

Remigiusz Zięba

KARNOZYNA – AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA I PERSPEKTYWY ZASTOSOWANIA W FARMAKOTERAPII

Z Zakładu Farmakodynamiki Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

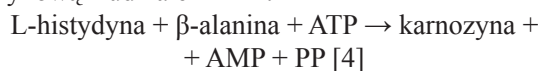
Praca zawiera przegląd aktualnego piśmiennictwa dotyczącego właściwości biologicznych karnozyny i perspektyw jej zastosowania w farmakoterapii. Karnozyna, występujący endogennie, rozpuszczalny w wodzie dipeptyd, utrzymuje równowagę kwasowo-zasadową w tkankach pobudliwych zwierząt i człowieka (działanie buforujące), zmniejsza toksyczność jonów metali (działanie chelatujące), reaktywnych form tlenu (działanie antyoksydacyjne) i drobnocząsteczkowych aldehydów (działanie antyglukacyjne), wydłuża życie komórek w warunkach hodowli komórkowej, reguluje aktywność retikularnych kanałów wapniowych w kardiomiocytach i mięśniach szkieletowych. Karnozyna stanowi potencjalny czynnik terapeutyczny wielu schorzeń, w których patogenezie uczestniczy stres oksydacyjny i stres karbonylowy (m.in. choroby neurodegeneracyjne, metaboliczne, sercowo-naczyniowe). [Wiad Lek 2007; 60(1–2): 73–79]

Słowa kluczowe: karnozyna, działanie antyoksydacyjne, działanie antyglukacyjne, retikularne kanały wapniowe, hamowanie starzenia komórek.

1. Właściwości biologiczne karnozyny

Rosyjski badacz Gulewicz wyizolował karnozynę z materiału biologicznego na początku ubiegłego wieku. Kilkanaście lat później ustalono, że ma ona strukturę dipeptydu β -alanylo-L-histydylowego. Obecnie wiadomo, że należy ona do podstawowych dipeptydów i zarazem jest głównym niebiałkowym związkiem zawierającym azot w mięśniach szkieletowych kręgowców. Może stanowić około 0,2–0,5% masy niektórych mięśni poprzecznie prążkowanych [1], występuje także w innych tkankach i narządach, m.in. w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN) ssaków, głównie w komórkach gleju i neuronach węchowych. Ponieważ synteza karnozyny w kulturach komórkowych oligodendrocytów i komórek mięśni szkieletowych koreluje ze stopniem morfologicznego zróżnicowania tych komórek, można sądzić, że dipeptyd ten pełni biologiczną rolę w tkankach dojrziałych [1,2]. Ilość karnozyny w tkankach kręgowców obniża się z wiekiem [3].

Karnozyna jest syntetyzowana z L-histydyny i β -alaniny w reakcji katalizowanej przez syntetazę karnozynową z udziałem ATP:



U ludzi karnozyna jest metabolizowana do L-histydyny i β -alaniny przez dwa izoenzymy będące dipeptydazami aminoacylohistydyłowymi: karnozynazę cytozolową (tkankową), metaloenzym związany z cynkiem, i karnozynazę osoczną [5]. Niedobór karnozynazy w osoczu jest konsekwencją choroby dziedzicznej autosomalnie recesywnie i wiąże się z karnozynurią, rzadziej hiperkarnozynemią oraz opóźnieniem umysłowym u ludzi. Karnozynuria występuje nawet po wyeliminowaniu karnozyny z pożywienia [4].

Karnozyna wchłania się po podaniu doustnym głównie z jelita cienkiego. Jest transportowana przez nośnik PEPT1, zlokalizowany w obrębie rąbka szczoteczko-

wego jelita cienkiego i odgrywający również decydującą rolę we wchłanianiu innych di- i tripeptydów [6]. W czasie absorpcji zachodzi częściowa hydroliza karnozyny do β -alaniny i L-histydyny [7,8]. Karnozyna przenika barierę krew–mózg. Na hodowli komórek splotu naczyniówkowego wykazano, że transporter PEPT2 może odgrywać ważną rolę regulującą stężenie karnozyny w płynie mózgowo-rdzeniowym [9].

Stężenie karnozyny w tkankach w dużym stopniu zależy od diety. Niedobór histydyny w pożywieniu zmniejsza ilość karnozyny w mięśniach. Dieta bogata w histydynę oraz suplementacja wysokimi dawkami karnozyny zwiększa jej stężenie w tkankach [10].

Działanie antyoksydacyjne

Karnozyna to występujący endogennie, rozpuszczalny w wodzie dipeptyd działający antyoksydacyjnie. Ze względu na hydrofilowy charakter stanowi cenne uzupełnienie cytozolowej frakcji bariery antyoksydacyjnej. Pełni rolę rozpuszczalnego w wodzie odpowiednika antyoksydantów o charakterze lipofilowym (np. α -tokoferolu) [10]. W badaniach in vitro i in vivo karnozyna unieczynniana rodniki hydroksylowe i nadtlenkowe, jest silnym „wymiataczem” tlenu singletowego, chloraminy oraz rodnika peroksynitrylowego [11,12]. Hamuje peroksydację lipidów, przez co zapobiega uszkodzeniu błon białkowo-lipidowych [13]. Obniża stężenie dialdehydu malonowego, ważnego wskaźnika peroksydacji lipidów [14]. Badania na indyjskich mięśniach szkieletowych wskazują, że karnozyna nie jest tak silnym „wymiataczem” wolnych rodników jak witaminy E lub C. Pełni ona jednak specyficzną i bardzo ważną rolę w tkankach wykorzystujących wolne rodniki w regulacji procesów biologicznych. Karnozyna „buforuje” reaktywne formy tlenu w tkankach, ale nie hamuje całkowicie ich funkcji regulatorowych i sygnałnych [15]. Ze względu na duże stężenie karnozyny

w tkankach pobudliwych, odgrywa ona w nich ważną rolę w ochronie przed stresem oksydacyjnym [16].

Działanie antyglikacyjne

Karnozyna nie tylko unieczynnia związki wolnorodnikowe, ale również „wymiatą” toksyczne produkty działania wolnych rodników w komórce. Proces peroksydacji lipidów generuje wysoce reaktywne, drobnocząsteczkowe związki aldehydowe, takie jak: aldehydy nasycone, α,β -mononienasycone, wielonienasycone oraz aldehydy hydroksylowane. Są one toksyczne dla komórek, ponieważ przyłączają się do białek, DNA i lipoprotein, co prowadzi do ich usieciowania i zaburzenia homeostazy komórkowej [16]. Reaktywne aldehydy o charakterze cukrów redukujących (np. gliceraldehyd, dihydroksyaceton) powstają podczas przemian metabolicznych oraz w procesach patologicznych, zwłaszcza w niekontrolowanej cukrzycy, i są gromadzone w miarę starzenia organizmu. Aldehydy cukrowe przyłączają się do biomolekuł komórki w procesie nieenzymatycznej glikozylacji, zwanej glikacją, co prowadzi do powstania tzw. stabilnych produktów glikozylacji (*advanced glycosylation end-products* – AGEs), zwanych również produktami Maillarda [3].

Karnozyna pełni funkcję efektywnego czynnika antyglikacyjnego, chroniącego białka komórkowe przed atakiem reaktywnych aldehydów. Stanowi ona, podobnie jak inne inhibitory AGEs (glutation, aminoguanidyna, pirydoksamina), swoistą pułapkę nukleofilową dla drobnocząsteczkowych związków karbonylowych [17]. Ze względu na duże stężenie w tkankach prawdopodobnie odgrywa główną rolę w inaktywowaniu toksycznych produktów peroksydacji lipidów w mięśniach szkieletowych [16].

Karnozyna nie tylko unieczynnia reaktywne związki aldehydowe, może również wchodzić w reakcje z grupami karbonylowymi już zmodyfikowanych oksydacyjnie białek z utworzeniem adduktów białko-karbonyl-karnozyna w procesie zwanym karnozylacją. Karnozylowane białka przypominają lipofuscynę, pigment starczy, związek o znikomej aktywności biologicznej, uważany za jeden z parametrów stresu oksydacyjnego w ustroju [3]. Podstawową drogą utylizacji adduktów białko-karbonyl-karnozyna jest proteoliza przez cytozolowe i jądrowe kompleksy enzymatyczne, zwane proteasomami (zwłaszcza proteasomy 20S i 26S). Proteoliza białek ukarbonylowanych jest możliwa po uprzednim przyłączeniu do nich niskocząsteczkowego białka – ubikwityny. Białka zmodyfikowane oksydacyjnie mogą być jednak odporne na atak proteolityczny, mogą nawet hamować funkcje proteasomów. Karnozyna maskuje grupy karbonylowe utlenionych białek, może zatem ułatwiać ich proteolizę. Poza tym ułatwia proces ubikwitynacji zmodyfikowanych oksydacyjnie białek i stymuluje aktywność degradacyjną proteasomów [3].

Gromadzenie się ukarbonylowanych białek (stres karbonylowy) jest biochemiczną manifestacją starzenia się komórek. Karnozyna poprzez działanie antyoksydacyjne i antyglikacyjne może pełnić funkcję regulatora śmierci komórek [3,18].

Działanie buforujące

Karnozyna pełni rolę ruchomego bufora pH dla tkanek, które ze względu na preferencyjny glikolityczny tor pozyskiwania energii są szczególnie narażone na zaburzenia równowagi kwasowo-zasadowej (głównie mięśnie poprzecznie prążkowane) [15]. Karnozyna jest głównym niedwuwęglanowym związkiem utrzymującym homeostazę kwasowo-zasadową w mięśniach kręgowców. Właściwości buforujące wynikają z obecności pierścienia imidazolowego histydyny w cząsteczce dipeptydu, którego atomy azotu mogą ulegać reakcji protonowania w miarę zakwaszania środowiska [19]. Karnozyna może zapewniać nawet do 40% pojemności buforowej mięśni szkieletowych ssaków [20].

Zjawisko Seweryna

W 1953 r. Seweryn i wsp. zaobserwowali, że karnozyna dodana do medium, w którym zawieszono preparat mięśnia żaby uprzednio stymulowany elektrycznie do pracy, szybko i skutecznie poprawiała siłę skurczu zmęczonego mięśnia. Zasadniczą przyczyną nagłego obniżenia siły skurczu mięśni podczas wykonywania intensywnej pracy są zmiany właściwości receptorów rianodinowych będących sarkoplazmatycznymi kanałami jonowymi uwalniającymi wapń. Na skutek zmian stężeń związków będących endogennymi regulatorami receptorów rianodinowych, uwalnianie jonów wapnia z retikularnych kanałów wapniowych jest zaburzone, co prowadzi do obniżenia siły skurczu mięśni. Wykazano, że karnozyna stymuluje uwalnianie jonów wapnia oraz zwiększa powinowactwo endogennych agonistów do receptora rianodinowego [21].

Chelatowanie jonów metali

Karnozyna wykazuje właściwości chelatowania jonów metali (m.in. miedzi, żelaza, cynku, kobaltu), dzięki czemu może regulować ich stężenie w tkankach i płynach ustrojowych oraz zmniejszać ich toksyczność. Szczególna lokalizacja karnozyny z glutaminianem, cynkiem i miedzią w zakończeniach synaptycznych neuronów węchowych w OUN sugeruje, że może ona modulować przesyłanie bodźców węchowych przez glutaminian. Chelatując jony cynku i miedzi, karnozyna znosi ich działanie hamujące na transmisję glutaminergiczną i GABA-ergiczną. Zaburzenia równowagi puli mózgowej cynku wiążą się ze zwiększonym ryzykiem chorób neurologicznych, np. choroby Alzheimerera (cynk

indukuje agregację beta-amyloidu), padaczki, udaru niedokrwiennego. Natomiast w patogenezie rodzinnego stwardnienia zanikowego bocznego (*sclerosis lateralis amyotrophica* – SLA) i choroby Wilsona znaczącą rolę odgrywa miedź. Wiążąc jony miedzi i cynku, karnozyna mogłaby zmniejszać ryzyko wystąpienia tych schorzeń. W warunkach *in vitro* wykazano toksyczne działanie cynku i miedzi na neurony opuszki węchowej. Ponieważ karnozyna moduluje wpływ cynku i miedzi na pobudliwość neuronalną, wysnuto hipotezę, że może chronić przed działaniem neurotoksycznym tych metali. Być może karnozyna pełni funkcję endogennie występującej substancji neuroprotektcyjnej [2,22].

2. Badania eksperymentalne i perspektywy terapeutyczne

Karnozyna stanowi potencjalny czynnik terapeutyczny wielu schorzeń, w których patogenezie uczestniczy stres oksydacyjny i stres karbonylowy.

Zaćma starcza

Zachwianie równowagi między związkami działającymi utleniająco a barierą antyoksydacyjną cieczy wodnistej oka i soczewki generuje stres oksydacyjny, który jest ważnym czynnikiem rozwoju zaćmy starczej. W randomizowanych badaniach z zastosowaniem podwójnie ślepej próby wykazano skuteczność kropli do oczu zawierających 1% roztwór acetylokarnozyny (prolek) w zapobieganiu i nieoperacyjnym leczeniu zaćmy starczej u ludzi [23,24]. Na rynku farmaceutycznym w Rosji dopuszczono do obrotu krople do oczu zawierające 5% roztwór karnozyny, które zmniejszają owrzodzenia rogówki w przebiegu infekcji wirusowych i bakteryjnych gałki ocznej [25].

Powikłania cukrzycy

Stres oksydacyjny oraz proces nieenzymatycznej glikozylacji są istotnymi czynnikami w patogenezie powikłań cukrzycy, m.in w rozwoju mikro- i makroangiopatii cukrzycowej. U pacjentów z cukrzycą typu 1 i 2 stwierdza się znaczne podwyższenie osoczowego stężenia produktów zaawansowanej glikozylacji (AGEs) oraz parametrów stresu oksydacyjnego. Karnozyna w mechanizmie działania antyglykacyjnego i antyoksydacyjnego mogłaby ograniczać późne powikłania cukrzycy [17,26]. Na eksperymentalnym modelu cukrzycy u szczura indukowanej streptozocyną wykazano, że karnozyna podawana doustnie przez 7 dni w dawce 50 mg/kg/dzień zapobiega spadkowi oporności na hemolizę krwinek czerwonych, co sugeruje jej przydatność terapeutyczną w leczeniu cukrzycy [27].

Wyniki pracy badaczy japońskich wskazują, że karnozyna może obniżyć glikemię u szczurów stymulo-

waną podaniem 2-deoksy-D-glukozy prawdopodobnie w mechanizmie przestrajania aktywności układu autonomicznego (stymulacja układu przywspółczulnego i hamowanie aktywności układu współczulnego). W tym działaniu karnozyny pośredniczy jej agonistyczny wpływ na receptor histaminergiczny H₃ [28].

Schorzenia neurologiczne

Udar niedokrwienny mózgu

Wpływ karnozyny na udar niedokrwienny mózgu zbadano na różnych zwierzęcych modelach doświadczalnych. W modelu niedokrwienia mózgu szczura wywołanym 24-godzinnym zamknięciem lewej tętnicy szyjnej wspólnej i prawej tętnicy szyjnej wewnętrznej karnozyna w dawce 200 mg/kg podanej jednorazowo dootrzewnowo na 20 minut przed operacją zmniejszała 2-krotnie śmiertelność zwierząt (74% przeżycia wobec 35% u zwierząt w grupie kontrolnej, które nie otrzymały karnozyny), a u wszystkich szczurów, które przeżyły, zmniejszała nasilenie zmian neurologicznych [29].

Gallant i wsp. [30] na modelu niedokrwienia mózgu szczura, wywołanym obustronnym zamknięciem tętnic szyjnych wspólnych, wykazali, że karnozyna zmniejsza śmiertelność szczurów z 55 do 17% oraz poprawia orientację zwierząt i uczenie się. U szczurów, które otrzymały karnozynę, nie zaobserwowano spadku aktywności monoaminooksydazy B (MAO B) w mózgu w porównaniu ze zwierzętami z eksperymentalnym niedokrwieniem mózgu, które karnozyny nie otrzymały. Wiązanie glutaminianu do receptorów NMDA błon synaptosomów mózgu nasilone niedokrwieniem mózgu było istotnie mniejsze u zwierząt, którym podano karnozynę, i osiągało wartości zbliżone do wartości rejestrowanych w prawidłowo ukrwionym mózgu [30].

Opatentowany przez Rosjan preparat *Biolan* (połączenie karnozyny i DSIP – *delta-sleep inducing peptide*) istotnie zwiększył odsetek komórek ziarnistych mózdzku szczura, które przeżyły w środowisku pozbawionym tlenu i glukozy w warunkach hodowli komórkowej, oraz zmniejszył neurocytotoksyczność glutaminianu. Wyniki te sugerują, że *Biolan* może działać jako czynnik neuroprotektyjny w warunkach niedokrwienia komórek OUN. Neuroprotektyjne działanie *Biolanu* autorzy przypisują właściwościom antyoksydacyjnym obu składowych tego preparatu [31].

Choroba Alzheimera

Karnozyna, jako dipeptyd naturalnie występujący w mózgu ssaków, może stanowić potencjalny lek w terapii choroby Alzheimera, w której patogenezie uczestniczą stres oksydacyjny i karbonylowy. Procesy utleniania i nieenzymatycznej glikozylacji przyczyniają się do sieciowania białek, co z kolei stymuluje tworzenie się blaszki beta-amyloidowej. Karnozyna w mechanizmie

działania antyoksydacyjnego i antyglukacyjnego może ograniczać te niekorzystne zjawiska [32]. Wykazano, że w mózгах pacjentów cierpiących na chorobę Alzheimera aktywność proteasomów jest niska, co sprzyja zwiększonej produkcji beta-amyloidu. Karnozyna hamuje procesy biochemiczne, prowadzące do zmniejszenia aktywności proteasomów [3].

W warunkach hodowli komórkowej wykazano, że karnozyna zmniejsza toksyczny wpływ peptydu beta-amyloidowego na komórki śródbłonna naczyniowego mózgu szczura [33].

Choroba Parkinsona

Karnozyna może także znaleźć zastosowanie w terapii choroby Parkinsona. W badaniach *in vitro* wykazano, że dipeptyd ten hamuje oligomeryzację α -synukleiny, białka włóknienkowego występującego w ciałkach Lewy'ego, stymulowaną rodnikami hydroksylowymi w reakcji katalizowanej jonami miedzi [34].

Autyzm

W kontrolowanym badaniu klinicznym z zastosowaniem podwójnie ślepej próby i placebo wykazano, że karnozyna podawana doustnie w dawce dobowej 800 mg przez 8 tygodni istotnie statystycznie poprawia zachowanie dzieci cierpiących na autyzm, oceniane za pomocą specjalistycznych skali. Chociaż mechanizm korzystnego działania karnozyny nie jest znany, autorzy przypuszczają, że może ona modulować przekazywanie nerwowe poprzez chelatowanie zaangażowanych w neurotransmisję jonów miedzi i cynku oraz nasilać funkcje neurologiczne w płatach czołowych i skroniowych kory mózgu [35]. Ponieważ u chorych cierpiących na autyzm stwierdza się nasilenie reakcji związanych ze stresem oksydacyjnym, działanie przeciwutleniające karnozyny może ograniczać konsekwencje niekontrolowanego generowania wolnych rodników [36].

Schorzenia układu sercowo-naczyniowego

W badaniach na izolowanych sercach szczurzych udowodniono, że karnozyna w stężeniach fizjologicznych (1–10 mM) wykazuje znaczny efekt inotropowy dodatni zbliżony do izoprenaliny. Inotropowy wpływ karnozyny na serce jest uwarunkowany pobudzeniem izoformy sercowej (R_{YR2}) receptora rianodinowego (retikularny kanał wapniowy), a zatem uwalnianiem jonów wapnia do cytozolu komórki. Ponadto karnozyna uwrażliwia białka kurczliwe kardiomiocytów na jony wapnia [37,38].

Karnozyna powoduje niezależny od śródbłonna rozkurcz wyizolowanych pierścieni aorty piersiowej zstępującej szczura, u których wywołano skurcz uprzednim podaniem fenylefryny. Efekt ten zależy od dawki dipep-

tydu (0,625–20 mM) i częściowo można go tłumaczyć indukcją syntezy cGMP przez karnozynę w mięśniach gładkich naczyń [39]. Zaobserwowano również, że karnozyna w stężeniu 0,1–10 mM powoduje utrzymujące się napięcie wyizolowanych pierścieni żyły odpiszczelowej królika w stopniu większym niż noradrenalina. Efekt ten zależy prawdopodobnie od działania agonistycznego karnozyny na receptory H₁ zlokalizowane w mięśniach gładkich naczyń i jest wyraźnie zaznaczony wtedy, gdy dipeptyd ten występuje w postaci kompleksu z jonami cynku. W obecności mepiraminy (antagonista receptorów H₁) karnozyna działając poprzez naczyniowe receptory H₂ powoduje rozkurcz mięśni gładkich naczyń i może obniżać ciśnienie tętnicze (efekt hipotensyjny po podaniu karnozyny obserwowany *in vivo*). Obserwacje te nasuwają wniosek, że karnozyna, podobnie jak histamina, może działać hipo- lub hipertensyjnie zależnie od gęstości receptorów H₁ i H₂ w układzie sercowo-naczyniowym [40].

Tanida i wsp. [41] wykazali, że niskie dawki podanej dożylnie karnozyny (1 μ g) hamują aktywność unerwienia współczulnego nerki szczura i obniżają ciśnienie tętnicze krwi, a dawki wysokie (100 μ g) stymulują aktywność współczulną i podwyższają ciśnienie tętnicze krwi. W tym działaniu karnozyny pośredniczy jądro nadskrzyżowaniowe podwzgórza i neurony histaminergiczne [41].

Karnozyna może chronić serce przed uszkodzeniem w warunkach niedokrwienia i reperfuzji. *Rusakov* i *Dolgikh* [42] zbadali wpływ karnozyny na integralność mięśnia sercowego u szczurów z eksperymentalnym niedokrwieniem serca poddawanego następnie reperfuzji z karnozyną lub bez. Największe uszkodzenie tkanki mięśnia sercowego występuje nie w czasie niedokrwienia, ale podczas reperfuzji, kiedy tlen dostarczany jest do strefy uprzednio niedokrwionej (tzw. paradoks tlenowy) i generuje stres oksydacyjny w obecności oksydazy ksantynowej i śladowych ilości jonów żelaza. Wykazano, że karnozyna podana pozajelitowo jednorazowo w ilości 25 mg/kg obniża stężenie toksycznych produktów peroksydacji lipidów podczas reperfuzji, a zatem chroni błony kardiomiocytów przed uszkodzeniem. Obniża również podwyższone stężenia enzymów błonowych, m.in. aminotransferazy asparaginianowej.

Prokop'eva i wsp. [43] zbadali działanie karnozyny (15 mM) na izolowane serca szczurze w warunkach hipoksji i reoksygenacji. Stwierdzono, że dipeptyd ten poprawia wieńcowy przepływ krwi, zmniejsza uwalnianie dehydrogenazy mleczanowej i rozległość obszaru niedokrwienia w mięśniu sercowym.

Karnozyna może również chronić nerki przed uszkodzeniem w warunkach niedokrwienia i reperfuzji. Zdaniem *Fujii* i wsp. [44], zapobiega ona ostrej niedokrwiennej niewydolności nerek szczura prawdopodobnie na drodze hamowania podwyższonej aktywności uner-

wienia współczulnego nerek indukowanej niedokrwieniem i reperfuzją.

Dolgikh i wsp. [45] ocenili wpływ karnozyny (25 mg/kg) na postresuscytacyjne arytmie u szczurów. Podawana na początku resuscytacji powodowała szybsze przywracanie czynności skurczowej mięśnia sercowego oraz zmniejszała zaburzenia rytmu serca. Poprawiała bilans energetyczny mięśnia sercowego, zwiększała stężenie ATP i fosfokreatyny w kardiomiocytach.

Karnozyna może być czynnikiem kardioprotekcyjnym podczas terapii *doksorubicyną*. Podawana doustnie w ilości 100 mg/kg codziennie przez 9 tygodni zmniejszała toksyczne działanie *doksorubicyny* na układ krążenia królików, ponieważ normalizowała oznaczane parametry hemodynamiczne oraz zmniejszała nasilenie i rozległość zmian histologicznych w sercach zwierząt [46].

Podsumowując działanie karnozyny w obrębie układu krążenia można stwierdzić, że poprawia ona kurczliwość mięśnia sercowego wpływając na mechanizmy wapniowe. Może działać naczyniorozszerzająco redukując opór następczy serca i pośrednio poprawiać parametry wydolności mięśnia sercowego. Pełni ochronną rolę podczas eksperymentalnego niedokrwienia serca. Zapobiega utlenianiu niskocząsteczkowej frakcji lipoprotein osocza, przez co może spowalniać procesy miażdżycowe w obrębie naczyń tętniczych. Jednoznaczne określenie potencjału terapeutycznego karnozyny w leczeniu niewydolności lub choroby niedokrwiennej serca wymaga jednak badań klinicznych.

Choroba wrzodowa

Od 1994 r. w praktyce klinicznej w Japonii stosowany jest jako lek przeciwrzodowy kompleks karnozyny z cynkiem (*Polaprezinc*). Kompleks ten jest trwały w soku żołądkowym i ma właściwości wybiórczego przylegania do nadżerki wrzodowej, w której ulega stopniowemu powolnemu rozpadowi do wolnej karnozyny i cynku. Karnozyna wykazuje właściwości gojenia ran wynikające przede wszystkim z jej właściwości antyoksydacyjnych oraz w mechanizmie związanym z nasileniem produkcji IGF-1, cynk zaś ogranicza procesy zapalne. *Polaprezinc* nie wykazuje poważniejszych działań niepożądanych. Kompleks ten działa bakteriostatycznie na *Helicobacter pylori* na drodze hamowania aktywności bakteryjnej ureazy [47,48].

Wydłużanie życia komórek in vitro

W 1994 r., a następnie w 1999 r. *McFarland* i *Holliday* [49,50] opublikowali wyniki dwóch eksperymentów, w których wykazali, że obecność 20 lub 30 mM karnozyny w medium hodowlanym kultury ludzkich fibroblastów opóźnia wystąpienie objawów starzenia się komórek oraz wydłuża zaprogramowaną liczbę podziałów

komórkowych (tzw. limit Hayflicka). Ponadto dodanie karnozyny do starej hodowli komórkowej powodowało odmłodzenie komórek, które traciły starczy fenotyp. Według *Shao* i wsp. [51], karnozyna wydłuża życie komórek w hodowli, przede wszystkim w mechanizmie hamowania skracania telomerowych odcinków DNA.

McFarland i *Holliday* w badaniach na siedmiu liniach hodowlanych ludzkich komórek rakowych i dwóch liniach komórek nowotworowych pochodzących od gryzoni zaobserwowali, że karnozyna w stężeniu 30–50 mM hamuje podziały tych komórek, przy czym jest cytotoksyczna dla komórek nowotworowych tylko przy braku pirogronianu w medium hodowlanym. Izomer optyczny D-karnozyna oraz związki pochodne (np. homokarnozyna) nie wykazują takiego działania. Uwarunkowana brakiem pirogronianu cytotoksyczność karnozyny wobec komórek nowotworowych może wynikać ze specyficznego metabolizmu tych komórek, który przedstawiony jest na glikolityczny tor pozyskiwania energii. Karnozyna, wiążąc związki aldehydowe i ketonowe uczestniczące w reakcjach glikolizy, hamuje syntezę ATP w komórkach nowotworowych. Obecność pirogronianu w medium hodowlanym znosi ten efekt [52].

Podsumowanie

Karnozyna – endogennie występujący dipeptyd – ma szeroki wachlarz działań biologicznych. Utrzymuje równowagę kwasowo-zasadową w tkankach pobudliwych zwierząt i człowieka (działanie buforujące), zmniejsza toksyczność jonów metali (działanie chelatujące), reaktywnych form tlenu (działanie antyoksydacyjne) i drobnocząsteczkowych aldehydów (działanie antyglukacyjne), wydłuża życie komórek w warunkach hodowli komórkowej, reguluje aktywność retikularnych kanałów wapniowych w kardiomiocytach i mięśniach szkieletowych. Ma istotne znaczenie w utrzymywaniu homeostazy komórkowej. Jej działanie biologiczne nadal pozostaje przedmiotem badań.

Karnozyna jest potencjalnym czynnikiem terapeutycznym wielu schorzeń, w których patogenezie uczestniczą stres oksydacyjny i karbonylowy (m.in. choroby neurodegeneracyjne, metaboliczne, sercowo-naczyniowe). Od dawna wykorzystywana jest przez sportowców jako suplement diety wspomagający regenerację mięśni szkieletowych, zmniejszający gromadzenie się kwasu mlekowego oraz poprawiający siłę skurczu mięśni (np. *Maxim Activator Strong*, *Anticramp*). Obecnie na rynkach farmaceutycznych Europy Zachodniej i w krajach skandynawskich karnozynę stosuje się jako suplement diety o działaniu antyoksydacyjnym, opóźniającym starzenie się komórek (m.in. *Bio-Carnosin*, tabletki 125 mg i 400 mg, *L-Carnosine 500*, tabletki 500 mg). W miarę odkrywania nowych właściwości biologicznych tego dipeptydu zakres jego możliwości terapeutycznych poszerza się.

Piśmiennictwo

[1] Bakardijev A, Bauer K. Biosynthesis, release and uptake of carnosine in primary cultures. *Biochemistry* 2000; 65: 779–782. [2] Marchis SD, Modena C, Peretto P, Migheli A, Margolis FL, Fasolo A. Carnosine-related dipeptides in neurons and glia. *Biochemistry* 2000; 65: 824–833. [3] Hipkiss AR. Carnosine and protein carbonyl groups: a possible relationship. *Biochemistry* 2000; 65: 771–778. [4] Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. *Biochemia Harpera*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL. Warszawa 1996, 414–415. [5] Baran EJ. Metal complexes of carnosine. *Biochemistry* 2000; 65: 789–797. [6] Sai Y. Active drug delivery by heterologous expression of membrane transporters. *Yakugaku Zasshi* 2003; 123: 413–422. [7] Gardner ML, Illingworth KM, Kelleher J, Wood D. Intestinal absorption of the intact peptide carnosine in man, and comparison with intestinal permeability to lactulose. *J Physiol* 1991; 439: 411–422. [8] Tamaki N, Ikeda T, Fujimoto S, Mizutani N. Carnosine as a histidine source: transport and hydrolysis of exogenous carnosine by rat intestine. *J Nutr Sci Vitaminol* 1985; 31: 607–618. [9] Teuscher NS, Shen H, Shu C, Xiang J, Keep RF, Smith DE. Carnosine uptake in rat choroid plexus primary cell cultures and choroid plexus whole tissue from PEPT2 null mice. *J Neurochem* 2004; 89: 375–382. [10] Gariballa SE, Sinclair AJ. Carnosine: physiological properties and therapeutic potential. *Age Aging* 2000; 29: 207–210.

[11] Boldyrev A, Abe H, Stvolinsky S, Tyulina O. Effects of carnosine and related compounds on generation of free oxygen species: a comparative study. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 1995; 112: 481–485. [12] Fontana M, Pinnen F, Lucente G, Pecci L. Prevention of peroxynitrite-dependent damage by carnosine and related sulphonamido pseudodipeptides. *Cell Mol Life Sci* 2002; 59: 546–551. [13] Nagasawa T, Yonekura T, Nishizawa N, Kitts DD. In vitro and in vivo inhibition of muscle lipid and protein oxidation by carnosine. *Mol Cell Biochem* 2001; 225: 29–34. [14] Hipkiss AR, Worthington VC, Himsworth DT, Herwig W. Protective effects of carnosine against protein modification mediated by malondialdehyde and hypochlorite. *Biochim Biophys Acta* 1998; 1380: 46–54. [15] Boldyrev AA. Problems and perspectives in studying the biological role of carnosine. *Biochemistry* 2000; 65: 751–756. [16] Decker EA, Livisay SA, Zhou S. A re-evaluation of the antioxidant activity of purified carnosine. *Biochemistry* 2000; 65: 766–770. [17] Price DL, Rhett PM, Thorpe SR, Baynes JW. Chelating activity of advanced glycation end-product inhibitors. *J Biol Chem* 2001; 276: 48967–48972. [18] Hipkiss AR, Brownson C. Carnosine reacts with protein carbonyl groups: another possible role for the anti-ageing peptide? *Biogerontology* 2000; 1: 217–223. [19] Abe H. Role of histidine-related compounds as intracellular proton buffering constituents in vertebrate muscle. *Biochemistry* 2000; 65: 757–765. [20] Sturenburg HJ. The roles of carnosine in aging of skeletal muscle and in neuromuscular diseases. *Biochemistry* 2000; 65: 862–865.

[21] Rubtsov AM. Molecular mechanisms of regulation of the activity of sarcoplasmic reticulum Ca-release channels (ryanodine receptors), muscle fatigue, and Severin's phenomenon. *Biochemistry* 2001; 66: 1132–1143. [22] Trombley PQ, Horning MS, Blakemore LJ. Interactions between carnosine and zinc and copper: implications for neuromodulation and neuroprotection. *Biochemistry* 2000; 65: 807–816. [23] Babizhayev MA, Deyev AI, Yermakova VN, Semiletov YA, Davydova NG, Doroshenko VS, Zhukotskii AV, Goldman IM. Efficacy of N-acetylcarnosine in the treatment of cataracts. *Drugs R D* 2002; 3: 87–103. [24] Babizhayev MA. Rejuvenation of visual functions in older adult drivers and drivers with cataract during a short-term administration of N-acetylcarnosine lubricant eye drops. *Rejuvenation Res* 2004; 7: 186–198. [25] Maichuk IuF, Formaziuk VE, Sergienko VI. Development of carnosine eyedrops and assessing their efficacy in corneal diseases. *Vestn Oftalmol* 1997; 113: 27–31. [26] Jakus V. The role of nonenzymatic glycation and glyco-oxidation in the development of diabetic vascular complications. *Cesk Fysiol* 2003; 52: 51–65. [27] Korobov VN, Maurisio RB, Mukalov IO, Stvolinskii SL. Carnosine stabilization of the normal erythrocyte membranes and in experimental diabetes. *Patol Fiziol Eksp Ter* 2000; 2: 13–15. [28] Nagai K, Nijima A, Yamano T, Otani H, Okumura N, Tsuruoka N, Nakai M, Kiso Y. Possible role of L-carnosine in the regulation of blood glucose through controlling autonomic nerves. *Exp Biol Med* 2003; 228: 1138–1145. [29] Stvolinsky SL, Dobrota D. Anti-ischemic activity of carnosine. *Biochemistry* 2000; 65: 849–855. [30] Gallant S, Kukley M, Stvolinsky S, Bulygina E, Boldyrev A. Effect of carnosine on rats under experimental brain ischemia. *Tohoku J Exp Med* 2000; 191: 85–99.

[31] Khaspekov LG, Klyushnik TP, Dupin AM, Lyzhin AA, Bezrukov MV. Protective effect of Biolan during ischemic damages to cultured cerebellar granular cells. *Bull Exp Biol Med* 2002; 133: 136–138. [32] Hobart LJ, Seibel I, Yeagans GS, Seidler NW. Anti-crosslinking properties of carnosine: significance of histidine. *Life Sci* 2004; 75: 1379–1389. [33] Preston JE, Hipkiss AR, Himsworth DT, Romero IA, Abbott JN. Toxic effects of beta-amyloid (25–35) on immortalised rat brain endothelial cell: protection by carnosine, homocarnosine and beta-alanine. *Neurosci Lett* 1998; 242: 105–108. [34] Kang JH, Kim KS. Enhanced oligomerization of the alpha-synuclein mutant by the Cu,Zn-superoxide dismutase and hydrogen peroxide system. *Mol Cells* 2003; 15: 87–93. [35] Chez MG, Buchanan CP, Aimonovitch MC, Becker M, Schaefer K, Black C, Komen J. Double-blind, placebo-controlled study of L-carnosine supplementation in children with autistic spectrum disorders. *J Child Neurol* 2002; 17: 833–837. [36] McGinnis WR. Oxidative stress in autism. *Altern Ther Health Med* 2004; 10: 22–36. [37] Roberts PR, Zaloga GP. Cardiovascular effects of carnosine. *Biochemistry* 2000; 65: 856–861. [38] Zaloga GP, Roberts PR, Black KW, Lin M, Zapata-Sudo G, Sudo RT, Nelson TE. Carnosine is a novel peptide modulator of intracellular calcium and contractility in cardiac cells. *Am J Physiol* 1997; 272: 462–468. [39] Ririe D, Roberts PR, Shouse MN, Zaloga GP. Vasodilatory actions of the dietary peptide carnosine. *Nutrition* 2000; 16: 168–172. [40] Miller DJ, O'Dowd A. Vascular smooth muscle actions of carnosine as its zinc complex are mediated by histamine H₁ and H₂ receptors. *Biochemistry* 2000; 65: 798–806.

[41] Tanida M, Nijima A, Fukuda Y, Sawai H, Tsuruoka N, Shen J, Yamada S, Kiso Y, Nagai K. Dose-dependent effects of L-carnosine on the renal sympathetic nerve and blood pressure in urethane-anesthetized rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005; 288: 447–455. [42] Rusakov VV, Dolgikh VT. Reperfusion injury of myocardial biomembranes after acute fatal hemorrhage and their correction with carnosine. *Biokhimiia* 1992; 57: 1393–1397. [43] Prokop'eva VD, Lapt'ev BI, Afanas'ev SA. The protective effect of carnosine in hypoxia and reoxygenation of the isolated rat heart. *Biokhimiia* 1992; 57: 1389–1392. [44] Fujii T, Takaoka M, Muraoka T, Kurata H, Tsuruoka N, Ono H, Kiso Y, Tanaka T, Matsumura Y. Preventive effect of L-carnosine on ischemia/reperfusion-induced acute renal failure in rats. *Eur J Pharmacol* 2003; 474: 261–267. [45] Dolgikh VT, Rusakov VV, Korpacheva OV, Sudakova AN. Pathogenesis and pharmacocorrection of early postresuscitation cardiac arrhythmia. *Resuscitation* 1992; 23: 179–191. [46] Zięba R, Wągrowaska-Danilewicz M. Influence of carnosine on the cardiotoxicity of doxorubicin in rabbits. *Pol J Pharmacol* 2003; 55: 1079–1087. [47] Fuji Y, Matsura T, Kai M, Kawasaki H, Yamada K. Protection by polaprezinc, an anti-ulcer drug, against indomethacin-induced apoptosis in rat gastric mucosal cells. *Jpn J Pharmacol* 2000; 84: 63–70. [48] Matsukura T, Tanaka H. Applicability of zinc complex of L-carnosine for medical use. *Biochemistry* 2000; 65: 817–823. [49] McFarland GA, Holliday R. Retardation of the senescence of cultured human diploid fibroblasts by carnosine. *Exp Cell Res* 1994; 212: 167–175. [50] McFarland GA, Holliday R. Further evidence for the rejuvenating effects of the dipeptide L-carnosine on cultured human diploid fibroblasts. *Exp Gerontol* 1999; 34: 35–45.

[51] Shao L, Li QH, Tan Z. L-carnosine reduces telomere damage and shortening rate in cultured normal fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 324: 931–936. [52] Holliday R, McFarland GA. Inhibition of the growth of transformed and neoplastic cells by the dipeptide carnosine. *Br J Cancer* 1996; 73: 966–971.

R. Zięba

**CARNOSINE – BIOLOGICAL ACTIVITY AND PERSPECTIVES
IN PHARMACOTHERAPY**

Summary

This review summarizes the data on biological activity and therapeutic potential of carnosine. Carnosine is a naturally occurring, water-soluble dipeptide. It has buffering activities in excitable animal and human tissues, exhibits metal ions binding properties, antioxidant and antiglycating properties, extends the life-span of cultured human diploid cells, regulates sarcoplasmic reticulum Ca-release channel activity. Carnosine may be a potential therapeutic agent (neurodegenerative, metabolic, cardiovascular diseases) mainly due to its antioxidant and antiglycating activities.

Key words: carnosine, antioxidant activity, antiglycating activity, sarcoplasmic reticulum Ca-release channel, antiaging.
