Hipoksija/ishemija i fiziološka rješenja kod životinja

Medaković, Nikolina

Undergraduate thesis / Završni rad

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:235772

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

PRIRODOSLOVNO - MATEMATIČKI FAKULTET

BIOLOŠKI ODSJEK

HIPOKSIJA/ISHEMIJA I FIZIOLOŠKA RJEŠENJA KOD ŽIVOTINJA

HYPOXIA/ISCHEMIA AND PHYSIOLOGICAL SOLUTIONS IN ANIMALS

Nikolina Medaković

Prediplomski studij molekularne biologije

(Undergraduate Study of Molecular Biology)

Mentor: doc. dr. sc. Duje Lisičić

Zagreb, 2016.

SADRŽAJ

1.UVOD 1

2.UZROCI I POSLJEDICE HIPOKSIJE 1

3.METABOLIZAM MOZGA …….3

4.UTJECAJ HIPOSKIJE NA MOZAK SISAVACA ……...3

5.NEURONI TOLERANTNI NA HIPOKSIJU ……5

6.MODELNI ORGANIZMI …….....10

6.1 KORNJAČE,ROD *CHRYSEMYS* 10

6.1.1 MEHANIZMI TOLERANCIJE 10

6.1.2 NMDAR …….....13

6.2 RIBE *CARASSIUS CARASSIUS* …….....14

7. REDUKCIJA OŠTEĆENJA UZROKOVANIH MOŽDANIM UDAROM 17

8.ZAKLJUČAK …….....17

11.LITERATURA 18

9.SAŽETAK …….....19

10.SUMMARY …….....19

1.UVOD

Život većine današnjih organizama ovisan je o atmosferskom kisiku koji ima važnu ulogu u staničnom metabolizmu, glavno je gorivo metaboličkih procesa. Bez njega niti jedna stanica aerobnog organizma ne može obavljati svoje funkcije i održavati homeostazu čitavog sustava. Služeći kao krajnji primatelj elektrona tijekom mitohondrijske oksidativne fosforilacije, kisik osigurava dovoljne količine energije potrebne za normalno funkcioniranje živućih aerobnih jedinki. Također, sudjeluje u brojnim reakcijama oksidacije, zacjeljivanju rana, izgradnji epiderme, obrani protiv raznih patogena te je snažan detoksifikator tj. neutralizira toksine i uklanja štetne, slobodne radikale iz organizama. Međutim, brojni vanjski čimbenici i unutarnji faktori mogu dovesti do značajnog smanjenja njegove koncentracije u organizmu odnosno do fiziološkog stanja zvanog hipoksija. S obzirom na štetne posljedice hipoksije, spregnuti rad kardiovaskularnog i respiratornog sustava osigurava kontinuiranu opskrbu organizama kisikom i sprječava njezinu pojavu. (Singer,2007)

Na žalost, način života suvremenog čovjeka koji podrazumijeva nekvalitetne obroke, pušenje, stres, fizičku neaktivnost i onečišćenje okoliša dovodi do smanjenja količine kisika u organizmima. Zbog toga se energija potrebna za život ne može u dovoljnoj mjeri stvarati i pohranjivati pa organizam ostaje bez osnovnog preduvjeta za zdravlje i postaje podložan bolestima. S obzirom da su unutar ljudske populacije sve učestalija oboljenja povezana s hipoksičnim stanjem, javlja se potreba za podrobnijim istraživanjima tog fiziološkog poremećaja i pronalaska novih, uspješnijih metoda liječenja.

2. UZROCI I POSLJEDICE HIPOKSIJE

Hipoksija je medicinski termin za smanjenje kisika u krvi. Anoksija, koja se često mijenja s hipoksijom, postoji kada je unutarstanični pritisak kisika jednak nuli. Simptomi hipoksije dosta variraju ovisno o jačini i trajanju hiposkičnog stanja, ali i variraju među samim pojedincima. Hipoksija narušava funkcioniranje mitohondrija čime se sprječava normalni oksidativni metabolizam i dolazi do akumulacije štetnih metabolita. To naposljetku dovodi do nekroze tkiva i stanične smrti. Rani simptomi hipoksije su: dispneja, tahipneja, anksioznost, tahikardija, hipertenzija i mučnina. Kasni simptomi su: cijanoza, bradikardija, povraćanje, aritmija ventrikula, hipotenzija, letargija i koma. Tijekom kronične hipoksije javlja se i otečenost vrhova prstiju, policitemija, hipertrofija desnog ventrikula i kronična pulmonalna hipertenzija. (www.rcecs.com)

Primjerice, srčani udar, koji je sve učestalija pojava unutar ljudske populacije 21.stoljeća, uzrokuje smanjen dotok kisika u srčani mišić zbog začepljenih koronarnih arterija, što rezultira jakim bolovima u prsištu, a na mjestu prestanka opskrbe kisikom ostaje trajno oštećenje. Najviše pogađa kardiovaskularni, respiratorni i centralni živčani sustav. (Singer 2007.)

Može biti uzrokovana različitim faktorima i poremećajima primjerice anemijom, određenim lijekovima (anestetici), trovanjem cijanidom, napadom astme, srčanim problemima, kroničnim opstruktivnim bolestima pluća, bronhitis, visokim nadmorskim visinama, pneumonijom, plućnim edemom, plućnom embolijom, poremećajima funkcioniranja hemoglobina, oštećenjima citokrom oksidaza i drugim oboljenjima koja dovode do blokade dišnih puteva ili na bilo koji način onemogućuju prijenos kisika do tkiva i stanica.(www.webmd.com)

S obzirom da su živčane stanice mozga, neuroni, zbog svojih intenzivnih i kontinuiranih potreba za kisikom najosjetljivije na njegov nedostatak, hipoksija uzrokuje njihova teška oštećenja. Postoji mnoštvo medicinskih stanja i događaja koji narušavaju dotok kisika do mozga. Neki od njih su utapanje, srčani udar, nepravilni otkucaji srca, trovanje ugljikovim monoksidom, boravak na visokim nadmorskim visinama, ozljede mozga i gušenje. Sudjelovanje u sportskim aktivnostima gdje su učestale ozlijede glave, kao boks i nogomet, također predstavlja povećanje vjerojatnosti pojave hipoksije mozga. U velikoj su opasnosti i plivači, ronioci te penjači i planinari. Štoviše, neka medicinska stanja poput hipotenzije, astme, ALS-a (amiotrofična leteralna skleroza) mogu povećati rizik odhipoksije mozga.(www.healthline.com)

Kako trenutačno nema učinkovite terapije za liječenja oštećenja neurona mozga uzrokovanih hipoksijom, u ovom radu bit će riječ upravo o utjecajima hipoksije na neurone mozga i probleme koje ona izaziva u njihovom metabolizmu i funkcioniranju te o istraživanjima i funkcioniranju neurona tolerantnih na hipoksiju pronađenih unutar drugih kralježnjaka jer oni predstavljaju jedinstveni model za otkrivanje novih strategija kako bi se poboljšalo preživljenje neurona osjetljivih na nedostatak kisika i drugih oštećenja uzrokovanih istim.

3.METABOLIZAM MOZGA

Funkcija mozga ovisi o protoku krvi, njegovom metabolizmu i njegovim tekućinama jer poremećaj bilo kojeg od tih čimbenika mogu uvelike poremetiti njegovu funkciju. Poput drugih tkiva, i u mozgu su za metabolizam potrebni kisik i hranjive tvari. Međutim, postoje posebnosti moždanog metabolizma koje je potrebno spomenuti, a važni su za razumijevanje utjecaja hipoksije. U stanju budnosti metabolizam mozga čini oko 15 % ukupnog metabolizma u tijelu, iako masa mozga iznosi samo 2% ukupne tjelesne mase. Stoga je u mirovanju moždani metabolizam po jedinici tkivne mase oko 7,5 puta veći od prosječnog metabolizma u tkivima koja ne pripadaju živčanom sustavu. Većina tog povećanog metabolizma odnosi se na neurone, a ne na potporno glija tkivo. Glavnina metabolizma u neuronima iskorištava se za prijenos iona kroz njihove membrane, uglavnom za prijenos natrijevih i kalcijevih iona prema izvanstaničnom prostoru, a kalijevih iona prema unutrašnjosti neurona. Svaki put kada neuronom prođe akcijski potencijal, ti ioni prolaze kroz membrane, što povećava potrebu za dodatnim membranskim prijenosom kako bi se s obje strane neurona uspostavile uobičajene razlike koncentracija. Stoga se tijekom opsežne moždane aktivnosti metabolizam neurona može povećati čak za 100-150 %. U normalnim okolnostima moždane stanice gotovu svu potrebnu energiju dobivaju iz glukoze u krvi. Kao što vrijedi za kisik, većina se glukoze iz kapilarne krvi doprema u kontinuiranim vremenskim intervalima, s time što je u glikogenu neurona pohranjeno toliko glukoze da može poslužiti za opskrbu samo dvije minute. Za razliku od većine tkiva u tijelu koja mogu bez kisika preživjeti nekoliko minuta tijekom kojeg energiju dobivaju procesom anaerobnog metabolizma (razgradnjom glukoze i glikogena bez njihovog vezanja s kisikom), u neuronima se zbog intenzivnog metabolizma ne može odvijati opsežan anaeroban metabolizam stoga nedostatak kisika predstavlja veliki problem za živčane stanice mozga. (Guyton 2012.)

4.UTJECAJ HIPOKSIJE NA MOZAK SISAVACA

S obzirom da funkcioniranje mozga ovisi o kontinuiranoj opskrbi kisikom i glukozom, uslijed poremećaja opskrbe potrebitim supstratima njegovo se funkcioniranje u kratkom vremenskom intervalu znatno pogoršava. Kada govorimo o patogenezi moždanih poremećaja

povezanih s nedostatkom kisika važno je razlikovati dva stanja, hipoksiju i ishemiju. Do ishemije dolazi uslijed smanjenje opskrbe moždanih stanica krvlju što samim time uzrokuje smanjen prinos potrebitih supstrata (glukoze i kisika) do istih i odvođenja štetnih produkata od istih. Za razliku od ishemije, hipoksično stanje označuje samo smanjen dotok kisika bez utjecaja na moždani krvotok. (Singer, 2007.)

Mozak sisavaca pokazuje široki raspon odgovora na hipoksične uvjete što je vjerojatno odraz različitog stupnja tolerancije različitih skupina neurona, ali i različitog trajanja i količine nedostatka kisika. Najraniji je odgovor na nedostatak kisika pojava membranske hiperpolarizacije koja je generalno samo prijelazno stanje prema anoksičnoj depolarizaciji. Hiperpolarizacija je posredovana otvaranjem adenozin trifosfat (ATP)-ovisnih kalijevih kanala kao posljedica sniženja unutarstanične koncentracije ATP-a. Također, ona smanjuje aktivnost neurona povećavajući prag akcijskog potencijala i time predstavlja mehanizam smanjenja uporabe ATP-a za pokretanje aktivnih pumpi odnosno zaštitni odgovor na nedostatak kisika. Nastavak trajanja hipoksičnog stanja dovodi do pojave membranske depolarizacije uzrokovane nizom mehanizama. Jedni smatraju da do depolarizacije dolazi zbog zatvaranja kalijevih kanala osjetljivih na kisik tj. da su kalijevi kanali koji dovode do početne hiperpolarizacije i ATP i kisik osjetljivi kanali i s produljenjem perioda hipoksije dolazi do njihovog zatvaranja direktnim utjecajem smanjenja koncentracije kisika. Drugi mehanizam mogućeg uzroka depolarizacije je otvaranje natrijevih kanala osjetljivih na kisik. Kao posljedica depolarizacije dolazi do povećanja unutarstanične koncentracije kalcija kao i izvanstanične koncentracije pobudnih neurotransmitora poput glutamata koji se izbacuje iz stanice pomoću Na^+-glutamat kontransportera nakon kolapsa natrijevog gradijenta. Glutamat potiče aktivaciju glutamatnih receptora (N-metil-D-aspartat glutamatni receptor,NMDR) koji su odgovorni za nagli porast unutarstaničnog kalcija i oštećenja uzrokovanih glutamatnom kaskadom. Štoviše, ako su hipoksični uvjeti dugog vijeka, unutarstanična koncentracija ATP-a pada ispod kritične razine što potiće otvaranje „megakanala“. Otvaranjem „megakanala“ dolazi do rasipanja ionskog gradijenta, unutarstanična koncentracija kalcija i dalje raste te dolazi do aktivacije kaskade procesa koji u konačnici dovode do stanične smrti. Također sa smanjenjem unutarstanične koncentracije ATP-a smanjuje se aktivnost ATP-ovisnih pumpi (Na^+/K^+ pumpe). Još se uvijek ne zna koji su točno ti „megakanali“ te način na koji su spregnuti s aktivnim pumpama, ali se smatra da veza uključuje adekvatnu količinu unutarstaničnog ATP-a. Također se još uvijek ne zna što je signala za otvaranje tih „megakanala“ i u kojem trenutku dolazi do otvaranja, odnosno zatvaranja pojedinih kanala.

Problem je to što proces postaje ireverzibilan kada koncentracija ATP-a padne ispod kritične razine i time se otvore „megakanali“ odnosno kada dođe do pojave brze depolarizacije. (Singer,2007.)

Za razliku od hipoksije, tijekom ishemije puno je veća potrošnja ATP-a i posljedično tome pad aktivnosti pumpi bit će veći. Tijekom ishemičnih uvjeta, neuroni sisavaca neizbježno pokazuju brzu i masovnu depolarizaciju (otvaranje „megakanala“ uslijed pada ATP-a ispod kritične razine) kojoj prethodi već spomenute prijelazna hiperpolarizacija (otvaranje kalijevih kanala) i spora depolarizacija (smanjenje aktivnosti Na^+/K^+ pumpe). Budući da ishemija dovodi do inhibicije i aerobne i anaerobne produkcije ATP-a, koncentracija ATP ima veći i brži pad nego tijekom hipoksije te je puno veće povećanje unutarstanične koncentracije kalcija. Sekundarne pojave jednake su kao i kod hipoksije. Ako stanje hipoksije nije tolikog intenziteta da dovede do smanjenja unutarstanične koncentracije ATP-a ispod kritične razine, membranska depolarizacije bit će uzrokovana primarno zatvaranjem kisik ovisnih kalijevih i /ili otvaranjem kisik ovisnih natrijevih kanala te ne će dovesti do otvaranje „megakanala“. Depolarizacija nastala zatvaranjem kalijevih kanala je reverzibilna dok se još uvijek ne zna vrijedi li isto za depolarizaciju uzrokovanu otvaranjem natrijevih kanala. S obzirom da je tijekom ishemije ihibicija stvaranja ATP-a puno jača nego tijekom hipoksije, redukacija količine ATP-a ispod kritične razine uvijek će dovesti do otvaranja „megakanala“. To je važna razlika hipoksije i ishemije. Međutim depolarizacija uzrokovana teškom hipoksijom i ishemijom su dva usporediva događaja koja oba dovode do otvaranja tih „megakanala“ i kao takve često se promatraju kao jedinstvena pojava. (Singer,2007.)

5. NEURONI TOLERANTNI NA HIPOKSIJU

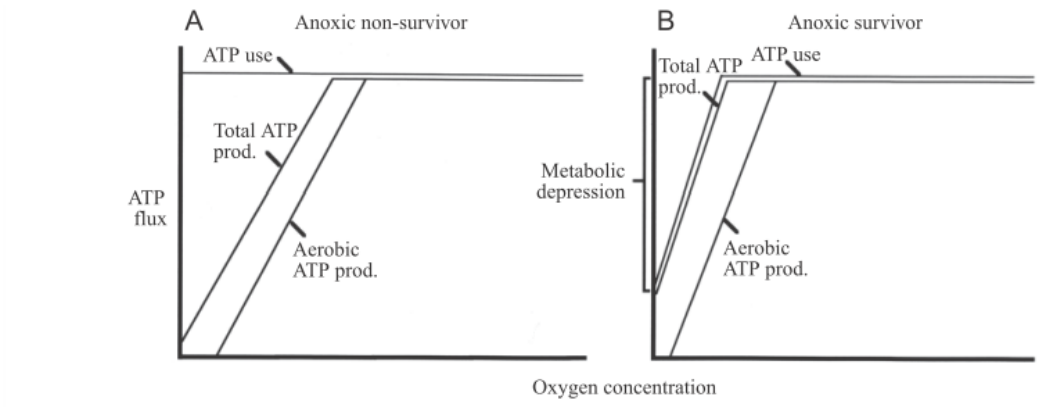
S obzirom na činjenicu da su neuroni najosjetljivije stanice na hipoksično stanje, otkriće neurona toleratnih na hipoksiju predstavlja jedinstvenu priliku za otkrivanje strategija koje mogu biti iskorištene za poboljšanje tolerancije neurona osjetljivih na smanjenje kisika i glukoze. Takvi neuroni pronađeni su u skoro u svakoj skupini kralježnjaka (ribe, gmazovi, vodozemci, ptice te čak i među sisavcima). Među njima ističu se slatkovodna žaba roda *Chrysemys,* australska žaba *Cyclorana platycephala*, riba *Carassius carassius*, ptica *Anser indicius* te Golokrtičarski štakor *Heterocephalus glaber.* Čak i ostali sisavci osjetljivi na hipoksiju tijekom svog embrionalnog stanja eksprimiraju neurone toleratne na nedostatak

kisika. Štoviše, hibernacija sisavaca je još jedno stanje povezano s tolerancijom na hipoksiju i ishemiju. Uprkos povelikom broju primjeraka tolerantnih na hipoksiju, najviše današnjih eksperimentalnih radova odnose se na žabu roda *Chrysemys* i ribu *Carrasius carassius.* (Bickler i sur. 2002.)

Zbog svojih izuzetnih sposobnosti preživljavanja i duljih perioda bez kisika , neuroni toleratni na hipoksiju postali su predmet brojnih istraživanja iz više razloga. Ponajprije, imaju dobro razvijene signalne puteve povezane s hipoksijom, predstavljajući time idealan model za proučavanje prijenosa signala tijekom adaptacije na smanjenje količine kisika. Također, koristan su model za razlikovanje između oštećenja i adaptacijskih pojava uzrokovanih hipoksijom što je važno za predlaganje terapijskih tretmana za osobe s hipoksičnim i ishemijskim oboljenjima. Najposlje, oni mogu pomoći u otkrivanju novih meta liječenja bolesti povezanih s hipoksičnim stanjem. Njihova je najvažnija prednost upravo to što oni omogućuju identifikaciju već spomenutih zaštnih, adaptacijskih odgovora. U neuronima osjetljivim na hipoksiju, odgovor na nedostatak kisika najčešće je mješavina oštećenja i adaptivnih odgovora. Primjerice, cerebrokortikalni neuroni kornjače jako su toleratnih na hipoksiju iako se njihova unutarstanična koncentracija kalcijevih iona gotovo udvostruči za nekoliko sati. Iz toga se može zaključiti da povećanje kalcija služi kao zaštita ili ima signalnu ulogu radije nego uzrokovanje ozlijeda. Ta opažanja mogu dati novi uvid u liječenje moždanih oštećenja uzrokovanih udarom ili anoksijom. Iz neurona toleratnih na hipoksiju može se naučiti ponešto i o toleriranim granicama promjena energetskog stanja i stanične homeostaze jer se uslijed hipoksije negativne promjene sporije događaju pa ih jednostavnije i lakše uočavati i pratiti . (Bickler i Donohoe 2002.)

Zbog velike, ireverzibilne štete koju neuroni mozga pretrpe tijekom hipoksije i /ili ishemije, važno je znati na koji točno način neuroni tolerantni na hipoksiju detektiraju smanjenje kisika i stvaraju signale koji imaju trenutačni, ali i dugoročni učinak na funkcioniranje i preživljenje stanica aktivacijom određenih adaptacijskih mehanizama. Već spomenuto, hipoksija ubija neurone jer dolazi do pada količine energetskih zaliha pa se ne uspijeva održati stanična homeostaza. Većina neurona toleratnih na hipoksiju problem nedostatka energije riješila je ne povećanjem anaerobnog metabolizma već smanjenjem staničnih potreba za energijom (vidljivo na **Slici 1**.) kako bi se spriječio gubitak energetski bogatih metaboličkih intermedijera poput ATP-a i fosfokreatina. Regulacija omogućuje da usprkos smanjenoj proizvodnji ATP-a njegova koncentracija ostane relativno konstantna tijekom perioda smanjenje količine kisika (**Slika 1**.). U neuronima, najviše energije troši se na

na pumpanje iona radi održavanja ionskog gradijenta stoga je negativna regulacija aktivnih pumpi ($Na^{+/}K^{+}$ pumpe) tzv. „channel arrest“ jedno od glavnih mjesta regulacije u neuronima toleratnim na hipoksiju. Nadalje, brza i globalna supresija biosinteze („metabolic arrest“) uslijed globalne supresije genske ekspresije, također je još jedan od mehanizama smanjenja potrošnje energije. (Bickler i Donohoe 2002.)

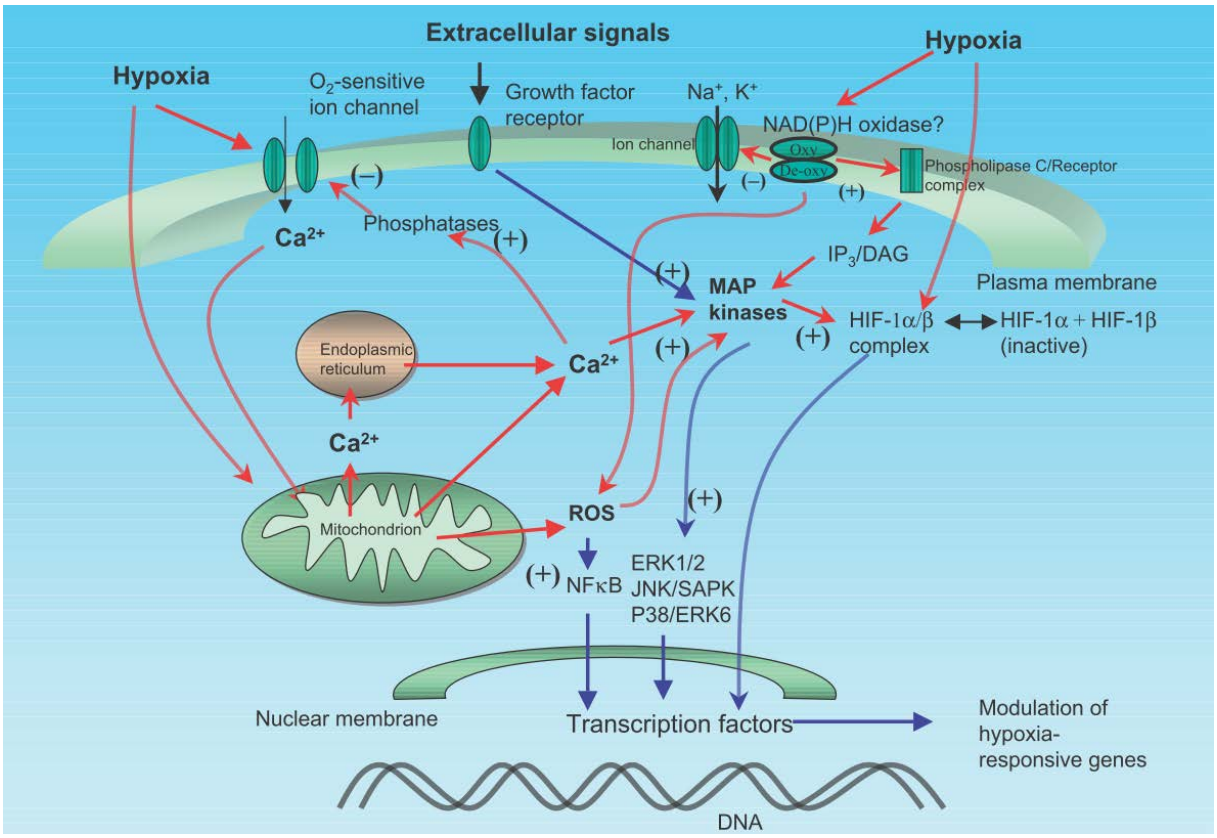


Slika 1. Razine ATP-a u ovisnoti o koncentraciji dostupnog kisika kod anoksija/hipoksija tolerantnih i osjetljivih neurona mozga . (Nilsson i Renshaw 2004.)

Prema Bickleru i suradnicima sveukupno postoje tri razine adaptacijskih mehanizama neurona toleratnih na hipoksiju, a to su smanjenje protoka ionskih kanala (modulacija njihove brojnosti i aktivnosti), redukcija metabolizma (postizanje ravnoteže između smanjene proizvodnje i potrošnje energije) i regulacija ekspresije gena. Smanjenje protoka ionskih kanala i redukcija metabolizma akutni su odgovori na hipoksično stanje,a regulacija ekspresije gena predstavlja dugoročan odgovor. Direktni i indirektni mehanizmi modulacije ionskih kanala uključuju: promjenu redoks stanja proteina koji tvore kanale, fosforilacija ili defosforilacija istog, kalcij ovisna regulacija putem citoskeleta, modulacijom izvanstaničnih iona poput H^{+} i Mg^{2+}, regulacijom pomoću neuromodulatora (adenozin) te dugoročni, spori mehanizam podrazumijeva samo micanje kanala s neuroleme. Također, vrlo je važna interakcija bioenergetike i unutarstanične koncentracije kalcijevih iona. Unutarstanična koncentracija kalcija ima veliku ulogu u kontroliranju staničnih procesa (stanična proliferacija, otpuštanje neurotransmitora , stanično preživljenje). Na staničnoj razini kalcij djeluje kao sekundarni glasnik koji regulira proces otpuštanja kalcija iz unutarstaničnih pohrana, djeluje na gensku transkripciju i funkciju protein kinaza i fosfataza. Prijelazno povećanje unutarstanične koncentracije kalcija potrebno je za normalno funkcioniranje stanice

no ostanak njegove visoke koncentracije iznad 200nmol/l ima patogen učinak za neurone. Mitohondriji doprinose održavanju homeostaze njegove unutarstanične koncentracije djelujuću kao spremnik za kalcij kada citosolna koncentracija dosegne visoke granice. Mitohondrijska homeostaza kalcija je usko pregnuta s ATP produkcijom tijekom hiposije jer akumulacija kalcija u matriksu tijekom elektronskog prijenosa odvojena od oksidativne fosforilacije. Akumulacija kalcija doprinosi depolarizaciji mitohondrijske membrane. Kalcij je također važan regulator ekspresije gena. Globalno povećanje njegove unutarstanične koncentracije putem kalmodulina kontolira brzu ekspresiju gena potaknutu neuronskom depolarizacijom. Preživljenje dugog perioda hiposkije zahtijeva smanjene potreba neurona za supstratima, no kako se to odvija malo je poznato. Kod regulacije ekspresije gena važnu ulogu ima HIF-1alfa transkripcijskog faktora. On regulira ekspresiju gena kao što je eritropoetin koji poboljšava dostavu kisika tkivima. Hipoksija uzrokuje i ekspresiju gena čiji produkti olakšavaju prilagodbu metabolizma za normalno funkcioniranje tijekom nedostatka kisika. Također dolazi do ekspresije gena koji kodiraju za glukozne transportere i 11 glikolitičkih enzima. To daje za pretpostavku da modulacija glukoznog transporta i glikolize hipoksijom može doprinijeti razvoju hipoksijom inducirane tolerancije.(Bickler i Donohoe 2002.)

Mnogobrojni receptori za kisik također su važni pri adaptaciji neurona na hipoksiju. U nekim slučajevima kisik može direktno stupiti u kontakt s ciljanom molekulom i utjecati na funkciju neurona. Kisik osjetljivi natrijevi i kalijevi ioni su primjer brze prilagodbe neuronske podražljivosti. Najčešće dolazi do supresije pobudnih aktivacije inhibitornih kanala. Neki učinci kisika na ionske kanale mogu biti posredovani membranskim proteinima koji sadrže hem skupine ili imaju redoks podjedinicu (npr.NAPDH oksidaza). Najvjerojatnije najbolje opisani signalni put osjetljivi na kisik je putem transkripciijskog faktora HIF koji je reguliran nizom kisik osjetljivih oksidaza. Manje proučavani je transkripcijski faktor NFkB koji može biti aktiviran izvanstaničnim signalima (citokini) i unutarstaničnim signalima (reaktivnim kisikovim vrstama,ROS). Receptori za kisik povezani s proteinima koji sadrže hem skupinu, poput citokrom oksidaze c u mitohondriju, reagirat će na hipoksiju promjenom brzine otpuštanja reaktivnih kisikovih vrsta koje aktiviraju transkripcijske faktore. Mnoštvo signalnih puteva uključuje mitotski aktiviran sustav proteinskih kinaza,MAPK sustav. Nedavna istraživanja pokazala su da membranski vezana fosfolipaza c možda igra ulogu u prijenosu signala hipoksije mijenjanjem fosforilacijskog stanja MAP kinaze. Svi opisani mehanizmi vidljivi su na **Slici 2**. (Bickler i Donohoe 2002.)



Slika 2. Signalni putevi kisika u neuronima. (Bickler i Donohoe 2002.)

Tijekom hipoksije dolazi do nakupljanja kisikovih radikala osobito tijekom ponovne re-oksigenacije. Dok ROS-ovi reguliraju transkripcijske faktore kao NFkB koji mogu imati zaštitnu ulogu, oni također imaju potencijal da dovedu do staničnih oštećenja. Njihov veliki izvor su curenje elektrona tijekom njihova prijenosa putem transportnog lanca. Reoksigenacija je kritičan trenutak s obzirom da produkcija ROS-a tada izuzetno raste. Unutar neurona toleratnih na hipoksiju postoje određeni obrambeni mehanizmi za ROS-ove. Primjerice, mozak kornjače ima velike koncentracije antioksidansa. Malo je poznato kako stanice ponovno poprime normalne funckije nakon povratka u normalne uvijete. Jedna je hipoteza da neka grupa neurona ostane aktivna i tijekom dormancije te sposobna je aktivirati ostale kada ponovno nastupe normalni uvjeti. (Bickler i Donohoe 2002.)

6.MODELNI ORGANIZMI

Prije opisivanja mehanizama prirodno toleranih organizama na hipoksiju, važno je spomenuti dva ključna opažanja vezano uz odgovore neurona na tešku hipoksiju (anoksiju) ili ishemiju. Prvo, kritični inicijalni događaj uzrokovan hipoksijom/ishemijom jest rasipanje ionskog gradijenta s posljedičnom membranskom depolarizacijom. Jednom kada se dogodi depolarizacija, ona aktivira niz sekundarnih događaja koji u konačnici dovode do stanične smrti. Drugo, trenutak početka anoksične depolarizacije funkcija je koncentracije ATP-a u stanici. Što dulje koncentracija ATP-a ostane na normalnoj razini, dulje će biti odgođena pojava depolarizacije. Stoga prevencija depolarizacije i održavanje unutarstanične koncentracije ATP-a glavne su dvije strategije zaštite neurona od štete uzrokovane hipoksijom/ishemijom. To su ujedno i dva osnovna mehanizma zaštite neurona kod organizama koje stoje pri adaptacija toleranih životinja na hipoksiju. (Singer 2007.)

6.1 KORNJAČE

6.1.1 MEHANIZMI TOLERANCIJE NEURONA KORNJAČE RODA *CHRYSEMYS*

Vjerojatno, do sada najbolje okarakterizirani neuroni tolerantni na hipoksiju i anoksiju su oni iz slatkovodne kornjače roda Chrysemys. Ova skupina kornjača može preživjeti 24-48 sati anoksije pri 25°C i 4-5 mjeseci pri 2-3°C tijekom zimske dormancije. Biokemijske karakteristike koje omogućuju neuronima ove skupine kornjača da prežive duge periode nedostataka kisika uključuju sposobnost održavanja unutarstanične količine ATP-a na normalnoj staničnoj razini, sprječavanje anoksične depolarizacije održavanjem ionskog gradijenta, održavanje homeostaze kalcijevih iona sa samo umjerenim porastom unutarstanične koncentracije istih te smanjenje aktivnosti NMDA receptora. Među ovim karakteristikama najvažnije su upravo već spomenuta redukcija iskorištenja ATP-a i sprječavanje anoksične depolarizacije. To je postignuto supresijom ionskih kanala i metabolizma čime se smanjuje podražljivost samih kanala, reducirana prijenos iona i održava količina unutarstanične energije pri stresu uzrokovanom anaerobnim uvjetima. Tijekom anoksičnog perioda, anaerobnom produkcijom ATP-a akumulira se laktat koji je u velikim količinama toksičan za stanicu stoga se mora odstraniti. Dio laktata puferiran je pomoću

kornjačinog skeleta i oklopa. Štoviše, pH njihove krvi je lužnat (oko 8) i sadrži puno bikarbonatnih iona osobito tijekom zimske dormancije. Nadalje, ova skupina kornjača ima veliku zalihu glikogena u jetri koji služi kao izvor glukoze za mozak tijekom anoksičnog perioda. Upravo velika zaliha glikogena i mogućnost puferiranja laktata čine veoma bitnu prilagodbu za razvoj tolerancije na anoksiju kod ove skupine kralježnjaka.(Singer 2007.)

Činjenicu da količina ATP-a ostaje pri normalnoj staničnoj razini dovodi do zaključka da potrošnja ATP-a mora biti znatno smanjena kako bi se postigla nova ravnoteža proizvodnje i potrošnje energije. Zbog smanjenja metaboličkih aktivnosti dolazi i do supresije električne aktivnosti mozga. Međutim, električna aktivnost mozga nije u potpunosti eliminirana tijekom anoksičnih uvijeta jer su istraživanja pokazala da uslijed reoksigenacije dolazi do potpunog opravka neurona. Nadalje, mozak ove skupine kornjača kao i mozak većine sisavaca osjetljiv je na ishemiju pri čemu dolazi do pada koncentracije ATP-a, rasipanja ionskog gradijenta i javlja se ionska depolarizacija. Električna aktivnost mozga tijekom ishemičnih uvjeta potpuno je suprimirana i ne dolazi do njihova oparavka ponovnom indukcijom normalnih staničnih uvjeta upućujući na činjenicu da ishemija dovodi do irreverzibilnih staničnih oštećenja. Ključna stvar je u tome da tijekom anoksije razina ATP-a ostaje nepromijenjena kroz smanjenu potrošnju i spriječavanje anoksične depolarizacije. Postavlja se pitanje koji su mehanizmi kojima ova skupina kornjača reducira potrošnju ATP-a i sprječava indukciju depolarizacije.(Singer 2007.)

Neuromodulatori bi mogli također imati važnu ulogu pri utišavanju neurona tijekom duge hipoksije ili dormancije. Adenozin (produkt ATP hidrolize) je vjerojatno najbolje proučen iz te skupine spojeva. Njegovi receptori indirektno moduliraju kalijeve i kalcijev stanični sadržaj. Adenozin smanjuje otpuštanje neurotransmitora s G protein spregnutim promjenama N-tipa kalcijevog kanala reguliranog naponom. U anoksičnim kornjačama, moždani adenozin povećava se tijekom mekoliko sati anoksije i uzrokuje redukciju curenja kalija.Također, u kornjača adenozin smanjuje NMDAR aktivnost i protok kalcija. Provedena su brojna istraživanja radi otkrivanja točnih,prethodno spomunutih, mehanizama kojima se kornjače bore protiv anoksije među kojima se ističu slijedeća spomenuta. (Bickler i sur. 2002.)

T.J.Sick je sa svojim suradnicima proveo istraživanje *in vivo* uspoređujući odgovor parijentalnog korteksta štakora i kornjačinog telencefalona (rod *Chrysemis*) na anoksiju induciranu zamjenom udahnutog zraka 100% dušikom. Kornjače su držane na sobnim temperaturama , a štakori na 37°C . Kod štakora došlo je do naglog poraste izvanstanične

koncentracije kalija što je praćeno membranskom depolarizacijom. Kod kornjače nikad nije došlo do značajnog porasta izvastanične koncentracije kalija. Također, električna aktivnost kornjačinog mozga bila je suprimirana anoksijom, ali mozak nije nikad bio upotpunosti električki utišan i nakon dugog izlaganja nedostatku kisika. Različit odgovor štakorovog i kornjačinog mozga nije bio posljedica izlaganja različitim tempraturima jer je štakorov mozak pokazao jednake rezultate i kada je eksperiment proveden pri sobnoj tempretaturi. T.J Sick i suradnici su također proveli eksperiment kombinirajući utjecaj anoksije i inhibicije anaerobne glikolize na mozak kornjače. Glikolizu su blokirali dodatkom jodoacetata, inhibitorom enzima gliceraldehid-3-fosfat dehidrogenaze. Kombinacija anoksije i ishemije reultirala je značajnim porastom izvanstanične koncentracije kalija u mozgu kornjače u roku od 30 minuta od početka ishemičnih uvjeta. Za razliku od štakora kod kojeg ishemijom inducirana depolarizacija nije reverzibilna ponovnim dodatkom kisika/glukoze, ponovni pristup kisiku u odahnutom zraku rezultirao je uspostavljnjem normalne razine izvanstaničnog kalija u mozgu kornjače iako je jodoacetat još uvijek bio prisutan. To opažanje upućuje na činjenicu da je mozak kornjače jako tolerantan na anoksiju, ali nije otporan na ishemiju iako se čini da je ishemija reverzibilna s ponovnom oksigenacijom. Zanimljivo je da utjecaj ishemije na neurone također ovisi koja se populacija neurona proučava. Ista skupina znanstvenika proučavala je i brzinu iskorištavanja glukoze u mozgu kornjače pri normalnim uvjetima pri 25°C i ustanovili su da iznosi 1/12 brzine u odnosu na mozak štakora. Uspoređivali su aktivnosti heksokinaza, laktat dehidrogenaza i citrat sintaza između mozga kornjače i štakora. Do razlike je došlo u aktivnosti citrat sintaze koja je bila puno aktivnija u mozgu štakora. Također, imali su različitu aktivnost citokrom c oksidaze. Štoviše, kornjača i štakor imaju slični glikolitički kapacitet,ali različit oksidacijski kapacitet. To upućuje na činjenicu da metabolički sustav kornjačinog mozga nije dizajniran da uskladi smanjenje ATP proizvodnje tijekom anoksije njegovom povećanom anaerobnom proizvodnjom. Manja iskorištenost glukoze i niži aerobni kapacitet znače da je kod kornjače i pri normalnim uvjetima smanjena potrošnja i proizvodnja ATP-a. Također, mjerili su aktivnost Na^+/K^+ pumpe i uvidjeli da je 2-2,5 puta veća kod štakora. Uz smanjenu aktivnost $Na^+/K+$ pumpe, mozak kornjače također ima 70% manju gustoću naponom reguliranih natrijevih kanala nego štakor što znači da je jedan od mehanizama smanjenja koncentracije ATP-a i promjena membranskog transporta. (Singer 2007.)

C.J.Doll i suradnici opazili su da pri normalnih uvjetima neuroni kornjače imaju puno manju membransku vodljivost od neurona štakora. Štoviše, u mozgu kornjače anoksijom

inducirano smanjenje ionske propusnosti je vjerojatno posljedica inhibicije propusnih kalijevih kanala i taj efekt trebao bi promijeniti membranski potencijal za razliku od mozga sisavaca gdje dolazi do depolarizacije. Neuronska aktivnost u mozgu sisavaca povezana je sa značajnim povećanjem izvanstanične koncentracije kalijevih iona i smanjenja izvanstanične koncentracije kalcijevih iona te da se promijena u ionskoj koncentraciji uravnotežuje pomoću aktivnih pumpi. Stoga bi upravo supresija električne aktivnosti mozga mogla biti važna strategija očuvanja količine ATP-a u mozgu. Drugi dokaz za supresiju ionskih kanala tijekom anoksije je utjecaj anoksije na NMDA receptore. (Singer 2007.)

U konačnici mozak kornjače olakšava nam objasniti postoji li veza između unutarstanične koncentracije ATP-a i uzrokuje li anoksija membransku depolarizaciju ili ne. Kao što je već spomenuto, tijekom anoksije mozak kornjače sposoban je održati normalnu koncentraciju ATP-a i ne dolazi do membranske depolarizacije. Ako se mozak kornjače podvrgne ishemičnim uvjetima, unutarstanična koncentracija ATP-a pada i javlja se membranska depolarizacija. Štoviše, prirodna povezanost unutarstanične koncentraicije ATP-a i depolarizacijskog procesa još uvijek nije poznata. Veza nije isključivo zbog pada aktivnosti aktivnih pumpi koji održavaju ionski gradijent. Najverojatnije, veliko povećanje ionske propusnoti dovodi do pojave depolarizacije. Pad aktivnosti aktivnih pumpi poput Na^+/K^+ sprječava popravak ionskog gradijenta. Međutim, podaci dobiveni proučavanjem kornjačinog mozga govore nam da niski pO_2 nije dovoljan poticaj za aktivaciju „megakanala“ odgovornih za rasipanje ionskog gradijenta i pojavu depolarizacije. Inicijacija depolarizacije povezana je s smanjem energije i nekako potaknuta niskom koncentracijom pO_2 ili kombinacijom oba. S obzirom da se još uvijek ne zna koji su točno kanali („megakanali“) uključeni u inicijaciju depolarizacije, ne postoje podaci koji točno mehanizmi u mozgu kornjače sprečavaju pojavu depolarizacije. (Singer 2007.)

6.1.2 NMDAR

Najkompletnija slika regulacije ionskih kanala tijekom hipoksije uključuje NMDA receptore u kornjačinim cerebrokortikalnim neuronima. Naglasak na glutamatne receptore počeo je s opažanjima da je u kornjačinim cerebrokortikalnim neuronima unutarstanična koncentracija kalcijevih iona relativno stabilna tijekom duge anoksije. NMDARs imaju bitnu ulogu pri povećanju kalcija u neuronima sisavaca tijekom anoksije pa postoji pretpostavka da

kornjače inaktiviraju te receptore tijekom smanjenja količine kisika. U hipoksija/anoksija toleratnim kornjača aktivnost NMDAR smanjena je 70%. (Bickler i sur. 2002),

Sveukupno, postoji najmanje tri različita mehanizma utišavanja NMDAR-ova su koji djeluju u različitim vremenskim razdobljima tijekom anoksije. U prvih nekoliko minuta smanjenje aktivnosti receptora uzrokovano je defosforilacijom pomoću fosfataza 1 ili 2A, ali nije povezano s unutarstaničnom koncentracijom kalcijevih iona. Tijekom 2 sata anoksija unutarstanična koncentracija kalcijevih iona povećala se za 35 % i predviđeno je utišavanje receptora povećanjem kalcijevi iona što je regulirano putem kalmodulina (kalcij ovisna regulacija koja djeluje u svega nekoliko sati). Dodatni mehanizam utišavanja NMDAR-ova, koji se pojavljuje nakon duljeg vremena anoksije, je njihovo revezibilno micanje sa stanične membrane. To je uočeno u cerebrokortekstu kornjača tijekom 3-21 dana izlaganju anoksiji. Kada je tijekom istraživanja supresija receptora spriječena inhibitorima fosfataza, izgubljena je tolerancija na anoksiju. Stoga se utišavanje receptora smatra ključnim za sposobnost života neurona bez kisika. (Bickler i sur. 2000.)

6.2 RIBA *Carassius carassius*

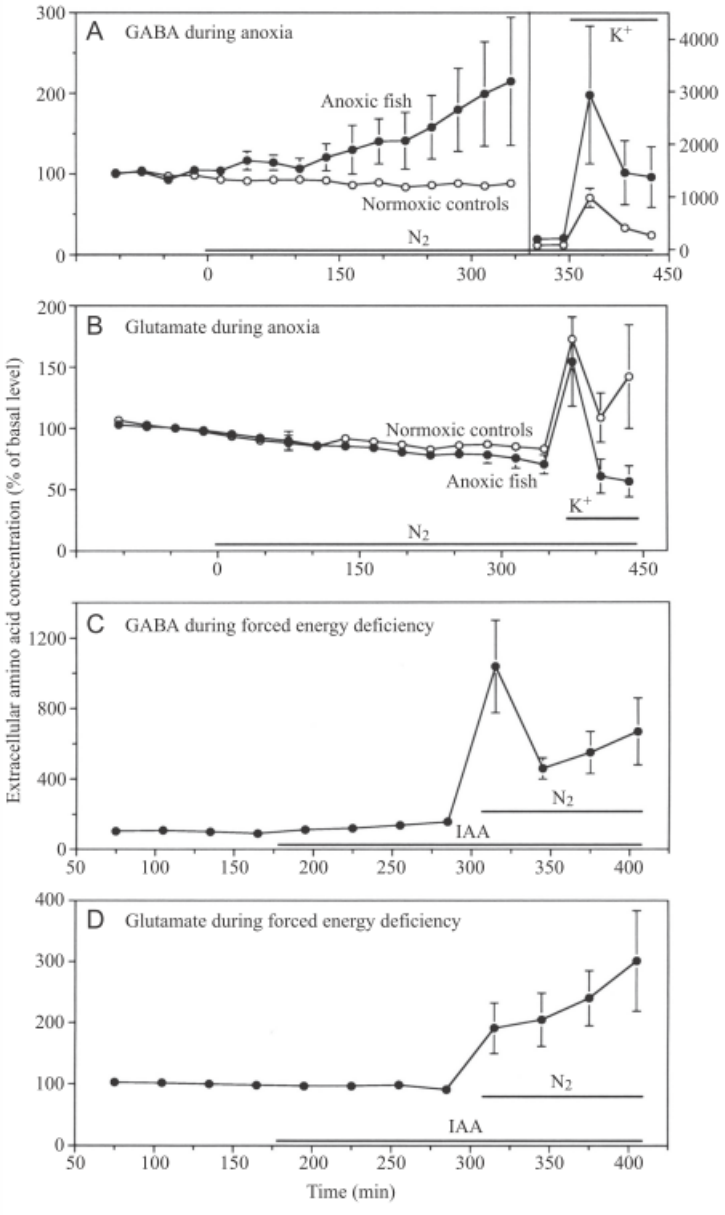
Najveća je raznolikost kralježnjaka u vodenim okolišima. S obzirom na činjenicu da voda ima puno manji kapacitet za kisik od zraka te je zbog toga brzina difuzije kisika u vodi samo 1/10000 one u zraku, život u vodi povećava vjerojatnost izlaganja hipoksičnim uvjetima. Posljedično tomu, očekivano je da se među vodenim kralježnjacima razvije tolerancija na smanjenu količinu kisika. U sjevernoj Europi, male, plitke bare i jezera često postaju mjesto anoksičnih uvjeta tijekom nekoliko zimskih mjeseci zbog debljine ledenog pokrova koji sprječava fotosintezu i difuziju kisika iz zraka. Jedina riba koja može preživjeti u takvim uvjetima je karas ,*Carassius carassius*. Karas je primjer ekstremne tolerancije hipoksičnih uvjeta. Može preživjeti tjednima pri 10°C i nekoliko mjeseci pri temperaturi blizu 0°C. (Nilsson i Renshaw 2004.)

Kao i prethodno spomenuta kornjača, karas je razvio određene mehanizme prilagodbe na hipoksične/anoksične uvjete. Pri anoksičnim uvijetima, karas počinje proizvoditi etanol kao glavni produkt anaerobne glikolize. Produkcija etanola odvija se jedino u mišićima stoga tijekom anoksičnih uvjeta sva druga tkiva proizvode laktat koji se cirkulacijom prenosi do mišića gdje se biokemijskim reakcijama prevodi u etanol koji se otpušta u vodu sprječavajući time trovanje laktatom. Istovjetno istraživanjima mozga kornjače, telencefalon karasa

pokazao je toleranciju na anoksiju (nije došlo do porasta izvanstanične koncentracije kalijevih iona i promjene količine ATP-a) i osjetljivost na ishemiju (brzi porast kalija doveo je do membranske depolarizacije i smanjenja količine ATP-a). Međutim, mozak karasa ne pokazuje porast izvanstaničnog glutamata i porast unutarstanične koncentracije kalcijevih iona. (Singer 2007.)

Također, njegov hemoglobin pokazuje veliki afinitet za kisik, ima sposobnost promjene morfologije škrga radi povećanja respiracijske površine te u odnosu na kornjaču koja pokazuje perifernu vazokonstrikciju i 80% smanjenja aktivnosti srca i kardiovaskularnog sustava, nedavna istraživanja su pokazala da karas zadržava sve te sposobnosti kao i respiraciju na normalnoj razini čak i nakon nekoliko dana anoksije. To upućuje na činjenicu da aktivnost tijekom anoksičnih uvjeta zahtijeva funkcionalan cirkulacijski sustav koji donosi glikolitičke supstrate a odnosi njezine produkte. Tijekom anoksije, kod karasa dolazi i do redukcije sinteze proteina u jetri i mišićima koji za taj proces troše velike količine energije. Istraživanja su pokazala da je iscrpljenje glikogenskih zaliha ključan čimbenik ograničenja njegovog preživljenja tijekom nedostatka kisika stoga ne čudi što ima najveće zalihe glikogena u jetri među svih kralježnjacima (15% tijela je jetra, a 30% jetre čini glikogen). U odnosu na kornjaču koja svoj metabolizam svodi na minimalnu razinu funkcioniranja kako bi u potpunosti reducirala razinu laktata i samim time se dovela u komatozno stanje, mehanizam stvaranja etanola omogućuje karasu da preživi zimu u aktivnom stanju, plivajući uokolo. Aktivno preživljenje anoksičnih zima karasu predstavlja još jednu prednost. Naime, u proljeće on može slobodno krenuti u potragu za mjestima bogata kisikom dok kornjača, zbog komatoznog stanja, mora čekati sve dok se ne poveća količina kisika na mjestu njezinog boravka. U oba organizma adenozin povećava krvni protok tijekom anoksičnih uvjeta radi dopreme dovoljne količine glukoze do mozga. Međutim, kod karasa taj povećani krvni protok zadržava se tijekom cijelog perioda anoksije. S obzirom da karas preživljava anoksiju u aktivnom stanju, postoji granica do koje može smanjiti svoj metabolizam. Tijekom anoksije on može smanjiti stvaranje topline na 1/3 u odnosu na kornjaču koja može na 1/10 proizvodnje u normalnim uvjetima. Anoksični uvjeti suprimiraju njegov slušni živac i uzrokuju gubitak vida radi dodatnog smanjenja gubitka energije. Smatra se da je prekid prijenosa iona i proteinske sinteze drastična strategija supresije neuronske aktivnosti i iskorištenja energije za životinje koje ostaju aktivne tijekom anoksije poput karasa. Štoviše, istraživanje nisu pokazala neuronsku redukciju kalijeve i kalcijeve propusnosti. Umjesto toga, supresija potreba centralnog živčanog sustava za energijom kod karasa je regulirana s

neurotransmiterima i neuromodulatorima. Promatrajući **Sliku 3**. vidljivo je da i pri anoksičnim i ishemičnih uvjetima dolazi do porasta izvanstanične koncentracije gama aminobutrične kiseline, GABA, dok izvanstanična koncentracija glutamata ostaje nepromijenjena. Stoga se smatra da porast GABA kod karasa, predstavlja drugu liniju obrane tijekom nedostatka kisika. (Nilsson i Renshaw 2004.)



Slika 3. Utjecaj anoskije , izlaganja visokim koncentracijama K+ koncentracije i induciranoh nedostatka energije na staničnu razinu GABA i glutamata u neuronima *Carassium carassium*. (Nilsson i Renshaw 2004.)

7.REDUKCIJA OŠTEĆENJA UZROKOVANIH MOŽDANIM UDARIMA

Moždani udar u ljudi rezultat je okluzije moždanih krvnih žila. Samo središnje mjesto moždanog udara ne može se spasiti jer se stanična smrt dogodi prebrzo da bi se moglo intervenirati. Međutim, u okolnim područjima gdje je izlijevanje uslijed oštećenja krvne žile spriječeno mogu se pojaviti opetovane anoskične depolarizacije.Te predinfarktne depolarizacije rezultat su širenja središnjeg mjesta oštećenja unutar 24 sata nakon udara. Istraživanja su pokazala da predinfarktna depolarizacija ima isti mehanizam kao i anoksična depolarizacija koja se dogodi u središnjem mjestu udara, a to je otvaranje „megakanala“ spregnuto s aktivnim pumpanjem iona. Ako bi se se blokiranjem vodljivosti tih velikih kanala spriječile pojave predinfarktnih depolarizacija, područje obuhvaćenom udarom bilo bi smanjeno. (Singer 2007.)

8.ZAKLJUČAK

Iz istraživanja provedenih na kornjačama roda *Chrysemys* i ribi *Carassium carassium,* vidljivo je da mehanizam funkcioniranja moždanih neurona može biti prilagođen teškom i dugom izlaganju nedostatku kisika bez pojave trajnih oštećenja. Glavne sposobnosti mozga koje omogućuje preživljenje tih kralježnjaka tijekom hipoksičnih uvjeta su održavanje unutarstanične koncentracije ATP-a i sprječavanje otvaranja ionskih kanala velike vodljivosti čime se sprječava rasipanje ionskog gradijenta i indukcija membranske depolarizacije koja dovodi do stanične smrti. Mozak spomenute kornjače i ribe održava razinu ATP-a ekstremnim smanjenjem njegove potrošnje. Trenutačno se vjeruje da to postižu negativnom regulacijom aktivnosti ionski kanala koji troše velike količine energije. Razjašnjenje tih mehanizama uvelike bi pomoglo pronaći način kako poboljašati navedena svojstva u mozgu sisavaca, a samim time i u mozgu čovjeka. Na žalost, do sada još nije pronađeno biološko rješenje prevencije oštećenja uzrokovanih ishemijom s obzirom da su mozak navedene kornjače i ribe, iako tolerantni na hipoksiju, osjetljivi na ishemiju. Međutim, identifikacija „megakanala“ odgovornih za anoksičnu depolarizaciju bili bi prvi važan korak u razvoju moguće strategije

za zaštitu neurona tijekom ishemijskog udara u ljudi. Za dizajniranje tvari koje bi blokirale vodljivost tih kanala i spriječile širenje oštećenja tijekom moždanog udara, ponajprije je važno upotpunosti istražiti svojstva ionskih kanala unutar neurona tolerantnih na hipoksiju i pokušati pronaći sličnost s ionskim kanalima u mozgu sisavaca. (Singer 2007.)

9.LITERATURA

P.E.Bickler, P.H. Donohoe, Jun 2002. Adaptive responses of vertebrate neurons to hypoxia. The *Journal of Experimental Biology 205*, 3579-3586.

P.E Bickler, P.H. Donohoe, L.T.Buck, May 2002. Molecular Adaptations for Survival during Anoxia:Lessons from Lower Vertebrates. *The Neuroscientist 8*, 234-242.

P.E.Bickler, P.H.Donohoe, L.T. Buck, 2000. Hypoxia-induced silencing of NMDA receptors in turtle neurons. *The Journal of Neuroscience 20*, 3522-3528.

Arthur C.Guyton, John E. Hall, 2012. Medicinska fiziologija. U:Protok krvi u mozgu,cerebrospinalna tekućina i moždani metabolizam. Medicinska naklada, 743-750.

G.E.Nilsson, G.M.C. Renshaw, March 2004. Hypoxic survival strategis in two fishes:extreme anoxia tolerance in the North European crucian carp and natural hypoxic preconditioning in a coral – reef shark. *The Journal of Experimental Biology* 207, 3131-3139

Michael A. Singer, 2007. Comparative Physiology Natural Animal Models and Clinical Medicine. U: Hypoxia/Ischemia, Imperial College Press, 190-255.

http://www.healthline.com/health/cerebral-hypoxia#Overview1

http://www.rcecs.com/MyCE/PDFDocs/course/V7004.pdf

http://www.webmd.com/asthma/guide/hypoxia-hypoxemia

10.SAŽETAK

Primarni je uvjet za zdravlje ljudskog organizma opskrba stanica kisikom koji putem kemijskih procesa postaje izvor energije nužne za održavanje života. Kisik je glavni izvor energije za mozak i druge organe. Generalno gledajući neuroni su najosjetljivi na hipoksiju i ishemiju. Mnogi, ali ne svi, tipovi neurona brzo podliježu staničnoj smrti tijekom nedostatka kisika. Međutim, postoje neuroni prirodno tolerantni na hipoksiju. Neuroni tolerantni na hipoksiju iz nekoliko različitih životinjskih vrsta predstavljaju jedinstvenu priliku za otkrivanje strategija koje mogu biti iskorištene za poboljšanje tolerancije neurona osjetljivih na smanjenje kisika i glukoze. Vjerojatno, najbolje okarakterizirani su neuroni tolerantni na hipoksiju slatkovodne kornjače roda Chrysemys i ribe karasa (Carassius carassius). Mozak spomenute kornjače i karasa može podnijeti duge periode teške hipoksije bez promijena u unutarstaničnoj koncentraciji ATP-a i indukcije membranke depolarizacije koje su glavni uzročnici smrti neurona sisavaca. Neuroni kornjače i karasa tolerantni na hipoksiju detektiraju smanjenje kisika i stvaraju signale koji dovode do smanjenja vodljivosti ionskih kanala („ion flux arrest“) i stvaranje energije („metabolic arrest“) te polako aktiviraju specifične gene. Štoviše, istraživanja su pokazala da hipoksijska supresija NMDA receptora u kornjačinim neuronima možda ima ključnu ulogu u preživljavanju mjesecima duge anoksične dormancije. Iako su mozgovi kornjače i karasa ekstremno tolerantni na hipoksiju, oba su osjetljivi na ishemiju kao mozak sisavaca. U konačnici,potrebno je provesti još veliki broj istraživanja za razvoj novih načina zaštite neurona tijekom bolesti povezanih s hipoksičnim i ishemičnim stanjem.

11. SUMMARY

The primary condition for the health of human body cells is supply of oxygen through a chemical process that becomes a source of energy necessary for the maintenance of their life. Oxygen is the main source of energy for the brain and other organs. Many,but certainly not all, types of neurons are rapidly killed by lack of oxygen. However,there are naturally hypoxia-tolerant neurons. The naturally anoxia-tolerant neurons from several species of

animals may offer unparalled opportunities to identify strategies that might be employed to enhance the hypoxia or ischemia tolerance of vulnerable neurons. Perhaps the best characterized hypoxia-tolerant neurons are those from the freshwater turtle genus Chrysemys and fish crucian carp (Carassius carassius). The turtle and carp brain can withstand prolonged periods of severe hypoxia without displaying any change in cellular ATP levels and induction of membrane depolarization that cause the death of neurons of mammals. Hypoksia-tolerant neurons of turtle and crucian carp detect decreases in oxygen and create signals that lead to a decrease in condcutance of ion channels (ion flux arrest), pruduction of energy (metabolic arrest) and slowly activate specific genes. Furthemore, studies have shown that hypoxia-induced supression of NMDA receptors in turtle neurons may bi critical for surviving months of anoxic dormancy. Although the turtle and carp brain are extremely hypoxia tolerant, they are sensitive to ischemia like mammalian brain. Finally, it is necessary to carry out a large number of research in devising new strategies for neuroprotection during diseases associated with hypoxic and ischeamic conditions.