

Received: 2011.05.13
Accepted: 2011.07.22
Published: 2011.08.16

Znaczenie zaburzeń układu prooksydacyjno- -antyoksydacyjnego dla etiopatologii cukrzycy*

The role of disorders of the prooxidant-antioxidant system
in diabetes etiopathology

Małgorzata Mrowicka

Zakład Chemii i Biochemii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Streszczenie

Główną przyczyną rozwoju powikłań cukrzycy jest przewlekła hiperglikemia, która indukuje szereg mechanizmów generujących nadmierne wytwarzanie reaktywnych form tlenu (RFT). W cukrzycy obserwuje się wzrost poziomu wolnych rodników, zaburzenia aktywności endogennych antyoksydantów enzymatycznych oraz zmniejszenie stężeń drobnocząsteczkowych przeciwutleniaczy. W konsekwencji dochodzi do zaburzenia równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej określanej mianem stresu oksydacyjnego. Celem pracy jest podsumowanie dotychczasowej wiedzy o roli reaktywnych form tlenu i enzymatycznych przeciwutleniaczy w rozwoju powikłań u chorych na cukrzycę.

Słowa kluczowe:

cukrzyca • czynniki genetyczne • równowaga prooksydacyjno-antyoksydacyjna

Summary

Chronic hyperglycemia is believed to play a pivotal role in the development of diabetic complications. It was found that hyperglycemia triggered a number of mechanisms that evoke overproduction of reactive oxygen species (ROS). Diabetes mellitus is associated with an increased level of free radicals, disturbances of the enzymatic antioxidant defense system and lower concentration of exogenous antioxidants. In consequence, these abnormalities lead to a redox imbalance called oxidative stress. The aim of the present study is to summarize the role of reactive oxygen species and changes in the antioxidant defense system in the development of diabetic complications.

Key words:

diabetes mellitus • genetic factors • prooxidative-antioxidative equilibrium

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=956085>

Word count: 3083

Tables: –

Figures: 2

References: 47

Adres autorki:

dr n. med. Małgorzata Mrowicka, Katedra Biomedycznych Podstaw Fizjoterapii, Zakład Chemii i Biochemii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny, pl. J. Hallera 1, 90-647 Łódź; e-mail: malgorzata.mrowicka@umed.lodz.pl

* Praca finansowana z funduszu grantu MNiSW nr NN402501639.



Wykaz skrótów: **ADMA** – dimetyloarginina (asymmetric dimethylarginine); **AGE** – końcowe produkty glikacji (advanced glycation endproducts); **AOPP** – zaawansowane produkty utleniania białek (advanced oxidation protein product); **AP-1** – białko aktywujące 1 (activator protein-1); **CAT** – katalaza (catalase); **DAG** – diacylglycerol; **DDAH** – dimetyloargininy dimetyloaminohydrolaza (dimethylarginine dimethylaminohydrolase); **eNOS** – śródbłonkowa syntaza tlenu azotu (endothelial nitric oxide synthase); **FFA** – wolne kwasy tłuszczowe (free fatty acids); **GPx** – peroksydaza glutationowa (glutathione peroxidase); **GSH** – glutation (glutathione); **ICAM** – cząsteczka adhezji międzykomórkowej (intercellular adhesion molecule); **IL** – interleukina (interleukin); **NADH** – dinukleotyd nikotynamidoadeninowy (nicotinamide adenine dinucleotide); **NADPH** – dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate); **NF-κB** – transkrypcyjny czynnik jądrowy (nuclear factor κB); **p53** – białko 53 (protein 53); **PKC** – kinaza białkowa C (protein kinase C); **RAGE** – receptory produktów zaawansowanej glikacji (receptor for advanced glycation end-product); **SOD** – dysmutaza ponadtlenkowa (superoxide dismutase); **T1DM** – cukrzyca typu 1 (type 1 diabetes mellitus); **T2DM** – cukrzyca typu 2 (type 2 diabetes mellitus); **TNF-α** – czynnik martwicy guza (tumor necrosis factor); **UCP-1** – białko rozprzegające 1 fosforylację oksydacyjną (uncoupling protein-1); **VCAM** – cząsteczka adhezji do śródbłonka naczyń (vascular cell adhesion molecule).

1. WSTĘP

Cukrzyca jest chorobą przewlekłą, w przebiegu której długotrwałe zaburzenia metaboliczne prowadzą do zmian w mikro- i makrokrążeniu, wywołując nieodwracalne uszkodzenia wielu narządów. Wyróżnia się kilka rodzajów tej choroby, zależnie od czynników etiologicznych, przebiegu czy podatności na leczenie. Klasyfikacja cukrzycy według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) wyróżnia cukrzycę typu 1 (T1DM), cukrzycę typu 2 (T2DM), inne określone rodzaje cukrzycy oraz cukrzycę ciężarnych [1]. Interakcje genetyczne, środowiskowe czynniki ryzyka, m.in.: siedzący tryb życia, brak lub niewielki wysiłek fizyczny, otyłość to główne czynniki odpowiedzialne za rozwój cukrzycy.

Zniszczenia komórek β trzustki, odpowiedzialnych za sekrecję insuliny jest przyczyną rozwoju T1DM, cukrzycy typu 1 nazywanej również cukrzycą insulinozależną. Ten rodzaj cukrzycy (stanowiący około 5–10% wszystkich przypadków cukrzycy), związany jest z istniejącym procesem autoimmunizacyjnym i prowadzi do bezwzględnego niedoboru insuliny u osób predysponowanych genetycznie. Ta postać choroby może się ujawnić w każdym wieku, najczęściej jednak pojawia się w dzieciństwie i do 30 roku życia.

T2DM, stanowi około 90–95% wszystkich przypadków tej choroby, określana była dawniej mianem cukrzycy insulino niezależnej lub osób dorosłych. Ta postać choroby jest wynikiem interakcji między genetycznymi czynnikami predysponującymi a czynnikami środowiskowymi, w tym przede wszystkim prowadzącymi do nadmiernego gromadzenia substratów energetycznych (mała aktywność fizyczna przy jednoczesnym nadmiarze spożywanych kalorii). Uważa się, że za jej rozwój odpowiedzialna jest postępująca dysfunkcja komórek beta trzustki i współtowarzysząca insulinooporność. Chorują na ten rodzaj cukrzycy osoby w wieku średnim i starszym, ze współistniejącą otyłością, nadciśnieniem tętniczym i zaburzeniami gospodarki lipidowej.

Przyczyną rozwoju powikłań ostrych i przewlekłych w cukrzycy jest utrzymujące się podwyższone stężenie glukozy

we krwi. Przewlekła hiperglikemia powoduje zaburzenia funkcji, uszkodzenie i niewydolność wielu narządów, zwłaszcza oczu, nerek oraz powikłania ze strony układu nerwowego i sercowo-naczyniowego. Powikłania te w istotny sposób zwiększają chorobowość oraz śmiertelność związaną z powikłaniami cukrzycy oraz obniżają jakość życia [4].

2. ENZYMATYCZNA OBRONA ANTYOKSYDACYJNA W CUKRZYCY

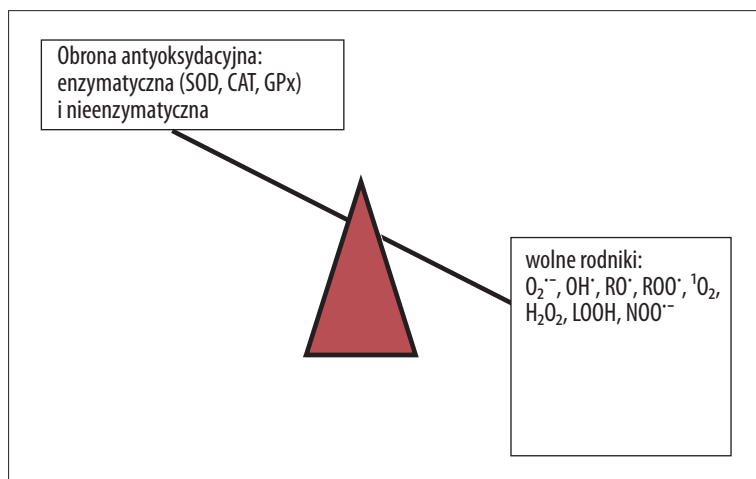
W celu obrony przed szkodliwym działaniem wolnych rodników tlenowych organizm wykształcił mechanizmy ochronne w postaci układów obrony antyoksydacyjnej: nieenzymatycznej i enzymatycznej. W obrębie komórek czynności antyoksydacyjne spełnia głównie układ enzymatyczny, który składa się z dysmutazy ponadtlenkowej, katalazy i peroksydazy glutationowej.

2.1. Dysmutaza ponadtlenkowa

Dysmutaza ponadtlenkowa jest enzymem katalizującym reakcję dysmutacji anionorodnika ponadtlenkowego (reakcja jednoczesnej redukcji i utlenienia) do nadtlenu wodoru (H_2O_2) i tlenu. W zależności od miejsca występowania w organizmach ssaków można wyróżnić trzy izoformy dysmutazy ponadtlenkowej. Wewnątrz komórki w cytoplazmie znajduje się enzym zależny od jonów miedzi i cynku (CuZn-SOD; SOD-1). W macierzy mitochondrialnej centrum aktywne dysmutazy ponadtlenkowej zajęte jest przez jon manganu (Mn-SOD; SOD-2). Na zewnątrz komórki występuje trzeci rodzaj enzymu nazwany pozakomórkową dysmutazą ponadtlenkową (EC-SOD) [46].

2.2. Katalaza

Unieszkodliwianie anionorodników ponadtlenkowych przez dysmutazę ponadtlenkową dostarcza kolejnej aktywnej postaci tlenu – nadtlenu wodoru – substratu dla innego enzymu układu antyoksydacyjnego – katalazy, enzymu umiejscowionego przede wszystkim w peroksysomach [6]. Katalaza jest ważnym enzymem działającym przeciwko aktywnym tlenkom, usuwa nadtlenek wodoru, wytwarzany podczas licznych procesów metabolicznych, zachodzących we wszystkich komórkach organizmu.



Ryc. 1. Schemat zaburzeń równowagi oksydacyjno-redukcyjnej w cukrzycy; $O_2^{\cdot-}$ – anionorodnik ponadtlenkowy, OH^{\cdot} – rodnik hydroksylovyy, RO^{\cdot} – rodnik alkoksylvyy, ROO^{\cdot} – rodnik peroksyalkoksylvyy, 1O_2 – tlen singletovyy, H_2O_2 – nadttlenek wodoru, LOOH – nadttlenki lipidovyy, $NOO^{\cdot-}$ – anion peroksynitrylovyy

2.3. Peroksydaza glutationowa

Grupa peroksydaz glutationovyych obejmuje pięć izoform, do których należą: cytosolowa peroksydaza glutationowa (cGPx, GPx-1), żołądkowo-jelitowa peroksydaza glutationowa (giGPx, GPx-2), plazmatyczna peroksydaza glutationowa (pGPx, GPx-3), peroksydaza glutationowa wodoronadtlenków lipidów (phGPx, GPx-4) oraz jądrova peroksydaza glutationowa (spGPx). Fizjologiczną rolą peroksydazy glutationovyy jest usuwanie nadmiaru nadttlenku wodoru. Enzym ten ma większe powinowactwo do H_2O_2 , w stosunku do katalazy, co sugeruje jego istotniejszą rolę w sytuacjach, w których stężenia H_2O_2 są małe. Szczególnie ważną rolę odgryva peroksydaza glutationowa w mitochondriach, w których nie występuje katalaza.

3. STRES OKSYDACYJNY W CUKRZYCY

Uważa się, że stres oksydacyjny ma ogromne znaczenie w patogenezie powikłań cukrzycy [9,12,14,27]. W warunkach prawidłovyych istnieje równowaga między powstającymi reaktywnymi formami tlenu (RFT) i endogennymi układami antyoksydacyjnymi. Stresem oksydacyjnym nazywamy stan charakteryzujący się nadmierną aktywnością RFT, w wyniku ich wzmożonego wytwarzania i upośledzonego usuwania przez ustrojovyy systemy antyoksydacyjne. Schemat zaburzeń równowagi oksydacyjno-redukcyjnej przedstawia ryc. 1.

3.1. Hiperglikemia

Główną przyczyną zaburzeń równowagi oksydacyjno-redukcyjnej u chorych na cukrzycę jest przewlekła hiperglikemia [3,28,35].

Utrzymanie się podwyższonych stężeń glukozy inicjuje wiele mechanizmów, które doprowadzają do uszkodzenia naczyń krwionośnych i neurocytów. W wyniku długotrwałej utrzymującej się hiperglikemii dochodzi do:

- nieenzymatycznej glikacji białek,
- nasilenia przemian glukozy w cyklu poliolvyy, w
- zwiększonego powstawania diacylglicerolu (DAG) i aktywacji białkovyy kinazy C (PKC),
- nasilenia stresu oksydacyjnego [7,14].

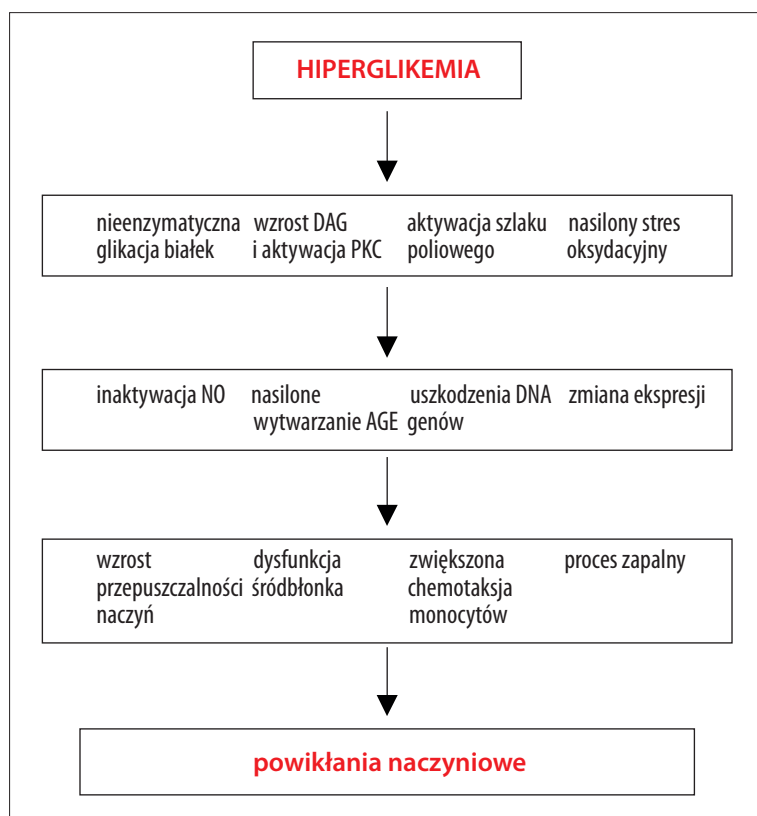
Dodatkowo źródłem RFT w cukrzycy jest mitochondrialny łańcuch oddechovyy [4,12]. Wykazano, że zwiększenie glikolizy i cyklu Krebsa w odpowiedzi na hiperglikemię prowadzi do ogromnego wzrostu puli protonów, które następnie powodują wzrost gradientu protonovyygo i w konsekwencji dochodzi do tworzenia $O_2^{\cdot-}$. Za przyjęciem tej hipotezy przemawia to, że redukcja gradientu protonovyygo w wyniku zwiększenia aktywności Mn-SOD i białka 1 rozprzegającego fosforylację oksydacyjną (uncoupling protein-1-UCP-1) hamuje tworzenie RFT indukowane hiperglikemią [31]. Ważnym źródłem RFT są również oksydaza NADPH i ksantynova [11]. Stres oksydacyjny może zmieniać osoczoovy profil lipoprotein, parametry koagulacyjne i strukturę endotelium czy błon komórkovyych [12]. Rolę hiperglikemii w powstawaniu stresu oksydacyjnego oraz ich konsekwencje przedstawiono na ryc. 2.

3.2. Nasiloną glikacja białek

W cukrzycy teoria stresu oksydacyjnego łączona jest z jednej strony z autooksydacją glukozy (glikooksydacją), w wyniku której powstają reaktywne ketoaldehydy. Z drugiej strony, nasila to proces nieenzymatycznej glikacji białek, w której powstają nieodwracalne końcovyy produkty glikacji, tzw. AGE-proteiny. W trakcie tego procesu, ze względu na silną zależność od tlenu, powstają liczne toksyczne pochodne tlenu. U osób z cukrzycą podwyższone są stężenia pentozydyny, pyraliny czy karboksymetylovizyny. Nasilenie wytwarzania RFT zależy od stopnia glikacji białek, a więc i od glikemii. Procesowi glikacji ulega bardzo wiele białek organizmu, między innymi białka błony podstawnej i białka krwi. Biorąc pod uwagę czas potrzebny do ich syntezy, glikacji podlegają białka o długim okresie półtrwania, takie jak: kolagen, mielina, krystalina oka [39]. Następuje przebudova błony podstawnej, jej pogrubienia oraz zwiększonej podatności naczyń na powstawanie zakrzepów. Skutki powstawania AGE to:

- zmiany prokoagulacyjne na powierzchni komórek endotelium, powstawanie zakrzepów, skurcz naczyń,
- wzrost przepuszczalności endotelium,
- proliferacja komórek mięśni gładkich,
- wzrost liczby krwinek płytkovyych, zaburzenia ich struktury i funkcji,
- zwiększona chemotaksja monocytów krwi [23,34].





Ryc. 2. Rola hiperglikemii w tworzeniu stresu oksydacyjnego i powikłań cukrzycy

3.3. Zaburzenia szlaku poliowego

Hiperglikemia powoduje również zwiększoną konwersję glukozy do sorbitolu i fruktozy na drodze szlaku polioloowego oraz nadmierną ekspresję enzymów wchodzących w skład tego szlaku: reduktazy aldozy i dehydrogenazy sorbitolu. Procesy te zachodzą w tkankach, w których transport glukozy jest niezależny od insuliny (siatkówka, soczewka oka, nerki, nerwy obwodowe). Wzrasta stężenie sorbitolu, fruktozy, galaktikolu, które słabo przenikają przez błony komórkowe, ulegają akumulacji, co doprowadza do obrzęku i uszkodzenia tkanek [4,7]. Małe wartości stosunku postaci zredukowanej do utlenionej fosforanu dinukleotydu nikotynamidoadeninowego – NADPH/NADP⁺, a podnosi wartość stosunku dinukleotydu nikotynamidoadeninowego – NADH/NAD⁺. Wzrost tego ostatniego prowadzi do aktywacji cyklu przemian kwasu arachidonowego lipo- i cyklooksygenazowo, co warunkuje dodatkowe wytwarzanie wolnych rodników. Natomiast obniżenie poziomu NADPH może prowadzić do obniżenia aktywności enzymów NADPH-zależnych biorących udział w wielu przemianach metabolicznych. Pociąga to za sobą hamowanie cyklu redukcji glutationu (GSH), co zwiększa podatność śródbłonna naczyniowego na uszkodzenie na powstający w nadmiarze nadtlenek wodoru [45].

3.4. Dysfunkcja śródbłonna

Aktywacja metabolizmu glukozy na drodze szlaku polioloowego prowadzi również do wzrostu stężenia DAG. W warunkach hiperglikemii DAG może powstawać *de novo* z pośrednich produktów przemian glikolitycznych. Diacylglicerol aktywuje wiele kinaz białkowych (PKC). W cukrzycy aktywowana jest głównie izoforma β PKC

(PKC-β), która jest odpowiedzialna za stymulację fosfolipazy A2. Następuje inicjacja kaskady kwasu arachidonowego i spadek aktywności pompy sodowo-potasowej. W konsekwencji pobudzenie DAG-PKC-β nasila wzrost wytwarzania RFT. Dodatkowo zostają aktywowane płytki krwi, neutrofile, makrofagi czy komórki śródbłonna. Doprowadza to do uszkodzenia śródbłonna naczyniowego, upośledzenia powstawania tlenku azotu (NO), powoduje oksydację lipidów [23,40]. Równowaga pomiędzy NO – substancją kontrolującą napięcie ściany naczyniowej, a RFT warunkuje skurcz naczyń, proliferację mięśni gładkich naczyń oraz aktywność prozakrzepową, prozapalną i prooksydacyjną [8,35]. Tlenek azotu jest ponadto zmiataczem wolnych rodników i ma działanie antyproliferacyjne. Dysfunkcja śródbłonna i zmniejszona aktywność tlenku azotu może wynikać z nadmiernego wytwarzania anionorodnika ponadtlenkowego, związanego ze stresem oksydacyjnym w warunkach hiperglikemii. Wykazano, że w procesie tym uczestniczy śródbłonna syntaza tlenku azotu (endothelial nitric oxide synthase – eNOS) przy niedoborze kofaktorów: L-argininy i tetrahydrobiopteryny. Udowodniono, że mała aktywność endogennych enzymów usuwających RFT: dysmutazy ponadtlenkowej (CuZn-SOD) czy peroksydazy glutationowej (GPx) prowadzi do nagromadzenia anionorodników ponadtlenkowych i wzmoczonej inaktywacji NO za pośrednictwem reakcji $\text{NO} + \text{O}_2^{\cdot-} \rightarrow \text{ONOO}^-$ [22].

Uważa się, że na proces syntezy i inaktywacji NO mają wpływ również produkty nieenzymatycznej glikacji białek [7]. Ponadto w warunkach stresu oksydacyjnego wykazano obniżoną aktywność DDAH – dimetyloargininy dimetyloaminohydrolazy, enzymu rozkładającego asymetryczną dimetyloargininę (ADMA), która jest inhibitorem

naczyniowej syntazy NO. Upośledzenie działania DDAH przyczynia się do gromadzenia się ADMA, co może się przyczyniać do dysfunkcji wazodylatacyjnej naczyń krwionośnych w cukrzycy [26].

Przewlekła hiperglikemia, kumulacja końcowych produktów glikacji, wzrost RFT, mogą powodować u chorych na cukrzycę zaburzenia struktury i funkcji płytek krwi. Wykazano, że u osób chorych na cukrzycę typu 2 jeszcze bez powikłań ze strony układu sercowo-naczyniowego dochodzi do nadmiernej agregacji płytek krwi. Znacząco również wrażliwość na płytkach krwi stężenie dialdehydu malonowego (MDA) – produktu degradacji lipidów, który reaguje krzyżowo z grupami sulfhydrylowymi (-SH) białek wchodzących w skład błon komórkowych, prowadząc do ich uszkodzenia [43].

3.5. Dyslipidemia

Zmiany profilu lipidowego w cukrzycy typu 2 najczęściej polegają na podwyższonym stężeniu triglicerydów, a obniżonym stężeniu cholesterolu frakcji HDL. Cholesterol frakcji LDL cechuje predyspozycja do tworzenia małych, gęstych, bogatych w triacyloglicerole cząstek, które łatwiej ulegają oksydacyjnej modyfikacji i działają cytotoksycznie na śródbłonek naczyniowy zwiększając aterosclerogenezę [12]. W wyniku nasilenia działania RFT oraz wyczerpania endogennych układów antyoksydacyjnych, przy jednoczesnym występowaniu zaburzeń ilościowych frakcji lipidów osocza, dochodzi do peroksydacji lipidów, następstwem tego jest powstawanie dialdehydu malonowego (MDA), wodoronadtlenków kwasów tłuszczowych, sprzężonych dienów oraz oksycholesteroli [41]. Ponadto wykazano, że glikooksydowane cząsteczki LDL mają zdolność indukowania syntezy przeciwciał, które stymulują sekrecję interleukin, cząsteczek adhezyjnych, inicjując tym samym proces aterosclerogenezę [8].

Wysokie stężenie glukozy przyczynia się także do bezpośredniej stymulacji granulocytów obojętnochłonnych, co prowadzi do wytwarzania dużej ilości rodników tlenowych [33].

3.6. Hiperinsulinemia i insulinooporność

W rozwoju cukrzycy typu 2 obserwuje się zaburzenia wydzielania i działania insuliny. Oba zaburzenia mają podłoże genetyczne i środowiskowe (wiek, otyłość, glukotoksyczność i lipotoksyczność). We wczesnym etapie rozwoju cukrzycy typu 2 dochodzi do upośledzenia odpowiedzi tkanek na insulinę (insulinooporność). Aby utrzymać prawidłowe stężenie glukozy w warunkach insulinooporności dochodzi do wzrostu wydzielania insuliny przez komórki beta trzustki (hiperinsulinizm). Utrzymujący się hiperinsulinizm wyczerpuje zdolność wytwarzania insuliny przez komórki beta trzustki i rozwój cukrzycy [21].

Wzrost RFT i zmniejszona aktywność antyutleniaczy jest również następstwem hiperinsulinemii i zmniejszonej wrażliwości tkanek na insulinę [9]. Hiperinsulinemii towarzyszy ponadto wzrost stężenia katecholamin, które też mogą być źródłem RFT. Z kolei zjawisku insulinooporności towarzyszy wzrost stężenia w osoczu wolnych kwasów tłuszczowych [13]. Ponadto insulinooporność zmniejsza zużycie

glukozy w mięśniach szkieletowych, nasila glukoneogenezę i zmniejsza syntezę glikogenu w wątrobie, co przyczynia się do przewlekłej hiperglikemii.

4. WPŁYW PALENIA TYTONIU NA INDUKCJĘ PROCESÓW PROOKSYDACYJNYCH W CUKRZYCY

Wśród czynników stymulujących nadmierne wytwarzanie reaktywnych form tlenu na uwagę zasługuje również dym tytoniowy, który jest najlepiej poznaną używką i ma istotny wpływ na rozwój stresu oksydacyjnego. Dym tytoniowy zawiera prooksydanty, zarówno w swojej frakcji gazowej, jak i w obrębie substancji smołowych. Wśród RFT dominują rodniki semichinonowe, znaczne ilości tlenu i dwutlenku azotu oraz hydrochinony. Na skutek palenia tytoniu spada zawartość antyoksydantów niskocząsteczkowych w wyniku wzrostu intensywności wolnorodnikowej degradacji białek i lipidów we krwi. Odrębne badania chorych na cukrzycę i palących tytoń jednoznacznie potwierdziły zwiększoną chorobowość i zwiększone ryzyko przedwczesnego zgonu związane z rozwojem powikłań makronaczyniowych w tej grupie. Palenie tytoniu wiąże się również z przedwczesnym wystąpieniem obwodowych powikłań mikronaczyniowych i może mieć udział w patogenezie cukrzycy typu 2 [16]. Dym tytoniowy nasila stan zapalny w naczyniach, poprzez aktywację makrofagów, co przyspiesza proces miażdżycowy na skutek toksycznego uszkodzenia śródbłonna. Poza tym palenie papierosów wpływa na obniżenie stężenia HDL, a narastające niedotlenienie nasila proliferację błony wewnętrznej naczyń i wzrost przepuszczalności śródbłonna naczyniowego. Ponadto dym tytoniowy może wpływać na podwyższenie lepkości krwi i zaburzenia równowagi procesów krzepnięcia i fibrylizacji [42].

5. ZABURZENIA AKTYWNOŚCI ENZYMATYCZNEGO SYSTEMU ANTYOKSYDACYJNEGO W CUKRZYCY

Autorzy badań wpływu hiperglikemii na układ pro-antyoksydacyjny u chorych na cukrzycę, w większości opisują nasilenie procesu peroksydacji lipidów błon komórkowych. Markerem tego procesu jest dialdehyd malonowy, jeden z wielu związków reagujących z kwasem tiobarbiturowym, potwierdzający wzmożone wytwarzanie wolnych rodników. Obrona antyoksydacyjna zostaje zaburzona zarówno na poziomie komórki, którą chronią enzymy antyoksydacyjne, a także modyfikacji podlegają stężenia osoczowych drobnocząsteczkowych antyutleniaczy nieenzymatycznych, takich jak witamina A, tokoferol (witamina E), askorbinian (witamina C), glutation, karoteny, flawonoidy, bilirubina, kwas moczowy, koenzym Q i inne. Wśród badaczy istnieją spore różnice w ocenie aktywności enzymów antyoksydacyjnych u chorych na cukrzycę.

Kesavulu i wsp. [25] przedstawili wyniki badań, oceniające proces utleniania lipidów błon komórkowych i obronę antyoksydacyjną u chorych na cukrzycę typu 2 z powikłaniami mikronaczyniowymi. Wykazali znaczący wzrost stężenia TBARS (związków tiobarbiturozależnych) w surowicy zarówno u pacjentów z powikłaniami, jak i bez nich. Aktywność CAT u chorych na cukrzycę była istotnie statystycznie wyższa w porównaniu do osób zdrowych. Natomiast aktywność CuZn-SOD i GPx ulegała obniżeniu.



W pracy Martin-Gallan i wsp. [29] opisano wpływ hiperglikemii na procesy antyoksydacyjne u młodych pacjentów ze zdiagnozowaną T1DM z towarzyszącą mikroangiopatią lub bez niej. Wykazano przewagę reakcji wolnorodnikowych nad przeciwutleniającymi. Zanotowano wzrost parametrów peroksydacji lipidów: MDA, nadtlenu i wodoronadtlenków lipidów oraz wzrost stężenia wykładników oksydacyjnego uszkodzenia białek: grup karbonylowych i zaawansowanych produktów utleniania białek (advanced oxidation protein product – AOPP). U badanych chorych wykazano obniżoną obronę antyoksydacyjną poprzez ocenę aktywności enzymów: CAT i GPx, których aktywność znacznie spadła przede wszystkim u chorych z powikłaniami naczyniowymi. Autorzy przypuszczają, iż rolę ochronną przed uszkodzeniami przez wolne rodniki przejęła dysmutaza ponadtlenkowa (CuZn-SOD), której wzrost aktywności zaobserwowano u chorych na cukrzycę bez mikroangiopatii. Również stężenie antyoksydantów drobnocząsteczkowych, takich jak α -tokoferolu i β -karotenu było niższe w porównaniu z grupą kontrolną.

Również badania intensywności procesów peroksydacji lipidów oraz aktywności enzymów stanowiących obronę antyoksydacyjną przeprowadzone u chorych z cukrzycą insuliniezależną ze zdiagnozowaną nefropatią lub bez niej, wykazały nasilenie stresu oksydacyjnego i obniżoną obronę przed uszkodzeniami przez wolne rodniki. Opisano znaczny wzrost MDA oraz spadek aktywności CuZn-SOD i CAT, zwłaszcza u chorych z nefropatią. Obniżona aktywność enzymatycznego systemu przeciwutleniającego w cukrzycy jest powiązana z postępującą glikacją białek enzymatycznych [24].

Praca badawcza Vericel i wsp. [43] dowodzi, iż hiperglikemia prowadzi również do dysfunkcji i licznych zaburzeń w płytkach krwi. Oceniano wielkość obrony antyoksydacyjnej u chorych na cukrzycę typu 1 i 2 bez powikłań sercowo-naczyniowych. Wykazano wzrost stężenia MDA w płytkach krwi chorych na oba rodzaje cukrzycy, z istotnym statystycznie wzrostem w grupie z cukrzycą typu 2. Ochronę przeciw uszkodzeniom przez wolne rodniki, badano oceniając ekspresję i aktywność dwóch izoform peroksydazy glutationowej: cytosolowej (GPx-1) i fosfolipidowej wodoronadtlenkowej (GPx-4). Zarówno ekspresja, jak i ich aktywność była statystycznie obniżona w obu grupach w porównaniu z grupą kontrolną. Autorzy tej pracy badali także wydolność drobnocząsteczkowych związków chroniących strukturę płytek krwi przed oksydacyjnymi uszkodzeniami: α -tokoferolu i γ -tokoferolu. Wykazano znaczące obniżenie stężenia przede wszystkim α -tokoferolu w płytkach krwi chorych na cukrzycę typu 1 i 2. Wyniki badań wskazują, że wzrost agregacji płytek krwi u chorych na cukrzycę bez powikłań naczyniowych należy łączyć z nasileniem metabolizmu kwasu arachidonowego oraz niewydolnym mechanizmem antyoksydacyjnym chroniącym płytkę krwi przed wolnorodnikowymi uszkodzeniami.

Natomiast badania prowadzone przez Atiego i wsp. [2] u chorych z cukrzycą typu 2 powyżej 65 roku życia wykazały nieznaczny spadek aktywności CuZn-SOD i wzrost aktywności CAT i GPx. Z przeglądu prac [15,19,37] wynika, iż u osób starszych obserwuje się niższą niż u osób młodych aktywność enzymów antyoksydacyjnych: dysmutazy ponadtlenkowej, katalazy i peroksydazy glutationowej, co potwierdza wolnorodnikową teorię starzenia.

Niektórzy jednak autorzy są przeciwnego zdania, ponieważ w swoich badaniach obserwowali wzrost aktywności enzymów antyoksydacyjnych w surowicy krwi u osób w podeszłym wieku [36]. Ocenę aktywności enzymów antyoksydacyjnych u osób w wieku 65–93 prowadzili także Wiśniewska i wsp. [44]. Stwierdzili oni wzrost aktywności peroksydazy glutationowej zależny od wieku i spadek aktywności katalazy. Zmniejszoną aktywność katalazy w erytrocytach ludzi starszych stwierdził również Guemouri i wsp. [15].

6. UWARUNKOWANIA GENETYCZNE ZABURZEŃ PROOKSYDACYJNO-ANTYOKSYDACYJNYCH U CHORYCH Z CUKRZYCĄ

Zespół Hodgkinsona i wsp. [20] porównał wpływ normo- i hiperglikemii na ekspresję mRNA CAT, CuZn-SOD, MnSOD i GPx w komórkach jednojądrzastych krwi obwodowej pacjentów z cukrzycą typu 1 i nefropatią chorujących powyżej 10 lat, w grupie chorych cierpiących na cukrzycę co najmniej 20 lat bez powikłań mikronaczyniowych i u osób zdrowych. Autorzy zaobserwowali, że hiperglikemia spowodowała zmniejszenie ekspresji mRNA dla badanych genów enzymów antyoksydacyjnych (CAT, CuZn-SOD, MnSOD, GPX), przy czym otrzymane wartości dla grupy chorych z nefropatią były niższe w porównaniu z tymi bez powikłań. W grupie chorych bez powikłań normoglikemia wywołała obniżenie ekspresji mRNA dla wszystkich badanych genów, a w grupie chorych z nefropatią podwyższenie. Autorzy przypuszczają, że hiperglikemia zaburza wytwarzanie wewnątrzkomórkowych enzymów antyoksydacyjnych u chorych z cukrzycą typu 1 i współistniejącą nefropatią. Ten defekt może być częściowo spowodowany genetyczną predyspozycją do nefropatii.

Jedną z przyczyn zmian aktywności enzymów antyoksydacyjnych u chorych na cukrzycę mogą być polimorfizmy genów kodujących *SOD*, *CAT* i *GPx*. Flekac i wsp. [10] zaobserwowali, że aktywność SOD była mniejsza u chorych na T2DM i T1DM w porównaniu do osób zdrowych. Analiza wariantów polimorficznych genów +35 A/C *CuZn-SOD* (intron 3/ekson 3) i Ala16Val (C/T) *Mn-SOD* wykazała, że wyższa aktywność SOD koreluje z genotypem AA *CuZn-SOD* i CC *Mn-SOD*. Analiza polimorfizmu -21 A/T *CAT* nie wykazała istotnych różnic między częstością alleli i genotypów u osób z cukrzycą w porównaniu do osób zdrowych.

Panduru i wsp. [32] oceniali wpływ polimorfizmu +35 A/C *CuZn-SOD* na częstość nefropatii cukrzycowej wśród chorych na T1DM w populacji rumuńskiej. Zwiększone ryzyko wystąpienia nefropatii cukrzycowej związane było z allelem C. Nadif i wsp. [30] określili wpływ polimorfizmów -262 C/T i -844 T/C *CAT* na aktywność katalazy wśród francuskich górników poddanych ekspozycji na oksydanty (pył węglowy i dym tytoniowy). Najmniejszą aktywność CAT obserwowano u osób mających genotyp TT polimorfizmu -262 C/T *CAT*. Wykazano również mniejszą aktywność CAT wśród górników o genotypie CC polimorfizmu -262 C/T, którzy byli nosicielami genotypu CC polimorfizmu -844 T/C *CAT*. Ekspozycja na pył węglowy i dym tytoniowy nie miały związku z aktywnością CAT.

Christiakov i wsp. [5] wykazali, że genotyp CC polimorfizmu -262 C/T *CAT* związany był z obniżeniem aktywności

CAT wśród chorych na cukrzycę typu 1. Natomiast allel T związany był ze zmniejszeniem ryzyka wystąpienia nefropatii cukrzycowej wśród tych chorych.

Liczne badania potwierdzają, że nosiciele allele Leu polimorfizmu Pro197Leu wykazują obniżoną aktywność GPx1 oraz zwiększone ryzyko rozwoju nowotworów [18]. Nie wykazano natomiast związku tego polimorfizmu z ryzykiem rozwoju powikłań cukrzycowych, takich jak polineuropatia cukrzycowa, nadciśnienie tętnicze u chorych na cukrzycę typu 1 i 2 [38,47]. Hamanishi i wsp. [17] wykazali, że ryzyko rozwoju IMT tętnicy szyjnej, choroby sercowo-naczyniowej i choroby naczyń obwodowych wśród chorych na T2DM było znacząco wyższe wśród nosicieli genotypu Pro/Leu polimorfizmu Pro197Leu *GPx1*.

PIŚMIENICTWO

- [1] Alberti K.G., Zimmet P.Z.: Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complication. Part 1. Diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet. Med.*, 1998; 15: 539–553
- [2] Atli T., Keven K., Avcı A., Kutlay S., Turkcapar N., Varlı M., Aras S., Ertug E., Canbolat O.: Oxidative stress and antioxidant status in elderly diabetes mellitus and glucose intolerance patients. *Arch. Gerontol. Geriatr.*, 2004; 39: 269–275
- [3] Baynes J.W., Thorpe S.R.: Role of oxidative stress in diabetic complications, a new perspective on an old paradigm. *Diabetes*, 1999; 48: 1–9
- [4] Brownlee M.: Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*, 2001; 414: 813–820
- [5] Chistiakov D.A., Zotova E.V., Savost'yanov K.V., Bursa T.R., Galeev I.V., Stokov I.A., Nosikov V.V.: The 262T>C promoter polymorphism of the catalase gene is associated with diabetic neuropathy in type 1 diabetic Russian patients. *Diabetes Metab.*, 2006; 32: 63–68
- [6] Dansen T.B., Wirtz K.W.: The peroxisome in oxidative stress. *IUBMB Life*, 2001; 51: 223–230
- [7] Dickinson P.J., Carrington A.L., Frost G.S., Boulton A.J.: Neurovascular disease, antioxidants and glycation in diabetes. *Diabetes Metab. Res. Rev.*, 2002; 18: 260–272
- [8] Drzewoski J.: Gliclazide, inflammation and atherosclerosis. *Antiinflamm. Antiallergy Agents Med. Chem.*, 2008; 7: 224–230
- [9] Evans J.L., Goldfine L.D., Maddux B.A., Grodsky G.M.: Are oxidative stress-activated signaling pathways mediators of insulin resistance and β -cell dysfunction? *Diabetes*, 2003; 52: 1–8
- [10] Flekac M., Skrha J., Hilgertova J., Lacinova Z., Jarolimkova M.: Gene polymorphisms of superoxide dismutases and catalase in diabetes mellitus. *BMC Med. Genet.*, 2008; 9: 30
- [11] Fraczek M., Kurpisz M.: The redox system in human semen and peroxidative damage of spermatozoa. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2005; 59: 523–534
- [12] Giugliano D., Ceriello A., Paolisso G.: Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care*, 1996; 19: 257–267
- [13] Górski J., Knapp M., Musiał W.: Metabolizm substratów energetycznych w mięśniu sercowym. Wpływ niedotlenienia i cukrzycy. *Czynnik Ryzyka*, 2000; 2–3: 18–23
- [14] Green K., Brand M.D., Murphy M.P.: Prevention of mitochondrial oxidative damage as a therapeutic strategy in diabetes. *Diabetes*, 2004; 53: S110–S118
- [15] Guemouri L., Artur Y., Herbeth B., Jeandel C., Cuny G., Siest G.: Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in blood. *Clin. Chem.*, 1991; 37: 1932–1937
- [16] Haire-Joshu D., Glasgow R.E., Tibbs T.L.: Smoking and diabetes. *Diabetes Care*, 1999; 22: 1887–1898
- [17] Hamanishi T., Furuta H., Kato H., Doi A., Tamai M., Shimomura H., Sakagashira S., Nishi M., Sasaki H., Sanke T., Nanjo K.: Functional variants in the glutathione peroxidase-1 (GPx-1) gene are associated with increased intima-media thickness of carotid arteries and risk of macrovascular diseases in Japanese type 2 diabetic patients. *Diabetes*, 2004; 53: 2455–2460
- [18] Hansen R.D., Krath B.N., Frederiksen K., Tjønneland A., Overvad K., Roswall N., Loft S., Dragsted L.O., Vogel U., Raaschou-Nielsen O.: GPX1 Pro(198)Leu polymorphism, erythrocyte GPX activity, interaction with alcohol consumption and smoking, and risk of colorectal cancer. *Mutat. Res.*, 2009; 664: 13–19
- [19] Harman D.: Free radical theory of aging. *Mutat. Res.*, 1992; 275: 257–266
- [20] Hodgkinson A.D., Bartlett T., Oates P.J., Millward B.A., Demaine A.G.: The response of antioxidant genes to hyperglycemia is abnormal in patients with type 1 diabetes and diabetic nephropathy. *Diabetes*, 2003; 52: 846–851
- [21] Kashyap S.R., Defronzo R.A.: The insulin resistance syndrome: physiological considerations. *Diab. Vasc. Dis. Res.*, 2007; 4: 13–19
- [22] Kasperska-Zajac A., Rogala B.: Rola tlenku azotu (NO) w patogenezie pierwotnego nadciśnienia tętniczego. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2002; 56: 39–48
- [23] Keaney J.F.Jr, Loscalzo J.: Diabetes, oxidative stress and platelet activation. *Circulation*, 1999; 99: 189–191
- [24] Kędziora-Kornatowska K., Luciak M., Błaszczak J., Pawlak W.: Lipid peroxidation and activities of antioxidant enzymes in erythrocytes of patients with non-insulin dependent with or without diabetic nephropathy. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 1998; 13: 2829–2832
- [25] Kesavulu M.M., Giri R., Kameswara Rao B., Apparao C.: Lipid peroxidation and antioxidant enzyme levels in type 2 diabetics with microvascular complications. *Diabetes Metab.*, 2000; 26: 387–392
- [26] Lin K.Y., Ito A., Asagami T., Tsao P.S., Adimoolam S., Kimoto M., Tsuji H., Reaven G.M., Cooke J.P.: Impaired nitric oxide synthase pathway in diabetes mellitus: role of asymmetric dimethylarginine and dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circulation*, 2002; 106: 987–992
- [27] Lipinski B.: Pathophysiology of oxidative stress in diabetic mellitus. *J. Diabetes Complications*, 2001; 15: 203–210
- [28] Majchrzak A., Zozulińska D.: Znaczenie stresu oksydacyjnego w patogenezie przewlekłych powikłań cukrzycy. *Diabetologia Polska*, 1998; 5: 3
- [29] Martin-Gallan P., Carrascosa A., Gussinye M., Dominguez C.: Biomarkers of diabetes-associated oxidative stress and antioxidant status in young diabetic patients with or without subclinical complications. *Free Rad. Biol. Med.*, 2003; 34: 1563–1574
- [30] Nadif R., Mintz M., Jedlicka A., Bertrand J.P., Kleeberger S.R., Kauffmann F.: Association of CAT polymorphisms with catalase activity and exposure to environmental oxidative stimuli. *Free Radic. Res.*, 2005; 39: 1345–1350
- [31] Nishikawa T., Edelstein D., Du X.L., Yamagishi S., Matsumura T., Kaneda Y., Yorek M.A., Beebe D., Oates P.J., Hammes H.P., Giardino I., Brownlee M.: Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. *Nature*, 2000; 404: 787–790
- [32] Panduru N.M., Cimponeriu D., Cruce M., Ion D.A., Moța E., Moța M., Serafinceanu C., Chivu L.I., Panduru M., Chivu R.D., Covic A.C.: Association of +35A/C (intron3/exon3) polymorphism in SOD1 gene with diabetic nephropathy in type 1 diabetes. *Rom. J. Morphol. Embryol.*, 2010; 51: 37–41



- [33] Penckofer S., Schwertz D., Florczak K.: Oxidative stress and cardiovascular disease in type 2 diabetes: The role of antioxidants and pro-oxidants. *J. Cardiovasc. Nurs.*, 2002; 16: 68–85
- [34] Quinn L.: Mechanisms in the development of type 2 diabetes mellitus. *J. Cardiovasc. Nurs.*, 2002; 16: 1–16
- [35] Reusch J.E.: Diabetes, microvascular complications, and cardiovascular complications: what is it about glucose? *J. Clin. Invest.*, 2003; 112: 986–988
- [36] Rodriguez-Martinez M.A., Ruiz-Torres A.: Homeostasis between lipid peroxidation and antioxidant activities in healthy human aging. *Mech. Ageing Dev.*, 1992; 66: 213–222
- [37] Schafer L., Thorling E.B.: Lipid peroxidation and antioxidant supplementation in old age. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 1990; 50: 69–75
- [38] Sergeeva T.V., Chistiakov D.A., Kobalava Z.D., Moiseev V.S.: Polymorphism of catalase and glutathione peroxidase genes in macrovascular complications in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus and hypertension. *Genetika*, 2001; 37: 418–421
- [39] Słowik-Żyłka D., Safranow K.: Późne produkty glikacji białek (AGE) – powstawanie, znaczenie patogenetyczne, oznaczanie. *Diabetologia Polska*, 2001; 8: 2
- [40] Srinivasan S., Hatley M.E., Bolick D.T., Palmer L.A., Edelstein D., Brownlee M., Hedrick C.C.: Hyperglycaemia-induced superoxide production decreases eNOS expression via AP-1 activation in aortic endothelial cells. *Diabetologia*, 2004; 47: 1727–1734
- [41] Szczepański M., Kamianowska M., Skrzydlewska E.: The influence of hyperglycemia on oxidation-reduction reaction of human umbilical vein endothelial cells. *Pol. Merk. Lek.*, 2007; 136: 246–250
- [42] Tonstad S.: Cigarette smoking, smoking cessation, and diabetes. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, 2009; 85: 4–13
- [43] Vericel E., Januel C., Carreras M., Moulin P., Lagarde M.: Diabetic patients without vascular complications display enhanced basal platelet activation and decreased antioxidant status. *Diabetes*, 2004; 53: 1046–1051
- [44] Wiśniewska J., Wieczorkowska-Tobis K., Korybalska K., Połubińska A., Simon M., Bręborowicz A.: Ocena aktywności enzymów antyoksydacyjnych u osób w wieku podeszłym. *Gerontolog. Pol.*, 1999; 7: 27–32
- [45] Włodek L.: Beneficial and harmful effects of thiols. *Pol. J. Pharmacol.*, 2002; 54: 215–223
- [46] Young I.S., Woodside J.V.: Antioxidants in health and disease. *J. Clin. Pathol.*, 2001; 54: 176–186
- [47] Zotova E.V., Savost'ianov K.V., Chistiakov D.A., Bursa T.R., Galeev I.V., Stokov I.A., Nosikov V.V.: Search for the association of polymorphic markers for genes coding for antioxidant defense enzymes, with development of diabetic polyneuropathies in patients with type 1 diabetes mellitus. *Mol. Biol. (Mosk.)*, 2004; 38: 244–249

Autorka deklaruje brak potencjalnych konfliktów interesów.