

MUTACJE GENÓW PRESENILIN W CHOROBIE ALZHEIMERA

Cezary ŻEKANOWSKI

Zakład Badawczo-Leczniczy Chorób Zwyrodnieniowych CUN

Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN

Choroba Alzheimerera jest chorobą heterogenną, w której powstawaniu pewną rolę odgrywają czynniki genetyczne. AD klasyfikowana jest najczęściej ze względu na wiek pojawienia się pierwszych objawów. U większości (>95%) pacjentów objawy pojawiają się po 65 roku życia (ang. late-onset AD, LOAD), natomiast u 1-5% choroba rozwija się wcześniej (ang. early-onset AD, EOAD).

Zgodnie z tzw. hipotezą kaskady amyloidowej, obie postaci AD powodowane są przez gromadzenie w mózgu krótkiego peptydu, β -amyloidu ($A\beta$), powstającego w wyniku proteolitycznej obróbki dużego białka prekursorowego amyloidu (APP).

Białko APP jest glikozylowanym, integralnym białkiem membranowym typu I. W trakcie dojrzewania APP ulega serii endoproteolitycznych trawień, prowadzonych przez kompleksy enzymatyczne zwane sekretazami. APP jest przecinane w trzech miejscach: γ (zawsze) oraz w miejscu α lub β . Presenilina 1 (a być może także 2) jest składnikiem kompleksu γ -sekretazy. Większość APP przecinana jest jednocześnie w miejscach γ i α , co prowadzi do powstania fragmentu wewnątrzkomórkowego o własnościach regulacyjnych oraz zewnątrzkomórkowego, rozpuszczalnego peptydu sAPP α . W warunkach fizjologicznych niewielka ilość APP przecinana jest w miejscach γ i β , co prowadzi do powstania peptydu β -amyloidu o długości 40, 42 lub 43 reszt aminokwasowych (rzadziej powstają peptydy o nieco innej długości). Przyczyny alternatywnego przecinania nie są dokładnie poznane.

Najkrótsza wersja $A\beta$ powstaje najczęściej (ok. 90%) i wykazuje najmniejszą amyloidogenność, w porównaniu z pozostałymi, dłuższymi formami, zdolnymi do szybkiej agregacji i wykazującymi większą neurotoksyczność. Szlak proteolityczny, uwalniający przede wszystkim $A\beta_{40}$, jest głównym sposobem dojrzewania APP w neuronach. W pozostałych tkankach dominuje szlak nieamyloidogeny.

U podłoża patologii AD leży jak się przypuszcza zwiększone nieznacznie (ok. 1.5x) wytwarzanie $A\beta$ (zwłaszcza formy $A\beta_{42}$) i tendencja β -amyloidu do agregacji i tworzenia złogów. Toksyczne dla neuronów są włókna amyloidowe, jak wynika z badań *in vitro*. Jednak

pierwotnym czynnikiem neurotoksycznym mogą być rozpuszczalne oligomery A β (dimery i trimery), powodujące m.in. uszkodzenia synaps czy demielinację i uszkodzenia oligodendrocytów. Wydaje się również, że długotrwałe pobudzenie neuronalne (long-term potentiation, LTP), kluczowy element w procesach zapamiętywania i uczenia jest szczególnie wrażliwy na obecność oligomerów A β .

Geny związane przyczynowo z rodzinną postacią choroby Alzheimera

Jedynie około 10% przypadków EOAD dziedziczone jest jako cecha autosomalna dominująca (rodzinna AD, ang. familial AD, FAD), co stanowi mniej niż 1% wszystkich przypadków AD, i jest związana z jednym z trzech wspomnianych wyżej genów (*PSEN1*, *PSEN2* lub *APP*). W zależności od stosowanych kryteriów diagnostycznych rodzinna postać AD (familial AD, FAD), mutacje występują w od 1 do 50% przypadków.

Nie są znane przyczyny powstawania nadmiernych ilości A β , zwłaszcza dłuższej jego formy, w sporadycznych przypadkach AD. W przypadku LOAD przyczyny mogą być związane ze stresem oksydacyjnym, związanymi z wiekiem zaburzeniami w wytwarzaniu energii czy zaburzonej homeostazie wapniowej. Dlaczego jednak AD powodowana mutacjami sprawczymi, przypomina tak bardzo postać sporadyczną, o skomplikowanej etiologii – pozostaje pytaniem, na które nie znamy odpowiedzi.

Geny kodujące presenilinę 1 i presenilinę 2 (*PSEN1* i *PSEN2*)

Struktura biochemiczna γ -sekreazy nie jest dokładnie poznana. Wiadomo, że presenilina 1 (PS1), a być może także w pewnych warunkach presenilina 2 (PS2) tworzą miejsce aktywne kompleksu γ -sekreazy. Mutacje w genach presenilin wpływają bezpośrednio na dojrzewanie APP, powodując w przeważającej większości zwiększone wytwarzanie A β ₄₂.

Gen *PSEN1* znajduje się w chromosomie 14q23.3 i składa się z 13 eksonów, z których eksony od 3 do 12 kodują sekwencję aminokwasową. Gen *PSEN2* znajduje się w chromosomie 1q31-42. Obie preseniliny wykazują 80.5% homologii sekwencyjnej, najwyższej w domenach transbłonowych. Obie preseniliny powstają w procesie translacji jako niestabilne holoproteiny, ulegające następnie autokatalitycznej endoproteolizie, tworzącej stabilny i aktywny enzymatycznie heterodimer, obejmujący fragmenty N- i C-końca. Oba fragmenty są częścią kompleksu białkowego zawierającego co najmniej trzy białka: nikastrynę, APH-1 i PEN-2. Preseniliny uczestniczą także w szeregu procesów biologicznych, takich jak szlaki przekazywania sygnałów komórkowych (NOTCH, WNT oraz szlak pośredniczony przez białka G, apoptozę indukowaną przez Fas, przyleganie komórek, czy transport wewnątrzkomórkowy białek. Można przypuszczać, że czynniki transkrypcyjne uwalniane w wyniku przecinania białek

sygnałowych przez preseniliny, mogą wpływać na pewne nieznane elementy patomechanizmu AD.

Mutacje genu *PSEN1* są najczęstszą przyczyną FAD i odpowiadają za około 18-50% wszystkich przypadków rodzinnej EOAD w różnych populacjach. Znanych jest ponad 140 różnych mutacji *PSEN1*. W *PSEN2* zidentyfikowano jedynie 10 mutacji, wszystkie to mutacje zmiany sensu. Większość mutacji presenilin zlokalizowana jest w pobliżu lub w obrębie domen transbłonowych. Przypuszcza się, że powodowane przez nie podstawienia aminokwasowe wpływają na architekturę całej cząsteczki białka preseniliny. Niewiele mutacji *PSEN1* położonych jest w regionie kodującym pętlę cytoplazmatyczną, i te mutacje związane są z późniejszym wiekiem pojawienia się pierwszych objawów choroby. Być może wpływają one na tworzenie oligomerów preseniliny lub oddziaływania z innymi białkami.

Większość mutacji *PSEN1* cechuje pełna penetracja. Znane są jedynie dwa milczące podstawienia nukleotydowe (polimorfizmy): F175S i E318G. Mutacje *PSEN2* charakteryzuje zmienna i częściowa penetracja, z wiekiem wystąpienia objawów od 40 do 90 roku życia. Również przebieg choroby jest mniej ostry (agresywny) niż w przypadku mutacji genu *PSEN1*. W odróżnieniu od *PSEN1*, zmiany polimorficzne w sekwencji kodującej *PSEN2* występują stosunkowo często.

Prawie wszystkie mutacje genów presenilin zwiększają poziomy A β *in vivo* oraz *in vitro*, co jest zgodne z hipotezą kaskady amyloidowej. Niemniej mechanizmy molekularne poprzez które mutacje presenilin wpływają na rozwój FAD są złożone.

Znane są bowiem mutacje w genie *APP*, (V715M i E693G), które zmniejszają całkowite wytwarzanie A β lecz jednocześnie zwiększają proporcję A β ₄₂/A β ₄₀. Wydaje się więc, że w etiologii AD wzajemna proporcja różnych peptydów A β może być bardziej istotna niż bezwzględne poziomy A β ₄₂ czy całkowity poziom A β . Podobne obserwacje poczyniono dla mutacji w genie *PSEN1*.

Złożone są również korelacje pomiędzy genotypem w locus *PSEN1*, a fenotypem klinicznym. Opisano mutacje związane z objawami przypominającymi otępienie czołowo-skroniowe (FTD). Inne mutacje powodują rodzinną postacią porażenia spastycznego (SpPa), której towarzyszą pewne cechy AD (AD/SpPa). Kliniczne i histopatologiczne objawy SpPa są odmienne niż AD, jednak analogiczne objawy obecne są także u niektórych pacjentów z LOAD, co sugeruje że oba schorzenia mogą być powodowane przez te same mutacje w *PSEN1* oraz dodatkowe, niezidentyfikowane, modyfikatory genetyczne. Niektóre ze wspomnianych mutacji (E280G, P264L) związane są zarówno z klasycznym fenotypem klinicznym AD, jak i AD/SpPa. Podobna zmienność, co do wieku pojawienia się pierwszych objawów oraz obrazu klinicznego AD, występuje także pomiędzy rodzinami z mutacją M139V, związaną jednak z klasyczną

postacią AD. Mutacje genu *PSENI* mogą powodować niekiedy fenotyp kliniczny jeszcze bardziej odmienny od choroby Alzheimera.

Nie jest jasne, dlaczego prawie wszystkie mutacje w genach presenilin i APP prowadzą do wystąpienia zmodyfikowanej aktywności γ -sekreazy. Żadna z licznych przecież mutacji nie wygasza aktywności tego enzymu. Jest to sytuacja nietypowa, w świetle naszej wiedzy o chorobach uwarunkowanych genetycznie i być może stanowi wskazówkę do rozwiązania zagadki molekularnego podłoża nie tylko rodzinnej postaci AD. Nie jest również wyjaśnione molekularne podłoże tak dużej zmienności fenotypowej chorych z mutacjami *PSENI*. Możemy przypuszczać, że FAD jest w istocie chorobą oligogenową, co może być jedną z przyczyn zmiennego wzoru dziedziczenia, nie odpowiadającego w wielu przypadkach wzorowi dziedziczenia autosomalnego dominującego, jak również współistnienia w rodzinie różnych, choć zbliżonych, jednostek chorobowych.