

Received: 14.03.2019  
Accepted: 14.10.2019  
Published: 19.02.2020

## Mechanizmy antyoksydacyjne i detoksykacyjne w ośrodkowym układzie nerwowym

### Antioxidant and detoxycative mechanisms in central nervous system

Marzena Gutowicz

Katedra Fizjologii Stosowanej i Klinicznej, Wydział Lekarski i Nauk o Zdrowiu, Uniwersytet Zielonogórski

#### Streszczenie

Mózg jest szczególnie wrażliwy na działanie stresu oksydacyjnego, ponieważ zawiera duże ilości nienasyconych kwasów tłuszczowych, zużywa ponad 20% tlenu wykorzystywanego przez organizm i wykazuje stosunkowo niewielką aktywność enzymów antyoksydacyjnych.

Do najważniejszych enzymów mózgowej bariery antyoksydacyjnej należą dysmutaza ponadtlenkowa (SOD) przeprowadzająca reakcję dysproporcjonowania anionorodnika ponadtlenkowego do nadtlenu wodoru, katalaza (CAT), która rozkłada powstały nadtlenek wodoru do wody i tlenu oraz peroksydaza glutationowa (Se-GSHPx), która z udziałem glutationu redukuje  $H_2O_2$  i nadtenki organiczne. Równie ważnym enzymem jest transferaza glutationowa, należąca do enzymów detoksykacyjnych, która dzięki zróżnicowanym aktywnościom katalitycznym usuwa ksenobiotyki, redukuje nadtenki organiczne i utlenione składniki komórek. Jednym z najważniejszych mózgowych antyoksydantów jest zredukowany glutation, który samodzielnie lub z peroksydazami uczestniczy w redukcji wolnych rodników, naprawie oksydacyjnych uszkodzeń oraz reaktywacji innych antyoksydantów. Glutation jako kosubstrat transferazy glutationowej bierze też udział w unieczynnianiu toksycznych związków elektrofilowych.

Przyczyny większości chorób neurodegeneracyjnych wciąż nie są znane, ale wiele danych wskazuje na znaczącą rolę w tych procesach reaktywnych form tlenu.

Nawet niewielkie zmiany poziomu antyoksydantów mogą prowadzić do poważnych zaburzeń w ośrodkowym układzie nerwowym.

#### Słowa kluczowe:

ośrodkowy układ nerwowy • stres oksydacyjny • antyoksydanty • detoksykacja

#### Summary

Since the brain contains a large amount of polyunsaturated fatty acids, consumes up to 20% of oxygen used by the whole body and exhibits low antioxidants activity, it seems to be especially vulnerable to oxidative stress.

The most important antioxidant enzymes are superoxide dismutase (SOD), which catalyze the dismutation of superoxide anion to hydrogen peroxide, catalase (CAT), which converts toxic hydrogen peroxide to water and oxygen, and glutathione peroxidase (Se-GSHPx), which reduces hydrogen peroxide and organic peroxides with glutathione as the cofactor. Among other detoxifying enzymes, the most significant is glutathione transferase (GST), which shows

	<p>various catalytic activities allowing for removal of xenobiotics, reducing organic peroxides and oxidized cell components. One of the most important brain nonenzymatic antioxidants is reduced glutathione (GSH), which (individually or in cooperation with peroxidases) participates in the reduction of free radicals, repair of oxidative damage and the regeneration of other antioxidants, such as ascorbate or tocopherol. Glutathione as a cosubstrate of glutathione transferase scavenges toxic electrophilic compounds.</p> <p>Although the etiology of the major neurodegenerative diseases are unknown, numerous data suggest that reactive oxygen species play an important role.</p> <p>Even a small change in the level of antioxidants can leads to the many disorders in the CNS.</p>
<b>Keywords:</b>	<b>central nervous system • oxidative stress • antioxidants • detoxification</b>
<b>GICID</b>	01.3001.0013.8548
<b>DOI:</b>	10.5604/01.3001.0013.8548
<b>Word count:</b>	5884
<b>Tables:</b>	–
<b>Figures:</b>	3
<b>References:</b>	82

**Adres autorki:** dr n. med. Marzena Gutowicz, Katedra Fizjologii Stosowanej i Klinicznej, Wydział Lekarski i Nauk o Zdrowiu, Uniwersytet Zielonogórski, ul. Zyty 28, 65-046 Zielona Góra; e-mail: m.gutowicz@wlnz.uz.zgora.pl

**Wykaz skrótów:** **AD** – choroba Alzheimera (Alzheimer disease), **ARE** – element odpowiedzi antyoksydacyjnej (antioxidant responsive element), **BBB** – bariera krew-mózg (blood-brain barrier), **CAT** – katalaza, **GRE** – element odpowiedzi na glikokortykoidy (glucocorticoid responsive element), **GSH** – zredukowany glutation, **GSH-DA** – glutationylo-dopamina, **GSH-Px** – selenoniezależna peroksydaza glutationowa, **GSH-R** – reduktaza glutationowa, **GSNO** – S-nitrozoglutation, **GSSG** – disulfid glutationowy (utleniony glutation), **GST** – transferaza glutationowa, **γGT** – gamma-glutamylotranspeptydaza, **LOO•** – lipidowy rodnik nadtlenny, **NADPH** – fosforan dinukleotydu nikotynamidoadeninowego, **NER** – system naprawy DNA (nucleotide excision repair), **NF-κB** – jądrowy czynnik transkrypcyjny κB (nuclear factor κB), **OUN** – ośrodkowy układ nerwowy, **PD** – choroba Parkinsona (Parkinson disease), **RFT** – reaktywne formy tlenu, **Se-GSH-Px** – selenozależna peroksydaza glutationowa, **SOD** – dysmutaza ponadtlenkowa, **WRT** – wolne rodniki tlenowe, **XRE** – element odpowiedzi na ksenobiotyki (xenobiotic responsive element).

Wiele substancji endo- i egzogennych powoduje wzrost poziomu reaktywnych form tlenu (RFT), które mogą powodować uszkodzenia błon komórkowych (peroksydacja lipidów i białek) i kwasów nukleinowych.

W warunkach fizjologicznych reaktywne formy tlenu są zubożniane zarówno przez endo-, jak i egzogenne mechanizmy, do których należą: peroksydaza i transferaza glutationowa, katalaza, dysmutaza ponadtlenkowa, glutation, bilirubina, witaminy A, E, C i wiele innych związków.

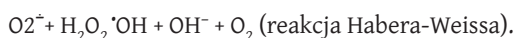
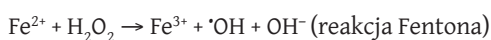
Pomiędzy powstawaniem reaktywnych form tlenu, a ich inaktywacją powinna istnieć równowaga wyrażana poziomem statusu antyoksydacyjnego. Jeżeli równowaga ta zostanie przesunięta w kierunku tworzenia RFT powstają warunki stresu oksydacyjnego. Mózg jest narządem szczególnie wrażliwym na wszelkie związki toksyczne, gdyż bariera krew-mózg nie chroni go przed toksynami lipofilowymi, aktywność enzymów detoksy-

kacyjnych jest stosunkowo niewielka, a możliwości regeneracyjne neuronów ograniczone [24, 26].

#### **METODY OBRONY MÓZGU PRZED STRESEM OKSYDACYJNYM**

##### **Zapobieganie powstawaniu wolnych rodników tlenowych (WRT)**

Pierwszą linią obrony jest wychwycenie substancji potencjalnie szkodliwych, takich jak ksenobiotyki czy jony metali przejściowych. Najważniejsze jest niedopuszczenie do zajścia reakcji Fentona i Habera-Weissa, w których z nadtlenu wodoru w obecności jonów metali grup przejściowych (głównie żelaza) powstaje najbardziej agresywny rodnik hydroksylowy:



W niektórych rejonach mózgu występuje większe stężenie żelaza niż w innych (istota czarna, gałka biała), a przy nadmiernym wysyceniu żelazem dochodzi do wzmożonej syntezy rodnika hydroksylowego. Głównym białkiem wiążącym żelazo w mózgu jest ferrytyna, której najwięcej jest w komórkach gleju. W neuronach natomiast funkcję tę pełni neuromelanina powstająca w wyniku autooksydacji dopaminy [24, 53, 81].

Metalotioneiny są to białka wiążące metale dzięki dużej zawartości cysteiny. Najwięcej jest ich w astrocytach hipokampu, kory mózgowej i mózdzku, gdzie pełnią rolę ochronną przed szkiem tlenowym oraz regulują stężenia cynku i miedzi w mózgu.

Ważną rolę w detoksykacji OUN pełnią transportery błonowe, działają głównie w obrębie bariery krew-mózg, a ich główną funkcją jest usuwanie z mózgu ksenobiotyków. Niektóre z nich należą do białek oporności wielolekowej [3, 8, 74].

Mózg ma kompletny system monooksygenaz cytochromowych P-450, ale ich stężenie jest o 90% mniejsze niż w wątrobie. Pierwsza faza mózgowej detoksykacji, tzw. aktywacja odbywa się głównie w neuronach i polega na hydroksylacji, redukcji lub hydrolizie ksenobiotyków. W wyniku I fazy wzrasta rozpuszczalność związków, ale często powstają toksyczne metabolity pośrednie, które mogą uszkadzać neurony [61].

II faza detoksykacji polega na sprzęgnięciu aktywowanego ksenobiotyku z takimi związkami jak: glutation, kwas glukuronowy, czy aktywny siarczan. Zwiększa to ich rozpuszczalność i ułatwia usunięcie z organizmu. Do najważniejszych enzymów II fazy detoksykacji należą: UDP-glukuronylotransferaza, która sprzęga substancje egzogenne i endogenne z kwasem UDP-glukuronowym oraz wielofunkcyjny enzym - transferaza glutationowa sprzęgająca ksenobiotyki ze zredukowanym glutationem [42, 67].

### Usuwanie RFT

Do inaktywacji WRT są włączane mechanizmy antyoksydacyjne enzymatyczne i nieenzymatyczne. Główne antyoksydanty enzymatyczne to dysmutaza ponadtlenkowa przeprowadzająca reakcję dysmutacji anionorodnika ponadtlenkowego do nadtlenku wodoru, katalaza rozkładająca  $H_2O_2$  do wody i tlenu, peroksydazy glutationowe redukujące  $H_2O_2$  lub nadtlenki lipidowe z jednoczesnym utlenieniem glutationu.

Do antyoksydantów nieenzymatycznych należą: zredukowany glutation, kwas askorbinowy, melatonina, bilirubina, kwas moczowy, tokoferole, karotenoidy i in. [69, 73].

### Naprawa uszkodzeń

Jeśli zawiodą dwie pierwsze linie obrony aktywowane zostają mechanizmy naprawcze usuwające szkody spowodowane przez reaktywne formy tlenu.

Układ enzymatycznej naprawy DNA jest ważnym elementem obrony antyoksydacyjnej. W wielu chorobach neurodegeneracyjnych stwierdzono podwyższony poziom mózgowych enzymów naprawczych (NER), których główną funkcją jest usuwanie skutków wolnorodnikowych uszkodzeń, co może świadczyć o wzmożonym szoku tlenowym w tych chorobach.

Stres oksydacyjny indukuje syntezę tioredoksyny, która odpowiada za redukcję mostków disiarczkowych i naprawę oksydacyjnie uszkodzonych białek. W wielu rejonach mózgu zlokalizowano szczególnie dużo mitochondrialnej tioredoksyny-2, zwłaszcza w hipokampie mózdzku, korze czołowej i podwzgórzcu [63, 77].

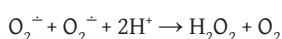
## OCHRONA ANTYOKSYDACYJNA MÓZGU

Mózg chroniony jest przed szkodliwym działaniem różnego typu związków chemicznych przez swoistą barierę krew-mózg (BBB; blood-brain barrier). Zbudowana jest ze ściśle połączonych komórek śródbłonka naczyń włosowatych i astrocytów. Jest to struktura o selektywnej przepuszczalności, która reguluje w sposób bierny oraz czynny wymianę substancji między krwią a płynem śródmiąższowym mózgu. Drugą metodą obrony jest tzw. bariera biochemiczna, w skład której wchodzi cały zestaw mechanizmów antyoksydacyjnych i detoksykacyjnych. Należą do nich zarówno związki enzymatyczne jak i nieenzymatyczne, endogenne i egzogenne [8, 22].

## ANTYOKSYDANTY ENZYMATYCZNE

### Dysmutaza ponadtlenkowa (SOD)

SOD (EC.1.15.1.1) jest to rodzina enzymów, która przeprowadza dysmutację anionorodnika ponadtlenkowego do nadtlenku wodoru:



W zależności od miejsca występowania rozróżniamy cytozoolową, mitochondrialną i pozakomórkową dysmutazę ponadtlenkową.

Cytozoolowa CuZnSOD zwana też SOD-1 jest homodimerem zbudowanym z podjednostek o masie cząsteczkowej 16 kDa, a w centrum aktywnym zawiera jony cynku i miedzi. Mitochondrialna MnSOD (SOD-2) jest tetramerem z jonami manganu w centrum aktywnym. Pozakomórkowa EC-SOD jest glikoproteiną zbudowaną podobnie jak SOD-2, ale zamiast manganu zawiera cynk i miedź.

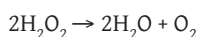
Najwięcej CuZnSOD zlokalizowano w neuronach motorycznych rdzenia kręgowego i astrocytach. Najwięcej MnSOD jest w neuronach mózgu i rdzenia kręgowego, mniej w astrocytach. Uważa się, że różnice aktywności izoenzymów dysmutazy ponadtlenkowej w różnych komórkach tkanki nerwowej decydują o ich podatności na stres oksydacyjny i choroby neurodegeneracyjne [16, 46, 56].

W warunkach homeostazy izoenzymy SOD są syntetyzowane na stałym poziomie, natomiast w warunkach stresu oksydacyjnego ich synteza wzrasta. Tak dzieje się m.in. w rodzinnej postaci stwardnienia zanikowego bocznego (ALS), gdzie często stwierdza się nagromadzenie złogów nieprawidłowo sfałdowanej CuZnSOD, a to prowadzi do degeneracji ośrodkowych i obwodowych neuronów motorycznych i zaniku mięśni. Wadliwie sfałdowana dysmutaza ponadtlenkowa nie może skutecznie walczyć ze stresem oksydacyjnym atakującym neurony. Prowadzi to do paraliżu i śmierci na skutek zatrzymania pracy mięśni oddechowych [6, 19].

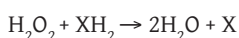
### Katalaza (CAT)

Katalaza (EC 1.11.1.6) jest hemoproteiną zbudowaną z kilku podjednostek białkowych, każda podjednostka zawiera układ hemowy z atomem żelaza. Ludzka CAT jest homodimerem złożonym z czterech identycznych domen białkowych, z których każda współdziała z cząsteczką NADPH.

W komórce CAT jest umiejscowiona głównie w peroksysomach wraz z innymi oksydoreduktazami oraz w mikrosomach oligodendrocytów. Jej główną funkcją jest inaktywacja nadtlenu wodoru. Katalaza wykazuje dwie aktywności enzymatyczne: katalazową w środowisku o wysokim stężeniu nadtlenu wodoru gdzie przeprowadza reakcję dysproporcjonowania  $H_2O_2$ :



W środowisku o niskim stężeniu nadtlenu wodoru wykazuje aktywność peroksydazową, wykorzystując jako dawcę protonów różne związki, takie jak: etanol, fenol czy chinyony:

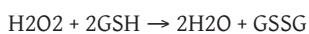


W OUN największa aktywność katalazy występuje w mózdzku i rdzeniu kręgowym.

Większą aktywność CAT stwierdzono w mikrogleju niż w oligodendrocytach czy neuronach. Wiele danych wskazuje na spadek aktywności tego enzymu w chorobach neurodegeneracyjnych, np. w chorobie Parkinsona stwierdzono obniżoną aktywność katalazy w istocie czarnej [9, 82].

### PEROKSYDAZA GLUTATIONOWA (SE-GSHPx)

Selenozależna peroksydaza glutationowa (EC 1.11.1.9) należy do oksydoreduktaz i podobnie jak katalaza redukuje nadtlenek wodoru. Oprócz tego może redukować nadtlarki organiczne, zwłaszcza nadtlarki lipidowe, powstające w wyniku peroksydacji lipidów błonowych. Dawcą protonów w obu typach reakcji jest zredukowany glutation (GSH):



W centrum aktywnym Se-GSHPx występuje selenocysteina, dzięki której glutation ulega dwuelektronowemu utlenieniu bez powstania szkodliwego rodnika tiolowego. Enzym ten jest obecny zarówno w cytoplazmie, jak i matriks mitochondrialnej komórek nerwowych, chociaż większą jego aktywność stwierdzono w komórkach mikro- i makrogleju w stosunku do neuronów. Se-GSHPx wykazuje większe powinowactwo do  $H_2O_2$  niż katalaza i może unieszkodliwiać go przy dużo niższych stężeniach, nie dopuszczając do zajścia reakcji Fentona i Habera-Weissa [45, 54, 79].

Organizm człowieka wykształcił różne mechanizmy chroniące przed szkodliwym działaniem ksenobiotyków i WRT. Jednym z ważniejszych sposobów detoksykacji jest sprzężanie elektrofilowych związków egzo- i endogennych ze zredukowanym glutationem. Transferaza glutationowa (GST) jest enzymem wielofunkcyjnym, oprócz sprzężania z glutationem wykazuje również aktywność selenoniezależnej peroksydazy glutationowej (GSH-Px), która redukując organiczne nadtlarki chroni komórki przed stresem oksydacyjnym. Reduktaza glutationowa (GR) redukuje utleniony glutation ( $GSSG \rightarrow 2GSH$ ) [25].

### TRANSFERAZA GLUTATIONOWA (GST)

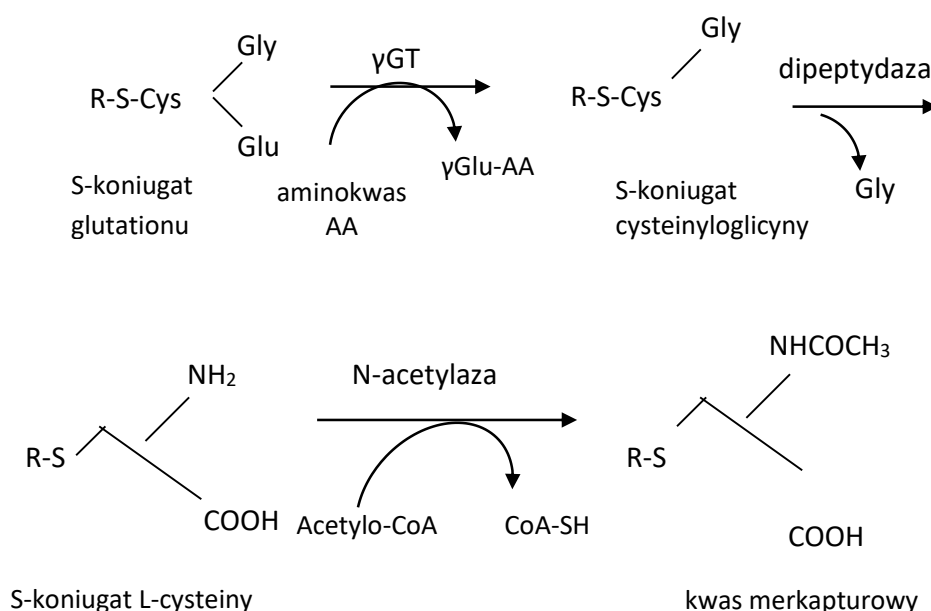
Transferazy glutationowe [EC 2.5.1.18] należą do rodziny wielofunkcyjnych enzymów o niewielkiej swoistości substratowej. Występują w postaci wielu izoenzymów kodowanych przez różne geny, o różnych właściwościach fizykochemicznych, immunologicznych czy kinetycznych. Dotychczas wykryto u ssaków 7 klas GST cytozolowych, jedną GST mitochondrialną oraz sześć mikrosomalnych.

Do cytozolowych transferaz glutationowych zalicza się GST klasy: alfa (GSTA1 i 2), mi (GSTM1 - M5), pi (GSTP1), teta (GSTT1 i 2), sigma (GSTS1), zeta (GSTZ1) oraz omega (GSTO1 i 2) [2, 55].

GST należą do enzymów II fazy biotransformacji, które katalizują reakcje sprzężania glutationu z wieloma związkami zarówno endo- jak i egzogennymi chroniąc komórkę przed ich toksycznym działaniem. Reakcje te polegają na nukleofilowym ataku grupy tiolowej glutationu na elektrofilowe centrum sprzężanego związku. W wyniku tego powstają produkty o wyższej hydrofilności niż substraty wyjściowe [5, 7].



Produkt reakcji (GSR) może zostać usunięty z komórki przez transbłonowe białka oporności wielolekowej (MRP) lub może ulec dalszym przemianom. W pierwszym etapie następuje odłączenie reszty kwasu glutaminowego od glutationu, następnie oderwanie reszty glicyny. Do pozostałego koniugatu S-cysteiny przyłączona zostaje grupa acetylowa z acetylo-CoA. Końcowym produktem jest kwas merkapturowy danego związku, który usuwany jest



**Ryc. 1.** Mechanizm detoksykacji poprzez sprzężenie ksenobiotyków ze zredukowanym glutationem; R- ksenobiotyk,  $\gamma$ GT -  $\gamma$ -glutamylotranspeptydaza. W pierwszym etapie  $\gamma$ -glutamylotranspeptydaza odłącza od glutationu kwas glutaminowy, następnie dipeptydaza cysteinylglicynowa usuwa z dwupeptydu cząsteczkę glicyny, kolejnym etapem jest N-acetylacja koniugatu S-cysteiny z wytworzeniem kwasu merkapturowego

z komórki za pomocą pomp ATP-zależnych i wydalany z organizmu z moczem lub żółcią [27, 29].

Wszystkie GST cytozolowe są dimerami o podjednostkach zbudowanych z 199 do 244 aminokwasów.

Każda podjednostka ma dwa centra aktywne: od strony N-końca silnie konserwowane ewolucyjnie centrum G wiążące GSH i od strony C-końca centrum H wiążące elektrofilowe substraty. O ile centrum G jest podobne we wszystkich cytozolowych GST, o tyle centrum H jest swoiste dla każdej z izoform. Pozwala to GST reagować z wieloma substratami [23, 66]. GST oprócz funkcji detoksykacyjnych mogą pełnić w komórce inne role:

- uczestniczą w biosyntezie leukotrienów oraz hemowych grup prostetycznych cytochromu P-450,
- mają aktywność peroksydazową w stosunku do organicznych nadtlenków,
- wykazują aktywność izomerozową dla 3-ketokwasów i prostaglandyn,
- działają jako nieenzymatyczne białka transportowe związków hydrofobowych,
- biorą udział w transporcie hormonów tarczycy i glikokortykoidów,
- uczestniczą w regeneracji utlenionych grup tiolowych [20, 28].

Transferazy glutationowe występują we wszystkich tkankach mózgowych zarówno w korze, jak i istocie białej, ale ich rozmieszczenie jest nierównomierne. Najwięcej GST jest w gleju, przy czym w astrocytach największą

aktywność wykazuje izoforma  $\mu$ , natomiast w oligodendrocytach  $\pi$  [38].

#### GST KLASY ALFA (GSTA)

Ludzka GSTA może tworzyć wiele izoform o różnej kombinacji podjednostek, co prawdopodobnie warunkuje jej największą różnorodność funkcjonalną wśród wszystkich klas GST. Wykazuje m.in. aktywność selenoniezależnej peroksydazy glutationowej w stosunku do nadtlenków fosfolipidowych, wolnych kwasów tłuszczowych, fosfatydylanów. Redukuje alkohole, alkeny, związki epoksydowe oraz wodoronadtlenki cholesterolu. Uczestniczy w izomeryzacji ketosteroidów w syntezie testosteronu i progesteronu. W mózgu unieczynia o-chinony, które powstają podczas utleniania amin katecholowych.

GSTA ma największe powinowactwo do 4-hydroksy-2-nonenalu oraz uczestniczy w wewnątrzkomórkowym transporcie bilirubiny i hemu. Niestety, wykazano również jej antyapoptotyczne działanie w stosunku do komórek nowotworowych i udział w tworzeniu lekooporności [37, 48].

#### GST KLASY MI (GSTM)

Większość GSTM występuje w kilku postaciach allelicznych, a ich skład zależy od populacji, rasy i regionu geograficznego. Ekspresja izoform  $\mu$  jest swoista tkankowo, a w mózgu największą aktywność wykazują GSTM4 i 5. Główną funkcją transferaz klasy  $\mu$  jest inaktywacja epoksydów oraz sprzężanie o-chinonów katecholamin.

GSTM2 i 3 wykazują w mózgu aktywność syntazy prostaglandyny E. Polimorfizm GSTM (zwłaszcza GSTM1) warunkuje podatność na różne typy nowotworów oraz przeżywalność i wrażliwość na chemioterapię. Zwiększoną częstotliwość występowania genotypu zerowego GSTM1 stwierdza się w nowotworach głowy i szyi, w niektórych typach białaczek oraz w nowotworach pęcherza moczowego. Zwiększa się też prawdopodobieństwo zachorowania na choroby neurodegeneracyjne związane z zatruciem środowiska (pestycydy, ołów, chlorowcopochodne) [12, 76].

### **GST KLASY pi (GSTP)**

GST pi tworzą główną frakcję mózgowych transferaz glutationowych, a kodowane są przez jeden gen umiejscowiony na chromosomie 11. Składa się on z 7 ekzonów, 6 intronów i koduje białko zbudowane z 210 aminokwasów. Dotychczas odkryto trzy formy alleliczne: GSTP 1A, 1B i 1C różniące się jednym nukleotydem. Ta niewielka różnica powoduje obniżenie powinowactwa enzymu do sprzęganych związków i decyduje o zwiększonej podatności na choroby neurodegeneracyjne i nowotworowe. Gen GSTP zmapowano w pobliżu onkogenów i protoonkogenów. W niektórych nowotworach stwierdzono korelację podwyższonej ekspresji onkogenów z ekspresją GST pi [32, 40].

W sekwencji promotorowej genu GSTP zlokalizowano cztery miejsca inicjacji transkrypcji oraz kilka sekwencji regulatorowych. W części regulatorowej genu występują trzy sekwencje:

- element odpowiedzi na ksenobiotyki (XRE),
- element odpowiedzi na glukokortykoidy (GRE),
- element odpowiedzi antyoksydacyjnej (ARE).

GST pi uczestniczy także w regulacji sygnalizacji komórkowej, w proliferacji komórek, apoptozie i wielu innych mechanizmach komórkowych m.in. jest substratem dla kinaz białkowych PKA i PKC. Fosforylacja GST przez te kinazy jest zależna od glutationu i powoduje wzrost aktywności enzymu. W wielu nowotworach stwierdzono podwyższoną aktywność GSTP, co wiąże się z obroną tkanek nowotworowych przed działaniem leków cytostaticznych i prowadzi do lekooporności [30, 43].

Substratami GST pi oprócz ksenobiotyków są  $\alpha$ -i  $\beta$ -nienasycone aldehydy (produkty peroksydacji lipidów), zasadowe propenale (produkty degradacji DNA) i wiele innych endogennych produktów przemiany materii [21, 64].

Izoforma pi wykazuje również aktywność selenoniezależnej peroksydazy glutationowej w stosunku do wodoronadtlenków organicznych, ale dużo mniejszą niż izoforma alfa [34].

### **GST KLASY TETA (GSTT)**

W klasie tej zidentyfikowano dwa geny umiejscowione na chromosomie 22. Niektórzy badacze twierdzą, że GSTT jest prekursorem GST klasy alfa, mi i pi, natomiast sama wywodzi się z mitochondrialnej GST kappa.

W obu genach stwierdzono polimorfizm, ale najgroźniejsza jest delecja GSTT1. Genotyp GSTT1 0 jest wiązany z zwiększonym ryzykiem zapadnięcia na niektóre nowotwory i choroby neurodegeneracyjne. Substratami GSTT 1 są niskocząsteczkowe związki jak halometanowce czy tlenek etylenu, a GSTT 2 nadtlarki organiczne [57, 66].

### **GST KLASY SIGMA, ZETA I OMEGA (GSTS, Z I O)**

Te trzy izoformy należą do najmniej dotychczas zbadanych klas GST. Wiadomo, że GSTS wykazuje aktywność GSH-zależnej syntetazy prostaglandyny D<sub>2</sub>. Bierze też udział w syntezie prostanoidów.

GSTZ uczestniczy w katabolizmie fenyloalaniny i tyrozyny. Katalizuje też reakcję biotransformacji kwasu dichlorooctowego (markera kwasicy mleczanowej) do kwasu glioksalowego.

GSTO wykazuje aktywność transferazy tiolowej oraz reduktazy dehydroaskorbinianowej. Uczestniczy też w redukcji mostków disiarczkowych w utlenionych białkach. Wykazano związek polimorfizmu GSTO z zapadalnością na choroby neurodegeneracyjne. Delecja jednego aminokwasu w pozycji 155 GSTO 1-1 powoduje zahamowanie aktywności enzymu i zwiększa prawdopodobieństwo wystąpienia choroby Alzheimera, natomiast mutacje w genie GSTO 2-2 mogą obniżać wiek zapadalności na PD i AD [12, 48, 66].

### **MITOCHONDRIALNA GST KAPPA**

Jest kodowana przez jeden gen i występuje tylko w mitochondriach i peroksysomach. Wykazuje aktywność transferazową i peroksydazową. Uczestniczy w uniczywnianiu wolnych rodników powstających w łańcuchu oddechowym oraz produktów peroksydacji lipidów.

GST kappa strukturalnie jest podobna do tioredoksyny, pełni więc prawdopodobnie podobne funkcje, czyli redukuje mostki disiarczkowe w oksydacyjnie zmienionych proteinach [51, 66].

### **MIKROSOMALNE TRANSFERAZY GLUTATIONOWE MGST/MAPEG**

Jest to grupa niejednorodnych enzymów związanych z błonami mikrosomów. Dotychczas opisano sześć MGST, z których większość uczestniczy w syntezie prostaglandyn, leukotrienów, prostacyklin i tromboksanów. MGST1 katalizuje sprzęganie policyklicznych nienasyconych węglowodorów, cyklicznych chlorowców, produktów peroksydacji lipidów. Ma także aktywność peroksydazy glutationowej wobec nadtlarków lipidowych.

MGST2 wykazuje aktywność transferazową i razem z MGST3 (bez aktywności transferazowej) uczestniczy w syntezie leukotrienu C<sub>4</sub> z A<sub>4</sub>. Oba enzymy mają aktywność peroksydazową w stosunku do nadtlarków organicznych.

Do rodziny MAPEG należą także syntaza leukotrienu  $C_4$  ( $LTC_4S$ ), białko aktywujące 5-lipooksygenazę (FLAP) i syntaza prostaglandyny  $E_2$  (PGES1) [1, 48, 68].

### REDUKTAZA GLUTATIONOWA (GSH-R)

Reduktaza glutationowa (EC.1.6.4.2.) współpracuje ze wszystkimi enzymami glutationowymi redukując GSSG do GSH. Reduktorem w tej reakcji jest NADPH, który jest reaktywowany przez dehydrogenazę glukozo-6-fosforanową w cyklu pentozofosforanowym:



GSH-R jest to flawoproteina zbudowana z dwóch podjednostek białkowych. Każda z podjednostek zawiera jedną cząsteczkę FAD i aktywną grupę disulfidową, które biorą udział w przepływie potencjału redukcyjnego z NADPH na GSSG.

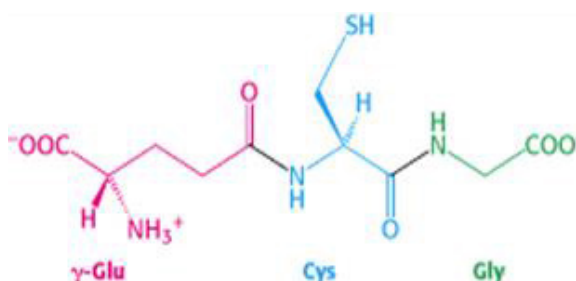
Enzym ten, oprócz aktywności reduktazy GSSG, wykazuje aktywność oksydoreduktazy disulfidowej oraz ma zdolność wiązania jonów metali [59, 65].

### ANTYOKSYDANTY NIEENZYMATYCZNE

#### Glutation

GSH, czyli  $\gamma$ -glutamylcysteinylglicyna, jest najważniejszym endogennym, nieenzymatycznym, antyoksydantem. Jest też najbardziej rozpowszechnionym niskocząsteczkowym związkiem tiolowym w central-

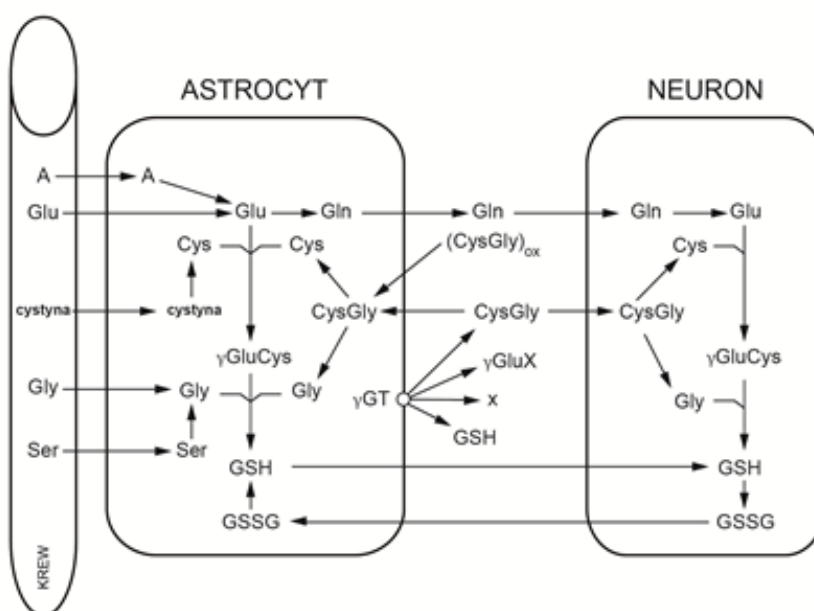
nym systemie nerwowym. Glutation jest zbudowany z trzech aminokwasów: L-glutaminianu, L-cysteiny i glicyny, a jego synteza odbywa się w cytoplazmie komórek w dwustopniowej reakcji zależnej od ATP.



**Ryc. 2.** Wzór strukturalny glutationu:  $\gamma$ -Glu – kwas gamma-glutaminowy, Cys – cysteina, Gly – glicyna

Stężenie glutationu w mózgu jest stosunkowo wysokie, ale jego rozmieszczenie jest nierównomierne. Najwyższe stężenie GSH występuje w astrocytach (8–20 mM) natomiast w neuronach jest go znacznie mniej (0,25–10 mM).

Z przestrzeni pozakomórkowej glutation jest transportowany do astrocytów, gdzie jest rozkładany do cysteinylglicyny a następnie do cysteiny. Produkty degradacji GSH przekazywane są neuronom, które syntetyzują go *de novo* [13, 60].



**Ryc. 3.** Schemat interakcji między astrocytem i neuronem w metabolizmie glutationu. GSH – zredukowany glutation, GSSG – utleniony glutation (disulfid glutationowy),  $\gamma$ GT –  $\gamma$ -glutamylotranspeptydaza, Cys – cysteina, Glu – glutaminian, Gly – glicyna, Ser – seryna, Gln – glutamina, A – aminokwas służący do syntezy glutaminianu, X – akceptor reszty  $\gamma$ -glutamylowej. Komórki neurogleju wykorzystują różne egzogenne substraty do syntezy glutationu. GSH uwalniany z astrocytów rozkładany jest przez  $\gamma$ GT do CysGly i służy jako prekursor neuronalnego glutationu. Ponadto glutamina uwalniana z astrocytów wykorzystywana jest przez neurony jako prekursor glutaminianu niezbędnego do syntezy GSH

Istnieją istotne różnice stężenia glutationu w poszczególnych strukturach mózgu, wynika to z różnej ekspresji syntetazy  $\gamma$ -glutamylcysteinylowej. Największą aktywność tego enzymu stwierdzono w hipokampie, mózdzku oraz w korze mózgowej.

Glutation w mózgu występuje głównie w postaci zredukowanej, tylko 0,2% występuje w postaci utlenionego disulfidu (GSSG). Stosunek stężeń postaci zredukowanej do utlenionej stanowi miarę stanu redoks komórki (nie powinien być niższy niż 100:1) [39, 70].

Zredukowany glutation jest jednym z ważniejszych antyoksydantów chroniącym komórki mózgowe przed stresem oksydacyjnym. Jego antyoksydacyjne właściwości polegają na redukcji  $H_2O_2$  i różnych nadtlenków organicznych samodzielnie lub we współpracy z peroksydazami oraz na regeneracji innych antyoksydantów, takich jak: witamina C, tokoferole, karotenoidy i in. GSH wraz z transferazą glutationową uczestniczy w sprzęganiu ksenobiotyków i związków endogennych w celu zwiększenia ich rozpuszczalności i ułatwienia ich wydalenia z moczem. Bierze też udział w naprawie oksydacyjnie uszkodzonych składników komórkowych, m.in. przywraca do postaci zredukowanej grupy tiolowe w białkach, reaktywuje rodniki lipidowe i redukuje utlenione zasady azotowe w DNA [7, 80].

Glutation uczestniczy w wielu ważnych procesach komórkowych, takich jak: transkrypcja, replikacja, wzrost i różnicowanie się komórek, regulacja aktywności enzymów, obrona immunologiczna oraz apoptoza.

Mózgowy GSH pełni rolę neuroprzekaźnika, oraz modulatora neurotransmisji glutaminianergicznej. Dzięki zdolności do chelatowania jonów metali chroni neurony przed szkodliwym działaniem wolnego żelaza i zapobiega reakcji Fentona [13, 36]. W mózgu GSH tworzy kompleksy z tlenkiem azotu, a powstały S-nitrozoglutation (GSNO) ma stukrotnie silniejsze właściwości antyoksydacyjne niż sam glutation, chroni m.in. neurony dopaminergiczne przed rodnikiem hydroksylowym.

GSNO (w przeciwieństwie do GSH) łatwo dyfunduje przez błony komórkowe oraz ma dłuższy okres półtrwania, więc może być nośnikiem i rezerwuarem zarówno NO, jak i GSH. W mózgu GSNO pełni rolę regulacyjną i sygnałową, gdyż jest najsilniejszym aktywatorem cykazy guanylowej.

W obecności anionorodnika ponadtlenkowego glutation tworzy z dopaminą glutationylo-dopaminę (GSH-DA) i jest to prawdopodobnie główna przyczyna utraty glutationu w istocie czarnej w chorobie Parkinsona [10, 33].

Inną przyczyną spadku stężenia glutationu w mózgu są reakcje autooksydacji katecholamin, głównie dopaminy. Powstające w tych reakcjach dopamino-o-chinony zostają sprzęgnięte z GSH lub innymi tiolami, tworząc tioetery katecholowe. Ich stężenie rośnie w chorobach neurodegeneracyjnych i procesie starzenia.

Stwierdzono 40–50% spadek stężenia glutationu w istocie czarnej w chorobie Parkinsona. Ponadto region ten wykazuje zwiększony proces peroksydacji lipidów i wzrost zawartości żelaza, to nasila niekorzystne reakcje Fentona i Habera-Weisa [14, 71].

## WITAMINA C

Jest głównym antyoksydantem frakcji cytozolowej, uczestniczy w wielu reakcjach utleniania i redukcji. O jej właściwościach redukujących decyduje ugrupowanie endiolowe, dzięki któremu może redukować większość reaktywnych form tlenu i organicznych nadtlenków. Witamina C przechodzi przez barierę krew-mózg w postaci utlenionej z udziałem transporterów GLUT1 (transporter glukozy).

W mózgu występuje szczególnie duże stężenie witaminy C (10 razy wyższe niż w osoczu), a jej rola polega głównie na redukcji reaktywnych form tlenu i utlenionych tokoferoli. Neurony uwalniają dehydroaskorbinian, astrocyty wyłapują go, przekształcają do postaci zredukowanej i oddają neuronom. Utleniony askorbinian jest regenerowany przez glutation, dehydrogenazę zależną od GSH i NADPH oraz GST klasy omega.

Witamina C jest niezbędna do utrzymania w postaci zredukowanej jonów metali wchodzących w skład niektórych enzymów, ale ta działalność może być szkodliwa. Podczas dwuetapowego procesu utleniania askorbinianu w obecności  $Fe^{3+}$  i  $Cu^{2+}$  powstają  $Fe^{2+}$  i  $Cu^{1+}$ , które reagując z nadtlenkiem wodoru w reakcji Fentona, dają rodnik hydroksylowy. Oprócz funkcji antyoksydacyjnych witamina C uczestniczy w biosyntezie kolagenu, hormonów steroidowych, serotoniny, dopaminy i noradrenaliny [11, 31, 72].

## WITAMINA E

Jest mieszaniną tokoferoli i tokotrienoli; ze względu na swój lipofilny charakter jest najważniejszym antyoksydantem błonowym chroniącym fosfolipidy błonowe przed peroksydacją. Hamuje też utlenianie wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, takich jak kwas arachidonowy i dokozaheksaenowy, przerywając wolnorodnikowe reakcje łańcuchowe, zapewnia integralność strukturalną i funkcjonalną błon komórek nerwowych.

Tokoferol przekształca wolne rodniki nadtlenkowe ( $LOO^*$ ) do wodoronadtlenków ( $LOOH$ ). W wyniku tej reakcji powstaje rodnik tokoferylowy ( $TH^*$ ), który może być reaktywowany przez askorbinian lub GSH.

Witamina E obniża poziom mitochondrialnych nadtlenków i ochrania mitochondria przed „wyciekami elektrownym”. Chroni również neurony przed toksycznym wpływem 24-hydroksycholesterolu - mózgowego produktu degradacji cholesterolu.

$\alpha$ -tokoferol jest najważniejszy w prawidłowym funkcjonowaniu mózgu, a jego niedobór może spowodować



wiele objawów neurologicznych, takich jak: ataksja, obwodowa neuropatia, miopatia i retinopatia [17, 49, 52].

## MELATONINA

Jest to hormon szyszynki wytwarzany z tryptofanu. W mózgu pełni funkcję neuroprzekaźnika, ale jest też silnym zmiataczem WRT, głównie hydroksylowych i nadtlenkowych. Melatonina, działając na receptory retinoidowe, aktywuje wiele enzymów antyoksydacyjnych, takich jak: SOD, peroksydaza i reduktaza glutationowa, katalaza oraz syntaza tlenu azotu.

Jedna cząsteczka melatoniny może dezaktywować dwa rodniki tlenowe, stając się mało aktywnym rodnikiem indolowym, nieulegającym ponownej redukcji. W płynie mózgowo-rdzeniowym stężenie melatoniny jest dziesięciokrotnie wyższe niż w surowicy. U osób z chorobą Alzheimera stwierdzono pięciokrotnie niższy poziom melatoniny niż u zdrowych równolatków. Może to sugerować jej udział w neuroprotekcji OUN [47, 58, 75].

## METALOTIONEINY

Są to białka biorące udział w homeostazie jonów cynku i miedzi oraz regulacji biosyntezy i aktywności czynników transkrypcyjnych zależnych od cynku. Chronią również komórkę przed RFT, promieniowaniem jonizującym i mutagenami. W mózgu odkryto trzy typy metalotionein: MT-I, MT-II i MT-III (przy czym MT-III występuje tylko w mózgu). MT-I i II pełnią funkcje detoksykacyjne i występują w astrocytach, natomiast MT-III najwięcej jest w neuronach, gdzie uczestniczy w modulacji funkcji neuronu.

Dzięki dużej zawartości grup sulfhydrylowych (prawie 1/3 wszystkich reszt aminokwasowych), metalotioneiny są efektywnymi zmiataczami wolnych rodników i chronią białka przed utlenieniem.

Stwierdzono, że z wiekiem obniża się stężenie MT-I i II natomiast znacznie wzrasta MT-III w mózgach osób dorosłych. Stężenie MT-III może mieć wpływ na etiologię chorób neurozwyrodnieniowych. W chorobie Alzheimera zaobserwowano mniejszą zawartość MT-III w niektórych strukturach mózgu. Również w modelach zwierzęcych Parkinsona zanotowano spadek mózgowej metalotioneiny. W pierwotnych kulturach neuronów MT-III chroni neurony móżdżku przed neurotoksycznością glutamianu przez hamowanie syntezy tlenu azotu.

## PIŚMIENNICTWO

- [1] Ahmad S., Thulasingam M., Palombo I., Daley D.O., Johnson K.A., Morgenstern R., Haeggström J.Z., Rinaldo-Matthis A.: Trimeric mitochondrial glutathione transferase 2 displays one third of the sites reactivity. *Biochim. Biophys. Acta*, 2015;1854: 1365–1371
- [2] Armstrong R.N.: Structure, catalytic mechanism, and evolution of the glutathione transferases. *Chem. Res. Toxicol.*, 1997; 10: 2–18
- [3] Ball S.: Chemia szarych komórek. *Neurochemia i toksykologia ośrodkowego układu nerwowego*. Medyk Sp. Zo.o., Warszawa 2003

We wczesnych stadiach różnych chorób neurodegeneracyjnych stwierdzono obniżoną ekspresję MT-III i zaburzoną równowagę jonów cynku, co zwiększa podatność neuronów na działanie metali ciężkich i stres oksydacyjny [44, 50, 62].

Innymi ważnymi antyoksydantami i zmiataczami WRT są: tioredoksyna, która ma właściwości redukujące mostki disulfidowe w utlenionych białkach strukturalnych i enzymatycznych. Kwas moczowy – końcowy produkt metabolizmu puryn, jest aktywnym zmiataczem rodnika hydroksylowego i anionorodnika ponadtlenkowego. Wiąże też jony żelaza nie dopuszczając do zajścia reakcji Fentona i Habera-Weissa. Inne związki aktywnie wiążące jony metali to: albuminy, ceruloplazmina, transferyna, czy haptoglobina.

## PODSUMOWANIE

Wiele danych wskazuje na znaczącą rolę stresu oksydacyjnego i reaktywnych form tlenu w rozwoju chorób neurodegeneracyjnych. Najważniejsze konsekwencje długotrwałego działania stresu oksydacyjnego na OUN to peroksydacja błon komórkowych neuronów, uszkodzenie mitochondriów prowadzące do śmierci komórek nerwowych, mutacje w DNA i zaburzenia ekspresji genów. Poza tym następuje osłabienie komunikacji międzykomórkowej i nagromadzenie szkodliwych produktów przemiany materii oraz zmutowanych białek.

Ponieważ nasze endogenne mechanizmy antyoksydacyjne i detoksykacyjne nie zawsze są w pełni wydajne, obecnie szuka się skutecznych sposobów obniżenia skutków stresu oksydacyjnego przez wprowadzanie do układu nerwowego egzogennych związków działających na kilku poziomach: wyłapujące potencjalnie szkodliwe cząsteczki, redukujące WRT lub naprawiające uszkodzone składniki komórek. Sam proces przeniknięcia antyoksydantów do OUN jest utrudniony ze względu na obecność bariery krew-mózg, która blokuje transport większości związków dostarczanych z zewnątrz.

Żaden ze znanych antyutleniaczy nie okazał się w pełni skuteczny w walce z WRT. Istnieją prace sugerujące możliwość aktywowania endogennych mechanizmów antyoksydacyjnych zarówno enzymatycznych jak i nieenzymatycznych. Być może jest to obecnie najbardziej obiecująca strategia walki ze stresem oksydacyjnym w OUN.

- [4] Barańczyk-Kuźma A., Barszczewska I., Audus K.L.: The effect of exo- and endogenous compounds on the activity of glutathione-S-transferase from monkey brain. *Acta Biochim. Pol.*, 1992; 39: 133–138
- [5] Barańczyk-Kuźma A., Kuźma M., Gutowicz M., Kaźmierczak B., Sawickij.: Glutathione S-transferase pi as a target for tricyclic antidepressants in human brain. *Acta Biochim. Pol.*, 2004; 51: 207–212
- [6] Barber S.C., Shaw P.J.: Oxidative stress in ALS: Key role in motor neuron injury and therapeutic target. *Free Radical Biol. Med.*, 2010; 48: 629–641

- [7] Bilska A., Kryczyk A., Włodek L.: Różne oblicza biologicznej roli glutationu. *Postępy Hig. Med. Dośw.* 2007; 61: 438–453
- [8] Bredel M.: Anticancer drug resistance in primary human brain tumors. *Brain Res. Rev.*, 2001; 35: 161–204
- [9] Chelikani P., Fita I., Loewen P.C.: Diversity of structures and properties among catalases. *Cell Mol. Life Sci.*, 2004; 61: 192–208
- [10] Chiueh C.C., Rauhala P.: The redox pathway of S-nitrosoglutathione, glutathione and nitric oxide in cell to neuron communications. *Free Radic. Res.*, 1999; 31: 641–650
- [11] Covarrubias-Pinto A., Acuña A.I., Beltrán F.A., Torres-Díaz L., Castro M.A.: Old things new view: Ascorbic acid protects the brain in neurodegenerative disorders. *J. Mol. Sci.*, 2015; 16: 28194–28217
- [12] Dasari S., Gonuguntla S., Ganjani M.S., Bukke S., Sreenivasulu B., Meriga B.: Genetic polymorphism of glutathione S-transferases: Relevance to neurological disorders. *Pathophysiology*, 2018; 25: 285–292
- [13] Dringen R.: Metabolism and functions of glutathione in brain. *Prog. Neurobiol.*, 2000; 62: 649–671
- [14] Dringen R., Brandmann M., Hohnholt M.C., Blumrich E.M.: Glutathione-dependent detoxification processes in astrocytes. *Neurochem. Res.*, 2015; 40: 2570–2582
- [15] Dröge W.: Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol. Rev.*, 2002; 82: 47–95
- [16] Emerit I., Filipe P., Freitas J., Fernandes A., Garban F., Vassy J.: Assaying binding capacity of Cu,ZnSOD and MnSOD: demonstration of their localization in cells and tissues. *Methods Enzymol.*, 2002; 349: 321–327
- [17] Engin K.N.: Alpha-tocopherol: looking beyond an antioxidant. *Mol. Vis.*, 2009; 15: 855–860
- [18] Floriańczyk B., Kaczmarczyk R., Osuchowski J., Stryjecka-Zimmer M., Trojanowski T., Marzec Z.: Metallothioneins and microelements in brain tumours. *Ann. Univ. Mariae Curie Skłodowska*, 2003; 58: 1–4
- [19] Flynn J.M., Melov S.: SOD2 in mitochondrial dysfunction and neurodegeneration. *Free Radical Biol. Med.*, 2013; 62: 4–12
- [20] Frova C.: Glutathione transferases in the genomics era: new insights and perspectives. *Biomol. Eng.*, 2006; 23: 149–169
- [21] Gallagher E.P., Gardner J.L., Barber D.S.: Several glutathione S-transferase isozymes that protect against oxidative injury are expressed in human liver mitochondria. *Biochem. Pharmacol.*, 2006; 71: 1619–1628
- [22] Gilgun-Sherki Y., Melamed E., Offen D.: Oxidative stress induced neurodegenerative diseases: The need for antioxidants that penetrate the blood brain barrier. *Neuropharmacology*, 2001; 40: 959–975
- [23] Gulick A.M., Fahl W.E.: Mammalian glutathione S-transferase: regulation of an enzyme system to achieve chemotherapeutic efficacy. *Pharmacol. Ther.* 1995; 66: 237–257
- [24] Gutowicz M.: Wpływ reaktywnych form tlenu na ośrodkowy układ nerwowy. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2011; 65: 104–113
- [25] Gutowicz M., Kaźmierczak B., Barańczyk-Kuźma A.: The influence of heroin abuse on glutathione-dependent enzymes in human brain. *Drug Alcohol Depend.*, 2011; 113: 8–12
- [26] Gutowicz M., Sadurska B., Chołojczyk M., Pokorska-Lis M., Siwińska-Ziółkowska A., Barańczyk-Kuźma A.: Antioxidant status in different regions of heroin addicts' brain. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 2006; 21: 80–85
- [27] Haimeur A., Conseil G., Deeley R.G., Cole S.P.: The MRP-related and BCRP/ABCG2 multidrug resistance proteins: biology, substrate specificity and regulation. *Curr. Drug Metab.*, 2004; 5: 21–53
- [28] Hayes J.D., Flanagan J.U., Jowsey I.R.: Glutathione transferases. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 2005; 45: 51–88
- [29] Hayes J.D., McLellan L.I.: Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a co-ordinately regulated defence against oxidative stress. *Free Radic. Res.*, 1999; 31: 273–300
- [30] Hayes J.D., Pulford D.J.: The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, 1995; 30: 445–600
- [31] Harrison F.E., Bowman G.L., Polidori M.C.: Ascorbic acid and the brain: Rationale for the use against cognitive decline. *Nutrients*, 2014; 6: 1752–1781
- [32] Higasa S., Tsujimura M., Hiraoka M., Nakayama K., Yanagisawa Y., Iwamoto S., Kagawa Y.: Polymorphism of glutathione S-transferase P1 gene affects human vitamin C metabolism. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2007; 364: 708–713
- [33] Hirrlinger J., Schulz J.B., Dringen R.: Effects of dopamine on the glutathione metabolism of cultured astroglial cells: implications for Parkinson's disease. *J. Neurochem.*, 2002; 82: 458–467
- [34] Hurst R., Bao Y., Jemth P., Mannervik B., Williamson G.: Phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase activity of human glutathione transferases. *Biochem. J.*, 1998; 332: 97–100
- [35] Ischiropoulos H., Beckman J.S.: Oxidative stress and nitration in neurodegeneration: cause, effect, or association? *J. Clin. Invest.*, 2003; 111: 163–169
- [36] Janáky R., Ogita K., Pasqualotto B.A., Bains J.S., Oja S.S., Yoneda Y., Shaw C.A.: Glutathione and signal transduction in the mammalian CNS. *J. Neurochem.*, 1999; 73: 889–902
- [37] Jewett M., Dickson E., Brolin K., Negrini M., Jimenez-Ferrer I., Swanberg M.: Glutathione S-transferase alpha 4 prevents dopamine neurodegeneration in a rat alpha-synuclein model of Parkinson's disease. *Front. Neurol.*, 2018; 9: 222
- [38] Johnson J.A., el Barbary A., Kornguth S.E., Brugge J.F., Siegel F.L.: Glutathione S-transferase isoenzymes in rat brain neurons and glia. *J. Neurosci.*, 1993; 13: 2013–2023
- [39] Kang Y., Viswanath V., Jha N., Qiao X., Mo J.Q., Andersen J.K.: Brain gamma-glutamyl cysteine synthetase (GCS) mRNA expression patterns correlate with regional-specific enzyme activities and glutathione levels. *J. Neurosci. Res.*, 1999; 58: 436–441
- [40] Kargas C., Walter Z.: Znaczenie polimorfizmów genów transferaz glutationowych człowieka. *Postępy Bioch.*, 2003; 49: 85–95
- [41] Kopczyńska E., Torliński L., Ziółkowski M.: Wpływ uzależnienia od alkoholu na parametry stresu oksydacyjnego. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2001; 55: 95–111
- [42] Krajka-Kuźniak V.: Indukcja enzymów II fazy jako strategia chemioprewencji nowotworów i innych schorzeń degeneracyjnych. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2007; 61: 627–638
- [43] Kwak M.K., Wakabayashi N., Kensler T.W.: Chemoprevention through the Keap1-Nrf2 signaling pathway by phase 2 enzyme inducers. *Mutat. Res.*, 2004; 555: 133–148
- [44] Lee S.J., Koh J.Y.: Roles of zinc and metallothionein-3 in oxidative stress-induced lysosomal dysfunction, cell death, and autophagy in neurons and astrocytes. *Mol. Brain*, 2010; 3: 30
- [45] Lei X.G., Cheng W.H., McClung J.P.: Metabolic regulation and function of glutathione peroxidase-1. *Annu. Rev. Nutr.*, 2007; 27: 41–61
- [46] Lindenau J., Noack H., Possel H., Asayama K.: Cellular distribution of superoxide dismutases in the rat CNS. *Glia*, 2000; 29: 25–34
- [47] Luo C., Yang Q., Liu Y., Zhou S., Jiang J., Reiter R.J., Bhattacharya P., Cui Y., Yang H., Ma H., Yao J., Lawler S.E., Zhang X., Fu J. i wsp.: The multiple protective roles and molecular mechanisms of melatonin and its precursor N-acetylserotonin in targeting brain injury and liver damage and in maintaining bone health. *Free Radic. Biol. Med.*, 2019; 130: 215–233

- [48] Mazzetti A.P., Fiorile M.C., Primavera A., Lo Bello M.: Glutathione transferases and neurodegenerative diseases. *Neurochem. Int.*, 2015; 82: 10–18
- [49] Mohn E.S., Kuchan M.J., Erdman J.W., Neuringer M., Matthan N.R., Chen C.O., Johnson E.J.: The subcellular distribution of alpha-tocopherol in the adult primate brain and its relationship with membrane arachidonic acid and its oxidation products. *Antioxidants*, 2017; 6: 97
- [50] Montoliu, C.; Monfort, P.; Carrasco, J.; Palacios, O.; Capdevila, M.; Hidalgo, J.; Felipo, V.: Metallothionein-III prevents glutamate and nitric oxide neurotoxicity in primary cultures of cerebellar neurons. *J. Neurochem.*, 2000; 75: 266–273
- [51] Morel F., Aninat C.: The glutathione transferase kappa family. *Drug. Metab. Rev.*, 2011; 43: 281–291
- [52] Nakazawa T., Miyazaki Y., Urano Y., Uehara M., Saito Y., Noguchi N.: Effect of vitamin E on 24(S)-hydroxycholesterol-induced necroptosis-like cell death and apoptosis. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 2017; 169: 69–76
- [53] Nappi A.J., Vass E.: Iron, metalloenzymes and cytotoxic reactions. *Cell Mol. Biol.*, 2000; 46: 637–647
- [54] Nazıroğlu M.: Molecular role of catalase on oxidative stress-induced Ca<sup>2+</sup> signaling and TRP cation channel activation in nervous system. *J. Recept. Signal Transduct. Res.*, 2012; 32: 134–141
- [55] Oakley A.J.: Glutathione transferases: new functions. *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 2005; 15: 716–723
- [56] Ookawara T., Imazeki N., Matsubara O., Kizaki T., Oh-Ishi S., Nakao C., Sato Y., Ohno H.: Tissue distribution of immunoreactive mouse extracellular superoxide dismutase. *Am. J. Physiol.*, 1998; 275: 840–847
- [57] Pinarbasi H., Silig Y., Gurelik M.: Genetic polymorphisms of GSTs and their association with primary brain tumor incidence. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 2005; 156: 144–149
- [58] Popławski P.T., Derlacz R.A.: Jak działa melatonina? *Postępy Bioch.* 2003; 49: 9–17
- [59] Rahman Q., Abidi P., Afaq F., Schiffmann D., Mossman B.T., Kamp D.W., Athar M.: Glutathione redox system in oxidative lung injury. *Crit. Rev. Toxicol.*, 1999; 29: 543–568
- [60] Raps S.P., Lai J.C., Hertz L., Cooper A.J.: Glutathione is present in high concentrations in cultured astrocytes but not in cultured neurons. *Brain Res.*, 1989; 493: 398–401
- [61] Ravindranath V.: Metabolism of xenobiotics in the central nervous system: implications and challenges. *Biochem. Pharmacol.*, 1998; 56: 547–551
- [62] Ruttikay-Nedecky B., Nejdil L., Gumulec J., Zitka O., Masarik M., Eckschlager T., Adam V., Kizek R.: The role of metallothionein in oxidative stress. *Int. J. Mol. Sci.*, 2013; 14: 6044–6066
- [63] Rybnikova E., Damdimopoulos A.E., Gustafsson J.A., Spyrou G., Pelto-Huikko M.: Expression of novel antioxidant thioredoxin-2 in the rat brain. *Eur. J. Neurosci.*, 2000; 12: 1669–1678
- [64] Salinas A.E., Wong M.G.: Glutathione S-transferases – a review. *Curr. Med. Chem.*, 1999; 6: 279–309
- [65] Saydam N., Kirb A., Demir O., Hazan E., Oto O., Saydam O., Güner G.: Determination of glutathione, glutathione reductase, glutathione peroxidase and glutathione S-transferase levels in human lung cancer tissues. *Cancer Lett.*, 1997; 119: 13–19
- [66] Sheehan D., Meade G., Foley V.M., Dowd C.A.: Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily. *Biochem. J.*, 2001; 360: 1–16
- [67] Shewetta S.A.: Drug-metabolizing enzymes: mechanisms and functions. *Curr. Drug Metab.*, 2000; 1: 107–132
- [68] Sjögren T., Nord J., Ek M., Johansson P., Liu G., Geschwindner S.: Crystal structure of microsomal prostaglandin E2 synthase provides insight into diversity in the MAPEG superfamily. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2013; 110: 3806–3811
- [69] Slemmer J.E., Shacka J.J., Sweeney M.I., Weber J.T.: Antioxidants and free radical scavengers for the treatment of stroke, traumatic brain injury and aging. *Curr. Med. Chem.*, 2008; 15: 404–414
- [70] Slivka A., Spina M.B., Cohen G.: Reduced and oxidized glutathione in human and monkey brain. *Neurosci Lett.*, 1987; 74: 112–118
- [71] Smeyne M., Smeyne R.J.: Glutathione metabolism and Parkinson's disease. *Free Radic. Biol. Med.*, 2013; 62: 13–25
- [72] Smirnov N.: Ascorbic acid metabolism and functions: A comparison of plants and mammals. *Free Radic. Biol. Med.*, 2018; 122: 116–129
- [73] Stahl W., Sies H.: Antioxidant defense: vitamins E and C and carotenoids. *Diabetes*, 1997; 46 (Suppl. 2): 14–18
- [74] Strazielle N., Khuth S.T., Ghersi-Egea J.F.: Detoxification systems, passive and specific transport for drugs at the blood-CSF barrier in normal and pathological situations. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2004; 56: 1717–1740
- [75] Tan D.X., Manchester L.E., Reiter R.J., Qi W.B., Karbownik M., Calvo M.: Significance of melatonin in antioxidative defence system: Reactions and products. *Biol. Signals Recept.*, 2000; 9: 137–159
- [76] Tetlow N., Robinson A., Mantle T., Board P.: Polymorphism of human mu class glutathione transferases. *Pharmacogenetics*, 2004; 14: 359–368
- [77] Tuteja N., Tuteja R.: Unraveling DNA repair in human: molecular mechanisms and consequences of repair defect. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, 2001; 36: 261–290
- [78] Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T., Mazur M., Telser J.: Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2007; 39: 44–84
- [79] Zabłocka A., Janusz M.: Dwa oblicza wolnych rodników tlenowych. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2008; 62: 118–124
- [80] Zasadowski A., Wysocki A. D., Barski D., Spodniewska A.: Some aspects of reactive oxygen species (ROS) and antioxidative system agent's action. *Short Review. Acta Toxicol.*, 2004; 12: 5–19
- [81] Zecca L., Tampellini D., Gatti A., Crippa R., Eisner M., Sulzer D., Ito S., Fariello R., Gallorini M.: The neuromelanin of human substantia nigra and its interaction with metals. *J. Neural. Transm.*, 2002; 109: 663–672
- [82] Zimatkin S.M., Lindros K.O.: Distribution of catalase in rat brain: aminergic neurons as possible targets for ethanol effects. *Alcohol. Alcohol.*, 1996; 31: 167–174

Autorka deklaruje brak potencjalnych konfliktów interesów.