

Μηχανισμοί Αποδόμησης Ενδοκυττάρων Πρωτεϊνών

Οι βασικοί μηχανισμοί αποδόμησης ενδοκυττάρων πρωτεϊνών είναι το σύστημα **ουβικουιτίνης – πρωτεασώματος** (ubiquitin-proteasome system) και η **μακρο-αυτοφαγία** (macro-autophagy). Μέσω του πρωτεασώματος αποδομούνται συνήθως πρωτεΐνες με μικρό χρόνο ζωής ενώ πρωτεΐνες με μεγάλο χρόνο ζωής συνήθως αποδομούνται μέσω αυτοφαγικών μηχανισμών.

(1) **Το σύστημα ουβικουιτίνης – πρωτεασώματος:** Πρωτεΐνες που προορίζονται για αποδόμηση «μαρκάρονται» με μόρια ουβικουιτίνης και καταστρέφονται από το πρωτεάσωμα.

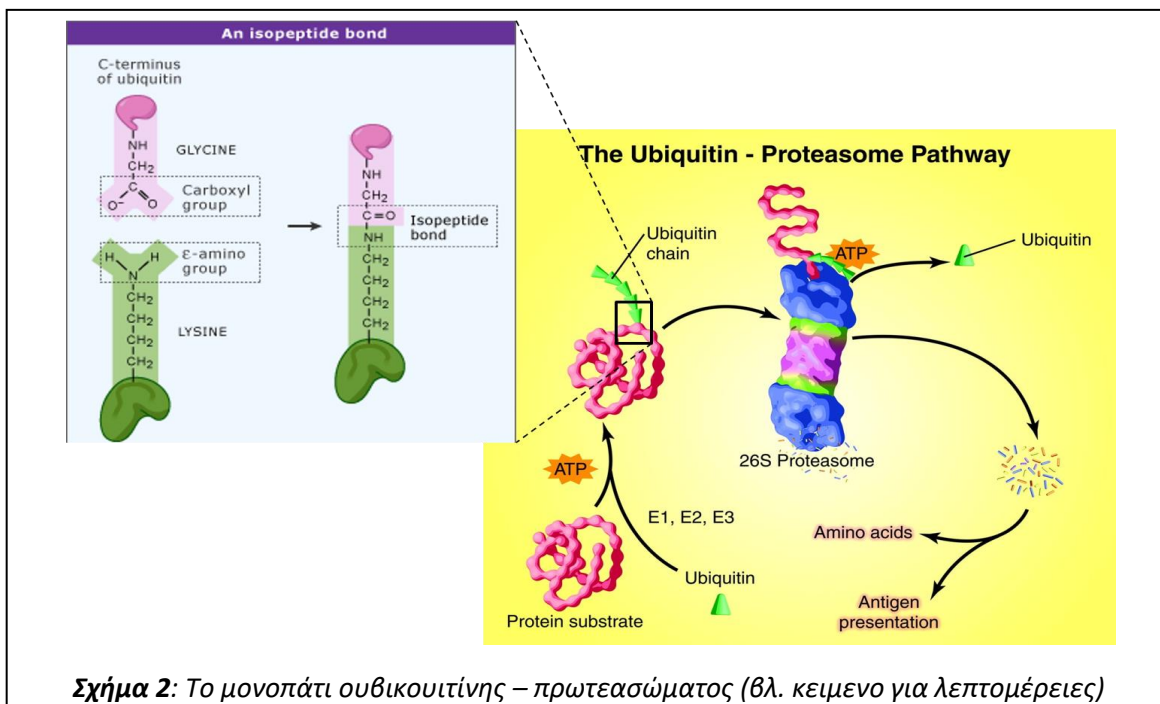
Η ουβικουιτίνη (Ub) είναι μια μικρή πρωτεΐνη 76 αμινοξέων και εξαιρετικά υψηλό βαθμό εξελικτικής συντήρησης. Για παράδειγμα, υπάρχουν μόνο τρεις διαφορές στην πρωτοταγή δομή μεταξύ της ουβικουιτίνης του ζυμομύκητα και του ανθρώπου, υποδηλώνοντας την αναγκαιότητά της σε σημαντικές κυτταρικές λειτουργίες. Ανάμεσα σε αυτές που γνωρίζουμε συγκαταλέγονται η σήμανση πρωτεϊνών για αποδόμηση, η ενδοκύττωση και η ενεργοποίηση της σηματοδοτικής δραστηριότητας πρωτεϊνών.

Η σήμανση πρωτεϊνών για αποδόμηση προϋποθέτει **πολυ-ουβικουιτίνωση**, δηλαδή τη σύνδεση τουλάχιστον 4 μορίων Ub πάνω στην πρωτεΐνη – στόχο με τη μορφή

Ubiquitin AA Sequence

MQIFV^K₆TLTG KTITLVEPS DTIENVKAKI
 QDKEGIPDPQ QRLIFAG^K₄₈EDGRTLSDYN
 IQ^K₆₃ESTLHLV LRLRGG

Σχήμα 1: Η αλληλουχία της ουβικουιτίνης. Η λυσίνη 48 (K^{48}) χρησιμοποιείται για τον σχηματισμό αλυσίδας ουβικουιτίνης προσδεσμένης σε πρωτεΐνη που προορίζεται για αποδόμηση.



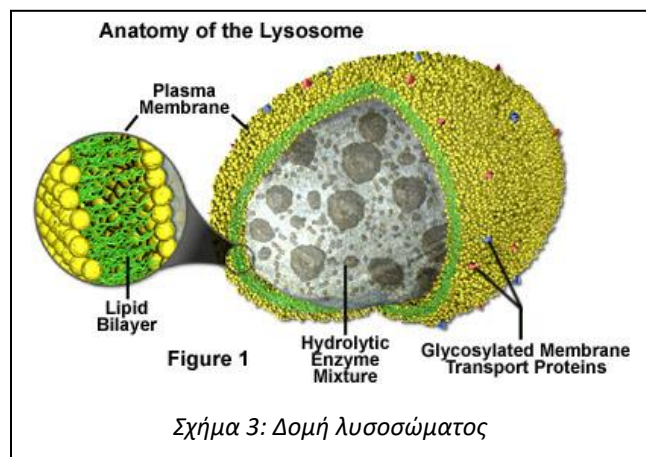
αλυσίδας (Σχήμα 2, ubiquitin chain). Η ομοιοπολική προσθήκη του πρώτου μορίου Ub πάνω στην πρωτεΐνη-στόχο γίνεται μεταξύ της καρβοξυλομάδας της γλυκίνης στη θέση 76 (συμβολίζεται Gly⁷⁶ ή G⁷⁶) της Ub και της ε-αμινομάδας (αμινομάδας πλευρικής αλυσίδας) λυσίνης (συμβολίζεται Lys ή K) της πρωτεΐνης (Σχήμα 2). Σημειώνεται ότι η παρουσία λυσίνης στην αλληλουχία μιας πρωτεΐνης είναι αναγκαία αλλά όχι ικανή συνθήκη ουβικουτίνωσης της.

Για να πραγματοποιηθεί η σύνδεση 2 διαδοχικών μορίων Ub, η ε-αμινομάδα της Lys⁴⁸ (K⁴⁸, βλ. Σχήμα 1) του ήδη συνδεδεμένου στην πρωτεΐνη μορίου Ub συνδέεται ομοιοπολικά με τη Gly⁷⁶ του επόμενου μορίου ουβικουτίνης (Σχήμα 2). Η διαδικασία αυτή συνεχίζεται με την προσθήκη 3^{ου} μορίου Ub, κ.ο.κ. Η ουβικουτίνωση καταλύεται από ένα ενζυμικό σύστημα που περιλαμβάνει 3 ομάδες ενζύμων (E1, E2, E3) από τις οποίες η τελευταία (E3) δρα ως λιγάση της ουβικουτίνης (ubiquitin ligase), καταλύει δηλαδή τον σχηματισμό του ομοιοπολικού δεσμού Gly-Lys.

Η πολυ-ουβικουτινωμένη πρωτεΐνη αναγνωρίζεται από το πρωτεόσωμα, ένα σύμπλεγμα δεκάδων πρωτεϊνών που περιλαμβάνει πρωτεάσες (Σχήμα 2). Τα ένζυμα αυτά διασπούν τους πεπτιδικούς δεσμούς της πρωτεΐνης απελευθερώνοντας αμινοξέα ή, στην περίπτωση του ανοσο-πρωτεασώματος, πεπτίδια που ανοσο-παρουσιάζονται στην επιφάνεια του κυττάρου. Η ενεργότητα του πρωτεασώματος απαιτεί χρήση σημαντικών ποσοτήτων ATP.

(2) **Μακρο-αυτοφαγία:** Πρωτεΐνες αλλά και ολόκληρα οργανίδια (π.χ μιτοχόνδρια, υπεροξεισωμάτια, λιπιδικές σταγόνες, κλπ) εγκλωπώνονται σε κυστίδια που ονομάζονται αυτοφαγοσώματα (auto-phagosomes) και οδηγούνται στα λυσοσώματα για αποδόμηση.

α) Λυσοσώματα: Τα λυσοσώματα είναι οργανίδια που σχηματίζονται από μεμβράνες και περιέχουν περίπου 50 υδρολυτικά ένζυμα όπως λιπάσες, σακχαράσες, φωσφατάσες και πρωτεάσες γνωστές ως καθεψίνες. Τα ένζυμα αυτά διαθέτουν βέλτιστη ενεργότητα σε pH ≈ 5 που είναι το pH στο εσωτερικό των λυσοσωμάτων, ενώ απενεργοποιούνται στο κυτταροπλασματικό pH με αποτέλεσμα το κύτταρο να αυτοπροστατεύεται από πιθανή διάχυση λυσοσωμικών ενζύμων στο κυτταρόπλασμα.



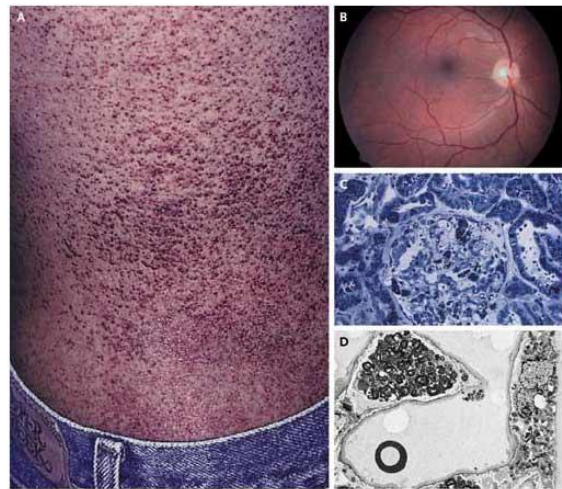
Διαταραχές στη λειτουργία λυσοσωμικών ενζύμων οδηγούν στα **λυσοσωμικά αθροιστικά νοσήματα (Lysosomal Storage Disorders, LSD's)** που περιλαμβάνουν πάνω από 50 γενετικά κληρονομούμενα μεταβολικά νοσήματα με συνολική επίπτωση περίπου 1:7700 γεννήσεις στο γενικό πληθυσμό. Στα λυσοσωμικά αθροιστικά νοσήματα παρατηρείται συσσώρευση ουσιών

(υποστρωμάτων-στόχων, βλ. παράδειγμα ακολούθως) με επακόλουθο τη χρόνια και προοδευτική φθορά των κυττάρων, ιστών και οργάνων που επηρεάζονται.

Η νόσος Fabry ανήκει στα LSD's και εκδηλώνεται με διάχυτο άλγος (62% των ασθενών), δερματικές αλλοιώσεις (31%), γαστρεντερικές διαταραχές (19%), νεφρική προσβολή (17%) και προβλήματα των οφθαλμών (11%). Μορφολογικά (Σχήμα 4) παρατηρούνται αγγειο-κερατώματα (σκουρόχρωμες ερυθρές έως κυανομέλανεσ ομάδες αγγειεκτασιών) που καταλαμβάνουν κυρίως τη περιοχή των γεννητικών οργάνων, των γλουτών, τη κοιλιακή χώρα και τα άκρα και εξελίσσονται σε μέγεθος και αριθμό με τα χρόνια. Σε ενδιάμεσα στάδια εμφανίζονται διαταραχές των οφθαλμών (θολερότητα του κερατοειδούς) και λευκωματουρία σαν πρώτη ένδειξη νεφρικής συμμετοχής που καταλήγει σε τελικού σταδίου χρόνια νεφρική ανεπάρκεια. Οι εκδηλώσεις στο νευρικό σύστημα συνοδεύονται σε αυτό το στάδιο από έντονες ακροπαραισθησίες και κρίσεις γενικευμένου άλγους.

Σε μοριακό επίπεδο το υπεύθυνο γονίδιο που μεταλλάσσεται κωδικοποιεί για τη σύνθεση του λυσοσωμικού ενζύμου **α-γαλακτοσιδάση Α**, ονομάζεται *GLA* και εντοπίζεται στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος Χ, στη θέση 22.1 (Χq22.1). Μέχρι σήμερα έχουν περιγραφεί περίπου 500 μεταλλάξεις στο γονίδιο *GLA* που είναι αρχειοθετημένες στην βάση δεδομένων του Πανεπιστημίου του Cardiff «Human Gene Mutation Database» (www.hgmd.org). Η συχνότητα εμφάνισης της νόσου υπολογίζεται σε ένα περιστατικό στις 117.000 γεννήσεις ή ένας στους 40.000 – 60.000 άνδρες .

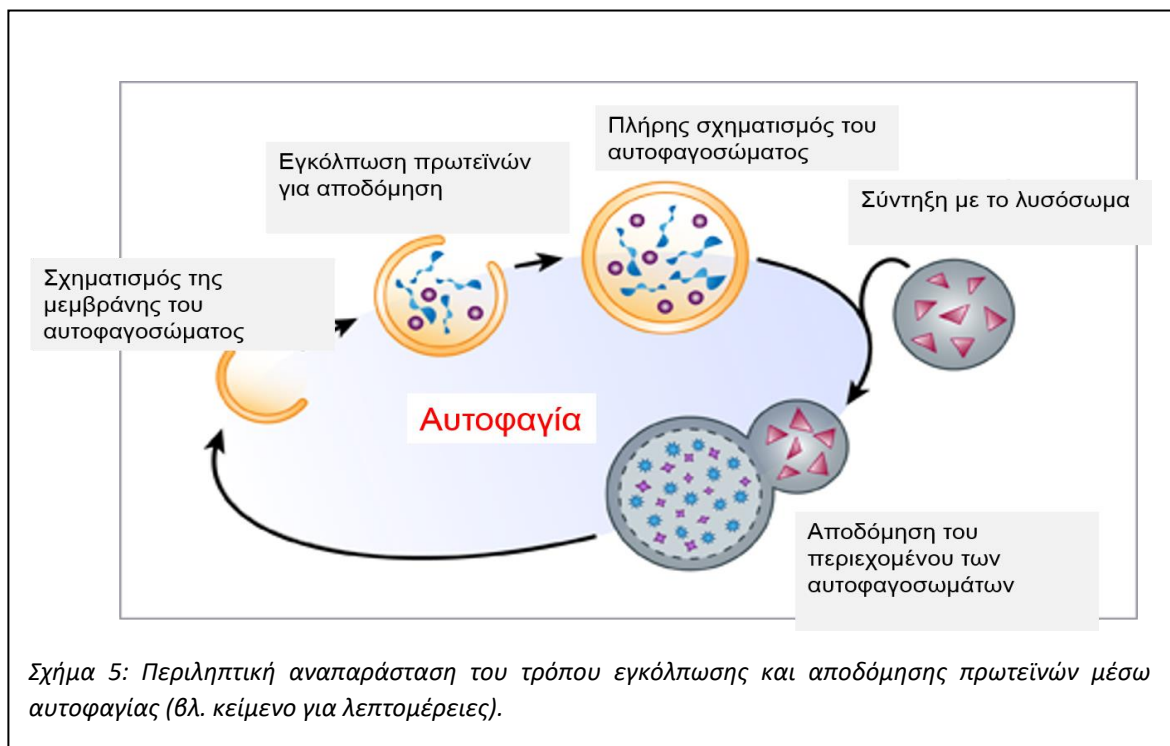
Το ένζυμο α-γαλακτοσιδάση Α είναι υπεύθυνο για την αποδόμηση ενός τύπου λιπιδίου. Κατ' επέκταση, η μερική ή ολική ανεπάρκεια του ενζύμου αυτού οδηγεί σε σταδιακή συσσώρευση ουδέτερων αδιάσπαστων γλυκο-σφιγγολιπιδίων στους ιστούς και στο πλάσμα των ασθενών. Τα γλυκοσφιγγολιπίδια εναποτίθενται κυρίως στα λυσοσώματα των ενδοθηλιακών, επιθηλιακών και λείων μυϊκών κυττάρων του τοιχώματος των αιμοφόρων αγγείων αλλά και στα επιθηλιακά κύτταρα του κερατοειδούς, στο σύνολο των κυττάρων των νεφρικών σπειραμάτων και σωληναρίων, στις καρδιακές μυϊκές ίνες και στα γαγγλιοκύτταρα του αυτόνομου νευρικού συστήματος. Η συσσώρευση αυτή οδηγεί αρχικά σε δυσλειτουργία των βασικών μεταβολικών διαδικασιών μέσα στο κύτταρο, φτάνοντας έτσι σε κυτταρικό θάνατο που οδηγεί τελικά σε προοδευτική δυσλειτουργία ζωτικών οργάνων.



Σχήμα 4: Μερικά μακροσκοπικά και κυτταρικά χαρακτηριστικά της νόσου Fabry: (α) αγγειο-κερατώματα, (β) θολερότητα του κερατοειδούς, (c) και (d) ενδοκυτταρικά συσσωματώματα. (Από το περιοδικό *N ENGL J MED* 349;21, 2003, www.nejm.org).

β) Αυτοφαγία: Η μακρο-αυτοφαγία ενεργοποιείται από ποικίλους παράγοντες που περιλαμβάνουν την περιορισμένη διαθεσιμότητα θρεπτικών υλικών απαραίτητων για τις λειτουργίες του κυττάρου, τη συσσώρευση πρωτεϊνών με ανώμαλη πτύχωση, μόλυνση από παθογόνους μικροοργανισμούς, βλάβη των μιτοχονδρίων και βλάβες στο DNA. Μειωμένη ικανότητα αυτοφαγίας σχετίζεται με νευρολογικά νοσήματα (π.χ. νόσος Alzheimer) και κακοήθειες του ανθρώπου.

Σε κυτταρικό επίπεδο η αυτοφαγία χαρακτηρίζεται από τον προοδευτικό σχηματισμό κυστιδίων που ονομάζονται αυτοφαγοσώματα, και πραγματοποιείται με τη δράση 15 περίπου πρωτεϊνών της οικογένειας ATG (Autophagy-related proteins) χρησιμοποιώντας τμήματα του ενδοπλασματικού δικτύου για τη δημιουργία της μεμβράνης του κυστιδίου (Σχήμα 5). Η διάμετρος των αυτοφαγοσωμάτων κυμαίνεται από 0,5-1,5 μm, καθιστώντας τα μεγαλύτερα από τα λυσοσώματα (διάμετρος 0,1 – 1,0 μm) με τα οποία συντήκονται.



Προαιρετικά θέματα μελέτης:

1. Αναζητήστε πληροφορίες για κάποιο ακόμη λυσοσωμικό αθροιστικό νόσημα. Παρατηρείτε ομοιότητες με τη νόσο Fabry?
2. Ασθενής με νόσο Fabry έρχεται στο ιατρείο σας. Τι αγωγή θα του δώσετε? Αναζητείστε την απάντηση στη βιβλιογραφία.