

DYSFUNKCJE MITOCHONDRIOW W CHOROBAH NEURODEGENERACYJNYCH: POTENCJALNY PUNKT UCHWYTU DLA LEKÓW NEUROPROTEKCYJNYCH*

MITOCHONDRIAL DYSFUNCTIONS IN NEURODEGENERATIVE
DISEASES: POTENTIAL TARGET FOR NEUROPROTECTIVE DRUGS

Anna GRĘDA, Danuta JANTAS

Zakład Neuroendokrynologii Doświadczalnej, Instytut Farmakologii PAN, Kraków

Streszczenie: Mitochondria są kluczowymi organellami dla przeżycia i śmierci komórki. Dysfunkcje mitochondriów, w których działaniu przeważa generacja sygnałów apoptotycznych, towarzyszą patogenezie wielu chorób neurodegeneracyjnych, zarówno tym o przebiegu ostrym (np. niedokrwienny udar mózgu, urazy mechaniczne) jak i chronicznym (np. choroba Alzheimera, choroba Parkinsona, choroba Huntingtona, stwardnienie boczne zanikowe). Funkcje mitochondriów mogą być bezpośrednio i pośrednio modulowane przez czynniki patologiczne towarzyszące chorobom neurodegeneracyjnym. Na uwagę zasługują głównie interakcje mitochondriów z agregatami zmutowanych białek (np. β -amyloid, białko tau, α -synukleina, zmutowana Huntingtona). Głównymi symptomami nieprawidłowego funkcjonowania mitochondriów są: 1) niewydolność energetyczna tkanki objętej zmianami chorobowymi; 2) spadek aktywności kompleksów łańcucha transportu elektronów; 3) nadprodukcja wolnych rodników tlenowych; 4) zaburzenie komórkowej homeostazy jonów Ca^{2+} ; 5) uwolnienie czynników pro-apoptotycznych (np. cyt. c) czy 6) zaburzenia procesów biogenezy mitochondriów. Dokładniejsze zrozumienie funkcjonowania tych organelli oraz przyczyn ich dysfunkcji może umożliwić rozwój strategii ochronnych, zarówno farmakologicznych, jak i nefarmakologicznych. Badania nad narzędziami neuroprotekcijnymi umożliwiają zdobycie wiedzy prowadzącej do rozwoju nowych metod zapobiegania i leczenia chorób neurodegeneracyjnych.

Słowa kluczowe: apoptoza mitochondrialna, neuroprotekcja, megakanal mitochondrialny, restrykcja kaloryczna, resveratrol, antyoksydanty

Summary: Mitochondria play an essential role in the regulation of both cell survival and death. The irregularities of mitochondrial activity cause cells or all tissue dysfunction, can lead to insufficient energy supply. Consequently the mitochondrial perturbations can lead to cell death. In a broader spectrum of the mitochondrial dysfunction contribute to the pathogenesis of multiple neurodegenerative diseases including acute (e.g. ischemic stroke) and chronic disorders (Alzheimer's disease, Parkinson's disease, Huntington's disease, amyotrophic lateral sclerosis). Function of mitochondria can be in direct and/or indirect way interrupted by pathological factors, such as

* Artykuł jest skróconą wersją pracy licencjackiej Anny Grędy - studentki III roku neurobiologii UJ, wykonanej w roku akademickim 2010/2011 w Zakładzie Neuroendokrynologii Doświadczalnej Instytutu Farmakologii PAN pod opieką naukową dr Danuty Jantas

aggregates of misfolded mutant proteins (e.g. β -amyloid, tau protein, α -synuclein and mutant huntingtin), which affect cell functions and disrupt cell homeostasis. The main symptoms of mitochondrial dysfunction are: 1) insufficient energy supply and imbalance of ATP/ADP; 2) electron transport chain (ETC) activity reduction; 3) reactive oxygen species (ROS) overproduction; 4) Ca^{2+} overload; 5) release of pro-apoptotic factors (e.g. cyt.c) and 6) deregulations in mitochondrial biogenesis process. Understanding the molecular mechanism of mitochondrial dysfunction in particular neurodegenerative diseases can lead to discovery of new therapeutic approaches (pharmacological and non-pharmacological) aimed to stop or delay neuronal degeneration.

Key words: mitochondrial apoptosis, neuroprotection, mitochondria permeability transition pore, caloric restriction, resveratrol, antioxidants

WSTĘP

Wraz z postępowaniem nauki i medycyny wydłuża się życie ludzi. Obok niezaprzeczalnych korzyści wynikających z rozwoju osiągnięć badawczych tych dziedzin, pojawia się również problem - ujawnianie się chorób wieku starczego. Liczba osób dożywających późnego wieku wzrasta, a wraz z tą liczbą wzrasta również liczba pacjentów dotkniętych schorzeniami ujawniającymi się wraz z wiekiem, szczególnie chorobami neurodegeneracyjnymi (np. choroba Alzheimera, choroba Parkinsona). W 2010 roku liczba pacjentów cierpiących tylko na chorobę Alzheimera wyniosła w przybliżeniu 35,6 milionów osób na całym świecie, w krajach Europy około 10 milionów, natomiast w samych Stanach Zjednoczonych choroba ta dotknęła około 5 milionów pacjentów. Szacuje się, że w 2050 roku liczba ta wzrośnie do 115 milionów [23]. W patogenezie chorób neurodegeneracyjnych, zarówno tych o przebiegu ostrym (np. niedokrwieny udar mózgu, urazy mechaniczne mózgu i rdzenia kręgowego), jak i chronicznym (np. choroba Alzheimera, choroba Parkinsona, choroba Huntingtona, stwardnienie boczne zanikowe) podkreśla się rolę zaburzeń w prawidłowym funkcjonowaniu mitochondriów [14, 19], prowadzących w końcowym etapie do generacji sygnałów apoptotycznych i śmierci komórek nerwowych (tab.1).

Rola mitochondriów w komórce

Mitochondria są kluczowymi organellami dla przeżycia i śmierci komórki, a ich pochodzenie, powstanie podwójnej błony oraz częściową niezależność tłumaczy teoria endosymbiotyczna. Organelle te charakteryzuje duża dynamika – nieustannie podlegają one procesowi biogenezy, w którym uczestniczy wiele białek umożliwiających zajście fuzji oraz rozszczepienia tych organelli, a których mutacje, nieprawidłowości strukturalne, bądź niekontrolowane inaktywacje powodują szereg chorób organizmu (np. neuropatie aksonalne) [16, 43, 67]. W wewnętrznej błonie mitochondrialnej zlokalizowany jest łańcuch transportu elektronów (ETC, ang. *Electron Transfer Chain*), który stanowi podłoże procesu oksydacyjnej fosforylacji i produkcji ATP, głównego źródła energii chemicznej

w komórce [72]. Dodatkowo, kompleks I oraz III są głównym miejscem powstawania anionorodnika ponadtlennowego ($O_2\bullet$), silnie reaktywnej cząsteczki, która indukuje powstanie reaktywnych form tlenu (ROS, ang. *Reactive Oxygen Species*), peroksydację błon lipidowych oraz produkcję toksycznego 4-hydroksynonenalu (4-HNE) [63, 68]. Z drugiej jednak strony ROS pełnią istotne funkcje sygnałowe i uczestniczą w tworzeniu wielu związków (np. prostaglandyn, leukotrienów). Mitochondria biorą udział nie tylko w sygnalizacji typu redox, ale również w regulacji wewnętrznej homeostazy jonów wapnia (Ca^{2+}) [72].

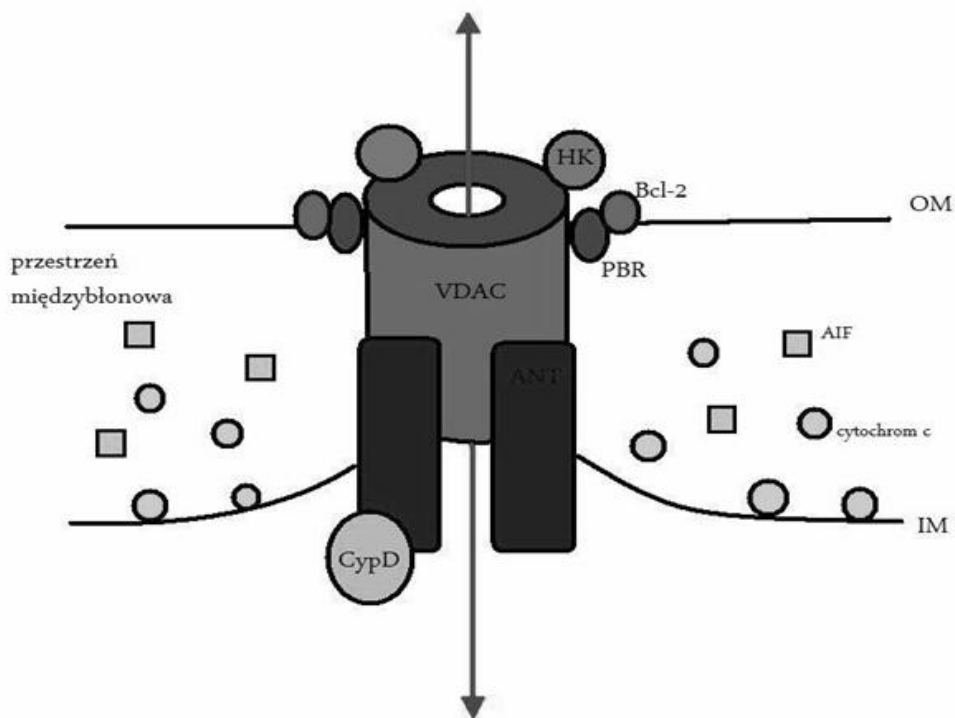
TABELA 1. Symptomy dysfunkcji mitochondriów
TABLE 1. Symptoms of mitochondria dysfunction

GLÓWNE SYMPTOMY NIEPRAWIDŁOWEGO DZIAŁANIA MITOCHONDRIÓW
niewydolność energetyczna tkanki objętej zmianami chorobowymi spadek aktywności kompleksów ETC wzrost aktywności kompleksu I oraz III ETC nadprodukcja wolnych rodników tlenowych zaburzenie komórkowej homeostazy jonów Ca^{2+} stymulacja czynników pro-apoptotycznych uwolnienie cytochromu c apoptoza komórek zaburzenie procesów biogenezy mitochondriów

Mitochondrialna ścieżka apoptotyczna

W aspekcie chorób neurodegeneracyjnych należy pamiętać, że mitochondria pełnią istotną rolę w procesie śmierci komórek nerwowych, zarówno tej związanej z powstawaniem szybkich zmian martwiczych (nekrotycznych, ang. *necrosis*), jak i tej powolnej na drodze apoptotycznej. Mitochondria stanowią kluczowy punkt dla przebiegu programowanej śmierci komórki (PCD, ang. *Programmed Cell Death*) głównie poprzez aktywację szlaku apoptozy wewnątrzkomórkowej (tzw. szlak mitochondrialny). Dzieje się tak na skutek wzrostu przepuszczalności błony mitochondrialnej (MMP, ang. *Mitochondrial Membrane Permeabilization*) wywołanej np. nadprodukcją ROS, bądź przeciążenia organelli jonami Ca^{2+} na skutek ich wzmożonego wychwytu z cytoplazmy [10, 19, 44]. Procesy te są bezpośrednio związane z powstaniem w błonie mitochondrialnej megakanałów o wysokiej przepuszczalności (MPTP, ang. *Mitochondria Permeability Transition Pore*), które pozwalają jonom i małym molekułom na swobodne przemieszczanie się zgodnie z ich gradientami stężeń, powodując ostatecznie rozproszenie potencjału mitochondrialnego i przerwanie ciągłości mitochondrialnej błony zewnętrznej. Kompleks megakanału mitochondrialnego ma złożoną budowę (ryc.1), gdzie zasadniczymi elementami składowymi jest translokaza nukleotydów

adeninowych (ANT, ang. *Adenine Nucleotide Translocase*) oraz cyklofilina D (CypD, ang. *Cyclophilin D*).



RYCINA 1. Megakanał mitochondrialny
FIGURE 1. Mitochondrial permeability transition pore; MPTP

Oprócz tego, w regulacji powstawania i funkcji MPTP bierze udział wiele innych białek, takich jak: mitochondrialna kinaza kreatynowa (MtCK, ang. *Mitochondrial Creatine Kinase*), mitochondrialna heksokinaza (HK), obwodowy receptor benzodiazepinowy (PBR, ang. *Peripheral Benzodiazepine Receptor*), a także anty-apoptotyczne (Bcl-2, Bcl-XL) i pro-apoptotyczne (Bax, Bak, Bim, Bid, PUMA, NOXA, Bad) białka z rodziny Bcl-2 [10, 19, 44]. Szczególną rolę w regulacji mitochondrialnej ścieżki apoptotycznej odgrywają pro- i anty-apoptotyczne białka z rodziny Bcl-2. W zdrowych komórkach nieaktywne postacie białek Bax i Bak obecne są, odpowiednio, w cytozolu oraz luźno związane z zewnętrzną błoną mitochondrialną. W warunkach sprzyjających apoptozie cząsteczki te podlegają modyfikacjom konformacyjnym, w efekcie których zostają w całości wbudowane w obręb zewnętrznej błony mitochondrialnej, gdzie tworzą kanały o wysokiej przepuszczalności. Natomiast białka Bim i Bid posiadają zdolność aktywacji białek Bax oraz Bak i wspierają proces formowania przez nie porów. Do grupy białek pro-apoptotycznych należą również takie białka jak:

PUMA, NOXA i Bad, które z kolei dokonują sekwestracji anty-apoptotycznych białek Bcl-2 i Bcl-X_L, co ułatwia białkom pro-apoptotycznym spełnianie swojej funkcji. Anty-apoptotyczne białka Bcl-2 i Bcl-X_L są stabilnie ulokowane w błonach wewnątrzkomórkowych organelli, takich jak zewnętrzna błona mitochondrialna czy siateczka śródplazmatyczna (ER, ang. *Endoplasmatic Reticulum*), gdzie bezpośrednio i pośrednio hamują powstawanie oraz funkcjonowanie megakanalu mitochondrialnego. Działanie to przejawia się sekwestracją pro-apoptotycznych członków rodziny białek Bcl-2, hamującym oddziaływaniem na elementy składowe budujące MPTP oraz wpływaniem na magazynowanie jonów wapnia przez ER [19]. Konsekwencją zwiększenia przepuszczalności błony mitochondrialnej jest uwolnienie do cytoplazmy mitochondrialnych białek pro-apoptotycznych, takich jak: cytochrom c (cyt. c), SMAC/DIABLO, HTRA2/OMI, AIF (ang. *Apoptosis Inducing Factor*), endonukleaza G. Uwolniony z przestrzeni międzybłonowej mitochondriów cyt. c oddziałuje z białkiem APAF-1 (ang. *Apoptotic Peptidase (protease) Activating Factor 1*) i zmieniając jego konformację prowadzi do powstania kompleksu apoptosomu, który aktywuje kaspazę-9 (enzym inicjatorowy w przebiegu tzw. kaskady kaspaz), a ta kolejno aktywuje kaspazy wykonawcze (kaspaza-3, -6 i -7). Istnieje połączenie (ang. *cross talk*) pomiędzy zewnątrzkomórkową ścieżką apoptotyczną (związaną z aktywacją receptora śmierci np. receptor FAS) a ścieżką mitochondrialną, poprzez białko Bid, którego powstała na skutek działalności proteolitycznej kaspazy-8 cięta forma (tBid) wchodzi w interakcję z innymi białkami formującymi pory mitochondrialne [10]. Kaspazy wykonawcze, jako enzymy proteolityczne, przeprowadzają kataboliczną fazę śmierci komórki, polegającą na rozcinaniu białkowych substratów znajdujących się na terenie komórki. Jednym z substratów kaspazy-3 jest endonukleaza CAD (ang. *Caspase Activated DNase*), która prowadzi do cięcia pofragmentowanego DNA na tzw. odcinki oligonukleosomalne (ok. 180 bp), będące typowym znacznikiem procesu apoptotycznego [59]. Liczba substratów kaspaz nie jest w pełni znana, ale przypuszcza się, że ok. 0.5% do 5% wszystkich białek oddziałuje z tymi enzymami [10, 19]. W ten sposób białkowe substraty kaspaz różnymi drogami (aktywacja kaskad proteolitycznych, inaktywacja systemów naprawczych, uszkodzenia DNA) przyczyniają się do powstawania apoptotycznego fenotypu komórki, którego morfologicznymi markerami są: oligonukleosomalna fragmentacja DNA, wytworzenie ciałek apoptotycznych oraz przemieszczenie fosfatydyloseryny na zewnątrz błony komórkowej [10, 41]. Inne czynniki pro-apoptotyczne uwolnione z mitochondriów, takie jak białka SMAC i HTRA2, hamują działanie endogennych inhibitorów białek apoptotycznych, w tym inhibitorów kaspaz (IAPs, ang. *Inhibitors of Apoptosis Proteins*) [19]. W tym punkcie należy podkreślić że, w warunkach stresu siateczki śródplazmatycznej może dochodzić do indukcji tzw. ER-zależnej wewnątrzkomórkowej ścieżki apoptotycznej poprzez aktywację kolejno kaspazy-12, kaspazy-3 i następczymi zmianami prowadzącymi w ostateczności do unicestwienia komórki na drodze apoptozy [10]. Na szczególne podkreślenie

zasługuje również rola protoonkogenu p53 w regulacji procesów apoptotycznych, który oprócz swojej działalności transkrypcyjnej na terenie jądra komórkowego (np. regulacja ekspresji Bax, Bcl-2, Bcl-xL, Puma, Noxa) może bezpośrednio wpływać na przepuszczalność błony mitochondrialnej poprzez fizyczną interakcję z białkami Bax i Bak [41].

Oprócz mechanizmów apoptotycznych zależnych od aktywacji kaspazy-3, w przebiegu programowanej śmierci komórek mamy również całą grupę mechanizmów niezależnych od kaspazy-3, które są ściśle powiązane z mitochondriami. Do takich czynników należą uwolniony z mitochondriów czynnik AIF i endonukleaza G, które po przemieszczeniu do jądra komórkowego prowadzą bezpośrednio do kondensacji chromatyny i jej fragmentacji na odcinki ok. 50 kbp (tzw. ang. *large-scale DNA fragmentation*) [10, 70]. AIF jest mitochondrialną flawoproteiną, gdzie pełni fizjologiczną funkcję w utrzymaniu właściwej bioenergetyki komórki [70]. Z drugiej strony, po uwolnieniu z mitochondriów na skutek zadziałania czynników niekorzystnych (np. procesu ekscytotoksyczności czy czynników alkilujących DNA), jest istotnym elementem wykonawczym procesu *parthanatos* czyli PARP-1 (ang. *Poly-(ADP-Ribose) Polymerase 1*) - zależnej śmierci komórki [10, 70, 71, 74]. Na proces ten składa się aktywacja na terenie jądra komórkowego enzymu PARP-1 prowadzącego kolejno do formowania polimerów PAR, które to po przemieszczeniu do mitochondriów powodują uwolnienie AIF, jego translokację do jądra komórkowego i wywołanie wielkocząsteczkowej fragmentacji DNA. *Parthanatos* jest zasadniczo różniącym się od apoptozy procesem śmierci komórki, którego charakterystycznymi elementami jest brak aktywacji kaspazy-3, tworzenia się ciałek apoptotycznych oraz oligonukleosomalnej fragmentacji DNA. W zjawisku tym nie obserwuje się również typowego dla obrazu nekrozy obrzmienia komórek, czy też charakterystycznej dla przebiegu autofagii autofagosomalnej wakuolizacji cytoplazmy i lizosomalnej degradacji elementów komórkowych. W *parthanatos* obserwuje się przemieszczenie fosfatydyloseryny na zewnątrz błony komórkowej, spadek potencjału mitochondrialnego, uwolnienie AIF i kondensację chromatyny na odcinki ok. 50 kbp [70, 74]. Istnieją również doniesienia, że czynnik AIF może być uwalniany z mitochondriów poprzez zależne od wapnia enzymy proteolityczne, kalpajny. Jednakże, dokładne molekularne mechanizmy tego zjawiska, jak również możliwe interakcje z PARP-1 wymagają dalszych badań szczególnie w obliczu hipotezy, że te elementy przebiegu procesu śmierci komórek mogą być nowym punktem uchwytu dla terapii wielu schorzeń neurologicznych [70].

DYSFUNKCJE MITOCHONDRIÓW W CHOROBAH NEURODEGENERACYJNYCH

Funkcje mitochondriów mogą być bezpośrednio i pośrednio modulowane poprzez czynniki patologiczne towarzyszące chorobom neurodegeneracyjnym. Mutacje genetyczne mogą upośledzać budowę i działanie kompleksów oddechowych oraz innych białek znajdujących się na terenie mitochondriów, wpływając tym samym niekorzystnie na sprawne funkcjonowanie tych organelli i utrzymanie homeostazy komórki [11, 44]. Ciekawy wydaje się również rozwijany przez niektórych badaczy pogląd, iż mutacje w mitochondrialnym DNA i dysfunkcje mitochondriów mogą wraz z innymi czynnikami, w tym środowiskowymi, prowadzić do zapoczątkowania i propagacji procesu zwyrodnieniowego oraz że nie są one specyficznie związane z określonym typem choroby neurodegeneracyjnej. Ważne wydaje się postrzeganie mitochondriów jako zintegrowanego, subkomórkowego systemu wykazującego złożony system transportu i cechującego się wysoką dynamiką, którego prawidłowe funkcjonowanie jest niezbędne do zachowania homeostazy komórki [16]. Tym samym nieprawidłowości procesu fosforylacji oksydacyjnej, działania ETC nie są przyczyną zmian degeneracyjnych neuronów, ale objawem zaburzenia działania całego złożonego systemu mitochondrialnego. Model ten tłumaczy również wybiórcze obumieranie grup neuronów w różnych chorobach neurodegeneracyjnych – jako odzwierciedlenie różnej wrażliwości komórek określonego typu na stany patologiczne, zarówno związane z wewnątrzkomórkową homeostazą, jak i szkodliwymi sygnałami z środowiska [62].

Patologiczne agregaty białkowe a funkcja mitochondriów

Szczególną rolę w rozwoju chorób neurodegeneracyjnych przypisuje się interakcji mitochondriów z agregatami zmutowanych białek [28, 43, 67]. Nieprawidłowo sfałdowane białka – β -amyloid i białko tau (τ) pełniące kluczową rolę w patogenezie choroby Alzheimera (AD), α -synukleina w chorobie Parkinsona (PD), zmutowana huntingtyna (mHtt) w chorobie Huntingtona (HD) czy zmutowana dysmutaza nadmanganowa w stwardnieniu bocznym zanikowym (ALS), wpływają na funkcjonowanie organelli komórkowych, w tym mitochondriów. Zakłócając ich działanie zaburzają homeostazę całej komórki, w następstwie czego może dochodzić do indukcji procesów apoptotycznych (tab.2).

Beta-amyloid i białko τ w AD

Choroba Alzheimera jest jedną z głównych i najczęściej występujących chorób neurodegeneracyjnych. Szacuje się, że jest ona drugą główną przyczyną śmierci

osób w podeszłym wieku. AD wywołana jest postępującą, progresywną dysfunkcją połączeń synaptycznych, po której następuje obumarcie neuronów w obszarach mózgu kluczowych dla procesu uczenia się i pamięci. Do regionów objętych procesem degeneracji należy przede wszystkim hipokamp (*hippocampus*), węchomózgowie (*rhinencephalon*) oraz kora czołowa (*frontal cortex*). Za główną przyczynę histopatologiczną AD uważa się zewnątrzkomórkowe nagromadzenie β -amyloidowych ($A\beta$, ang. *amyloid β -peptide*) płytek oraz tworzenie wewnątrzkomórkowych splotów neurofibrylarnych, będących agregatami hiperfosforylowanego białka tau (ang. *τ -protein*) związanego z mikrotubulami [43].

TABELA 2. Zaburzenia funkcji mitochondriów towarzyszące chorobom neurodegeneracyjnym
TABLE 2. Mitochondrial dysfunctions occurring in neurodegenerative diseases

	aktywność ETC	aktywność kompleksu I i III ETC	produkcja ROS	homeostaza Ca^{2+}	stymulacja czynników apoptotycznych	uwolnienie cytochromu c
niedokrwienny udar mózgu	↓	↓	↑	zaburzona	↑	tak
choroba Alzheimer (AD)	↓	↑	↑	zaburzona	↑	tak
choroba Parkinson (PD)	↓	↓	↑	zaburzona	↑	tak
choroba Huntington (HD)	↓	↓	↑	zaburzona	↑	tak
stwardnienie boczne zanikowe (ALS)	↓	↓	↑	zaburzona	↑	tak

Badania nad interakcją β -amyloidu z kanałem MPTP w chorobie AD, wykazały oddziaływanie amyloidu z wchodzącymi w jego skład translokazą nukleotydów adeninowych oraz z cyklofiliną D, przy czym wskazywano na silniejsze jego połączenie z translokazą [72]. Wykazano także bezpośrednie działanie β -amyloidu na łańcuch oddechowy, prowadząc do zaburzenia funkcji ETC, aczkolwiek dokładny mechanizm pozostaje wciąż niejasny. Badania sugerują oddziaływanie β -amyloidu z łańcuchem α syntazy ATP, co jest zgodne z doniesieniami, iż do modyfikacji tego elementu łańcucha dochodzi w degenerujących neuronach podczas rozwoju AD. Natomiast konsekwencją tej modyfikacji jest zmniejszona wydajność transportu elektronów, rozważana w aspekcie zmniejszonej produkcji ATP. Inne wyniki ujawniły także spadek aktywności oksydazy cytochromu c oraz wzrost aktywności reduktazy cytochromu

c, czyli kompleksu trzeciego, będącego jednym z głównych źródeł powstawania rodnika nadtlenkowego. Stan ten, przy znacznie obniżonej wydajności systemów antyoksydacyjnych komórki, a w szczególności niedoboru mitochondrialnej dysmutazy nadtlenkowej prowadzi do przedwczesnej indukcji apoptozy [68]. Również białko τ , budujące cytoszkielet komórek nerwowych, łączone jest z patogenezą choroby Alzheimera. Częsteczka ta z jednej strony zapewnia komórkom odpowiednią stabilność i dynamikę, regulując kształt neuronów i ich polarność, z drugiej strony zaburzenia strukturalne tej molekuly, zmieniające jej funkcje, pociągają za sobą poważnie szkodliwe konsekwencje. I tak, hiperfosforylacja białka τ , obserwowana w mózgach chorych na AD, prowadzi do nieprawidłowej, szkodliwej agregacji cząsteczek oraz destabilizacji włókien cytoszkieletu. Akumulacja tego białka wewnątrz neuronu blokuje wewnątrzkomórkowy transport zarówno białek, substancji odżywczych jak i czynników troficznych. Dotyczy to również aksonów, w których może dojść do zjawiska tzw. „zagłodzenia synaps” (ang. *starvation of synapses*), podczas którego aksonalny transport mitochondriów, zarówno anterogradalny jak i retrogradalny, zostaje zahamowany, a wraz z nim dochodzi do deficytu energetycznego w tym obszarze. Badacze jako inne potencjalnie uszkadzające działanie białka τ wskazują dysfunkcję łańcucha oddechowego i związaną z nią nadmierną produkcją wolnych rodników [68].

Zmutowana huntingtyna (mHtt) w HD

Choroba Huntingtona wywołwana jest mutacją dynamiczną genu kodującego białko huntingtinę (Htt), w której dochodzi do zwielokrotnienia liczby trójek nukleotydowych kodujących glutaminę (CAG) powyżej trzydziestu pięciu w obszarze końca aminowego (mHtt). Choroba HD należy do chorób neurodegeneracyjnych, a jej występowanie szacuje się na 5-10 przypadków chorych na 100 tysięcy osób. Kliniczne objawy pojawiają się zazwyczaj pomiędzy 30 a 40 rokiem życia, ale odnotowano również przypadki zarówno wcześniejszego, jak i późniejszego rozpoczęcia choroby. W HD dochodzi do progresywnej utraty neuronów GABAergicznym (GABA, kwas γ -aminomasłowy) z rejonu prążkowiec (ang. *striatum*) oraz kory mózgowej. Objawy choroby nasilają się wraz z degeneracją komórek nerwowych i obejmują występowanie mimowolnych ruchów płasawicznych, utratę masy ciała, zaburzenia funkcji poznawczych oraz demencję. Powszechne są również zaburzenia psychiczne, takie jak depresja, stany lękowe, czy nadpobudliwość. Choroba Huntingtona jest chorobą śmiertelną, a pacjenci najczęściej przeżywają od 15 do 20 lat od momentu jej rozpoczęcia [28, 48].

Sugeruje się, że mechanizm działania nieprawidłowej huntingtyny na mitochondria może być dwojakiemu rodzaju. Białko to może bezpośrednio wpływać na funkcje tych organelli, poprzez oddziaływania z białkami zlokalizowanymi w błonie mitochondrialnej (np. VDAC, MFN2). Natomiast

modyfikacje przeprowadzane przez mHtt na poziomie ekspresji genów jądrowych kodujących białka kierowane do mitochondriów oraz uruchamianie modyfikacji białek importowanych na obszar tych organelli, zaliczane są do mechanizmów pośrednich. Dla przykładu wykazano, że mHtt posiada zdolność wiązania z koaktywatorem CBP, który jest białkiem wiążącym białko CREB (ang. *CREB-binding protein*). CREB odpowiada między innymi za regulację produkcji białek łańcucha oddechowego – oksydazy cytochromowej oraz cyt. c. Pod kontrolą CREB znajduje się natomiast transkrypcyjny koaktywator PGC-1 α (ang. *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor [PPAR]- γ coactivator 1 α*), wiążący się z czynnikami transkrypcyjnymi regulującymi ekspresję białek mitochondrialnych kodowanych przez genom jądrowy. mHtt może również bezpośrednio oddziaływać z zewnętrzną błoną mitochondrium, gdzie powstające agregaty tego białka mogą wywoływać jej destabilizację, prowadząc do nagromadzenia wapnia oraz uwolnienia mitochondrialnych czynników pro-apoptotycznych. W tym wypadku mechanizm toksycznego działania mHtt polegałby na uruchamianiu zmian strukturalnych białek obecnych w błonie, co z kolei zwiększałoby ich wrażliwość w warunkach stresu oksydacyjnego. Białkami zlokalizowanymi w zewnętrznej błonie mitochondrialnej i mogącymi być nastawione na tego typu modulacje są mitofuzyny (MFN1 oraz MFN2), odpowiedzialne za regulację fuzji mitochondriów, a także białko Fis1 kontrolujące proces podziału. Wykazano, że w istocie mHtt posiada zdolność wiązania się z MFN2, co może prowadzić do nieprawidłowego działania tego białka, wzrostu częstości podziałów mitochondriów i egzekucji apoptozy. Przypuszcza się również, że DRP1 (ang. *Dynamin-Related Protein 1*) może wchodzić w skład kompleksu tworzonego przez mHtt. W ten sposób zmutowana huntingtyna modulowałaby mechanizmy podziału tych organelli, przyczyniając się do zaburzenia dynamiki tych struktur [16, 48].

Zmutowana Cu/Zn-SOD w ALS

Stwardnienie boczne zanikowe (ALS), nazywane również chorobą Charcota lub chorobą Lou Gehriga, charakteryzuje postępująca dysfunkcja nerwowo-mięśniowa, objawiająca się osłabieniem mięśni i ich zanikiem (ang. *muscular atrophy*), spastycznością (ang. *spasticity*), a niekiedy również paraliżem (ang. *paralysis*). Choroba ta dotyka rocznie dwie osoby na milion i częściej występuje u mężczyzn niż kobiet (1,7:1). Pierwsze objawy najczęściej pojawiają się między 50 a 70 rokiem życia. Za główną przyczynę choroby uznaje się degenerację dolnych neuronów ruchowych, czyli motoneuronów znajdujących się w rogu przednim (brzusznym) rdzenia kręgowego (ang. *ventral horn of the spinal cord*) oraz w jądrach czaszkowych nerwów ruchowych w pniu mózgu (ang. *brainstem cranial nerve*). ALS jest chorobą nieuleczalną, a pacjenci dożywają 3-5 lat od czasu jej rozpoczęcia. Większość, bo około 90% rozpoznawanych przypadków stanowią formy sporadyczne (*SALS*). Rodzinna odmiana stwardnienia bocznego zanikowego (*FALS*) wywołana jest dziedziczeniem mutacjami w obrębie genu kodującego dysmutazę ponadtlenkową Cu/Zn-SOD (*SOD1/ALS1*), genu Alsin

(ALS2), genu TDP-43 oraz w obrębie innych, jeszcze nie do końca zidentyfikowanych genów [43; 73].

Badania nad zmutowaną formą dysmutazy ponadtlenkowej SOD, wykazują nieprawidłowości w sposobie fałdowania cząsteczki, tendencji do tworzenia przez nią agregatów oraz niekorzystne interakcje tego białka z błonami mitochondriów. Agregaty zmutowanego białka akumulują się w mitochondriach, zarówno w obszarze zewnętrznej błony jak i w macierzy, wywołują ciężkie zniszczenia grzebieni tych organelli obserwowane w neuronach ruchowych rdzenia kręgowego i tym samym bezpośrednio uszkadzają ich prawidłowe działanie [73]. Oddziaływania te mogą być przyczyną nadprodukcji ROS, wywołaną zmianami w potencjale błonowym organelli. Przy czym zmiany w funkcjonowaniu mitochondriów obserwowane są nie tylko w neuronach ruchowych, ale również w towarzyszącym im astrocytom, co dodatkowo potęguje toksyczne działanie zmutowanej Cu/Zn-SOD [44].

Zaburzenia mitochondrialne w PD

Choroba Parkinsona jest najbardziej powszechnym zaburzeniem ruchowym o podłożu neurodegeneracyjnym. Szacuje się, że PD obecnie dotyczy ok. 2% naszej populacji powyżej 60 roku życia. Obecnie na całym świecie na tą chorobę cierpi około 10 milionów osób, w Europie liczbę tą szacuje się na 1,2 miliony, a w Stanach Zjednoczonych na 50 tysięcy. Najczęstszymi i najbardziej charakterystycznymi symptomami schorzenia są dysfunkcje motoryczne, do których należy drżenie spoczynkowe (ang. *resting tremor*), postępująca sztywność ruchowa (ang. *rigidity*), spowolnienie ruchowe (ang. *bradykinesia*) oraz niestabilność postawy (ang. *postural instability*). Objawy chorobowe wynikają bezpośrednio z postępującej utraty neuronów dopaminergicznych w rejonie części zbitej istoty czarnej śródmózgowia (*substantia nigra pars compacta*), co prowadzi do spadku wydzielania dopaminy (DA) w obszarze prążkowiec oraz do degeneracji neuronów dopaminergicznych w tym obszarze [41, 43, 52, 66].

Najszerzej udokumentowany eksperymentalnie i klinicznie jest udział zaburzeń mitochondrialnych w patogenezie choroby Parkinsona. Charakterystyczna w obrazie neuronów degenerujących w PD głównie w części zbitej substancji czarnej (*substantia nigra pars compacta*) jest obecność tak zwanych ciał Lewy'ego (LBs, ang. *Lewy Bodies*), zawierających przede wszystkim złoże α -synukleiny (SNCA, ang. *α -synuclein*) w części presynaptycznej neuronów. Oprócz tego, w skład tych agregatów białkowych wchodzi: ubikwityna, α -B krystalina (ang. *α -B crystallin*), APP (ang. *Amyloid Precursor Protein*), MAP-5 (ang. *Microtubule Associated Protein-5*), kompleks proteosomu oraz ufosforylowana forma białka I κ B α (pI κ B α) [52; 66]. Sprawą dyskusyjną pozostaje rola tych agregatów w patogenezie PD, ponieważ sugerowana jest zarówno ich toksyczna, jak i cytoprotekcyjna rola [66]. Najczęściej z chorobą Parkinsona łączony jest spadek

poziomu aktywności mitochondrialnego kompleksu I, czyli dehydrogenazy NADH. Kompleks ten może zostać uszkodzony zarówno w wyniku działania wolnych rodników, jak i złego składowania białek wchodzących w skład budujących go podjednostek. Uszkodzenia kompleksu I łańcucha oddechowego są obserwowane u pacjentów PD, zarówno w obrębie mitochondriów neuronów dopaminergicznych istoty czarnej, jak i w limfocytach, płytkach krwi oraz w tkance mięśni szkieletowych [14]. Co więcej, jako czynniki eksperymentalne do modelowania choroby Parkinsona u zwierząt stosowane są toksyny mitochondrialne będące inhibitorami kompleksu I łańcucha oddechowego, takie jak: rotenon, MPTP (1-metylo-4-fenilo-1,2,3,6-tetrahydropirydyna) czy 6-hydroksydopamina (6-OHDA). Konsekwencją tej inhibicji jest indukowany przez mitochondria stres oksydacyjny, wynikający z zaburzenia równowagi pomiędzy produkcją ROS i działaniem endogennych systemów antyoksydacyjnych, mogący prowadzić w konsekwencji do śmierci tych komórek [11]. Eksperymenty przeprowadzone *in vivo* z użyciem toksyn mitochondrialnych wywołały degenerację neuronów istoty czarnej, prowadzącą do uzyskania u badanych zwierząt symptomów PD. Podobne obserwacje wyciągnięto pracując na szczepie myszy „MitoPark”, posiadających defekt genu kodującego mitochondrialny czynnik transkrypcyjny A (*TFAM*, ang. *Mitochondrial Transcription Factor A*) [15].

W genetycznych formach PD wykryto, że przyczyną choroby mogą być dziedziczone dominująco autosomalnie mutacje w obrębie genów kodujących SNCA i LRRK2 (ang. *Leucine-Rich Repeat Kinase 2*). Natomiast w odmianach rodzinnych PD dziedziczonych w sposób recesywny autosomalny i ujawniających się we wcześniejszym wieku, łączy się z mutacjami genów PARK2 (ang. *Parkinson disease (autosomal recessive, juvenile) 2; parkina*), PARK7 (DJ-1, ang. *Parkinson disease (autosomal recessive, early onset) 7*) oraz PINK1 (ang. *PTEN-Induced Putative Kinase 1*). Również wśród rodzin dotkniętych genetyczną formą tej choroby często opisywany jest udział mutacji w obrębie HTRA2, genu kodującego mitochondrialną proteazę serynową, aczkolwiek związek pomiędzy mutacją tego genu a etiologią PD nadal pozostaje sprawą dyskusyjną [44, 49]. Powyższe mutacje genetyczne bezpośrednio lub pośrednio łączone są z białkami mitochondrialnymi i ich funkcją. LRRK2 oraz SNCA występują częściowo w mitochondriach, natomiast PINK1 jest mitochondrialną kinazą serynowo-treoninową, chroniącą komórki przed odpowiedzią stresową indukowaną dysfunkcją mitochondriów. Białko to, wraz z parkiną bierze również udział w regulacji morfologii i dynamiki tych organelli, poprzez oddziaływanie z białkami zarządzającymi procesami mitochondrialnej fuzji i podziału. Wykazano w badaniach prowadzonych *in vitro*, że w warunkach utraty przez mitochondria potencjału błonowego parkina zostaje rekrutowana do dysfunkcyjnych organelli, które w następnej kolejności zostają selektywnie wyeliminowane na drodze autofagii. Białko to jest elementem kompleksu ligazy ubikwityny E3, w którego skład wchodzi również PINK1 oraz DJ-1, a jego funkcja polega na wspomaganianiu

ubikwitynacji i degradacji niesfałdowanych, bądź nieprawidłowo sfaldowanych białek [44, 49, 57]. Takim sposobem parkina, związana z błonami mitochondriów, może chronić te organelle przed otwarciem kanału MPTP i uwolnieniem czynników pro-apoptycznych do cytozolu, i tym samym hamować proces apoptozy. DJ-1 stanowi białko opiekuńcze (ang. *chaperone*) stabilizujące kompleks I łańcucha oddechowego i chroniące mitochondria przed stresem oksydacyjnym. W warunkach stresu cząsteczka ta ulega translokacji z cytozolu do mitochondriów, gdzie zapobiega agregacji α -synukleiny.

HTRA2 syntetyzowane jest w postaci nieaktywnego prekursora zawierającego mitochondrialną sekwencję docelową. W warunkach odpowiedzi stresowej białko MEKK-p38 inicjuje szlak kinaz prowadzący do zaktywowania HTRA2 poprzez jego fosforylację zależną od PINK1. Przypuszcza się, że proces tej przemiany może być również wspomagany przez mitochondrialną protezę PARL. Następnie zaktywowana cząsteczka zostaje przetransportowana do przestrzeni międzybłonowej, gdzie oddziałuje z białkiem Hax-1, związanym z rodziną białek Bcl-2. W miejscu tym białko pełni funkcje anty-apoptyczne, zapobiegając oligomeryzacji aktywnych form Bax i ich wbudowania w zewnętrzną błonę mitochondrialną, jak również zaangażowane jest w degradację nieprawidłowo sfaldowanych białek [47, 55]. Białko HTRA2 wraz z PINK1 uważane są za składowe tej samej ścieżki sygnalizacyjnej, kontrolującej prawidłowe funkcjonowanie mitochondriów [49].

Uważa się, że białkowe agregaty w obrębie ciał degenerujących neuronów istoty czarnej odgrywają kluczową rolę w patogenezie choroby Parkinsona. Jakkolwiek nadal pozostaje w sferze dociekań kwestia, czy istnieje, a jeżeli tak to na jakich zasadach, zbieżność pomiędzy obserwowanymi zaburzeniami w funkcji mitochondriów, a występowaniem wewnątrzkomórkowych ciał Lewy'ego. Okazuje się bowiem, że oprócz cytozolowej lokalizacji tego białka, może ono także pełnić pewną rolę w mitochondriach, gdzie miałyby oddziaływać z elementami je budującymi. Pogląd ten wspierają badania prowadzone na transgenicznym myszach z nokautem dzikiej lub nadekspresją zmutowanej formy SNCA, u których zaobserwowano szereg nieprawidłowości w strukturze i funkcji mitochondriów. Myszy pozbawione tego białka wykazywały odporność na działanie toksyny mitochondrialnej MPTP, podczas gdy zwierzęta z nadekspresją zmutowanej α -synukleiny, nie przejawiały tej odporności [49]. Z kolei badania przeprowadzone na modelu *Drosophila melanogaster* ujawniły powiązania pomiędzy α -synukleina a PINK1. Ubytek PINK1 prowadził do wzrostu powstawania α -synukleinowych agregatów, podczas gdy nadekspresja PINK1 była w stanie znieść chorobowy fenotyp. Co więcej, eksperymenty pokazały również, że w warunkach stresu oksydacyjnego w obrębie tych struktur komórkowych zwiększa się ilość białka opiekuńczego DJ-1, co z kolei ma zapobiegać powstawaniu białkowych agregatów i hamować toksyczne działanie α -synukleiny. Jednakże mechanizmy odpowiedzialne za te procesy nie są do końca wyjaśnione [49].

STRATEGIE NEUROPROTEKCYJNE ANGAŻUJĄCE POPRAWĘ FUNKCJONOWANIA MITOCHONDRIÓW

Strategie neuroprotekcyjne skierowane na mitochondria opierają się na działaniach terapeutycznych, które mają na celu poradzenie sobie bezpośrednio z dysfunkcyjnymi mitochondriami oraz zwalczenie konsekwencji niesionych przez nieprawidłową morfologię i zaburzone działanie tych organelli [65]. „Medycyna mitochondrialna” (ang. „*mitochondrial medicine*”) skupia się głównie na przywracaniu równowagi w procesach wewnątrzkomórkowych angażujących mitochondria, które to są zakłócone w wyniku procesu chorobowego.

Strategie podnoszące wydajność ETC

Jednym z możliwych sposobów łagodzenia konsekwencji dysfunkcji mitochondriów są działania mające na celu podniesienie wydajności mitochondrialnego łańcucha elektronów i zwiększenie produkcji ATP. W tym celu mogą być stosowane witaminowe suplementy zawierające witaminy B (ryboflawina (ang. *riboflavin*, B2), niacyna (ang. *niacin*, B3), tiamina (ang. *thiamine*, B1), dostarczające molekuł będących donorami elektronów, bądź kofaktorów reakcji biochemicznych. Z kolei tiamina, kwas liponowy (ang. *lipoic acid*) i dichlorooctan (ang. *dichloroacetate*) podnoszą aktywność dehydrogenazy pirogronianu i tym samym podnoszą poziom koenzymu A (CoA). Również stosowanie acetylokarnityny (ang. *acetyl carnitine*), ciał ketonowych betahydroksymaślanu (ang. *ketone body betahydroxybutyrate*) oraz innych ulepszonych donorów acetylu, takich jak ketogeniczny związek AC-1202, korzystnie moduluje przebieg cyklu Krebsa (cykl kwasu cytrynowego), ułatwiając wytwarzanie i magazynowanie energii [65].

Na szeroką skalę stosuje się różnego typu antyoksydanty, redukujące ilość ROS w tkankach. Należą do nich zarówno witamina C, witamina E, β -karoteny, czy koenzym Q10 (CoQ10) oraz jego rozpuszczalny analog idebenon (ang. *idebenone*). Wprowadza się również unowocześnione przeciwutleniacze takie jak MitoQ, zawierający koenzym Q sprzężony z kationem trójfenylowgo alkilu fosfonowego. Poza tym zwraca się uwagę na działanie antyoksydacyjne tioredoksyn (Trx), czy kwasu liponowego, obecnego w mitochondriach i będącego koenzymem dehydrogenazy bursztynianowej oraz dehydrogenazy α -ketoglutaranowej [65].

W aspekcie działań mających na celu podniesienie wydajności mitochondrialnego łańcucha elektronów i zwiększenie produkcji ATP bada się L-karnitynę (ang. *L-Carnitine*), acetylo-L-karnitynę (ALC, ang. *Acetylo-L-Carnitine*) oraz kreatynę (ang. *creatine*). L-karnityna jest związkiem egzogennym, przyjmowanym wraz z pokarmem i zawarta jest głównie w czerwonym mięsie. Możliwa jest również synteza tego związku w organizmie z aminokwasów lizyny

i metioniny w wątrobie, nerkach i mózgu. Rola L-karnityny zarówno pochodzenia endogennego i egzogennego polega na ułatwianiu transportu kwasów tłuszczowych do mitochondriów [18]. Następnie, związek ten może ulec acetylacji w jelicie gryzoni oraz ludzi. ALC wpływa korzystnie na działanie mitochondrialnego łańcucha oddechowego, podnosząc jego aktywność, co z kolei pozwala na wytworzenie większej ilości ATP [58]. Korzystny wpływ ALC na funkcjonowanie neuronów badano eksperymentalnie w odniesieniu do ALS [54], choroby Alzheimera [11, 19, 58] czy choroby Huntingtona [69]. Z kolei kreatyna, będąca azotowym związkiem guanidyny, ulegając enzymatycznej fosforylacji, przechodzi w formę fizjologicznie aktywną – fosfokreatynę. Równowaga pomiędzy obiema formami tego związku jest regulowana przez działanie mitochondrialnej kinazy kreatynowej. System ten ma również za zadanie utrzymać wysoki stosunek ATP/ADP [12]. Obecnie działanie neuroprotektoryjne kreatyny jest testowane w III fazie badań klinicznych u pacjentów z chorobą Huntingtona oraz z chorobą Parkinsona [7].

Leki hamujące mitochondrialną ścieżkę apoptotyczną

Innym sposobem neuroprotekcji jest hamowanie indukcji wewnątrzkomórkowej ścieżki apoptozy, które może być osiągnięte poprzez zablokowanie działania białek pro-apoptotycznych, białek wchodzących w skład megakanalu mitochondrialnego oraz zahamowanie aktywności kaspaz. Na szczególną uwagę zasługują związki blokujące komponenty MPTP, które zapobiegają tworzeniu się kanału, spadkowi potencjału mitochondrialnego oraz zajściu zjawiska uprzepuszczelniania błony mitochondrialnej. Do tej grupy należy lek immunosupresyjny – cyklosporyna A (ang. *cyclosporine A*) stosowany od wielu lat w transplantologii i schorzeniach reumatycznych [53, 65]. Związek ten posiada zdolność hamowania składowej MPTP, cyklofiliny D, zapobiegając równocześnie obrzmieniu mitochondriów i uwalnianiu cyt. c. Jego skuteczność neuroprotektoryjną wykazano w wielu badaniach eksperymentalnych, szczególnie korzystnie działanie ma ten związek w modelach ostrych uszkodzeń mózgu (ischemia, TBI) i rdzenia kręgowego oraz w innych schorzeniach neurologicznych (PD, AD, HD, stwardnienie rozsiane (MS, ang. *Multiple Sclerosis*)) [53]. CsA była również testowana w badaniach klinicznych TBI i udaru mózgu, jednakże pomimo obiecujących działań ochronnych, związek ten cechuje się wieloma działaniami niepożądanymi (np. nefrotoksyczność, nadciśnienie, wpływ na enzymy wątrobowe), które to dyskwalifikują ten lek jako potencjalny neuroprotektant. Dlatego też, w fazie badań eksperymentalnych poszukiwane są analogi cyklosporyny z korzystniejszym profilem działania farmakologicznego [53]. Innym obiecującym lekiem neuroprotektoryjnym wydaje się być antybiotyk należący do grupy tetracyklin trzeciej generacji – minocyklina (ang. *minocycline*) [56, 65]. Związek ten działa neuroprotektoryjnie w wielu modelach przedklinicznych chorób

neurodegeneracyjnych (udar mózgu, TBI, SCI, AD, HD, PD, MS), a jego skuteczność jest związana ze złożonym mechanizmem działania w obręb którego wchodzi jego właściwości przeciwzapalne, anty-apoptotyczne oraz antyoksydacyjne [56]. Szczególnie ważny w aspekcie działania ochronnego na komórki nerwowe wydaje się być wpływ minocykliny na mitochondria, gdzie zapobiega ona przeciążeniu tych organelli jonami Ca^{2+} , stabilizuje potencjał mitochondrialny i zapobiega kolejno uwalnianiu cyt. c i aktywacji kaskady kaspaz. W mechanizmie działania ochronnego minocykliny znajduje się również wpływ na ekspresję anty-apoptotycznego białka Bcl-2, które to działa ochronnie na wiele składowych procesu śmierci komórki [56]. W badaniach przedklinicznych i klinicznych wykazano zarówno neuroprotektoryjne jak i neurotoksyczne działanie minocykliny, wynikające głównie z jej złożonego mechanizmu działania. Dlatego też do jej stosowania jako leku neuroprotektoryjnego, istotnym wydaje się określenie ściślejszej dawki, jak i okna terapeutycznego, gdyż te parametry okazuje się być zróżnicowane w różnych typach chorób neurozwyrodnieniowych [56]. Innym interesującym przykładem potencjalnego leku neuroprotektoryjnego o działaniu angażującym mitochondria jest dimebolin (*dimebolin, letrepirdine*) [60, 65]. Lek ten był stosowany w Rosji jako lek przeciwhistaminowy, a obecnie w wielu badaniach przedklinicznych wykazuje bardzo korzystne efekty w modelach AD, jest również badany w kierunku działania terapeutycznego w HD. W złożonym mechanizmie działania tego związku, podkreśla się jego hamujący wpływ na kanały mitochondrialne [60]. Lek ten jest obecnie w fazie badań klinicznych demencji, wykazując dobry poziom bezpieczeństwa pod względem możliwych działań niepożądanych [60].

Obecnie szeroko bada się leki stosowane od wielu lat w klinice, a wykazujące potencjał neuroprotektoryjny angażujący mitochondria. Obiektem zainteresowania okazały się związki terapeutyczne znane pod skrótem PAT (ang. *Pathologically Activated Therapeutic drugs*), których działanie opiera się na zasadzie, iż oddziałują one ze swoim celem (np. receptorem, enzymem, tkanką) tylko w warunkach patologicznych. Mechanizm ten może się opierać dla przykładu na zmianach allosterycznych zachodzących w obrębie molekuly [39]. Jednym z leków tej grupy jest memantyna (*memantine*), stosowana powszechnie w zaawansowanych stadiach choroby Alzheimera, która oddziałuje specyficznie na receptory NMDA (*NMDARs*) w stanie otwartym, hamując ich zmienioną funkcję w stanie patologicznym. W ten sposób działanie memantyny zapobiega szeregowi procesów obserwowanych w patologii większości chorób neurodegeneracyjnych m.in. nadmiernemu pobudzeniu receptorów NMDA, efektowi ekscytotoksyczności wywołanej glutaminianem, przeciążeniu komórki jonami Ca^{2+} czy wreszcie nadmiernemu wychytowi tych jonów przez mitochondria [38]. Dodatkowo, do mechanizmu neuroprotektoryjnego memantyny mogą dokładać się jej właściwości anty-apoptotyczne wykazane w modelach eksperymentalnych [24, 25, 26, 38].

Badania przedkliniczne ujawniły potencjalne działanie neuroprotektoryjne leków przeciwdepresyjnych (ang. *antidepressant drugs*), które to obniżały wrażliwość

komórek na czynniki apoptotyczne [17, 45]. Antydepresanty wpływają na funkcje mitochondriów i oddziałują z białkami biorącymi udział w procesie uprzepuszczalniania błon mitochondrialnych. Zaobserwowano, że fluoksetyna (ang. *fluoxetine*), selektywny inhibitor wychwytu zwrotnego serotoniny, wchodzi w interakcję z kanałem VDAC (ang. *Voltage Dependent Anion Channel*), wchodzącym w skład MPTP. Interakcja pomiędzy molekułami może hamować zwiększoną przepuszczalność błony mitochondrialnej, zapobiegać uwolnieniu czynników pro-apoptotycznych z przestrzeni międzybłonowej tych organelli i tym samym hamować indukcję apoptozy [45, 50]. Stwierdzono również wpływ związków heterocyklicznych stosowanych w terapii depresji, takich jak trójcykliczne antydepresanty (imipramina, dezypramina, amitryptylina), na funkcję mitochondriów, formowanie w obrębie ich błon kanałów MPTP, a tym samym na proces apoptozy [45, 65]. Mechanizm protekcyjnego działania leków antydepresyjnych na neurony może mieć swoje podłoże w regulacji ekspresji białek z rodziny Bcl-2. Badania nad chronicznym stresem z wykorzystaniem leków antydepresyjnych ujawniły obniżenie poziomu pro-apoptotycznego białka Bax. Natomiast zawartość mRNA anty-apoptotycznego białka Bcl-X_L ulegała zwiększeniu w wielu rejonach mózgu narażonych na stres [31, 45, 50]. Poza tym sugeruje się, iż leki te promują ścieżki pro-życiowe komórek związanych z aktywacją kinaz MAPK/ERK1/2 [27, 30, 37] oraz czynnika transkrypcyjnego CREB, wpływających na ekspresję anty-apoptotycznych białek (np. Bcl-2, BDNF) [8, 31].

Przedmiotem badań doświadczalnych nad właściwościami neuroprotekcyjnymi były również psychotropowe leki normotymicznie (ang. *normothymic medications*), wykazujące korzystny wpływ na aktywność kompleksu I i II ETC w neuronach mózgu, pozyskanych *post mortem* od pacjentów z chorobą dwubiegunową (ang. *bipolar disorder*) [45, 64]. Stwierdzono także ochronny wpływ inhibitorów esterazy acetylocholinowej, leków stosowanych w terapii choroby Alzheimera oraz inhibitorów monoaminooksydazy (ang. *monoamine oxidase inhibitors*) stosowanych w leczeniu pacjentów z chorobą Parkinsona, na komórki nerwowe w różnych modelach doświadczalnych [51]. W mechanizmie neuroprotekcyjnego działania tych związków podkreśla się rolę stabilizacji błony mitochondrialnej poprzez wpływ na ekspresję białek anty-apoptotycznych z rodziny Bcl-2 [2, 51, 52].

Endogenne substancje o właściwościach neuroprotekcyjnych

Neuroprotekcyjne działanie mogące angażować mitochondria wykazują endogenne związki o budowie steroidowej. Do tej grupy możemy zaliczyć zarówno substancje produkowane na obwodzie (estrogeny, progesteron), jak również syntetyzowane w OUN (neurosteroidy np. progesteron, pregnenolon, allopregnenolon, dehydroepiandrosteron (DHEA)) [33, 34, 35, 36]. Hormony

steroidowe, z łatwością przenikające przez bariery OUN, mogą regulować funkcje komórek układu nerwowego zarówno na poziomie genomu, jak i pozagenomowo. Zaobserwowano ochronne działanie steroidów na neurony polegające na: regulacji transkrypcji szeregu białek regulatorowych (np. NGF, BDNF, GAP-43) i wtórnych przekaźników szlaków sygnałowych (np. cAMP, NO), hamowaniu kaskady kaspaz, oddziaływaniu na homeostazę jonów wapnia w komórce oraz regulacji aktywności dysmutazy ponadtlenkowej [3, 33].

Ciekawym mechanizmem działania neuroprotekcijnego charakteryzują się estrogeny [3]. Z jednej strony związki te zwiększają ekspresję anti-apoptotycznych białek z rodziny Bcl-2 (Bcl-2, Bcl-X_L), z drugiej hamują procesy ekscytotoksyczności. Ponadto, estrogeny za pomocą receptora nuklearnego (ER) mogą regulować transkrypcję enzymów oddechowych ETC oraz innych białek, bezpośrednio wpływając na funkcjonowanie mitochondriów. Jednym z celów tej regulacji jest NRF-1 (ang. *Nuclear Respiratory Factor-1*), którego synteza wiąże się z polepszeniem aktywności mitochondriów oraz stymulacją ich biogenezy [6, 43]. Receptor estrogenowy może być również obecny wewnątrz mitochondrium, gdzie może bezpośrednio modulować czynność zawartych w nim białek [6]. Badania potwierdzają wpływ estrogenów na zmniejszenie produkcji ROS, poprzez wzrost ekspresji białek przeciwutleniających (np. Mn-SOD, tioredoksyny, glutation), ich wpływ na zmniejszenie wychwytu jonów Ca²⁺ przez komórkę oraz na hamowanie apoptozy poprzez indukcję ekspresji białek anti-apoptotycznych z rodziny Bcl-2 [6]. Co więcej, badania nad estrogenami dostarczyły informacji odnośnie istniejących różnic płciowych w podatności na różnego typu choroby neurodegeneracyjne, jak również ich przebiegu i zróżnicowanej skuteczności niektórych strategii neuroprotekcyjnych [6, 47, 61].

Neuroprotekcyjne związki chemiczne pochodzenia roślinnego

Ciekawą grupę związków o szerokim potencjale ochronnym na komórki, głównie przeciwutleniającym, wykazują związki pochodzenia roślinnego, takie jak kurkuma (ang. *curcumin*) czy składnik zielonej herbaty – galusan epigallokatechiny (EGCG). Obiektem zainteresowania ostatnich badań stał się przede wszystkim resveratrol (*3,5,4-trihydroxy-trans-stylben*), będący fitoaleksyną zawartą w winogronach, żurawinie oraz orzechach. Wykazuje on szereg korzystnych działań m.in. działanie antyoksydacyjne, przeciwnowotworowe, przeciwgrzybiczne oraz przeciwzapalne [5, 54]. Resveratrol w mechanizmie działania ochronnego na komórki nerwowe naśladuje efekty działania restrycji kalorycznej (CR, ang. *caloric restriction*). Badania nad tym związkiem chemicznym, wskazują, iż oprócz redukcji ROS, działanie resveratrolu łagodzi efekt neurotoksyczności wywołany obecnością β-amyloidu w tkankach [11, 16], oraz obniża ekspresję indukowanej syntazy tlenku azotu (*iNOS*), chroniąc tą drogą kompleksy ETC przed inhibicją wywołaną patologicznymi stężeniami NO [11, 29].

Inne eksperymenty wskazują na hamowanie przez ten związek pro-apoptotycznych czynników, takich jak białko Bax biorące udział w formowaniu MPTP w błonie mitochondrialnej [11]. Przypuszcza się również, iż neuroprotekcynny efekt może wynikać ze stymulacji syntezy sirtuin, które z kolei redukują poziom ROS przez interakcje z mitochondrialnym białkiem rozprzegającym UCP-4 [5, 11]. Obecnie badania nad resveratrolem znajdują się w fazie badań klinicznych w kierunku leczenia raka, otyłości, cukrzycy oraz choroby Alzheimera [16].

Niefarmakologiczne strategie neuroprotekcyjne

Eksperymentalne badania prowadzone nad śmiercią komórek nerwowych wywołanych epizodami niedokrwiennymi (*ischemia*) ujawniły korzystną rolę procesu tzw. „hartowania” (ang. *preconditioning hermesis*), podczas którego komórki adaptują się do niskich dawek toksycznych substancji (endotoksyn), czy krótkotrwałej, niekorzystnej sytuacji, takiej jak ischemia czy hipoksja. Takie zahartowanie komórek sprawia, że w obliczu większego zagrożenia stają się one bardziej odporne na uszkodzenia. W kontekście tego zjawiska bada się funkcje białek mitochondrialnych – kanałów potasowych oraz białek rozprzegających (UCPs, ang. *Uncoupling Proteins*), a także produkty tzw. vitagenów (ang. *vitagenes*), którymi są np. białka szoku cieplnego HO-1/Hsp32, Hsp70, tioredoksyny, sirtuiny, pełniące ważną rolę w utrzymaniu homeostazy komórki znajdującej się w sytuacji stresowej. Poznanie mechanizmów tego korzystnego zjawiska ma na celu wskazanie czynników krytycznych dla tego procesu, co dałoby wskazówki do poszukiwania związków chemicznych, które będą w sposób podobny indukować endogenną ochronę komórek [13, 14].

Innymi strategiami skierowanymi na mitochondria są redukcja kaloryczna (CR), czy ćwiczenia fizyczne (ang. *physical exercises*) [54]. Działanie neuroprotekcynne CR może być związane z poprawą funkcjonowania mitochondriów. Genomowy mechanizm tej metody ma na celu obniżenie ekspresji czynników pro-apoptotycznych, przy jednoczesnym wzroście syntezy czynników anty-apoptotycznych. Modułacja działania mitochondriów wpływa z kolei na podniesienie wydajności tych organelli przez zwiększenie ilości produkowanego przez nie ATP oraz obniżenie wytwarzania ROS [22, 32, 40, 46]. Przeciwoxidacyjne właściwości tej metody wynikają ze wzmocnienia bariery antyoxidacyjnej, przejawiającej się wzrostem stężenia i aktywności enzymów dysmutazy nadtlenkowej, peroksydazy glutationowej, czy katalazy [1, 21, 42, 57]. Wyniki te tłumaczy się również podniesieniem aktywności białek rozprzegających (UCPs), które redukując wartość potencjału błonowego mitochondriów, przyczyniają się do zmniejszenia ilości ROS [4, 9, 32, 40]. Obecnie wpływ CR bada się w odniesieniu do większości chorób neurodegeneracyjnych, zarówno o przebiegu ostrym, jak i chronicznym [40].

Dodatkowo, obserwacje osób zdrowych pokazują zmniejszoną zapadalność na AD czy PD u osób stosujących metodę restrikcji kalorycznej [21, 23].

PODSUMOWANIE

Coraz więcej wiemy o związku mutacji genetycznych towarzyszących chorobom neurodegeneracyjnym i komórkowych nieprawidłowościach strukturalnych oraz funkcjonalnych. Dokładniejsze poznanie genetycznego i molekularnego podłoża tych procesów oraz lepsze zrozumienie funkcjonowania komórki, w tym roli mitochondriów w fizjologii i patologii, może przyczynić się do rozwoju strategii ochronnych (neuroprotektoryjnych), zarówno farmakologicznych jak i nefarmakologicznych, nakierowanych na te organelle i w konsekwencji przeciwdziałających degeneracji komórek. Szczególnie istotne wydają się być strategie nefarmakologiczne, takie jak restrikcja kaloryczna i ćwiczenia fizyczne, mogące być stosowane w codziennej profilaktyce przez każdego człowieka [11, 40]. Poznanie molekularnych mechanizmów działania ochronnego tych metod może w przyszłości skutkować znalezieniem środków farmakologicznych naśladujących ich działanie, podobnie jak badany już dzisiaj resveratrol. Wśród związków o neuroprotektoryjnym potencjale farmakologicznym angażującym mitochondria znajdują się zarówno neurosteroidy, leki nakierowane bezpośrednio na patologie komórkowe (PAT, np. memantyna, fenytoina), leki stosowane w terapiach schorzeń OUN (np. leki przeciwdepresyjne, leki normotymiczne, inhibitory acetylocholinoesterazy, inhibitory monoaminoksydazy). Ponadto, działanie ochronne może być osiągnięte poprzez podnoszenie wydajności łańcucha oddechowego (np. kreatyna, L-karnityna) i obniżenie poziomu reaktywnych form azotowych i tlenowych w komórkach (np. preparaty witaminowe, koenzym Q10, idebenon) [11]. Dalsze intensywne badania nad mechanizmami neurodegeneracji przyczyniają się do poznania nie tylko przyczyn chorób neurodegeneracyjnych, ale umożliwią rozwój nowych metod zapobiegania i leczenia chorób neurozwyrodnieniowych.

LITERATURA

- [1] AGARWAL S, SHARMA S, AGRAWAL V, ROY N. Caloric restriction augments ROS defense in *S. cerevisiae*, by a Sir2p independent mechanism. *Free Radic Res* 2005; **39**: 55–62.
- [2] AKAIKE A, TAKADA-TAKATORI Y, KUME T, IZUMI Y. Mechanisms of neuroprotective effects of nicotine and acetylcholinesterase inhibitors: role of alpha4 and alpha7 receptors in neuroprotection. *J Mol Neurosc* 2010; **40**: 211–216.
- [3] AMANTEA D, RUSSO R, BAGETTA G, CORASANITI MT. From clinical evidence to molecular mechanism underlying neuroprotection afforded by estrogens. *Pharmacol Res* 2005; **52**: 119–132.
- [4] ANDREWS ZB, DIANO S, HORVATH TL. Mitochondrial uncoupling proteins in the CNS: in support of function and survival. *Nat Rev Neurosci* 2005; **6**: 829–840.
- [5] ANEKONDA TS, REDDY PH. Neuronal protection by sirtuins in Alzheimer's disease. *J Neurochem* 2006; **96**: 305–313.

- [6] ARNOLD S, BEYER C. Neuroprotection by estrogen in the brain: the mitochondrial compartment as presumed therapeutic target. *J Neurochem* 2009; **110**: 1-11.
- [7] BEAL M. Neuroprotective effects of creatine. *Amino Acids* 2011; **40**: 1305-1313.
- [8] BLENDY JA. The role of CREB in depression and antidepressant treatment. *Biol Psychiatry* 2006; **59**: 1144-1150.
- [9] BORDOWE L, GUARENTE L. Calorie restriction, SIRT1 and metabolism: understanding longevity. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2005; **6**: 298-305.
- [10] BREDESEN DE, RAMMOHAN VR, MEHLEN RP. Cell death in the nervous system. *Nature* 2006; **443**: 796-802.
- [11] CALABRESE V, CORNELIUS C, MANCUSO C, PENNISI G, CALAFATO S, BELLIA F, BATES TE, STELLA AMG, SCHAPIRA T, DINKOVA KUSTOVA AT, RIZZARELLI E. Cellular Stress Response: A Novel Target for Chemoprevention and Nutritional Neuroprotection in Aging, Neurodegenerative Disorders and Longevity. *Neurochem Res* 2008; **33**: 2444-2471.
- [12] CHATURVEDI RK, BEAL MF. Mitochondrial approaches for neuroprotection. *Ann N Y Acad Sci* 2008; **1147**: 395-412.
- [13] CORREIA SC, CARDOSO S, SANTOS RX, CARVALHO C, SANTOS MS, PERRY G, SMITH MA, MOREIRA PI. New insights into the mechanisms of mitochondrial preconditioning-triggered neuroprotection. *Curr Pharm Des* 2011; **17**: 3381-3389.
- [14] CORREIA SC, SANTOS RX, PERRY G, ZHU X, MOREIRA PI, SMITH MA. Mitochondria: The missing link between preconditioning and neuroprotection. *J Alzheimers Dis* 2010; **20** (Suppl 2): S475-485.
- [15] EKSTRAND MI, GALTER D. The MitoPark Mouse - an animal model of Parkinson's disease with impaired respiratory chain function in dopamine neurons. *Parkinsonism Relat Disord* 2009; **15** Suppl 3: S185-188.
- [16] DE CASTRO IP, MARTINS LM, TUFI R. Mitochondrial quality control and neurological disease: an emerging connection. *Expert Rev Mol Med* 2010; **12**: e12.
- [17] DRZYŻGA ŁR, MARCINOWSKA A, OBUCHOWICZ E. Antiapoptotic and neurotrophic effects of antidepressants: a review of clinical and experimental studies. *Brain Res Bull* 2009; **79**: 248-257.
- [18] EVANS AM, FORNASINI G. Pharmacokinetics of L-carnitine. *Clin Pharmacokinet* 2003; **42**: 941-967.
- [19] GALLUZZI L, BLOMGREN K, KROEMER G. Mitochondria membrane permeabilization in neuronal injury. *Neuroscience. Nature reviews* 2009; **10**: 481 - 491.
- [20] GONG X, SHANG F, OBIN M, PALMER H, SCROFANO MM, JAHNGEN-HODGE J, SMITH DE, TAYLOR A. Antioxidant enzyme activities in lens, liver and kidney of calorie restricted Emory mice. *Mech Ageing Dev* 1997; **99**: 181-192.
- [21] GREDILLA R, BARJA G. Minireview: the role of oxidative stress in relation to caloric restriction and longevity. *Endocrinology* 2005; **146**: 3713-3717.
- [22] HEILBRONN LK, DE JONGE L, FRISARD MI, DELANY JP, LARSON-MEYER DE, ROOD J, NGUYEN T, MARTIN CK, VOLAUFOVA J, MOST MM, GREENWAY FL, SMITH SR, DEUTSCH WA, WILLIAMSON DA, RAVUSSIN E, PENNINGTON CALERIE TEAM. Effect of 6-month calorie restriction on biomarkers of longevity, metabolic adaptation, and oxidative stress in overweight individuals: a randomized controlled trial. *Jama* 2006; **295**: 1539-1548.
- [23] <http://www.alz.co.uk/research/statistics>
- [24] JANTAS D, SZYMANSKA M, BUDZISZEWSKA B, LASOŃ W. An involvement of BDNF and PI3-K/Akt in the anti-apoptotic effect of memantine on staurosporine-evoked cell death in primary cortical neurons. *Apoptosis* 2009a; **14**: 900-912.
- [25] JANTAS D, LASOŃ W. Protective effect of memantine against doxorubicin toxicity in primary neuronal cell cultures: influence a development stage. *Neurotox Res* 2009b; **15**: 24-37.
- [26] JANTAS-SKOTNICZNA D, KAJTA M, LASOŃ W. Memantine attenuates staurosporine-induced activation of caspase-3 and LDH release in mouse primary neuronal cultures. *Brain Res* 2006; **1069**: 145-153.
- [27] JEFFREY KL, CAMPS M, ROMMEL C, MACKAY CR. Targeting dual-specificity phosphatases: manipulating MAP kinase signalling and immune responses. *Nat Rev Drug Discov* 2007; **6**: 391-403.
- [28] KARACHITOS A, GAŁGAŃSKA H, KMITA K. Rola mitochondriów w patogenezie choroby Huntingtona. *Postępy biochemii* 2010; **56**(2): 175-181.

- [29] KIM YA, KIM GY, PARK KY, CHOI YH. Resveratrol inhibits nitric oxide and prostaglandin E2 production by lipopolysaccharide-activated C6 microglia. *J Med Food* 2007; **10**: 218–224.
- [30] KOSTEN TA, GALLOWEY MP, DUMAN RS, RUSSELL DS, D'SA C. Repeated unpredictable stress and antidepressants differentially regulate expression of the bcl-2 family of apoptotic genes in rat cortical, hippocampal, and limbic brain structures. *Neuropsychopharmacology* 2008; **33**: 1545–1558.
- [31] KRAUSS S, ZHANG CY et al. The mitochondrial uncoupling-protein homologues. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2005; **6**: 248–261.
- [32] LAMBERT AJ, MERRY BJ. Effect of caloric restriction on mitochondrial reactive oxygen species production and bioenergetics: reversal by insulin. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004; **286**: R71–R79.
- [33] LASOŃ W. Endogenne substancje neuroprotekcjne o budowie steroidowej. Neuroprotekcja. XX Zimowa Szkoła Instytutu Farmakologii PAN. Mogilany 2003.
- [34] LESKIEWICZ M, JANTAS D, BUDZISZEWSKA B, LASOŃ W. Excitatory neurosteroids attenuate apoptotic and excitotoxic cell death in primary cortical neurons. *J Physiol Pharmacol*. 2008a; **59**: 457–475.
- [35] LESKIEWICZ M, REGULSKA M, BUDZISZEWSKA B, JANTAS D, JAWORSKA-FEIL L, BASTA-KAIM A, KUBERA M, JAGLA G, NOWAK W, LASOŃ W. Effects of neurosteroids on hydrogen peroxide- and staurosporine-induced damage of human neuroblastoma SH-SY5Y cells. *J Neurosci Res*. 2008b; **86**: 1361–1370.
- [36] LESKIEWICZ M, REGULSKA M, BUDZISZEWSKA B, JANTAS D, JAWORSKA-FEIL L, BASTA-KAIM A, KUBERA M, LASOŃ W. Neurosteroids enhance the viability of staurosporine and doxorubicin treated differentiated human neuroblastoma SH-SY5Y cells. *Pharmacol Rep* 2008c; **60**: 685–691.
- [37] LEY R, EWINGS KE, HADFIELD K, COOK SJ. Regulatory phosphorylation of Bim: sorting out the ERK from the JNK. *Cell Death and Differ* 2005; **12**: 1008–1014.
- [38] LIPTON SA. Paradigm shift in neuroprotection by NMDA receptor blockade: memantine and beyond. *Nat Rev Drug Discov* 2006; **5**: 160–170.
- [39] LIPTON SA. Pathologically activated therapeutics for neuroprotection. *Nat Rev Neurosci* 2007; **8**: 803–808.
- [40] MAALOUF MA, RHO JM, MATTSON MP. The neuroprotective properties of calorie restriction, the ketogenic diet, and ketone bodies. *Brain Res Rev* 2009; **59**: 293–315.
- [41] MARTIN LJ. Mitochondrial and Cell Death Mechanisms in Neurodegenerative Diseases. *Pharmaceuticals (Basel)*; 2010; **3**: 839–915.
- [42] MATTINGLY KA, IVANOVA MM, RIGGS KA, WICKRAMASINGHE NS, BARCH MJ, KLINGE CM. Estradiol stimulates transcription of nuclear regulatory factor-1 and increases mitochondrial biogenesis. *Mol. Endocrinol* 2008; **22**: 609–622.
- [43] MATTSON MP, GLEICHMANN M, CHENG A. Mitochondria in Neuroplasticity and Neurological Disorders. *Neuron* 2008; **60**: 748–766.
- [44] MAURER IC, SCHIPPEL P, VILTZ HP. Lithium-induced enhancement of mitochondrial oxidative phosphorylation in human brain tissue. *Bipolar disorder* 2009; **11**: 515–522.
- [45] MCKERNAN DP, DINAN TG, CRYAN JF. "Killing the Blues": a role for cellular suicide (apoptosis) in depression and the antidepressant response? *Prog Neurobiol* 2009; **88**: 246–263.
- [46] MERRY BJ. Molecular mechanisms linking calorie restriction and longevity. *Int J Biochem Cell Biol* 2002; **34**: 1340–1354.
- [47] MILLER IN, CRONIN-GOLOMB A Gender differences in Parkinson's disease: clinical characteristics and cognition. *Mov Disord* 2010; **25**: 2695–2703.
- [48] MORAIS VA, BART DE STROOPER. Mitochondria dysfunction and neurodegenerative disorders: cause and consequence. *Journal of Alzheimer's disease* 2010; **20**: S255–263.
- [49] MURRAY F, HUTSON PH. Hippocampal Bcl-2 expression is selectively increased following chronic but not acute treatment with antidepressants, 5-HT(1A) or 5-HT(2C/2B) receptor antagonists. *Eur J Pharmacol* 2007; **569**: 41–47.
- [50] NAHON E, ISRAELSON A, ABU-HAMAD S, VARDA SB. Fluoxetine (Prozac) interaction with the mitochondrial voltage-dependent anion channel and protection against apoptotic cell death. *FEBS Letters* 2005; **579**: 5105–5110.

- [51] NAOI M, MARUYAMA W. Monoamine Oxidase Inhibitors as Neuroprotective Agents in Age-Dependent Neurodegenerative Disorders. *Curr Pharm Des.* 2010; **16**: 2799-2817.
- [52] NODA K, KITAMI T, GAI WP, CHEGINI F, JENSEN PH, FUJIMURA T, MURAYAMA K, TANAKA K, MIZUNO Y, HATTORI N. Phosphorylated I κ B α is a component of Lewy body of Parkinson's disease. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; **331**: 309-317.
- [53] OSMAN MM, LULIC D, GLOVER L, STAHL CE, LAU T, van LOVEREN H, BORLONGAN CV. Cyclosporine-A as a neuroprotective agent against stroke: its translation from laboratory research to clinical application. *Neuropeptides* 2011; **45**: 359-368.
- [54] PATEL BP, HAMADEH MJ. Nutritional and exercise-based interventions in the treatment of amyotrophic lateral sclerosis. *Clin Nutr* 2009; **28**: 604-617.
- [55] PATEL KR, SCOTT E, BROWN VA, GESCHER AJ, STEWARD WP, BROWN K. Clinical trials of resveratrol. *Ann N Y Acad Sci* 2011; **1215**: 161-169.
- [56] PLANE JM, SHEN Y, PLEASURE DE, DENG W. Prospects for minocycline neuroprotection. *Arch Neurol.* 2010; **67**: 1442-1448.
- [57] RANKIN JW, SHUTE M et al. Energy restriction but not protein source affects antioxidant capacity in athletes. *Free Radic Biol Med* 2006; **41**: 1001-1009.
- [58] REBOUCHE CJ. Kinetics, pharmacokinetics, and regulation of L-carnitine and acetyl-L-carnitine metabolism. *Ann NY Acad Sci* 2004; **1033**: 30-41.
- [59] RUDNICKA KW, SZCZEŚNA E, MISZCZYK E, MIKOŁAJCZYK-CHMIELA M. Apoptoza i autofagia – mechanizmy i metody detekcji. *Postępy Biologii Komórki* 2011; **38**: 247-265.
- [60] SACHDEVA D, BURNS A. Dimebolin in dementia. *CNS Neurosci Ther.* 2011; **17**: 199-205.
- [61] SAUNDERS-PULLMAN R, STANLEY K, LUCIANO MS, BARRETT MJ, SHANKER V, RAYMOND D, OZELIUS LJ, BRESSMAN SB. Gender differences in the risk of familial parkinsonism: Beyond LRRK2? *Neurosci Lett.* 2011; **496**: 125-128.
- [62] SCHON EA, PRZEDBORSKI S. Mitochondria: The Next (Neurode)Generation. *Neuron* 2011; **70**.
- [63] SILVA JP, PROENCA F, COUTINHO OP. Protective role of new nitrogen compounds on ROS/RNS-mediated damage to PC12 cells. *Free Radic Res* 2008; **42**: 57-69.
- [64] STAVROYSKAYA IG, NARAYANAN MV, ZHANG W, KRASNIKOV BF, HEEMSKERK J, YOUNG SS, BLASS JP, BROWN AM, BEAL MF, FRIEDLANDER RM, KRISTAL BS. Clinically approved heterocyclics act on a mitochondrial target and reduce stroke-induced pathology. *J Exp Med* 2004; **200**: 211-222.
- [65] SWERDLOW RH. Mitochondrial medicine and the neurodegenerative mitochondriopathies. *Pharmaceuticals*, 2009; **2**: 150-167.
- [66] TANAKA M, KIM YM, LEE G, JUNN E, IWATSUBO T, MOURADIAN MM. Aggregates formed by α -synuclein and synphilin-1 are cytoprotective. *J Biol Chem* 2004; **279**: 4625-4631.
- [67] TATSUTA T, LANGER T. Quality control of mitochondria: protection against neurodegeneration and ageing. *The EMBO Journal* 2008; **27**: 306-314.
- [68] TILLEMENT L, LECANU L, PAPADOPOULOS V. Alzheimer disease: Effects of β -amyloid on mitochondria. *Mitochondrion* 2011; **11**: 13-21.
- [69] VAMOS E, VOROS K, VECSEI L, KLIVENYI P. Neuroprotective effects of L-carnitine in a transgenic animal model of Huntington's disease. *Biomed Pharmacother* 2010; **64**: 282-286.
- [70] WANG Y, DAWSON VL, DAWSON TM. Poly(ADP-ribose) signals to mitochondrial AIF: a key event in parthanatos. *Exp Neurol.* 2009; **218**: 193-202.
- [71] WANG Y, KIM NS, HAINCE JF, KANG HC, DAVID KK, ANDRABI SA, POIRIER GG, DAWSON VL, DAWSON TM. Poly(ADP-ribose) (PAR) binding to apoptosis-inducing factor is critical for PAR polymerase-1-dependent cell death (parthanatos). *Sci Signal.* 2011; **4**(167):ra20.
- [72] WOJTCZAK L, ZABŁOCKI K. Mitochondria w życiu, chorobie i śmierci komórki. *Postępy biochemii* 2008; **54**: 129-141.
- [73] YANG J-L, WEISSMAN L, BOHR V, MATTSON MP. Mitochondrial DNA damage and repair in neurodegenerative disorders. *DNA Repair (Amst)* 2008; **1**: 1110-1120.
- [74] YU SW, WANG H, POITRAS MF, COOMBS C, BOWERS WJ, FEDEROFF HJ, POIRIER GG, DAWSON TM, DAWSON VL. Mediation of poly(ADP-ribose) polymerase-1-dependent cell death by apoptosis-inducing factor. *Science* 2002; **297**: 259-263.

Redaktor prowadzący – B. Kamińska

Otrzymano: 23.03.2012

Przyjęto: 14.06.2012

Danuta Jantas

Zakład Neuroendokrynologii Doświadczalnej

Instytut Farmakologii PAN

ul. Smętna 12, 31-343 Kraków

tel.: (012) 6623220

fax: (012) 6374500

e.mail: jantas@if-pan.krakow.pl