



Mutacje w mitochondrialnym DNA jako czynnik ryzyka rozwoju otępienia – nowy paradygmat

Mitochondrial DNA mutation as a risk factor of dementia – a new paradigm

TADEUSZ PIETRAS, ANDRZEJ WITUSIK, PAWEŁ GÓRSKI

Z Pracowni Gerontologii Kliniki Pneumonologii i Alergologii Akademii Medycznej w Łodzi

STRESZCZENIE. Mitochondria pełnią kluczową rolę w metabolizmie energetycznym komórki. Wytwarzają ATP dzięki procesowi fosforylacji oksydatywnej. Organelle te pełnią również kluczową rolę w indukowaniu programowanej śmierci komórki (apoptozy). Mitochondria zawierają własny mitochondrialny DNA, który replikuje się niezależnie od DNA jądrowego. Punktowe mutacje w mitochondrialnym DNA, który jest szczególnie narażony na stres oksydacyjny, są jedną z przyczyn otępienia. Mutacje w mitochondrialnym DNA pociągają za sobą wzrost wytwarzania reaktywnych postaci tlenu przez enzymy łańcucha oddechowego. Nadmiar reaktywnych postaci tlenu indukuje apoptozę zależną od mitochondriów, indukuje proces peroksydacji lipidów i sprzyja agregacji i odkładaniu się złogów białek typowych dla otępień. Wymienione procesy doprowadzają do rozwoju otępień.

SUMMARY. Mitochondria have a pivotal role in cell metabolism, being the major site of ATP production via oxidative phosphorylation. They have a critical role in apoptotic cell death; and they also contribute to human genetics since mitochondria have a functional genome separate from that of nuclear DNA. Recent observations suggest that the accumulation of point mutations of mitochondrial DNA may be important in the pathogenesis of dementia. The increasing formation and release of reactive oxygen species by failed respiratory chain enzymes induces lipid peroxidation process, apoptosis and subsequent cell death, and promotes protein aggregation and accumulation in the central nervous system. These changes induce neurodegeneration of brain and promote progress of dementia.

Słowa kluczowe: mitochondrialny DNA / oksydaza cytochromu C / otępienie

Key words: mitochondrial DNA / cytochrome C oxidase / dementia

Otępienia stanowią przedmiot zainteresowania zarówno psychiatrii, jak i neurologii. Obie nauki łączy zainteresowanie ośrodkowym układem nerwowym. Neurologia postrzega choroby mózgu (w dużym uproszczeniu!) z punktu widzenia paradygmatu biomedycznego skupiając się na szeroko rozumianych funkcjach motorycznych i na zaburzeniach czucia, w oparciu o neuropatologię i neurofizjologię. Psychiatria skupiła się na dysfunkcjach życia psychicznego człowieka opisując i klasyfikując fenomeny nieprawidłowych procesów psychicznych

niezgodnych z normą ilościową, społeczno-kulturową lub normą teoretyczną [Sęk 2001, Wciórka 2002a]. Psychiatria stworzyła własny aparat pojęciowy (pojęcia psychopatologiczne) oparty na pojęciach pochodzących nie tylko z klasycznej psychopatologii, lecz głównie z psychologii poznawczej i psychologii emocji [Wciórka 2002a]. Granice między psychologią a psychopatologią zatarły się, tak jak nieostra jest granica pomiędzy normą a patologią. Granica ta zatarła się w ostatnich latach tym bardziej, że do psychiatrii wprowadzono narzędzia oceny stanu

psychicznego spełniające kryteria nowoczesnego testu psychologicznego o określonej rzetelności i trafności [Hornowska 2001, Pużyński i wsp. 2002]. Narzędzia te, tak jak testy psychologiczne, poddano procedurom normalizacyjnym określając zakres wartości prawidłowych i charakterystycznych dla poszczególnych chorób [Vallar 1991, Hornowska 2001, Pużyński i wsp. 2002]. Poddano je również normalizacji kulturowej. Takie powszechnie znane testy stosowane w diagnostyce otępień przez psychiatrów to „Krótka skala oceny otępienia (*Mini Mental State Examination – MMSE*) [Folstein i wsp. 1975], test rysowania zegara [Krzywiński 1995] czy skala *ADAS (Alzheimer's Disease Assessment Scale)* [Burch i wsp. 1987]. We współczesnej psychiatrii upada paradygmat dualizmu „organiczny-nieorganiczny”, gdyż dyskretne objawy uszkodzenia mózgu odkryto w wielu chorobach psychicznych (np. schizofrenii), a nawet w zespole stresu pourazowego, co zbliża psychiatrię do neuropsychologii i neurologii [Vallar 1991, Wciórka 2002b]. Z drugiej strony nie można fenomenologii zaburzeń psychicznych rozpatrywać tylko w aspekcie biomedycznym, lecz zgodnie z paradygmatem biopsychospołecznym w kontekście kulturowym, socjologicznym, historycznym i środowiskowym, co zbliża z kolei psychiatrię do społecznej psychologii klinicznej i typowych nauk humanistycznych. W otępieniach tzw. czynnik organiczny odgrywa pierwszoplanową i niepodważalną rolę. Bogata fenomenologia zaburzeń procesów poznawczych i emocjonalnych podparta bogactwem wyników testów neuropsychologicznych stanowi doskonałe potwierdzenie klasycznego paradygmatu biomedycznego „mózg-zachowanie”. Objawy zaburzonych czynności motorycznych czynią otępienia ważnym przedmiotem zainteresowania neurologii. Zaburzenia funkcjonowania rodziny chorego i jego intelektualna deterioracja stanowią doskonały przykład ilustrujący biopsychospołeczny model współczesnej medycyny

i psychologii klinicznej [Sęk 2001, Adamiak i wsp. 2002].

Organiczne uszkodzenia mózgu w otępieniu i związane z nimi deficyty funkcji poznawczych wywołane są patologią naczyniową (np. udar mózgu i otępienie poudarowe, otępienie naczyniowe), urazami (np. u bokserów), neuroinfekcjami (np. otępienie w przebiegu infekcji wirusem HIV) lub czynnikami biochemicznymi (np. beta-amyloidozy pasażowalne i niepasażowalne, synukleinopatie, taupatie).

Ważną i niedocenianą (choć prawdopodobnie najważniejszą) przyczynę otępień stanowią mutacje w mitochondrialnym DNA [Leonard i wsp. 2000a, 2000b]. Mutacje w DNA mitochondrialnym są prawdopodobnie jedną z częstszych przyczyn samoistnych otępień po 60 roku życia występujących sporadycznie [Kato 2001]. Ciekawostką stanowi fakt, że te same mutacje ujawnione w dzieciństwie lub u ludzi młodych doprowadzają do ciężkich chorób mózgowia i innych narządów [Leonard i wsp. 2002].

BUDOWA I ZNACZENIE MITOCHONDRIALNEGO DNA

Mitochondria pochodzą prawdopodobnie od endosymbiotycznych bakterii sfagocytowanych przez pierwsze beztlenowe organizmy jądrowe (*Eucaryota*) przypominające ameby pełzające po dnie praooceanu. Fagocytoza ta umożliwiła *Eucaryota* metabolizm tlenowy i zapewniła sukces ewolucyjny. Endosymbiotyczne bakterie traciły stopniowo część genomu i stały się organellami wykorzystującymi tlen w celach energetycznych. Geny dla wielu mitochondrialnych białek przeniosły się z mitochondrium do genomu jądrowego, co można prześledzić ewolucyjnie porównując różne grupy systematyczne. Genom mitochondrialny zwierząt tkankowych jest bardzo oszczędny i zawiera geny dla niewielu mitochondrialnych peptydów. Ewolucja mitochondrialnego DNA potoczyła się u zwierząt, grzybów i roślin (trzech

głównych gałęzi *Eucaryota*) w innych kierunkach [Lee i wsp. 1997]. Mitochondrialny DNA u ssaków dziedziczy się tylko ze strony matki. Analiza zmienności DNA mitochondrialnego w różnych populacjach człowieka umożliwiła odtworzenie historii naszego gatunku i potwierdziła hipotezę, że *Homo sapiens* rozwinął się ze stosunkowo małej populacji w Afryce środkowo-wschodniej (tzw. hipoteza Pra-Ewy) [Huelssenbeck i wsp. 2002]. Ludzki DNA mitochondrialny składa się z 16569 par zasad [Lee i wsp. 1997]. Koduje on 22 cząsteczki transportującego RNA (tRNA) dla wszystkich aminokwasów białkotwórczych, dwie cząsteczki rybosomalnego RNA (12s i 16s rRNA) wchodzące w skład mitorybosomów i kilkanaście polipeptydów stanowiących część kompleksów enzymatycznych łańcucha oddechowego i syntazy ATP [Lee i wsp. 1997]. Mitochondrialny DNA koduje siedem spośród 40 podjednostek kompleksu I łańcucha oddechowego (podjednostki ND1, ND2, ND3, ND4, ND4L, ND5, ND6), trzy spośród 13 podjednostek kompleksu IV oksydazy cytochromu C (COI, COII, COIII), jedną podjednostkę kompleksu III (cytochrom b) i dwie podjednostki syntazy ATP (ATPase 6 i ATPase 8). Ludzki genom mitochondrialny nie zawiera intronów, jest ciasno upakowany i stanowi znikomą resztkę całego genomu endosymbiotycznej bakterii [Lee i wsp. 1997]. Geny dla większości białek mitochondrium znajdują się w jądrze komórkowym. Ośrodkowy układ nerwowy wymaga intensywnego metabolizmu tlenowego, w związku z czym w każdej komórce nerwowej znajduje się stosunkowo duża ilość mitochondriów w porównaniu z innymi narządami. O intensywności metabolizmu tlenowego świadczy fakt, że już kilkuminutowe niedotlenienie (np. w czasie mało skutecznej resuscytacji) wywołuje powstanie nieodwracalnego uszkodzenia mózgu z trwałymi deficytami funkcji poznawczych i deterioracją osobowości zależną od uszkodzenia płatów czołowych [Scott i wsp. 2000].

MUTACJE W MITOCHONDRIALNYM DNA ZWIĄZANE Z OTĘPIENIEM

Związek pomiędzy otępieniami a deficytem w funkcjonowaniu łańcucha oddechowego odkryli Parker i wsp. [1989]. Wykryli oni zmniejszenie aktywności mitochondrialnego kompleksu I u 10 chorych na chorobę Parkinsona. Lin i wsp. [1992] opisali u 10 z 19 chorych na chorobę Alzheimera dwie mutacje w 5460 nukleotydzie mitochondrialnego DNA w 331 kodonie genu podjednostki ND2 kompleksu I łańcucha oddechowego. Mutacje te to tranzycja GCC na ACC zamieniająca alaninę na treoninę w cząsteczce białka i transwersja GCC na TTC związana z zamianą alaniny na serynę [Lin i wsp. 1992]. Autorzy nie znaleźli tych mutacji w 11 mózgach osób zdrowych. Shoffner i wsp. [1993] analizowali mózgi starszych osób rasy białej, w tym 33 z chorobą Alzheimera, 30 z chorobą Parkinsona i otępieniem, 8 z chorobą Parkinsona bez otępienia i u osób zmarłych z innych powodów. Stwierdzili większą częstość następujących mutacji u osób chorych w porównaniu ze zdrowymi: (a) w nukleotydzie 3397, w którym mutacja zmienia metioninę na inny aminokwas w białku ND1, (b) insercję w genie dla 12s rRNA [Shoffner i wsp. 1993]. Hutchin i wsp. [1995] stwierdzili wyraźny związek pomiędzy obecnością mutacji w 4336 (A→G) nukleotydzie w regionie kodującym tRNA dla kwasu glutaminowego a otępieniem w przebiegu choroby Alzheimera w populacji rasy białej. Szczególne znaczenie mają prace wykrywające związek pomiędzy mutacjami w genach kodujących podjednostki kompleksu IV (oksydazą cytochromu C) a otępieniem, zagadnienie to przybliżył Pietras [1998]. Davis i wsp. [1997, 1998] opisali, że mutacje w genach COI i COII, lecz nie w genie COIII są silnie związane z chorobą Alzheimera o późnym początku i stanowią czynnik ryzyka jej rozwoju. Autorzy stwierdzili, że mutacje w genach mitochondrialnych kodujących podjed-

nostkę pierwszą oksydazy cytochromu C (COI) i podjednostkę drugą (COII) występują u 60% chorych na chorobę Alzheimera i tylko u ok. 20% zdrowych [Davis i wsp. 1997, Davis i wsp. 1998]. Ciekawostką stanowi fakt, że wszystkie dotychczas odkryte mutacje związane z otępieniem dotyczą transbłonowego odcinka łańcucha oddechowego, który jest prawdopodobnie niezbędny dla prawidłowej czynności białka. Mutisya i wsp. [1994] stwierdzili, że w różnych okolicach mózgowia osób zmarłych z powodu otępienia aktywność oksydazy cytochromu C zmniejsza się o 23-35%, przy nieznacznym spadku aktywności pozostałych enzymów łańcucha oddechowego. W ostatnich latach zauważono, że nasilenie otępienia koreluje ze spadkiem aktywności oksydazy cytochromu C w tylnej części zakrętu obręczy [Valla i wsp. 2001]. Hirai i wsp. [2001] potwierdzają wcześniejsze doniesienia, że zmniejszenie aktywności oksydazy cytochromu C występuje równolegle do wzrostu ilości mutacji w mitochondrialnym DNA, bez spadku ilości białek wykrywalnych przy pomocy metod biochemicznych i immunohistochemicznych. Świadczy to o obniżeniu aktywności enzymów i spadku ich sprawności katalitycznej, a nie o upośledzeniu biosyntezy samego białka.

Należy wspomnieć, iż tzw. encefalomiopatie mitochondrialne pojawiające się u ludzi młodych są również związane z mutacjami w mitochondrialnym DNA [Leonard i wsp. 2000a, 2000b]. Zespół Kearnsa-Sayre'a pojawia się przed 20 rokiem życia [Leonard i wsp. 2000a]. Charakteryzuje się oftalmoplegią zewnętrzną, barwnikowym zwyrodnieniem siatkówki, zespołem uszkodzenia mózdzku, zaburzeniami przewodnictwa wewnątrzkomorowego w sercu, niskim wzrostem, cukrzycą, niedoczynnością przytarczyc. Bardzo szybko pojawia się otępienie w młodym wieku. Zespół ten wywołany jest znaczną delecją mitochondrialnego DNA głównie w obszarze kodującym oksydazę cytochromu C. Sporadyczna postępująca

zewnątrzna oftalmoplegia charakteryzuje się opadaniem powiek, proksymalnym osłabieniem kończyn [Leonard i wsp. 2000a] – przebieg choroby jest powolny i pozwala na względnie normalne życie. Zespół Pearsona jest neurologiczną chorobą dzieci przypominającą zespół Kearnsa-Sayre'a z tą różnicą, że pojawia się anemia syderoblastyczna oporna na leczenie, wakuolizacja komórek szpiku, niewydolność szpiku kostnego i niewydolność układu granulocytarnego, a chorzy umierają wskutek posocznicy [Leonard i wsp. 2000a]. Dziedziczny zanik nerwów wzrokowych Lebera (LHON - *Leber's hereditary optic neuropathy*) charakteryzuje się podostrą utratą wzroku pomiędzy 18 a 30 rokiem życia na skutek zaniku nerwów wzrokowych [Leonard i wsp. 2000a]. Pojawia się ataksja mózdkowa, zespół pre-ekscytacji, degeneracja jąder podkorowych. Mutacje typowe dla tego zespołu dotyczą podjednostek kompleksu I łańcucha oddechowego. Padaczka miokloniczna z encefalopatią mitochondrialną (MERRF - *myoclonic epilepsy with ragged-red fibers*) polega na współistnieniu mioklonicznych napadów padaczkowych z miopatią i ataksją mózdkową [Wallace i wsp. 1994, Leonard i wsp. 2000a]. Choroba wywołana jest punktową mutacją w mitochondrialnym DNA nukleotydzie 8344 w genie kodującym tRNA^{Lys} dla lizyny. Encefalopatia mitochondrialna z kwasicą mleczanową i epizodami udaropodobnymi (*MELAS - mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes*) to choroba charakteryzująca się epizodami udaropodobnymi, kwasicą mleczanową, miopatią. Mogą pojawić się drgawki. W przebiegu choroby rozwija się otępienie [Hanna i wsp. 1998, Leonard i wsp. 2000a]. Choroba ta w 80% przypadków spowodowana jest punktową mutacją w mitochondrialnym genie kodującym tRNA^{Leu} dla leucyny [Hanna i wsp. 1998]. Istnieje bardzo duża grupa encefalomiopatii mitochondrialnych związana z nieprawidłowościami w strukturze białek importowanych

do mitochondriów, albowiem większość białek mitochondrialnych kodowana jest przez genom jądrowy [Leonard i wsp. 2000b]. Zagadnienie to jest obszerne i wymaga omówienia w osobnym artykule.

Zastanowić należy się, dlaczego niektóre mutacje w mitochondrialnym DNA są przyczyną chorób u ludzi młodych, a niektóre wywołują otępienie po 60 roku życia. Nie ma jednoznacznej odpowiedzi, lecz wydaje się, że mutacje odziedziczone i bardziej letalne dla organizmu ujawniają się zazwyczaj wcześniej w cyklu życiowym człowieka. Mutacje nieznacznie uszkadzające funkcje mitochondriów lub pojawiające się w komórkach somatycznych na skutek procesów starzenia się ujawniają się dopiero w okresie starości. Mutacje, które są przyczyną otępień w późnym wieku nie zaburzają w sposób istotny energetycznej roli mitochondriów, zmniejszają tylko wydajność procesu. Mutacje te powstają zazwyczaj w liniach somatycznych w organach o intensywnym metabolizmie tlenowym, a do takich należy mózg.

ZWIĄZEK POMIĘDZY NIEPRAWIDŁOWĄ CZYNNIŚCIĄ MITOCHONDRIÓW A ROZWOJEM OTĘPIENIA

Głównym czynnikiem rozwoju otępienia jest starzenie się. W wyniku procesów starzenia zwiększa się częstość mutacji w DNA mitochondrialnym. Mitochondria są organelami o intensywnym metabolizmie tlenowym. Powstające w mitochondriach w warunkach fizjologicznych reaktywne postacie tlenu (*ROS - reactive oxygen species*) wywołują mutacje. Mitochondrialny DNA jest szczególnie narażony na uszkodzenia oksydacyjne, zwłaszcza że nie zabezpieczają go histony i niehistonowe białka chromatyny [Lin i wsp. 2002]. Prace Sohala [1993, 2002] jednoznacznie udowodniły, że wytwarzanie ROS przez mitochondria rośnie z wiekiem. Udowodniono również, że wraz z postępującym starzeniem rośnie liczba mutacji w mi-

tochondrialnym DNA u zwierząt i człowieka [Kang i wsp. 1998, Hamilton i wsp. 2001]. Mutacje w DNA kodującym składniki łańcucha oddechowego lub aparat ich biosyntezy zmniejszają sprawność katalityczną łańcucha oddechowego. Wzrasta wytwarzanie ROS przez kompleks IV (który w warunkach fizjologicznych nie jest źródłem ROS) i przez pozostałe kompleksy łańcucha oddechowego, w tym głównie przez kompleks I [Barrientos i wsp. 1999, de la Monte i wsp. 2000]. Powstaje błędne koło o charakterze sprzężenia zwrotnego dodatniego, gdyż ROS indukując mutacje uszkadzają funkcjonowanie łańcucha oddechowego. Uszkodzone białka łańcucha zwiększają wytwarzanie ROS, co nasila powstawanie nowych mutacji [Harman 2001, Harman 2002]. Sytuację komplikuje fakt, że ROS powstałe wewnątrz mitochondriów inaktywują mitochondrialną DNA polimerazę zależną od DNA, co również sprzyja kolejnym mutacjom w genomie mitochondrialnym [Graziewicz i wsp. 2002].

Zasadniczym pytaniem, na które nie ma wyczerpującej odpowiedzi, jest związek, jaki zachodzi pomiędzy zwiększonym wytwarzaniem ROS przez mitochondria a rozwojem otępienia. Czy istnieje związek przyczynowy pomiędzy stresem oksydacyjnym związanym z uszkodzeniem mitochondriów w mózgu a odkładaniem się złogów białek (beta-amyloidu, synukleiny, białka tau, huntingtontiny) typowych dla procesów neurodegeneracyjnych związanych z otępieniem?

Wykazano, że hybrydy komórkowe komórek zdrowych z umieszczonymi w nich mitochondriami pochodzącymi z mózgow osób chorych na chorobę Alzheimera wykazują tendencję do odkładania złogów beta-amyloidu [Hirai i wsp. 2001]. Badania metodą hybrydyzacji *in situ* wykazały znacznie większą częstość mutacji w mitochondrialnym DNA w mózgach osób chorych niż zdrowych [Hirai i wsp. 2001]. Zmiany dotyczyły płatów czołowych i skroniowych. Ci sami autorzy opisali wzrost aktywności oksydazy cytochromu C w cytoplazmie

u ludzi chorych, co świadczy o wzmożonej przepuszczalności błon mitochondrialnych. Oksydazę cytochromu C i mitochondrialny DNA znaleziono także w złogach białek, w złogach lipofuscyny i w autofagosomach – miejscach odpowiedzialnych za proteolizę. Nadmierne wytwarzanie ROS przez mitochondria wywołuje zmiany morfologiczne tych organelli [Hirai i wsp. 2001], a przy postępującym nasileniu procesu - pęknięcie błon mitochondrialnych. Pęknięte mitochondria uwalniają do cytoplazmy cytochrom C [Hirai i wsp. 2001]. Białko to w komórkach ssaków jest silnym induktorem apoptozy [Ravagnan i wsp. 2002]. Mechanizmami apoptozy - programowanej śmierci komórek - można częściowo wyjaśnić zanik komórek nerwowych w otępieniu [Jellinger 2001]. Apoptoza nie wyjaśnia natomiast powstawania złogów białek. W uszkodzonych mitochondriach otwierają się tzw. megakanaly mitochondrialne, przez które do cytoplazmy przedostaje się cytochrom C, czynnik indukcji apoptozy (AIF - *apoptosis inducing factor*), prokaspazy 2, 3 i 9, reaktywne postacie tlenu, a zwłaszcza H_2O_2 [Grądzka 2000]. Cytochrom C po połączeniu się z białkiem Apaf-1 (*apoptosis protease activating factor-1*) aktywuje kaspazę 9, która wraz z kaspazą 3 uwalnianą z mitochondriów aktywuje czynnik fragmentacji DNA (DFF - *DNA fragmentation factor*) [Grądzka 2000]. AIF i DFF tną jądrowy DNA i bezpośrednio odpowiedzialne są za programowaną śmierć komórki [Grądzka 2000]. W tym miejscu należy podkreślić, że kaspazy uwalniane przez mitochondria to enzymy proteolityczne mogące interferować z innymi enzymami proteolitycznymi, w tym beta i gamma sekretazami. Beta i gamma sekretazy odpowiadają za nieprawidłowe cięcie proteolityczne białka prekursora amyloidu (APP - *amyloide precursor protein*) doprowadzając do wytrącanie się złogów typowych dla choroby Alzheimerera [Behr i wsp. 2002]. Prawdopodobnie na drodze mitochondria/kaspazy/sekretazy istnieje główne połączenie pomię-

dzy patologią mitochondrialną a powstawaniem złogów beta-amyloidu! [Behr i wsp. 2002]. Nieprawidłowe cięcie proteolityczne białka prekursorowego beta-amyloidu to jedynie dobrze udokumentowana biochemiczna teoria powstawania choroby Alzheimerera. Każdy czynnik wpływający na to cięcie (apolipoproteina E4, mutacje w genach kodujących preseniliny, trisomia chromosomu 21, w tym genetyczne uszkodzenie mitochondriów) będzie niezależnym czynnikiem rozwoju otępienia [Combarros i wsp. 2002].

Wytwarzany przez uszkodzone mitochondria H_2O_2 dyfunduje do cytoplazmy. W warunkach fizjologicznych mitochondria są głównym źródłem ROS wewnątrz komórki (anionorodnika ponadtlenkowego O_2^- i H_2O_2) [Lee i wsp. 1997]. Stężenie O_2^- i H_2O_2 utrzymywane jest w komórce ssaków na stałym niskim poziomie dzięki enzymom rozkładającym ROS (dysmutaza ponadtlenkowa, katalaza, peroksydaza glutationowa) i nieenzymatycznym antyutleniaczom [Harman 2002]. Stężenie ROS wynosi 10^{-12} - 10^{-11} M dla O_2^- i 10^{-9} - 10^{-7} M dla H_2O_2 [Harman 2002]. ROS wytwarzane są w mitochondriach głównie przez kompleks I i w znacznie mniejszym stopniu przez kompleks III [Harman 2002]. Kompleks IV katalizuje reakcję bardzo sprawnie bez wytwarzania ROS [Lee i wsp. 1997]. Uszkodzone mitochondria wytwarzają ROS w nadmiarze, głównie przez uszkodzone kompleksy I i IV. ROS z łatwością dyfundują pod postacią H_2O_2 z mitochondriów do cytoplazmy [Vajda 2002]. H_2O_2 indukuje proces peroksydacji lipidów uszkadzający błony i zwiększający napływ wapnia do komórki [Vajda 2002]. Wapń napływający do komórki oddziałuje na fosforylację białek cytoszkieletu, na aktywność receptorów NMDA, aktywuje enzymy proteolityczne zależne od wapnia – kalpajny [Vajda 2002]. Wpływają one, podobnie jak kaspazy, na cięcie proteolityczne białka prekursorowego beta-amyloidu [Vajda 2002]. Produkty peroksydacji lipidów, w tym dialdehyd malonowy i 4-hydro-

ksynonenal reagują z większością makrocząstek w komórce tworząc złogi lipofuscyny [Dei i wsp. 2002]. Udowodniono, że 4-hydroksynonenal oddziałuje na wewnątrzkomórkowe proteasomy wpływając na cięcie proteolityczne i odkładanie się złogów różnych białek [Shringarpure i wsp. 2000]. Inne produkty peroksydacji lipidów, takie jak aldehydy i węglowodory średniołańcuchowe, aktywują lizosomalne i ubikwitynozależne proteiny związane z tworzeniem złogów białek o strukturze beta [Aksenova i wsp. 1999]. H_2O_2 aktywuje ekspresję czynników proapoptotycznych, w tym onkogenu fas/fasL regulującego ekspresję białek związanych z programowaną śmiercią komórki [Kwon i wsp. 2001]. Wpływa on również na aktywność terminalnych kinaz białkowych JNK [Mielke i wsp. 2000], aktywność białkowych kinaz tyrozynowych [Olivieri i wsp. 2002], oraz aktywność powszechnie znanych czynników transkrypcyjnych AP-1 i NF κ pB [Vollgraf i wsp. 1999]. ROS i H_2O_2 reagują ze złogami żelaza w mózgowiu, a szczególnie w jądrach podkorowych, uszkadzając ośrodkowy układ nerwowy, a układ pozapiramidowy w szczególności [Perry i wsp. 2002]. Substancje uszkadzające kompleks I łańcucha oddechowego (wytworzący najwięcej ROS), takie jak MPTP (1-metylo-4-fenilo-1,2,3,6-tetrametylopirydyna) znane są jako toksyny indukujące rozwój choroby Parkinsona i wtórnie otępienia w przebiegu choroby Parkinsona [Riederer i wsp. 2002].

MITOCHONDRIALNY STRES OKSYDACYJNY W OTEPIENIU JAKO NOWY MIKROPARADYGMAT

Podsumowując poprzedni rozdział należy podkreślić, że każdy czynnik i proces, który nasila odkładanie złogów białek, indukuje apoptozę komórek nerwowych i wpływa na cięcie proteolityczne białka prekursorowego amyloidu będzie miał wpływ na powstanie otępienia. Ten nowy paradygmat rozwoju

otępienia łączy z pozoru niespójne teorie, takie jak choćby udział glinu [Dyr 2002], mutacje w genach presenilin i białka prekursorowego amyloidu [Combarros i wsp. 2002], udział apolipoproteiny E4 [Combarros i wsp. 2002], czy mitochondrialny stres oksydacyjny wywołany mutacjami w mitochondrialnym DNA [Davis i wsp. 1997]. Współistnienie apoptozy i odkładania się złogów różnych białek jest „kończącą wspólną drogą” wielu procesów neurodegeneracyjnych związanych z otępieniem. Mikroparadygmat mitochondrialnego stresu oksydacyjnego jako przyczyny chorób neurodegeneracyjnych jest atrakcyjny, gdyż w logiczny sposób wiąże starzenie się z otępieniem. Starzenie się jest najbardziej pewnym czynnikiem ryzyka wystąpienia otępienia [Combarros i wsp. 2002]. Wolnorodnikowa teoria starzenia się w aspekcie uszkodzenia mitochondriów, jest drugą dobrze udokumentowaną empirycznie teorią starzenia się zwierząt, obok teorii teleomerazowo-helikazowej [Sohal 1993, Butterfield i wsp. 2001, Sohal 2002]. Obie teorie starzenia nie są jednak sprzeczne. W progerii (zespole Wernera) na skutek mutacji w genie kodującym helikazę, dochodzi do przedwczesnego starzenia się już w dzieciństwie [Park i wsp. 2001]. Ludzie chorzy na progerię umierają na skutek chorób okresu starczego – udarów, zawałów, nowotworów i otępień [Rosman i wsp. 2001]. Helikaza bierze udział w naprawie DNA stąd jej niedobór sprzyja mutacjom mitochondrialnym i pośrednio rozwojowi otępienia [Graziewicz i wsp. 2002].

Podkreślić należy, że w starzejącym się mózgu głównym źródłem ROS jest łańcuch oddechowy. Inne źródła ROS, takie jak oksydaza NADPH granulocytów czy oksydaza ksantynowa, odgrywają ważną rolę w wyjątkowych sytuacjach. Aktywacja granulocytów ma miejsce w przypadku zapalenia mózgu lub fagocytozy krwinków pourazowych [Shomohama i wsp. 2000]. Aktywacja oksydazy ksantynowej odgrywa kluczową rolę w niedokrwieniu i reperfuzji, co ma

istotne znaczenie w patogenezie otępień naczyniowych lub mieszanych [Canas 1999].

Osobne zagadnienie stanowi stres oksydacyjny indukowany przez powstałe w mózgu złogi białek, w tym beta-amyloidu i synukleiny [Markesbery 1999, Markesbery i wsp. 1999]. Zagadnienie to jest bardzo dobrze udokumentowane. Nie jest ono tematem artykułu. Należy jednak o nim wspomnieć, ponieważ zależności pomiędzy zjawiskami w uszkodzonym mózgu rzadko mają charakter przyczynowo-skutkowy. Częściej są to zjawiska równoległe o wzajemnie zwrotnym wpływie na siebie. Złogi białek indukują same stres oksydacyjny poprzez chelatowanie kationów metali grup przejściowych i ułatwianie im reakcji Fentona z H_2O_2 , [Markesbery 1999, Markesbery i wsp. 1999].

ZAKOŃCZENIE

Powstaje pytanie, czy pojawiający się nowy paradygmat w neuropatologii wpływa na kliniczne myślenie lekarza psychiatry.

Po pierwsze, postawienie tezy, że uszkodzenie mitochondriów prowadzi do otępienia wyznacza kierunki badań podstawowych i klinicznych. Wśród nich są badania nad skutecznością tokoferolu, selegiliny i wyciągu z miłorzębu dwuklapkowego w opóźnianiu rozwoju otępienia. Każdy mikroparadygmat i paradygmat (w ujęciu Khuna) zawoocował w medycynie licznymi osiągnięciami naukowymi i aplikacjami praktycznymi. Osiągnięcia te i aplikacje mogą być trwalsze niż sam paradygmat, którego pojawienie się i zniknięcie stymuluje aktualna wiedza i praktyka społeczna.

Po drugie, rewizja poglądów na temat patogeny jakiegś choroby musi wpłynąć na jej klasyfikację i nazewnictwo. Stworzenie nomotetycznych kategorii klasyfikacyjnych w każdej nauce, a w szczególności w psychiatrii, wymaga żmudnego potwierdzenia korelacji pomiędzy przyczyną choroby a zespołem objawów (fenomenów psychicz-

nych), zweryfikowanych przy pomocy wystandaryzowanych metod diagnostycznych [Vallar 1991]. Jest to oczywiście model idealny, do którego należy dążyć i zarazem niemożliwy do osiągnięcia w praktyce klinicznej. Klasyfikacja ICD-10 otępień już dawno nie odpowiada stanowi współczesnej wiedzy. Np. brak jest w tej klasyfikacji kategorii otępienia z ciałkami Lewy'ego, mimo że jednostka ta jest dobrze scharakteryzowana klinicznie, neuropatologicznie i molekularnie.

I wreszcie, po trzecie, każde zagadnienie dotyczące funkcji poznawczych i ich zaburzeń dotyka bezpośrednio problemów kognitywistyki – nauki o poznaniu świata przez człowieka, nauki o tworzeniu reprezentacji poznawczych w umyśle. Człowieka wyróżnia spośród innych bytów we wszechświecie nie złożoność budowy organizmu czy unikalny niezwykły genom, lecz przede wszystkim wyjątkowa sprawność procesów poznawczych, niezwykła zdolność nadawania tym procesom zabarwienia afektywnego (czego jak dotychczas nie posiadają komputery), rozwój złożonej i niepowtarzalnej osobowości i ostatecznie typowo ludzka zdolność wglądu w procesy psychiczne innego człowieka (tzw. teoria umysłu). Zdolności takiej nie posiada żaden inny organizm.

PIŚMIENNICTWO

1. Adamiak G, Juczyński Z. Zmaganie się ze stresem u opiekunów chorych na chorobę Alzheimera. *Post Psychiatr Neurol* 2002; 11: 71-80.
2. Aksenova MV, Aksenov MY, Markesbery WR, Butterfield DA. Aging in a dish: age-dependent changes of neuronal survival, protein oxidation, and creatine kinase BB expression in long-term hippocampal cell culture. *J Neurosci Res* 1999; 58: 308-17.
3. Barrientos A, Moraes CT. Titrating the effects of mitochondrial complex I impairment in the cell physiology. *J Biol Chem* 1999; 274: 16188-97.

4. Beher D, Wrigley JD, Owens AP, Shearman MS. Generation of C-terminally truncated amyloid-beta peptides is dependent on gamma-secretase activity. *J Neurochem* 2002; 82: 563-75.
5. Burch EA Jr, Andrews SR. Comparison of two cognitive rating scales in medically ill patients. *Int J Psychiatry Med* 1987; 17: 193-200.
6. Butterfield DA, Howard BJ, LaFontaine MA. Brain oxidative stress in animal models of accelerated aging and the age-related neurodegenerative disorders, Alzheimer's disease and Huntington's disease. *Curr Med Chem* 2001, 8: 815-28.
7. Canas PE. The role of xanthine oxidase and the effects of antioxidants in ischemia reperfusion cell injury. *Acta Physiol Pharmacol Ther Latinoam* 1999; 49: 13-20.
8. Combarros O, Alvarez-Arcaya A, Sanchez-Guerra M, Infante J, Berciano J. Candidate gene association studies in sporadic Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2002; 14: 41-54.
9. Davis RE, Miller S, Herrstadt C, Ghosh SS, Fahy E, Shinobu LA, Galasko D, Thal LJ, Beal MF, Howell N, Parker WD Jr. Mutations in mitochondrial cytochrome c oxidase genes segregate with late-onset Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 4526-31.
10. Davis JN 2nd, Parker WD Jr. Evidence that two reports of mtDNA cytochrome c oxidase „mutations” in Alzheimer's disease are based on nDNA pseudogenes of recent evolutionary origin. *Biochem Biophys Res Comm* 1998; 244: 877-83.
11. 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 (Berl)* 2002; 104: 113-22.
12. Dyr W. Toksyczne działanie glinu na układ nerwowy: znaczenie występowania tego pierwiastka w diecie i lekach. *Post Psychiatr Neurol* 2002; 11: 173-8.
13. Graziewicz MA, Day BJ, Copeland WC. The mitochondrial DNA polymerase as a target of oxidative damage. *Nucleic Acids Res* 2002; 30: 2817-24.
14. Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. Mini-mental state: a practical method for grading the state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 1975; 12: 189-98.
15. Grądzka I. Apoptoza: decyzja należy do mitochondriów. *Post Bioch* 2000; 46: 2-16.
16. Hamilton ML, Van Remmen H, Drake JA, Yang H, Guo ZM, Kewitt K, Walter CA, Richardson A. Does oxidative damage to DNA increase with age? *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 10469-74.
17. Hanna MG, Nelson IP, Morgan-Hughes JA, Wood NW. MELAS: a new disease associated mitochondrial DNA mutation and evidence for further genetic heterogeneity. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1998; 65: 512-7.
18. Harman D. Aging: overview. *Ann N Y Acad Sci* 2001; 928: 1-21.
19. Harman D. Alzheimer's disease: role of aging in pathogenesis. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 959: 384-95.
20. Hirai K, Aliev G, Nunomura A, Fujioka H, Russell RL, Atwood CS, Johnson AB, Kress Y, Vinters HV, Tabaton M, Shimohama S, Cash AD, Siedlak SL, Harris PL, Jones PK, Petersen RB, Perry G, Smith MA. Mitochondrial abnormalities in Alzheimer's disease. *J Neurosci* 2001; 21: 3017-23.
21. Hornowska E. Testy psychologiczne. Teoria i praktyka. Warszawa: Wyd Naukowe Scholar; 2001.
22. Huelsenbeck JP, Imennov NS. Geographic origin of human mitochondrial DNA: accommodating phylogenetic uncertainty and model comparison. *Syst Biol* 2002; 51: 155-65.
23. Hutchin T, Cortopassi G. A mitochondrial DNA clone is associated with increased risk for Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 6892-5.
24. Jellinger KA. Cell death mechanisms in neurodegeneration. *J Cell Mol Med* 2001; 5: 1-17.
25. Kang C, Kristal BS, Yu BP. Age-related mitochondrial DNA deletions: effect of dietary restrictions. *Free Radic Biol Med* 1998; 24: 148-54.

26. Kato T. The other, forgotten genome: mitochondrial DNA and mental disorders. *Mol Psychiatry* 2001; 6: 625-33.
27. Krzywiński S. Test rysowania zegara. *Post Psychiatr Neurol* 1995; 4, supl 1(2): 21-30.
28. Kwon D, Choi C, Lee J, Kim KO, Kim JD, Kim SJ, Choi IH. Hydrogen peroxide triggers the expression of Fas/FasL in astrocytoma cell lines and augments apoptosis. *Neuroimmunol* 2001; 113: 1-9.
29. Lee CM, Weindruch R, Aiken JM. Age-associated alterations of the mitochondrial genome. *Free Radic Biol Med* 1997; 22: 1259-69.
30. Leonard JV, Schapira AHV. Mitochondrial respiratory chain disorders I: mitochondrial DNA defects. *Lancet* 2000a; 335: 389-94.
31. Leonard JV, Schapira AHV. Mitochondrial respiratory chain disorders II: neurodegenerative disorders and nuclear gene defects. *Lancet* 2000b; 335: 389-94.
32. Lin FH, Lin R, Wisniewski HM, Hwang YW, Grundke-Iqbal I, Healy-Louie G, Iqbal K. Detection of point mutations in codon 331 of mitochondrial NADH dehydrogenase subunit 2 in Alzheimer's brains. *Biochem Biophys Res Comm* 1992; 182: 238-46.
33. Lin MT, Simon DK, Ahn CH, Kim LM, Beal MF. High aggregate burden of somatic mtDNA point mutations in aging and Alzheimer's disease brain. *Hum Mol Genet* 2002; 11: 133-45.
34. Markesbery WR. The role of oxidative stress in Alzheimer disease. *Arch Neurol* 1999; 56: 1449-52.
35. Markesbery WR, Carney JM. Oxidative alterations in Alzheimer's disease. *Brain Pathol* 1999; 9: 133-46.
36. Mielke K, Damm A, Yang DD, Herdegen T. Selective expression of JNK isoforms and stress-specific JNK activity in different neural cell lines. *Brain Res Mol Brain Res* 2000; 75: 128-37.
37. de la Monte SM, Luong T, Neely TR, Robinson D, Wands JR. Mitochondrial DNA damage as a mechanism of cell loss in Alzheimer's disease. *Lab Invest* 2000; 80: 1323-35.
38. Mutisya EM, Bowling AC, Beal MF. Cortical cytochrome oxidase activity is reduced in Alzheimer's disease. *J Neurochem* 1994; 63: 2179-84.
39. Olivieri G, Otten U, Meier F, Baysang G, Dimitriades-Schmutz B, Muller-Spahn F, Savaskan E. Oxidative stress modulates tyrosine kinase receptor A and p75 receptor (low-affinity nerve growth factor receptor) expression in SHSY5Y neuroblastoma cells. *Neurol Clin Neurophysiol* 2002; 2002-2: 2-10.
40. Park WY, Hwang CI, Kang MJ, Seo JY, Chung JH, Kim YS, Lee JH, Kim H, Kim KA, Yoo HJ, Seo JS. Gene profile of replicative senescence is different from progeria or elderly donor. *Biochem Biophys Res Comm* 2001; 282: 934-9.
41. Parker WD Jr, Boyson SJ, Parks JK. Abnormalities of the electron transport chain in idiopathic Parkinson's disease. *Ann Neurol* 1989; 26: 719-23.
42. Perry G, Sayre LM, Atwood CS, Castellani RJ, Cash AD, Rottkamp CA, Smith MA. The role of iron and copper in the aetiology of neurodegenerative disorders: therapeutic implications. *CNS Drugs* 2002; 16: 339-52.
43. Pietras T. Mutacje w mitochondrialnych genach dla oksydazy cytochromu C jako czynnik ryzyka zespołów otępiennych. *Post Psychiatr Neurol* 1998; 7: 291-7.
44. Puzyński S, Wciórka J. Narzędzia oceny stanu psychicznego. W: Bilikiewicz A, Puzyński S, Rybakowski J, Wciórka J, red. *Psychiatria. Tom I. Podstawy psychiatrii*. Wrocław: Wyd Medyczne Urban & Partner; 2002: 453-526.
45. Ravagnan L, Roumier T, Kroemer G. Mitochondria, the killer organelles and their weapons. *J Cell Physiol* 2002; 192: 131-7.
46. Riederer P, Foley P, Bringmann G, Feineis D, Bruckner R, Gerlach M. Biochemical and pharmacological characterization of 1-trichloromethyl-1,2,3,4-tetrahydro-beta-carboline: a biologically relevant neurotoxin? *Eur J Pharmacol* 2002; 442: 1-16.
47. Rosman NP, Anselm I, Bhadelia RA. Progressive intracranial vascular disease with

- strokes and seizures in a boy with progeria. *J Child Neurol* 2001; 16: 212-5.
48. Sęk H. Wprowadzenie do psychologii klinicznej. Wydawnictwo Naukowe Scholar, Warszawa 2001.
49. Scott JF, Gray CS. Cerebral and systemic pathophysiological responses to acute stroke. *Age Ageing* 2000; 29: 197-202.
50. Shimohama S, Tanino H, Kawakami N, Okamura N, Kodama H, Yamaguchi T, Hayakawa T, Nunomura A, Chiba S, Perry G, Smith MA, Fujimoto S. Activation of NADPH oxidase in Alzheimer's disease brains. *Biochem Biophys Res Comm* 2000; 273: 5-9.
51. Shringarpure R, Grune T, Sitte N, Davies KJ. 4-Hydroxynonenal-modified amyloid-beta peptide inhibits the proteasome: possible importance in Alzheimer's disease. *Cell Mol Life Sci* 2000; 57: 1802-9.
52. Sohal RS. Aging, cytochrome oxidase activity, and hydrogen peroxide release by mitochondria. *Free Radic Biol Med* 1993; 14: 583-8.
53. Sohal RS. Role of oxidative stress and protein oxidation in the aging process (1, 2). *Free Radic Biol Med* 2002; 33: 37-44.
54. Vajda FJ. Neuroprotection and neurodegenerative disease. *J Clin Neurosci* 2002; 9: 4-8.
55. Valla J, Berndt JD, Gonzalez-Lima F. Energy hypometabolism in posterior cingulate cortex of Alzheimer's patients: superficial laminar cytochrome oxidase associated with disease duration. *J Neurosci* 2001; 21: 4923-30.
56. Vallar G. Current methodological issues in human neuropsychology. W: Boller F, Grafman J. *Handbook of neuropsychology*. T. 5. Amsterdam: Elsevier; 1991: 343-78.
57. Vollgraf U, Wegner M, Richter-Landsberg C. Activation of AP-1 and nuclear factor-kappaB transcription factors is involved in hydrogen peroxide-induced apoptotic cell death of oligodendrocytes. *J Neurochem* 1999, 73: 2501-9.
58. Wallace DC, Lott MT, Shoffner JM, Ballinger S. Mitochondrial DNA mutations in epilepsy and neurological disease. *Epilepsia* 1994; 34 (supl): S43-50.
59. Wciórka J. *Psychopatologia*. W: *Psychiatria*. Tom I. Podstawy psychiatrii. Wrocław: Wyd Medyczne Urban & Partner; 2002a: 321-434.
60. Wciórka J. *Klasyfikacja zaburzeń psychicznych*. W: *Psychiatria*. Tom II. *Psychiatria kliniczna*. Wrocław: Wyd Medyczne Urban & Partner; 2002b: 1-41.

Adres: Dr Tadeusz Pietras, Pracownia Gerontologii Kliniki Pneumonologii i Alergologii Akademii Medycznej, ul. Kopcińskiego 22, 90-153 Łódź, tel. (42) 6787505, fax: (42) 6782129