

# Oksidacijski stres i stanična smrt

---

Rumora, Lada; Petrik, Jozsef; Žanić Grubišić, Tihana

Source / Izvornik: **Biochemia Medica**, 2003, 13, 75 - 82

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:080098>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-04-02**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



## OKSIDACIJSKI STRES I STANIČNA SMRT

Lada Rumora, József Petrik, Tihana Žanić-Grubišić

Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zavod za medicinsku biokemiju i hematologiju, Zagreb

**SAŽETAK** - Različiti poticaji iz okoline mogu utjecati na preživljavanje i umiranje stanica u organizmu. Reaktivni produkti kisika predstavljaju jednu od najjačih i najčešćih prijetnji za sve žive organizme. Reaktivni spojevi kisika, poput superoksidnog radikala, vodikovog peroksida, hidroksilnog radikala i peroksidnog radikala, mogu se nakupljati unutar stanice zbog normalnih metaboličkih procesa te različitih toksičnih procesa. Ti spojevi mogu poremetiti prirodne antioksidacijske obrambene sustave, što rezultira oštećenjem svih glavnih skupina bioloških makromolekula, poput nukleinskih kiselina, proteina, ugljikohidrata i lipida. Oksidacijski stres se definira kao poremećaj u ravnoteži između prooksidansa i antioksidansa, što dovodi do potencijalnog oštećenja stanice. Smatra se da je oksidacijski stres jedan od uzročnika brojnih bioloških i patoloških procesa poput starenja, upale, karcinogeneze, ishemijske-reperfuzije, kao i čitavog niza oboljenja poput dijabetesa, ateroskleroze i/ili neurodegenerativnih bolesti. Ovaj revijalni prikaz opisuje djelovanje reaktivnih kisikovih čestica na molekule koje imaju važnu ulogu u preživljavanju i/ili umiranju stanica.

**Ključne riječi:** oksidacijski stres, reaktivne kisikove čestice, stanična smrt

### 1. UVOD

Svi aerobni organizmi za život nužno trebaju kisik. Zbog svoga visokog elektrokemijskog potencijala kisik omogućava stvaranje energije u procesima staničnog disanja. Redukcija kisika pojedinačnim prijenosom elektrona dovodi do stvaranja slobodnih radikala (molekule ili atomi s jednim ili više nesparenih elektrona u vanjskoj orbitali), što kisik čini toksičnim (1).

Toksičnost molekularnog kisika prepoznali su još u XVIII. stoljeću Lavoisier, Priestley i Scheele, ali je tek 1954. godine Rebeca Gerschman eksperimentalno pokazala da je toksičnost kisika posredovana nastajanjem slobodnih radikala (2).

Različiti se reaktivni kisikovi spojevi (ROS) stvaraju jednovalentnom redukcijom molekularnog kisika: superoksidni radikal ( $O_2^{\cdot-}$ ), vodikov peroksid ( $H_2O_2$ , nije radikal) i hidroksilni radikal ( $HO\cdot$ ).  $H_2O_2$  i  $O_2^{\cdot-}$  su samo umjereno reaktivni s biološkim molekulama, ali je  $HO\cdot$ , koji

iz njih nastaje, jako reaktivan i smatra se izravno odgovornim za oksidacijska oštećenja u biološkim sustavima (3, 4).

Mitochondriji su glavno mjesto stvaranja slobodnih radikala u stanici. Najveći dio slobodnih radikala u fiziološkim uvjetima nastaje transportom elektrona na unutrašnjoj membrani mitochondrija tijekom pretvorbe kisika u vodu, za vrijeme transporta elektrona u respiracijskom lancu (4). Smatra se da su glavni izvori stvaranja ROS u mitochondrijima ubikinonska mjesta u kompleksima I (NADH-ubikinon (Q)-reduktaza) i III (ubikinol ( $QH_2$ )-citokrom c-reduktaza), dok je manji doprinos iz kompleksa II (sukcinat-ubikinon (Q)-reduktaza) (3, 5, 6). Nije dokazano da se ROS stvaraju tijekom zadnjeg koraka redukcije  $O_2$  u  $H_2O$  citokrom-c-oksidadom (4). Nastali  $O_2^{\cdot-}$  prevodi se u  $H_2O_2$  s pomoću mitochondrijske SOD, a  $H_2O_2$  se, u prisutnosti željeza ( $Fe^{2+}$ ), može pretvoriti u visoko reaktivni hidroksilni radikal u reakciji koju je 1894. godine opisao Fenton (4, 5). Visoka koncentracija enzima Mn-SOD u matriksu mitochondrija osigurava da se ova fiziološka količina stvorenog  $O_2^{\cdot-}$  neutralizira prije nego što prouzrokuje oštećenja stanice (5). Samo oko 1-5%  $O_2$

Adresa za dopisivanje:

Dr. sc. Lada Rumora, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Zavod za medicinsku biokemiju i hematologiju, A. Kovačića 1, tel: +385-1-4612606, fax: +385-1-4612716, e-mail: lrumora@pharma.hr

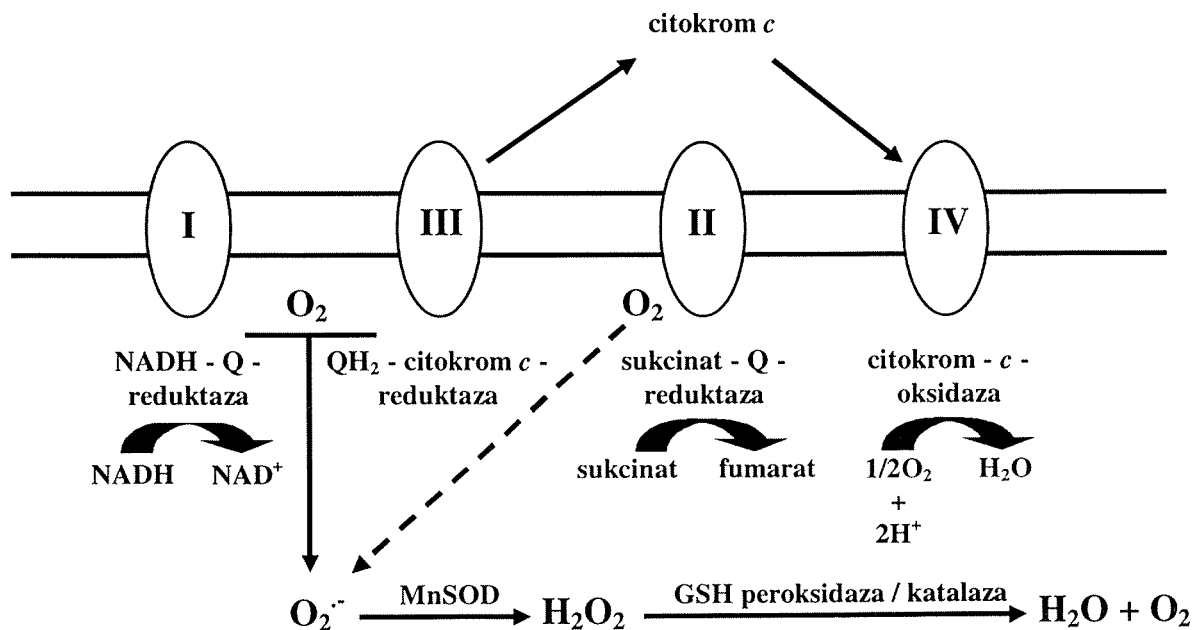
potrošenog u mitohondrijima dovodi do stvaranja  $O_2^-$  tj.  $H_2O_2$  u normalnim uvjetima (5, 7, 8) (Slika 1).

Osim u mitohondrijima, transport elektrona zbiva se i na membranama endoplazmatskog retikuluma i na membrani jezgre, te slobodni radikali nastaju i na tim mjestima (3, 5).

Osim ovim mehanizmom, ROS mogu nastati u stanici i aktivnošću enzima (NADPH-oksidaaza, ksantin-oksidaaza, citokrom P450, lipooksigenaaza, ciklooksigenaza), autooksidacijom malih molekula (kateholamini, flavini), te u redoks-ciklusu ksenobiotika (parakvat, nitrofurantoin, adriamicin) (4, 5, 9). Osim toga, stanice/organizmi izloženi su različitim utjecajima iz okoliša (zračenje, toksini) koji također izazivaju pojačano stvaranje ROS.

ROS imaju značajnu ulogu u fiziologiji i patofiziologiji stanice. Ova je skupina visoko reaktivnih molekula uključena u oštećenja različitih makromolekula u stanici (nukleinske kiseline, proteini, lipidi, ugljikohidrati), indukciju ili inhibiciju različitih signalnih putova (djelovanje na proteinske kinaze, fosfataze, proteaze, faktore transkripcije), ekspresiju pojedinih gena, indukciju ili inhibiciju proliferacije stanice, te u proces umiranja stanice (5, 10-13).

Kako bi se zaštitile od napada slobodnih radikala u povećanim koncentracijama, tj. od oksidacijskog oštećenja, stanice/organizmi su tijekom evolucije razvili različite antioksidacijske sustave koji u normalnim uvjetima umanjuju nepovoljna djelovanja ROS (5, 9) (Tablica 1).



Slika 1. Stvaranje superoksidnog radikala u mitohondrijima  
Figure 1. Formation of superoxide ions in mitochondria

Tablica 1. Antioksidansi u organizmu  
Table 1. Organism's antioxidant defense systems

Enzimi i proteini	Male molekule
CuZnSOD	vitamin E
MnSOD	ubikinson
EcSOD	karotenoidi
katalaza	vitamin C
glutation-peroksidaza	glutation
glutation-S-transferaza	mokraćna kiselina
ferritin	bilirubin
transferin	
laktoferin	
ceruloplazmin	
albumin	

Ukoliko se naruši osjetljiva ravnoteža između stvaranja i uklanjanja slobodnih radikala, dolazi do njihovog nakupljanja u većoj količini (zbog povećanog stvaranja i/ili smanjenog uklanjanja detoksikacijskim sustavima stanice) i pretvaranja u vrlo moćne razarače stanice. Do povećanja koncentracije ROS najčešće dolazi zbog neučinkovitosti mehanizama njihovog uklanjanja (stvaranje slobodnih radikala nadmašuje kapacitet stanice da ih detoksicira). To uzrokuje narušavanje ravnoteže između prooksidansa i antioksidansa u korist prooksidansa (ROS nadvlada obrambene sustave stanice i promijeni se redoks-status stanice). Na taj način nastaje oksidacijski stres, koji može na razli-

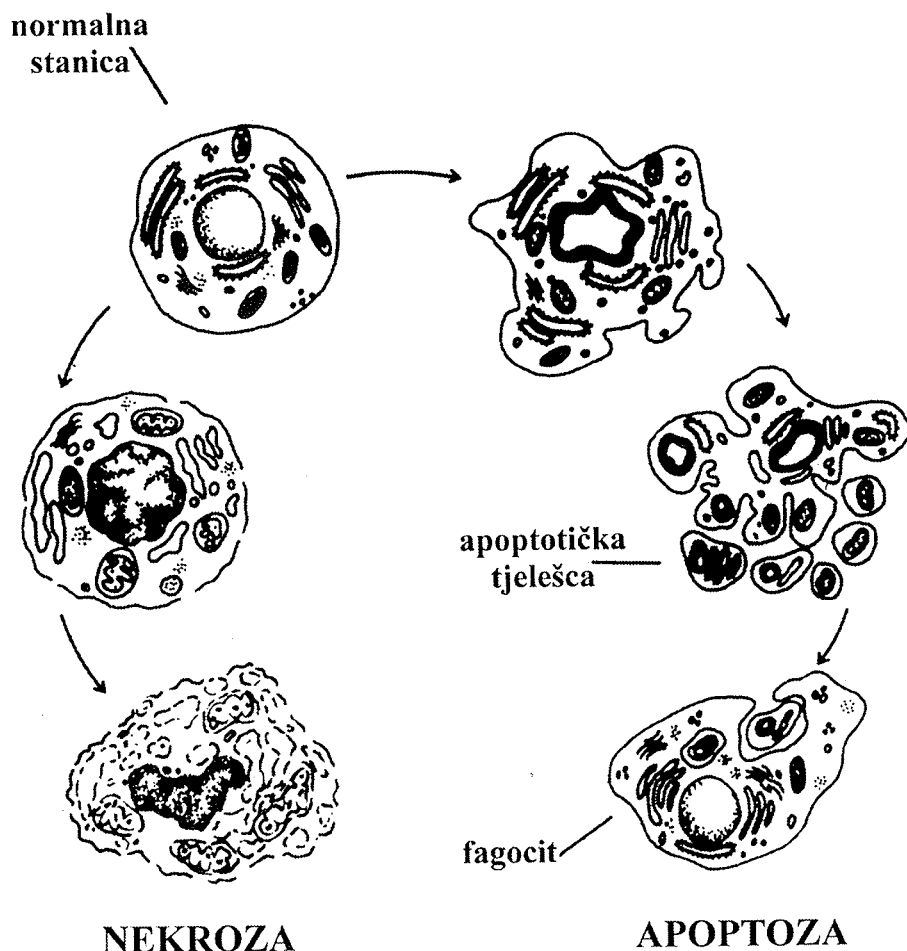
čite načine poremetiti metabolizam i oštetiti biološki značajne makromolekule (3, 5).

## 2. SMRT STANICE

U nastojanju da održe homeostazu, stanice svoju građu i funkciju neprestano usklađuju s promjenama u okolini. Kada se stanica suoči s prekomjernim fiziološkim promjenama i/ili patološkim utjecajima, ona se može prilagoditi. Poprima tada promijenjeno, ali još uvijek stabilno, stanje koje osigurava opstanak i funkcioniranje stanice usprkos kontinuiranom stresu (atrofija ili hipertrofija). Međutim, kada se adaptacijska sposobnost stanice više nije u stanju oduprijeti stresu, nastaje oštećenje stanice. Stanično je oštećenje reverzibilno do određene točke, ali kod intenzivnog ili dugotrajnog stresa stanica podliježe nepovratnom oštećenju te je predodređena za smrt. Stanice najčešće umiru procesima nekroze i apoptoze (Slika 2).

### 2.1. Nekroza

Nekroza je jedan od načina umiranja stanica. Najčešće obuhvaća šira područja, tj. više stanica. Do nekroze dolazi isključivo zbog snažnih patoloških poticaja (teška mehanička, ishemijska ili toksična oštećenja). Rana promjena na nekrotičkoj stanici odnosi se na promjenu volumena stanice. Stanica bubri jer zbog oštećene transportne aktivnosti u membrani (inaktivacija  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPaze na staničnoj membrani) dolazi do ulaska vode i natrija u umiruću stanicu, što je obično popraćeno brzim porastom koncentracije unutarstaničnog kalcija. Elektronskim mikroskopom uočeno je da mitohondriji bubre i da sadržavaju guste nakupine i/ili kalcifikacije. U kasnijoj fazi dolazi do kariolize te do oštećenja integriteta i kidanja stanične membrane. Sadržaj citosola, uključujući i proteolitičke enzime, otpusti se u izvanstanični prostor pa dolazi do ozljede i upalnog odgovora u okolišu stanice (5, 9).



Slika 2. Morfološke karakteristike stanice u apoptozi i nekrozi  
Figure 2. Morphological characteristics of apoptotic and necrotic cell

## 2.2. Apoptoza

Višestanični organizmi često se moraju riješiti stanica koje su prisutne u suvišku, koje smetaju ili koje su potencijalno opasne te za to koriste aktivni molekularni program. Ljudsko tijelo sastoji se od oko  $10^{14}$  stanica od kojih svaka može umrijeti procesom apoptoze. Apoptoza je organiziran, visoko reguliran način umiranja stanice kojim se omogućava stroga kontrola broja stanica i veličine tkiva, kao i zaštita od stanica koje mogu poremetiti homeostazu. Naziva se i programiranom smrću stanice, jer proces ovisi o kontroliranoj indukciji ekspresije određenih gena. Ovim procesom umiru pojedinačne stanice. Do apoptoze često dolazi u fiziološkim uvjetima tijekom razvoja, ali i zbog patoloških poticaja (slabijeg intenziteta nego kod nekroze). Rana promjena na stanici koja umire apoptozom odnosi se na smanjenje volumena stanice. Pretpostavlja se da se to zbiva zbog gubitka iona, vjerojatno kalija i klorida, a stimulirano je povećanjem koncentracije unutarstaničnog kalcija i posljedičnim izlaskom kalija kroz kalijeve kanale aktivirane kalcijem. Integritet stanične membrane pri tome ostaje nepromijenjen, iako se uočavaju mjehurići, što je vjerojatno rezultat odvajanja stanične membrane od citoskeleta. Citoplazma je kondenzirana, a organele ostaju sačuvane. Elektronskim mikroskopom može se uočiti da je endoplazmatski retikulum ponekad dilatiran, mitohondriji su kondenzirani, a dolazi i do kondenzacije i marginalnog nakupljanja kromatina u obliku jasno ograničenih, homogenih polumjesečastih tvorbi. U kasnijoj se fazi stanica fragmentira u tzv. apoptotička tjelešca koja sadrže kondenzirani kromatin jezgre i nazgled nepromijenjene citoplazmatske organele poput mitohondrija. Jezgra je uglavnom, ali ne i uvijek, fragmentirana. Kod procesa apoptoze *in vivo* uglavnom ne dolazi do upalnog odgovora, jer stanice i/ili fragmente fagocitiraju obližnji makrofagi pa ne dolazi do otpuštanja sadržaja citosola u izvanstanični prostor (5, 9, 14, 15).

Biološki odgovor stanice na ROS ovisi o: vrsti stanice, vrsti ROS, sposobnosti stanice da ukloni i detoksicira ROS (antioksidacijski sustav), redoks-statusu stanice, dužini vremena izlaganja ROS te o koncentraciji ROS (3-5, 9). Uglavnom se pokazalo da niske koncentracije ROS mogu inducirati apoptozu, dok nakupljanje visokih koncentracija potiče nekrozu (3, 9, 13, 16).

Teško je utvrditi jesu li oksidacijska događanja (tj. ROS i promjena redoks-statusa u stanici) posljedica ili uzrok smrti stanice (3, 9). Poka-

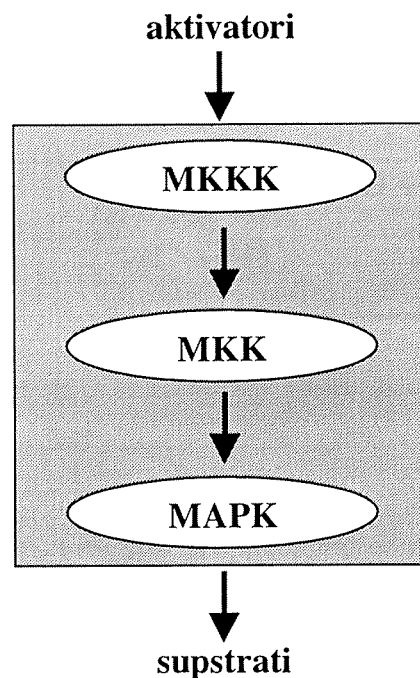
zalo se da egzogeni oksidansi induciraju apoptozu kod brojnih različitih vrsta stanica, ali nije utvrđeno služi li ROS i kao medijator apoptotičkih signala. Kasnija su istraživanja pokazala da brojni apoptotički agensi, koji nisu oksidansi, uzrokuju povećanje koncentracija ROS u stanici tijekom indukcije apoptoze te su ukazala na važnu ulogu ROS u prijenosu apoptotičkih signala (ROS kao medijatori apoptotičkih signala koje induciraju ti agensi) (17).

## 3. ROS I PROTEINSKE KINAZE

ROS djeluje na aktivnost tirozinskih i Ser/Thr kinaza na način da ili djeluje izravno na samu kinazu, ili djeluje na njezin aktivator ili, pak, djeluje na proteinske fosfataze (4).

Brojni poticaji, poput ROS, aktiviraju Ser/Thr kinaze poznate kao proteinske kinaze aktivirane mitogenima (MAPK). Osnovna je značajka signalnog puta MAPK evolucijski očuvan trokomponentni model aktivacije, a sastoji se od tri kinaze u slijedu koje se međusobno aktiviraju (4, 18) (Slika 3).

Prva kinaza u slijedu je kinaza kinaze MAPK (MKKK) koja se aktivira ili fosforilacijom kinazom kinaze kinaze MAPK (MKKKK) ili interakcijom s malim proteinima iz obitelji



Slika 3. Trokomponentni model aktivacije MAPK

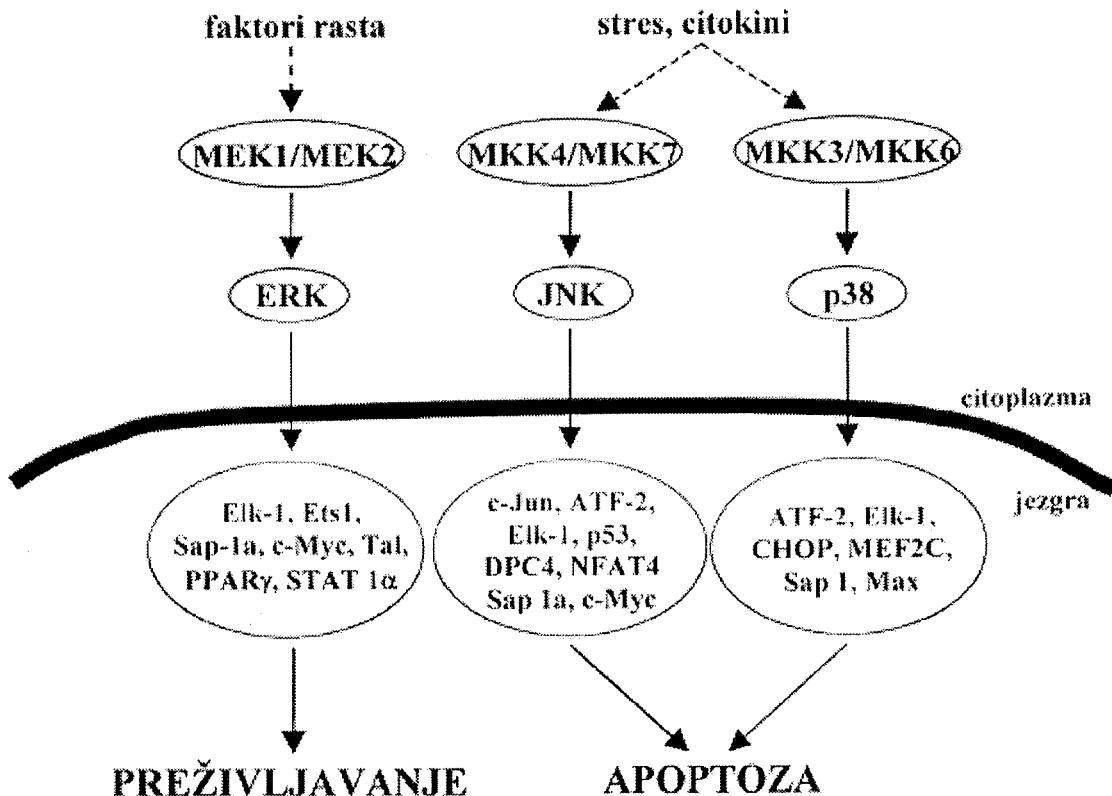
Figure 3. Three-component model for MAPK activation

*Ras* ili *Rho* koji vežu GTP. MKKK su serin-treoninske kinaze koje, kad se aktiviraju, fosforiliraju i aktiviraju sljedeću kinazu u slijedu, kinazu MAPK (MKK). MKK su kinaze koje prepoznaju i fosforiliraju treoninski i tirozinski ostatak unutar Thr-X-Tyr motiva aktivacijske omče MAPK (gdje "X" označava različite aminokiseline) pa se stoga ove kinaze nazivaju dvojno-specifičnim kinazama. MAPK su posljednje kinaze u slijedu trokomponentnog modela koje fosforiliraju supstrate na serinskim i treoninskim ostacima. MAPK su usmjerene ka prolinu i fosforiliraju samo one supstrate koji sadrže prolinski ostatak na P-1 mjestu unutar Pro-X-Ser/Thr-Pro slijeda. MAPK uglavnom fosforiliraju transkripcijske faktore, ali i brojne druge supstrate poput proteinskih kinaza, fosfolipaza, te proteina citoskeleta (19).

Četiri su glavna člana obitelji MAPK: kinaze regulirane izvanstaničnim signalima (ERK)-1/2, kinaze koje fosforiliraju N-kraj faktora transkripcije c-Jun (JNK), p38 MAPK i velika MAPK (BMK1/ERK5). Nedavno su otkriveni i neki drugi članovi obitelji MAPK (ERK3, ERK4, ERK7 i ERK8), ali je njihovo djelovanje zasad nedovoljno razjašnjeno. Aktivirane ERK-1/2 uglavnom potiču preživljavanje tj. prolifera-

raciju i diferencijaciju stanica, dok JNK i p38 (stresne kinaze) uglavnom potiču umiranje stanica procesom apoptoze. Smatra se da poremećaj ravnoteže između ERK-1/2 kinaza i stresnih kinaza znatno utječe na sudbinu stanica, tj. na njezinu odluku hoće li preživjeti ili umrijeti (4, 20) (Slika 4).

Članovi obitelji MAPK mogu se aktivirati različitim oksidansima. ERK-1/2 se vjerojatno aktiviraju neizravno pod djelovanjem ROS, tj. aktivacijom nekog gornjeg člana MAPK signalnog puta (13, 21-23). Za razliku od ERK-1/2, poznato je nekoliko mehanizama aktivacije stresnih kinaza s ROS: inaktivacija fosfataza koje održavaju JNK i p38 u defosforiliranom te stoga inaktivnom stanju i aktivacija kinaze regulirane apoptotičkim signalima 1 (ASK1). ASK1 je MAPKKK koja može stimulirati putove koji dovode do aktivacije i JNK i p38. Aktivacija ASK1 ovisi o tioredoksinu (Trx), regulacijskom proteinu osjetljivom na promjene redoks-statusa stanice. Trx se povezuje s N-krajem molekule ASK1, pri čemu dolazi do inaktivacije kinaze. ROS oksidiraju cisteinski ostatak Trx, on se tada otpušta iz kompleksa s ASK1 pri čemu se ASK1 ponovno aktivira i može aktivirati JNK i p38 MAPK (17, 24).



Slika 4. Utjecaj članova obitelji MAPK na preživljavanje stanica  
Figure 4. Effect MAPK family members activation on cell survival

#### 4. ROS I PROTEINSKE FOSFATAZE

Vjerojatno je glavni mehanizam aktivacije proteinskih kinaza s ROS inhibicija specifičnih fosfataza. Tri su glavne obitelji fosfataza u stanicama: tirozinske fosfataze, Ser/Thr fosfataze i dvojno-specifične (Thr/Tyr) fosfataze (4).

Najbolje su razjašnjena djelovanja ROS na aktivnost tirozinskih fosfataza (PTPaza) (4, 8). PTPaze imaju unutar svojih aktivnih mjesta cisteinski ostatak koji je neophodan za enzimsku aktivnost ovih fosfataza, jer on izravno sudjeluje u reakciji defosforilacije. Taj je cisteinski ostatak također vrlo osjetljiv na redoks-status stanice. ROS oksidiraju sulfhidrilnu skupinu cisteina koji se nalazi u aktivnom centru i ima odlučujuću ulogu u katalizi (4, 8, 13, 17, 25, 26). Ova je reakcija reverzibilna u prisutnosti staničnih reducirajućih agenasa, tj. reducensa (antioksidansi). Usprkos tome što mnogi proteini sadrže cistein, ovaj proces djeluje tek na neke od njih jer oksidacija sulfhidrilne skupine proteina s ROS ovisi o pKa ciljnog proteina. Kako bi došlo do oksidacije, pKa ciljnog proteina mora biti ispod 7,0, dok je pKa vrijednost većine cisteinskih ostataka u proteinima veća od 8,0 (4). Oksidacija kritičnog tiolnog ostataka može dovesti do inaktivacije proteina (ukoliko se tiolni ostatak nalazi u aktivnom mjestu) ili može promijeniti konformacijsko stanje proteina (ukoliko je tiolni ostatak uključen u formiranje disulfidne veze).

Dvojno-specifične (Thr/Tyr) fosfataze (dsPTPaze) specifično djeluju na članove obitelji MAPK, tj. defosforiliraju karakteristične tirozinske i treoninske ostatke neophodne za aktivaciju ovih molekula te na taj način inaktiviraju MAPK. dsPTPaze u svom aktivnom mjestu imaju taj važni cisteinski ostatak te je mehanizam regulacije ovih fosfataza s ROS isti kao i kod već spomenutih PTPaza (4).

Suprotno tome, Ser/Thr fosfataze (PPaze) nemaju ovaj bitni cisteinski ostatak u svom aktivnom mjestu te je i mehanizam njihove inaktivacije s ROS različit. ROS može djelovati ili izravno na metalne ione u aktivnom mjestu PPaza (oksidacija), ili može djelovati neizravno pri čemu se modificiraju aminokiselinski ostaci osjetljivi na redoks-status stanice (stvaranje disulfidnih veza između dva cisteinska ostatka koji se nalaze izvan aktivnog mjesta, ali unutar katalitičkih domena ovih fosfataza i neophodni su za enzimsku aktivnost te se PPaze inaktiviraju) (4, 27).

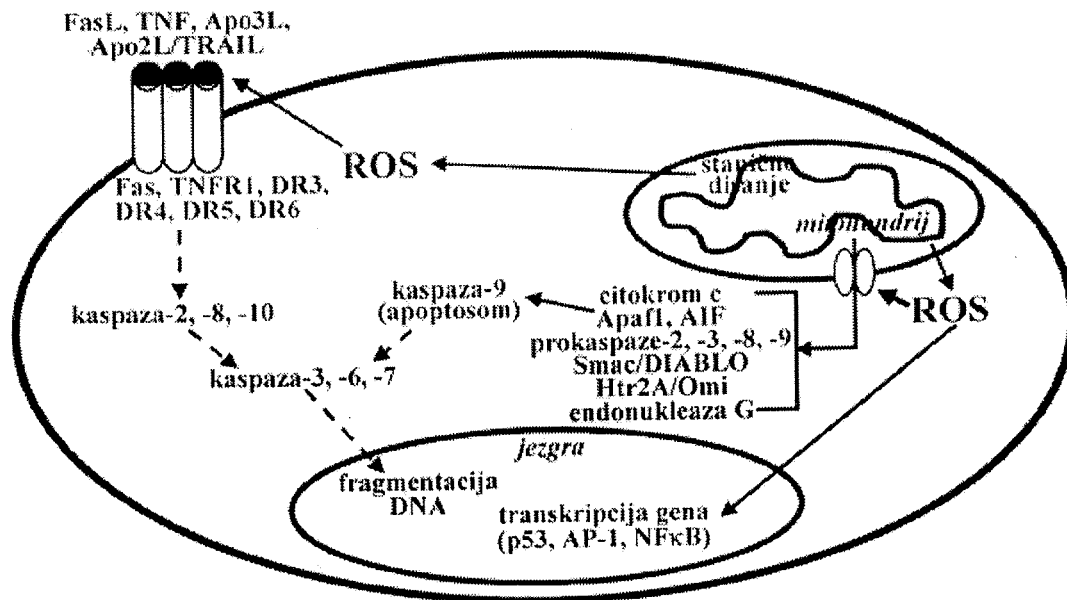
#### 5. ROS I PROTEAZE

Većinu morfoloških promjena stanica uzrokuje cisteinske proteaze koje tvore veliku obitelj enzima poznatu kao kaspaze. Do danas je kod sisavaca klonirano i djelomično karakterizirano 14 kaspaza, od kojih je kod čovjeka poznato 12 oblika. Iako se danas smatra da većina identificiranih kaspaza sudjeluje u procesu apoptoze, to ne vrijedi za sve članove ove obitelji. Kaspaze se funkcionalno mogu podijeliti u dvije glavne podobitelji: kaspaze koje sudjeluju u sazrijevanju citokina i kaspaze koje imaju važnu ulogu u apoptozi. U ovoj drugoj skupini razlikujemo inicijatorske kaspaze (kaspaze-8, -9 i -10) koje odgovaraju na pro-apoptotički poticaj, te efektorske kaspaze (kaspaze-3, -6 i -7) koje proteolitičkim kidanjem supstrata doprinose karakterističnom apoptotičkom fenotipu (9, 28).

Kaspaze se sintetiziraju u stanicama kao inaktivni prekursori (zimogeni) molekularne mase 30-50 kDa koji se sastoje od tri različite domene: prodomena na N-kraju koja može biti različite veličine, velika podjedinica ili p20 domena (oko 20 kDa) i mala podjedinica ili p10 domena (oko 10 kDa) (29, 30). Prekursori kaspaza su konstitutivno eksprimirani u živim stanicama. Zreli enzim je heterotetramer koji se sastoji od dva p20/p10 heterodimera i dva aktivna mjesta koja, najvjerojatnije, neovisno funkcioniraju (31).

Sve poznate kaspaze u svom aktivnom mjestu imaju cistein i kidaju supstrate iza asparaginske kiseline (Asp-X veza). Osim toga, posebnu specifičnost supstrata koje prepoznaju kaspaze određuju i četiri ostatka na N-kraju od mjesta kidanja (tetrapeptidni motiv prepoznavanja). Do danas je poznato oko sto supstrata kaspaza, a sigurno ih ima i puno više (31). Tako veliki broj supstrata može se objasniti na dva načina: ili je proces apoptoze još složeniji nego što se to trenutno smatra, ili mnogi od opisanih supstrata kaspaza nisu relevantni, već su tek "nedužni promatrači" slučajno zahvaćeni u procesu.

Kaspaze su izuzetno osjetljive na promjenu redoks-statusa u stanici te im je za funkcioniranje i za njihovu optimalnu aktivnost nužno potreban reducirajući okoliš (5, 9). U oksidirajućem okolišu u stanici, kaspaze se inaktiviraju jednim od dvaju mehanizama: oksidacijskom modifikacijom, tj. oksidacijom s ROS pri čemu se oksidira tiolna skupina katalitičkog cisteinskog ostatka u aktivnom mjestu kaspaza i nastaje R-S-OH (9, 16, 32, 33), te



Slika 5. Aktivacija kaskade kaspaza oksidansima

Figure 5. Oxidant-induced activation of caspases

S-nitrozilacijom, tj. izravnom inhibicijom aktivnosti s  $\text{NO}^\cdot$  pri čemu se  $\text{NO}^\cdot$  skupina prenosi na slobodnu tiolnu skupinu na proteinu i nastaje R-S-NO (9, 34-36).

Suprotno tome, ROS mogu i aktivirati kaspaze koje onda, djelovanjem na svoje supstrate, potiču umiranje stanica procesom apoptoze (Slika 5).

## 6. ZAKLJUČAK

Na kraju je potrebno istaknuti da oksidacijski stres ima istaknutu ulogu u biološkim procesima u stanici. Smatra se da je oksidacijski stres jedan od uzročnika brojnih bioloških i patoloških procesa poput starenja, upale, karcinogeneze, ishemijske-reperfuzije, kao i čitavog niza oboljenja poput šećerne bolesti, ateroskleroze i/ili neurodegenerativnih bolesti (5, 9). Stoga su istraživanja djelovanja oksidansa i antioksidansa neophodna za razumijevanje mehanizma nastanka i progresije različitih bolesti, kao i za razvijanje novih terapijskih strategija u njihovu liječenju.

## OXIDATIVE STRESS AND CELL DEATH

**ABSTRACT** - The intrinsic balance between life and death can be influenced by several environmental stresses. Reactive products of oxygen are amongst the most potent and omnipresent threats faced by the living organism. Intracellular accumulation of reactive oxygen species such as superoxide anion, hydrogen peroxide, hydroxyl radical, and peroxy radical, can arise from toxic insults or normal metabolic processes. These species may perturb the cell's natural antioxidant defence systems, resulting in damage to all of the major classes of biological macromolecules, including nuclear acids, proteins, carbohydrates, and lipids. Oxidative stress has been defined as a disturbance in the prooxidant-antioxidant balance, resulting in potential cell damage. It has been implicated in several biological and pathological processes like ageing, inflammation, carcinogenesis, ischemia-reperfusion, and in diseases including diabetes mellitus, atherosclerosis, and/or neurodegenerative diseases. This review stresses the effects of reactive oxygen species on the key molecules involved in cell survival and/or death.

**Key words:** Oxidative Stress, Reactive Oxygen Species, Cell Death



## LITERATURA

1. *Gridovich I.* Superoxide dismutase. *Ann Rev Biochem* 1975;44:147-159.
2. *Gerschman R, Gilbert DL, Nye SW, Dwyer P, Fenn WO.* Oxygen poisoning and X-irradiation: a mechanism in common. *Science* 1954;119:623-626.
3. *Fleury C, Mignotte B, Vayssiere JL.* Mitochondrial reactive oxygen species in cell death signaling. *Biochimie* 2002;84:131-141.
4. *Maher P, Schubert D.* Signaling by reactive oxygen species in the nervous system. *Cell Mol Life Sci* 2000;57:1287-1305.
5. *Curtin JF, Donovan M, Cotter TG.* Regulation and measurement of oxidative stress in apoptosis. *J Immunol Methods* 2002;265:49-72.
6. *Fernandez-Checa JC, Garcia-Ruiz C, Colell A, Morales A, Mari M, Miranda M, Ardite E.* Oxidative stress: role of mitochondria and protection by glutathione. *Biofactors* 1998;8:7-11.
7. *Chance B, Sies H, Boveris A.* Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol Rev* 1979;59:527-605.
8. *Chiarugi P, Cirri P.* Redox regulation of protein tyrosine phosphatases during receptor tyrosine kinase signal transduction. *Trends Biochem Sci* 2003;28:509-514.
9. *Chandra J, Samali A, Orrenius S.* Triggering and modulation of apoptosis by oxidative stress. *Free Radic Biol Med* 2000;29:323-333.
10. *Pinkus R, Weiner LM, Daniel V.* Role of oxidants and antioxidants in the induction of AP-1, NF- $\kappa$ B, and glutathione S-transferase gene expression. *J Biol Chem* 1996;271:13422-13429.
11. *Clement MV, Pervaiz S.* Reactive oxygen intermediates regulate cellular response to apoptotic stimuli: a hypothesis. *Free Radic Res* 1999;30:247-252.
12. *Burdon RH.* Control of cell proliferation by reactive oxygen species. *Biochem Soc Trans* 1996;24:1028-1032.
13. *Hancock JT, Desikan R, Neill SJ.* Role of reactive oxygen species in cell signalling pathways. *Biochem Soc Trans* 2001;29:345-350.
14. *Lieberthal W, Levine JS.* Mechanisms of apoptosis and its potential role in renal tubular epithelial cell injury. *Am J Physiol* 1996;271:F477-F488.
15. *Schulte-Hermann R, Bursch W, Grasl-Kraupp B, Marian B, Török L, Kahl-Rainer P, Ellinger A.* Concepts of cell death and application to carcinogenesis. *Toxicol Pathol* 1997;25:89-93.
16. *Hampton MB, Orrenius S.* Dual regulation of caspase activity by hydrogen peroxide: implications for apoptosis. *FEBS Lett* 1997;414:552-556.
17. *Carmody RJ, Cotter TG.* Signalling apoptosis: a radical approach. *Redox Report* 2001;6:77-90.
18. *Owuor ED, Kong T.* Antioxidants and oxidants regulated signal transduction pathways. *Biochem Pharmacol* 2002;64:765-770.
19. *Widmann C, Gibson S, Matthew BJ, Johnson GL.* Mitogen-activated protein kinase: conservation of a three-kinase module from yeast to human. *Physiol Rev* 1999;79:143-180.
20. *Xia Z, Dickens M, Raingeaud J, Davis RJ, Greenberg ME.* Opposing effects of ERK and JNK-p38 MAP kinases on apoptosis. *Science* 1995;270:1326-1331.
21. *Guyton KZ, Liu Y, Gorospe M, Xy Q, Holbrook NJ.* Activation of mitogen-activated protein kinase by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *J Biol Chem* 1996;271:4138-4142.
22. *Baas AS, Berk BC.* Differential activation of mitogen-activated protein kinases by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and O<sub>2</sub><sup>-</sup> in vascular smooth muscle cells. *Circ Res* 1995;77:29-36.
23. *Lander HM, Ogiste JS, Teng KK, Novogrotsky A.* p21<sup>ras</sup> as a common signaling target of reactive free radicals and cellular redox stress. *J Biol Chem* 1995;270:21195-21198.
24. *Gotoh Y, Cooper JA.* Reactive oxygen species and dimerization-induced activation of apoptosis signal-regulating kinase 1 in tumor necrosis factor- $\alpha$  signal transduction. *J Biol Chem* 1998;273:17477-17482.
25. *Sullivan SG, Chiu DTY, Errasfa M, Wang JM, Qi JS, Stern A.* Effects of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on protein tyrosine phosphatase activity in Her14 cells. *Free Rad Biol Med* 1994;16:399-403.
26. *Denu JM, Tanner KG.* Specific and reversible inactivation of protein tyrosine phosphatases by hydrogen peroxide: evidence for a aulfenic acid intermediate and implications for redox regulation. *Biochemistry* 1998;37:5633-5642.
27. *Denu JM, Stuckey JA, Saper MA, Dixon JE.* Form and function in protein dephosphorylation. *Cell* 1996;87:361-364.
28. *Nicholson DW.* From bench to clinic with apoptosis-based therapeutic agents. *Nature* 2000;407:810-816.
29. *Hergartner MO.* The biochemistry of apoptosis. *Nature* 2000;407:770-776.
30. *Thornberry NA, Lazebnik Y.* Caspases: enemies within. *Science* 1998;281:1312-1316.
31. *Earnshaw WC, Martinis LM, Kaufmann SH.* Mammalian caspases: structure, activation, substrates, and function during apoptosis. *Annu Rev Biochem* 1999;68:383-424.
32. *Samali A, Nordgren H, Zhivotovsky B, Peterson E, Orrenius S.* A comparative study of apoptosis and necrosis in HepG2 cells: oxidant-induced caspase inactivation leads to necrosis. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;255:6-11.
33. *Nobel CS, Burgess DH, Zhivotovsky B, Burkitt MJ, Orrenius S, Slater AF.* Mechanism of dithiocarbamate inhibition of apoptosis: thiol oxidation by dithiocarbamate disulfides directly inhibits processing of the caspase-3 proenzyme. *Chem Res Toxicol* 1997;10:636-643.
34. *Melino G, Bernassola F, Knight RA, Corasaniti MT, Nistico G, Finazzi-Agro A.* S-nitrosylation regulates apoptosis. *Nature* 1997;388:432-433.
35. *Haendeler J, Weiland U, Zeiher AM, Dimmeler S.* Effects of redox-related congeners of NO on apoptosis and caspase-3 activity. *Nitric Oxide* 1997;1:282-293.
36. *Li J, Billiar TR, Talanian RV, Kim YM.* Nitric oxide reversibly inhibits seven members of the caspase family via S-nitrosylation. *Biochem Biophys Res Commun* 1997;240:419-424.