НАУЧНИ ОБЗОРИ

ПАТОБИОХИМИЯ НА АПОПТОЗАТА

Б. Михов

Катедра по химия и биохимия, Медицински факултет, Софийски университет "Св. Климент Охридски"

PATHOBIOCHEMISTRY OF APOPTOSIS

B. Michov

Department of Chemistry and Biochemistry, Faculty of Medicine, Sofia University „Sv. Kliment Ohridski"

Резюме: *Описана е патобиохимията на апоптозата – програмираната клетъчна смърт. Разгледано е участието на апоптозата във възникването на болестта на Алцхаймер, болестта на Хънтингтън, някои имунологични заболявания и туморите. Предложена е схема за молекулните механизми, по които действа белтъкът хънгтингтин.*

Ключови думи: *апоптоза, каспази, болест на Алцхаймер, болест на Хънтингтън, имунологични заболявания, тумори, хънтингтин*

Адрес за кореспонденция: *Доц. д-р Будин М. Михов, дхн, ул. „Иларион Драгостинов" 47, 1505 София, тел./факс: 9713047, e-mail: bmichov@dir.bg*

Summary: *The pathobiochemistry of apoptosis – the programmed cell death, is described. The participation of apoptosis in the pathogenesis of Alzheimer's disease, Huntington's disease, immunological diseases and tumors is represented. The molecular mechanisms of huntingtin action is discussed.*

Key words: *apoptosis, caspases, Alzheimer's disease, Huntington's disease, immunological diseases, tumors, huntingtin*

Address for correspondence: *Assoc. Prof. Budin M. Michov, MD, DSc, 47 Ilarion Dragostinov str., Bg – 1505 Sofia, tel. fax: 9713047, e-mail: bmichov@dir.bg*

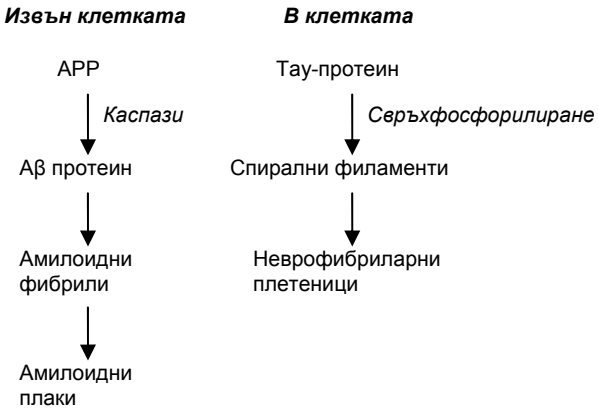
Апоптозата има значение за възникването на болестта на Алцхаймер, болестта на Хънтингтън, някои имунологични заболявания, СПИН, туморите и др.

БОЛЕСТ НА АЛЦХАЙМЕР

Болестта на Алцхаймер е описана през 1901 г. от Алцхаймер (Alois Alzheimer, 1864-1915 г., немски психиатър и невропатолог) при 50-годишна пациентка, която през 5-годишен период загубва паметта си и завършва летално в тежка деменция. Доскоро болестта на Алцхаймер се отъждествяваше с пресенилната деменция и се различаваше от сенилната деменция, която се обясняваше с артериална атеросклероза. Днес обаче повечето лекари са склонни да обединяват двете нозологични единици като болест на Алцхаймер, тъй като и двете заболявания се представят с еднакви симптоми и патология независимо от възрастта на пациента.

Болестта на Алцхаймер се свързва с неправилното нагъване на полипептидни вериги в мозъка, тоест тя е една протеопатия. Дължи се на каспази, които разграждат хидролитно трансмембранния амилоиден прекурсорен белтък APP (от **a**myloid **p**recursor **p**rotein, англ.), който, както изглежда, взема участие в развитието на невроните. В резултат на тази хидролиза в мозъка се образува белтъчният продукт *А-бета (Аβ) протеин*. Той е разтворим и безвреден, но при по-висока концентрация агрегира и се образуват амилоидни фибрили, които се натрупват извън невроните в амилоидни плаки [9] (фиг. 1).

Болестта на Алцхаймер е също така и таупатия, тъй като тя се характеризира и с абнормно агрегиране на микротубулния *тау-протеин*. При болни от Алцхаймер тау-протеинът е свръхфосфорилиран. Поради това той се натрупва във вид на сдвоени спирални филаменти, които образуват в нервните клетки неврофибриларни плетеници [10].



Фиг. 1. Молекулна патогенеза на болестта на Алцхаймер

Амилоидните плаки и неврофибриларните плетеници причиняват смъртта на нервните клетки.

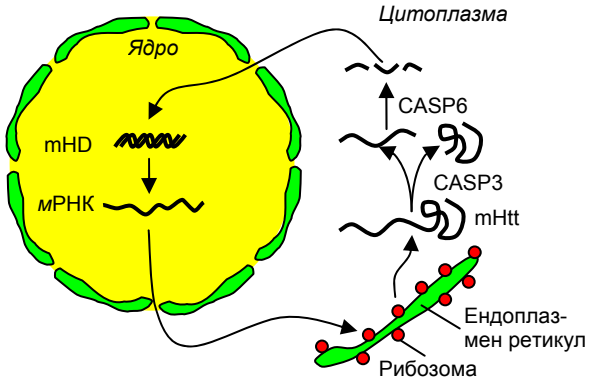
БОЛЕСТ НА ХЪНТИНГТЪН

Болестта на Хънтингтън (George Huntington, 1850-1916 г., американски лекар), наречена още *голяма хорея* (chorea major), представлява наследствено заболяване, което се предава по автозомно-доминантен път. Генът, който има отношение към болестта на Хънтингтън, се намира в късото рамо на хромозома 4 (4p16.3).

Болестта на Хънтингтън се характеризира с дегенерация на нервните клетки, особено в челните дялове, базалните ганглии и опашатото ядро. Тя се причинява от мутации в гена HD (от **H**untington's **d**isease). В мутантния ген mHD (от **m**utation HD) триплетът CAG (цитидин-аденозин-гуанозин), който кодира глутамин, се повтаря от 35 до 155 пъти.

Нормалният (дивият) ген HD кодира цитоплазмения белтък *хънтингтин* (Htt, от **h**unt**t**ingt**t**in, англ.). Той е изграден от 3144 аминокиселинни остатъка, има относителна молекулна маса 348 000 и 6-34 глутаминови остатъка на азотния си край. Патологичният хънтингтин (mHtt, от **m**utation **h**unt**t**ingt**t**in, англ.) съдържа 35-155 глутаминови остатъка. Поради силно удължената му полипептидна верига той се нагъва неправилно. Колкото е по-дълъг полиглутаминът, толкова по-рано започва болестта [7].

Htt и mHtt след известен период от време се разграждат с участието на каспаза 3, която катализира хидролитното отрязване на полипептиди от азотния им край [8]. След това каспаза 2 катализира хидролизата на полипептида на Htt, но не оказва влияние върху полипептида на mHtt [5]. При болни от голяма хорея е установено, че каспаза 6 катализира хидролизата на полипептида на mHtt [2], след което негови фрагменти минават през ядрените пори в ядрото и го увреждат (фиг. 2). Допуска се, че лекарства, които инхибират каспаза 6, ще подпомогнат лечението на болестта на Хънтингтън.



mHtt – мутантен хънтингтин, CASP3 – каспаза 3, CASP6 – каспаза 6, mHD – мутантен ген на болестта на Хънтингтън, мРНК – матрична РНК

Фиг. 2. Молекулни механизми на болестта на Хънтингтън

ИМУНОЛОГИЧНИ ЗАБОЛЯВАНИЯ

Апоптозата има значение и за възникване на някои *имунологични заболявания*. При навлизане в организма на чужди антигени настъпва пролиферация на лимфоцитите Т и/или В. След като упражнят своите функции, тези клетки се отстраняват и вместо тях остава малка популация от помнещи лимфоцити. Това отстраняване се извършва посредством апоптоза.

При човека са описани малко генетични дефекти на апоптозата. Най-разпространен е мутантният ген за FasR, описани са обаче и мутации в гена за FasL. Тези мутации причиняват автоимунния лимфопролиферативен синдром (ALPS, от **a**utoimmune **l**ympho**p**roliferative **s**yndrome, англ.). Неговите характерни черти са: натрупване на лимфоцити в лимфните възли и слезката, в резултат на което те се уголемяват; поява на автоимунни клонове, които причиняват хемолитична анемия или тромбоцитопения; и възникване на лимфом – раков клон на лимфоцитите.

Определени части на човешкото тяло, като например предната очна камера и тестисите, съдържат антигени, които не причиняват възникване на имунен отговор. Днес се знае, че клетките на тези органи се различават от другите клетки по това, че експресират във висока концентрация FasL. Поради това цитотоксичните Т-клетки, които експресират FasR, се подлагат на апоптоза, когато навлязат в тези места.

Този механизъм повишава възможностите за предпазване на присадката от отхвърляне. Ако някои от клетките на присадените бъбреци, черен дроб, сърце и др. биха могли да експресират FasL във високи концентрации, това би предпазило присадката от Т-клетките на имунната система на приемателя.

Интересно заболяване с вероятна автоимунна патогенеза, което има отношение към каспазите, е *витилиго*то (vitiligo). При него е установено, че концентрациите на CASP1, CASP4 и CASP5 в депигментираните клетки на кожата са твърде високи. Това вероятно се дължи на високата концентрация на белтъка на мутиралия NALP1 ген в Т-клетките и Лангерхансовите клетки, които вземат участие в кожния автоимунитет [3, 6]. NALP1 генът се намира в хромозома 17p13. CASP1 взема участие в образуването на възпалителния цитокин интерлевкин-1β.

СПИН

Апоптозата има значение и за възникването на *СПИН* [1]. Това заболяване се характеризира с намален брой на CD4+-Т-клетките. CD4+-Т-клетките са необходими пряко или косвено (като помощни клетки) за всички имунни отговори. Нормално техният титър е около 1000/μL кръв. Когато той намалее под 200/μL кръв, пациентът започва да страда от опасни инфекции.

CD4 (от **c**luster of **d**ifferentiation, англ.) представлява гликопротеин с относителна молекулна маса 55 000, който се намира по повърхността на Т-помощните клетки, регулиращите Т-клетки, моноцитите, макрофагите и дендритните клетки.

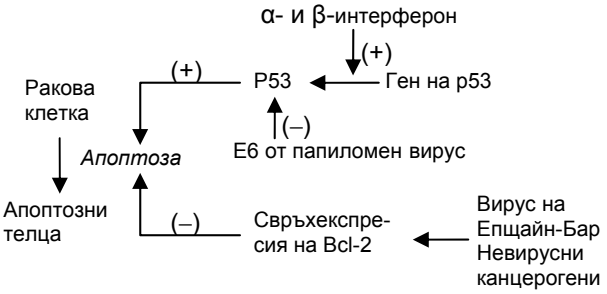
При СПИН огромната част от CD4+-Т-клетките в организма изчезва, макар че HIV вирусът инфектира едва 1 на 100 000 CD4+-Т-клетки. Неинфектираните CD4+-Т-клетки извършват апоптоза по следния механизъм: Всички CD4+-Т-клетки – както инфектираните, така и неинфектираните, съдържат по своята повърхност белтъчния рецептор FasR. Същевременно HIV инфектираните клетки експресират по повърхността си белтъчния лиганд FasL във високи концентрации. Поради това когато инфектирана CD4+-Т-клетка срещне неинфектирана клетка (напр. в лимфен възел), нейните FasL лиганди се свързват с рецептора FasR върху неинфектираната клетка и я убиват посредством апоптоза. Освен това HIV ензимите инактивират антиапоптозния белтък Bcl-2 и активират апоптозната прокаспаза 8. По този начин те подготвят инфектираната клетка за апоптоза при подходящ сигнал.

ТУМОРИ

Апоптозата има отношение и към *тумори*те. При тях съществена роля изпълнява белтъкът p53, който стимулира апоптозата на раковите клетки и поради това потиска развитието на ракови заболявания.

Белтъкът p53 представлява транскрипционен фактор (промотор), който предпазва генома от мутации. Поради това той се нарича "пазач на генома" [11]. Наименованието p53 отразява относителната молекулна маса на този белтък – 53 000, която е била определена посредством SDS електрофореза в полиакриламиден гел. По-късно, въз основа на аминокиселинния състав, е било установено, че относителната маса на p53 е в действителност 43 700. Несъвпадението на двете относителни маси се дължи на многото пролинови остатъци в белтъка p53, които забавят придвижването му при SDS електрофореза в полиакриламиден гел.

Транскрипцията на гена на белтъка p53 се индуцира от алфа- и бета-интерферона. При липса на тези интерферони експресията на гена за белтъка p53 намалява. Това води вероятно до образуване на тумори [12] (фиг. 3).



Фиг. 3. Молекулни механизми при възникването на тумори

Някои вируси, които причиняват рак, потискат апоптозата на трансформираните от тях клетки. Установено е например, че един от вирусите на човешкия папилом индуцира синтеза на белтъка E6, който инактивира белтъка p53. Белтъкът E6 е изграден от 151 аминокиселинни остатъка. Той съдържа един мотиф 1 и два цинковопръстни мотифа [4].

Превръщането на една нормална клетка в туморна може да се дължи и на свръхекспресия на ензима Bcl-2. Така например вирусът на Епщайн-Бар (Epstein-Barr), който причинява мононуклеозата и е свързан с някои лимфоми, синтезира белтък, подобен на Bcl-2, и друг белтък, който стимулира инфектираната клетка към уве-

личена продукция на ензима Bcl-2. Благодарение на това заразената клетка е силно резистентна на апоптоза, което о дава възможност да продължи да пролиферира, тоест да се превърне в ракова клетка.

Установено е, че и ракови клетки, които са възникнали без участието на вируси, извършват забавена апоптоза. Например някои В-клетъчни левкемии и лимфоми експресират ензима Bcl-2 във високи концентрации, като по този начин блокират апоптозни сигнали. Клетките на *мелонома* пък (най-малигнения кожен рак) се предпазват от апоптозата, като инхибират експресията на Apaf-1 гена.

Някои ракови клетки, най-вече тези на белодробния рак и рака на колона, секретират разтворим белтък, който се свързва с лиганда FasL, като по този начин го блокира, и той не може да се свърже с рецептора FasR. Вследствие на това цитотоксичните Т-клетки не са в състояние да убиват раковите клетки. Други ракови клетки експресират лиганда FasL във високи концентрации и поради това убиват цитотоксичните Т-клетки, тъй като те също експресират рецептора FasR, но се предпазват от собствения си лиганд FasL.

Библиография

1. A l i m o n t i, J. B., T. B. Ball et K. R. Fowke. Mechanisms of CD4+ T lymphocyte cell death in human immunodeficiency virus infection and AIDS. – J. Gen. Virology, **84**, 2003, № 7, 1649-1661.
2. G r a h a m, R. K. et al. Cleavage at the Caspase-6 site is required for neuronal dysfunction and degeneration due to mutant Huntingtin. – Cell, **125**, 2006, № 6, 1179-1191.
3. G r e g e r s e n, P. K. Modern genetics, ancient defenses, and potential therapies. – N. Engl. J. Med., **356**, 2007, № 12, 1263-1266.
4. G u p t a, S. et al. The human papillomavirus type 11 and 16 E6 proteins modulate the cell-cycle regulator and transcription cofactor TRIP-Br1. – Virology, **317**, 2003, № 1, 155-164.
5. H e r m e l, E. et al. Specific caspase interactions and amplification are involved in selective neuronal vulnerability in Huntington's disease. – Cell Death Differ., **11**, 2004, № 1, 424-438.
6. J i n, Y. et al. NALP1 in vitiligo-associated multiple autoimmune disease. – N. Engl. J. Med., **356**, 2007, № 12, 1216-1225.
7. K i e b u r t z, K. et al. Trinucleotide repeat length and progression of illness in Huntington's disease. – J. Med. Genet., **31**, 1994, № 11, 872-874.
8. K i m, Y. J. et al. Caspase 3-cleaved N-terminal fragments of wild-type and mutant Huntington are present in normal and Huntington's disease brains, associate with membranes, and undergo calpain-dependent proteolysis. – Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **98**, 2001, № 22, 12784-12789.
9. O h n i s h i, S. et K. Takano. Amyloid fibrils from the viewpoint of protein folding. – Cell Mol. Life Sci., **61**, 2004, № 5, 511-524.
10. S c h m i t z, C. et al. Hippocampal neuron loss exceeds amyloid plaque load in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. – Am. J. Pathol., **164**, 2004, № 4, 1495-1502.
11. S t r a c h a n, T. et A. P. Read. Human Molecular Genetics 2. – In: Cancer Genetics. Ch. 18. N. Y., Wiley, 1999.
12. T a k a o k a, A. et al. Integration of interferon-alpha/beta signalling to p53 responses in tumour suppression and antiviral defence. – Nature, **424**, 2003, № 6948, 516-523.

Постъпила – 25 октомври 2007 г.