

JANUSZ A. MADEJ
Wrocław

artykuł przeglądowy

Rola zmian temperatury oraz wolnych rodników w onkogenezie

Uszkodzenie helikalnej struktury DNA może być spowodowane przez różne czynniki fizyczne, np. zmiany temperatury, jak i substancje utleniające, np. rodniki $\text{OH}^\bullet$, $\text{RO}^\bullet$, $\text{ROO}^\bullet$, wodorotlenki ROOH czy anionorodniki nadtlenkowe (1, 24). Uszkodzenia te, jeżeli są usytuowane w tzw. protoonkogenach, mogą prowadzić do ich ekspresji, a następnie do mutacji i transformacji komórki prawidłowej w nowotworową. Niestety, pierwotny mechanizm inicjujący uszkodzenia DNA przez wym. czynniki fizyko-chemiczne jest nadal bardzo słabo poznany.

Zmiany temperatury w onkogenezie

Wcześniej zasygnalizowano, że nasilona kancerogenność u zwierząt stałocieplnych w stosunku do zwierząt zmiennocieplnych jest prawdopodobnie oparta o zaburzenia w relacji między entropią (II zasada termodynamiki) a temperaturą (18). U zwierząt stałocieplnych występuje duża niestabilność układu bioenergetycznego w związku z nieustanną walką z tworzącą się entropią, następstwem czego jest wzrost sił i strumieni (I, ϕ), wzrost prawdopodobieństwa uszkodzenia informacji genetycznej oraz możliwość tworzenia się struktur nowotworowych. Natomiast u zwierząt zmiennocieplnych, w związku z wyrównywaniem się temperatur dwu układów, tj. ciała i otoczenia, mamy do czynienia z odwrotnymi, niż wymienione zjawiskami i dużym „spokojem bioenergetycznym”, który być może jest powodem ograniczenia u nich kancerogenności (18).

Metodą termografii, opartej na zasadzie promieniowania promieni podczerwonych, można wykryć w guzie nowotworowym nieznaczne różnice między nim a tkanką prawidłową. Już ta mała różnica temperatur (o ok. $0,1^\circ\text{C}$) wystarczy, aby przekonać się o tym, że temperatura bierze prawdopodobnie udział w procesie nowotworzenia (19). Przykładowo można wykazać, że temp. ciała wynosi $T = 37^\circ\text{C}$ (310 K), a temperatura guza nowotworowego jest wyższa i równa $T + \Delta T$. Wówczas różnica mocy podzielona przez szybkość strat ciepła obszaru o temp. 310 K wynosi:

$$\frac{\Delta H}{H} = \frac{4e \cdot \delta \cdot A T^3 \cdot \Delta T}{A T^4} = \frac{4\Delta T}{T} = 0,01$$

Znając stąd T otrzymamy:

$$\Delta T = 0,01 \frac{T}{4} = (0,01) \frac{310 \text{ K}}{4} = 0,775 \text{ K},$$

gdzie: A – powierzchnia ciała, e – zdolność emisyjna, $\delta = 5,67 \times 10^{-8} \text{ W/m}^2 \text{ K}$ – stała Stefana-Boltzmana. Zmiana zatem szybkości promieniowania równa 1% jest spowodowana różnicą temperatur niższą niż 1 K.

Z kolei stosując metodę cytometrii przepływowej zauważono, że wzrost temperatury do 43°C przez 90 minut powoduje zablokowanie cyklu komórkowego w fazie S, trwającego ok. 2 godziny, dla komórek ludzkiej białaczki HL-60 i białaczki mysiej L 1210 (27). Czas podwojenia populacji komórkowej wydłużał się z ok. 15 do 25 godz.

Podstawową strukturą błony komórkowej jest podwójna warstwa lipidów (bilayer), tj. ośrodek, w którym tłuszczone i białka mogą przemieszczać się w dwu wymiarach. Np. wymiana fosfolipidów sąsiadujących ze sobą w obrębie jednej warstwy błony (dyfuzja lateralna) zachodzi z szybkością ok. 10^{-6} sek., a wymiana cząsteczek między warstwami, tzw. ruchy flip-flop, co ok. 10^{-5} sek. A więc fosfolipidy są w nieustannym ruchu, co uzależnione jest m.in. od temperatury otoczenia. Temperatura przejścia fazowego (T_c) zależy od rodzaju lipidu, tj. od rodzaju grup polarnych, długości i stopnia nasylenia łańcuchów lipidowych, liczby i pozycji występujących w nich wiązań nienasyconych (podwójnych), a także ich konfiguracji cis lub trans. Przykładowo sztuczne błony, zbudowane z jednego rodzaju lipidu, podczas ochładzania wykazują ostre przejście z fazy płynnej w stałą, krystaliczną. Z kolei błony złożone z różnorodnych lipidów nie mają ostrej fazy T_c , tj. zachodzi w nich oddzielenie się części lipidów w fazie półpłynnej. Np. cholesterol, stanowiący u ssaków ok. 33% składu molekularnego błony komórkowej, sztucznie wprowadzony do takich błon, przesuwa stan półpłynny do wnętrza hydrofobowego i podwyższa temp. T_c (przejścia fazowego) (25). Efektem może być wygięcie łańcuchów, zawsze powstające przy wiązaniach podwójnych i zależne od położenia takiego wiązania w łańcuchu.

Cholesterol wykazuje dualistyczny charakter działania na błony fosfolipidowe. Cząsteczki tego związku wsunięte między łańcuchy lipidowe w błonie osłabiają oddziaływanie między łańcuchami, zapobiegając powstaniu konfiguracji krystalicznej. Z drugiej strony przy obecności cholesterolu wzrasta w niskich temperaturach zdolność przepuszczania różnych substancji przez błony uformowane z nasyconych fosfolipidów, natomiast w temp. wysokich ulega obniżeniu (25). Zagadnienie to zasygnalizowano już wcześniej w obserwacjach własnych (18). Tu należy tylko wspomnieć, że łatwe krzepnięcie lipidów sprzyja tworzeniu się struktur krystalicznych, a więc niskoenergetycznych (niskoentropowych) i cząsteczki są jakby „uwięzione” między sąsiednimi cząsteczkami. Odwrotnie płynność błony biologicznej (wzrost T_c) powoduje bezład cząsteczkowy, wzrasta znaczenie ruchu i zostaje zaburzona regularność reszt kwasów tłuszczowych o różnej długości i różnym stopniu nasylenia, wówczas to T_c bardzo często nie ma konkretnej wartości i przejście fazowe następuje stopniowo, w szerokim zakresie temperatur (25). Przykładowo spadek temperatury poniżej 23°C daje zwiększenie aktywności enzymów oddechowych w mitochondriach oraz zmiany we wzajemnym oddziaływaniu cząsteczek lipidów. Stąd błony mitochondrialne zwierząt stałocieplnych mają mniej nienasyconych kwasów tłuszczowych niż błony zwierząt zmiennocieplnych (25). Przy niestabilności układu jest duża dysypacja energii i możliwość samoorganizowania się struktur, np. struktur nowotworowych.

Temperatura przejścia fazowego i w konsekwencji płynność błon mogą się zmieniać pod wpływem jonów wiązanych przez

polarne części lipidów, pod wpływem białek, a także pewnych leków. Błona komórkowa reguluje bowiem nierównomierne rozmieszczenie jonów między komórką a środowiskiem, tj. wewnątrz komórki jest dużo jonów K^+ i mało Na^+ , a na zewnątrz komórki odwrotnie. Np. wewnątrzkomórkowe stężenie jonów sodu w erytrocytach człowieka wynosi 19 mmol/dm^3 , a potasu – 136, zaś w raku wydzielającym Ehrlicha odpowiednio: 50 i 125 mmol/dm^3 (25). Tę asymetrię rozmieszczenia stężeń kationów można zlikwidować przenosząc komórki z temperatury 37° do 6°C , gdzie jest utrata znacznej ilości jonów potasu, a stężenie jonów sodu wzrasta aż do momentu wyrównania stężeń kationów między środowiskiem a komórką. Powrót do temp. 37°C przywraca wyjściową sytuację. Mechanizm ten jest uwarunkowany przez układ enzymatyczny, tj. przez $Na^+ - K^+$ -zależną ATP-azę.

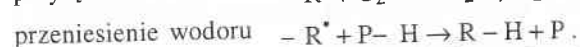
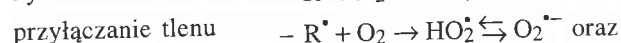
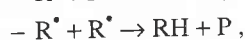
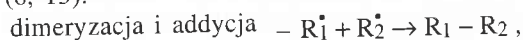
Zmiana płynności dwucząsteczkowej warstwy lipidowej może prowadzić do zaburzeń w szybkości dyfuzji lateralnej białek enzymatycznych, co z kolei powoduje zmiany w procesach metabolicznych. Wyrazem tego może być rozrywanie wiązań chemicznych przy zmianie temperatury, w efekcie czego powstają nietrwałe wolne rodniki.

Wolne rodniki

Wolne rodniki (WR) wykryto niemal we wszystkich tkankach i narządach zwierząt, przy czym ich stężenie jest niewielkie, rzędu 10^{-10} do 10^{-9} . Uczestniczą one w wielu procesach fizjologicznych, m.in. w oddychaniu komórkowym, bioluminescencji, biosyntezie melaniny czy procesie widzenia (11, 14, 15, 28). Jednakże w pewnych, do końca nie poznanych warunkach WR mogą, zwłaszcza w sytuacji ich nadprodukcji, być szkodliwe dla komórki. Wydaje się, że działanie WR na struktury komórkowe dopiero wówczas jest możliwe, gdy dochodzi do zaburzeń w ilości i aktywności tzw. zmiataczy (scavengers) wolnych rodników, do których w środowisku wodnym zalicza się aminokwasy siarkowe, glutation i witaminę C, a w środowisku hydrofobowym koenzym Q i witaminę E (10, 16, 22). Szczególną rolę w tym procesie spełniają także enzymy, tj. katalaza (CAT), peroksydaza glutationowa (GSH-x) i dysmutaza ponadtlenkowa (SOD) (16).

Oberley i Buettner (20) oraz Oberley i wsp. (21) opisali trzy etapy prowadzące do utraty prawidłowego różnicowania się komórek z następową ich transformacją nowotworową. I tak w pierwszym etapie dochodzi do mutacji w DNA i deficytu SOD, w drugim etapie ma miejsce wzmożona produkcja O_2^- -WR i oksydacyjne uszkodzenie struktur komórkowych poprzez zablokowanie różnicowania i w końcu w trzecim etapie finalne uszkodzenie komórek przez O_2^- .

Produktami radiolizy wody są rodniki organiczne, tj. e_{aq}^- , $H^\bullet$, $OH^\bullet$, H_2 i H_2O_2 . Biorą one udział w takich reakcjach, jak (6, 13):



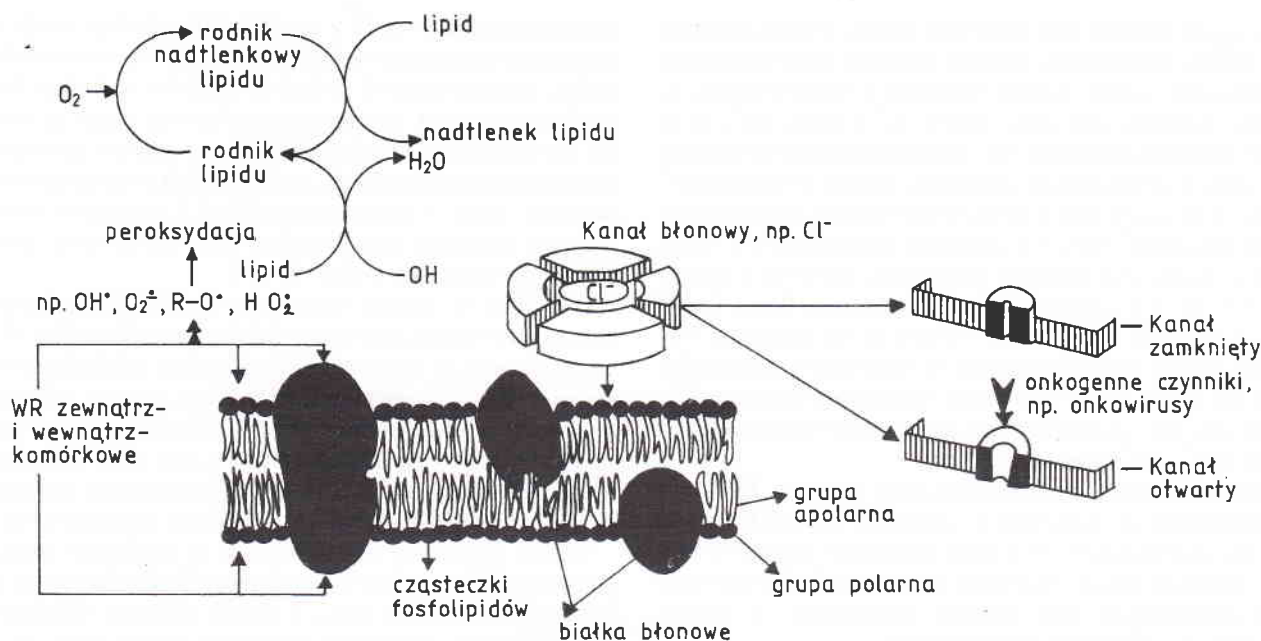
Wśród pierwotnych produktów radiolizy wody główną rolę w reakcjach z białkami komórkowymi grają rodniki $OH^\bullet$ i uwolnione elektrony (16). Np. te aminokwasy, które wykazują

największą reaktywność z produktami radiolizy wody, także w białkach ulegają największej destrukcji. W procesie radiolizy białka, uzależnionej od reakcji produktów radiolizy wody z tymi cząsteczkami, można wyróżnić pewne etapy, tj.: powstanie pierwotnych wolnych rodników, wewnątrz- i zewnątrzcząsteczkową migrację energii, reakcje rodnikowe, np. produktów radiolizy wody z makrocząsteczkami i powstanie wtórnych wolnych rodników oraz przejściowych końcowych, trwałych produktów radiolizy białka (6, 23).

Powoduje to zmiany chemiczne i strukturalne, wynikiem których jest utrata aktywności biologicznej komórki. A więc wolne rodniki są związane w komórce ze składnikami białka i giną w czasie denaturacji, przy czym średnie ich stężenie wzrasta w miarę przyspieszenia metabolizmu. Stąd przypuszcza się, że w onkogenezie główną rolę mają spełniać rodniki jony, przechwytyjące elektrony z otoczenia i wchodzące w reakcje oksydo-redukcyjne z białkami komórki (11).

Wolne rodniki są konsekwencją, a właściwie ceną, jaką płać komórki za oddychanie tlenowe wykształcone w czasie ewolucji. Cząsteczka tlenu o dwóch atomach stabilizowana jest przez pary elektronów krążących wokół jądra. W przypadku rozbicia par cząsteczka ta staje się bardziej reaktywna i łatwiej oddziałuje z innymi, co powoduje, że niesparowane elektrony „zabierają” elektrony innym cząsteczkom (2, 23). Cząsteczka tlenu o niesparowanych elektronach nosi miano anionorodnika (34). Niedokrwienie czy niedotlenienie tkanek powoduje wzrost pH, w wyniku czego są uwalniane jony żelaza z cząsteczek białka magazynującego lub transportującego je (5, 13). Żelazo reaguje z cząsteczkami H_2O_2 lub rodnikami nadtlennymi, w wyniku czego powstają rodniki hydroksylowe ($OH^\bullet$), będące krańcowo silnym utleniaczem, który działa wybiórczo i reaguje z pierwszą napotkaną cząsteczką (11). Ich cechą jest dążność do stabilizacji poprzez „zabieranie” lub inaczej mówiąc „kradzież” elektronów od sąsiadów, co prowadzi do ciągłej produkcji wolnych rodników (8, 9, 26, 32).

Jako pierwsze zaatakowane przez wolne rodniki są fosfolipidy, stanowiące szkielet błony komórkowej. Utlenienie, czyli peroksydacja lipidów, rozpoczyna się na powierzchni komórki i prowadzi do jej zniszczenia. Atomy wodoru obecne w łańcuchu lipidowym są przyciągane przez wolne rodniki poszukujące elektronów, co powoduje zdeformowanie cząsteczki lipidu, który wchodzi wówczas w reakcje z cząsteczkami blisko leżącego tlenu, w wyniku czego powstaje rodnik peroksydowy (11). Jednocześnie należy dodać, że cząsteczka lipidu także dąży do stabilizacji i zabiera elektron sąsiedniej cząsteczki lipidu lub białka błony komórkowej. W rezultacie, oprócz wspomnianych wyżej rodników, powstają także wodorotlenki lipidów i rodniki alkoksylowe (3, 5, 26, 33). Reakcja ta ma charakter łańcuchowy i w końcu błona komórkowa może ulec uszkodzeniu z następowym uwolnieniem jonów zmagazynowanych w organellach komórkowych. Jony te katalizują powstanie nowych wolnych rodników tlenowych, które dalej uszkadzają dwuwarstwę lipidową. Ponadto dochodzi do spadku stężenia kwasów nukleinowych i ATP, wzrostu stężenia jonów Ca^{++} i aktywacji innych układów mediatorów, tj. cytokin, metabolitów kwasu arachidonowego oraz procesów proteolitycznych (7). W takiej sytuacji łatwo o zaburzenia w pracy receptorów błonowych i kanałów jonowych, a także o wnikanie do komórki różnych czynników onkogennych, np. onkowirusów (17, 31, 33), co schematycznie przedstawiono na ryc. 1. Powoduje to depolaryzację błony komórkowej oraz



Ryc. 1. Depolaryzacja błony komórkowej przez wolne rodniki (WR), peroksydacja, zaburzenia w pracy kanałów jonowych i możliwość wnikania do komórki czynników onkogennych

wspomniane konsekwencje a więc WR można uznać za czynniki promocyjne w nowotworzeniu.

Wolne rodniki są paramagnetykami dającymi sygnał EPR (elektronowy rezonans paramagnetyczny). Metoda ta umożliwia badanie mechanizmu i kinetyki procesów przebiegających z udziałem wolnych rodników. Ponadto EPR pozwala na ocenę delokalizacji elektronów, dając obraz rozkładu i przeniesienia ich w cząsteczkach.

Niesparowane elektrony orientują się równolegle lub antyrównolegle do zewnętrznego pola magnetycznego H_0 . Różnica energii między tymi dwoma ustawieniami wynosi:

$\Delta E = g \cdot \beta \cdot H_0$, gdzie: g – współczynnik giromagnetyczny i β – magneton Bohra = $0,9 \times 10^{-20}$ ergów/guss a 1 guss = 10^{-6} Tesli.

Większość rodników zajmuje niższy poziom energetyczny, przy czym przewaga ta będzie tym większa, im niższa będzie temperatura. Ilościowo równowagę obsadzenia niższego i wyższego poziomu można opisać prawem Boltzmanna:

$\frac{n_+}{n_-} = e^{-\frac{\Delta E}{K T}}$ gdzie: n_+ – liczba rodników w wyższym stanie energetycznym, n_- – liczba rodników w niższym stanie energetycznym, ΔE – różnica energii tych dwóch stanów, K – stała Boltzmanna i T – temp. w K.

W badaniach własnych posłużono się metodą elektronowego rezonansu paramagnetycznego w określaniu poziomu wolnych rodników (reakcji wolnorodnikowych) w naturalnych i doświadczalnych białaczkach limfatycznych u myszy. Czynniki rozszczepienia spektroskopowego, tzw. g -factor obliczano wg wzoru:

$g = \frac{21,4198}{H_{\text{rez.}} \cdot (K O_e) \cdot \lambda}$, gdzie: 21,4198 – liczba stała, $H_{\text{rez.}}$ – natężenie pola magnetycznego, $K O_e$ – kilooersted i λ – długość fali = 3,228 cm i miernik protonowy pola magnetycznego = 14,80 MHz.

Materiał poddano działaniu pola magnetycznego o natężeniu od 3442 do 3492 gussów i wykazano, że g -factor był specyficzny dla najsilniejszego sygnału EPR wolnych rodników

powstających w spontanicznej, wirusowej białaczce limfatycznej u myszy szczepu wysokobiałaczkowego AKR i BALB/Mo i wynosił od $g = 1,909$ do $1,934$. Prawdopodobnie wartość ta jest specyficzna dla WR etiologicznie związanych z nowotworzeniem. Podobne wyniki uzyskano u myszy szczepów niskobiałaczkowych BALB/c i DBA/2, u których indukowano białaczkę limfatyczną podając zwierzętom *per os* niskie dawki octanu ołowiu i octanu kadmu. G -factor był także specyficzny dla sygnałów EPR wolnych rodników powstających w białaczce indukowanej ww. metalami i wynosił $g = 1,910$ do $1,911$. Stąd można wnosić, że niezależnie od etiologii nowotworzenia (onkowirus, metale ciężkie) proces ten łączy się z wyraźnym wzrostem reakcji wolnorodnikowych. Jednocześnie należy dodać, że prawidłowa błona biologiczna jest zbudowana z substancji diamagnetycznych, a więc nie zawiera cząsteczek z niesparowanymi elektronami (25). Ich pojawienie się w postaci WR obserwowano natomiast w procesie nowotworzenia.

Kanały jonowe

Błona komórkowa jest strukturą dynamiczną, tzn. że białka i lipidy jej mogą podlegać przemianom konformacyjnym pod działaniem różnych czynników, np. wspomnianej już temperatury i wolnych rodników. Białkiem integralnym błony jest m.in. kanał jonowy. Można go uznać za pojedynczą cząsteczkę z różnymi miejscami funkcjonalnymi bądź też jako zespół cząsteczek, z których każda spełnia jedną lub więcej z funkcji kanału. Podstawowym mechanizmem, leżącym u podstaw czynności kanału, jest otwieranie i zamykanie jego światła. Ze względu na siły napędowe, sterujące tą czynnością, wyróżnia się trzy rodzaje kanałów jonowych (4, 12): kanały zależne od napięcia elektrycznego, zależne od procesu połączenia się określonej substancji chemicznej z receptorem błonowym oraz kanały zależne od napięcia mechanicznego w błonie (rozciąganie i ściskanie).

Biorąc pod uwagę fakt, że prawidłowa czynność zależy od sprawnej przepuszczalności błony dla poszczególnych jonów, to w tym świetle możliwość oceny pracy pojedynczego kanału

nabiera szczególnego znaczenia. Określona substancja może działać na kanał jonowy trojako, tj. działać obojętnie, otwierać kanał lub go zamykać (blokować) (32).

Dzięki kanałom komórki są sprzężone metabolicznie i elektrycznie. Kanały te otaczają koneksyny. Każdy z nich zbudowany jest z 6 podjednostek, integralnych białek błonowych, mogących przejść ze stanu „otwartego” w stan „zamknięty”. Zamknięcie strony cytoplazmatycznej zachodzi poprzez ślizganie się podjednostek jednej wobec drugiej. Uważa się, że regulacja przenikalności kanału jonowego zachodzi pod wpływem zmian stężenia jonów Ca^{++} i pH wnętrza komórki. Zamknięcie tych przepustów może mieć istotne znaczenie w przebiegu różnych chorób, np. pod wpływem onkogenów lub dymu papierosowego w etiopatogenezie nowotworzenia (30). Obserwowano bowiem, że uszkodzenie kanałów powoduje zniesienie bariery warunkującej integralność komórki, następne zaburzenia gospodarki mineralnej i utratę energii cieplnej (16). Do plazmy komórki napływa dużo jonów wapnia, aktywujących endonukleazy i uszkadzających DNA.

W wymienionych strukturach mają miejsce różne zjawiska związane ze śmiercią komórek docelowych, np. komórek nowotworowych. Atak komórki cytotoksycznej powoduje zmiany w błonie komórkowej, tj. zmiany aktywności $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -zależnej ATP-azy, depolaryzację potencjału spoczynkowego, wzrost przepuszczalności błony dla jonów i wody, powstanie „dziur” (porów) o średnicy 100–160 Å i przechodzenie przez nie dużych cząsteczek (8, 26). Efektem jest ucieczka na zewnątrz elektrolitów i makrocząsteczek, co powoduje lizę koloidalno-osmotyczną komórki. Reakcja ta jest podobna do działania składnika C 9 dopełniacza, tworzącego tzw. zespół atakujący błonę-MAC (membrane attack complex), co polega na działaniu cytolizyn (perforyn) produkowanych przez cytotoksyczne limfocyty T (CTL) i NK (natural killers) (29). Nie wyklucza się, że czynnikiem atakującym jest sam MAC, gdyż obecność tego kompleksu wykazano na powierzchni limfocytów biorących udział w reakcji typu ADCC (antigen-dependent cellular cytotoxicity). Inni uważają, że wystarczy tylko wzajemna interakcja błon skoniugowanych komórek, tworzących wówczas liczne wypustki i zazębienia bez produkcji czynników cytolitycznych (1). Istotną rolę mają grać tu antygeny MHC klasy I lub czynnik martwicy nowotworów – limfotoksyna (TNF – LT) (30).

Kompleks MAC tworzy kanały, w których fragmenty hydrofilowe skierowane są do wnętrza, a fragmenty hydrofobowe na zewnątrz kanału. Wbudowywanie się tych kompleksów w błonę reorientuje obecne w niej lipidy, deformuje błony i powoduje uwalnianie się pęcherzyków fosfolipidowych (1).

Generacji WR-O_2^- można zapobiec m.in. za pomocą inhibitorów enzymów, np. allopurinolu, który hamuje oksydazę ksantynową, enzym uwalniający wolne rodniki czy deferoxaminy hamującej działanie żelaza akcelerującego powstanie WR oraz „wymiatania” rodniki – O_2^- i Cl^- (7). Stosuje się także SOD, CAT i GSH-x, oltipraz oraz ebselen (związek organiczny selenu) (7). „Wymiatanie” WR-O_2^- i zwiększenie zapasów glutationu w komórkach można uzyskać za pomocą dużych dawek n-acetylocysteiny (mucomyst), która hamuje oksydazę NADH i kinazę białek. Najnowszym osiągnięciem jest leczenie za pomocą klonowanych genów DNA, dysmutazy nadtlenkowej i katalazy oraz lazaroidów (21 – aminosteroidów) (7). Te ostatnie pełnią rolę „wymiataczy” WR-O_2^- , hamują pero-

ksydację lipidów, katalizują działanie Fe^{++} oraz blokują uwalnianie metabolitów kwasu arachidonowego (7).

Podsumowanie

W pracy przedstawiono zagadnienie zmian temperatury organizmu jako jednego z „inicjatorów” rozrywających wiązania chemiczne substancji utleniających, wynikiem czego jest powstanie nietrwałych, ale za to bardzo „agresywnych” wolnych rodników (WR), tj. rodników hydroksylowych, peroksydowych, alkoksylowych oraz wodorotlenków lipidów. Związki te powodują chaos w błonie, burzą misterną, chociaż płynną, ale uporządkowaną, a przy tym dynamiczną strukturę błony. Rodniki powodują uruchomienie reakcji łańcuchowej, wiodącej do peroksydacji lipidów błony komórkowej oraz zmian w przepuszczalności kanałów jonowych, co może być powodem łatwiejszego wnikanie do wnętrza komórki docelowej różnych czynników onkogennych.

Piśmiennictwo

1. Adams R. L., Burdon R. H.: Molecular Biology of DNA Methylation. New York, 1985.
2. Ardel B. K., Borowitz J. L., Isom G. E.: Toxicology 56, 147, 1989.
3. Armstead W. M., Mirro R., Leffler C. W., Busija D. W.: J. Cereb. Blood Flow Metab. 9, 175, 1989.
4. Berke G.: Immun. Rev. 72, 5, 1983.
5. Bolli R., Patel B. S., Jerwidi M. O., Lai E. K., McCay P. B.: J. clin. Invest. 82, 476, 1988.
6. Braughler J. M., Hall E. D.: Free Radic. biol. Med. 6, 289, 1989.
7. Ciesielski L.: Terapia i leki 7, 241, 1993.
8. Garlick P. B., Davies M. J., Heard D. J., Slater T. F.: Circ. Res. 61, 757, 1987.
9. Goldgerg W. J., Dickens B. F., Tadvalkar G., Bernstein J., Laws E. R., Weglicki B. W.: Neurosurgery 4, 532, 1991.
10. Hall E. D., Braughler J. M.: Free Radic. biol. Med. 6, 303, 1989.
11. Halliwell B., Gutteridge J. M. C.: Biochemistry 1, 47, 1988.
12. Hammed A., Olsen K. J., Lee M. K., Lichtenheld M. G., Podach E. R.: J. exp. Med. 169, 565, 1989.
13. Hearse D. J., Kusuma Y., Bermier M.: Circ. Res. 65, 146, 1989.
14. Hoepelman I., Benzmer W. A., Vandebroicke-Gralus C. M. J., Marx J. J., Verhoef J.: Infect. Immun. 58, 26, 1990.
15. Ikeda Y., Andersn J. H., Long D. M.: Neurosurgery 24, 679, 1989.
16. Jakóbsiak M. (red.): Immunologia. PWN, Warszawa 1993.
17. Madej J. A.: Medycyna Wet. 47, 547, 1991.
18. Madej J. A.: Medycyna Wet. 48, 451, 1992.
19. Mishara N. K., Di Mayorea G.: Biochim. biophys. Acta 355, 205, 1975.
20. Oberley L. W., Buettner G. P.: Cancer Res. 39, 1141, 1979.
21. Oberley L. W., Oberley T. D., Buettner G. B.: Med. Hypothesis 6, 249, 1980.
22. Orrenius S.: Free radicals in molecular biology, aging and disease. New York, 1984, s. 103.
23. Ortaldo J. R., Hiserodt J. C.: Cur. Opin. Immun. 2, 39, 1989.
24. Pierce J. R., Gase R., Tang M.: Biochemistry 28, 5821, 1989.
25. Przestalski S.: Fizyka z elementami biofizyki i agrofizyki. Warszawa 1989.
26. Recves J. P., Bailey C. A., Hale C. C.: J. biol. Chem. 261, 1948, 1986.
27. Skierski J., Skierska E.: V Ogólnopol. Konf. Biol. Kom., Wrocław 1993, s. 284.
28. Smith M. T., Thor H., Jewell S. A., Bellomo G., Sandy M. S.: Neurosurgery 5, 231, 1990.
29. Stanley K., Luizio P.: Nature, Lond. 394, 475, 1988.
30. Young J. D. E., Liv C. C.: Immun. Today 9, 140, 1988.
31. Walworth N., Davey S., Beach D.: Nature, Lond. 2, 711, 1993.
32. Woodward B., Zaharia M. N. M.: J. mol. Cell Cardiol. 17, 485, 1985.
33. Zweier J. L., Flaherty J. T., Weisfeldt M. L.: Proc. natn. Acad. Sci. USA 84, 1404, 1987.
34. Zychlinsky A., Mon-Zheng L., Liv C. C., Young J. D. E.: J. Immun. 146, 393, 1991.

Adres autora: prof. dr hab. Janusz A. Madej, ul. Liskego 4/5, 50-345 Wrocław