

УДК 577.32.4.322+616.003.821+616.831

©Коллектив авторов

**ИНТЕНСИВНЫЙ СИНТЕЗ БЕЛКА В НЕЙРОНАХ
И ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ БЕЛКА ПРЕДШЕСТВЕННИКА
БЕТА-АМИЛОИДА И ТАУ-БЕЛКА ЯВЛЯЮТСЯ ПУСКОВЫМИ
ФАКТОРАМИ АМИЛОИДОЗА НЕЙРОНОВ
И БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА**

А.В. Мальцев^{1,6}, Н.В. Довидченко², В.К. Утешев³, В.В. Соколик⁴,
О.М. Штанг⁵, М.А. Якушин¹, Н.М. Соколова¹,
А.К. Сурин^{2,7}, О.В. Галзитская^{2*}*

¹Филиал ГОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздравсоцразвития
“НКЦ геронтологии”, Москва, 129226, ул. 1 Леонова 16; тел.: 8(916)926 84 31;
эл. почта: avmaltus@rambler.ru

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт белка РАН, Пушкино Московской обл., 142290, ул. Институтская, 4;
эл. почта: ogalzit@vega.protres.ru

³Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биофизики клетки РАН, Пушкино Московской обл.

⁴ГУ “Институт неврологии, психиатрии и наркологии АМН Украины”,
Харьков, Украина

⁵МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, Москва

⁶Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,
Пушкино Московская обл.

⁷Федеральное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр
прикладной микробиологии и биотехнологии, Российская Федерация, 142279,
Московская обл., Серпуховский р-н, пос. Оболенск

В последнее время изучение болезни Альцгеймера (БА) приобрело особую актуальность и привлекло к ней внимание исследователей во всем мире в связи с распространённостью этого опасного заболевания. Причина этой патологии неизвестна, а вот конечная картина, впервые полученная на срезах мозга больных более ста лет назад (отложение β -амилоида в мозговой ткани сенильных бляшек и фибрилл), известна клиницистам хорошо. Многие авторы полагают, что отложения β -амилоида вызывают в нейронах вторичные внутринейронные изменения, которые являются причиной гибели этих клеток. Другие авторы связывают гибель нейронов с гиперфосфорилированием тау-белков, которые образуют нейрофибрилярные клубки внутри нервных клеток и вызывают их гибель. Для создания методов доклинической диагностики и эффективного лечения БА необходимы новые знания о природе пусковых факторов спорадических форм БА,

* - адресат для переписки

ПУСКОВЫЕ ФАКТОРЫ АМИЛОИДОЗА НЕЙРОНОВ И БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

о причинно-следственных связях фосфорилирования белка-предшественника амилоида с образованием патогенных β -амилоидов, о связи с этими факторами процессов гиперфосфорилирования тау-белков и гибели нейронов. В данной работе мы анализируем публикации, посвященные увеличению интенсивности синтеза белка в нейронах в норме и при различных видах стрессов, возможности развития энергетической дисбалансировки нейронов и активации их защитных систем. Фосфорилирование и гиперфосфорилирование тау-белков так же тесно связано с защитными механизмами клеток и процессами эвакуации фосфатов, других энергоемких продуктов метаболизма из зоны синтеза белка. При продолжительной высокой интенсивности синтеза белка происходит перегрузка защитных механизмов и нарушается сопряженность метаболических процессов. Это приводит к дисфункции нейронов, транспортному коллапсу и гибели нейронов.

Ключевые слова: пусковые факторы, β -амилоид, болезнь Альцгеймера, белок предшественник β -амилоида, гибель нейрона, синтез белка, тау-белок, фосфорилирование.

ВВЕДЕНИЕ. Болезнь Альцгеймера (БА) представляет всё возрастающую угрозу национальным системам здравоохранения мирового сообщества [1]. По данным Альцгеймеровской ассоциации, в США в 2007 г. зарегистрировано 5,1 млн пациентов с БА, а к 2050 г. количество пациентов составит 13 млн [2]. По данным международной группы экспертов, в 2005 г. 24,3 млн человек во всём мире страдали деменцией, в большинстве случаев обусловленной БА. Прогнозируется, что к 2020 г. в мире 42,3 млн человек будут страдать деменцией, а к 2040 г. их численность достигнет 81,1 млн [3]. Общественные затраты на преодоление последствий БА очень высоки и продолжают расти. В их число входят прямые медицинские расходы на содержание домов престарелых и немедицинские – на домашний уход за больным, и косвенные расходы, например, потеря производительности – как пациента, так и человека, заботящегося о нем [4]. Приводимые в исследованиях оценки отличаются, но в целом затраты по всему миру на БА могут составлять около 160 млрд долларов [5], из них в США до 100 млрд долларов ежегодно. Показатели отечественной медицинской статистики распространения БА являются значительно заниженными по сравнению с мировыми данными. Популяционное эпидемиологическое исследование, проведенное в Центре по изучению болезни Альцгеймера [6, 7], показало, что 4,5% пожилых жителей Москвы (60 лет и старше) страдают БА. Методом математического моделирования было показано, что на территории РФ в 2004 г. проживало около 2 млн. человек с деменцией [8], при этом ежегодные прямые и косвенные затраты в связи с данным заболеванием составляют в РФ до 5 млрд. долларов.

Более ста лет назад Альцгеймер показал, что при БА на срезах мозга больных обязательно присутствуют сенильные бляшки и фибриллы, которые и сегодня являются доказательной базой диагноза БА. Хорошо известно, что БА имеет две клинические формы: генетическую, на долю которой приходится около 3-5% и спорадическую – около 95%. Одно из возможных составляющих патогенеза БА генетической формы – образование патологических форм аполипопротеина E. По данным авторов [9], вероятность заболевания БА в 18 раз возрастает у лиц, носящих гетеро- или гомозиготные формы аполипопротеина E e4 [10]. Многие исследователи до сих пор считают, что основным виновником в развитии спорадических форм БА являются A β -пептиды (A β), которые входят в состав бляшек и фибрилл. При этом определенная роль отводится повышению синтеза белка предшественника

β -амилоида (APP, amyloid precursor protein) и переключению процессинга APP на амилоидный путь с образованием больших концентраций молекул A β [11-12]. Несмотря на огромный объём накопленных в конце прошлого века и в последнее десятилетие знаний о БА, этиология и патогенез этого заболевания остаются неизвестными. В данной работе мы не стремились к исчерпывающему изложению и обсуждению всего материала, накопленного к настоящему времени по данному направлению исследований, а останавливались только на наиболее принципиальных моментах экспериментально подтверждающих предложенную нами концепцию пусковых факторов БА.

1. ЭТИОЛОГИЯ И ПАТОГЕНЕЗ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА.

Описано несколько генетически гетерогенных форм БА, которые составляют небольшую часть (5-7%) от спорадических форм БА. Некоторые специалисты [13] считают, что спорадические случаи, к которым относится подавляющее большинство пациентов с БА, также могут быть обусловлены мутациями или полиморфизмами в генах, а патогенная экспрессия генетической аномалии находится под влиянием других генов. Однако роли мутаций или полиморфизмов в пресенилинах в развитии спорадических форм поздней БА (т.е. сенильной деменции альцгеймеровского типа) пока не установлена. Показано, что некоторые мутации в гене белка предшественника β -амилоида (APP) ответственны за увеличение продукции β -амилоида (A β), из которого формируются амилоидные (сенильные) бляшки, которые представляют собой один из главных нейроморфологических феноменов заболевания. В 1991 году была предложена “амилоидная гипотеза”, согласно которой базовой причиной заболеваний являются отложения A β в виде агрегированных скоплений (фибрилл и бляшек) в экстрацеллюлярных пространствах коры головного мозга обладают нейротоксическими свойствами и вызывают развитие дегенеративных изменений в ближайших (окружающих) нейронах [14, 15]. В соответствии с этой гипотезой аномальный амилоидогенез предшествует нейрофибриллярным изменениям, выступая в качестве главной причины нейрональной дисфункции и гибели нейронов. Сравнительное морфометрическое исследование биопсийного и аутопсийного материала показало, что развитие (тяжесть) деменции альцгеймеровского типа, отражающее прогрессирование заболевания, мало коррелирует с количеством амилоидных бляшек и фибрилл и в основном коррелирует с плотностью нейрофибриллярных волокон и клубков, а также с утратой синапсов [16].

Одна из гипотез возникновения БА базируется на интрацеребральном отложении патогенных нано-A β , что характерно, однако, далеко не для всех случаев БА. Для дифференциации молекул A β с физиологической конформацией (фA β) от молекул-частиц A β с модифицированной конформацией введена аббревиатура “нано-A β ” для отличия этих двух продуктов β -процессинга APP. Интрацеребральное отложение патологического нано-A β [17, 18], помимо БА, возможно при синдроме Дауна, врожденных церебральных гематомах с амилоидозом фамильной формы и нормальном старении [19]. Нано-A β является нерастворимым фрагментом большого трансмембранного гликопротеина, или APP. Механизм отложения нано-A β в настоящее время неизвестен. Согласно одной из предлагаемых гипотез, это обусловлено точечной генной мутацией, в результате которой образуется патологический A β [17, 20]. Некоторые авторы придают важное значение возникающим при БА факторам, приводящим к переходу растворимого A β в нерастворимый нано-A β . К ним, в частности относятся, сдвиг pH

межклеточной среды в кислую сторону, недостаточность процессов митохондриального окисления, повышение содержания свободных радикалов. Показано также, что при БА имеет место снижение активности лизосомальных гидролаз [21], что, в свою очередь, может быть причиной нарушенной резорбции Аβ. По нашему мнению, данные факты можно трактовать с точностью до наоборот. В некоторых публикациях, посвященных патоморфологии БА, приводятся противоположные результаты, подтверждающие нашу точку зрения [22]. Хорошо известно, что фибриллярный амилоид откладывается на стенках церебральных сосудов и в паренхиме головного мозга в виде так называемых “сенильных бляшек”. Отложение амилоида приводит к гибели нейронов, находящихся рядом с сенильными бляшками. Одна из гипотез, объясняющих этот феномен, – активация Аβ кальциевых нейрональных каналов (с возрастанием содержания внутриклеточного кальция) и развитие свободнорадикального окисления нейрональных мембран [23]. Другие авторы [24] предполагают, что нейрональная и ненейрональная гибель клеток при БА – результат экспрессии генов-индукторов апоптоза за счёт воздействия APP и фАβ, что вполне согласуется с активацией NMDA-рецепторов с последующим увеличенным входом Ca^{2+} в клетку и развитием свободнорадикального окисления. Предложена гипотеза о возможности прямого токсического действия Аβ на глиальные структуры. Авторы убедительно показали [25], что при БА макрофаги микроглии активируются в результате предположительно прямого токсического действия фАβ. Данная гипотеза подтверждена другими исследователями [26]. Авторы считают, что результатом активации микроглии может быть деструкция нейронов. В других исследованиях [27] приведены результаты, свидетельствующие о способности активированной микроглии при БА *de novo* синтезировать фАβ, что, соответственно, может обеспечить цикличность и прогрессиентность патологического процесса. Однако авторы не уточняют, каким образом осуществляется этот синтез фАβ. Другим характерным морфологическим признаком БА являются интранейрональные нейрофибриллярные сплетения (ИНФС) [28, 29], состоящие в основном из гиперфосфорилированного тау-белка (ТБ). Нейрофибриллярные сплетения не являются в строгом смысле морфологическим критерием БА; их наличие описано при различных церебральных дегенерациях (фронтотемпоральная атрофия, прогрессирующий надъядерный паралич и др.) [30]. Некоторые исследователи в настоящий момент отрицают самостоятельную патогенетическую значимость ТБ и считают что, скорее всего, нейрофибриллярные сплетения являются следствием массивной и генерализованной смерти клеток мозга [31]. Однако большинство исследователей считают, что гиперфосфорилирование ТБ вызывает транспортный коллапс в нейроне и последующую гибель нейрона [32, 33].

Анализ возможных причин заболевания БА, предложенных разными авторами на протяжении наиболее активного периода исследований в этой области, позволяет выделить три основные конкурирующие гипотезы. На начальных этапах исследований господствовала “холинергическая гипотеза” [34], согласно которой БА вызывается снижением синтеза нейромедиатора ацетилхолина. На этой гипотезе основано большинство существующих методов терапии, которые имеют невысокую эффективность. В 1991-95 годах была предложена “амилоидная гипотеза” [16], основанная в основном на генетических исследованиях [20], согласно которой базовой

причиной заболевания являются отложения Аβ. В более поздних исследованиях различные авторы не обнаружили достоверной корреляции накопления бляшек с потерей нейронов. На этом фоне была сформирована тау-гипотеза [29, 32], согласно которой каскад метаболических нарушений запускается гиперфосфорилированием ТБ и образованием из него нитей, которые начинают объединяться между собой, образуя нейрофибриллярные конгломераты в нервных клетках. Это вызывает дезинтеграцию микротрубочек и блокирует транспорт метаболитов практически всех метаболических систем в нейронах. Вовлечение в патологический процесс нейрональных отростков с их синапсами приводит к нейротрансмиссерному дефициту. Все эти события приводят к транспортному коллапсу, амилоидозу нейрона и его гибели [32, 33].

Клинические исследования БА показали, что основу патоморфологической картины БА составляют церебральный амилоидоз интра- и экстрацеллюлярной (преимущественно околососудистой) локализации, внутриклеточные нейрофибриллярные сплетения и гибель нейронов. Данные морфологические изменения образуются в определенной последовательности в разных отделах головного мозга, начиная с медиобазальных отделов лобных долей (т.н. “анторинальная кора”), осуществляющих холинергическую медиацию задних отделов головного мозга [35]. Затем эти морфологические изменения распространяются на область гиппокампа, амигдаллярного ядра и медиальных отделов височных долей. Характерным для этой стадии, помимо описанных выше изменений, является достоверное снижение числа и плотности нейрональных синапсов в области гиппокампа [36]. Авторы считают, что такое распространение патологического процесса может быть объяснено высоким уровнем энергетических процессов в указанных областях головного мозга.

Таким образом, разные исследователи характеризуют БА двумя, на первый взгляд, абсолютно не связанными друг с другом, явлениями, протекающими независимо друг от друга: во-первых, в межнейрональном пространстве на поверхности капилляров, в районе синапсов откладываются амилоидные сенильные бляшки и фибриллярные структуры, которые, в конечном итоге, приводят к гибели нейрона; во-вторых, в нейронах накапливаются нейрофибриллярные структуры-клубки и парные фибриллы гиперфосфорилированного ТБ, также способствующие гибели нейрона. Достаточно хорошо изучено, какую роль в патогенезе болезни играет каждый из этих процессов в отдельности, однако отсутствуют убедительные описания причинно-следственной связи между поражаемыми клеточными системами и гибелью нейронов. Нейрофибриллярные клубки и сенильные амилоидные бляшки возникают, казалось бы, независимо друг от друга и систем в целом. Не совсем ясно, что является пусковым звеном указанных патогенетических процессов.

Всестороннее исследование данного феномена позволяет сделать вывод о том, что между возникновением клубков и бляшек (то есть между гиперфосфорилированием ТБ и образованием нано-Аβ) должна быть тесная взаимосвязь. Теоретические исследования и сравнительный анализ многочисленных экспериментальных результатов свидетельствуют, что краеугольным фактором начального процесса патологии амилоидоза нейронов и ранней стадии БА являются особенности белкового синтеза в нейронах, запрограммированные в процессе эволюции центральной нервной системы, и образование порочного круга обоюдной стимуляции – индуцированное Аβ увеличение интенсивности синтеза APP, которое влечёт увеличение концентрации молекул Аβ.

2. ОСОБЕННОСТИ СИНТЕЗА БЕЛКА В НЕЙРОНАХ.

Хорошо известно, что необходимыми метаболитами для биосинтеза белков в клетке являются аминокислоты (АК), АТФ, аминоксил-тРНКсинтетазы (АРС) и тРНК. АРС осуществляют реакцию аминокислирования в два этапа: сначала происходит активирование АК: $АК + АТФ \leftrightarrow АК-АМР + РРi$, где АК-АМР – аминоксиладенилат (он остаётся в комплексе с АРС), РРi – пиролосфат; затем происходит акцептирование АК молекулой тРНК: $АК-АМР + тРНК \leftrightarrow АК-тРНК$, где АК-тРНК – аминоксил-тРНК. На этом этапе АК присоединяется к 2'- или 3'-гидроксильной группе рибозы на 3'-конце молекулы тРНК [37]. Для биосинтеза белка из активированных аминокислот, необходимо участие мРНК, рибосомы и аминоксил-тРНК. Синтез белка в нейронах центральной нервной системы должен незамедлительно реагировать на любые изменения гомеостаза снижением или увеличением интенсивности синтеза белка (по единственному принципу – выживает тот, кто быстрее получит информацию, обработает её и адекватно на неё прореагирует). В процессе эволюционного развития нейронов мозга для синтеза белка в нейронах были созданы особые условия и сняты все ограничения, используемые в биохимических реакциях метаболизма живой материи [38]. Синтез белка в нейронах является основным преобразователем всех эндогенных и экзогенных информационных потоков, и от надёжности этого процесса зависит не только судьба индивида, но существование и процветание популяции в целом. АК являются для нервной ткани источником синтеза большого числа биологически важных соединений, таких как специфические белки, пептиды, нейромедиаторы, гормоны, витамины, биологически активные амины и др. Существенна также их энергетическая значимость, поскольку АК глутаминовой группы связаны с циклом трикарбоновых кислот. Интенсивность биохимических реакций контролируется и ограничивается количеством каждого из субстратов, принимающих участие в реакции. Для белка единственным и самым важным расходным субстратом является АК, и природа позаботилась о том, чтобы активность важного информационного преобразователя не зависела от ограничения АК при продолжительном интенсивном белковом синтезе.

Постоянство качественного и количественного состава АК, АРС и АТФ в метаболических фондах мозга обеспечивается такими взаимосвязанными процессами, как поступление этих метаболитов из циркулирующей крови, отток их из мозга в кровь и участие в реакциях внутриклеточного метаболизма. В центральной нервной системе организма все эти процессы сбалансированы слаженным функционированием гомеостатических механизмов, гематоэнцефалическим барьером и мембранным транспортом АК [38]. Важную роль в поддержании стабильности высоких концентраций метаболитов синтеза белка играет гибель нейронов от апоптоза. Ежедневно головной мозг теряет около 5000000 нейронов из исходного пула в 100 млрд [39]. При этом, в первую очередь, гибнут нейроны, не имеющие функциональной нагрузки. В процессе гибели клеток происходит экспонирование на их поверхность разнообразных молекул (cell-death associated molecules (CDAM)). От сочетания экспонированных CDAM зависит, будет ли ответ организма специфическим или неспецифическим иммунным [40]. Показано, что в условиях апоптоза в межклеточное пространство так же секретируются аминокислоты и АРСазы [41]. При этом некоторые АРСазы начинают выполнять неконотические функции и обеспечивают своевременную ликвидацию продуктов апоптоза [42]. Состав пула свободных АК мозга

при нормальных физиологических условиях достаточно стабилен. АК фонд мозга человека составляет в среднем 34 мкмоль на 1 г ткани, что значительно превышает их содержание, как в плазме крови, так и в спинномозговой жидкости [43]. Изучение конкурентных отношений в транспорте АК выявило наличие в нейронах восьми типов мембранотранспортных систем, имеющих ряд особенностей [38]:

- перенос АК часто происходит против высоких концентрационных градиентов;
- этот процесс энергозависим;
- на него влияют температура и pH среды;
- он ингибируется анаэробным состоянием клеток;
- перенос АК связан с активным мембранным транспортом ионов, например он Na^+ -зависим;
- обнаружено конкурентное торможение мембранного транспорта одних АК другими [38].

Метаболизм глутамата в нервной ткани тесно связан с циклом трикарбоновых кислот (ЦТК) [38]. Это позволяет считать его промежуточным продуктом энергетического обмена. Утилизация глюкозы в мозге в значительной степени происходит через биосинтез и окисление глутаминовой и α -кетоглутаровой кислот. Например, уже через 30 мин после инъекции животным меченой глюкозы, более 70% радиоактивности приходится на долю глутамата и его производных [44].

Расчёты показывают, что процесс синтеза белка идет с освобождением большого количества свободной энергии [45]. Из анализа энергетического баланса выше представленных реакций видно, что обе реакции сами по себе не дают выигрыша свободной энергии (гидролиз в стандартных условиях) и, следовательно, эти реакции не должны протекать с большим сдвигом в сторону синтеза. Если в естественных условиях PPi гидролизует пироглутатазой до ортофосфата в параллельной реакции, то общий энергетический баланс составит $n \times 60$ кДж на 1 моль белка: $n\text{PPi} + n\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2n\text{P} - n \times 30$ кДж/моль.

Не менее важным звеном в нормальном функционировании нейронов является состав и свойства предельно совершенных возбудимых мембран. Эти мембраны жёстко детерминированы их основными функциями – способностью к созданию асимметричного распределения ионов к проведению волны возбуждения. Волны структурной перестройки, волны конформационных изменений в мембране, обеспечивающие проведение возбуждения, с максимальной оптимальностью осуществляются в зоне равной вероятности двух состояний золя и геля – зоне фазового перехода. Скорость распространения возбуждения будет наибольшей при температурах и других условиях, соответствующих зоне фазового перехода липопротеиновых комплексов возбудимых мембран [46].

Особенности температурного режима многоклеточных животных для физиологических процессов подробно были рассмотрены в работах В.Б. Ушакова [47] в которых было показано, что при тепловой инактивации мышц лягушки, сначала инактивируются компоненты возбудимой системы, а затем мышечное волокно гибнет до того, как наступают заметные физико-химические изменения сократительных белков. В другом исследовании [48] показано, что необратимая потеря возбудимости при нагревании мышц лягушки начинается при 36°C с максимумом при 37°C и может продолжаться при повышении температуры до 40°C . О биологическом значении фазовых температурных переходах свидетельствуют и данные работы [49], в которой

авторы описали в системе фосфолипиды-вода резкий фазовый переход в узком диапазоне невысоких температур. Сегодня хорошо изучены температурно-чувствительные мутации (ts-мутации). Исследования показали, что ts-мутации возникают в строго определённом температурном диапазоне окружающей среды.

3. ВЫЯВЛЕНИЕ ПУСКОВЫХ ФАКТОРОВ АМИЛОИДОЗА НЕЙРОНОВ И ПАТОГЕНЕЗА БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА.

В ходе формирования патологического процесса при всех заболеваниях нервной системы, вызванных различными эндогенными и экзогенными нарушениями, нейротрофические факторы сдерживают развитие болезни и способствуют процессам компенсации и регенерации [50]. Природа нашла и пути для ограничения фибрилlogenной конформации белков. В подтверждение этого недавно было показано, что непарные бета-тяжи, имеющиеся в нативных белках, защищаются от образования межмолекулярных бета-листов путём замещения пролиновых и других заряженных аминокислотных остатков [51].

Пусковые факторы БА обусловлены двумя основными причинами. Около 7% случаев заболевания обязаны аутосомно-доминантной наследственности и связаны с мутациями в одной из шести разных хромосом. У людей, имеющих мутации в одном из этих генов, обычно очень рано развивается БА – задолго до 60 лет. Детальный анализ последствий этих генных мутаций определил ключевые пути контроля патогенного прогрессирования этого заболевания. В литературе описано четыре гена, мутации которых связывают с возникновением деменции альцгеймерского типа [52]. При синдроме Дауна трисомия 21 хромосомы приводит к утроению копий гена AD1, повышению в 1,5 раза скорости синтеза APP, задержке развития и прогрессирующему слабоумию к 30-40 годам [53]. Хотя генетические формы БА являются чрезвычайно ценными моделями для выяснения возможных молекулярных механизмов нейродегенерации при БА, следует помнить, что причиной более 90% случаев пусковых факторов БА являются спорадические причины эндогенного и экзогенного характера. Обычно врач сталкивается не с причинами и формой этого заболевания, а с отдельными возрастными проявлениями БА.

Учитывая высокую скорость синтеза белка и большие объёмы белковой продукции, можно предположить, что в нейронах имеют место специализированные транспортные системы, осуществляющие (специфический) транспорт АТР, АК и АРС к месту синтеза белка и транспортирующие из этого района PPi, фосфаты и АМР к митохондриям, где происходит ресинтез АТР. В нормальных физиологических условиях интенсивность синтеза белка может колебаться в широком физиологическом интервале. Однако при различных сверхпороговых воздействиях на нейроны происходит увеличение синтеза белков, на метаболизме которых они специализируются [54]. Если эти воздействия экстремальны, нейроны погибают по одному из сценариев: некроза, апоптоза или амилоидоза. Мы показали характерные отличия [55] гибели нейронов при некрозе, апоптозе и амилоидозе. “Амилоидоз нейронов” начинается с экстремального продолжительного увеличения тотального синтеза белка, в том числе и APP [56, 57]. Экспериментально и в клинике показано, что мозговая травма сопровождается увеличением уровня APP, A β и нейрофибрилярного белка и даже образованием бляшек [58], при этом они, как правило, локализованы в местах нарушенных афферентных связей [59]. В активации выщепления A β из APP при травмах мозга принимает

непосредственное участие каспаза-3, которая связывается со специфическим сайтом на APP [60]. Чрезвычайно интересные данные о повышении уровня мРНК APP и самого APP в коре мозга были получены в экспериментах при разрушении ацетилхолинсинтезирующего ядра Мейнерта и моделировании прекращения поступления к корковым нейронам основных медиаторов – норадреналина, серотонина и дофамина [61]. Авторы приходят к заключению, что индукция синтеза APP в коре является результатом утраты функциональной иннервации со стороны подкорковых структур. И, как следствие, это приводит к повышению концентрации постреакционных молекул A β , которые после взаимодействия с шаперонами выполняют свои физиологические функции, а также по принципу обратной связи дополнительно стимулируют белковый синтез [38, 62]. При этом в зоне синтеза белка увеличивается концентрация свободных фосфатов, PPi и AMP. Таким образом усиление синтеза APP приводит к увеличению количества молекул A β , которые в свою очередь стимулируют синтез APP [38, 62]. Не менее важным для нейронов является процесс постреакционного сворачивания белковой цепи с участием системы шаперонов в конформационную архитектуру нативной молекулы белка, которая только в таком состоянии может выполнять свои уникальные функции [63]. В нормальных физиологических условиях все молекулы A β при участии шаперонов приобретают физиологическую (нормальную) конформацию, выполняют свои функции и по принципу обратной связи поддерживают (на одном уровне) или активируют синтез APP, а затем в ликворе и крови последовательно расщепляются протеолитическими ферментами [64].

На основе экспериментального анализа мы считаем, что при сложившейся ситуации процесс биосинтеза белка выходит из-под контроля нейрона. Это приводит к образованию такого большого количества молекул A β , при котором система сворачивания молекул A β в физиологическую конформацию с помощью шаперонов не справляется со своей задачей. Часть молекул A β минует встречу с шаперонами, оказывается в “свободном плавании”, и сворачивание пептида происходит не по клеточному сценарию, а “диким” образом по законам термодинамики и биохимии, в зависимости от состава окружающей среды, температуры и аминокислотного состава белковой молекулы. Экспериментально показано, что в условиях обратимой денатурации белковая молекула в зависимости от состава окружающей среды (инкубационной среды) и температуры может принимать широкий спектр кратковременных и устойчивых конформационных состояний [65]. Таким образом, образуются конформационно модифицированные “молекулы-частицы нано-амилоиды” (нано-A β). В структуре у этих нано-A β преобладают гидрофобные участки. В связи с этим они плохо растворимы в водных растворах и, как следствие, обладают высокой агрессивностью к взаимодействию с другими молекулами, органеллами и мембранами, и предрасположены к образованию олигомеров нано-A β [65] с разной архитектурой. Они не контролируются нейронами и организмом, и с полным основанием их можно считать частицами нано-A β [21]. Находясь рядом с мембранами нейронов, нано-A β подавляют их физиологические функции, ингибируют работу синапсов и мембранных каналов, угнетают активность митохондрий и других внутриклеточных систем, способствуют развитию окислительного стресса [23]. Эта ситуация может привести к амилоидозу нейрона, а при условии отсутствия периода покоя, в которой происходит восстановление функций всех клеточных систем, не исключена и гибель нейрона [44]. Плохо растворимые мономеры нано-A β обладают высокой

активностью к образованию олигомеров нано-Аβ разной архитектуры [65]. После образования олигомеров нано-Аβ их агрессивность по отношению к окружающим молекулам, органеллам и клеткам пропадает. Олигомеры нано-Аβ фибриллярной конфигурации (архитектуры) не растворимы и образуют предфибриллярные образования, а затем из них формируются синильные бляшки и фибриллы. Олигомеры нано-Аβ с округлой (шаровидной) архитектурой растворимы в водной среде и мигрируют в ликвор, а затем в кровь [65].

Все приведённые выше данные приводят нас к выводу, что разрушенные аксоны, особенно в острой стадии, могут служить источниками резко повышенного локально уровня APP, что, как показывают результаты других исследований, неминуемо сопровождается отщеплением из него бета-амилоида [56]. Однако, существуют данные, что APP может играть нейропротекторную и нейротрофическую роль, а также защищать нейроны от эксайтотоксичности [66-68].

4. ЭНЕРГО-РЕГУЛИРУЮЩИЕ ЗАЩИТНЫЕ МЕХАНИЗМЫ.

Сложные стрессовые ситуации и другие причины, вызывающие в нейроне синтез большого количества белка, в том числе APP, содержащего около 700 аминокислотных остатков (а.о.), могут угрожать гомеостазу нейрона критической температурой. Расчеты только по одной молекуле APP в нормально функционирующем нейроне показали, что при активации одной АК образуется пирофосфат, который в присутствии пирофосфатазы расщепляется на два фосфата и при этом выделяется большое количество энергии, которая диссипирует в виде тепла. При биосинтезе одного моля APP в ограниченном пространстве будет выделяться в виде тепловой энергии около 42000 кДж/моль. Наиболее ранние и грубые патологические изменения метаболизма, а так же снижение числа и плотности нейрональных синапсов и нейронов гиппокампа по мнению ряда авторов [36, 69] может быть объяснено высокими энергетическими процессами в этих областях головного мозга, что, в условиях митохондриальной дисфункции из-за развития свободнорадикального окисления и повышенного содержания внутриклеточного Ca^{2+} , естественно приводит к ранней гибели нейронов именно этих отделов головного мозга. Было также показано, что тепловая стабильность нуклеопротеинов мозга мышей зависит от возраста и растёт по мере старения животного [70, 71]. Для регулирования тепловой стабильности при интенсивном синтезе белка в нейроне должна быть биохимическая защитная система, не допускающая расщепления PPi и диссипации энергии в тепловую. Мы считаем, что эту проблему решают механизмы фосфорилирования транспортных белков APP и ТБ, которые обеспечивают эвакуацию фосфатов и, вероятно, пирофосфатов из зоны биосинтеза белка на периферию к клеточным мембранам или к митохондриям для дальнейшей утилизации в процессе дефосфорилирования. Хорошо известно, что большинство биохимических процессов, таких как фосфорилирование, ацетилирование и метилирование обратимы [72].

5. БЕЛКИ ПРЕДШЕСТВЕННИКИ АМИЛОИДОВ.

APP входит в семейство интегральных мембранных белков, в котором представлены также APLP1 и APLP2, которые обладают высокой степенью гомологии с APP, но не содержат последовательности Аβ [73-75]. Хотя клеточные функции семейства APP до сих пор остаются не вполне понятными, существуют данные о том, что все три белка вовлечены в аксонный транспорт и необходимы для нормального развития нервной системы

млекопитающих [76]. При этом в мембраносвязанном состоянии APP могут выполнять сигнальную рецепторную функцию в процессе нейрогенеза [77, 78] и принимать участие в образовании и поддержании синапсов и увеличении синаптической плотности [79, 80]. Белки семейства APP (695-770 АК) состоят из гидрофильного N-концевого внеклеточного домена, гидрофобного трансмембранного домена и С-концевого цитоплазматического домена [81] (рис. 1). Сравнение ДНК человека и других млекопитающих показывает высокую степень консервативности гена APP: установлена 100% идентичность APP-695 из мозга человека и обезьян. В нейронах ЦНС доминирует изоформа APP-695, а формы APP-770 и APP-751 присутствуют в следовых количествах [52]. APP синтезируется и гликозилируется в эндоплазматическом ретикулуме, затем переносится в комплекс Гольджи для созревания перед транспортом к клеточной поверхности [82]. Был идентифицирован ряд молекулярных шаперонов, которые принимают участие в данном процессе, в том числе при высокой температуре (HtrA) [82]. Представленные данные косвенно свидетельствуют об участии APP в энергетических процессах нейронов. В норме биологическая функция APP состоит в перемещении клеточного материала внутри нейронов, регуляции синаптогенеза и нейрональной трансмиссии, а также в обеспечении внеклеточной адгезии и миграции [83]. Этот трансмембранный белок играет важную роль в росте нейрона, его выживании и восстановления после повреждений [84]. Молекула APP сразу после синтеза может активно фосфорилироваться [85]. После этого процессинг APP переключается на амилоидный путь (с участием β -секретазы). Фосфорилированный APP продвигается к мембране, где от него отщепляется $A\beta$ (рис. 1). Активация гена DYRK1A способствует фосфорилированию APP по Thr-668 *in vitro* и *in vivo*, которое также приводит к усилению отщепления фрагментов $A\beta$ -пептида от APP [86, 87].

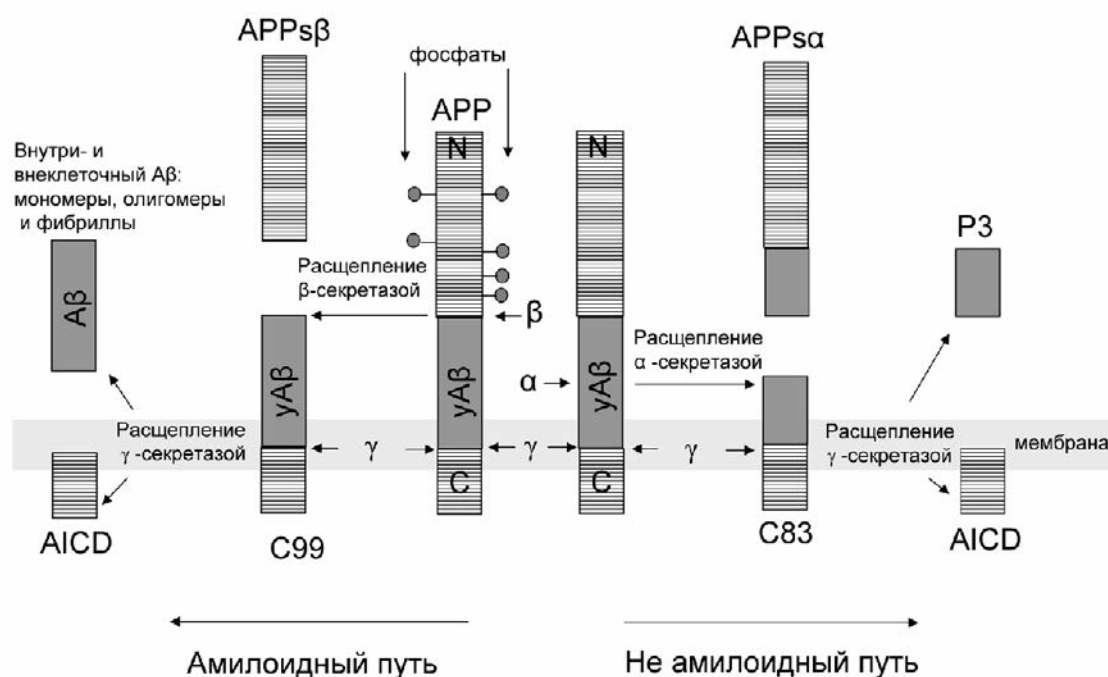


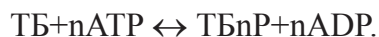
Рисунок 1.

Влияние фосфорилирования белка предшественника амилоида на его последующее процессирование. уA β - участки будущих молекул $A\beta$ в структуре белковой молекулы APP.

6. ТАУ-БЕЛКИ НЕЙРОНОВ.

Другим, наиболее активным и эффективным эвакуатором фосфатов, и, возможно, пирофосфатов из зоны синтеза белка является ТБ. Белковая молекула ТБ является гидрофильным и высоко асимметричным белком. N-концевой фрагмент ТБ взаимодействует с плазматической мембраной и цитоскелетными белками нейрона, принимает участие в сигнальной трансдукции, определяет расстояние между микротрубочками в аксоне и способен регулировать диаметр последнего [88, 89]. Данный фрагмент содержит кислую и богатую пролином области в своем составе. Именно богатая пролином область ТБ интенсивно фосфорилирована в мозге пациентов с БА [90]. В составе N-концевого фрагмента ТБ есть небольшие участки связывания железа и гепарина. С-концевой фрагмент ТБ содержит 3 или 4 тубулин-связывающих домена длиной 31–32 остатка каждый (R) и один кислый регион [86] (см. рис. 2). Установлено, что при активации гепарином GSK3 β усиливается фосфорилирование ТБ по сайтам Ser199, Thr231, Ser235, Ser262, Ser396, Ser400, которые характерны для гиперфосфорилированного ТБ при БА [91]. Ненасыщенные жирные кислоты, входящие в состав фосфолипидов, и ионы металлов, особенно алюминий, также стимулируют полимеризацию ТБ [92, 93]. В настоящее время рассматривается гипотеза о роли так называемых “воспламеняющих” сайтов фосфорилирования ТБ [28]. Речь идет о сайтах, фосфорилирование которых облегчает дальнейшее множественное фосфорилирование молекулы ТБ по аномальным сайтам с образованием гиперфосфорилированного белка. Как правило, “воспламеняющие” сайты в ТБ являются участками взаимодействия с другими внутринейрональными протеинами и, прежде всего, тубулином, которому отводится ключевая роль в липид-белковых комплексах возбудимых мембран [46]. Таким образом, тубулин не только входит в состав трубочек, но является одним из компонентов в составе протоплазмы нейрона, определяющих свойства и характеристики фазового перехода возбудимых мембран. К процессам, принимающим участие в посттрансляционной модификации ТБ, относятся фосфорилирование, убиквитирование, гликирование, гликозилирование, окисление, нитрование, агрегация и др. [94, 95]. В норме ТБ, взаимодействуя с тубулином, скрепляет и стабилизирует микротрубочки [96], обеспечивает перенос в цитоплазме нейронов клеточных органелл и мобильных биохимических молекул [97], регулирует рост аксонов и дендритов [98]. Способность ТБ скреплять микротрубочки отчасти объясняется наличием у него нескольких фосфатных групп (рис. 3). При интенсивном синтезе белка в нейроне в зоне синтеза белка образуется большое количество молекул пирофосфата и АМР. Пирофосфат может подвергаться гидролизу пирофосфатазой с образованием двух молекул фосфата, а выделяющаяся при этом энергия рассеивается в виде тепла. Молекулы ТБ при участии киназ присоединяют молекулы фосфатов в зоне синтеза белка и способствуют эвакуации этих фосфатов к митохондриям. Возможно, что аналогично осуществляется транспорт молекул АМР из зоны синтеза белка к митохондриям для восстановления в АТР. При продолжительном интенсивном синтезе белка в зоне синтеза температура может повышаться до определенного значения, при котором возникает вероятность присоединения нескольких молекул фосфатов к различным сайтам молекулы ТБ. Аксоногенез также регулируется уровнем фосфорилирования ТБ, при этом образуется градиент степени фосфорилирования молекул ТБ вдоль растущего аксона. Было убедительно показано, что в теле нейрона в основании аксона ТБ фосфорилирован по Ser199/202 и Thr205 на 80%,

тогда как в конусе роста аксона только на 20% [99]. Эти результаты чётко свидетельствуют о том, что в центральных зонах нейрона молекулы ТБ полифосфорилируются, а затем по мере перемещения ТБ от центра нейрона, фосфаты утилизируются. Процесс блокирования пирофосфатов имеет для нейрона важное значение, так как изымает из энергетического обращения энергоёмкие молекулы и предотвращает повышение температуры в нейронах. Таким образом, формулу полифосфорилирования ТБ можно записать в виде:



В ряде обзоров описаны варианты предотвращения гидролиза пирофосфатов пирофосфатазой в разных организмах [100-102]. В нейронах, по нашему мнению, этот процесс протекает следующим образом:



Рисунок 2.

Схема доменной структуры 6 изоформ тау-белков.

E2, E3 и E10 - экзоны N-концевого и C-концевого фрагментов белка.

Повторы R1-R4 в молекулах ТБ, содержащие дополнительные сайты, способны связывать фосфаты и АМФ для транспорта из зоны синтеза белка к митохондриям.

aa - число аминокислотных остатков в изоформах ТБ. Адаптировано из [140].

Огромную роль в изучении патогенеза БА занимают исследования генетики ТБ. ф-Ген располагается на 17 хромосоме (17q21 локус) и содержит по крайней мере 16 экзонов [103, 104]. В настоящее время для т-гена выявлен полиморфный динуклеотидный повтор в 9 интроне и 8 одинарных нуклеотидных полиморфизмов [105, 106]. Первичный эффект интронных мутаций т-гена, находящихся рядом со сплайс-донорским участком, обусловлен изменением соотношения изоформ ТБ с различным количеством повторов, при этом имеет место преобладание изоформ с 4 повторами [107, 108]. Была выявлена роль ещё одного фермента

в гиперфосфорилировании ТБ. Речь идет о тирозин фосфорилирующей регуляторной киназе 1А с двойной специфичностью (DYRK1A). Ген DYRK1A локализован на той же 21 хромосоме, что и ген APP. С этим ассоциирует наличие интранейрональных нейрофибриллярных сплетений (ИНФС) одновременно с внеклеточными сенильными бляшками агрегированного Аβ при трисомии 21 хромосомы (у пациентов с синдромом Дауна), либо при увеличении копий отдельных генов данной хромосомы (болезнь Альцгеймера) [109, 110]. В мозге человека идентифицировано 6 изоформ ТБ (45-65 кДа) длиной 352-441 а.к. остатков, экспрессирующихся в результате альтернативного мРНК-сплайсинга 2, 3 и 10-го экзона (рис. 2). Изоформы ТБ отличаются наличием трёх (R2, R3, R4) или четырёх (R1, R2, R3, R4) повторяющихся участков в С-концевом фрагменте молекулы белка и наличием либо отсутствием одной из двух вставок (E2 и E3) в N-концевом фрагменте. Для ТБ характерна биохимическая гетерогенность в различных субпопуляциях нейронов [111]. Самая длинная изоформа ТБ (441 АК) содержит 80 остатков серина и 5 остатков тирозина, поэтому 20% молекулы потенциально может быть фосфорилировано [112]. Изоформы ТБ при разных заболеваниях регистрируются в разных сочетаниях. В частности, при БА идентифицирован триплет ТБ (изоформы тау 55, 64 и 69 кДа), являющийся основной составляющей ИФНС. Все они образуются в результате гиперфосфорилирования. В норме для различных изоформ ТБ выявлены специфические участки фосфорилирования. Однако при БА наблюдается неспецифическое гиперфосфорилирование целого ряда изоформ ТБ по аномальным сайтам [113]. Изоформы ТБ с экзоном 10 содержат 2 цистеиновых остатка, без этого экзона – только один. Это предполагает возможность формирования димеров белка за счёт образования межмолекулярных дисульфидных связей. Возможно, что окисление сульфгидрильных групп в данном белке может вносить свой вклад в его агрегацию. В нейрофибриллярных сплетениях при БА обнаружены все 6 изоформ гиперфосфорилированного ТБ, которые при электрофоретическом разделении дают 3 основные полосы, соответствующие белкам с молекулярным весом 68, 64 и 60 кДа [114]. Недавно обнаружена изоформа ТБ, представленная в ядре нейронов и других клеток. Она колокализуется с ядерным белком нуклеолином и АТ-богатым участком α-сателлитной ДНК и представлена в конститутивном хроматине. Авторы предполагают, что ядерный ТБ принимает участие в структурировании ядра и гетерохроматинизации отдельных рибосомальных генов [115]. ТБ может быть фосфорилирован в 30 сайтах, при этом в норме на 1 моль этого белка приходится 2-3 моля фосфатных групп, тогда как у гиперфосфорилированной изоформы – от 5 до 9 молей фосфатов [86, 113].

Эти результаты убедительно демонстрируют ситуацию, когда сайты фосфорилирования присоединяют в норме по одному фосфату. В случае высокой интенсивности синтеза, эти же сайты могут присоединять несколько фосфатов. Также показано, что N-гликозилирование характерно для гиперфосфорилированного ТБ, тогда как О-гликозилирование – для немодифицированного ТБ [116, 117]. Предполагается, что фосфорилирование и О-гликозилирование этого белка играет роль в его ядерной локализации, а N-гликозилирование гиперфосфорилированного ТБ способствует транспорту этих комплексов к мембране нейрона.

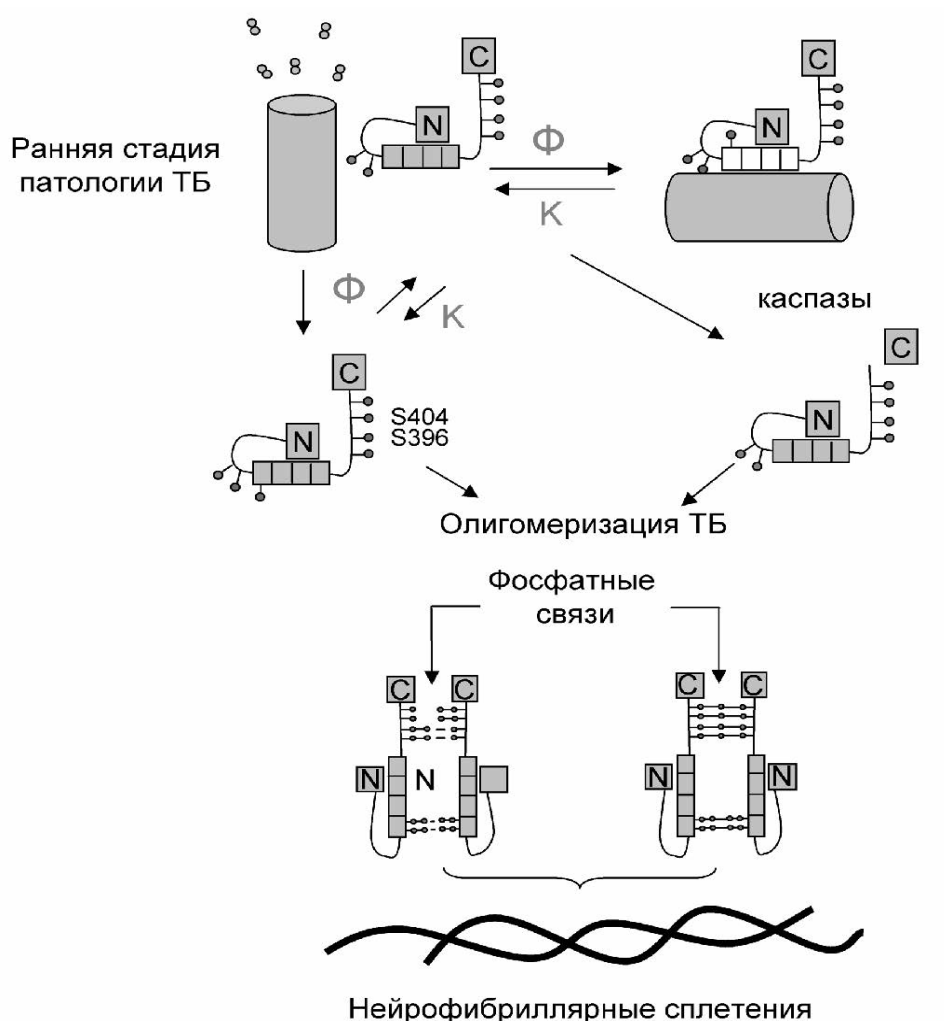


Рисунок 3.

Схема участия сайт-специфического гиперфосфорилирования (Ser404 и Ser396) и каспазного расщепления ТБ в процессе агрегации с образованием нейрофибриллярных сплетений. Принятые обозначения на рисунке: К – киназы, Ф – фосфатазы, N- и C- – концы молекулы ТБ. Цилиндр – микротрубочка.

7. ОБРАЗОВАНИЕ НЕЙРОФИБРИЛЛЯРНЫХ СПЛЕТЕНИЙ ИЗ ГИПЕРФОСФОРИЛИРОВАННЫХ ТАУ-БЕЛКОВ.

При исследовании мозга пациентов, умерших от БА, кроме сенильных бляшек обычно обнаруживают интранейрональные нейрофибриллярные сплетения (ИНФС) [28, 29]. При электронной микроскопии они имеют вид парных спирально скрученных нейрофиламентов в цитоплазме нейронов, которые состоят из гиперфосфорилированных ТБ. При этом один фосфат присоединяется к одной молекуле ТБ, а второй фосфат потенциально готов вступить в реакцию с другой молекулой ТБ. При определенной ситуации другая молекула ТБ присоединяет этот фосфат и образуется димер, соединённый фосфатным мостиком [100].

Логичная гипотеза о роли фосфорилирования в формировании ИНФС из ТБ была сформулирована в 2005 году [118]. В соответствии с представлениями этих авторов, молекулы ТБ образуют гомоагрегаты, в основном посредством доменов, которые взаимодействуют с тубулином микротрубочек (рис. 3). Гиперфосфорилирование ТБ нейтрализует данные

домены, облегчая агрегацию и формирование ИНФС. Экспериментально было доказано, что фосфорилирование ТБ по сайтам Thr231 и Ser262 существенно снижает его взаимодействие с тубулином микротрубочек [94, 96]. Некоторые авторы считают фосфорилирование необходимым, но недостаточным условием для полимеризации ТБ [119]. Сайт-специфическое фосфорилирование ТБ сопровождается его расщеплением каспазой-3 по сайтам Ser422 и Ser396/404 [120, 121]. Укороченные и гиперфосфорилированные молекулы этого белка существенно активнее формируют нейрофибриллярные сплетения. Описанное расщепление белка по Glu391 и деамидирование по АК-остаткам аспарагина (или глутамина) также способствуют агрегации [122]. Токсичность гиперфосфорилированного ТБ, по аналогии с Аβ, ассоциируют с короткими олигомерами и небольшими агрегатами, а не с крупными нейрофиламентами [123]. На нейронах мышей было продемонстрировано отсутствие токсического эффекта фАβ в условиях нокаута τ -гена и нейротоксичность псевдофосфорилированного экзогенного ТБ [124, 125]. По нашему мнению, добавление фАβ в условиях нокаута τ -гена не вызывает коллапса, так как фАβ стимулирует синтез белка в нейронах, у которых нет ТБ, поэтому не происходит гиперфосфорилирования ТБ и последующего коллапса. Убедительно показано, что при избыточной экспрессии ТБ нарушается аксональный транспорт в нейронах. Угнетаются быстрый кинезинзависимый антероградный транспорт в связи с блоком микротрубочек и медленный ретроградный транспорт, поскольку нейрофиламенты тяжелых цепей и ТБ конкурируют за взаимодействие с С-концевым фрагментом тубулина [97, 126]. ТБ транспортируются в основном медленным аксональным путём, при этом их избыток нарушает связь микротрубочек и нейрофиламентов, приводя к накоплению последних в аксоне. Очень интересные результаты были получены большой группой исследователей на культурах нейронов, нокаутных по ТБ (Tau^{-/-}) и нейронах дикого типа (Tau^{+/+}) [127]. Авторы исследовали транспорт митохондрий и TrkA-рецепторов от синапса к телу клетки (ретроградное движение) и от тела клетки к синапсу (антероградное движение). Установлено, что прибавление Аβ “вызывает транспортный коллапс” у Tau^{+/+} нейронов дикого типа (содержащих ТБ), но не у Tau^{-/-} нейронов, не содержащих ТБ. Авторы не обсуждают, каким образом осуществляется эта связь, если Аβ не участвует в процессах фосфорилирования белков. В данной ситуации добавление Аβ вызывает интенсивный синтез белка в нейронах. Поэтому в нейронах дикого типа ТБ начинают активно фосфорилироваться в зоне синтеза белка и при длительном воздействии Аβ в нейронах начинается развиваться процесс гиперфосфорилирования, а затем транспортный коллапс.

8. СБОЙ ЗАЩИТНЫХ МЕХАНИЗМОВ.

Экспериментально показано, что на определённом этапе фосфорилирования ТБ растворимость белковой молекулы уменьшается, возникают зоны “застоя”, он начинает накапливаться в нейроне, нити белка связываются между собой дифосфатными мостиками, “слипаются” в нейрофибриллярные клубки и разрушают транспортную систему нейрона [128]. Некоторые исследователи считают, что нити гиперфосфорилированного ТБ начинают объединяться между собой путём образования дифосфатных связей, образуя в итоге нейрофибриллярные клубки внутри нервных клеток [129]. Всё это вызывает дезинтеграцию микротрубочек и коллапс транспортной системы внутри нейрона [32], приводит к нарушению биохимической передачи сигналов между клетками, а затем и к гибели самих клеток [33]. Ненасыщенные жирные кислоты фосфолипидов и ионы металлов,

особенно алюминий, также стимулируют полимеризацию ТБ [92, 93]. Другие авторы показали, что регуляторная тирозинкиназа 1A (DYRK1A) с двойной специфичностью [130] катализирует автофосфорилирование по Tyr-321 и фосфорилирует ТБ в положениях Thr212, Ser202 и Ser404 [131]. В модуляции уровня фосфорилирования ТБ *in vivo* кроме киназ принимают участие фосфатазы; а именно PP1, PP2A и PP2B (кальцинеурин) [131]. Оказалось, что PP2A-фосфатаза действует на наибольшее число сайтов фосфорилирования и связывается с участком ТБ, ответственным за взаимодействие с тубулином [132]. Экспериментальные исследования условий дезорганизации цитоскелета нейрона выявили развитие гипоксии и оксидативного стресса, которое авторы объясняют тем, что в митохондриях, лишенных бесперебойной “адресной” доставки по микротрубочкам субстратов окисления и кислорода, наблюдается разобщение дыхательной цепи, угнетение синтеза АТФ и активация свободнорадикального окисления активными формами кислорода [133]. Мы полагаем, что это является следствием повышения интенсивности синтеза белка и перегрузкой защитных систем нейрона. Происходит гиперфосфорилирование ТБ, образование между молекулами ТБ дифосфатных мостиков и формирование двойных спиральных цепочек, которые заполняют микротрубочки и блокируют доставку к митохондриям фосфатов, АМР и других компонентов, необходимых для синтеза АТФ. Агрегация ТБ *in vitro* с образованием ИНФС была отмечена при их инкубации с мочевиной, незтерифицированными жирными кислотами, тРНК, гепарином, гепаринсульфатом или полиглутаминовой кислотой [134]. Нейрофибриллы действительно образуют в мозге пациентов с БА плотные спиральные переплетения с микрофибриллами ТБ, который представляет собой белок, связывающийся с микротрубочками в теле и отростках нейрона. Однако оказалось, что нейрофибриллы ТБ неспецифичны для БА. Они обнаруживаются и при других нейродегенеративных заболеваниях в нейронах различных отделов мозга, в которых ТБ выполняют аналогичные защитные функции. Эти заболевания получили название таупатии. Выпадая в виде нейрофибрилл, ТБ теряет свою функцию и приобретает нейротоксические свойства. Менее изучены сайты фосфорилирования, участвующие в процессах фибриллообразования. Известно, что фосфорилирование Thr231 существенным образом снижает способность ТБ взаимодействовать с тубулином микротрубочек [135]. Напротив, фосфорилирование по Ser396 и Ser404 оказывает незначительный эффект [136]. Уровень ИНФС в нейронах гиппокампа непосредственно коррелирует со степенью выраженности деменции при БА [86]. ИНФС присутствуют преимущественно в телах тех нейронов, дегенерирующие аксоны которых находятся в области сенильных бляшек. Основной структурной составляющей нейрофибриллярных сплетений является гиперфосфорилированный ТБ. Интересные данные получены при исследовании взаимосвязи различных метаболических процессов с процессингом Аβ и ТБ. Установлено, что олигомеры нано-Аβ провоцируют нарушение функций циклинзависимой киназы 5 (Cdk5) и изоформы киназы гликогенсинтазы-β (GSK3β) [137, 138], что вызывает гиперфосфорилирование ТБ и деполимеризацию тубулина микротрубочек [139]. В норме ТБ идентифицированы исключительно в нейронах, в условиях патологии – обнаруживаются также в нейроглии [140]. В норме для различных изоформ ТБ выявлены специфические участки фосфорилирования. При БА наблюдается неспецифическое гиперфосфорилирование целого ряда изоформ тау по аномальным сайтам [113].

9. РОЛЬ ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ ТРАНСПОРТНЫХ БЕЛКОВ В НЕЙРОНАХ.

Высокие концентрации фосфатов в зоне синтеза белка в свою очередь способствуют фосфорилированию APP, активации β -секретазы и переключению процессинга APP на амилоидный путь [141]. Это приводит к образованию дополнительного количества фА β , которые в свою очередь дополнительно стимулируют синтез APP, возникший “самостимулирующий цикл” замыкается и, как следствие, приводит к неконтролируемому нарастанию количества нано-А β [142]. Таким образом, механизм фосфорилирования транспортных белков играют в клетке как физиологическую, так и патологическую роль (рис. 4). В качестве физиологического эффекта важно отметить участие этих белков в эвакуации фосфатов, можно упомянуть стимуляцию роста нейритов [143], регуляцию аксонального транспорта [144] и управление динамикой сборки и поддержание стабильности микротрубочек [97] у нормально фосфорилированного ТБ. Гиперфосфорилирование этого белка по аномальным сайтам приводит к агрегации с образованием токсичных олигомеров [145] и выходом ТБ из микротрубочек с дальнейшей дезорганизацией последних [146], что в результате способствует блокаде транспортных путей в нейроне, развитию транспортного коллапса и гибели нейрона [126]. Дискуссия относительно первичности роли олигомеров А β или ТБ в патогенезе БА привела некоторых исследователей к следующим обобщениям. Генетические предпосылки БА проявляются агрегацией избытка А β_{1-40} в олигомеры, которые блокируют пресинаптическую мембрану. Это вначале приводит к “молчанию” нейрона и разрыву в сети нейрональной передачи сигнала, а затем токсичный эффект А β обуславливает подавление функций митохондрий, мембранных рецепторов, индуцирует развитие оксидативного стресса и разрушение цитоскелета и инициирует гибель нейрона [133]. В данной гипотезе не представлен механизм токсического влияния нано-А β на процесс интранейронального гиперфосфорилирования ТБ и его агрегацию. Многие авторы финалом указанных событий считают апоптоз, но при этом никто не описывает классическую картину генетически запрограммированной гибели нейронов. Ранее мы провели сравнительный анализ картин гибели нейронов от некроза, апоптоза и амилоидоза и показали, что по всем важным параметрам они резко отличаются [55, 65]

Любопытно, что при БА и других нейродегенеративных заболеваниях с таупатией в периферической нервной системе исследователи не обнаруживают агрегацию ТБ и объясняют этот феномен присутствием добавочного экзона 4A в молекуле ТБ периферических нейронов, что предотвращает его самоассоциацию [147]. Однако, другие факты показывают, что причиной отсутствия агрегации ТБ в периферической нервной системе является низкая интенсивность синтеза белка, и, следовательно, пониженная активность защитных процессов, связанных с эвакуацией фосфатов. Патологическое фосфорилирование ТБ при БА может быть следствием не только гиперактивности киназ, но и недостаточности фосфатаз (например, PP2A). К гипоактивности фосфатаз причастны такие метаболиты, как гомоцистеин, витамин B12, витамин B6 и др. [148]. Формируясь в нейрофибриллы, ТБ теряет свои физиологические функции и приобретает нейротоксические свойства. В норме “деполимеризация” фибрилл происходит под действием киназ – ферментов, переносящих фосфатные группы от АТР на белки. Фосфорилирование ТБ с помощью фосфатаз приводит к образованию депозитов ТБ, утере белком присущей ему функции, агрегации и нейродегенерации.

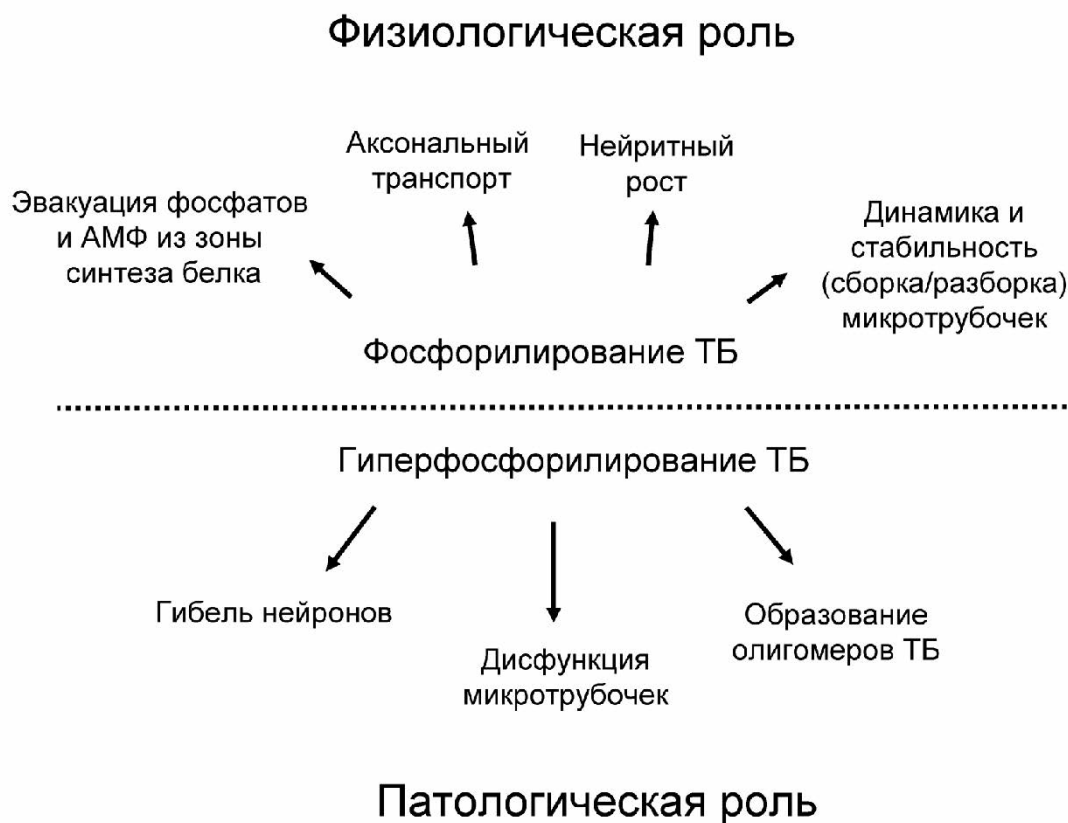


Рисунок 4.

Физиологическая и патологическая роль фосфорилирования ТБ в нейроне.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. На основании анализа большого блока экспериментальных и клинических исследований мы представили описание начальных этапов физико-биохимических событий в нейронах, которые являются пусковыми факторами развития амилоидоза нейронов и раннего патогенеза БА. Продолжительные стрессовые ситуации и информационное давление на организм сопровождаются интенсивным синтезом белка в нейронах (см. главу 3). В зонах активного синтеза белка накапливаются побочные продукты синтеза белка: молекулы АМР и пирофосфатов. Пирофосфаты могут при гидролизе выделять большое количество энергии, которая рассеивается в виде тепловой энергии, и может негативно влиять на нейрон. Фосфорилирование постсинтетических молекул APP переключает процессинг APP на амилоидный путь при участии β -секретазы. Эти события вызывают эвакуацию из зоны синтеза белка фосфатов, блокируют гидролиз пирофосфатов и увеличивают концентрацию постреакционных молекул А β . ТБ также принимает участие в эвакуации фосфатов и ингибировании гидролиза P P_i , доставляя к митохондриям фосфаты, а также другие компоненты, необходимые для синтеза АТФ. При участии шаперонов молекулы А β приобретают физиологическую конформацию фА β , выполняют “свои” присущие им функции, и в определённой ситуации индуцируют дополнительный синтез APP в нейроне. В исключительных случаях процесс может выйти из-под контроля: фА β индуцируют дополнительный синтез APP, как следствие фосфорилированный APP при процессировании увеличивает

количество молекул Аβ. При высокой концентрации фАβ может индуцировать дополнительный синтез APP в соседних нейронах и провоцировать в них развитие аналогичных патологических процессов. При высоких концентрациях фрагментов Аβ часть из них, минуя шапероны, приобретают “дикую” коформацию нано-Аβ. Увеличение продукции молекул Аβ предопределяет процессирование мономерных нано-Аβ, которые негативно воздействуют на синапсы и мембраны нейронов, а также образуют олигомеры нано-Аβ разной архитектуры: фибриллярные, выпадающие в виде фибрилл и бляшек, или округлые. Прогрессирующее поражение синапсов и клеточных мембран вызывает дисфункцию митохондрий [149], ведёт к нарушению ионного обмена нейронов, что вызывает генерирование реактивных радикалов и окислов, формирующих оксидативный стресс [150]. При продолжительном отсутствии восстановительного периода покоя в нейроне происходит перегрузка защитных систем, которая вызывает изменения условий эвакуации фосфатов и других метаболитов из зоны синтеза белка. Перегрузка ТБ фосфатами приводит к гиперфосфорилированию ТБ, образованию между молекулами ТБ дифосфатных мостиков [151] и формированию двойных спиральных цепочек, которые заполняют микротрубочки и препятствуют доставке к митохондриям исходных компонентов, необходимых для синтеза АТФ. Это дополнительно вызывает дисфункцию митохондрий, липидного и углеводного обмена, образование нейрофибриллярных клубков внутри нервных клеток, коллапс транспортной системы внутри нейрона, а затем и гибель нейронов. Таким образом, причиной гибели нейронов являются вторичные внутринейронные метаболические изменения.

Подводя итоги можно констатировать, что процесс образования межклеточных бляшек, фибрилл и волокон является приспособительной реакцией организма для сохранения функциональной активности основных рефлекторных процессов при утрате биохимических межнейронных контактов. Исследование мощной экспериментальной базы позволило выявить значительные изменения нейробиологического каскада в нейронах при начальном развитии амилоидоза нейронов в латентной стадии БА, которые вызывают вторичные внутринейронные изменения метаболического и структурного характера и демонстрируют мультифакторность патологического процесса. Мы согласны с мнением большинства исследователей, что для определения начальных этапов амилоидоза нейронов и диагностики латентной стадии БА наиболее надежными маркерами являются Аβ [152, 153] с физиологической конформацией и конформационно модифицированные нано-Аβ, а также гиперфосфорилированный ТБ [15, 154]. Успешно разрабатываются биомаркеры для определения ключевых фаз развития патологии БА и контроля эффективности терапии этого заболевания [155].

Наши выводы убедительно показывают, что все вышеописанные процессы протекают параллельно. При этом нейроны максимально используют все защитные ресурсы клетки, чтобы избежать гибели. Полученные результаты предлагают новые подходы к разработке молекулярной диагностики БА и открывают новые перспективы поиска оптимальной патогенетической терапии БА.

Авторы глубоко признательны профессору С.Э. Шнолю и Д. Харакозу за советы по некоторым важным вопросам физико-химического строения и проводимости возбудимых мембран нейронов и ценные советы, а также Б.А. Каурову за плодотворное обсуждение.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 11-04-00763), при поддержке Российской академии наук (программы “Молекулярная и клеточная биология” (01200959110) и “Фундаментальные науки – медицине”) и Минобразования и науки РФ (Государственный контракт от 24 июня 2011 г. №16.512.11.2204).

ЛИТЕРАТУРА

1. Sallow A., Mintzez J., Weiner M., Cummings J. (2008) J. Alzheimer's Dementia, **4**, 65-79.
2. Мальцев А.В., Галзитская О.В. (2010) Биомед. химия, **56**, 624-638.
3. Low L.F., Anstey K.J. (2009) J. Alzheimer's Dementia, **5**, 43-49.
4. Meek P.D., McKeithan K., Schumock G.T. (1998) Pharmacotherapy, **18**(2 Pt 2), 68-73.
5. Wimo A., Johnson L., Winblad B. (2006) Dement. Geriatr. Cogn. Disord., **21**(3), 175-182.
6. Гаврилова С.И., Колыхалов И.В., Федорова Я.Ф., Селезнева Н.Д., Калын Я.Б., Рощина И.Ф., Одинак М.М., Емелин А.Ю., Кашин А.В., Густов А.В., Антипенко Е.А., Коришанова Ю.А., Давыдова Т.А., Месслер Г. (2010) Ж. Неврол. Психиатр., **110**(1), 62-69.
7. Герасимов Н.П. (2000) Соц. Клин. Психиатр. №2, 35-40.
8. Белоусов Ю.Б., Медников О.Н., Чукина Е.С. (2005) Фармакоэкономические аспекты лечения деменции в РФ. Рус. Мед. Журн., **13**(20), 1354-1348.
9. Lehtimäki T., Pirttilä T., Mehta P.D., Wisniewski H.M., Frey H., Nikkari T. (1995) Hum. Genet., **95**(1), 39-42.
10. Williams K.R., Pye V., Saunders A.M., Roses A.D., Armati P.J. (1997) Neurobiol. Dis., **4**(1), 58-67.
11. Ma S.L., Pastorino L., Zhou X.Z., Lu K.P. (2012) J. Biol. Chem., **287**(10), 6969-6973.
12. Li W.Z., Li W.P., Huang D.K., Kan H.W., Wang X., Wu W.Y., Yin Y.Y., Yao Y.Y. (2012) Behav. Brain. Res., **227**(1), 142-149.
13. Погаев Е.И. (1999) Болезнь Альцгеймера и старение: от нейробиологии к терапии. М. НЦПЗ РАМН, с. 83-86.
14. Hardy J., Allsop D. (1991) Trends Pharmacol. Sci., **12**(10), 383-388.
15. Mudher A., Lovestone S. (2002) Trends Neurosci., **25**(1), 22-26.
16. Braak H., Braak E. (1996) Acta Neurol. Scand. Suppl., **165**, 3-12.
17. Lannfelt L., Basun H., Vigo-Pelfrey C., Wahlund L.O., Winblad B., Lieberburg I., Schenk D. (1995) Neurosci. Lett., **199**(3), 203-206.
18. Southwick P.C., Yamagata S.K., Echols C.L., Higson G.J., Neynaber S.A., Parson R.E., Munroe W.A. (1996) J. Neurochem., **66**(1), 259-265.
19. Fisher G.H., Petrucelli L., Gardner C., Emory C., Frey W.H. 2nd, Amaducci L., Sorbi S., Sorrentino G., Borghi M., D'Aniello A. (1994) Mol. Chem. Neuropathol., **23**(2-3), 115-124.
20. Yanagisawa K., Ihara Y., Miyatake T. (1992) Neurosci. Lett., **144**(1-2), 43-45.
21. Smyth M.D., Cribbs D.H., Tenner A.J., Shankle W.R., Dick M., Kesslak J.P., Cotman C.W. (1994) Neurobiol. Aging, **15**(5), 609-614.
22. Perlick D., Mattis S. (1994) Alzheimer Dis. Assoc. Disord., **8** (Suppl. 1), 209-213.
23. Wilkinson D. (2001) Int. J. Clin. Pract., **55**(2), 129-134.
24. Anderson A.J., Pike C.J., Cotman C.W. (1995) J. Neurochem., **65**(4) 1487-1498.

25. *McRae A., Ling E.A., Polinsky R., Gottfries C.G., Dahlström A.* (1991) *Neuroscience*, **41**(2-3), 739-752.
26. *Maat-Schieman M.L., Rozemuller A.J., van-Duinen S.G., Haan J., Eikelenboom P., Roos R.A.* (1994) *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, **53**(5), 483-491.
27. *Banati R.B., Gehrmann J., Lannes-Vieira J., Wekerle H., Kreutzberg G.W.* (1995) *Glia*, **14**(3), 209-215.
28. *Avila J., Lucas J.J., Perez M., Hernandez F.* (2004) *Physiol. Rev.*, **84**, 361-384.
29. *Johnson G.V., Bailey C.D.* (2002) *J. Alzheimers Dis.*, **4**, 375-398.
30. *Ksiezak-Reding H., Tracz E., Yang L.S., Dickson D.W., Simon M., Wall J.S.* (1996) *Am. J. Pathol.*, **149**(2), 639-651.
31. *Mori H., Hosoda K., Matsubara E., Shoji M., Maruyama S., Hirai S.* (1995) *Neurosci. Lett.*, **186**(2-3), 181-183.
32. *Iqbal K., Alonso-Adel C., Chen S., Chohan M.O., El-Akkad E., Gong C.X., Khatoon S., Li B., Liu F., Rahman A., Tanimukai H., Grundke-Iqbal I.* (2005) *Biochim. Biophys. Acta*, **1739**(2-3), 198-210.
33. *Chun W., Johnson G.V.* (2007) *Front. Biosci.*, **12**, 733-756.
34. *Geula C., Mesulam M.M.* (1995) *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.*, **2**, 23-28.
35. *Deller T., Frotscher M., Nitsch R.* (1996) *J. Comp. Neurol.*, **365**(1), 42-55.
36. *Bertoni-Freddari C., Fattoretti P., Paoloni R., Caselli U., Meier-Ruge W.* (1997) *Ann. NY Acad. Sci.*, **826**, 479-482.
37. *Ibba M., Soll D.* (2000) *Annu. Rev. Biochem.*, **69**, 617-650.
38. *Ашмарин И.Н.* (2001) *Нейрохимия*. М., Изд-во МГУ, 463 с.
39. *Этинген Л.Е.* (2003) *Нормальная морфология человека старческого возраста*. Москва. С. 192.
40. *Zitvogel L., Keep O., Kroemer G.* (2010) *Cell*, **140**, 798-804.
41. *Wakasugi K., Schimmel P.* (1999) *J. Biol. Chem.*, **274**, 23155-23159.
42. *Wakasugi K., Schimmel P.* (1999) *Science*, **284**, 147-151.
43. *Раевский К.С.* (1988) *Возбуждающие аминокислоты как транслиттеры* Итоги науки и техники ВИНТИ. Сер. "Физиология человека и животных". М., т. 36.
44. *Бехтерева Н.П.* (1988) *Здоровый и больной мозг человека*, Л., Изд-во "Наука", 262 с.
45. *Четверин А.Б., Спиринов А.С.* (1983) *Усп. биол. химии*, **24**, 3-39.
46. *Шноль С.Э.* (1979) *Физико-химические факторы биологической эволюции*. Изд-во "Наука", Москва, 274 с.
47. *Ушаков В.Б.* (1965) *Теплоустойчивость клеток животных*. М.: Наука, с. 5.
48. *Джамусова Т.А.* (1965) *Теплоустойчивость клеток животных*. М.: Наука, с. 61.
49. *Overath P., Trauble H.* (1973) *Biochemistry*, **12**, 2625-2634.
50. *Завалишин И.А., Яхно Н.Н., Гаврилова С.И. (ред.)* (2001) *Нейродегенеративные болезни и старение*. М., с. 242-261.
51. *Johansson J.* (2001) *Biochem. Soc. Trans.* **29**, 601-606.
52. *Ещенко Н.Д.* (2004) *Биохимия психических и нервных болезней*. Санкт-Петербург. Изд-во С.-Петерб. унив.
53. *Stanton L.R., Coetzee R.H.* (2004) *Advances in Psychiatric Treatment*, **10**, 50-58.
54. *Nilsson M.R.* (2004) *Methods*, **34**, 151-160.
55. *Мальцев А.В., Каминский Ю.Г., Розанова Н.А., Байрамов В.М.* (2005) *Нейрохимия*, **22**(2), 97-101.
56. *Smith D.H., Chen X.H., Iwata A., Graham D.I.* (2003) *J. Neurosurg.*, **98**, 1072-1077.

57. *Iwata A., Chen X.H., McIntosh T.K., Browne K.D., Smith D.H.* (2002) *J. Neuropathol Exp Neurol.*, **61**, 1056-1068.
58. *Iwata A., Chen X.H., McIntosh T.K., Browne K.D., Thal D.R., Glas A., Schneider W., Schober R.* (1997) *Acta Neuropathol.*, **94**, 255-265.
59. *Thal D.R., Glas A., Schneider W., Schober R.* (1997) *Acta Neuropathol.*, **94**, 255-265.
60. *Stone J.R., Okonkwo D.O., Singleton R.H., Mutlu L.K., Helm G.A., Povlishock J.T.* (2002) *J. Neurotrauma*, **19**, 601-614.
61. *Wallace W., Ahlers S.T., Gotlib J., Bragin V., Sugar J., Gluck R., Shea P.A., Davis K.L., Haroutunian V.* (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **90**, 8712-8716.
62. *Giasson B.I., Lee V.M., Trojanowski J.Q.* (2003) *Neuromolecular. Med.*, **4**, 49-58.
63. *Narayan P., Meehan S., Carver J.A., Wilson M.R., Dobson C.M., Klennerman D.* (2012) *Biochemistry*, **51**(46), 9270-9276.
64. *Ghiso J., Shayo M., Calero M., Ng D., Tomidokoro Y., Gandy S., Rostagno A., Frangione B.* (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**(44), 45897-45908.
65. *Maltsev A.V., Bystryak S., Galzitskaya O.V.* (2011) *Ageing Res. Rev.*, **10**(4), 440-452.
66. *Choi B.H., Kim R.C., Vaughan P.J., Lau A., van Nostrand W.E., Cotman C.W., Cunningham D.D.* (1995) *Neurobiol Aging*, **16**, 557-562.
67. *Mucke L., Abraham C.R., Masliah E.* (1996) *Ann NY Acad Sci.*, **777**, 82-88.
68. *Furukawa K., Sopher B.L., Rydel R.E., Begley J.G., Pham D.G., Martin G.M., Fox M., Mattson M.P.* (1996) *J. Neurochem.*, **67**, 1882-1896.
69. *Uylings H.B., de Brabander J.M.* (2002) *Brain Cogn.*, **49**(3), 268-276.
70. *Kurtz D.J., Sinex F.M.* (1967) *Biochim. Biophys. Acta*, **745**, 840-842.
71. *Greer S., Zamenhof S.* (1962) *J. Mol. Biol.*, **4**, 123-127.
72. *Шуф М.* (2005) *Биохимия*, **70**(5), 651-669.
73. *de Strooper B., Annaert W.* (2000) *J. Cell Sci.*, **113**, 1857-1870.
74. *Wasco W., Bupp K., Magendantz M., Gusella J.F., Tanzi R.E., Solomon F.* (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, 10758-10762.
75. *Wasco W., Gurubhagavatula S., Paradis M.D., Romano D.M., Sisodia S.S., Hyman B.T., Neve R.L., Tanzi R.E.* (1993) *Nat. Genet.*, **5**, 95-100.
76. *Hardy J., Selkoe D.J.* (2002) *Science*, **297**, 353-356.
77. *de Strooper B., Annaert W.* (2001) *Nat. Cell Biol.*, **3**, 221-225.
78. *Wilquet V., De Strooper B.* (2004) *Curr. Opin. Neurobiol.*, **14**, 582-588.
79. *Moya K.L., Benowitz L.I., Schneider E., Allinquant B.* (1994) *Dev. Biol.*, **161**, 597-603.
80. *Roch J.M., Masliah E., Roch-Levecq A.C.* (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **91**, 7450-7454.
81. *Kang J., Lemaire H.G., Unterbeck A.* (1987) *Nature*, **325**, 733-736.
82. *Molinari M., Eriksson K.K., Ca-lanca V., Galli C., Cresswell P., Michalak M., Helenius A.* (2004) *Mol. Cell*, **13**(1), 125-135.
83. *Prillet C., Bauer T., Mitteregger G., Krebs B., Kretzschmar H.A., Herms J.* (2006) *J. Neurosci.*, **26**(27), 7212-7221.
84. *Turner P.R., O'Connor K., Tate W.C.* (2003) *Prog. Neurobiol.*, **70**(1), 1-32.
85. *Tarr P.E., Roncarati R., Pelicci G., Pelicci P.G., D'Adamio L.* (2002) *J. Biol. Chem.*, **277**, 16798-16804.
86. *Alonso A.C., Li B., Grundke-Iqbal I., Iqbal K.* (2006) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**(23), 8864-8869.
87. *von Bergen M., Friedhoff P., Bienart J., Heberle J., Mandelkow E.-M., Mandelkow E.* (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**(10), 5129-5134.

88. *Brandt R., Leger J., Lee G.* (1995) *J. Cell. Biol.*, **131**, 1327-1340.
89. *Chen J., Kanai Y., Cowan N., Hirokawa N.* (1992) *Nature*, **360**, 674-677.
90. *Johnson G.V., Jenkins S.M.* (1999) *J. Alzheimers Dis.*, **1**, 307-328.
91. *Song J.S., Yang S.D.* (1995) *J. Protein Chem.*, **14**(2), 95-105.
92. *Scott C., Fieles A., Sygowski L.* (1993) *Brain Res.*, **628**, 77-84.
93. *Wilson D., Binder L.* (1997) *Am. J. Pathol.*, **150**, 2181-2195.
94. *Cripps D., Thomas S.N., Jeng Y., Yang F., Davies P., Yang A.J.* (2006) *J. Biol. Chem.*, **281**(16), 10825-10838.
95. *Kuhla B., Haase C., Flach K.* (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**(10), 6984-6991.
96. *Biernat J., Gustke N., Drewes G., Mandelkow E.M., Mandelkow E.* (1993) *Neuron*, **11**, 153-163.
97. *Probst A., Gotz J., Wiederhold K.H., Tolnay M., Mistl C., Jaton A.L., Hong M., Ishihara T., Lee V.M., Trojanowski J.Q., Jakes R., Crowther R.A., Spillantini M.G., Bürki K., Goedert M.* (2000) *Acta Neuropathol.*, **99**, 469-481.
98. *Dawson H.N., Ferreira A., Eyster M.V., Ghoshal N., Binder L.I., Vitek M.P.* (2001) *J. Cell Sci.*, **114**, 1179-1187.
99. *Mandell J.W., Banker G.A.* (1996) *J. Neurosci.*, **16**, 5727-5740.
100. *Rao N.N., Gomez-Garcia M.R., Kornberg A.* (2009) *Annu. Rev. Biochem.*, **78**, 605-647.
101. *da Silva L.P., Lindahl M., Lundin M., Baltscheffsky H.* (1991) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **178**(3), 1359-1364.
102. *Terkeltaub R.A.* (2001) *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, **281**, C1-C11.
103. *Goedert M., Spillantini M., Crowther R., Chen S.G., Parchi P., Tabaton M., Lanska D.J., Markesbery W.R., Wilhelmsen K.C., Dickson D.W., Petersen R.B., Gambetti P.* (1999) *Nature Med.*, **5**, 454-457.
104. *Andreadis A., Brown W.M., Kosik K.S.* (1992) *Biochemistry*, **31**, 10626-10633.
105. *Rizzu P., Van Swieten JC., Joosse M., Hasegawa M., Stevens M., Tibben A., Niermeijer M.F., Hillebrand M., Ravid R., Oostra B.A., Goedert M., van Duijn C.M., Heutink P.* (1999) *Am. J. Hum. Genet.*, **64**, 414-421.
106. *Baker M., Litvan I., Houlden H., Adamson J., Dickson D., Perez-Tur J., Hardy J., Lynch T., Bigio E., Hutton M.* (1999) *Hum. Mol. Genet.*, **8**, 711-715.
107. *Hong M., Zhukaeva V., Vogelsberg-Ragagila V., Wszolek Z., Reed L., Miller B.I., Geschwind D.H., Bird T.D., McKeel D., Goate A., Morris J.C., Wilhelmsen K.C., Schellenberg G.D., Trojanowski J.Q., Lee V.M.* (1998) *Science*, **282**, 1914-1917.
108. *Ryoo S.R., Jeong H.K., Radnaabazar C., Yoo J.J., Cho H.J., Lee H.W., Kim I.S., Cheon Y.H., Ahn Y.S., Chung S.H., Song W.J.* (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**(48), 34850-34857.
109. *Grundke-Iqbal I., Iqbal K., Tung Y.C., Quinlan M., Wisniewski H.M., Binder L.I.* (1986) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **83**, 4913-4917.
110. *Spires T.L., Orne J.D., SantaCruz K., Pitstick R., Carlson G.A., Ashe K.H., Hyman B.T.* (2006) *Am. J. Pathol.*, **168**, 1598-1607.
111. *Buee L., Bussiere T., Buee-Scherrer V., Delacourte A., Hof P.R.* (2000) *Brain Res. Rev.*, **33**, 95-130.
112. *Goedert M., Spillantini M.G., Jakes R., Rutherford D., Crowther R.A.* (1989) *Neuron*, **3**, 519-526.
113. *Kopke E., Tung Y.C., Shaikh S., Alonso A.C., Iqbal K., Grundke-Iqbal I.* (1993) *J. Biol. Chem.*, **268**, 24374-24384.
114. *Delacourte A., David J.P., Sergeant N., Buée L., Wattez A., Vermersch P., Ghazali F., Fallet-Bianco C., Pasquier F., Lebert F., Petit H., Di Menza C.* (1999) *Neurology*, **52**, 1158-1165.

115. *Sjöberg M.K., Shestakova E., Mansuroglu Z., Maccioni R.B., Bonnefoy E.* (2006) *J. Cell Sci.*, **119**, 2025-2034.
116. *Wang J.Z., Grundkeiqbal I., Iqbal K.* (1996) *Nature Med.*, **2**, 871-875.
117. *Arnold C.S., Johnson G.V., Cole R.N., Dong D.L., Lee M., Hart G.W.* (1996) *J. Biol. Chem.*, **271**, 28741-28744.
118. *Iqbal K., Grundke-Iqbal I.* (2005) *Acta Neuropathol.*, **109**, 25-31.
119. *Chun W., Johnson G.V.W.* (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**(32), 23410-23417.
120. *Ferrari A., Hoerndli F., Baechi T., Nitsch R.M., Götz J.* (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 40162-40168.
121. *Haase C., Stieler J.T., Arendt T., Holzer M.* (2004) *J. Neurochem.*, **88**, 1509-1520.
122. *Ding H., Matthews T.A., Johnson G.V.W.* (2006) *J. Biol. Chem.*, **281**(28), 19107-19114.
123. *Spires-Jones T.L., De Calignon A., Matsui T., Zehr C., Pitstick R., Wu H.Y., Osetek J.D., Jones P.B., Bacskai B.J., Feany M.B., Carlson G.A., Ashe K.H., Lewis J., Hyman B.T.* (2008) *J. Neurosci.*, **28**(4), 862-867.
124. *Rapoport M., Dawson H.N., Binder L.I., Vitek M.P., Ferreira A.* (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**(9), 6364-6369.
125. *Fath T., Eidenmuller J., Brandt R.* (2002) *J. Neurosci.*, **22**, 9733-9741.
126. *Ebneth A., Godemann R., Stamer K., Illenberger S., Trinczek B., Mandelkow E.* (1998) *J. Cell. Biol.*, **143**(3), 777-794.
127. *Keith A.V., Kai Z., Jens B., Aaron C.D., Punita S., Steven F., Bianxiao C., Lennart M.* (2010) *Science*, **330**, 198.
128. *Hernandez F., Avila J.* (2007) *Cell. Mol. Life Sci.*, **64**(17), 2219-2233.
129. *Goedert M., Spillantini M.G., Crowther R.A.* (1991) *Brain Pathol.*, **1**(4), 279-286.
130. *Lochhead P.A., Sibbet G., Morrice N., Cleghon V.* (2005) *Cell*, **121**, 925-936.
131. *Korenberg J.R., Chen X.N., Schipper R., Sun Z., Gonsky R., Gerwehr S., Carpenter N., Daumer C., Dignan P., Distech C.* (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **91**, 4997-5001.
132. *Goedert M., Satumtira S., Jakes R., Smith M.J., Kamibayashi C., White C.L. 3rd, Sontag E.* (2000) *J. Neurochem.*, **75**, 2155-2162.
133. *Лю Б.Н., Исмаилов С.Б., Лю М.Б.* (2008) *Биомед. химия*, **54**(1), 58-77.
134. *von Bergen M., Barghorn S., Li L., Marx A., Biernat J., Mandelkow E.M., Mandelkow E.* (2001) *J. Biol. Chem.*, **276**, 48165-48174.
135. *Cho J.H., Johnson G.V.* (2004) *J. Neurochem.*, **88**, 349-358.
136. *Cho J.H., Johnson G.V.* (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 187-193.
137. *Takahashi S., Saito T., Hisanaga S., Pant H.C., Kulkarni A.B.* (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 10506-10515.
138. *Lund E.T., McKenna R., Evans D.B., Sharma S.K., Mathews W.R.* (2001) *J. Neurochem.*, **76**(4), 1221-1232.
139. *Завалишин И.А., Захарова М.Н.* (2003) *Журн. Неврол. Психиатр.*, № 1, 54-60.
140. *Johnson G.V.W., Stoothoff W.H.* (2004) *J. Cell Sci.*, **117**, 5721-5729.
141. *Walter J., Capell A., Hung A.Y., Langen H., Schnoelzer M., Thinakaran G., Sisodia S.S., Selkoe D.J., Haass C.* (1997) *J. Biol. Chem.* **272**, 1896-1903.
142. *Wallace W., Ahlers S.T., Gotlib J., Bragin V., Sugar J., Gluck R., Shea P.A., Davis K.L., Haroutunian V.* (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**, 8712-8716.
143. *Biernat J., Wu Y.Z., Timm T., Zheng-Fischhöfer Q., Mandelkow E., Meijer L., Mandelkow E.M.* (2002) *Mol. Biol. Cell*, **13**, 4013-4028.

144. *Spittaels K., van den Haute C., van Dorpe J., Geerts H., Mercken M., Bruynseels K., Lasrado R., Vandezande K., Laenen I., Boon T., Van Lint J., Vandenheede J., Moechars D., Loos R., Van Leuven F.* (2000) *J. Biol. Chem.*, **275**, 41340-41349.
145. *Abraha A., Ghoshal N., Gamblin T.C., Cryns V., Berry R.W., Kuret J., Binder L.I.* (2000) *J. Cell Sci.*, **113**, 3737-3745.
146. *Lu Q., Wood J.G.* (1993) *J. Neurosci.*, **13**, 508-515.
147. *Perez M., Arrasate M., Montejo De Garcini E., Muñoz V., Avila J.* (2001) *Biochemistry*, **40**, 5983-5991.
148. *Vafai S.B., Stock J.B.* (2002) *FEBS Lett.*, **518**, 1-4.
149. *Filosto M., Scarpelli M., Cotelli M.S., Vielmi V., Todeschini A., Gregorelli V., Tonin P., Tomelleri G., Padovani A.* (2011) *J. Neurol.*, **258**(10), 1763-1774.
150. *Facecchia K., Fochesato L.A., Ray S.D., Stohs S.J., Pandey S.* (2011) *J. Toxicol.*, **2011**, 683-728.
151. *Уверский В.Н., Галзитская О.В., Винтер С., Кумтлер Л., Лёбер Г.* (1999) *Цитология*, **41**, 540-549.
152. *Masliah E., Sisk A., Mallory M., Mucke L., Schenk D., Games D.* (1996) *J. Neurosci.*, **16** (18), 5795-811.
153. *Niedowicz D.M., Beckett T.L., Matveev S., Weidner A.M., Baig I., Kryscio R.J., Mendiondo M.S., LeVine H. 3rd, Keller J.N., Murphy M.P.* (2012) *Ann. Neurol.*, **72**(4), 564-570.
154. *Chun W., Johnson G.V.* (2007) *Front. Biosci.*, **12**, 733-756.
155. *Hampel H., Wilcock G., Andrieu S., Aisen P., Blennow K., Broich K., Carrillo M., Fox N.C., Frisoni G.B., Isaac M., Lovestone S., Nordberg A., Prvulovic D., Sampaio C., Scheltens P., Weiner M., Winblad B., Coley N., Vellas B.* (2011) *Progress in Neurobiology*, **95**, 579-593.

Поступила: 17. 02. 2012.

INTENSIVE PROTEIN SYNTHESIS IN NEURONS AND PHOSPHORYLATION OF BETA-AMYLOID PRECURSOR PROTEIN AND TAU-PROTEIN ARE TRIGGERING FACTORS OF NEURONAL AMYLOIDOSIS AND ALZHEIMER'S DISEASE

A.V. Maltsev^{1,6}, N.V. Dovidchenko², V.K. Uteshev³, V.V. Sokolik⁴, O.M. Shtang⁵, M.A. Yakushin¹, N.M. Sokolova¹, A.K. Surin^{2,7}, O.V. Galzitskaya²

¹Russian Gerontological Research Clinical Center, Russian Ministry of Health Care, Moscow, 129226 Russia; tel.: 8(916)926 84 31; e-mail: avmaltus@rambler.ru

²Institute of Protein Research, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Moscow Region, Russia; e-mail: ogalzit@vega.protres.ru

³Institute of Biophysics Cell, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Moscow Region, Russia

⁴Institute of Neurology, Psychiatry and Addiction Medical Sciences of Ukraine, Kharkov

⁵MDSICI M.F. Vladimirsky, Moscow, Russia

⁶Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Moscow Region, Russia

⁷State Research Center for Applied Microbiology & Biotechnology, Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, 142279, Russia

Recently the studies of Alzheimer's disease have become particularly actual and have attracted scientists from all over the world to this problem as a result of dissemination of this dangerous disorder. The reason for such pathogenesis is not known, but the final image, for the first time obtained on microscopic brain sections from patients with this disease more than a hundred years ago, is well known to clinicians. This is the deposition of A β amyloid in the brain tissue of senile plaques and fibrils. Many authors suppose that the deposition of beta-amyloid provokes secondary neuronal changes which are the reason of neuron death. Other authors associate the death of neurons with hyperphosphorylation of tau-proteins which form neurofibrillar coils inside nerve cells and lead to their death. For creation of methods of preclinical diagnostics and effective treatment of Alzheimer's disease novel knowledge is required on the nature of triggering factors of sporadic isoforms of Alzheimer's disease, on cause-effect relationships of phosphorylation of amyloid precursor protein with formation of pathogenic beta-amyloids, on the relationship with these factors of hyperphosphorylation of tau-protein and neuron death. In this review we analyze the papers describing the increasing of intensity of biosynthesis in neurons in normal conditions and under the stress, the possibility of development of energetic unbalanced neurons and activation of their protective systems. Phosphorylation and hyperphosphorylation of tau-proteins is also tightly connected with protective mechanisms of cells and with processes of evacuation of phosphates, adenosine mono-phosphates and pyrophosphates from the region of protein synthesis. Upon long and high intensity of protein synthesis the protective mechanisms are overloaded and the complementarity of metabolic processes is disturbed. This results in dysfunction of neurons, transport collapse, and neuron death.

Key words: triggering factors, β -amyloid, Alzheimer's disease, β -amyloid precursor protein, neuron death, protein synthesis, tau-protein, phosphorylation.