

Praca pogładowa*Review*

MAGDALENA RUDNICKA

Miedź – znaczenie w procesie neurodegeneracji: od mechanizmów molekularnych do strategii terapeutycznych*Copper – involving in neurodegeneration: from molecular mechanisms to therapeutic strategy*

Katedra i Zakład Farmakologii Doświadczalnej i Klinicznej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

STRESZCZENIE

Organizm ludzki do prawidłowego rozwoju i funkcjonowania potrzebuje między innymi jonów miedzi, które uczestniczą w wielu reakcjach enzymatycznych. Zarówno ich nadmiar, jak i niedobór skutkuje zaburzeniem homeostazy komórek, a w konsekwencji całego organizmu. Genetycznie uwarunkowana choroba Wilsona, zaliczana do chorób neurodegeneracyjnych, rozwija się w wyniku nadmiernego gromadzenia się miedzi w organizmie, a nasilenie choroby wiąże się ze stopniem jej nagromadzenia. Sugeruje to, że zaburzenie w gospodarce miedzi wpływa na nasilenie procesów neurodegeneracyjnych. Tematem niniejszej pracy jest wpływ miedzi na rozwój chorób neurodegeneracyjnych, próba zrozumienia mechanizmów molekularnych leżących u podstaw toksyczności Cu w przebiegu neurodegeneracji oraz ewentualne kierunki strategii terapeutycznych w leczeniu chorób neurodegeneracyjnych.

SUMMARY

Human organism for normal grows and functioning needs many various molecules, including metal ions like copper. This transition metal is participating in many chemical reactions in cells. Imbalance in amount of this metal abolished cell's homeostasis and leads to malfunction whole human organism. Inherited disorder, Wilson disease, comes from increased accumulation of copper ions in cells and organism is exposed to copper toxicity. Thus, neurodegenerative process depends on increase of amount of this transition metal ion. This review is focused on copper influence on progression and manifestation of neurodegenerative disorders, discuss molecular mechanisms underlay of copper toxicity and indicate therapeutic strategy that could be used in therapy of neurodegenerative diseases in future.

Słowa kluczowe: miedź, neurodegeneracja, homocysteina

Key words: Copper, neurodegeneration, homocysteine

Rola miedzi w organizmie

Miedź (Cu, cuprum) ze względu na to, że może występować na różnych stopniach utlenienia, uczestniczy w przebiegu reakcji oksydoredukcyjnych, i w komórkach służy jako kofaktor dla wielu ważnych enzymów. Niedobór miedzi i tym samym enzymów zależnych od jej dostępności, odpowiada między innymi za miopatię, ataksję, mielopatię, zaburzenia w tworzeniu tkanki łącznej, depigmentację czy zaburzony rozwój naczyń krwionośnych (Gaetke i Chow, 2003; Linder i Hazegh-Azam, 1996; Pena i wsp., 1999; Brewer, 2007).

Nadmiar miedzi jest tak samo niebezpieczny dla organizmu jak jej niedobór. Jony miedzi są toksyczne dla komórki właśnie przez swój duży potencjał redox: mogą utleniać białka i kwasy nukleinowe, powodować peroksydację lipidów błonowych, stymulować proces powstawania wolnych rodników i w ten sposób wywoływać stres oksydacyjny. W przeciwieństwie do innych metali, takich jak kadm czy cynk, Cu może bezpośrednio katalizować powstawanie rodników hydroksylowych w reakcji Haber-Weiss'a, czy w reakcji Fenton (Gaetke i Chow, 2003; Valko i wsp., 2005; Bremner, 1998). Przykładem jak destrukcyjne dla organizmu

mogą być nadmierne ilości miedzi jest uwarunkowana genetycznie choroba Wilsona (WD, ang. *Wilson Disease*), czyli zwyrodnienie wątrobowo-soczewkowe. W przebiegu tej choroby organizm wystawiony jest na cytotoksyczne działanie jonów miedzi, które nadmierne gromadzą się w komórkach i powodują ich śmierć na drodze apoptozy bądź nekrozy.

Wiadomo, że miedź inicjuje apoptozę w dwojaki sposób: na drodze zależnej i niezależnej od białka p53 (Rana, 2008). Dodatkowo badania na limfocytach potwierdzają, że miedź indukuje apoptozę poprzez generowanie wolnych rodników, co skutkuje depolaryzacją błon mitochondrium, fragmentacją jądra niezależną od NF-kappaB, aktywacją kaspazy3 i czynnika transkrypcyjnego białka p53 (Jimenez i Velez-Pardo, 2004).

W przebiegu choroby Wilsona uszkodzeniu podlegają różne tkanki i narządy w obrębie całego organizmu, w zależności od miejsca gromadzenia się miedzi. W większości przypadków jest to wątroba lub/i ośrodkowy układ nerwowy. Ze względu na obecność postępujących objawów neurologicznych – wynikających z utraty komórek nerwowych – choroba Wilsona może być zaliczana do chorób neurodegeneracyjnych.

Objawy neurologiczne mogą przejawiać się w różnych formach, między innymi: drżenie, gwałtowne ruchy mimowolne kończyn, dystonia lub atetoza, zaburzenia mowy, ataksja, zaburzenia mózdzkowe, zaburzenia chodu i postawy, objawy piramidowe i padaczka, czy obecność pierścienia Kaysera-Fleischera (Brewer, 2000; Taly i wsp., 2007). Możliwe są również zaburzenia psychiczne, takie jak zaburzenia osobowości i zachowania, postępująca regresja intelektualna, czy zaburzenia paranoidalne.

Diagnoza WD opiera się między innymi na nieprawidłowych wynikach badań biochemicznych, które dotyczą parametrów związanych z metabolizmem miedzi. U chorych stwierdza się: obniżone stężenie miedzi i ceruloplazminy (CP, która jest glikoproteiną transportującą Cu w organizmie o aktywności oksydazy i ferrokazy, a której kofaktorem jest miedź) w surowicy, podwyższone stężenie Cu wydalanej z moczem, podwyższone stężenie Cu w wątrobie, brak inkorporacji radioaktywnej miedzi do apoceruloplazminy. Wiadomo, że synteza CP przebiega prawidłowo, natomiast obniżone stężenie czynnej ceruloplazminy w surowicy wynika z zahamowania inkorporacji miedzi do apoceruloplazminy (Sato i Gitlin, 1991).

CHOROBY NEURODEGENERACYJNE

Podstawowym zjawiskiem patologicznym, łączącym wszystkie choroby neurodegeneracyjne, jest

utrata komórek nerwowych. Etiologia tych chorób jest wieloczynnikowa; składają się na nią czynniki środowiskowe oraz predyspozycje genetyczne. Do chorób neurodegeneracyjnych należą m.in. choroba Alzheimera (AD, ang. *Alzheimer Disease*), choroba Parkinsona (PD, ang. *Parkinson Disease*), choroba Huntingtona (HD, ang. *Huntington Disease*), stwardnienie zanikowe boczne (ALS, ang. *Amyotrophic Lateral Sclerosis*), czy stwardnienie rozsiane. Dokładne mechanizmy molekularne, leżące u podstaw neurodegeneracji nie są do końca poznane. Wydaje się jednak, że bardzo duży wpływ na tempo rozwoju chorób neurodegeneracyjnych mają czynniki powodujące powstawanie wolnych rodników, a tym samym zdolne do wywoływania/pogłębiania stresu oksydacyjnego oraz czynniki sprzyjające agregacji na terenie cytoplazmy neuronów patologicznych białek, zaangażowanych w rozwój chorób (jak w przypadku PD, HD i AD złogi białkowe powstają na skutek odkładania się odpowiednio α -synukleiny, huntingtyny i amyloidu beta). Takie patologiczne białka mogą się różnić sekwencją aminokwasową i/lub formą natywną, ale złogi amyloidowe, które tworzą mają podobną strukturę. Mikroskopia elektronowa, rezonans magnetyczny oraz technika dyfrakcji promieniami X wskazuje na wspólne cechy form fibrylarnych (nierozgałęzione, skręcone struktury białkowe bogate w β -kartki, z łańcuchami typu β prostopadłymi do osi fibryli oraz wiązaniami wodorowymi równoległymi do osi fibryli) (Dobson, 2003; Antzutkin i wsp., 2002; Sikorski i wsp., 2003).

WD jest przykładem choroby, gdzie głównym czynnikiem neurodegeneracji jest wpływ nadmiernej ilości jonów miedzi, powodujących śmierć komórek nerwowych. Wiedząc jak destrukcyjny może być nadmiar miedzi w stosunku do komórek nerwowych warto rozważyć jej potencjalny wpływ na inne choroby neurodegeneracyjne: w jaki sposób Cu może modyfikować przebieg i nasilenie tych chorób. Hipotetyczny wpływ miedzi na rozwój neurodegeneracji obejmowałby co najmniej dwa mechanizmy. Pierwszy to uszkodzenia na poziomie komórkowym, spowodowane stresem oksydacyjnym. Na podstawie badań na szczurach wiadomo, że miedź może inicjować uszkodzenia w neuronach dopaminergicznych w obszarze istoty czarnej (*substantia nigra*), poprzez upośledzenie obrony antyoksydacyjnej i promowaniu apoptozy (Yu i wsp., 2008).

Drugi, to promowanie powstawania złogów białkowych na terenie cytoplazmy komórek nerwowych, przyczyniając się do rozwoju chorób neurodegeneracyjnych.

ROLA MIEDZI W ROZWOJU CHORÓB NEURODEGENERACYJNYCH

Całkowitą pulę jonów miedzi w organizmie można podzielić na dwie grupy. Pierwsza grupa jest to pula jonów miedzi biodostępna dla komórek: transportowana z krwią, dostarczana do wnętrza komórek, a następnie wbudowywana do enzymów i białek docelowych. Druga pula natomiast jest to tak zwana „wolna miedź”, niezwiązana z białkami i enzymami, powodująca zniszczenia i włączenie mechanizmów obronnych. W przebiegu chorób neurodegeneracyjnych zaburzona zostaje równowaga pomiędzy ilością miedzi biodostępnej a ilością „wolnej miedzi”. Im większy poziom „wolnej miedzi” tym zakres uszkodzeń w komórkach będzie większy.

CHOROBA ALZHEIMERA

Na podstawie badań sugeruje się, że deficyt miedzi może być jednym z czynników etiologicznych rozwoju choroby Alzheimerera i ALS (Hartmann i Evenson, 1992; Klevay, 2008). Wy tłumaczeniem tego faktu może być właśnie zmniejszona dostępność Cu dla enzymów komórkowych.

Doświadczenia na liniach komórkowych wskazują, że po dodaniu związków chelatujących metale spada aktywność enzymów, których funkcjonowanie zależne jest od obecności jonów miedzi, w tym dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) i oksydazy cytochromu c. Jednocześnie takie komórki wykazują zwiększoną ilość wolnych rodników. Komórki pozbawione miedzi, u których wywołano stres oksydacyjny charakteryzują wyższy stopień apoptozy w porównaniu z komórkami o normalnym stężeniu miedzi (Rossi i wsp., 2001). Długotrwały deficyt miedzi prowadzi do uszkodzeń mitochondrium, stresu oksydacyjnego i w końcu do śmierci na drodze apoptozy (Lombardo i wsp., 2003).

Znacząco niski poziom miedzi zaobserwowano na obszarach wykazujących ciężkie histopatologiczne zaburzenia u chorych na AD: hipokamp i ciało migdałowate, w porównaniu do osób zdrowych w podobnym wieku. Z kolei w mózdzku, obszarze minimalnie dotkniętym przez zmiany AD nie zaobserwowano istotnych zmian w ilościach miedzi, w porównaniu z grupą kontrolną (Deibel i wsp., 1996).

U chorych, u których manifestują się objawy neurodegeneracyjne szczególnie ważne jest ograniczenie tempa powstawania wolnych rodników, ponieważ uważa się, że stres oksydacyjny nasila objawy kliniczne. SOD hamuje powstawanie wolnych rodników

(Gutteridge, 1985), zatem zmniejszona aktywność enzymatyczna tego białka będzie skutkowałą zwiększeniem zakresu zniszczeń oksydacyjnych. Zmniejszona aktywność enzymatyczna SOD w płynie mózgowo-rdzeniowym jest charakterystyczna dla chorób: Alzheimerera, Parkinsona, Huntingtona i ALS – najczęściej występujących chorób neurodegeneracyjnych (Boll i wsp., 2008). Stwierdzono, że doustna suplementacja miedzią nie wywołuje żadnego szkodliwego efektu, czy pogłębiania się objawów choroby u osób z diagnozowaną chorobą Alzheimerera (Kessler i wsp., 2008), zatem mogłaby być wykorzystywana jako jeden z elementów terapii w leczeniu chorób neurodegeneracyjnych. Doświadczenia na mysim modelu choroby Alzheimerera sugerują, że zwiększenie wewnątrzkomórkowej biodostępności miedzi, dostarczanej do organizmu w kompleksach z bis-tiosemikarbazonom, może przywrócić funkcje poznawcze pacjentów przez hamowanie gromadzenia się neurotoksycznych oligomerów amyloidu beta (Crouch i wsp., 2009).

Średnie stężenie „wolnej miedzi” w surowicy krwi jest większe u pacjentów z rozpoznaną chorobą AD w porównaniu z osobami zdrowymi (Squitti i wsp., 2008; Squitti i wsp., 2007). Przywrócenie równowagi w stosunku ilości „wolnej miedzi” do ilości miedzi biodostępnej może być istotnym elementem terapii w przebiegu chorób neurodegeneracyjnych. W 2002 roku przeprowadzono badania z udziałem nielicznej grupy pacjentów z AD, którym podawano D-penicylaminę – związek chelatujący miedź, ten sam który stosuje się w leczeniu WD. Po 6 miesiącach przyjmowania D-penicylaminy u chorych AD zmierzono poziom miedzi i produktów peroksydacji w surowicy. Stwierdzono, że D-penicylamina redukuje zakres uszkodzeń, będących wynikiem stresu oksydacyjnego (Squitti i wsp., 2002). Rezultaty tego badania nie dowodzą ostatecznie skuteczności D-penicylaminy w hamowaniu rozwoju choroby Alzheimerera, ale mogą być potwierdzeniem hipotezy, że jony miedzi wpływają negatywnie na komórki nerwowe, oraz że leczenie związkami chelatującymi metale może okazać się skutecznym sposobem hamowania rozwoju chorób neurodegeneracyjnych. Wiadomo jednak, że niektóre związki chelatujące mogą wykazywać niekorzystne efekty. Na przykład neocuproina (NPC) – błonowy chelator jonów metali w astrocytach, wzmacnia cytotoksyczny efekt endogennej miedzi (ale nie Fe czy Pb) (Chen i wsp., 2008). Zatem niewłaściwie dobrany związek chelatujący mógłby przyczynić się do rozwoju procesu neurodegeneracyjnego zamiast do jego zahamowania.

Amyloid β , którego patologiczna forma jest odpowiedzialna za rozwój AD, posiada miejsca wiązania

dla Zn(II), Cu(II) i Fe(III) (Huang i wsp., 1999). Doświadczenia przy użyciu technik spektroskopowych wykazały, że po związaniu miedzi białko A β podlega strukturalnym zmianom (Syme i wsp., 2004; Ma i wsp., 2006), co potwierdza udział Cu w tworzeniu złogów amyloidowych.

Badania prowadzone na komórkach kory mózgu sugerują, że miedź wiąże się do fragmentu amyloidu β (A β 1-40), co skutkuje zwiększoną produkcją wolnych rodników, prowadzącą do śmierci neuronów. Podanie witaminy E zmniejszało zakres uszkodzeń wywołanych toksycznością kompleksów Cu-A β (Dai i wsp., 2007).

Badania nad białkiem A β wskazują, że złogi złożone z oligomerów A β są bardziej toksyczne od struktur fibrylarnych (Lambert i wsp., 1998; Walsh i wsp., 1999; Hardy i Selkoe, 2002; McLean i wsp., 1999). Uważa się, że istnieje silny związek pomiędzy poziomem rozpuszczalnej frakcji A β a stopniem uszkodzeń neuronów i tym samym zaburzeń poznawczych; nawet niewielkie dawki monomerów czy dimerów A β 42 mogą dramatycznie wpłynąć na utratę przewodnictwa w neuronach (Terry i wsp., 1991; Dickson i wsp., 1995; Roher i wsp., 1996). W jednej z prac autorzy sugerują, że monomeryczna forma białka A β , występująca w płynach fizjologicznych, pełni rolę antyoksydacyjną chroniąc neurony przed uszkodzeniami oksydacyjnymi wywołanymi przez jony metali. W przeciwieństwie do formy monomerycznej, oligomery i agregaty białka A β tracą aktywność protekcyjną (Zou i wsp., 2002).

Możliwe, że pula „wolnej miedzi” przyczynia się do rozpuszczania struktur fibrylarnych A β , natomiast pula „biodostępna” może być zaangażowana w tworzenie tych mniej toksycznych struktur białkowych, zmniejszając w ten sposób zakres uszkodzeń w komórkach.

INNE CHOROBY NEURODEGENERACYJNE

Również w przypadku choroby Parkinsona odkryto, że poziom „wolnej miedzi” w płynie mózgowo-rdzeniowym jest podwyższony i wydaje się być dobrym biomarkerem w diagnozowaniu tej choroby (Boll i wsp., 2008). Ponadto u chorych PD zaobserwowano podwyższony poziom miedzi we krwi (Bocca i wsp., 2006), natomiast obniżony w samej surowicy (Bocca i wsp., 2006; Forte i wsp., 2004), co może być dowodem zaburzonej równowagi pomiędzy poziomem „wolnej miedzi” a miedzi biodostępnej.

U chorych z chorobą Wilsona stosunkowo często rozwija się choroba Parkinsona. W jednej z prac po-

stawiono hipotezę, że osoby ze zmutowanym jednym allelem ATP7B (tak zwani nosiciele WD) są w grupie podwyższonego ryzyka rozwoju PD, ponieważ z powodu częściowo upośledzonej produkcji ceruloplazminy w ich organizmach sukcesywnie gromadzi się miedź, choć wolniej niż w przypadku WD (Johnson, 2001).

Patogenna forma białka prionu PrP^{Sc}, odporna na działanie proteaz, jest odpowiedzialna za występowanie takich chorób neurodegeneracyjnych jak choroba Creutzfeldta-Jakoba, Kuru, czy zespół Gertsmana-Strausslera-Scheinkera (GSS) (Prusiner, 1991). Sugeruje się, że białko prionu (PrP) jest w jakiś sposób zaangażowane w metabolizm miedzi, ponieważ jony miedzi wiążą się do N-końcowego regionu tego białka (Hornshaw i wsp., 1995a; Hornshaw i wsp., 1995b), ponadto PrP ma zdolność przenoszenia miedzi na inne cząstki wiążące Cu (Viles i wsp., 1999). Dodatkowo zaobserwowano, że białko PrP podlega ciągłej internalizacji (Shyng i wsp., 1993); endocytoza PrP stymulowana jest przez Cu, a utrata N-końcowej części chPrP (wiążącej jony miedzi) powoduje obniżoną wydajność tego procesu (Pauly i Harris, 1998). Doświadczenia wykazały, że miedź przywraca oporność na trawienie proteolityczne i infekcyjność cząstek PrP^{Sc}, które wcześniej zostały poddane silnym warunkom denaturującym (McKenzie i wsp., 1998), sugerując udział miedzi w rozwoju chorób neurodegeneracyjnych wywołanych przez priony.

HOMOCYSTEINA JAKO CZYNNIK WZMAGAJĄCY TOKSYCZNOŚĆ MIEDZI

Homocysteina (Hcys), aminokwas siarkowy uczestniczący w organizmie w metabolizmie związków jednowęglowych, jest czynnikiem, który wzmacnia toksyczność miedzi. Doświadczenia na mysich komórkach neuronalnych dowodzą, że proces powstawania wolnych rodników pod wpływem homocysteiny jest specyficzny dla miedzi i zachodzi już przy niskich mikromolarnych stężeniach Cu, natomiast nie zachodzi dla cynku czy żelaza. Homocysteina wzmacnia toksyczność miedzi dzięki zdolności do redukcji Cu (II) do Cu (I) (White i wsp., 2001). Ponadto Hcys generuje powstawanie dużych ilości nadtlenku wodoru w obecności Cu(II) i promuje neurotoksyczność wywołaną obecnością kompleksów Cu-A β (White i wsp., 2001). To sugeruje, że zwiększony poziom Cu i/lub homocysteiny w zaawansowanym wieku może promować znaczące zniszczenia oksydacyjne neuronów i może stanowić dodatkowy czynnik ryzyka rozwoju AD, czy innych zaburzeń neurodegeneracyjnych.

W doświadczeniach prowadzonych na ludzkich komórkach śródbłonna (lina komórkowa ECV304) odkryto, że Hcys w obecności jonów miedzi indukuje efekt cytotoxyczny: utratę zdolności adhezyjnej komórek i apoptozę (Bessede i wsp., 2001). Badania na królikach, w których wywołano warunki hiperhomocysteinemii, pokazały, że homocysteina upośledza zależną od tlenu azotu relaksację ściany naczyń krwionośnych, oraz że miedź nasila ten efekt (Koupparis i wsp., 2006).

Zidentyfikowano homocysteinę w surowicy krwi jako wczesny i czuły marker zaburzeń poznawczych. Wśród pacjentów wykazujących łagodne zaburzenie poznawcze (dysmentia) nie mniej niż 39% miało patologiczny poziom homocysteiny w surowicy, wskazujący na niewystarczający metabolizm związków jednowęglowych (Gottfries i wsp., 1998).

Ustalono, że chorzy ze zdiagnozowaną chorobą Alzheimera posiadali znacznie wyższy poziom homocysteiny w surowicy w porównaniu z grupą kontrolną (McCaddon i wsp., 1998; Miller, 1999). Podwyższony poziom homocysteiny zaobserwowano również u osób ze zdiagnozowaną chorobą Parkinsona (Caccamo i wsp., 20007).

Badania na liniach komórkowych wykazały, że homocysteina w sposób zależny od dawki obniża aktywność oksydazy cytochromu c, jak również indukuje powstawanie wolnych rodników i śmierć komórki na drodze apoptozy. Odkryto, że Hcys wiąże się do jonów miedzi Cu^{2+} , a suplementacja jonów Cu^{2+} przywraca aktywność oksydazy cytochromu c i zapobiega apoptozie (Linnebank i wsp., 2006).

Doświadczenia *in vitro* pokazały, że zarodkowe komórki nerwowe mózdzku – cerebellar granule neurons (CGCs) są odporne na neurotoksyczne działanie homocysteiny, natomiast postnatalne neurony już tej oporności nie posiadają (Foister i wsp., 2005). Dalsze badania nad komórkami prenatalnymi mogą pomóc w ustaleniu nowych kierunków w leczeniu neurodegeneracji.

Obecnie brakuje badań, które jasno określiłyby łączny wpływ Hcys i Cu na nasilenie, ryzyko wystąpienia czy przebieg kliniczny chorób neurodegeneracyjnych.

ROLA WITAMIN UCZESTNICZĄCYCH W METABOLIZMIE HOMOCYSTEINY

Istnieje przekonanie, że suplementacja kwasem foliowym i witaminami z grupy B może w pewnym stopniu ograniczyć tempo rozwoju chorób neurodegeneracyjnych poprzez wspomaganie funkcji enzymów zaangażowanych w metabolizm homocysteiny i zmniejszając jej ilość w komórkach.

Badania na szczurzych hepatocytach wykazały, że komórki z deficytem kwasu foliowego w warunkach podwyższonej ilości Cu są bardziej podatne na śmierć niż komórki z prawidłowym poziomem kwasu foliowego. Wykazano ponadto, że umieranie zachodzi w tym przypadku nie na drodze apoptozy, ale nekrozy, którą poprzedza zwiększenie ilości wolnych rodników i utrata chromosomalnego DNA (Lin i wsp., 2006). Dalsze badania dowiodły, że już po 4 tygodniach diety nie zawierającej kwasu foliowego w mitochondriach szczurzych hepatocytów rozwinęły się objawy stresu oksydacyjnego, co wiązało się z dysfunkcją oksydazy cytochromu c, depolaryzacją błony mitochondrialnej i nadprodukcją wolnych rodników. Poddanie tych komórek działaniu miedzi pogłębiło efekty stresu oksydacyjnego, natomiast suplementacja kwasem foliowym częściowo cofała efekty stresu oksydacyjnego (Chang i wsp., 2007).

Przeprowadzono badania na linii komórkowej uzyskanej z śródbłonna wołu (NM-1), mające na celu sprawdzenie wpływu witaminy B6 na stopień apoptozy komórek wołu, wywołanej obecnością homocysteiny i jonów miedzi. Odkryto, że apoptoza wywołana Hcys i miedzią odbywa się na drodze niezależnej od kaspazy, a przeżywalność komórek w tych warunkach spada do 30% w porównaniu z kontrolą, oraz że witamina B6 ogranicza zasięg tego typu apoptozy, ponieważ jej dodanie przywraca przeżywalność komórek do 60% (Endo i wsp., 2007).

W jednej z opublikowanych prac udowodniono, że obniżony poziom kwasu foliowego był skorelowany z występowaniem depresji, natomiast obniżony poziom witaminy B12 z zaburzeniami poznawczymi (Triantafyllou i wsp., 2007). W jednej z prac znaleziono również powiązanie pomiędzy przyjmowaniem większych ilości kwasu foliowego a mniejszym ryzykiem wystąpienia AD (Jose i wsp., 2007). Natomiast nie stwierdzono związku pomiędzy suplementacją witaminami B6 i B12 a zmniejszonym ryzykiem występowania AD, bez względu na wiek, płeć, rasę, wykształcenie czy funkcje poznawcze (Morris i wsp., 2006).

Kwas foliowy i witaminy z grupy B mogą mieć wpływ na ograniczenie tempa rozwoju chorób neurodegeneracyjnych, chociaż dalsze badania będą niezbędne do potwierdzenia bądź wykluczenia tej hipotezy. Ponadto działanie niektórych witamin nie musi ograniczać się tylko do mechanizmu związanego z metabolizmem homocysteiny. Badania prowadzone przez około 10 lat w populacji, której liczebność wynosiła 5.289 osób powyżej 55. roku życia pokazały, że suplementacja witaminą B6 była skorelowana z rzadszym występowaniem PD, oraz że korelacja ta

dotyczyła osób palących. Nie znaleziono powiązania pomiędzy przyjmowaniem kwasu foliowego czy witaminy B12 a zmniejszonym ryzykiem wystąpienia PD. Autorzy sugerują zatem, że zmniejszone ryzyko wystąpienia PD w grupie osób palących przyjmujących większe ilości witaminy B6 było prawdopodobnie związane z mechanizmem niezależnym od metabolizmu homocysteiny (de Lau i wsp., 2006).

PODSUMOWANIE

W przebiegu chorób neurodegeneracyjnych warto zwrócić większą uwagę na wpływ miedzi na rozwój neurodegeneracji i rozważyć ewentualne strategie terapeutyczne związane ze zmniejszeniem efektów działania „wolnej miedzi” w komórkach oraz przywrócenie dostępności miedzi, zaangażowanej w prawidłowe funkcjonowanie organizmu. Inne strategie terapeutyczne mogą dotyczyć również czynników, wzmagających negatywne działanie miedzi. Wykazano, że homocysteina selektywnie wzmacnia toksyczność miedzi już przy mikromolarnych ilościach Cu (White i wsp., 2001). Hipercysteinemia przy podwyższonych ilościach miedzi może zatem powodować pogłębianie się objawów chorób neurodegeneracyjnych. Być może w przyszłości osiągnięcie normalnego poziomu homocysteiny będzie elementem terapii chorób neurodegeneracyjnych. Oczywiście, dalsze badania będą niezbędne do potwierdzenia bądź wykluczenia powyższych kierunków terapii.

PIŚMIENNICTWO

1. Antzutkin ON, Leapman RD, Balbach JJ, Tycko R. Supramolecular structural constraints on Alzheimer's β -amyloid fibrils from electron microscopy and solid-state nuclear magnetic resonance. *Biochemistry* 2002; 41: 15436–15450.
2. Bessede G, Miguët C, Gambert P, Neel D, Lizard G. Efficiency of homocysteine plus copper in inducing apoptosis is inversely proportional to gamma-glutamyl transpeptidase activity. *FASEB J* 2001; 15: 1927-1940.
3. Bocca B, Alimonti A, Senofonte O, Pino A, Violante N, Petrucci F i wsp. Metal changes in CSF and peripheral compartments of parkinsonian patients. *J Neurol Sci* 2006; 248 (1-2): 23-30.
4. Boll MC, Alcaraz-Zubeldia M, Montes S, Rios C. Free copper, ferroxidase and SOD1 activities, lipid peroxidation and NO(x) content in the CSF. A different marker profile in four neurodegenerative diseases. *Neurochem Res* 2008; 33: 1717-1723.
5. Bremner I. Manifestations of copper excess. *Am J Clin Nutr* 1998; 67: 1069-1073.
6. Brewer GJ. Iron and copper toxicity in diseases of aging, particularly atherosclerosis and Alzheimer's disease. *Exp Biol Med* 2007; 232: 323-335.
7. Brewer GJ. Recognition, diagnosis, and management of Wilson's disease. *Proc Soc Exp Biol Med* 2000; 223: 39-46.
8. Chang CM, Yu CC, Lu HT, Chou YF, Huang RF. Folate deprivation promotes mitochondrial oxidative decay: DNA large deletions, cytochrome c oxidase dysfunction, membrane depolarization and superoxide overproduction in rat liver. *Br J Nutr* 2007; 97: 855-863.
9. Chen SH, Lin JK, Liu SH, Liang YC, Lin-Shiau SY. Apoptosis of cultured astrocytes induced by the copper and neocuproine complex through oxidative stress and JNK activation. *Toxicol Sci* 2008; 102:138-149.
10. Crouch PJ, Hung LW, Adlard PA, Cortes M, Lal V, Filiz G i wsp. Increasing Cu bioavailability inhibits Abeta oligomers and tau phosphorylation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106: 381-386.
11. Dai X, Sun Y, Jiang Z. Protective effects of vitamin E against oxidative damage induced by Abeta1-40Cu(II) complexes. *Acta Biochim Biophys Sin* 2007; 39: 123-130.
12. de Lau LM, Koudstaal PJ, Wittman JC, Hofman A, Breteler MM. Dietary folate, vitamin B12, and vitamin B6 and the risk of Parkinson disease. *Neurology* 2006; 67 (2): 315-318.
13. Deibel MA, Ehmann WD, Markesbery WR. Copper, iron, and zinc imbalances in severely degenerated brain regions in Alzheimer's disease: possible relation to oxidative stress. *J Neurol Sci* 1996; 143: 137-142.
14. Dickson DW, Crystal HA, Bevana C, Honer W, Vincent I, Davies P. Correlations of synaptic and pathological markers with cognition of the elderly. *Neurobiol Aging* 1995; 16: 285–298.
15. Dobson MC. Protein folding and disease: a view from the first horizon symposium. *Nat Drug Discov* 2003; 2: 154–160.
16. Endo N, Nishiyama K, Okabe M, Matsumoto M, Kanouchi H, Oka T. Vitamin B6 suppresses apoptosis of NM-1 bovine endothelial cells induced by homocysteine and copper. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1770: 571-577.
17. Foister NS, Oldreive CE, Mackie JB, Doherty GH. Embryonic cerebellar granule cells are resistant to necrosis induced by homocysteine. *Brain Res Dev Brain Res* 2005; 160: 85-89.
18. Forte G, Bocca B, Senofonte O, Petrucci F, Brusa L, Stanzione P i wsp. Trace and major elements in whole blood, serum, cerebrospinal fluid and urine of patients with Parkinson's disease. *J Neural Transm* 2004; 111 (8): 1031-1040.
19. Gaetke LM., Chow CK. Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients. *Toxicology* 2003; 189: 147-163.
20. Gottfries CG, Lehmann W, Regland B. Early diagnosis of cognitive impairment in the elderly with the focus on Alzheimer's disease. *J Neural Transm* 1998; 105: 773-786.
21. Gutteridge JMC. Superoxide dismutase inhibits the superoxide-driven Fenton reaction at two different levels. *FEBS* 1985; 185: 19-23.
22. Hardy J, Selkoe DJ. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science* 2002; 297: 353–356.
23. Hartmann HA and Evenson MA. Deficiency of copper can cause neuronal degeneration. *Med Hypotheses* 1992; 38: 75-85.
24. Hornshaw MP, McDermott JR, Candy JM, Lakey JH. Copper binding to the N-terminal tandem repeat region of mammalian and avian prion protein: structural studies using synthetic peptides. *Biochem Biophys Res Commun* 1995b; 214: 993-999.
25. Hornshaw MP, McDermott JR, Candy JM. Copper binding to the N-terminal tandem repeat regions of mammalian and avian prion protein. *Biochem Biophys Res Commun* 1995a; 207: 621-629.
26. Huang X, Atwood CS, Hartshorn MA, Multhaup G, Goldstein LE, Scarpa RC i wsp. The A β peptide of Alzheimer's disease directly produces hydrogen peroxide through metal ion reduction. *Biochemistry* 1999; 38: 7609-7616.
27. Jimenez Del Rio M, Velez-Pardo C. Transition metal-induced apoptosis in lymphocytes via hydroxyl radical generation, mitochondria dysfunction, and caspase-3 activation: an in vitro model for neurodegeneration. *Arch Med Res* 2004; 35: 185-193.
28. Johnson S. Is Parkinson's disease the heterozygote form of Wilson's disease: PD=1/2 WD? *Med Hypotheses* 2001; 56: 171-173.
29. Jose A, Luchsinger JA, Tang MX, Miller J, Green R, Mayeux R. Relation of higher folate intake to lower risk of Alzheimer disease in the elderly. *Arch Neurol* 2007; 64: 86-92.

30. Kessler H, Bayer TA, Bach D, Schneider-Axmann T, Supprian T, Herrmann W i wsp. Intake of copper has no effect on cognition in patients with mild Alzheimer's disease: a pilot phase 2 clinical trial. *J Neural Transm* 2008; 115 (8): 1181-1187.
31. Klevay LM. Alzheimer's disease as copper deficiency. *Med Hypotheses* 2008; 70: 802-807.
32. Koupparis AJ, Jeremy J, Angelini G, Persad R, Shukla N. Penicillamine administration reverses the inhibitory effect of hyperhomocysteinaemia on endothelium-dependent relaxation in the corpus cavernosum in the rabbit. *BJU Int* 2006; 98: 440-444.
33. Lambert MP, Barlow AK, Chromy BA, Edwards C, Freed R, Liosatos M i wsp. Diffusible, nonfibrillar ligands derived from A β 1-42 are potent central nervous system neurotoxins. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 6448-6453.
34. Lin HL, Yu CC, Chou YF, Huang RF. Folate deprivation and copper exposure potentiate reactive oxygen species generation and chromosomal DNA loss but not mitochondrial DNA deletions in rat hepatocytes. *Int J Vitam Nutr Res* 2006; 76: 332-340.
35. Linnebank M, Lutz H, Jarre E, Vielhaber S, Noelker C, Struys E i wsp. Binding of copper is a mechanism of homocysteine toxicity leading to COX deficiency and apoptosis in primary neurons, PC12 and SHSY-5Y cells. *Neurobiol Dis* 2006; 23: 725-730.
36. Lombardo MF, Ciriolo MR, Rotilio G, Rossi L. Prolonged copper depletion induces expression of antioxidants and triggers apoptosis in SH-SY5Y neuroblastoma cells. *Cell Mol Life Sci* 2003; 60: 1733-1743.
37. Ma QF, Hu J, Wu WH, Liu HD, Du JT, Fu Y i wsp. Characterization of copper binding to the peptide amyloid-beta(1-16) associated with Alzheimer's disease. *Biopolymers* 2006; 83: 20-31.
38. McCaddon A, Davies G, Hudson P, Tandy S, Cattell H. Total serum homocysteine in senile dementia of Alzheimer type. *Int J Geriatr Psychiatry* 1998; 13: 235-239.
39. McKenzie D, Bartz J, Mirwald J, Olander D, Marsh R, Aiken J. Reversibility of scrapie inactivation is enhanced by copper. *J Biol Chem* 1998; 273: 25545-25547.
40. McLean CA, Cherny RA, Fraser FW, Fuller SJ, Smith MJ, Beyreuther KB i wsp. Soluble pool of A β amyloid as a determinant of severity of neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 1999; 46: 860-866.
41. Miller JW. Homocysteine and Alzheimer's disease. *Nutr Rev* 1999; 57: 126-129.
42. Morris MC, Evans DA, Schneider JA, Tangney CC, Bienias JL, Aggarwal NT. Dietary folate and vitamins B-12 and B-6 not associated with incident Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2006; 9: 435-443.
43. Pauly PC, Harris DA. Copper stimulates endocytosis of the prion protein. *J Biol Chem* 1998; 273: 33107-33110.
44. Pena MMO, Lee J, Thiele DJ. A delicate balance: homeostatic control of copper uptake and distribution. *J Nutr* 1999; 129: 1251-1260.
45. Prusiner SB. Molecular biology of prion diseases. *Science* 1991; 252: 1515-1522.
46. Rana SV. Metals and apoptosis: recent developments. *J Trace Elem Med Biol* 2008; 22: 262-284.
47. Røher AE, Chaney MO, Kuo YM, Webster SD, Stine WB, Haverkamp LJ i wsp. Morphology and toxicity of A β -(1-42) dimer derived from neuritic and vascular amyloid deposits of Alzheimer's disease. *J Biol Chem* 1996; 271: 20631-20635.
48. Rossi L, Marchese E, Lombardo MF, Rotilio G, Ciriolo MR. Increased susceptibility of copper-deficient neuroblastoma cells to oxidative stress-mediated apoptosis. *Free Radic Biol Med* 2001; 30: 1177-1187.
49. Sato M, Gitlin JD. Mechanisms of copper incorporation during the biosynthesis of human ceruloplasmin. *J Biol Chem* 1991; 266: 5128-5134.
50. Shyng SL, Huber MT, Harris DA. A prion protein cycles between the cell surface and an endocytic compartment in cultured neuroblastoma cells. *J Biol Chem* 1993; 268: 15922-15928.
51. Sikorski P, Atkins EDT, Serpell LC. Structure and texture of fibrous crystals formed by Alzheimer's A β (11-25) peptide fragment. *Structure* 2003; 11: 915-926.
52. Squitti R, Ouattrocchi CC, Salustri C, Rossini PM. Ceruloplasmin fragmentation is implicated in "free" copper deregulation of Alzheimer's disease. *Prion* 2008; 2: 23-27.
53. Squitti R, Rossini PM, Cassetta E, Moffa F, Pasqualetti P, Cortesi M i wsp. D-penicillamine reduces serum oxidative stress in Alzheimer's disease patients. *Eur J Clin Invest* 2002; 32: 51-59.
54. Squitti R, Ventriglia M, Barbati G, Cassetta E, Ferreri F, Dal Forno G i wsp. "Free" copper in serum of Alzheimer's patients correlates with markers of liver function. *J Neural Transm* 2007; 114: 1589-1594.
55. Syme CD, Nadal RC, Rigby SE, Viles JH. Copper binding to the amyloid-beta (A β) peptide associated with Alzheimer's disease: folding, coordination geometry, pH dependence, stoichiometry, and affinity of A β -(1-28): insights from a range of complementary spectroscopic techniques. *J Biol Chem* 2004; 279: 18169-18177.
56. Taly AB, Meenakshi-Sundaram S, Sinha S, Swamy HS, Arunodaya GR. Wilson disease: description of 282 patients evaluated over 3 decades. *Medicine (Baltimore)* 2007; 86: 112-121.
57. Terry RD, Masliah E, Salmon DP, Butters N, DeTeresa R, Hill R i wsp. Physical basis of cognitive alterations in Alzheimer's disease: synapse loss is the major correlate of cognitive impairment. *Ann Neurol* 1991; 30: 572-580.
58. Triantafyllou NI, Nikolaou C, Boufidou F, Angelopoulos E, Rentzos M, Kararizou E i wsp. Folate and vitamin B12 levels in levodopa-treated Parkinson's disease patients: their relationship to clinical manifestations, mood and cognition. *Parkinsonism Relat Disord* 2007; 14: 321-325.
59. Valko M, Morris H, Cronin MT. Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr Med Chem* 2005; 12: 1161-1208.
60. Viles JH, Cohen FE, Prusiner SB, Goodin DB, Wright PE, Dyson HJ. Copper binding to the prion protein: structural implications of four identical cooperative binding sites. *PNAS* 1999; 96: 2042-2047.
61. Walsh DM, Hartley DM, Kusumoto Y, Fozouy Y, Condron MM, Lomakin A i wsp. Amyloid β protein fibrillogenesis: structure and biological activity of protofibrillar intermediates. *J Biol Chem* 1999; 274: 25945-25952.
62. White AR, Huang X, Jobling MF, Barrow CJ, Beyreuther K, Masters CL i wsp. Homocysteine potentiates copper- and amyloid beta peptide-mediated toxicity in primary neuronal cultures: possible risk factors in the Alzheimer's-type neurodegenerative pathways. *J Neurochem* 2001; 76: 1509-1520.
63. Yu WR, Jiang H, Wang J, Xie JX. Copper (Cu²⁺) induces degeneration of dopaminergic neurons in the nigrostriatal system of rats. *Neurosci Bull* 2008; 24: 73-78.
64. Zou K, Gong JS, Yanagisawa K, Michikawa M. A novel function of monomeric amyloid beta-protein serving as antioxidant molecule against metal-induced oxidative damage. *J Neurosci* 2002; 22: 4833-4841.

Adres korespondencyjny:

Magdalena Rudnicka

ul. Czerwonych Beretów 10/18, 00-910 Warszawa

tel. 604 221 626, e-mail: rudnicka.magdalena@gmail.com