

Genetyka obrony antyoksydacyjnej

Genetics of antioxidant defence

Marta Gawłowska, Jolanta Rabe-Jabłońska

Klinika Zaburzeń Afektywnych i Psychotycznych, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Neuropsychiatria i Neuropsychologia 2008; 3, 2: 37–46

Adres do korespondencji:

dr med. Marta Gawłowska
Klinika Zaburzeń Afektywnych i Psychotycznych,
Uniwersytet Medyczny w Łodzi
ul. Czechostowacka 8/10, 92-216 Łódź

Streszczenie

Równowaga pomiędzy aktywnością wolnych rodników i antyoksydantów jest kluczowym elementem w regulacji takich procesów komórkowych, jak wzrost, rozwój, różnicowanie oraz funkcje metaboliczne. Uważa się, że zaburzenie tego stanu (*stres oksydacyjny*) może leżeć u podłoża wielu chorób oraz przemian związanych z procesami starzenia się organizmu, prowadząc do powstania uszkodzeń na poziomie molekularnym, komórkowym i tkankowym.

Celem niniejszej pracy poglądowej jest prześledzenie aktualnych doniesień na temat funkcji enzymów zaangażowanych w mechanizmy ochrony antyoksydacyjnej, a także znaczenia opisywanych w ich obrębie wariantów genetycznych w patogenezie licznych chorób. Udział poszczególnych polimorfizmów genetycznych i mutacji w obrębie tych genów w rozwoju wielu chorób somatycznych został już dobrze udokumentowany.

Obecnie coraz więcej uwagi poświęca się możliwości udziału tych samych mechanizmów w rozwoju zaburzeń neurologicznych i psychiatrycznych. Szczególnie istotne wydają się badania nad patogenezą chorób psychicznych, ze względu na wciąż niedostateczną wiedzę na temat ich przyczyn. Korzystając z zasobów baz HGMD (*Human Gene Mutation Database*) i OMIM (*Online Mendelian Inheritance in Man*), a także z aktualnego piśmiennictwa światowego udostępnianego przez serwis PubMed, autorzy pracy starali się podsumować najważniejsze doniesienia dotyczące wpływu poszczególnych wariantów genów dla białek zaangażowanych w procesy ochrony antyoksydacyjnej na fenotyp kliniczny.

Słowa kluczowe: stres oksydacyjny, polimorfizmy genetyczne, mutacje

Znaczenie polimorfizmów genetycznych dla kształtowania fenotypu organizmu

Z badań molekularnych wynika, że zmienności genetyczne występują ze stosunkowo dużą częstością, a SNPs (ang. *single nucleotide poly-*

Abstract

The balance between free radicals and antioxidants activities is the crucial element in the regulation of many processes such as cell growth, development, differentiation and metabolism. It is assumed that dysregulation of that state (*oxidative stress*) may lead to many diseases and alterations connected with aging, being the cause of molecular, cellular and tissue malfunctions.

The aim of this review is to provide insight into the actual reports concerning the function of enzymes involved in the antioxidant defense and the importance of their particular genetic variants in pathogenesis of many disorders. The fact that certain SNPs and mutations in these genes may be the key event in the pathogenesis of many somatic disorders is now well documented and unquestionable. Currently major efforts are taken to test the possibility whether the same mechanisms may be involved in the pathogenesis of neurological and psychiatric diseases. Which is especially important for the latter because of the fact that the origins of these conditions are still mostly uncertain. Using the HGMD (Human Gene Mutation Database) and OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man) databases as well as the plethora of sources provided by PubMed, the authors of these review made an effort to summarize the most important reports concerning the influence of genetic variations in the genes coding proteins which are involved in antioxidant defense mechanisms on human phenotype.

Key words: oxidative stress, genetic polymorphisms, mutations

morphisms) stanowią ok. 90% wszystkich różnic w sekwencji kodu genetycznego. Zakładając, że w ludzkim genomie występuje kilka milionów takich polimorfizmów, z czego pewna część – w regionach kodujących lub regulatorowych, jest wysoce prawdopodobne, że większość ge-

nów jest nośnikami zmienności o potencjalnym znaczeniu biologicznym. Znacząca większość SNPs nie wpływa w sposób znaczący na fenotyp. Potencjalnie znaczące mogą być te zmiany w genotypie, które wpływają bezpośrednio na:

- aktywność regionów promotorowych (mutacje w regionach regulatorowych),
- funkcję białek (mutacje powodujące zamianę jednego aminokwasu na inny),
- stabilność mRNA (zmiany w obrębie niekodujących sekwencji egzonalnych),
- zaburzenia/zmienności splicingu (mutacje w intronach).

Wykazanie możliwego wpływu danego polimorfizmu na fenotyp wymaga potwierdzenia w postaci jego skorelowania ze zmienionym stężeniem danego białka bądź jego aktywności.

W przypadku badań nad podłożem genetycznym stresu oksydacyjnego, znaczenie biologiczne stwierdzonych odrębności powinno być określone w odniesieniu do bezpośrednich wskaźników stresu oksydacyjnego, takich jak:

- pomiar uszkodzeń tkankowych,
- poziom tworzenia wolnych rodników,
- potencjał antyoksydacyjny,
- poziom odpowiednich czynników transkrypcyjnych.

Geny ochrony antyoksydacyjnej, ich właściwości i polimorfizmy

Dysmutaza ponadtlenkowa 1

Gen SOD1 zawiera sekwencję dla dysmutazy ponadtlenkowej 1 – głównego cytoplazmatycznego białka enzymatycznego, które katalizuje reakcję dysmutacji anionorodnika ponadtlenkowego do nadtlenu wodoru i tlenu cząsteczkowego, zapewniając w ten sposób ochronę przed szkodliwym działaniem rodników tlenowych (Niwa i wsp. 2007). Rozpuszczalne białko SOD1 jest metaloproteina, składającą się z części białkowej (apoenzymu) oraz katalitycznej grupy prostetycznej w postaci atomów cynku i miedzi. Gen dla tego białka mapowany jest na chromosomie 21q22 (Sherman i wsp. 1983). W bazie HGMD (*Human Gene Mutation Database*) jest obecnie zarejestrowanych 110 mutacji w obrębie tego genu, z czego większość wiąże się z występowaniem rodzinnej postaci stwardnienia zanikowobocznego – FALS (ang. *familial amyotrophic lateral sclerosis*), a kolejne 3 stanowią podłoże molekularne schorzenia neuronów ruchowych – MND (ang. *motor neurone disease*) (<http://www.hgmd.cf.ac.uk>). Z poznanych dotychczas mutacji w CuZnSOD 96 stanowią sub-

stytucje nukleotydów (typu *missense* lub *nonsense*), 10 – mutacje typu indels (insercje lub delekcje), a 4 – powodują zaburzenia procesu składania genów (splicingu).

Grupa Rosena (Rosen i wsp. 1993) jako jedna z pierwszych zajęła się badaniem możliwych związków pomiędzy występowaniem mutacji w regionie kodującym SOD1 a rozpoznaniem FALS, wykazując wśród 13 przebadanych rodzin 11 różnych mutacji typu *missense*. Rok później ten sam zespół (Rosen i wsp. 1994) potwierdził, że najczęściej rozpoznawaną mutacją w przypadkach FALS jest tranzycja A na G, powodująca zastąpienie glutaminianu glicyną i wiążąca się z klinicznie ciężkim przebiegiem choroby. Badacze ci przedstawili także dwa alternatywne mechanizmy prowadzące do rozwoju zmian charakterystycznych dla FALS – zmniejszenie aktywności SOD1, powodujące akumulację toksycznych rodników nadtlenkowych, bądź zwiększenie aktywności białka enzymatycznego, skutkujące wzmożoną produkcją nadtlenu wodoru i wysoce toksycznych rodników hydroksylowych, które mogą powstawać w trakcie reakcji nadtlenu wodoru z metalami, takimi jak żelazo (Rosen i wsp. 1993). Dotychczasowe badania nie potwierdzają obecności związku pomiędzy stwierdzanymi mutacjami SOD1 a występującymi sporadycznie postaciami ALS (ang. *amyotrophic lateral sclerosis*) (Broom i wsp. 2004), stanowiącymi ponad 90% wszystkich rozpoznawanych przypadków.

Myszy transgeniczne wykazujące wysoką ekspresję ludzkiego enzymu SOD1 rozwijają spektrum zmian neurodegeneracyjnych w obrębie OUN, obejmujące pogrubienie i wakuolizację mitochondriów, degenerację aksonów oraz ubytek motoneuronów rdzeniowych z towarzyszącymi łagodnego stopnia zaburzeniami ruchowymi (Jaarsma i wsp. 2000).

Zidentyfikowano cztery różne izoformy mózgowego enzymu SOD1, z których jedna (izoforma pI 5,0) ulega selektywnej akumulacji w badanych preparatach tkanki mózgowej pacjentów z chorobą Alzheimera (ang. *Alzheimer disease* – AD) i chorobą Parkinsona (ang. *Parkinson disease* – PD) (Choi i wsp. 2005). Wykazano, że cysteina w pozycji 146, która jest jednym z najczęstszych miejsc mutacji w obrębie SOD1 obserwowanych w FALS, ulega oksydacji do kwasu cysteinowego w mózгах osób z AD i PD. Całkowity poziom izoform SOD1 jest znacząco zwiększony zarówno w AD, jak i w PD. W AD obserwuje się ponadto obecność agregatów SOD1, związanych z amyloidowymi płytkami starczymi oraz obszarami zwyrod-

nienia włókienkowego, co może sugerować obecność udziału wspólnych lub nakładających się mechanizmów patogenetycznych w FALS oraz AD i PD.

Dysmutaza ponadtlenkowa 2

Kodowana przez gen SOD2 dysmutaza ponadtlenkowa 2 jest indolofenoloooksydazą, zawierającą w swojej cząsteczce centrum aktywne w postaci atomu manganu. Jej lokalizacja komórkowa obejmuje mitochondria, gdzie stanowi pierwszą linię obrony przeciwko nadtlenu powstającemu jako produkt pośredni w procesie fosforylacji tlenowej. W odróżnieniu od białka SOD1, które stanowi homodimer, białko SOD2 funkcjonuje jako tetramer złożony z czterech 196-aminokwasowych łańcuchów. Kodowane jest przez pojedynczy gen zlokalizowany na chromosomie 6q25.3-qter (Church i wsp. 1992).

Opisano jedynie dwie mutacje w obrębie genu dla SOD2 (<http://www.hgmd.cf.ac.uk>). Najwięcej uwagi poświęca się tranzycji C47T, która skutkuje zastąpieniem alaniny (GCT) walinią (GTT) w kodonie 16 (Rosenblum i wsp. 1996). Genotyp SOD2-VV (homozygotyczność alleli waliny *vs* alaniny) wykazuje związek z występowaniem sporadycznej postaci idiopatycznej kardiomiopatii rozstrzeniowej – IDC (ang. *nonfamilial idiopathic dilated cardiomyopathy*) (Hiroi i wsp. 1999), nefropatii w przebiegu cukrzycy typu 2 (Nomiya i wsp. 2003), a także wiąże się z kardiomiopatią w przebiegu rodzinnej hemochromatozy – HH (ang. *hereditary hemochromatosis*) w mechanizmie zależnym od nadmiernej akumulacji żelaza oraz zaburzonej oksydacji związanej ze zmniejszoną aktywnością enzymu SOD2 (Valenti i wsp. 2004). Genotypowi SOD2-AA najczęściej przypisuje się związek ze zwiększonym ryzykiem rozwoju nowotworów jelita grubego (Stoehlmacher i wsp. 2002), prostaty (Woodson i wsp. 2003), choroby Parkinsona (Shimoda-Matsubayashi i wsp. 1996) czy sporadycznej postaci schorzenia neuronów ruchowych (Van Landeghem i wsp. 1999). Nie potwierdziły się wcześniejsze obserwacje, aby powyższy genotyp stanowił niezależny czynnik ryzyka rozwoju nowotworów piersi (Egan i wsp. 2003; Millikan i wsp. 2004).

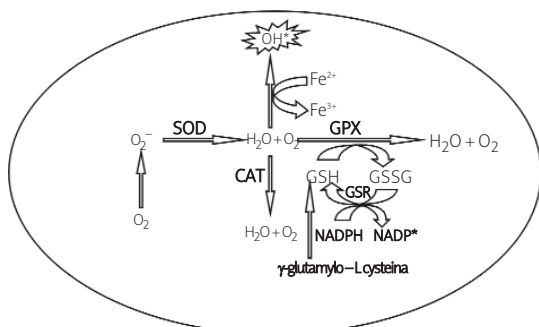
W badaniu grupy Li (Li i wsp. 1995) myszy z inaktywowanym genem umierały w 10. dobie życia na skutek kardiomiopatii, akumulacji lipidów w komórkach wątroby i mięśni szkieletowych oraz ciężkiej kwasicy metabolicznej.

Znokautowane myszy poddane działaniu mitemyktu SOD2 (MnTBAP) przeżywały, jednak-

że rozwijały się u nich ciężkie zaburzenia motoryczne, znajdujące odzwierciedlenie w badaniach neuropatologicznych, w postaci zwyrodnienia gąbczastego kory i jąder pnia mózgu oraz wakuolizacji i gliozy – podobnych do obserwowanych w przebiegu zaburzeń o udowodnionym związku z zaburzeniami mitochondrialnymi, takich jak choroba Leigha czy Canavana (Melov i wsp. 1998). Autorzy uznali ten fakt za pośredni dowód na udział wolnych rodników tlenowych w patogenezie chorób neurodegeneracyjnych i prawdopodobny związek mutacji SOD z ich występowaniem. Najnowsze badania nie potwierdzają jednak związku występowania polimorfizmu C47T ze zwiększonym ryzykiem występowania choroby Parkinsona (Farin i wsp. 2001) czy choroby Alzheimer (Ventriglia i wsp. 2005). Próbuąc określić możliwy udział powyższego polimorfizmu z występowaniem schizofrenii, uzyskano początkowo zachęcające rezultaty, potwierdzające częstsze występowanie genotypu SOD2-AA wśród pacjentów z tym rozpoznaniem (Akyol i wsp. 2005), a także rzadziej obserwowane późne dyskinezy w tej grupie (Hori i wsp. 2000). Najnowsze badania przeprowadzone w populacji azjatyckiej nie potwierdzają istnienia takiej zależności (Pae i wsp. 2007).

Dysmutaza ponadtlenkowa 3

Zlokalizowana pozakomórkowo dysmutaza ponadtlenkowa 3 (SOD3) jest tetrameryczną glikoproteiną wydzielniczą, zawierającą w swojej cząsteczce zarówno miedź, jak i cynk. Białko to w najwyższym stężeniu obecne jest w osoczu, limfie oraz płynie maziówkowym. W odróżnieniu od pozostałych izoform SOD, SOD3 ma unikalną właściwość wiązania się na powierzchni komórek endotelium, umożliwiając w ten sposób eliminację wolnych rodników generowanych przez NADP-zależne systemy oksydacyjne neutrofilii. Gen dla SOD3 mapowany jest w regionie chromosomu 4p15.3-p15.1 (Stern i wsp. 2003). Transwersja C760G powodująca zamianę w kodonie 213 z CGG (arginina) na GGG (glicyna) jest odpowiedzialna za obserwowane u części populacji zwiększenie stężenia SOD3 w surowicy – prawdopodobnie skutek zmniejszenia jej powinowactwa do heparyny (Sandstrom i wsp. 1994). W prospektywnym badaniu populacyjnym (Juul i wsp. 2004) wykazano związek tego polimorfizmu (213Gly), powodującego upośledzenie ochrony antyoksydacyjnej, z występowaniem choroby niedokrwiennej serca, z ryzykiem ok. 1,5 raza wyższym u heterozygot w porównaniu z osobnikami o genotypie 213Arg.



Ryc. 1. Najważniejsze enzymy komórkowe odpowiedzialne za eliminację wolnych rodników tlenowych lub zwiększenie pojemności antyoksydacyjnej (SOD – dysmutaza nadadtlenkowa, CAT – katalaza, GPX – peroksydaza glutationowa, GSR – reduktaza glutationowa, GLC – ligaza γ -glutamyl-L-cysteinyłowa)

Peroksydaza glutationowa 1

Peroksydaza glutationowa 1 (GPX1) jest jednym z kilku białek spotykanych u wyższych kręgowców, zawierających w miejscu katalitycznym unikatowy aminokwas wiążący selen – selenocysteinę. Enzym ten jest zaangażowany w procesy detoksyfikacji nadtlenu wodoru, a jego największe ilości występują w erytrocytach, komórkach nerek i wątroby. Lokalizacja genu dla GPX1 to chromosom 3p21.3 (Kiss i wsp. 1997). Wykazano (Moscov i wsp. 1992) obecność polimorficznej sekwencji w obrębie egzonu 1 genu dla GPX1 o charakterze różnej liczby powtórzeń sekwencji GCG. Poszczególne allele występują z różną częstością w populacji. Nie udowodniono, aby występowanie któregośkolwiek z nich wiązało się ze zmniejszoną aktywnością genu (Shen i wsp. 1994). W obrębie omawianych alleli wykazano również obecność trzech różnych substytucji nukleotydowych, z których jedna skutkuje zamianą aminokwasu w pozycji 198 (Pro198Leu) (Moscov i wsp. 1994). Dużo uwagi poświęca się możliwej roli genotypu GPX1 w patogenezie nowotworów. Badając powyższy polimorfizm (Pro198Leu), wykazano, że częstotliwość występowania allelu 198Leu jest silnie skorelowana ze wzrostem ryzyka rozwoju nowotworów płuc (Ratnasinghe i wsp. 2000) oraz piersi (Hu i Diamond 2003). Wykazano także, że w przebiegu rozwoju licznych nowotworów, m.in. płuc, piersi, głowy i szyi, może dochodzić do utraty heterozygotyczności (ang. *loss of heterozygosity* – LOH) w *locus* dla GPX1 (Hu i wsp. 2004; Hu i Diamond 2003; Moscov i wsp. 1994). Zjawisko utraty regionów chromosomalnych, będących nośnikami dla genów supresorowych, jest kluczowym etapem w rozwoju nowotworów nabłonkowych i mezenchymalnych, a stwierdzenie utraty heterozygotyczności w da-

nym *locus* może być czułym markerem rozpoczynającej się kancerogenezy (Weinberg 1994).

Badania na modelach zwierzęcych potwierdzają protekcyjną rolę peroksydazy glutationowej w stosunku do działania stresu oksydacyjnego. Znokautowane myszy wykazują m.in. większą wrażliwość na działanie oksydantów (de Haan i wsp. 1998) oraz szybszą progresję zmian związanych z ich działaniem (Reddy i wsp. 2001). Prawidłowa ekspresja genu GPX1 zapobiega rozwojowi zapalenia mięśnia sercowego u myszy poddanych działaniu czynników wirusowych (Beck i wsp. 1998), a nadekspresja – niekorzystnemu remodelingowi mięśnia sercowego oraz rozwojowi jego niewydolności po epizodach niedokrwienych (Shiomi i wsp. 2004). Potwierdzono (Blankenberg i wsp. 2003), że poziom aktywności tego enzymu jest także ważnym czynnikiem predyktorowym epizodów sercowo-naczyniowych u ludzi. Obserwacje zwierząt ze zwiększoną ekspresją białka GPX1 potwierdziły także jego możliwy udział w rozwoju insulinooporności. W porównaniu z myszami z prawidłową ekspresją enzymu, badane zwierzęta wykazywały objawy hiperglikemii, hiperinsulinemii oraz zwiększone stężenie leptyny, większą masę ciała i wyższą zawartość tłuszczu w tkankach (McClung i wsp. 2004).

Peroksydaza glutationowa 2

Cytozolowa selenozależna peroksydaza glutationowa 2 (GPX2) ulega ekspresji głównie w tkankach przewodu pokarmowego i odgrywa kluczową rolę protekcyjną w stosunku do toksycznych nadtlenu lipidowych (Chu i wsp. 1993). Gen dla GPX2 składa się z dwóch egzonów oraz pojedynczego intronu wielkości 2,6 kb i jest mapowany na chromosomie 14q24.1 (Chu i wsp. 1996). Opisano dwa polimorfizmy w obrębie intronu – pojedynczą transwersję A na T na końcu 5' oraz mikrosatelitarną sekwencję powtórzeń TC na końcu 3' (Chu i wsp. 1996). Do tej pory nie potwierdzono ich znaczenia funkcjonalnego.

O protekcyjnej funkcji tego enzymu w stosunku do działania toksycznych rodników tlenowych mogą pośrednio świadczyć wyniki badań na zwierzętach. U myszy ze znokautowanymi genami dla GPX1 oraz GPX2 znacznie częściej rozwijają się w jelitach zmiany o charakterze zapalnym lub nowotworowym na podłożu mutacji genetycznych o typie mikrodelecji lub powtórzeń pojedynczych nukleotydów – które są najczęściej opisywane jako związane z działaniem stresu oksydacyjnego (Lee i wsp. 2006).

Peroksydaza glutationowa 3

Peroksydaza glutationowa (GPX3) jest obecna głównie w osoczu, w mniejszym stopniu ulega ekspresji także w nerkach, płucach, sercu, sutku, wątrobie (wyłącznie u człowieka) i łożysku (Chu i wsp. 1992). Ma właściwości redukowania nadtlenków wodorowych, pochodzących z lipidów złożonych, takich jak np. fosfatydylocholina, choć ze znacznie mniejszą efektywnością w porównaniu z GPX4 (Brigelius-Flohe 1999). Gen dla GPX3 składa się z trzech egzonów i mapowany jest na chromosomie 5q32-q33.1 (Chu 1994). Nie opisywano żadnych polimorfizmów w obrębie tego genu.

Peroksydaza glutationowa 4

Fosfolipidowa wodoronadtlenkowa peroksydaza glutationowa (ang. *phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase* – PHGPX, czyli GPX4) jest wykrywalna w większości tkanek zarówno w postaci cytozolowej, jak i związanej z błonami komórkowymi. W odróżnieniu od pozostałych peroksydaz glutationowych, które mają postać tetrameryczną, GPX4 jest monomerem. Niewielkie rozmiary oraz właściwości hydrofobowe cząsteczek GPX4 sprawiają, że sprawdzają się one jako reduktory utlenowanych fosfolipidów (Ursini i wsp. 1985) i cholesterolu (Thomas i wsp. 1990) błon komórkowych. Gen dla GPX4 składa się z siedmiu egzonów i mapowany jest na chromosomie 19p13.3 (Kelner i Montoya 1998). Dotychczas scharakteryzowano potencjalnie alternatywny, tkankowo-specyficzny pierwszy egzon (Kelner i Montoya 1998). Badania na modelach zwierzęcych potwierdzają udział GPX4 w zapobieganiu rozwojowi apoptozy wywołanej działaniem stresu oksydacyjnego, głównie poprzez katalizowanie procesu usuwania hydroksylowanych fosfolipidów (kardiolipiny) (Ran i wsp. 2004) z wnętrza mitochondriów i wynikające z tego hamowanie uwalniania cytochromu c (Nakagawa 2004). Białko GPX4 warunkuje także prawidłowy przebieg procesu generowania ATP poprzez utrzymywanie prawidłowego potencjału błon mitochondrialnych w warunkach działania stresu oksydacyjnego (Liang i wsp. 2007).

Badania histopatologiczne jąder samców myszy transgenicznych, wykazujących wzmoczoną ekspresję GPX4 w okresie wczesnego różnicowania komórek płciowych, ujawniły wiele cech wskazujących na zaburzony przebieg spermatogenezy oraz obniżoną płodność tych osobników (Puglisi i wsp. 2007).

Selenoproteiny

Selen, będący jednym z najistotniejszych pierwiastków śladowych w organizmie, wbudowuje się w strukturę selenocysteiny – kluczowego aminokwasu wszystkich selenoprotein. Opisano co najmniej 12 różnych białek zawierających w strukturze selen. Selenoproteiny stanowią centra aktywne wielu enzymów zaangażowanych w procesy ochrony antyoksydacyjnej, metabolizmu hormonów tarczycy czy obrony przeciwwirusowej. Większość białek tej grupy należy do rodziny peroksydazy glutationowej lub dejodynazy jodotyroniny. Selenoproteina P (SEPP) nie należy do żadnej z tych rodzin (Hill i wsp. 1996). Jest pozakomórkowo zlokalizowaną glikoproteiną, występującą w postaci kilku izoform oraz jedyną selenoproteiną zawierającą kilka centrów selenocysteinowych (Hill i wsp. 1993). SEPP jest związana z komórkami nabłonkowymi i ma potwierdzony udział w procesach obrony antyoksydacyjnej w przestrzeni pozakomórkowej oraz transportu selenu z wątroby do tkanek obwodowych (Burk i wsp. 2003). Lokalizację chromosomalną genu dla SEPP określono na długim ramieniu chromosomu 5 (5q31) (Hill i wsp. 1996). W dystalnym regionie 5q mapowane są również geny odpowiedzialne za występowanie dystrofii obręczowo-kończynowej typu 1A (ang. *limb-girdle muscular dystrophy type 1A* – LGMD1A), co mogłoby sugerować możliwość udziału zmutowanych form genu SEPP w patogenezie tej choroby (Hill i wsp. 1996). Utrata krytycznego regionu 5q wykazuje także związek z występowaniem ostrej białaczki mieloidowej (ang. *acute myeloid leucocytosis* – AML) oraz zespołu mielodysplastycznego (ang. *myelodysplastic syndrome* – MDS) (Fairman i wsp. 1996). Powyższe dane są jednak kwestionowane, ponieważ w ostatnich latach *The International Radiation Hybrid Mapping Consortium* oznaczyło lokalizację SEPP1 na ramieniu krótkim chromosomu 5p11. Znaczenie dla przebiegu mechanizmów ochrony antyoksydacyjnej wykazano także w stosunku do selenoproteiny S – mapowanego na chromosomie 15q26.3 (Kryukov i wsp. 2003) genu, zaangażowanego w odpowiedź na stres w obrębie siateczki endoplazmatycznej oraz kontrolę przebiegu odpowiedzi zapalnej. Wykazano (Curran i wsp. 2005) wyraźny związek pomiędzy zlokalizowanym w obrębie promotora wariantem genu SEPS – G105A i aktywnością trzech cytokin o działaniu prozapalnym (IL-1, IL-6, TNF- α). Analiza funkcjonalna potwierdziła, że wariant A wiąże się z wyraźnie zaburzoną ekspresją genu SEPS po ekspozycji na czynniki stresowe dla retikulum.

Katalaza

Katalaza, obecna głównie w peroksysomach komórek ssaków, jest enzymem zbudowanym z 4 identycznych podjednostek, z których każda zawiera w centrum aktywnym grupę hemową oraz cząsteczkę NADPH. Wykazuje dwie aktywności – katalazową i peroksydazową. Przy dużym stężeniu nadtlenu wodoru główną jej funkcją jest udział w jego rozkładzie do wody i tlenu (aktywność katalazowa), przy małym stężeniu H_2O_2 dominuje aktywność peroksydazowa katalazy, a substratami są związki o charakterze donorów wodoru, np. etanol, metanol, fenol i inne. Enzym występuje w największym stężeniu w erytrocytach, hepatocytach oraz komórkach nabłonka nerkowego, a jego aktywność jest zależna od poziomu stresu oksydacyjnego (Hunt i wsp. 1998). Gen kodujący sekwencję białka zawiera 13 egzonów i jest zlokalizowany na chromosomie 11p13 (Quan i wsp. 1986). Wykryto co najmniej 8 możliwych polimorfizmów genetycznych w genie katalazy, z których 5 wiąże się z rozpoznaniem akatalazemii (dziedziczona autosomalnie recesywnie choroba związana jest z występowaniem katalazy erythrocytarnej na poziomie 0,2–4% wartości prawidłowych). W populacji japońskiej najczęściej opisywanymi mutacjami sprawczymi dla akatalazemii są powodująca zaburzenia splicingu tranzycja G na A w pozycji 5 czwartego egzonu (Wen i wsp. 1990) oraz delecja tyminy w pozycji 358 tego samego egzonu, skutkująca powstawaniem białka o skróconej długości łańcucha aminokwasowego (Hirono i wsp. 1995). Innymi spotykanymi w piśmiennictwie polimorfizmami w obrębie genu kodującego katalazę są T49C, T111C i T/C w intronie 1, A/G w intronie 7, A/G w dół od regionu poli (A) i w obrębie promotora, A/T w pozycji –21 (Wen i wsp. 1990), C/A w pozycji 20, C/T w pozycji –18 (Goth i Vitai 1997) oraz popularny polimorfizm T/C w pozycji –262 – wpływający zarówno na ekspresję białka enzymatycznego, jak i jego stężenie w krwinkach czerwonych (Forsberg i wsp. 2001). Wykazano częstsze występowanie cukrzycy wśród pacjentów z populacji węgierskiej, u których stwierdzono niedobór katalazy. Sugeruje to możliwość nadmiernego działania szkodliwego stresu oksydacyjnego na komórki beta trzustki w warunkach osłabionej ochrony antyoksydacyjnej (Goth i Eaton 2000). Badania molekularne potwierdziły związek pomiędzy rozpoznawanym nadciśnieniem samoistnym a występowaniem polimorfizmu pojedynczego nukleotydu (SNPs), zlokalizowanego w odległości 844 par zasad w górę od kodonu startowego genu dla katalazy (Jiang i wsp. 2001). Fenotyp TT wiązał się z występowaniem wyższe-

go ciśnienia tętniczego (BP) niż fenotyp CC, natomiast w przypadku heterozygot CT rejestrowano wartości pośrednie BP.

Myszy transgeniczne o zwiększonej ekspresji katalazy w obrębie mitochondriów wykazywały zwiększoną średnią i maksymalną długość życia w porównaniu ze zwierzętami o normalnej ekspresji białka (Schriner i wsp. 2005). U zmutozowanych zwierząt opóźnione były procesy przebudowy mięśnia sercowego i rozwój zaćmy, zmniejszone nasilenie uszkodzeń zależnych od stresu oksydacyjnego oraz osłabione powstawanie i zwiększona inaktywacja nadtlenu, co może przemawiać za słusznością wolnorodnikowej teorii starzenia.

Ligaza γ -glutamyl-cysteinyłowa

Enzym ten zbudowany jest z dwóch podjednostek – cięższej podjednostki o działaniu katalitycznym (GLCLC) oraz lżejszej – o właściwościach regulatorowych (GLCLR) (Sierra-Rivera i wsp. 1995). Podjednostka ciężka jest kodowana przez gen na krótkim ramieniu chromosomu 6 (6p12) (Sierra-Rivera i wsp. 1995), podjednostka lekka – na chromosomie 1 (1p22.1) (Rozet i wsp. 1998). Transwersja A na T w nukleotydzie 1109 GLCLC skutkuje zamianą histydyny w pozycji 370 na leucynę (His370Leu) i manifestuje się klinicznie jako anemia hemolityczna w wyniku niedoboru ligazy γ -glutamyl-cysteinyłowej (Beutler i wsp. 1999). Polimorfizm C129T w genie GLCLC, w którym allel T wiąże się z niższą aktywnością promotora w odpowiedzi na działanie nadtlenu wodoru (50–60% aktywności allelu C), klinicznie skutkuje osłabioną odpowiedzią rozkurczową tętnic wieńcowych i w związku z tym stanowi niezależny czynnik ryzyka występowania incydentów wieńcowych u nosicieli tego polimorfizmu (Koida i wsp. 2003). Zidentyfikowano także polimorfizm trójnukleotydowych powtórzeń GAG, zlokalizowany w górę od regionu kodującego GLCLC (10 par zasad od kodonu startowego na końcu 5') i wykazano w populacji kaukaskiej obecność trzech różnych alleli z odpowiednio 7, 8 lub 9 powtórzeniami (Walsh i wsp. 1996). Nowsze badania wskazują na możliwe znaczenie funkcjonalne powyższych polimorfizmów, podkreślając związek poszczególnych wariantów z odpowiednim stężeniem glutationu czy wrażliwością komórek na określone związki chemiczne (Walsh i wsp. 2001). Podobne zależności wykazano w stosunku do podjednostki lżejszej – GLCLR. Wykazano (Nakamura i wsp. 2002), że w populacji japońskiej występowanie allelu T

w pozycji -588 wiąże się z niższą aktywnością promotora dla tego genu w odpowiedzi na działanie oksydantów w porównaniu z allelem C i także stanowi niezależny czynnik ryzyka występowania incydentów wieńcowych. Prawdopodobny mechanizm tego zjawiska wiąże się ze zmniejszoną bioaktywnością śródbłonkowego tlenu azotu, co prowadzi do zaburzeń funkcji wazomotorycznych w obrębie tętnic wieńcowych (Nakamura i wsp. 2003). Zaobserwowano (Tosic i wsp. 2006), że wśród chorych na schizofrenię znacznie niższe są stężenia glutationu w płynie mózgowo-rdzeniowym, w okolicach kory przedczołowej *in vivo* oraz w obrębie prądkowia – oceniane *post mortem*. Korelują one z obniżoną wartością głównego enzymu zaangażowanego w syntezę glutationu – GLCLR. Znaczenie funkcjonalne polimorfizmów GLCLR w schizofrenii potwierdzają wyniki badań, wykazujące zmniejszoną ekspresję tego białka w fibroblastach pacjentów, a także osłabioną stymulację enzymu pod wpływem stresu oksydacyjnego. Dwie szczególne kombinacje trzech SNPs związanych z tym genem – TT/GG/TC oraz CC/GG/TT – wykazują ilorazy szans o wartościach, odpowiednio – 4,89 oraz 4,17. Również analiza polimorfizmów trójnukleotydowych powtórzeń w obrębie genu GLCLC wykazała związek niektórych wariantów ze zwiększonym ryzykiem występowania schizofrenii. Stwierdzono (Gysin i wsp. 2007), że najczęściej występującym genotypem wśród pacjentów był wariant 8 powtórzeń – stwierdzany 3 razy częściej niż w grupie kontrolnej. Ponadto badanych prezentujących genotypy związane ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia choroby charakteryzowała także zmniejszona ekspresja białka GLCLC, niższa aktywność ligazy γ -glutamilo-cysteinyłowej oraz zmniejszona zawartość glutationu w komórkach. Dane te przemawiają za udziałem zaburzeń mechanizmów kontroli stresu oksydacyjnego w rozwoju podłoża sprzyjającego rozwojowi schizofrenii.

Syntetaza glutationowa

Syntetaza glutationowa (GSS) jest jednym z dwóch, obok ligazy γ -glutamilo-cysteinyłowej, enzymów zaangażowanych w syntezę glutationu. *Locus* genowe dla genu GSS znajduje się na chromosomie 20 (20q11.2) (Webb i wsp. 1995). Dotychczas w bazie HGMD zarejestrowano 23 różne mutacje, które związane są z niedostateczną aktywnością enzymu i rozpoznaniem 5-oksoprolinurii. Klinicznie wyróżnia się dwie postaci niedoboru GSS: cięższą – uogólnioną, oraz łagodniejszą – związaną wyłącznie z erytro-

cytami. Postać uogólniona wiąże się ze zmniejszeniem stężenia glutationu w erytrocytach, leukocytach, fibroblastach i innych tkankach oraz objawami klinicznymi w postaci kwasicy metabolicznej, anemii hemolitycznej, żółtaczką oraz zwiększonego stężenia 5-oksoproliny. Bez leczenia choroba prowadzi do postępujących objawów neurologicznych wskutek utrzymującej się kwasicy metabolicznej. Postać erytrocytarna wiąże się z występowaniem miernie nasilonej anemii i ewentualnie – splenomegalii, zwykle bez towarzyszących objawów metabolicznych lub neurologicznych. Badania potwierdziły obecność 7 mutacji w obrębie genu GSS – 1 powodującą zaburzenia splicingu, 2 delecje oraz 4 mutacje nonsensowne, klinicznie objawiających się niedoborem tego enzymu (Shi i wsp. 1996). Zidentyfikowano (Dahl i wsp. 1997) 13 mutacji u pacjentów z ciężkimi postaciami niedoboru enzymu i różnym nasileniem objawów neurologicznych. Wyniki analiz biochemicznych pacjentów z tej grupy potwierdziły przynajmniej resztkową aktywność GSS, co sugeruje, że całkowity brak aktywności enzymu jest letalny. Stwierdzono (Njalsen i wsp. 2005) 27 różnych mutacji wśród 41 pacjentów z niedoborem syntetazy glutationowej oraz, że nasilenie objawów choroby nie zależy wyłącznie od poziomu aktywności enzymu, ale może być, przynajmniej częściowo, modyfikowane przez czynniki środowiskowe.

Reduktaza glutationowa

Dwa izoenzymy reduktazy glutationowej (GSR) – cytozolowy i mitochondrialny są kodowane przez pojedynczy gen zlokalizowany na krótkim ramieniu chromosomu 8 (8p21) (Sinet i wsp. 1977). Niedobór enzymu wiąże się z występowaniem postaci anemii hemolitycznej, w której zmniejszone są poziomy reduktazy glutationowej, jak i w konsekwencji glutationu (Loehr i Waller 1962). Opisano (Staal i wsp. 1969) postać anemii związanej z GSR, w której enzym wykazywał zmniejszone powinowactwo w stosunku do FAD (dinukleotydu flawinoadeninowego) i w której poprawę kliniczną uzyskiwano po podaniu witaminy B₁₂. Całkowity brak aktywności reduktazy glutationowej wiąże się z rozpoznaniem fawizmu lub zaćmy (Loos i wsp. 1976). Niedostateczna aktywność GSR może się także wiązać z zaburzeniami w zakresie wewnątrzkomórkowego zabijania bakterii (Roos i wsp. 1979). Opisano także przypadek zwiększonej aktywności reduktazy glutationowej u dziecka z odwróconą duplikacją tandemową w rejonie 8p23.1-p12 (Nevin i wsp. 1990).

Myszy wykazujące nadmierną ekspresję genów dla gliksoalazy 1 i reduktazy glutationowej 1 wykazują zwiększone nasilenie zachowań interpretowanych jako lękowe. Zablokowanie ekspresji gliksoalazy 1 powoduje zmniejszenie ich nasilenia. Ponieważ obydwa geny zaangażowane są w mechanizmy stresu oksydacyjnego, uznano to za pośredni dowód na udział tego mechanizmu w patogenezie zaburzeń lękowych (Hovatta i wsp. 2005).

Podsumowanie

Powyższe opracowanie z pewnością nie wyczerpuje wszystkich możliwych wariantów genetycznych, które mogą wpływać na przebieg mechanizmów determinujących powstawanie i zwalczanie stresu oksydacyjnego w komórkach ludzkiego organizmu. Pominięto w nim doniesienia o opisywanych wariantach genetycznych w grupie polimorficznych cytozolowych transferaz glutationowych oraz w grupie enzymów MAPEG – w większości o nieustalonych implikacjach klinicznych. Przyczozone przykłady obecności wpływu polimorfizmów na aktywność poszczególnych enzymów i występowanie zależnych od ich aktywności zaburzeń potwierdzają jednak istotną rolę przemian tlenowych w patomechanizmie licznych chorób. Przy obecnym stanie zaawansowania badań jest jeszcze za wcześnie, aby wyciągać daleko idące wnioski dotyczące funkcjonalnego znaczenia poszczególnych wariantów genetycznych.

Do uzyskania wiarygodnych danych, niezbędny jest dalszy rozwój wydajnych metod genotypowania oraz precyzyjny dobór osobników do poszczególnych badań. Dane uzyskane w nadchodzących latach mogą się okazać przełomowe do poznania kluczowych mechanizmów w patogenezie licznych chorób oraz określenia w nich roli stresu oksydacyjnego. Postępy w badaniach ludzkiego genomu oraz określanie kolejnych polimorfizmów są stosunkowo szybkie. Trudniejszym zadaniem może okazać się określenie znaczenia poszczególnych fenotypów. Jednak przy obecnym stanie zaawansowania metod biologii molekularnej i nieustannej wymianie informacji wydaje się to najlepszym i najszluszniejszym celem pracy naukowców.

Piśmiennictwo

1. Akyol O, Yanik M, Elyas H, et al. Association between Ala-9Val polymorphism of Mn-SOD gene and schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2005; 29: 123-131.
2. Beck MA, Esworthy RS, Ho YS, et al. Glutathione peroxidase protects mice from viral-induced myocarditis. *FASEB J* 1998; 12: 1143-1149.
3. Beutler E, Gelbart T, Kondo T, et al. The molecular basis of a case of gamma-glutamylcysteine synthetase deficiency. *Blood* 1999; 94: 2890-2894.
4. Blankenberg S, Rupprecht HJ, Bickel C, et al. Glutathione peroxidase 1 activity and cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 2003; 349: 1605-1613.
5. Brigelius-Flohe R. Tissue-specific functions of individual glutathione peroxidases. *Free Radic Biol Med* 1999; 27: 951-965.
6. Broom WJ, Parton MJ, Vance CA, et al. No association of the SOD1 locus and disease susceptibility or phenotype in sporadic ALS. *Neurology* 2004; 63: 2419-2422.
7. Burk RF, Hill KE, Motley AK. Selenoprotein metabolism and function: evidence for more than one function for selenoprotein P. *J Nutr* 2003; 133: 1517S-1520S.
8. Choi J, Rees HD, Weintraub ST, et al. Oxidative modifications and aggregation of Cu,Zn-superoxide dismutase associated with Alzheimer and Parkinson diseases. *J Biol Chem* 2005; 280: 11648-11655.
9. Chu FF. The human glutathione peroxidase genes GPX2, GPX3, and GPX4 map to chromosomes 14, 5, and 19, respectively. *Cytogenet Cell Genet* 1994; 66: 96-98.
10. Chu FF, Doroshov JH, Esworthy RS. Expression, characterization, and tissue distribution of a new cellular selenium-dependent glutathione peroxidase, GSHPx-GI. *J Biol Chem* 1993; 268: 2571-2576.
11. Chu FF, Esworthy RS, Doroshov JH, et al. Expression of plasma glutathione peroxidase in human liver in addition to kidney, heart, lung, and breast in humans and rodents. *Blood* 1992; 79: 3233-3238.
12. Chu FF, Rohan de Silva HA, Esworthy RS, et al. Polymorphism and chromosomal localization of the GI-form of human glutathione peroxidase (GPX2) on 14q24.1 by in situ hybridization. *Genomics* 1996; 32: 272-276.
13. Church SL, Grant JW, Meese EU, et al. Sublocalization of the gene encoding manganese superoxide dismutase (MnSOD/SOD2) to 6q25 by fluorescence in situ hybridization and somatic cell hybrid mapping. *Genomics* 1992; 14: 823-825.
14. Curran JE, Jowett JB, Elliott KS, et al. Genetic variation in selenoprotein S influences inflammatory response. *Nat Genet* 2005; 37: 1234-1241.
15. Dahl N, Pigg M, Ristoff E, et al. Missense mutations in the human glutathione synthetase gene result in severe metabolic acidosis, 5-oxoprolinuria, hemolytic anemia and neurological dysfunction. *Hum Mol Genet* 1997; 6: 1147-1152.
16. de Haan JB, Bladier C, Griffiths P, et al. Mice with a homozygous null mutation for the most abundant glutathione peroxidase, Gpx1, show increased susceptibility to the oxidative stress-inducing agents paraquat and hydrogen peroxide. *J Biol Chem* 1998; 273: 22528-22536.
17. Egan KM, Thompson PA, Titus-Ernstoff L, et al. MnSOD polymorphism and breast cancer in a population-based case-control study. *Cancer Lett* 2003; 199: 27-33.
18. Fairman J, Wang RY, Liang H, et al. Translocations and deletions of 5q13.1 in myelodysplasia and acute myelogenous leukemia: evidence for a novel critical locus. *Blood* 1996; 88: 2259-2266.
19. Farin FM, Hitois Y, Hallagan SE, et al. Genetic polymorphisms of superoxide dismutase in Parkinson's disease. *Mov Disord* 2001; 16: 705-707.
20. Forsberg L, Lyrenas L, de FU, et al. A common functional C-T substitution polymorphism in the promoter region of the human catalase gene influences transcription factor binding, reporter gene transcription and is correlated to blood catalase levels. *Free Radic Biol Med* 2001; 30: 500-505.

21. Goth L, Eaton JW. Hereditary catalase deficiencies and increased risk of diabetes. *Lancet* 2000; 356: 1820-1821.
22. Goth L, Vitai M. Polymorphism of 5' of the catalase gene in Hungarian acatalasemia and hypocatalasemia. *Electrophoresis* 1997; 18: 1105-1108.
23. Gysin R, Kraftsik R, Sandell J, et al. Impaired glutathione synthesis in schizophrenia: convergent genetic and functional evidence. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 16621-16626.
24. Hill KE, Dasouki M, Phillips JA, et al. Human selenoprotein P gene maps to 5q31. *Genomics* 1996; 36: 550-551.
25. Hill KE, Lloyd RS, Burk RF. Conserved nucleotide sequences in the open reading frame and 3' untranslated region of selenoprotein P mRNA. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993; 90: 537-541.
26. Hiroi S, Harada H, Nishi H, et al. Polymorphisms in the SOD2 and HLA-DRB1 genes are associated with nonfamilial idiopathic dilated cardiomyopathy in Japanese. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 261: 332-339.
27. Hirono A, Sasaya-Hamada F, Kanno H, et al. A novel human catalase mutation (358 T->del) causing Japanese-type acatalasemia. *Blood Cells Mol Dis* 1995; 21: 232-234.
28. Hori H, Ohmori O, Shinkai T, et al. Manganese superoxide dismutase gene polymorphism and schizophrenia: relation to tardive dyskinesia. *Neuropsychopharmacology* 2000; 23: 170-177.
29. Hovatta I, Tennant RS, Helton R, et al. Glyoxalase 1 and glutathione reductase 1 regulate anxiety in mice. *Nature* 2005; 438: 662-666.
30. <http://www.hgmd.cf.ac.uk>. Human Gene Mutation Database.
31. Hu YJ, Diamond AM. Role of glutathione peroxidase 1 in breast cancer: loss of heterozygosity and allelic differences in the response to selenium. *Cancer Res* 2003; 63: 3347-3351.
32. Hu YJ, Dolan ME, Bae R, et al. Allelic loss at the GPx-1 locus in cancer of the head and neck. *Biol Trace Elem Res* 2004; 101: 97-106.
33. Hunt CR, Sim JE, Sullivan SJ, et al. Genomic instability and catalase gene amplification induced by chronic exposure to oxidative stress. *Cancer Res* 1998; 58: 3986-3992.
34. Jaarsma D, Haasdijk ED, Grashorn JA, et al. Human Cu/Zn superoxide dismutase (SOD1) overexpression in mice causes mitochondrial vacuolization, axonal degeneration, and premature motoneuron death and accelerates motoneuron disease in mice expressing a familial amyotrophic lateral sclerosis mutant SOD1. *Neurobiol Dis* 2000; 7: 623-643.
35. Jiang Z, Akey JM, Shi J, et al. A polymorphism in the promoter region of catalase is associated with blood pressure levels. *Hum Genet* 2001; 109: 95-98.
36. Juul K, Tybjaerg-Hansen A, Marklund S, et al. Genetically reduced antioxidative protection and increased ischemic heart disease risk: The Copenhagen City Heart Study. *Circulation* 2004; 109: 59-65.
37. Kelner MJ, Montoya MA. Structural organization of the human selenium-dependent phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase gene (GPX4): chromosomal localization to 19p13.3. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 249: 53-55.
38. Kiss C, Li J, Szeles A, et al. Assignment of the ARHA and GPX1 genes to human chromosome bands 3p21.3 by in situ hybridization and with somatic cell hybrids. *Cytogenet Cell Genet* 1997; 79: 228-230.
39. Koide S, Kugiyama K, Sugiyama S, et al. Association of polymorphism in glutamate-cysteine ligase catalytic subunit gene with coronary vasomotor dysfunction and myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41: 539-545.
40. Kryukov GV, Castellano S, Novoselov SV, et al. Characterization of mammalian selenoproteomes. *Science* 2003; 300: 1439-1443.
41. Lee DH, Esworthy RS, Chu C, et al. Mutation accumulation in the intestine and colon of mice deficient in two intracellular glutathione peroxidases. *Cancer Res* 2006; 66: 9845-9851.
42. Li Y, Huang TT, Carlson EJ, et al. Dilated cardiomyopathy and neonatal lethality in mutant mice lacking manganese superoxide dismutase. *Nat Genet* 1995; 11: 376-381.
43. Liang H, Van RH, Frohlich V, et al. Gpx4 protects mitochondrial ATP generation against oxidative damage. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 356: 893-898.
44. Loehr GW, Waller HD. A new enzymopenic hemolytic anemia with glutathione reductase deficiency. *Med Klin* 1962; 57: 1521-1525.
45. Loos H, Roos D, Weening R, et al. Familial deficiency of glutathione reductase in human blood cells. *Blood* 1976; 48: 53-62.
46. McClung JP, Roneker CA, Mu W, et al. Development of insulin resistance and obesity in mice overexpressing cellular glutathione peroxidase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 8852-8857.
47. Melov S, Schneider JA, Day BJ, et al. A novel neurological phenotype in mice lacking mitochondrial manganese superoxide dismutase. *Nat Genet* 1998; 18: 159-163.
48. Millikan RC, Player J, de Cotret AR, et al. Manganese superoxide dismutase Ala-9Val polymorphism and risk of breast cancer in a population-based case-control study of African Americans and whites. *Breast Cancer Res* 2004; 6: R264-R274.
49. Moscow JA, Morrow CS, He R, et al. Structure and function of the 5'-flanking sequence of the human cytosolic selenium-dependent glutathione peroxidase gene (hgpX1). *J Biol Chem* 1992; 267: 5949-5958.
50. Moscow JA, Schmidt L, Ingram DT, et al. Loss of heterozygosity of the human cytosolic glutathione peroxidase I gene in lung cancer. *Carcinogenesis* 1994; 15: 2769-2773.
51. Nakagawa Y. Role of mitochondrial phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx) as an antiapoptotic factor. *Biol Pharm Bull* 2004; 27: 956-960.
52. Nakamura S, Kugiyama K, Sugiyama S, et al. Polymorphism in the 5'-flanking region of human glutamate-cysteine ligase modifier subunit gene is associated with myocardial infarction. *Circulation* 2002; 105: 2968-2973.
53. Nakamura S, Sugiyama S, Fujioka D, et al. Polymorphism in glutamate-cysteine ligase modifier subunit gene is associated with impairment of nitric oxide-mediated coronary vasomotor function. *Circulation* 2003; 108: 1425-1427.
54. Nevin NC, Morrison PJ, Jones J, et al. Inverted tandem duplication of 8p12-p23.1 in a child with increased activity of glutathione reductase. *J Med Genet* 1990; 27: 135-136.
55. Niwa J, Yamada S, Ishigaki S, et al. Disulfide bond mediates aggregation, toxicity, and ubiquitylation of familial amyotrophic lateral sclerosis-linked mutant SOD1. *J Biol Chem* 2007; 282: 28087-28095.
56. Njalsson R, Ristoff E, Carlsson K, et al. Genotype, enzyme activity, glutathione level, and clinical phenotype in patients with glutathione synthetase deficiency. *Hum Genet* 2005; 116: 384-389.
57. Nomiyama T, Tanaka Y, Piao L, et al. The polymorphism of manganese superoxide dismutase is associated with diabetic nephropathy in Japanese type 2 diabetic patients. *J Hum Genet* 2003; 48: 138-141.
58. Pae CU, Kim TS, Patkar AA, et al. Manganese superoxide dismutase (MnSOD: Ala-9Val) gene polymorphism may not

- be associated with schizophrenia and tardive dyskinesia. *Psychiatry Res* 2007; 153: 77-81.
59. Puglisi R, Bevilacqua A, Carlomagno G, et al. Mice overexpressing the mitochondrial phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase in male germ cells show abnormal spermatogenesis and reduced fertility. *Endocrinology* 2007; 148: 4302-4309.
 60. Quan F, Korneluk RG, Tropak MB, et al. Isolation and characterization of the human catalase gene. *Nucleic Acids Res* 1986; 14: 5321-5335.
 61. Ran Q, Liang H, Gu M, et al. Transgenic mice overexpressing glutathione peroxidase 4 are protected against oxidative stress-induced apoptosis. *J Biol Chem* 2004; 279: 55137-55146.
 62. Ratnasinghe D, Tangrea JA, Andersen MR, et al. Glutathione peroxidase codon 198 polymorphism variant increases lung cancer risk. *Cancer Res* 2000; 60: 6381-6383.
 63. Reddy VN, Giblin FJ, Lin LR, et al. Glutathione peroxidase-1 deficiency leads to increased nuclear light scattering, membrane damage, and cataract formation in gene-knockout mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42: 3247-3255.
 64. Roos D, Weening RS, Voetman AA, et al. Protection of phagocytic leukocytes by endogenous glutathione: studies in a family with glutathione reductase deficiency. *Blood* 1979; 53: 851-866.
 65. Rosen DR, Siddique T, Patterson D, et al. Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* 1993; 362: 59-62.
 66. Rosenblum JS, Gilula NB, Lerner RA. On signal sequence polymorphisms and diseases of distribution. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93: 4471-4473.
 67. Rozet JM, Gerber S, Perrault I, et al. Structure and refinement of the physical mapping of the gamma-glutamylcysteine ligase regulatory subunit (GLCLR) gene to chromosome 1p22.1 within the critically deleted region of human malignant mesothelioma. *Cytogenet Cell Genet* 1998; 82: 91-94.
 68. Sandstrom J, Nilsson P, Karlsson K, et al. 10-fold increase in human plasma extracellular superoxide dismutase content caused by a mutation in heparin-binding domain. *J Biol Chem* 1994; 269: 19163-19166.
 69. Schriener SE, Linford NJ, Martin GM, et al. Extension of murine life span by overexpression of catalase targeted to mitochondria. *Science* 2005; 308: 1909-1911.
 70. Shen Q, Townes PL, Padden C, et al. An in-frame trinucleotide repeat in the coding region of the human cellular glutathione peroxidase (GPX1) gene: in vivo polymorphism and in vitro instability. *Genomics* 1994; 23: 292-294.
 71. Sherman L, Dafni N, Lieman-Hurwitz J, et al. Nucleotide sequence and expression of human chromosome 21-encoded superoxide dismutase mRNA. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1983; 80: 5465-5469.
 72. Shi ZZ, Habib GM, Rhead WJ, et al. Mutations in the glutathione synthetase gene cause 5-oxoprolinuria. *Nat Genet* 1996; 14: 361-365.
 73. Shimoda-Matsubayashi S, Matsumine H, Kobayashi T, et al. Structural dimorphism in the mitochondrial targeting sequence in the human manganese superoxide dismutase gene. A predictive evidence for conformational change to influence mitochondrial transport and a study of allelic association in Parkinson's disease. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 226: 561-565.
 74. Shiomi T, Tsutsui H, Matsusaka H, et al. Overexpression of glutathione peroxidase prevents left ventricular remodeling and failure after myocardial infarction in mice. *Circulation* 2004; 109: 544-549.
 75. Sierra-Rivera E, Summar ML, Dasouki M, et al. Assignment of the gene (GLCLC) that encodes the heavy subunit of gamma-glutamylcysteine synthetase to human chromosome 6. *Cytogenet Cell Genet* 1995; 70: 278-279.
 76. Sinet PM, Bresson JL, Couturier J, et al. Possible localization of the glutathione reductase (EC 1.6.4.2) on the 8p21 band. *Ann Genet* 1977; 20: 13-17.
 77. Staal GE, Helleman PW, de WJ, et al. Purification and properties of an abnormal glutathione reductase from human erythrocytes. *Biochim Biophys Acta* 1969; 185: 63-69.
 78. Stern LF, Chapman NH, Wijsman EM, et al. Assignment of SOD3 to human chromosome band 4p15.3->p15.1 with somatic cell and radiation hybrid mapping, linkage mapping, and fluorescent in-situ hybridization. *Cytogenet Genome Res* 2003; 101: 178.
 79. Stoehlmacher J, Ingles SA, Park DJ, et al. The -9Ala/-9Val polymorphism in the mitochondrial targeting sequence of the manganese superoxide dismutase gene (MnSOD) is associated with age among Hispanics with colorectal carcinoma. *Oncol Rep* 2002; 9: 235-238.
 80. Thomas JP, Geiger PG, Maiorino M, et al. Enzymatic reduction of phospholipid and cholesterol hydroperoxides in artificial bilayers and lipoproteins. *Biochim Biophys Acta* 1990; 1045: 252-260.
 81. Tosic M, Ott J, Barral S, et al. Schizophrenia and oxidative stress: glutamate cysteine ligase modifier as a susceptibility gene. *Am J Hum Genet* 2006; 79: 586-592.
 82. Ursini F, Maiorino M, Gregolin C. The selenoenzyme phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase. *Biochim Biophys Acta* 1985; 839: 62-70.
 83. Valenti L, Conte D, Piperno A, et al. The mitochondrial superoxide dismutase A16V polymorphism in the cardiomyopathy associated with hereditary haemochromatosis. *J Med Genet* 2004; 41: 946-950.
 84. Van Landeghem GF, Tabatabaie P, Beckman G, et al. Manganese-containing superoxide dismutase signal sequence polymorphism associated with sporadic motor neuron disease. *Eur J Neurol* 1999; 6: 639-644.
 85. Ventriglia M, Chiavetto LB, Scassellati C, et al. Lack of association between MnSOD gene polymorphism and sporadic Alzheimer's disease. *Aging Clin Exp Res* 2005; 17: 445-448.
 86. Walsh AC, Feulner JA, Reilly A. Evidence for functionally significant polymorphism of human glutamate cysteine ligase catalytic subunit: association with glutathione levels and drug resistance in the National Cancer Institute tumor cell line panel. *Toxicol Sci* 2001; 61: 218-223.
 87. Walsh AC, Li W, Rosen DR, et al. Genetic mapping of GLCLC, the human gene encoding the catalytic subunit of gamma-glutamyl-cysteine synthetase, to chromosome band 6p12 and characterization of a polymorphic trinucleotide repeat within its 5' untranslated region. *Cytogenet Cell Genet* 1996; 75: 14-16.
 88. Webb GC, Vaska VL, Gali RR, et al. The gene encoding human glutathione synthetase (GSS) maps to the long arm of chromosome 20 at band 11.2. *Genomics* 1995; 30: 617-619.
 89. Weinberg RA. Oncogenes and tumor suppressor genes. *CA Cancer J Clin* 1994; 44: 160-170.
 90. Wen JK, Osumi T, Hashimoto T, et al. Molecular analysis of human acatalasemia. Identification of a splicing mutation. *J Mol Biol* 1990; 211: 383-393.
 91. Woodson K, Tangrea JA, Lehman TA, et al. Manganese superoxide dismutase (MnSOD) polymorphism, alpha-tocopherol supplementation and prostate cancer risk in the alpha-tocopherol, beta-carotene cancer prevention study (Finland). *Cancer Causes Control* 2003; 14: 513-518.