

ID: 2013-02-2076-A-2401

Обзор

Ващенко И.С., Соколов А.В., Чеботарева Е.Г.

Современный взгляд на биохимические механизмы патогенеза альцгеймеровской нейродегенерации*ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России, кафедра биологической химии**Научный руководитель: к.м.н., доцент Чеботарева Е.Г.***Резюме**

В данной работе приводится анализ результатов исследований последних лет, затрагивающих биохимические аспекты патогенеза болезни Альцгеймера.

Ключевые слова: болезнь Альцгеймера

Введение

Болезнь Альцгеймера (синоним – деменция альцгеймеровского типа) представляет собой наиболее распространенную форму первичных дегенеративных деменций позднего возраста, которая характеризуется постепенным малозаметным началом в пресенильном или старческом возрасте, неуклонным прогрессированием расстройств памяти и высших корковых функций вплоть до тотального распада интеллекта и психической деятельности в целом, а также типичным набором нейропатологических признаков. Изменения в головном мозге, подтверждающие диагноз болезни Альцгеймера, в основном выявляют в наружном слое мозга (коре) и гиппокампе, который залегает в глубине полушарий и играет важную роль в процессах памяти. При микроскопическом исследовании этих областей мозга обнаруживаются нейрофибриллярные клубочки и нейритические бляшки. Клубочки состоят из патологически измененных нейронов, содержащих аномальные белки. Бляшки представляют собой участки отложений в межклеточном пространстве белково-углеводного комплекса – амилоида. Чем больше в мозгу клубочков и бляшек, тем сильнее выражены интеллектуальные нарушения.

Целью нашей работы явилось осветить основные теории, объясняющие патогенез болезни Альцгеймера, существующие в академической науке на сегодняшний день, и проанализировать основные результаты проводимых исследований.

Методы

Ознакомление с библиографией, пресс-релизами некоторых фармакологических компаний, анализ методик биохимических исследований, сопоставление результатов экспериментов различных исследовательских групп и их вклада в наши знания о патогенезе альцгеймеровской нейродегенерации.

По данным ВОЗ, в 2005 году деменцией страдали 0.379 % мирового населения, общемировая заболеваемость на 2006 год оценивалась уже в 26,6 млн. человек, а прогноз на 2015 год достигает значения 0.441 % и ещё больший процент населения, 0.556 %, может быть поражен болезнью к 2030 году [1].

Между тем биохимические механизмы патогенеза этого заболевания так и остаются не выясненными до конца. Приводимые в исследованиях оценки общественных затрат на лечение и уход за больными разнятся, но в целом по всему миру затраты на деменцию могут составлять около 160 млрд. долл. [2].

Более 20 лет ведущей гипотезой в области исследования этого заболевания оставалась амилоидная гипотеза, согласно которой фибриллогенез белка амилоид-бета (A β) и образование амилоидных бляшек вызывают нарушение работы синаптической машины мозга и клиническую картину потери памяти. В ее пользу свидетельствуют некоторые факты. Так, строго доказано, что определенные мутации гена, который кодирует белок APP, сильно увеличивают риск развития болезни Альцгеймера [3]. Профессор Селкоу (Selkoe) в своей обзорной статье отметил, что последние нейропатологические, биохимические, генетические и даже терапевтические исследования служили в поддержку гипотезы о постепенном накоплении растворимых и нерастворимых конгломератов белка амилоид-бета в лимбических структурах и ассоциативной коре, и связанных с этим биохимических и клеточных нарушениях, которые дают картину клинических проявлений болезни Альцгеймера [4].

Профессор биологии Брэдли Хайман (Bradley Hyman) и его коллеги получили весьма любопытные результаты. Гарвардские исследователи выяснили, что амилоидные отложения начинаются с возникновения крошечных зародышей – микробляшек. Хотя их размеры очень малы, они повреждают отростки нервных клеток, аксоны и дендриты, по которым передаются нервные импульсы. Возможно, именно этим объясняется тот печальный факт, что болезнь Альцгеймера повреждает синаптические связи между нейронами [3].

A β образуется из белка APP, который подвергается действию двух ферментов подряд – вначале бета-, а потом – гамма-секретазы. Учитывая это, был предложен способ лечения болезни Альцгеймера – выключить гамма-секретазу. Однако данный фермент работает не только с APP, но и с другими субстратами, например с Notch-рецептором, имеющим колоссальное значение в деле создания межклеточных взаимодействий, поэтому полное выключение этого фермента не возможно. В журнале Nature появилась статья о белке, который влияет на «амилоидную» активность гамма-секретазы и при этом никак не затрагивает Notch. Этот белок назвали GSAP (γ -secretase activating protein). Оказалось, что при терапии антираковым препаратом «иматиниб» происходит связывание последнего с GSAP и при этом не влияет на Notch. GSAP является одной из субединиц гамма-секретазы и выключается в комплексе с «иматинибом», как следствие выработка A β существенно снижается. Однако «иматиниб» не проходит через гемато-энцефалический барьер, поэтому терапия болезни Альцгеймера им не возможна [5].

Однако ряд экспериментальных данных говорят об ошибочности положений амилоидной гипотезы, упрощенность. Приведем несколько примеров.

Одной из предложенных форм лечения болезни Альцгеймера была вакцинация антителами против A β . Этот метод, показавший свою эффективность в ходе опытов с лабораторными животными на клиническом этапе исследования стал причиной

тяжелых форм воспаления мозга у значительного числа пациентов, принявших участие в испытании, усугубление симптомов БА, и даже несколько смертельных исходов [6, 7].

17 августа 2010 года компания Eli Lilly объявила о прекращении международных клинических испытаний третьей фазы лекарства семагестат (ингибитор гамма-секретазы, предотвращающий образование Аβ из его предшественника) с участием 2600 больных болезнью Альцгеймера в 31 стране мира. В пресс-релизе компании подчеркивалось, что у участников клинических испытаний, значительно ухудшалось состояние по сравнению с теми участниками испытаний, кто принимал плацебо, также появлялась склонность к развитию рака кожи [8].

Кроме того, вплоть до сегодняшнего дня Аβ не удалось выделить в достаточном для проведения экспериментов количестве, несмотря на то, что согласно амилоидной гипотезе, его содержание в нервной ткани пациентов с болезнью Альцгеймера. Сами исследования проводят на мышах, трансгенных по редкому мутантному гену предшественника амилоида. Вполне вероятно, что данный вид моделирования не совсем корректно переносить на клиническую практику.

Обоснованные аргументы оппонентов заставили сторонников амилоидной гипотезы изменить ряд ее положений. Последняя версия этой гипотезы гласит, что главной причиной развития БА являются олигомеры Аβ, а не его амилоидные бляшки, как утверждалось ранее [9].

Существуют и другие гипотезы возникновения болезни Альцгеймера, альтернативные амилоидной. Многие исследователи связывают появление нейрофибриллярных клубков и амилоидных бляшек не патологическими, а наоборот, с компенсаторными механизмами. Еще в начале 90х гг. группой отечественных исследователей (Кудинов А.Р., Кудинова Н.В., Кезля Е.В., Козырев К.М., Медведев А.Е., Березов Т.Т.) было доказано, что Аβ- это нормальный физиологичный и водорастворимый апобелок, секретлируемый практически всеми изученными на сегодняшний день культурами клеток, содержащийся в плазме крови и ликворе [10]. Липопротенины обеспечивают термодинамически выгодное окружение, необходимое для поддержания Аβ в растворенном состоянии. Аβ так же является важным участником метаболических путей в мозге. В числе выявленных функций Аβ входят модуляция передачи нервного импульса, нейротрансмиссии, синаптической пластичности центральных синапсов ЦНС, защита от избыточных нейротоксических концентраций глутамата, регулирование функций NMDA рецепторов гиппокампа, долговременной потенциации и памяти о пространстве, усиление синтеза фосфатидилхолина, фосфатидилэтаноламина, фосфатидилсерина и синтеза холин-содержащих фосфолипидов в срезах гиппокампа лабораторных крыс. Липопротенины так же необходимы для нейропластичности и для моментальных структурных перестроек мембран нейронов на ранних этапах развития механизмов нейропластичности. Исследования показали важную роль белков из семейства пАβ в онтогенетическом синаптическом созревании нейромышечных соединений, формировании их структуры и обеспечении правильной функции. пАβ важен как регуляторная молекула для пресинаптической экспрессии и активности высоко-афинного транспортера холина, т.е. молекулы, которая опосредует скорость-лимитирующий этап холинэргической синаптической трансмиссии и в нейромышечных соединениях, и в синапсах ЦНС [11-16].

В норме апоАβ связан с липидами и не взаимодействует с другими белками, что имело место в образцах ЛПВП, выделенных из цереброспинальной жидкости больных с болезнью Альцгеймера. Очевидно, что при БА структура липопротеинов изменяется и термодинамически более выгодным становится взаимодействие молекул Аβ друг с другом, что приводит к образованию олигомеров, а также связыванию апоАβ с другими апобелками (аполипопротеинами) с образованием их комплексов.

Первичными причинами возникновения болезни Альцгеймера является вероятно нарушение гомеостаза холестерина [10]. Это приводит к холестерин-зависимому нарушению синаптической пластичности и нейрональной дегенерации. Биохимические изменения белка Аβ способствуют восстановлению обмена холестерина в ткани мозга при патологии.

Компенсаторную роль играют и два других биохимических признака этого заболевания: избыточное фосфолирование tau и изменение текучести мембран при активации перекисного окисления нейрональных липидов. Они служат функциональному восстановлению мембран нейронов в условиях нарушения их биохимической структуры для корректного выполнения ими функции нейротрансмиссии и формирования электрического ответа на раздражение. Tau может находиться в активном (фосфорилированном) и неактивном состояниях (дефосфорилированном). В активном состоянии он стабилизирует микротрубочки и таким образом регулирует внутриклеточный транспорт. При дефосфорилированном состоянии его молекулы образуют нерастворимые агрегаты, которые слипаются и препятствуют микротрубочковому транспорту. Несколько лет назад было показано, что tau расщепляется каспазами. Каспазы — это протеазы, дающие клетке сигнал к апоптозу. Каспазы подразделяют на два типа — инициаторные и эффекторные, расщепляемые инициаторными. После активации эффекторные каспазы запускают каскады реакций, вызывающие фрагментацию ДНК и деструкцию клетки. Группа исследователей из США и Франции провела серию экспериментов, в ходе которых было доказано, что под воздействием каспаз tau очень быстро переходит в дефосфорилированное состояние, образуя клубочек. Однако если в клетке есть нейрофибриллярный клубок, каспазы не способны вызвать апоптоз [8]. Выяснено, что уже само наличие измененного каспазами tau способно «включить» агрегацию, однако по-прежнему не ясно чем являются нейрофибриллярные клубки — защитой для клетки, побочным результатом каспазной активности или «медленным оружием», постепенно убивающим нейроны.

Вопрос о связи Аβ и tau пока так же остается открытым. Физиологически Аβ и tau могут быть частью биохимической машины обеспечения физико-химических свойств мембран благодаря функциональному влиянию на гомеостаз липидов мозга. Анализ литературных данных свидетельствует о том, что нейродегенеративные изменения нейрхимии белка амилоид-бета (Аβ), чрезмерное фосфолирование белка tau и связанные с этим модификации нейрального цитоскелета при болезни Альцгеймера и других родственных патологиях ЦНС- это вторичные признаки нейродегенерации. Группа калифорнийских ученых из Стэнфордского и Калифорнийского (Окленд) университетов и Гладстонского института неврологических болезней (Сан-Франциско) высказала предположение, что виной всему нарушению аксонного транспорта. На это указывает тот факт, что при болезни Альцгеймера нарушается внутринейронное распределение некоторых транспортируемых молекул; tau ассоциирован с микротрубочками, необходимыми для транспорта, а Аβ этот транспорт нарушает [9]. Само исследование проводилось на культурах нейронов, нокаутных по tau полностью или частично. В ходе его выяснилось, что Аβ не влияет на транспортировку грузов в нокаутированных клетках, но запускает целый каскад реакций (механизмы которых так до конца и не поняты) в клетках с

исходными аллелями, нарушая тем самым нейронный транспорт. Следует отметить, что использование нокаутированных клеток не совсем корректно и требует подтверждений на нокдаунах.

Переходя к **выводам**, отметим что несмотря на огромную и напряженную работу ученых в этой области, точный механизм нарушений биохимических процессов по-прежнему остается загадкой. Исследования последних лет несколько прояснили картину возникновения амилоидных бляшек, однако до конца взаимосвязь между нейродегенеративными изменениями Аβ и гиперфосфорилированным tau так и не установлена. Сторонники гипотез, альтернативных амилоидной, имеют достаточное количество серьезных оппонентов в научных кругах. При этом положения самой амилоидной гипотезы при появлении новых экспериментальных данных регулярно подвергаются изменениям. Учитывая неудачный опыт крупных фармакологических компаний приостановивших на заключительных фазах ряд исследований, вопрос о правомерности экстраполяции результатов экспериментов с культурами нейронов *in vitro* или даже лабораторными животными *in vivo* на клиническую практику также остается открытым. Дело в том, что данные модели либо слишком упрощены и не учитывают всей сложности регуляторных процессов организма, либо наблюдаемые объекты несут крайне редко встречающиеся мутации. Таким образом, говорить о создании единой стройной теории патогенетических механизмов возникновения болезни Альцгеймера на данный момент рано, как рано говорить и о создании лекарства против нее.

Литература

1. World Health Organization Neurological Disorders: Public Health Challenges. — Switzerland: World Health Organization, 2006. — P. 204–207. — ISBN 978-92-4-156336-9
2. Wimo A, Jonsson L, Winblad B (2006). «An estimate of the worldwide prevalence and direct costs of dementia in 2003». *Dement Geriatr Cogn Disord* 21 (3): 175–81. DOI:10.1159/000090733. PMID 16401889
3. Bradley T, Hyman et al. Rapid appearance and local toxicity of amyloid-β plaques in a mouse model of Alzheimer's disease // *Nature*. 2008. V. 451. P. 20–724.
4. Selkoe D. J. (2008) *Behav. Brain. Res.* 192. 106-113.
5. Gen He, Wenjie Luo, Peng Li, Christine Remmers, William J. Netzer, Joseph Hendrick, Karima Bettayeb, Marc Flajolet, Fred Gorelick, Lawrence P. Wennogle, Paul Greengard. Gamma-secretase activating protein is a therapeutic target for Alzheimer's disease // *Nature*. 2010. V. 467, P. 95–98.
6. Malzley R. W., Colberg S, Hodes R.J. (2004) <http://neurobiologyoflipids.org/ncws/ncws2004.html#vsj270404>
7. Bisshop G.M., Robinsun SR., Smith MA., Perry G., Atwood C.S. (2002) *Nature*, 416 (6882),677.
8. <http://ncwsroom.lilly.com/Jrelcascdetail.cfm?releaseid=499794>
9. Walsh D.M, Klyubin I., Fadeeva J. V., Cullen W.K., Anwyl R., Wolfe M.S, Rowan M.J., Selkoe D.J. (2002) *Nature*, 416, 535-539,
10. Кудинов А.Р., Кудинова Н.В., Кезля Е.В., Козырев К.М., Медведев А.Е., Березов Т.Т. компенсаторные механизмы обеспечения нейропластичности ткани мозга при альцгеймеровской нейродегенерации // *Биомедицинская химия*, 2012. 58 (4), с. 385-399.
11. Koudinova N.V, Kontush A., Berезov T.T., Koudinov A.R. (2003). URL: <http://neurobiologyoflipids.org/content/1/6/>
12. Kontush A., Berезov T.T. (2004) *Acta Neurobiologica Exp.*, 64,71-79. URL: <http://koudinov.info/archive/se1koe.html>
13. Kamenetz F., Tomita T., Hsieh H., Seabrook G., Borchelt D., Iwatsubo T., Sisodia S., Malinow R. (2003) *Neuron*, 37, 925-937
14. Koudinov A.R., Berезov T.T., Koudinova N.V. (1998) *Clin. Chem. Acta*, 270, 75 -84
15. Steinbach J.P., Muller U., Leist M., Li Z.W., Nicotera P., Aguzzi A. (1998) *Cell Death Differ.*, 5, 858-866.
16. Lesne S., Ali C., Gabriel C., Croci N., MacKenzie E.T., Glabe C.G., Plotkine M., Marchand-Verrecchia C., Vivien D., Buisson A. (2005) *J. Neurosci.*, 25, 9367-9377.
17. de Calignon A., Fox L.M., Pitstick R., et al. Caspase activation precedes and leads to tangles // *Nature*. V. 464. P. 1201–1204 (22 April 2010).
18. Vossel K.A., Zhang K., Brodbeck J., et al. Tau Reduction Prevents Aβ-Induced Defects in Axonal Transport // *Science*. 8 October 2010. V. 330. P. 198.