się, że mimo istnienia w organizmie mechanizmu rozróżniającego uszkodzone białka od natywnych, nie będą one wykrywane przez systemy naprawcze. Tego typu sytuacje występują, gdy uszkodzone aminokwasy są przekształcane w inne, pochodne aminokwasy (np. histydyna → asparagina/asparaginan; prolina → hydroksyprolina). Dochodzi do zmian funkcjonalnych białka, które mogą sprzyjać procesom prowadzącym do mutacji komórkowych [24]. Dotyczy to np. supresorów nowotworu, wpływających na potencjał proliferacyjny.

#### SYSTEMY NAPRAWCZE OKSYDACYJNYCH MODYFIKACJI TŁUSZCZÓW

Istnieje niewiele mechanizmów naprawy lipidów. Poznane systemy polegają przede wszystkim na usuwaniu uszkodzonych fragmentów tłuszczów. Główną rolę w tym procesie pełnią enzymy:

- fosfolipazy usuwają zmodyfikowane (utlenione) części fosfolipidów z błon komórkowych,
- acetylotransferazy mają wymieniać kwasy tłuszczowe, które są odseparowane od lipidów,
- peroksydaza glutationowa i transferaza redukują wodronadtlenki kwasów tłuszczowych do hydroksykwasów tłuszczowych [14].

Modyfikacje oksydacyjne lipidów są szczególnie niebezpieczne, ponieważ oddziałują również z innymi makrocząsteczkami komórkowymi, tzn. białkami i DNA, powodując ich uszkodzenie. Sprawność systemów naprawczych lipidów odgrywa zatem wyjątkowo ważną rolę w ochronie komórki [32,39]. Jednak z wiekiem ulegają osłabieniu, dlatego tworzy się więcej reaktywnych produktów peroksydacji lipidów. Przykładem skutków wzmożonego ich oddziaływania na inne makromolekuły jest tworzenie się wspomnianej wcześniej; lipofuscyny [8].

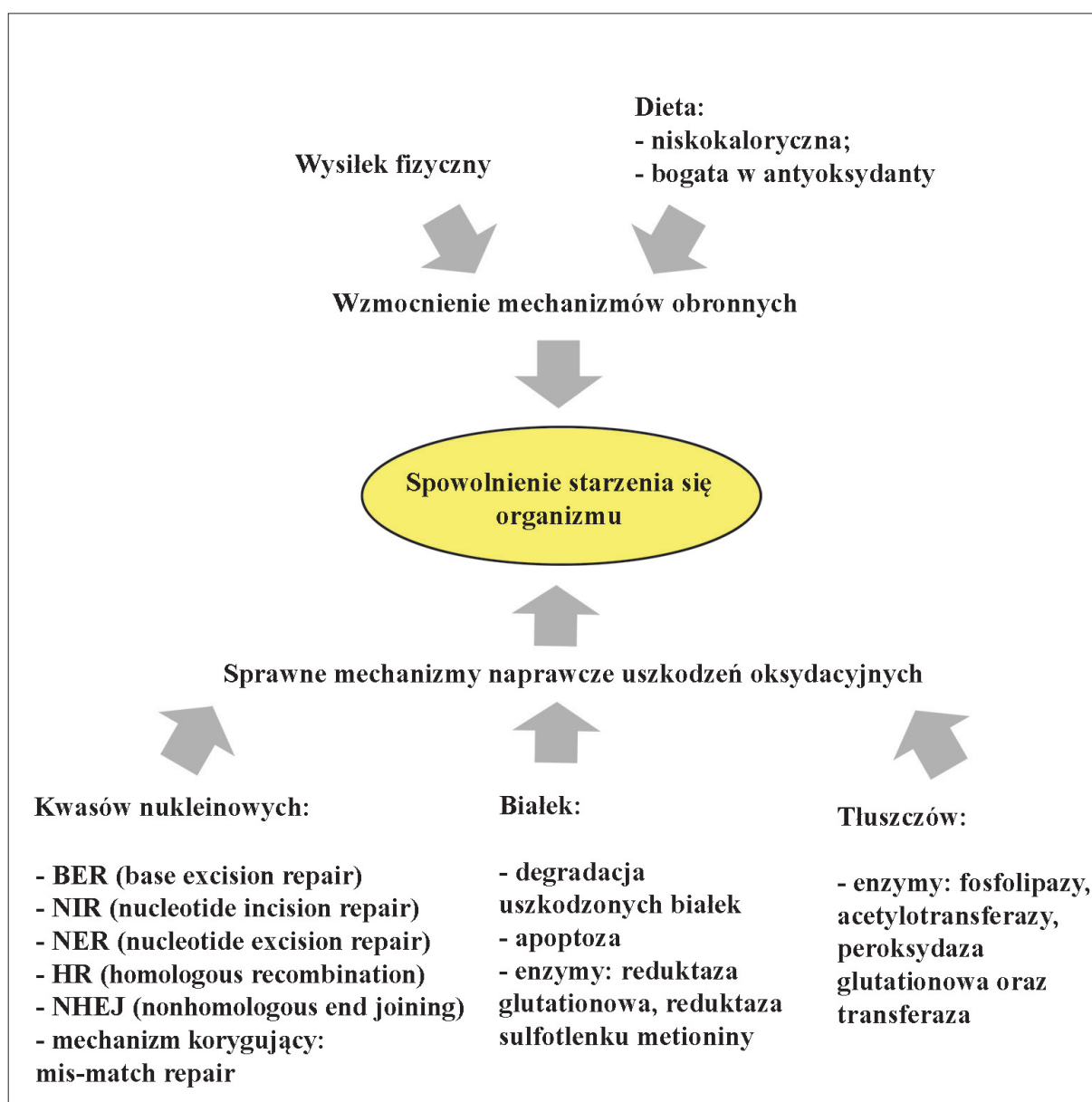
### WZMACNIANIE MECHANIZMÓW OBRONNYCH PRZEZ STYMULACJĘ AKTYWNOŚCI ENZYMÓW ANTYOKSYDACYJNYCH

Istnieje ścisła zależność między aktywnością enzymów antyoksydacyjnych i stężeniem antyoksydantów niskocząsteczkowych, a maksymalną długością życia [3]. W starzejącym się organizmie dochodzi do zaburzenia homeostazy prooksydacyjno-antyoksydacyjnej. Może się rozwinąć w odpowiedzi na nadmiernie wytwarzane RFT lub też gdy przez długi okres czasu, zbyt duża ilość antyoksydantów jest suplementowana dodatkowo [36]. W takiej sytuacji organizm zmniejsza aktywność enzymów antyoksydacyjnych (adaptacyjne zmiany metabolizmu). Skuteczną metodą walki z nadmiarem RFT może być stosowanie diety niskokalorycznej, która powoduje

znaczne obniżenie tempa metabolizmu, a tym samym spowalnia „zużycie” enzymów antyoksydacyjnych [33].

Udowodniono również, że wieloletni trening fizyczny moduluje sprawność mechanizmów obrony antyoksydacyjnej. Modulacja wynika z zaburzenia równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej na korzyść procesów prooksydacyjnych. W odpowiedzi wzrostu aktywność enzymów antyoksydacyjnych. Wieloletnia, umiarkowana aktywność fizyczna powoduje utrwalenie się dużej aktywności enzymów antyoksydacyjnych [21].

Można zatem przyjąć, że spożywanie niskokalorycznych posiłków z dużą zawartością substancji o właściwościach antyoksydacyjnych oraz wysiłek fizyczny o intensywno-



Ryc. 2. Spowolnienie procesów starzenia się wobec funkcjonujących w organizmie mechanizmów molekularnych

ści stymulującej systemu neutralizujące wolne rodniki, będą się przyczyniać do spowolnienia procesów starzenia się organizmu.

Związany z tym schemat, uwzględniający także udział omówionych wcześniej mechanizmów naprawczych przedstawiono na ryc. 2.

## PODSUMOWANIE

Utrzymanie homeostazy komórkowej jest jednym z najtrudniejszych procesów, z jakimi zmagają się organizm człowieka w ciągu całego życia. Zaburzenie równowagi prowadzi m.in. do nadmiernego wytwarzania RFT w stosunku do mechanizmów obrony antyoksydacyjnej. Atakują przede wszystkim kwasy nukleinowe,

białka oraz tłuszcze, a kumulacja powstałych modyfikacji może się przyczynić do rozwoju wielu procesów patologicznych, m.in. nowotworów, chorób neurodegeneracyjnych. Stres oksydacyjny odgrywa w procesie starzenia się organizmu istotną rolę, ponieważ wraz z wiekiem w wyniku oddziaływania z wolnymi rodnikami, wzrasta liczba uszkodzeń makrocząstek. U osób starszych stwierdza się w tkankach duże stężenia wskaźników uszkodzeń oksydacyjnych, jednak nie poznano jeszcze przyczyn postępującego wraz z wiekiem osłabienia systemów naprawy oraz obrony antyoksydacyjnej. Możliwe, że zaburzenie tych procesów jest głównym powodem procesu starzenia się, zatem ich wzmacnianie i zapobieganie zmianom pozwoliłoby na wydłużenie okresu sprawności fizycznej, umysłowej i życia w dobrym zdrowiu.

## PIŚMIENNICTWO

- [1] Bielak-Żmijewska A., Grabowska W., Przybylska D.: Rola starzenia komórkowego w starzeniu organizmu i chorobach związanych z wiekiem. *Postępy Biochem.*, 2014; 60: 147-160
- [2] Budzińska K.: Wpływ starzenia się organizmu na biologię mięśni szkieletowych. *Gerontol. Pol.*, 2005; 13: 1-7
- [3] Cutler R.G.: Antioxidants and aging. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1991; 53 (Suppl. 1): 373S-379S
- [4] de Grey A.D., Ames B.N., Andersen J.K., Bartke A., Campisi J., Heward C.B., McCarter R.J., Stock G.: Time to talk SENS: critiquing the immutability of human aging. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2002; 959: 452-462
- [5] Dei R., Takeda A., Niwa H., Li M., Nakagomi Y., Watanabe M., Inagaki T., Washimi Y., Yasuda Y., Horie K., Miyata T., Sobue G.: Lipid peroxidation and advanced glycation end products in the brain in normal aging and in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol.*, 2002; 104: 113-122
- [6] Dereń-Wagemann I., Kielbiński M., Kuliczowski K.: Autofagia - proces o dwóch obliczach. *Acta Haematol. Pol.*, 2013; 44: 383-391
- [7] Dębska S., Kubicka J., Czyżykowski R., Habib M., Potemski P.: Inhibitory PARP – podstawy teoretyczne i zastosowanie kliniczne. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2012; 66: 311-321
- [8] Drobek-Słowik M., Karczewicz D., Safranow K.: Potencjalny udział stresu oksydacyjnego w patogenezie zwyrodnienia plamki związane z wiekiem (AMD). *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2007; 61: 28-37
- [9] Finkel T., Holbrook N.J.: Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, 2000; 408: 239-247
- [10] Fries J.F.: Aging, natural death, and the compression of morbidity. *N. Engl. J. Med.*, 1980; 303: 130-135
- [11] Friguet B.: Oxidized protein degradation and repair in ageing and oxidative stress. *FEBS Lett.*, 2006; 580: 2910-2916
- [12] Fulle S., Protasi F., Di Tano G., Pietrangelo T., Beltrami A., Boncompagni S., Vecchiet L., Fanò G.: The contribution of reactive oxygen species to sarcopenia and muscle ageing. *Exp. Gerontol.*, 2004; 39: 17-24
- [13] Gajewski M., Kamińska E., Szczepanik S., Wysocki Ł., Maśliński S.: Czy zakłóceniami przepływu energii możemy opisać główne zjawiska patologii? *Postępy Fitoter.*, 2005; 1-2: 53-57
- [14] Głód B.K., Piszcz P., Kiersztyn I., Lamert A.: Zastosowanie HPLC do oznaczania wolnych rodników, antyoksydantów oraz całkowitego potencjału antyoksydacyjnego. *Post. Chromatogr., Monografie nr 111, praca zbiorowa, Wyd. AP, Siedlce 2009; 41-66*
- [15] Gutowicz M.: Wpływ reaktywnych form tlenu na ośrodkowy układ nerwowy. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2011; 65: 104-113
- [16] Harman D.: Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J. Gerontol.*, 1956; 11: 298-300
- [17] Hipkiss A.R.: Accumulation of altered proteins and ageing: causes and effects. *Exp. Gerontol.*, 2006; 41: 464-473
- [18] Holvoet P., Kritchevsky S.B., Tracy R.P., Mertens A., Rubin S.M., Butler J., Goodpaster B., Harris T.B.: The metabolic syndrome, circulating oxidized LDL, and risk of myocardial infarction in well-functioning elderly people in the health, aging, and body composition cohort. *Diabetes*, 2004; 53: 1068-1073
- [19] Junqueira V.B., Barros S.B., Chan S.S., Rodrigues L., Giavarotti L., Abud R.L., Deucher G.P.: Aging and oxidative stress. *Mol. Aspects Med.*, 2004; 25: 5-16
- [20] Karolkiewicz J.: Wpływ stresu oksydacyjnego na strukturę i funkcję komórek oraz konsekwencje wynikające z uszkodzeń polnorodnikowych – związek z procesami starzenia. *Gerontol. Pol.*, 2011; 19: 59-67
- [21] Karolkiewicz J.: Równowaga prooksydacyjno-antyoksydacyjna i wybrane wskaźniki metaboliczne u mężczyzn – wpływ wieloletniego treningu fizycznego [rozprawa doktorska]. Akademia Wychowania Fizycznego im Eugeniusza Piaseckiego, Poznań 2010, ss.144
- [22] Kazula A., Kazula E.: Proteasomy a nowe kierunki terapii. *Farm. Pol.*, 2009; 65: 511-523
- [23] Kiliańska Z.M., Żoźniarczyk J., Węgierska-Gądek J.: Biologiczna aktywność polimerazy poli(ADP-rybozy)-1. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2010; 64: 344-363
- [24] Kmiecik B., Skotny A., Batorycka M., Wawrzaszek R., Rybak Z.: Wpływ stresu oksydacyjnego na procesy regeneracji tkankowej. *Polim. Med.*, 2013; 43: 191-197
- [25] Kujoth G.C., Hiona A., Pugh T.D., Someya S., Panzer K., Wohlge-muth S.E., Hofer T., Seo A.Y., Sullivan R., Jobling W.A., Morrow J.D., Van Remmen H., Sedivy J.M., Yamasoba T., Tanokura M., Weindruch R., Le-euwenburgh C., Prolla T.A.: Mitochondrial DNA mutations, oxidative stress, and apoptosis in mammalian aging. *Science*, 2005; 309: 481-484
- [26] Liang F.Q., Godley B.F.: Oxidative stress-induced mitochondrial DNA damage in human retinal pigment epithelial cells: a possible



mechanism for RPE aging and age-related macular degeneration. *Exp. Eye Res.*, 2003; 76: 397-403

[27] 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

[28] Maynard S., Schurman S.H., Harboe C., de Souza-Pinto N.C., Bohr V.A.: Base excision repair of oxidative DNA damage and association with cancer and aging. *Carcinogenesis*, 2009; 30: 2-10

[29] Oliński R., Gackowski D., Rozalski R., Foksinski M., Białkowski K.: Oxidative DNA damage in cancer patients: a cause or a consequence of the disease development? *Mutat. Res.*, 2003; 531: 177-190

[30] Oliński R., Jurgowiak M.: Uracyl w DNA – przyjaciel czy wróg? *Postępy Biochem.*, 2009; 55: 25-35

[31] Płoszaj T., Robaszekiewicz A., Witas H.: Oksydacyjne uszkodzenia mitochondrialnego DNA - przyczyna czy skutek zwiększonej produkcji reaktywnych form tlenu. *Postępy Biochem.*, 2010; 56: 139-146

[32] Przybyszewski W.M., Kasperczyk J., Stokłosa K., Bkhiyan A.: Uszkodzenia DNA powodowane przez produkty peroksydacji lipidów. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2005; 59: 75-81

[33] Qiu X., Brown K., Hirsche M.D., Verdin E., Chen D.: Calorie restriction reduces oxidative stress by SIRT3-mediated SOD2 activation. *Cell Metab.*, 2010; 12: 662-667

[34] Romanowicz-Makowska H., Smolarz B., Makowski M., Pertyński T.: Znaczenie mechanizmów naprawy DNA w procesie transformacji nowotworowej u kobiet w okresie menopauzy. *Przegl. Menopauzalny*, 2009; 8: 26-32

[35] Sitte N., Huber M., Grune T., Ladhoff A., Doecke W.D., Von Zglinicki T., Davies K.J.: Proteasome inhibition by lipofuscin/ceroid during postmitotic aging of fibroblasts. *FASEB J.*, 2000; 14: 1490-1498

[36] Sohal R.S., Mockett R.J., Orr W.C.: Current issues concerning the role of oxidative stress in aging: a perspective. *Results Probl. Cell Differ.*, 2000; 29: 45-66

[37] Ścibior-Bentkowska D., Czeczot H.: Komórki nowotworowe a stres oksydacyjny. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2009; 63: 58-72

[38] Wolf F.I., Fasanella S., Tedesco B., Cavallini G., Donati A., Bergamini E., Cittadini A.: Peripheral lymphocyte 8-OHdG levels correlate with age-associated increase of tissue oxidative DNA damage in Sprague-Dawley rats. Protective effects of caloric restriction. *Exp. Gerontol.*, 2005; 40: 181-188

[39] Zabłocka A., Janusz M.: Dwa oblicza wolnych rodników tlenowych. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2008; 62: 118-124

[40] Zaremba T., Oliński R.: Oksydacyjne uszkodzenia DNA - ich analiza oraz znaczenie kliniczne. *Postępy Biochem.*, 2010; 56: 124-138

[41] Zegarska B., Woźniak M.: Przyczyny wewnątrzpochodnego starzenia się skóry. *Gerontol. Pol.*, 2006; 14: 153-159

---

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.