

Received: 2013.05.14  
Accepted: 2014.06.03  
Published: 2014.07.22

## Naprawa DNA przez wycinanie zasad azotowych w chorobie Alzheimera\*

### Base excision repair in Alzheimer's disease

Dominik Kwiatkowski, Tomasz Śliwiński

Katedra Genetyki Molekularnej Uniwersytetu Łódzkiego

#### Streszczenie

Choroba Alzheimera (AD - Alzheimer Disease), jest najczęstszą chorobą neurodegeneracyjną u ludzi powyżej 65 roku życia. Szacunkowe dane podają, że na AD w Polsce choruje prawie 200 tys. osób, natomiast na świecie na ten typ schorzenia cierpi około 30 mln ludzi. Prognozy wskazują, że w krajach rozwiniętych liczba osób dotkniętych chorobami otępiennymi, w tym AD do 2025 r. wzrośnie od kilkudziesięciu do kilkuset procent w porównaniu do 1980 r. Patogeneza AD nadal nie została do końca wyjaśniona, a wyniki badań przeprowadzonych do tej pory sugerują jej wieloczynnikowość, w której istotną rolę odgrywają wiek oraz czynniki genetyczne i środowiskowe. Istnieją przesłanki wskazujące związek między oksydantami wprowadzającymi uszkodzenia do materiału genetycznego oraz zmniejszeniem aktywności enzymów odpowiedzialnych za ich naprawę, a zmianami neurodegeneracyjnymi. W pracy omówiono doniesienia literaturowe obejmujące związek między poziomem aktywności głównego systemu usuwającego uszkodzenia oksydacyjne DNA, czyli systemu naprawy DNA przez wycinanie zasad azotowych (BER - Base Excision Repair) a występowaniem AD. Podkreśla się także istotną rolę zmienności w genach kodujących białka BER, w modulowaniu aktywności tego systemu naprawy DNA. Wskazuje to na możliwość poznania mechanizmu powstawania AD opartego o system BER, co w przyszłości może się przyczynić do określenia molekularnych markerów tego schorzenia.

Słowa kluczowe:

choroba Alzheimera • oksydacyjne uszkodzenia DNA • naprawa DNA przez wycinanie zasad azotowych • polimorfizm genetyczny

#### Summary

Alzheimer's disease (AD) is the most common neurodegenerative disease in people over 65 years of age. Estimates indicate that about 200 thousand Pole suffer from AD while in the world about 30 million people. Forecasts show that in developed countries the number of people with neurodegenerative diseases by 2025 will increase by several hundred percent compared to 1980. Results of carried out tests suggest several causes of this disease, in which an important role is played by age, genetic and environmental factors. An important role is played by oxidizing agents. They damage the genetic material and reduce activity of enzymes responsible for the repair of this damage contributing to the development of neurodegenerative diseases including AD. In this paper we discuss the relationship between the activity level of the main system removing oxidative DNA damage, named base excision repair (BER), which recognizes and repairs damaged DNA bases, as well as the key proteins involved in this type of DNA re-

\*Praca została sfinansowana z grantu Narodowego Centrum Nauki (DEC-2012/05/B/NZ7/03032 - Tomasz Śliwiński, kierownik projektu).

|                       |  |
|-----------------------|--|
| <b>Key words:</b>     | pair and AD. We also describe the important role of genetic polymorphism in genes encoding BER proteins, modulating the activity of this type of repair. This indicates the possibility to increase the knowledge of the AD mechanism based on the BER system, which may contribute to the identification of molecular markers of this disease in the future.<br><b>Alzheimer's disease • oxidative DNA damage • base excision repair pathway • genetic polymorphism</b> |
| <b>Full-text PDF:</b> | <a href="http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1114036">http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1114036</a>  |
| <b>Word count:</b>    | 3457   |
| <b>Tables:</b>        | 1  |
| <b>Figures:</b>       | 1  |
| <b>References:</b>    | 105  |

**Adres autora:** dr hab. inż. Tomasz Śliwiński, prof. nadzw. UŁ, Katedra Genetyki Molekularnej, Uniwersytet Łódzki, ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź; e-mail: tomsliv@biol.uni.lodz.pl

**Wykaz skrótów:** **3'PGA** – aldehyd 3'-fosfoglicerynianowy; **5'dRP** – 5'fosforan deoksyrybozy; **8-okso-dG** – 7,8-dihydro-8-okso-deoksyguanina; **Aβ** – β-amyloid; **AD** – choroba Alzheimera; **ALS** – stwardnienie zanikowe boczne; **AP** – miejsce apurynowe/apirymidynowe; **APE1** – endonukleazy miejsca apurynowego/apirymidynowego; **βAPP** – produkt proteolizy białka prekursorowego β-amyloidu; **BER** – naprawa DNA przez wycinanie zasad azotowych; **DG** – glikozylaza DNA; **FEN-1, FEN-2** – endonukleazy usuwające powstałe struktury odstających nici DNA; **HNE** – 4-hydroksy-2-nonenal; **LOAD** – choroba Alzheimera o późnym początku; **MCI** – łagodne zaburzenie poznawcze; **MUTYH, NEIL1, NEIL2, NEIL3, NTH, OGG1, OGG2, UNG** – glikozylazy DNA; **MutT** – gen mutatorowy, kodujący GTP-azę hydrolizującą 8-okso-GTP do monofosforanu; **O<sub>2</sub><sup>•-</sup>** – anionorodnik nadadtlenkowy; **OH<sup>•</sup>** – rodnik hydroksylowy; **PARP1** – polimeraza poli-ADP-rybozy; **PCNA** – jądrowy antygen komórek proliferujących; **Pol β, Pol δ, Pol ε, Pol γ** – polimerazy DNA; **RFT** – reaktywne formy tlenu; **SSB** – pojedyncze pęknięcia łańcucha DNA; **TLS** – synteza DNA, pomimo uszkodzenia; **XRCC1** – białko naprawy DNA.

## WSTĘP

Rola oksydacyjnych uszkodzeń DNA w chorobach neurodegeneracyjnych jest intensywnie badana od wielu lat [13,69,70,92]. Jednak szczegółowe dane dotyczące molekularnego mechanizmu występowania, rozwoju i progresji tych chorób nie są dostępne [105]. Nie ma również wystarczających informacji na temat molekularnych markerów niezbędnych do wczesnej identyfikacji i diagnozy schorzeń neurodegeneracyjnych, w tym również choroby Alzheimera, a także innych chorób otępiennych [24]. Głównym szlakiem biochemicznym usuwającym uszkodzenia oksydacyjne DNA jest system naprawy DNA przez wycinanie zasad azotowych (BER). Przeprowadzone dotąd badania nie dowodzą jednoznacznie, czy w AD dochodzi do jednoczesnego wzrostu uszkodzeń DNA, czy raczej do zmniejszenia wydajności naprawy tych uszkodzeń przez system BER [36]. Dlatego jest istotne dokładne wyjaśnienie, na poziomie molekularnym, zaburzeń systemu BER, które mogą być bezpośrednią przyczyną powstawania i rozwoju wielu chorób neurodegeneracyjnych, w tym AD.

## USZKODZENIA OKSYDACYJNE GENOMU I ICH NAPRAW PRZEZ SYSTEM BER

Nieodłącznym elementem życia organizmów tlenowych w środowisku utleniającym jest narażenie ich materiału genetycznego na nieustanne uszkodzenia powodowane

przez tzw. reaktywne formy tlenu (RFT) [20]. Są to pośrednie produkty podstawowego procesu generowania energii chemicznej przez komórkę, czyli fosforylacji oksydacyjnej [96]. Powyższy tzw. wyciek tlenowy jest jednak zjawiskiem naturalnym i czysto fizjologicznym, dopiero ponadnormatywne wytwarzanie wolnych rodników przyczynia się do powstania zjawiska stresu oksydacyjnego, czyli zaburzenia delikatnej równowagi między powstawaniem wolnych rodników i zdolnością organizmu do ich usuwania. Za nadprodukcją RFT odpowiadają takie czynniki jak: leki [22], toksyny [56] promieniowanie UV [78] oraz proces starzenia [8,85]. Reaktywne formy tlenu, takie jak O<sub>2</sub><sup>•-</sup> (anionorodnik nadadtlenkowy), OH<sup>•</sup> (rodnik hydroksylowy), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (nadtlenek wodoru) indukują w genomie uszkodzenia oksydacyjne oraz pojedyncze pęknięcia łańcucha DNA (SSBs – Single Strand Breaks). Z licznych przykładów powstałych uszkodzeń wymienić można: glikol tyminy [26], 5-hydroksymetylouracyl [43], 5-formylouracyl [54], oksazonol [95] i obecnie najszerzej badana 7,8-dihydro-8-okso-deoksyguanina (8-okso-dG) [16,40,73]. Skutkiem działania czynników utleniających na DNA są uszkodzenia sięgające dziesiątek tysięcy uszkodzonych zasad w komórce w przeciągu jednej doby. Dane te są zaniżone, gdyż nie uwzględniają zasad naprawianych na bieżąco przez systemy naprawy DNA [97]. Stąd głównym zagadnieniem z punktu widzenia integralności genomu komórki jest wydajny system naprawy uszkodzeń

DNA. Zważając, że proces syntezy mimo uszkodzenia (TLS – Translesion Synthesis) może zupełnie zignorować zaistniałe błędy i miejsca ich wystąpienia poddać transkrypcji. Proces ten przyczynia się więc bezpośrednio do utrwalenia błędów w genomie [55,58]. Przykład taki doskonale ilustruje obecność 8-okso-dG w łańcuchu DNA, gdzie pojawienie się utlenionej pochodnej guaniny, w obrębie sekwencji DNA, prowadzi do bardzo niebezpiecznej mutacji typu transwersji G-C do T-A [30]. Dodatkowo bezpośrednią konsekwencją reakcji szkieletu cukrowego z wolnymi rodnikami jest powstanie pęknięć mających niewiążące końce blokowane przez grupy chemiczne 3'-fosfoglicerynian (3'PGA) (3'PGA) na końcu 3'[10] i pochodną 5' fosfodeoksyrybozy, czyli lakton 2-deoksyrybozy na końcu 5'[23].

Niezwykle konserwatywny ewolucyjnie system BER jest odpowiedzialny za naprawę alkilowanych [86] i utlenionych zasad DNA, a także powstałych miejsc AP [93]. System naprawy DNA przez wycinanie zasad został odkryty u *Escherichia coli* przez Thomasa Lindahla i wydawał się prostym systemem naprawczym DNA [63]. Dalsze badania dowiodły, że u organizmów wyższych jest on daleko bardziej złożony i wyszukany, niż sądzono na początku.

System BER jest zapoczątkowany przez glikozylazy DNA (DG –DNA glycosylase), które rozpoznają uszkodzone zasady i wycinają je z DNA, pozostawiając miejsce apurynowe/apirymidynowe (AP). Niektóre glikozylazy wykazują również aktywność AP liazy i katalizują reakcję  $\beta$ -eliminacji wiązania 3'fosfodiesterowego bądź wiązań 3', 5' fosfodiesterowych [52,83]. Powstałe w wyniku  $\beta$ , $\delta$ -eliminacji reszty fosforanowe na końcu 3' usuwa endonukleaza AP (APE1 – AP endonuclease 1). Powstałą lukę w DNA, z wolnym końcem 3' OH wypełnia polimeraza  $\beta$  (Pol  $\beta$ ), którą następnie wypełnia ligaza III DNA, współdziałając z polimerazą za pomocą białka XRCC1 [19,77]. W przypadku glikozylaz niemających aktywności liazy AP, biorą one udział głównie w naprawie zasad ulegających deaminacji, alkilacji, czy też uszkodzonych przez RFT [52,83].

Następnie liaza AP wywołuje hydrolizę wiązania 5'-fosfodiesterowego po stronie 5' uszkodzenia, które powstaje po działaniu glikozylaz bez aktywności liazy AP [9,32,84]. Powstały koniec 3' OH jest substratem dla Pol  $\beta$ , gdzie równocześnie przez ten sam enzym jest usuwany 5' końcowy fosforan deoksyrybozy (5'-dRP) [53,72]. Za syntezę nowych nukleotydów w przypadku DNA mitochondrialnego odpowiada polimeraza  $\gamma$  (Pol  $\gamma$ ) [2]. Powstałe w ten sposób nacięcie jest łączone przez ligazę DNA III przy współudziale białka XRCC1 [37,57]. Mechanizm usuwania uszkodzonej zasady w DNA jest nazywany szlakiem podstawowym BER [80].

Rozróżnia się również alternatywny szlak BER, gdzie polimerazy  $\delta$  bądź  $\epsilon$  (Pol  $\delta$ , Pol  $\epsilon$ ) syntetyzują kilka nukleotydów przez przemieszczenie nici DNA zawierającej 5'-dRP w kierunku 5'→3' zaczynając od miejsca AP [5,35,80]. Powstała w następstwie tej reakcji struktura tzw. odsło-

niętej nici (flap) jest usuwana przez endonukleazy FEN1 i FEN2 [29]. W szlaku tym wymagana jest obecność jądrowego antygenu komórek proliferujących (PCNA - proliferating cell nuclear antigen), który oddziałuje z Pol  $\delta$ /Pol  $\epsilon$ , FEN1/FEN2 oraz ligazą I DNA. Ten ostatni enzym łączy powstałe pęknięcia.

Nie jest jednoznacznie określone, które czynniki decydują za pomocą jakiego szlaku przebiegnie naprawa w komórce. Obserwowano, że przy dużych stężeniach ATP w pobliżu miejsca AP naprawa najczęściej przebiegała szlakiem podstawowym [79]. Jeszcze jedną determinantą wyboru szlaku naprawy może być efektywność usuwania dRP przez Pol  $\beta$ , w przebiegu naprawy. Okazało się bowiem, że w przypadku skuteczniejszego jego usuwania komórka częściej „decydowała się” na przeprowadzenie naprawy szlakiem podstawowym [53]. Również obecność białek, takich jak: PCNA i czynnik replikacyjny C (RF-C - replication factor-C), które stanowią element maszynierii replikacyjnej, w czasie procesu naprawy może świadczyć o tym, iż etap cyklu komórkowego może być czynnikiem, który decyduje o wyborze alternatywnego szlaku naprawy [80].

Dotąd u człowieka zidentyfikowano jedenaście glikozylaz zaangażowanych w rozpoznawanie i usuwanie uszkodzonych zasad. Ze względu na swoistość rozpoznawanych uszkodzeń można je podzielić na pięć nadrodzin: 1) glikozylazy rozpoznające uszkodzenia uracylowe pojedynczej i podwójnej nici DNA, 2) niedopasowane pochodne pirymidyn, 3) uszkodzenia oksydacyjne, 4) alkilowane puryny, 5) utlenione lub nasycone pirymidyny [49,87]. Pierwsza grupa obejmuje dwa enzymy UNG i SMUG<sub>1</sub>. Do drugiej zaliczamy: MBD<sub>4</sub> i TDG. Przedstawiciele trzeciej nadrodziny to: OGG1 i MYH. W grupie czwartej występuje jeden enzym – MPG. Ostatnia, piąta grupa jest najliczniejsza, w jej skład wchodzi cztery enzymy: NTH i NEIL1-3 [14]. MYH, czyli homolog bakteryjnej glikozylazy MutY jest enzymem klasy glikozylaz odpowiedzialnym za usuwanie błędnie podstawionej adeniny i 2-hydroksyadeniny sparowanej z guaniną lub 8-okso-dG [45]. UNG, czyli glikozylaza N-uracylowa (UNG - uracil N-glycosylase) i monofunkcyjna glikozylaza uracylowa DNA (SMUG - single-strand-selective monofunctional uracil-DNA glycosylase 1) to enzymy odpowiedzialne za usuwanie powstałego przez deaminację cytozyny uracylu w DNA [28]. MBD<sub>4</sub> i TDG to enzymy, których zadaniem jest usuwanie tyminy powstałej w wyniku deaminacji 5-metylocytozyny. Ponadto biorą one udział w procesie apoptozy i regulacji transkrypcji [91]. Hipoksantyna – produkt oksydacyjnej deaminacji adeniny, 1,N6-etenoadeniny i alkilowane zasady, takie jak 3-metyloadenina, czy 7-metyloguanina to substraty dla glikozylazy MPG (MPG - N-methylpurine DNA glycosylase) [60]. Enzym NEIL1 działa jako „strażnik” replikacji. Prawdopodobnie usuwa uszkodzenia oksydacyjne w obrębie widełek replikacyjnych. W przypadku białka NEIL2 dotychczas zebrane dane wskazują, iż usuwa on uszkodzenia DNA w czasie procesu transkrypcji. Odnosząc się do trzeciego i ostatniego członka rodziny NEIL, czyli NEIL3, nie określono dotąd jego funkcji. Przypuszczalnie enzym ten jest zaangażowany w naprawę uszkodzeń oksydacyjnych

w pojedynczej nici DNA w telomerach (zespoły G-kwadrupleksowe) [64,98]. Ostatnim członkiem tej rodziny jest enzym Nth odpowiadający głównie za usuwanie uszkodzeń oksydacyjnych pirymidyn [51]. Szczególnie wiele uwagi poświęca się enzymom OGG1 i MYH, w związku z występowaniem chorób neurodegeneracyjnych, gdzie zmianom patologicznym w schorzeniach tego typu towarzyszą uszkodzenia oksydacyjne, które są substratem dla tych białek naprawczych [88].

Trwałe uszkodzenia oksydacyjne genomu oraz ich wadliwa lub niezbyt efektywna naprawa mogą być przyczyną powstawania wielu ludzkich schorzeń, takich jak: nowotwory, dziedziczne lub nabyte zaburzenia neurologiczne, włączając w to chorobę Alzheimera, chorobę Huntingtona, parkinsonizm, czy stwardnienie zanikowe boczne (ALS – amyotrophic lateral sclerosis) [11].

### ZABURZENIA FUNKCJONOWANIA BER W CHOROBIE ALZHEIMERA

Choroba Alzheimera jest jednym z najczęściej diagnozowanych schorzeń neurodegeneracyjnych. Charakteryzuje się postępującym zmniejszeniem funkcji poznawczych (głównie pamięci) oraz zaburzeniami zachowania, takimi jak: apatia, pobudzenie oraz objawy psychotyczne. Pod względem neuropatologicznym AD charakteryzuje się występowaniem zwyrodnień neurofibrylarnych oraz zewnątrzkomórkowych złogów amyloidu w postaci blaszek amyloidowych. Chociaż są one konglomeratem różnych białek, to ich rdzenie są zbudowane z jednego peptydu nazywanego  $\beta$ -amyloidem ( $A\beta$ ) będącym produktem proteolizy białka prekursorowego  $\beta$ APP ( $\beta$ -amyloid precursor protein) [81]. Z białka prekursorowego, poddanego działaniu sekretazy- $\alpha$ , która przecina białko prekursorowe w miejscu Lys-16 sekwencji  $A\beta$  (687/688  $\beta$ APP) oraz  $\gamma$  powstają nieamyloidowe produkty oddziałujące z receptorami szlaku Notch [39]. Produktem cięcia przez  $\alpha$ -sekretazę APP jest białko p3 oraz dłuższy fragment s $\beta$ APP (83 aa). Natomiast amylogenne procesowanie białka APP opiera się na enzymatycznej aktywności  $\beta$ - zamiast  $\alpha$ -sekretaży. W wyniku jej działania powstaje peptyd składający się z 99 reszt aminokwasów, który poddany proteolizie przez  $\gamma$ -sekretażę generuje odcinki peptydu o długości 40 lub 42 aa stanowiące  $\beta$ -amyloid [6,76].

Podeszły wiek jest czynnikiem sprzyjającym zwiększonej zapadalności na chorobę Alzheimera i inne choroby neurodegeneracyjne. Pomimo zaznaczonej w wielu publikacjach heterogenności i złożonej natury zjawisk związanych z wystąpieniem choroby Alzheimera istnieje wiele doniesień, iż skorelowany z wiekiem wzrost poziomu RFT może być jedną z przyczyn wystąpienia tej oraz innych chorób otępiennych [50]. Ze względu na duże zapotrzebowanie neuronów w tlen oraz względnie niewielkie stężenie endogennych przeciwutleniaczy, tkanka mózgowa jest miejscem szczególnie narażonym na uszkodzenia oksydacyjne [75]. Powodem tak silnego oddziaływania RFT z materiałem genetycznym jest niezwykła reaktywność tych związków. Niektóre z nich, np. rodnik hydroksylowy wchodzi w reakcję już w miejscu jego wytworzenia [41].

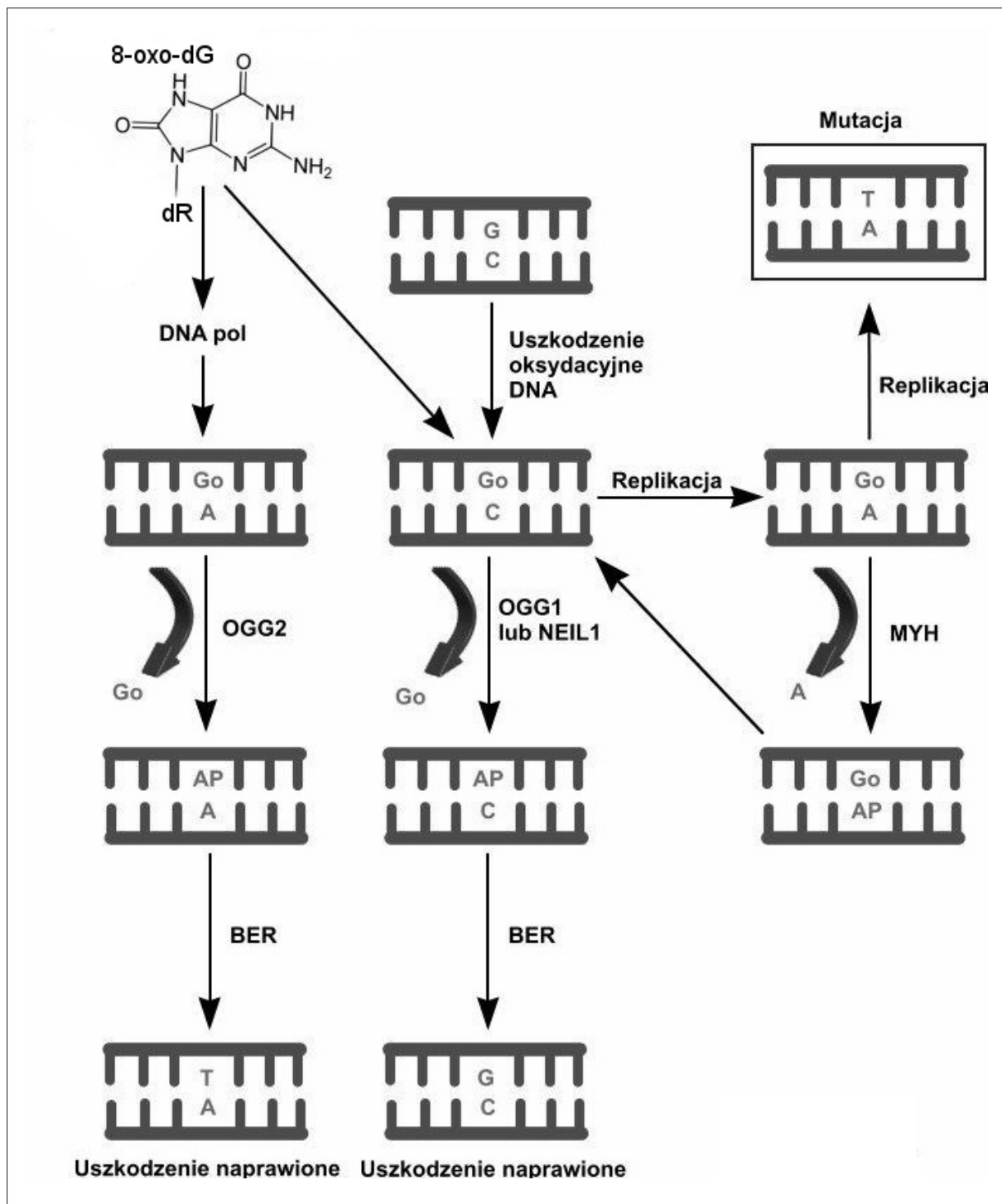
Spśród ponad dwudziestu zidentyfikowanych i opisanych oksydacyjnych modyfikacji DNA, te związane z powstaniem niezwykle mutagennej 8-okso-dG są obecnie intensywnie badane. Ocena poziomu 8-okso-dG jest markerem oksydacyjnych uszkodzeń DNA w wielu schorzeniach, w tym w chorobach neurodegeneracyjnych. Żeby przeciwdziałać mutacjom powodowanym obecnością 8-okso-dG (nazywanym też uszkodzeniem GO) w łańcuchu DNA komórki wypracowały tzw. system GO, składający się z genów kodujących białka BER:

- *MUTYH* – kodujący glikozylazę DNA,
- *OGG1*, *OGG2*, *NEIL1* – kodujące glikozylazy 8-oksoguaniny,
- *MutT* – gen mutatorowy, kodujący GTP-azę hydrolizującą 8-okso-GTP do monofosforanu. Zapobiega to włączeniu niewłaściwej zasady w łańcuchu DNA [34,68].

Schemat systemu GO przedstawia rycina 1.

OGG1 jest odpowiedzialny za właściwe usunięcie 8-okso-dG z uszkodzonego DNA, natomiast *MUTYH* wycina adeninę, włączoną przez polimerazę DNA, która jest położona naprzeciwko 8-okso-dG [90]. Białka *OGG1*, *OGG2* oraz *NEIL1* są odpowiedzialne za usunięcie 8-okso-dG z helisy tworząc miejsce AP, do którego przyłączają się następane enzymy systemu BER. Jeśli łańcuch DNA z włączonym 8-okso-dG ulegnie replikacji, naprzeciw niej komplementarnie wbudowana zostanie adenina zamiast guaniny [38]. *MUTYH* z podwójnej nici DNA usuwa błędnie wstawioną adeninę, tworząc miejsce AP. Mutacje w genach *MUTYH* i *OGG1* są bezpośrednią przyczyną niektórych schorzeń, w tym nowotworów oraz rodzinnej gruczolakowatości polipowatej [3,82]. W badaniach *in vitro* wykazano, że katalityczna wydajność *OGG1*, głównego białka katalizującego usuwanie 8-okso-dG, jest zależna od dwóch komponentów systemu BER, endonukleazy AP, która tnie łańcuch DNA w miejscu apurynowo/apirymidowym w kierunku 5' pozostawiając wolny koniec 3'-OH oraz białka XRCC1, uczestniczącego w naprawie pojedynczych pęknięć DNA [44]. XRCC1 oddziałuje fizycznie i funkcjonalnie z *OGG1* powodując dwu- lub trzykrotny wzrost jej aktywności glikozylacyjnej [71]. Sugeruje to złożoną sieć połączeń funkcjonalnych w obrębie głównych elementów tego systemu. Wykazano również, że inne białka systemu BER, takie jak *PARP1*, *MUTYH*, *NEIL1* lub *NEIL3* są zaangażowane w rozwój procesów neurodegeneracyjnych u szczurów [102]. Zmniejszona aktywność BER może być czynnikiem związanym z rozwojem schorzeń neurodegeneracyjnych, w tym AD [103]. Badania *post mortem* wykazały spadek aktywności glikozylaz DNA: *UDG*, *OGG1* oraz polimerazy DNA, a także całego systemu BER, w chorobowo zmienionych komórkach mózgowych pacjentów z AD w porównaniu z komórkami pobranymi od pacjentów z łagodnym zaburzeniem poznawczym (MCI – mild cognitive impairment). Do wyciągnięcia podobnych wniosków skłaniają wyniki badań autoradiograficznych z wykorzystaniem radioizotopu fosforu 32 [101]. Wskazuje to na związek między wydajnością BER, a stopniem zmian neurodegeneracyjnych zaobserwowanych w tych komórkach. Chociaż nadal prowadzi się eksperymenty zarówno na komórkach ludzkich, jak i innych organizmów, nie ma wystarczających informacji na temat mechanizmu AD opartego na akumulacji oksydacyjnych uszkodzeń DNA





Ryc. 1. Schemat działania systemu GO w komórce człowieka; DNA pol – polimeraza DNA, Go – 7,8-dihydro-8-oksodeoksyguanina. OGG1, OGG2, NEIL1 – glikozylazy DNA. Opis w tekście

oraz nie są również znane markery molekularne niezbędne do wczesnego wykrywania, czy monitorowania stopnia rozwoju tego schorzenia.

W 1998 r. zespół badaczy pod kierownictwem Tana, dzięki immunobarwieniu, zaobserwował, iż aktywność endonu-

kleazy APE1 w próbie kontrolnej jest na niskim poziomie w przeciwieństwie do płytek amyloidowych w hipokampie i innych regionach mózgu pacjentów cierpiących na AD [94]. Jednocześnie dowiedziono, że w homogenacie kory mózgowej u osób z AD dochodzi do zwiększonej ekspresji genu APE1 w porównaniu do kontroli, pobranej od pacjentów w podob-

nym wieku [21]. Zaobserwowany w płynie mózgowo-rdzeniowym, wzrost uszkodzeń oksydacyjnych oraz spadek wydajności systemów naprawczych w mózgach zmienionych chorobowo, jak sugeruje Lovell i wsp., jest związany z podwójnym narażeniem na czynniki stresowe. Analizowali oni mózgi pacjentów w zaawansowanej postaci AD pod kątem aktywności OGG1 i odkryli istotny jej spadek w próbkach z AD w zakręcie przyhipokampowym i płacie ciemieniowym. Nie wykryto natomiast żadnych różnic w mózdku w próbkach badanych i kontrolnych [65]. W komórkach ludzkiego ciała wyróżnić można dwie izoformy białka OGG1 – jądrową ( $\alpha$ -OGG1) oraz mitochondrialną ( $\beta$ -OGG1), które powstają w wyniku alternatywnego składowania [42]. U chorych ze zdiagnozowaną AD obserwowano spadek poziomu mitochondrialnej  $\beta$ -OGG1, w porównaniu do kontroli. Dodatkowo, dzięki immunobarwieniu, dowiedziono, iż w splotach fibrylnych oraz neuronach dystroficznych poziom OGG1 ulega obniżeniu [46]. Nowsze eksperymenty prowadzone na 10 próbkach pobranych z mózgow pacjentów ze sporadyczną odmianą choroby Alzheimera oraz na próbkach kontrolnych pobranych od pacjentów w podobnym wieku, wykazały zmniejszoną aktywność BER, związaną z ograniczeniem naprawy uszkodzonych zasad w łańcuchu DNA przez glikozylazę i polimerazę DNA  $\beta$ . Autorzy zwracają szczególną uwagę na obniżoną aktywność enzymu uracylowej glikozylazy DNA (UDG), OGG1 i Pol- $\beta$  w zarówno zdrowych, jak i patologicznie zmienionych rejonach mózgu. Poziom APE1 oraz jej endonukleolityczna aktywność w próbach badanych i kontrolnych były na podobnym poziomie. Ponadto zaobserwowano również upośledzenie działania BER u chorych cierpiących na łagodne zaburzenie poznawcze z epizodyczną amnezją. Sugeruje to korelację poziomu aktywności BER ze stopniem zaawansowania schorzenia [34]. Analiza aktywności systemu BER w modelach zwierzęcych, z symptomatyczną i presymptomatyczną AD wykazała, w przeciwieństwie do próbek pobieranych od ludzi, brak zależności między spadkiem wydajności BER a wystąpieniem patologii, jakie towarzyszą schorzeniom podobnym do AD [100]. Badania wykorzystujące mysie komórki nerwowe wykazały, że brak mysiego enzymu OGG1 uwrażliwia neurony dopaminowe na toksyczne działanie manganu w czasie ich rozwoju [12]. Inne doniesienia głoszą, że w mózgach myszy w okresie prenatalnym potencjał naprawczy uszkodzeń spowodowanych 8-okso-dG jest 5-, 10-krotnie większy niż u osobników dorosłych. Analiza aktywności naprawczej i test Western blot wykonane z ekstraktu białkowego pozyskanego z mózgow zwierząt z inaktywowanym genem *OGG1* wykazały, że mysie białko OGG1 jest odpowiedzialne za wydajne usuwanie 8-okso-dG u osobników w stadium prenatalnym. By dowiedzieć się, jak mysie białko OGG1 chroni przed indukowaną stresem oksydacyjnym mutagenezą ciężarne gryzonie rasy Big Blue w wariacie dzikim i w wariacie *OGG1*<sup>-/-</sup> poddano działaniu nietoksycznej dawki promieniowania gamma. Odnotowano 2,5-krotny wzrost częstości mutacji u zwierząt z wyłączonym genem *OGG1* poddanych działaniu dawki promieniowania o wartości 3,5 Gy 19 dni po zapłodnieniu. Najczęstszymi mutacjami były transwersje GC na TA, co tłumaczy się działaniem 8-okso-dG powodującym niewłaściwe parowanie nukleotydów podczas replikacji, co potwierdza inny niezależny zespół badawczy [4]. Najprawdopodobniej

szybki podział komórek jest wymagany do utrwalenia mutacji, ponieważ podobna dawka promieniowania u dorosłych myszy nie spowodowała większej liczby transwersji GC na TA [59]. Oceniano też aktywność tnącą OGG1, UDG i homologa endonukleazy III (NTH1) w jądrze ogoniastym, płacie czołowym, hipokampie, mózdku i pniu mózgu u 6- i 8-miesięcznych gryzoni C57Bl/6. Obserwowano znaczący i zależny od wieku spadek aktywności enzymatycznej wszystkich badanych glikozylaz w mitochondriach we wszystkich rejonach mózgu, podczas gdy w jądrach komórkowych pojawiły się zróżnicowane wzory zmian molekularnych. Autorzy zasugerowali, że manipulacja mechanizmami naprawczymi DNA może być istotnym elementem strategii zmierzającej do zapobiegania niszczeniu i utraty neuronów w przebiegu zależnych od wieku schorzeń neurodegeneracyjnych [47]. Niezwykle interesujące są również wyniki najnowszych badań przeprowadzonych na innej bardzo ciekawej odmianie myszy. Transgeniczne mutanty Tg-ArcSwe mają specyficzną właściwość polegającą na tym, że złoży  $\beta$ -amyloidu odkładają się już w mózgach osobników 4-miesięcznych, a objawy podobne do tych towarzyszących chorobie Alzheimera pojawiają się u nich w wieku dorosłym. Autorzy badań wykazali, iż obecności złogów amyloidowych towarzyszy zmiana wzorca ekspresji genów podstawowych enzymów BER, takich jak *OGG1*, *APE1*, *POLB* i polimerazy ADP-rybozy (PARP1 – poly-ADP-ribose polymerase). Zaobserwowali też podwyższoną ekspresję wszystkich czterech genów u najmłodszych myszy Tg-ArcSwe w porównaniu do kontroli. U osobników czteromiesięcznych poziom OGG1 był wyższy w porównaniu do kontroli, autorzy tłumaczą to odpowiednią ustroju na stres oksydacyjny. Wyniki wskazują, iż między zwiększoną depozycją  $\beta$ -amyloidu, a zmianami funkcjonalnymi w systemie BER istnieje inna zależność, aniżeli ta wywodząca się z prostej reakcji ustroju na zjawisko stresu oksydacyjnego [62].

## RÓŻNORODNOŚĆ WARIANTÓW GENÓW KODUJĄCYCH BIAŁKA BER A CHOROBA ALZHEIMERA

Opierając się na wynikach badań sugeruje się, iż polimorfizmy genów związanych z systemem naprawy przez wycinanie zasad wpływają na obniżenie jego aktywności, co może zwiększać ryzyko wystąpienia AD [48]. Z tego powodu, odkąd wykazano znaczący spadek aktywności OGG1 w tkankach zmienionych chorobowo w przebiegu AD, bada się, czy istnieje korelacja między częstym polimorfizmem Ser326Cys genu *OGG1*, a AD [18,27,66]. Uważa się, że powyższy polimorfizm znacząco wpływa na rozwój pewnych odmian nowotworów oraz jest związany z etiopatogenezą neurodegeneracyjnego schorzenia – ALS [17,99]. Dzięki zastosowaniu pomiaru stężenia 8-okso-2'-deoksyguanozyny, zaobserwowano redukcję aktywności systemów naprawczych DNA u osób z polimorfizmem Ser326Cys [74]. Dalsze analizy nie wykazały różnic w rozkładzie polimorfizmu Ser326Cys w genie *OGG1* między 178 pacjentami ze sporadyczną AD, a 146 osobami z grupy kontrolnej. Mao i wsp. zidentyfikowali i scharakteryzowali delecję pojedynczej zasady C796 oraz dwa podstawienia zasad prowadzące do substytucji Ala53Thr lub Ala288Val w genie *OGG1* [68]. Autorzy testowali skutki obserwowanych mutacji i stwierdzili, że typ dziki genu *OGG1*

**Tabela 1.** Różnorodność wariantów genów BER w chorobie Alzheimerera

| Białko   | Gen   | Wariant lub polimorfizm | Funkcja (jeśli jest znana)  | Komentarz  | Źródło |
|--|-------|-------------------------|---|--|--------|
| Liaza miejsca apurynowego/apirymidynowego DNA (APEX1)                                  | APEX1 | Asp148Glu               | Brak korelacji pomiędzy obecnością polimorfizmu a wystąpieniem AD   | -  | [17]   |
| Ludzki homolog glikozylazy adeninowej  | MUTYH | His324Gln               | Niejednoznaczna: obniżenie funkcji poznawczych  | -  | [17]   |
| Endonukleaza miejsca AP  | APE1  | Gln51His                | Obecność tej mutacji związana jest z obniżeniem funkcji poznawczych   | -  | [61]   |
| Glikozylaza DNA 8-oksoguaniny (OGG1)   | OGG1  | Ser326Cys               | Obecność mutacji Ser326Cys w allelu związana jest z redukcją poziomu mocznikowego 8-okso-dG, sugerowana zmniejszona aktywność enzymu OGG1 | Niezwiązana z ryzykiem wystąpienia AD                            | [32]   |
| Glikozylaza DNA 8-oksoguaniny (OGG1)   | OGG1  | C796del                 | Mutacja C796del prowadzi do wytwarzania nieprawidłowego białka OGG1 pozbawionego aktywności katalitycznej                                 | Znajdowana w próbkach badanych w AD, brak w próbkach kontrolnych | [24]   |
| Glikozylaza DNA 8-oksoguaniny (OGG1)   | OGG1  | Ala53Thr                | Substytucja Ala53Thr prowadzi do wytwarzania nieprawidłowego białka o zmniejszonej aktywności glikozylazy                                 | Obecna w próbie badanej, brak w kontroli                         | [24]   |
| Glikozylaza DNA 8-oksoguaniny (OGG1)   | OGG1  | Ala288Val               | Substytucja Ala53Thr prowadzi do wytwarzania nieprawidłowego białka o zmniejszonej aktywności glikozylazy                                 | Obecna w próbie badanej, brak w kontroli                         | [24]   |
| Polimeraza 1 poli-ADP-rybozy   | PARP1 | Val762Ala               | Zmniejszenie funkcjonalnej aktywności PARP1   | Korelacja pomiędzy pewnymi haplotypami a ryzykiem wystąpienia AD | [22]   |
| Białko uczestniczące w naprawie DNA (X-ray repair cross-complementing protein group 1) | XRCC1 | Arg194Trp               | Polimorfizm Arg194Trp jest częstą substytucją o nieznannej właściwości  | Graniczne powiązanie z ryzykiem wystąpienia AD                   | [8]    |
| Białko uczestniczące w naprawie DNA (X-ray repair cross-complementing protein group 1) | XRCC1 | Arg280His, Arg399Gln    | Potencjalny wpływ na rozwój chorób neurodegeneracyjnych   | -  | [11]   |

koduje 345 reszt aminokwasów, a pojedyncze usunięcie zasady (C796del) modyfikuje kodowanie ramki OGG1 w miejscu mutacji. W rezultacie translacja nie kończy się na kodonie 346, lecz zamiast tego powstaje produkt dłuższy o 59 aminokwasów, dołączonych za miejscem, w którym w dzikim wariantcie OGG1 dochodziło do terminacji translacji. Badacze dzięki ukierunkowanej mutagenie stworzyli mutant z delecją C796 białka OGG1 i dowiedli, że tak zmienione białko nie usuwa nieprawidłowego 8-okso-dG z łańcucha DNA. Aby określić wpływ substytucji Ala53Thr lub Ala288Val na aktywność białka OGG1 autorzy ponownie, dzięki metodzie ukierunkowanej mutagenie, stworzyli produkt z danymi substytucjami i wykazali, że tak zmutowana glikozylaza

8-okso-dG zachowuje jedynie 50-60% aktywności jej dzikiej postaci. Nie wykryto żadnej mutacji u wszystkich 10 badanych osób, którzy stanowili reprezentacyjną pod względem wieku kontrolę. Dlatego pozostałe aberracje niezwiązane z substytucją Ser326Cys mogą się okazać głównym czynnikiem patogenezy AD. Jednak dane te zostały zgromadzone ze stosunkowo niewielkiej grupy 14 pacjentów ze zdiagnozowanym AD oraz 10 osób stanowiących kontrolę. Należy do tych wyników podchodzić ostrożnie, a w celu wyciągnięcia ostatecznych wniosków, konieczne są dalsze badania zakrojone na szerszą skalę. Co więcej, ta sama grupa badaczy zaobserwowała, że w niektórych regionach mózgu dochodzi do spadku poziomu jądrowego i mitochondrialnego białka

OGG1 u pacjentów z łagodnym zaburzeniem poznawczym oraz z AD o późnym początku (LOAD – late onset Alzheimer disease). Autorzy sugerują, że spadek aktywności OGG1 pojawia się wcześniej w rozwoju AD i prawdopodobnie odbywa się to za pośrednictwem HNE, czyli 4-hydroksy-2-nonenalu [89].

Białko XRCC1 stanowiące rusztowanie dla dwóch enzymów – ligazy DNA III oraz polimerazy  $\beta$ , służy też razem z białkiem PARP1, jako bardzo czuły wskaźnik pęknięć pojedynczej nici DNA [1]. W obszarze kodującym produkt XRCC1 zidentyfikowano kilka polimorfizmów, które mogą odgrywać istotną rolę w powstawaniu niektórych schorzeń nowotworowych [104]. Znaczenie funkcjonalne tych polimorfizmów jak na razie w większości nie jest znane. Jednak 194 polimorfizm występujący w genie (Arg194Trp) występuje w rejonie niezwykle konserwatywnym pod względem ewolucyjnym, co sugeruje jego funkcjonalne znaczenie. Udział polimorfizmu Arg194Trp genu XRCC1 w rozwoju AD w ostatnich latach stanowi przedmiot wielu eksperymentów. Badania prowadzone były wśród 98 pacjentów ze zdiagnozowanym AD. Wynikało z nich, że istnieje statystyczna zależność między polimorfizmem Arg194Trp, a występowaniem AD. Jednak ze względu na zbyt mały odsetek osób z badanym polimorfizmem w obrębie badanej grupy moc statystyczna eksperymentu jest ograniczona [25,31]. Z tego względu niezbędne są dalsze badania wpływu wariantu Arg194Trp genu XRCC1 oraz innych wariantów polimorficznych genów kodujących podstawowe białka BER na patogenezę AD.

Zbiór najbardziej istotnych wariantów polimorficznych genów kodujących białka BER, mogących mieć związek z AD przedstawiono w tabeli 1.

## PODSUMOWANIE

Naprawa uszkodzeń genomowych, które obejmują degradację zasad, powstawanie miejsc AP i produktów ich utleniania w jądrze oraz w mitochondriach, jest niezbędna do zachowania stabilności genomu i przeżycia komórki, głównie u organizmów tlenowych, jako szczególnie narażonych na wewnętrzne czynniki oksydacyjne. Początkowo udział BER w prewencji chorób neurodegeneracyjnych, w tym również choroby Alzheimera, był kwestionowany ze względu na brak powiązań między tymi schorzeniami, a akumulacją utlenionych zasad, miejsc AP, czy SSB w genomie. Obecnie to się zmienia i obniżenie wydajności systemu BER zaczyna być łączone z tymi przypadłościami. Dodatkowo redukcja aktywności systemów naprawczych DNA uważana jest za jedną z głównych przyczyn starzenia i zmian odczuwalnych wieku podeszłego. Choroba Alzheimera, jako schorzenie mające zróżnicowaną etiologię, wymaga dokładnej analizy na poziomie molekularnym, i to zarówno na poziomie genetycznym, epigenetycznym, jak i funkcjonalnym. Obecnie nie ulega wątpliwości, że jedną z głównych przyczyn AD jest spadek aktywności systemów naprawczych DNA, w tym głównie BER, jednak jest potrzebna szczegółowa analiza udziału poszczególnych elementów tego systemu w patogenezie tej choroby. Dokładne poznanie tych czynników może się bowiem przyczynić do opracowania czułych testów, niezbędnych do skutecznej diagnostyki oraz prewencji AD, czy też innych chorób neurodegeneracyjnych. Możliwość ustalenia dokładnego profilu genetycznego pacjenta z AD, nakierowanego na geny kodujące białka BER, może pozwolić na zastosowanie celowanej, spersonalizowanej terapii pacjentów z tą ciężką chorobą.

## PIŚMIENNICTWO

- [1] Ahmed E.A., de Boer P., Philippens M.E., Kal H.B., de Rooij D.G.: Parp1-XRCC1 and the repair of DNA double strand breaks in mouse round spermatids. *Mutat. Res.*, 2010; 683: 84-90
- [2] Alexeyev M., Shokolenko I., Wilson G., LeDoux S.: The maintenance of mitochondrial DNA integrity - critical analysis and update. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, 2013; 5: a012641
- [3] Al-Tassan N., Chmiel N.H., Maynard J., Fleming N., Livingston A. L., Williams G. T., Hodges A. K., Davies D. R., David S. S., Sampson J. R., Cheadle J.P.: Inherited variants of MYH associated with somatic G:C>T:A mutations in colorectal tumors. *Nat. Genet.*, 2002; 30: 227-232
- [4] Arai T., Kelly V.P., Minowa O., Noda T., Nishimura S.: High accumulation of oxidative DNA damage, 8-hydroxyguanine, in *Mmh/Ogg1* deficient mice by chronic oxidative stress. *Carcinogenesis*, 2002; 23: 2005-2010
- [5] Asagoshi K., Liu Y., Masaoka A., Lan L., Prasad R., Horton J.K., Brown A.R., Wang X.H., Bdour H.M., Sobol R.W., Taylor J.S., Yasui A., Wilson S.H.: DNA polymerase  $\beta$ -dependent long patch base excision repair in living cells. *DNA Repair*, 2010; 9: 109-119
- [6] Asai M., Yagishita S., Iwata N., Saido T.C., Ishiura S., Maruyama K.: An alternative metabolic pathway of amyloid precursor protein C-terminal fragments via cathepsin B in a human neuroglioma model. *FASEB J.*, 2011; 25: 3720-3730
- [7] Baldwin M.R., O'Brien P.J.: Nonspecific DNA binding and coordination of the first two steps of base excision repair. *Biochemistry*, 2010; 49: 7879-7891
- [8] Boesten D.M., de Vos-Houben J.M., Timmermans L., den Hartog G.J., Bast A., Hageman G.J.: Accelerated aging during chronic oxidative stress: a role for PARP-1. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2013; 2013: 680414
- [9] Boiteux S., O'Connor T.R., Laval J.: Formamidopyrimidine-DNA glycosylase of *Escherichia coli*: cloning and sequencing of the *fpg* structural gene and overproduction of the protein. *EMBO J.*, 1987; 6: 3177-3183
- [10] Breen A.P., Murphy J.A.: Reactions of oxyl radicals with DNA. *Free Rad. Biol. Med.*, 1995; 18: 1033-1077
- [11] Bucholtz N., Demuth I.: DNA-repair in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *DNA Repair*, 2013; 12: 811-816
- [12] Cardozo-Pelaez F., Cox D. P., Bolin C.: Lack of the DNA repair enzyme OGG1 sensitizes dopamine neurons to manganese toxicity during development. *Gene Expr.*, 2005; 12: 315-323
- [13] Christen Y.: Oxidative stress and Alzheimer disease. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2000; 71: 621-629
- [14] Christmann M., Kaina B.: Transcriptional regulation of human DNA repair genes following genotoxic stress: trigger mechanisms,



inducible responses and genotoxic adaptation. *Nucleic Acids Res.*, 2013; 41:8403-8420

[15] Christmann M., Tomicic M.T., Roos W.P., Kaina B.: Mechanisms of human DNA repair: an update. *Toxicology*, 2003; 193: 3-34

[16] Cooke M.S., Evans M.D., Dizdaroglu M., Lunec J.: Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *FASEB J.*, 2003; 17: 1195-1214

[17] Coppedè F., Mancuso M., Lo Gerfo A., Carlesi C., Piazza S., Rocchi A.: Association of the *hOGG1* Ser326Cys polymorphism with sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Neurosci. Lett.*, 2007; 420: 163-168

[18] Coppedè F., Mancuso M., Lo Gerfo A., Manca M. L., Petrozzi L., Migliore L., Siciliano G., Murri L.: A Ser326Cys polymorphism in the DNA repair gene *hOGG1* is not associated with sporadic Alzheimer's disease. *Neurosci. Lett.*, 2007; 414: 282-285

[19] David S.S., O'Shea V.L., Kundu S.: Base-excision repair of oxidative DNA damage. *Nature*, 2007; 447: 941-950

[20] Davies K.: Oxidative stress: the paradox of aerobic life. *Biochem. Soc. Symp.*, 1995; 61: 1-31

[21] Davydov V., Hansen L.A., Shackelford D. A.: Is DNA repair compromised in Alzheimer's disease? *Neurobiol. Aging*, 2003; 24: 953-968

[22] Deavall D.G., Martin E.A., Horner J.M., Roberts R.: Drug-induced oxidative stress and toxicity. *J. Toxicol.*, 2012; 2012: 645460

[23] Demple B., DeMott M.S.: Dynamics and diversions in base excision DNA repair of oxidized abasic lesions. *Oncogene*, 2002; 21: 8926-8934

[24] Dickson D.W.: Required techniques and useful molecular markers in the neuropathologic diagnosis of neurodegenerative diseases. *Acta Neuropathol.*, 2005; 109: 14-24

[25] Dođru-Abbasođlu S., Aykaç-Toker G., Hanagasi H.A., Gürvit H., Emre M., Uysal M.: The *Arg194Trp* polymorphism in DNA repair gene XRCC1 and the risk for sporadic late-onset Alzheimer's disease. *Neurol. Sci.*, 2007; 28: 31-34

[26] Dolinnaya N.G., Kubareva E.A., Romanova E.A., Trikin R.M., Oretskaya T.S.: Thymidine glycol: the effect on DNA molecular structure and enzymatic processing. *Biochimie*, 2013; 95: 134-147

[27] Dorszewska J., Kempisty B., Jaroszevska-Kolecka J., Rózycka A., Florczak J., Lianeri M., Jagodziński P.P., Kozubski W.: Expression and polymorphisms of gene 8-oxoguanine glycosylase 1 and the level of oxidative DNA damage in peripheral blood lymphocytes of patients with Alzheimer's disease. *DNA Cell Biol.*, 2009; 28: 579-588

[28] Doseth B., Visnes T., Wallenius A., Ericsson I., Sarno A., Pettersen H.S., Flatberg A., Catterall T., Slupphaug G., Krokan H.E., Kavli B.: Uracil-DNA glycosylase in base excision repair and adaptive immunity: species differences between man and mouse. *J. Biol. Chem.*, 2011; 286: 16669-16680

[29] Duxin J.P., Dao B., Martinsson P., Rajala N., Guittat L., Campbell J.L., Spelbrink J.N., Stewart S.A.: Human Dna2 is a nuclear and mitochondrial DNA maintenance protein. *Mol. Cell. Biol.*, 2009; 29: 4274-4282

[30] Efrati E., Tocco G., Eritja R., Wilson S.H., Goodman M.F.: "Action-at-a-distance" mutagenesis. 8-oxo-7, 8-dihydro-2'-deoxyguanosine causes base substitution errors at neighboring template sites when copied by DNA polymerase  $\beta$ . *J. Biol. Chem.*, 1999; 274: 15920-15926

[31] El-Khamisy S. F., Masutani M., Suzuki H., Caldecott K.W.: A requirement for PARP-1 for the assembly or stability of XRCC1 nuclear foci at sites of oxidative DNA damage. *Nucleic Acids Res.*, 2003; 31: 5526-5533

[32] Fitzgerald M.E., Drohat A.C.: Coordinating the initial steps of base excision repair. Apurinic/apyrimidinic endonuclease 1 actively stimulates thymine DNA glycosylase by disrupting the product complex. *J. Biol. Chem.*, 2008; 283: 32680-32690

[33] Fortini P., Dogliotti E.: Base damage and single-strand break repair: mechanisms and functional significance of short- and long-patch repair subpathways. *DNA Repair*, 2007; 6: 398-409

[34] Fortini P., Parlanti E., Sidorkina O.M., Laval J., Dogliotti E.: The type of DNA glycosylase determines the base excision repair pathway in mammalian cells. *J. Biol. Chem.*, 1999; 274: 15230-15236

[35] Frosina G., Fortini P., Rossi O., Carrozzino F., Raspaglio G., Cox L.S., Lane D.P., Abbondandolo A., Dogliotti E.: Two pathways for base excision repair in mammalian cells. *J. Biol. Chem.*, 1996; 271: 9573-9578

[36] Fu D., Calvo J.A., Samson L.D.: Balancing repair and tolerance of DNA damage caused by alkylating agents. *Nat. Rev. Cancer*, 2012; 12: 104-120

[37] Gao Y., Katyal S., Lee Y., Zhao J., Rehg J.E., Russell H.R., McKinnon P.J.: DNA ligase III is critical for mtDNA integrity but not Xrcc1-mediated nuclear DNA repair. *Nature*, 2011; 471: 240-244

[38] Ghosh R., Mitchell D.L.: Effect of oxidative DNA damage in promoter elements on transcription factor binding. *Nucleic Acids Res.*, 1999; 27: 3213-3218

[39] Hadland B.K., Manley N.R., Su D., Longmore G.D., Moore C.L., Wolfe M.S., Schroeter E.H., Kopan R.:  $\gamma$ -Secretase inhibitors repress thymocyte development. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001; 98: 7487-7491

[40] Haghdoost S., Czene S., Näslund I., Skog S., Harms-Ringdahl M.: Extracellular 8-oxo-dG as a sensitive parameter for oxidative stress in vivo and in vitro. *Free Radic. Res.*, 2005; 39: 153-162

[41] Halliwell B., Gutteridge J.: *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press, Oxford, New York 1999

[42] Hashiguchi K., Stuart J.A., de Souza-Pinto N.C., Bohr V.A.: The C-terminal alpha O helix of human Ogg1 is essential for 8-oxoguanine DNA glycosylase activity: the mitochondrial beta-Ogg1 lacks this domain and does not have glycosylase activity. *Nucleic Acids Res.*, 2004; 32: 5596-5608

[43] Hashimoto H., Hong S., Bhagwat A.S., Zhang X., Cheng X.: Excision of 5-hydroxymethyluracil and 5-carboxylcytosine by the thymine DNA glycosylase domain: its structural basis and implications for active DNA demethylation. *Nucleic Acids Res.*, 2012; 40: 10203-10214

[44] Hill J.W., Hazra T. K., Izumi T., Mitra S.: Stimulation of human 8-oxoguanine-DNA glycosylase by AP endonuclease: potential coordination of the initial steps in base excision repair. *Nucleic Acids Res.*, 2001; 29: 430-438

[45] Hwang B.J., Shi G., Lu A.L.: Mammalian MutY homolog (MYH or MUTYH) protects cells from oxidative DNA damage. *DNA Repair*, 2014; 13: 10-21

[46] Iida T., Furuta A., Nishioka K., Nakabeppu Y., Iwaki T.: Expression of 8-oxoguanine DNA glycosylase is reduced and associated with neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease brain. *Acta Neuropathol.*, 2002; 103: 20-25

[47] Imam S.Z., Karahalil B., Hogue B.A., Souza-Pinto N.C., Bohr V.A.: Mitochondrial and nuclear DNA-repair capacity of various brain regions in mouse is altered in an age-dependent manner. *Neurobiol. Aging*, 2006; 27: 1129-1136

[48] Jacob K.D., Noren Hooten N., Tadokoro T., Lohani A., Barnes J., Evans M.K.: Alzheimer's disease-associated polymorphisms in human OGG1 alter catalytic activity and sensitize cells to DNA damage. *Free Radic. Biol. Med.*, 2013; 63: 115-125

[49] Jacobs A.L., Schär P.: DNA glycosylases: in DNA repair and beyond. *Chromosoma*, 2012; 121: 1-20

[50] Kadioglu E., Sardas S., Aslan S., Isik E., Esat Karakaya A.: Detection of oxidative DNA damage in lymphocytes of patients with Alzheimer's disease. *Biomarkers*, 2004; 9: 203-209

[51] Kato S., Hashiguchi K., Igarashi K., Moriwaki T., Yonekura S., Zhang-Akiyama Q.M.: Structural and functional properties of CINTH,

an endonuclease III homologue of the ascidian *Ciona intestinalis*: critical role of N-terminal region. *Genes Genet. Syst.*, 2012; 87: 115-124

[52] Kim Y.J., Wilson D.M. 3rd: Overview of base excision repair biochemistry. *Curr. Mol. Pharmacol.*, 2012; 5: 3-13

[53] Klungland A., Lindahl T.: Second pathway for completion of human DNA base excision-repair: reconstitution with purified proteins and requirement for DNase IV (FEN1). *EMBO J.*, 1997; 16: 3341-3348

[54] Klungland A., Paulsen R., Rolseth V., Yamada Y., Ueno Y., Wiik P., Matsuda A., Seeberg E., Bjelland S.: 5-Formyluracil and its nucleoside derivatives confer toxicity and mutagenicity to mammalian cells by interfering with normal RNA and DNA metabolism. *Toxicol. Lett.*, 2001; 119: 71-78

[55] Knobel P.A., Marti T.M.: Translesion DNA synthesis in the context of cancer research. *Cancer Cell Int.*, 2011; 11: 39

[56] Kovacic P., Somanathan R.: Novel, unifying mechanism for aromatic primary-amines (therapeutics, carcinogens and toxins): electron transfer, reactive oxygen species, oxidative stress and metabolites. *Med. Chem. Commun.*, 2011; 2: 106-112

[57] Kubota Y., Nash R.A., Klungland A., Schär P., Barnes D.E., Lindahl T.: Reconstitution of DNA base excision-repair with purified human proteins: interaction between DNA polymerase beta and the XRCC1 protein. *EMBO J.*, 1996; 15: 6662-6670

[58] Kunz B.A., Straffon A.F., Vonarx E.J.: DNA damage-induced mutation: tolerance via translesion synthesis. *Mutat. Res.*, 2000; 451: 169-185

[59] Larsen E., Reite K., Nesse G., Gran C., Seeberg E., Klungland A.: Repair and mutagenesis at oxidized DNA lesions in the developing brain of wild-type and OGG1<sup>-/-</sup> mice. *Oncogene*, 2006; 25: 2425-2432

[60] Leitner-Dagan Y., Sevilya Z., Pinchev M., Kramer R., Elinger D., Roisman L.C., Rennert H.S., Schechtman E., Freedman L., Rennert G., Livneh Z., Paz-Elizur T.: N-methylpurine DNA glycosylase and OGG1 DNA repair activities: opposite associations with lung cancer risk. *J. Natl. Cancer Inst.*, 2012; 104: 1765-1769

[61] Lillenes M.S., Espeseth T., Støen M., Lundervold A.J., Frye S.A., Rootwelt H., Reinvang I., Tønjum T.: DNA base excision repair gene polymorphisms modulate human cognitive performance and decline during normal life span. *Mech. Ageing Dev.*, 2011; 132: 449-458

[62] Lillenes M.S., Støen M., Gómez-Muñoz M., Torp R., Günther C.C., Nilsson L.N., Tønjum T.: Transient OGG1, APE1, PARP1 and Polβ expression in an Alzheimer's disease mouse model. *Mech. Ageing Dev.*, 2013; 134: 467-477

[63] Lindahl T.: An N-glycosidase from *Escherichia coli* that releases free uracil from DNA containing deaminated cytosine residues. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1974; 71: 3649-3653

[64] Liu M., Imamura K., Averill A.M., Wallace S.S., Double S.: Structural characterization of a mouse ortholog of human NEIL3 with a marked preference for single-stranded DNA. *Structure*, 2013; 21: 1-14

[65] Lovell M.A., Soman S., Bradley M.A.: Oxidatively modified nucleic acids in preclinical Alzheimer's disease (PCAD) brain. *Mech. Ageing Dev.*, 2011; 132: 443-448

[66] Lovell M.A., Xie C., Markesbery W.R.: Decreased base excision repair and increased helicase activity in Alzheimer's disease brain. *Brain Res.*, 2000; 855: 116-123

[67] Mao G., Pan X., Gu L.: Evidence that a mutation in the *MLH1* 3'-untranslated region confers a mutator phenotype and mismatch repair deficiency in patients with relapsed leukemia. *J. Biol. Chem.* 2008; 283: 3211-3216

[68] Mao G., Pan X., Zhu B.B., Zhang Y., Yuan F., Huang J., Lovell M.A., Lee M.P., Markesbery W.R., Li G.M., Gu L.: Identification and characterization of *OGG1* mutations in patients with Alzheimer's disease. *Nucleic Acids Res.*, 2007; 35: 2759-2766

[69] Markesbery W.R.: Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease. *Free Radic. Biol. Med.*, 1997; 23: 134-147

[70] Markesbery W.R.: The role of oxidative stress in Alzheimer disease. *Arch. Neurol.*, 1999; 56: 1449-1452

[71] Marsin S., Vidal A.E., Sossou M., Menissier-de Murcia J., Le Page F., Boiteux S., de Murcia G., Radicella J.P.: Role of XRCC1 in the coordination and stimulation of oxidative DNA damage repair initiated by the DNA glycosylase hOGG1. *J. Biol. Chem.*, 2003; 278: 44068-44074

[72] Matsumoto Y., Kim K.: Excision of deoxyribose phosphate residues by DNA polymerase β during DNA repair. *Science*, 1995; 269: 699-702

[73] Matter B., Malejka-Giganti D., Csallany A.S., Tretyakova N.: Quantitative analysis of the oxidative DNA lesion, 2,2-diamino-4-(2-deoxy-β-D-erythro-pentofuranosyl)amino]-5(2H)-oxazolone (oxazolone), *in vitro* and *in vivo* by isotope dilution-capillary HPLC-ESI-MS/MS. *Nucleic Acids Res.*, 2006; 34: 5449-5460

[74] Migliore L., Fontana I., Trippi F., Colognato R., Coppede F., Tognoni G., Nucciarone B., Siciliano G.: Oxidative DNA damage in peripheral leukocytes of mild cognitive impairment and AD patients. *Neurobiol. Aging*, 2005; 26: 567-573

[75] Miller E., Mrowicka M., Żołyński K., Kędziora A.J.: Stres oksydacyjny w stwardnieniu rozsianym. *Pol. Merk. Lek.*, 2009; 162: 499-502

[76] Murphy M.P., Hickman L.J., Eckman C.B., Uljon S.N., Wang R., Golde T.E.: g-secretase, evidence for multiple proteolytic activities and influence of membrane positioning of substrate on generation of amyloid β peptides of varying length. *J. Biol. Chem.*, 1999; 274: 11914-11923

[77] Odell I.D., Barbour J.E., Murphy D.L., Della-Maria J.A., Sweasy J.B., Tomkinson A.E., Wallace S.S., Pederson D.S.: Nucleosome disruption by DNA ligase III-XRCC1 promotes efficient base excision repair. *Mol. Cell. Biol.*, 2011; 31: 4623-4632

[78] Perluigi M., Di Domenico F., Blarmino C., Foppoli C., Cini C., Giorgi A., Grillo C., De Marco F., Butterfield D.A., Schininà M.E., Coccia R.: Effects of UVB-induced oxidative stress on protein expression and specific protein oxidation in normal human epithelial keratinocytes: a proteomic approach. *Proteome Sci.*, 2010; 18: 13

[79] Petermann E., Ziegler M., Oei S.L.: ATP-dependent selection between single nucleotide and long patch base excision repair. *DNA Repair*, 2003; 2: 1101-1114

[80] Prasad R., Dianov G.L., Bohr V.A., Wilson S.H.: FEN1 stimulation of DNA polymerase β mediates an excision step in mammalian long patch base excision repair. *J. Biol. Chem.*, 2000; 275: 4460-4466

[81] Reitz C., Mayeux R.: Alzheimer disease: epidemiology, diagnostic criteria, risk factors and biomarkers. *Biochem. Pharmacol.*, 2014; 88: 640-651

[82] Risom L., Dybdahl M., Møller P., Wallin H., Haug T., Vogel U.: Repeated inhalations of diesel exhaust particles and oxidatively damaged DNA in young oxoguanine DNA glycosylase (OGG1) deficient mice. *Free Radic. Res.*, 2007; 41: 172-181

[83] Robertson A.B., Klungland A., Rognes T., Leiros I.: DNA repair in mammalian cells: Base excision repair: the long and short of it. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2009; 66: 981-993

[84] Robson C.N., Hickson I.D.: Isolation of cDNA clones encoding a human apurinic/apyrimidinic endonuclease that corrects DNA repair and mutagenesis defects in *E. coli xth* (exonuclease III) mutants. *Nucleic Acids Res.*, 1991; 19: 5519-5523

[85] Romano A.D., Serviddio G., de Mattheis A., Bellanti F., Vendemiale G.: Oxidative stress and aging. *J. Nephrol.*, 2010; 15: S29-S36

[86] Sarkaria J.N., Kitange G.J., James C.D., Plummer R., Calvert H., Weller M., Wick W.: Mechanisms of chemoresistance to alkylating agents in malignant glioma. *Clin. Cancer Res.*, 2008; 14: 2900-2908

[87] Scharer O.D.: Chemistry and biology of DNA repair. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 2003; 42: 2946-2974

- [88] Shao C., Roberts K.N., Markesbery W.R., Scheff S.W., Lovell M.A.: Oxidative stress in head trauma in aging. *Free Radic. Biol. Med.*, 2006; 41: 77-85
- [89] Shao C., Xiong S., Li G.M., Gu L., Mao G., Markesbery W.R., Lovell M.A.: Altered 8-oxoguanine glycosylase in mild cognitive impairment and late-stage Alzheimer's disease brain. *Free Radic. Biol. Med.*, 2008; 45: 813-819
- [90] Sheng Z., Oka S., Tsuchimoto D., Abolhassani N., Nomaru H, Sakumi K., Yamada H., Nakabeppu Y.: 8-Oxoguanine causes neurodegeneration during MUTYH-mediated DNA base excision repair. *J. Clin. Invest.*, 2012; 122: 4344-4361
- [91] Sjolund A.B., Senejani A.G., Sweasy J.B.: MBD4 and TDG: multifaceted DNA glycosylases with ever expanding biological roles. *Mutat. Res.*, 2013; 743-744: 12-25
- [92] Smith M.A., Perry G., Richey P.L., Sayre L.M., Andreson V.E., Beal M.F., Kowall N.: Oxidative damage in Alzheimer's. *Nature*, 1996; 382: 120-121
- [93] Srivastava D.K., Berg B.J., Prasad R., Molina J.T., Beard W.A., Tomkinson A.E., Wilson S.H.: Mammalian abasic site base excision repair. Identification of the reaction sequence and rate-determining steps. *J. Biol. Chem.*, 1998; 273: 21203-21209
- [94] Tan Z., Sun. N, Schreiber S. S.: Immunohistochemical localization of redox factor-1 (Ref-1) in Alzheimer's hippocampus. *Neuroreport*, 1998; 9: 2749-2752
- [95] Valavanidis A., Vlachogianni T., Fiotakis C.: 8-hydroxy-2' -deoxyguanosine (8-OHdG): A critical biomarker of oxidative stress and carcinogenesis. *J. Environ. Sci. Health C. Environ. Carcinog. Ecotoxicol. Rev.* 2009; 27: 120-139
- [96] Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T., Mazur M., Telser J.: Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2007; 39: 44-84
- [97] Vilenchik M.M., Knudson A.G.Jr.: Inverse radiation dose-rate effects on somatic and germ-line mutations and DNA damage rates. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2000; 97: 5381-5386
- [98] Wallace S.S.: DNA glycosylases search for and remove oxidized DNA bases. *Environ. Mol. Mutagen.*, 2013; 54: 691-704
- [99] Weiss J. M., Goode E.L., Ladiges W.C., Ulrich C.M.: Polymorphic variation in *hOGG1* and risk of cancer: a review of the functional and epidemiologic literature. *Mol. Carcinog.*, 2005; 42: 127-141
- [100] Weissman L., de Souza-Pinto N.C., Mattson M.P., Bohr V.A.: DNA base excision repair activities in mouse models of Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging*, 2009; 30: 2080-2081
- [101] Weissman L., Jo D.G., Sørensen M. M., de Souza-Pinto N.C., Markesbery W.R., Mattson M.P.: Defective DNA base excision repair in brain from individuals with Alzheimer's disease and amnesic mild cognitive impairment. *Nucleic Acids Res.*, 2007; 35: 5545-5555
- [102] Wilson D.M.3rd., Bohr V.A.: The mechanics of base excision repair, and its relationship to aging and disease. *DNA Repair*, 2007; 6: 544-559
- [103] Yang J.L., Weissman L., Bohr V.A., Mattson, M.P.: Mitochondrial DNA damage and repair in neurodegenerative disorders. *DNA Repair*, 2008; 7: 1110-1120
- [104] Zhang Y., Wang Y., Wu J., Li L.J.: XRCC1 Arg194Trp polymorphism is associated with oral cancer risk: evidence from a meta-analysis. *Tumour Biol.*, 2013; 34: 2321-2327
- [105] Zhao Y., Zhao B.: Oxidative stress and the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2013; 2013: 316523

---

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.