



УДК: 573.3+ 576.366: 612.822.56

## МЕХАНІЗМИ КЛІТИННОЇ СМЕРТІ ПРИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНИХ ПРОЦЕСАХ

**Н. П. Матійців**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна  
e-mail: m.n.p@mail.ru*

В огляді проаналізовано процеси апоптичної загибелі клітин центральної нервової системи як основного механізму нейродегенерації при різних типах патологій. Описано докази активації клітинного циклу в диференційованих нейронах і зв'язок факторів проліферації з регульованою загибеллю нервових клітин. Наведено гіпотези щодо можливих терапевтичних стратегій у світлі вказаних механізмів патогенезу дегенеративних захворювань нервової системи.

**Ключові слова:** нейродегенеративні захворювання, апоптоз, клітинний цикл, інгібітори апоптозу.

### ВСТУП

Збільшення середньої тривалості життя у розвинених країнах зумовило появу нових соціальних проблем. Зокрема, слід відзначити різке зростання випадків нейродегенеративних захворювань (як сімейних форм, так і спорадичних) серед людей похилого віку. Згідно з прогнозами [3], частота цих порушень у найближчі роки зростиме, тому лікування нейродегенеративних захворювань стає однією з найактуальніших проблем медицини та нейробіології. Нові відкриття у сфері механізмів клітинної смерті здатні забезпечити основу нових терапевтичних стратегій нейродегенеративних захворювань.

При нейродегенеративних розладах діють різноманітні ендогенні механізми, які запускають клітинну смерть, хоча загибель клітин може бути зумовлена і гетерогенними стресовими факторами екзогенного походження, які прямо чи опосередковано здатні активувати апоптоз. Один із шляхів реалізації як екзо-, так і ендогенних механізмів відмирання нейронів пов'язують з реактивацією їхнього клітинного циклу [7, 10, 18, 47]. Диференційовані нейрони мають специфічні біохімічні, фізіологічні, морфологічні властивості, які, власне, запобігають можливості вступати у клітинний поділ. Тому відновлення процесів проліферації у нейронах є патологічним, зокрема, наслідком відповіді на вплив стресових факторів різного походження. Одержано численні докази тісного зв'язку між активацією клітинного циклу та дегенерацією нейронів шляхом апоптозу. Однак ще

не цілком зрозумілі всі фізіологічні та молекулярні особливості реактивації факторів клітинного циклу нейронів. Дана проблема потребує додаткових досліджень і обговорень.

### 1. Апоптоз при нейродегенеративних захворюваннях

При нейродегенераціях спостерігаються два типи клітинної смерті: апоптоз та некроз [2, 13]. Апоптоз (відомий як запрограмована клітинна смерть) відбувається і за нормальних фізіологічних умов як один із етапів розвитку клітини, і за різних патологічних станів. У той же час некроз зумовлений зовнішніми факторами (такими, як інфекції, токсини або травми) і є пасивним процесом відмирання тканини.

Розрізняють два основних типи апоптичних сигнальних шляхів: ендогенний і екзогенний. При багатьох захворюваннях порушення регуляції апоптозу може бути основною причиною виникнення аномалій [14]. Цей тип клітинної смерті має місце як у розвитку гострих нейродегенерацій центральної нервової системи, так і у їхній хронічних формах [44]. Апоптоз відбувається у тканині точково, так, що здорові клітини та клітини, які відмирають, лежать поряд.

На відміну від швидкого обігу клітин у проліферативних тканинах, нейрони, як правило, живуть протягом усього періоду існування організму. Під час розвитку центральної та периферичної нервової системи багато нейронів гинуть унаслідок апоптозу в період, що збігається в часі з процесом розвитку синапсів (синаптогенезу) [9]. Первинна надлишкова продукція нейронів, що супроводжується їхнім частковим відмиранням, є, ймовірно, адаптивним процесом, який дає достатню кількість нейронів для формування рефлекторної дуги в точній відповідності з їхньою функціональною специфікою. Багато людей страждають через численну загибель однієї чи кількох популяцій нейронів у результаті хвороби або пошкодження. Так, відмирання нейронів гіпокампа або кори головного мозку відповідає за симптоми хвороби Альцгеймера [33]; смерть нейронів середнього мозку, котрі використовують дофамін як нейротрансмітер, лежить в основі хвороби Паркінсона [5]; хвороба Гентінгтона пов'язана з відмиранням нейронів у смугастому тілі, які контролюють рухи тіла [17], а загибель рухових нейронів виявляється як амілотрофічний боковий склероз [12].

Хвороба Альцгеймера характеризується прогресивною втратою пізнавальних здібностей та емоційними порушеннями, які строго корелюють із дегенерацією синапсів і смертю нейронів у лімбічній системі й асоційованих ділянках кори мозку [19]. У деградуючих нейронах виявляють гіперфосфорильований tau-білок, ознаки надлишкового кальцій-опосередкованого протеолізу та оксидативного стресу. Визначальною ознакою хвороби Альцгеймера є нагромадження амілоїдних бляшок, що формуються в результаті агрегації  $\beta$ -амілоїду – фрагмента 40–42 амінокислотних залишків, який утворюється шляхом протеолітичної обробки білка-попередника  $\beta$ -амілоїду (APP) [39]. У нейронах головного мозку з відкладеним  $\beta$ -амілоїдом у пацієнтів із хворобою Альцгеймера виявляються пошкодження ДНК та підвищення активності каспаз, порушення експресії генів, пов'язаних з апоптозом (члени родини Bcl-2, Parg4). Дослідження експресії більшості генів у тканині головного мозку пацієнтів з хворобою Альцгеймера показали [30] помітне зниження рівня антиапоптичного білка NCKAP1 (NCK-associated protein1).

Обробка культур нейронів  $\beta$ -амілоїдом може запустити апоптоз безпосередньо [33] і може значно збільшувати їхню вразливість до загибелі, яка індукується при підвищеному оксидативному стресі та зниженні доступу енергії, що виявляється в головному мозку при старінні. Механізм, за допомогою якого  $\beta$ -амілоїд сенсibiliзує нейрони на загибель, пов'язаний із пероксидацією мембранних ліпідів. Це порушує функцію мембранних іон-зв'язувальних АТФ-аз, транспортерів глюкози та глутамату, і веде до деполяризації мембран, зниження рівня АТФ, надлишку кальцію та дисфункції мітохондрій. Нейротрофні фактори і цитокіни, які запобігають апоптозу нейронів, можуть захищати нейрони від амілоїд-індукованої загибелі [30].

Виявлено, що мутації у трьох генах – один кодує APP, а інші два – пресеніліни 1 і 2 [33], кожен з яких успадковується аутосомно-домінантним способом, можуть викликати ранні спадкові форми хвороби Альцгеймера. Імовірно, мутації APP спричиняють хворобу Альцгеймера шляхом зміни протеолітичної обробки APP так, що рівень  $\beta$ -амілоїду зростає, а рівень sAPP- $\alpha$  (змінений білок-попередник  $\beta$ -амілоїду під дією  $\alpha$ -секретаз) знижується. Пресенілінові мутації можуть викликати нейродегенерацію шляхом посилення розщеплення APP  $\gamma$ -секретазою, таким чином збільшуючи синтез нейротоксичного  $\beta$ -амілоїду [19].

Пацієнти з хворобою Паркінсона виявляють рухову дисфункцію в результаті дегенерації дофамінових нейронів у чорній субстанції [5]. Хоча всі механізми формування хвороби невідомі, підвищений оксидативний стрес і мітохондріальна дисфункція в дофамінових нейронах є основними. Як фактори середовища, так і генетичні фактори можуть сенсibiliзувати дофамінові нейрони до оксидативних стресів і дефіциту енергії. У тканині головного мозку хворих виявляються подібні до апоптичних зміни в ДНК й активація генів у дофамінових нейронах, що відмирають [1]. Крім того, рівень Par4 підвищується в дофамінових нейронах чорної субстанції перед їхнім відмиранням, а зниження експресії Par4 захищає ці нейрони від загибелі.

Відкриття у 90-х роках ХХ ст. гена [12], який спричиняє рідкісну аутосомно-домінантну форму хвороби Паркінсона, викликало нову хвилю інтересу до вивчення патогенетичного механізму захворювання. Цей мутантний ген кодує  $\alpha$ -синнуклеїн – синаптичний білок із невідомими функціями. Вважають, що він відіграє роль у рециклінгу синаптичних міхурців, які вивільняють свої нейротрансмітери в синаптичну щілину. Пізніше було ідентифіковано [45] другу рідкісну форму хвороби Паркінсона, що зумовлена мутацією в гені Parkin. Обидва білки задіяні у специфічних шляхах, які забезпечують деградацію непотрібних білків. Дофамін-індукований оксидативний стрес, порушення функцій синаптичних міхурців і утворення неправильної форми  $\alpha$ -синнуклеїну, що є результатом мутацій або оксидативного пошкодження білка, можуть бути компонентами власного безперервного помилкового циклу, котрий у кінцевому результаті призводить до загибелі дофамінергічних нейронів [1].

Хорея Гентінгтона є спадковим порушенням, при якому нейрони у смугастому тілі дегенерують, викликаючи неконтрольовані рухи тіла [17]. Хвороба зумовлена збільшенням кількості тринуклеотидів (CAG) у гені, продукт якого містить багато поліглутамінових повторів. Дослідження показали [37], що порушення

функцій мітохондрій може бути основним клітинним механізмом цього захворювання. Як саме мутантний ген забезпечує селективну деградацію нейронів смугастого тіла, досі невідомо, однак апоптична програма задіяна. Вивчення лімфоцитів від пацієнтів з хворею Гентінгтона виявило збільшення стрес-індукованого апоптозу [37], пов'язаного з дисфункцією мітохондрій і посиленою активацією каспази-3, а також дало змогу зробити припущення про шкідливий вплив білка Huntingtin, не обмеженого лише нейронами. Каспаза-8 розподіляється на нерозчинні фракції у тканині стріатуму пацієнтів, і експресія мутантної форми білка в культурах клітин викликає каспазо-8-залежний апоптоз. Крім того, Huntingtin може розщеплюватися каспазами, які викликають агрегацію білка(-ів) і нейротоксичність [38]. Трансгенні моделі хвороби Гентінгтона у мишей дали змогу пов'язати певні аспекти людської хвороби, в тому числі міжклітинні включення гентінтину і дегенерацію нейронів стріатуму, з кількома рисами апоптозу. Інгібування каспази-1 сповільнює прогресування хвороби в одній із цих моделей. Наслідком експресії мутантного гена білка Huntingtin у мозку дорослих пацюків було утворення міжнейрональних включень і клітинної смерті. Однак утворення ядерних включень, що містять Huntingtin, не є обов'язковим для апоптозу, щоправда, такі включення можуть бути частиною цитопротекторної реакції. Більше того, білок Huntingtin дикого типу може захищати клітини від апоптозу, пригнічуючи клітинну смерть [20].

Пацієнти з аміотрофічним боковим склерозом (АБС) страждають від прогресуючих паралічів, викликаних дегенерацією рухових нейронів спинного мозку [34]. Така вибіркова дегенерація рухових нейронів пов'язана з підвищенням оксидативного стресу, вибірковою активацією глутаматних рецепторів і надлишком кальцію. Продуктування аутоантитіл до потенціалкерованих кальцієвих каналів може певним чином брати участь у патогенезі АБС. Мутації в гені ферменту антиоксидантного захисту Cu/Zn-SOD, відповідальні за деякі спадкові форми АБС, і експресія генів, що містять ці мутації у трансгенних мишей, спричиняє патологію спинного мозку, дуже схожу на патологію у пацієнтів з аміотрофічним боковим склерозом [29]. Шляхом взаємодії з пероксидом водню чи зі супероксидним аніоном мутантний фермент може викликати оксидативне пошкодження мембран і порушення роботи мітохондрій, що робить нейрони вразливими до екзоцитотоксичного апоптозу [29]. ДНК починає фрагментуватися між нуклеосомами (ознака ядерного апоптозу) в нейронах передніх рогів і моторному кортексі спинного мозку. Пошкодження ДНК пов'язані з підвищеним вмістом Вах-білка та зменшеною спорідненістю Bcl-2-білка до мітохондрій. Рівень Вах, але не Bcl-2, зростає в моторних нейронах спинного мозку пацієнтів з АБС, і аналогічний тип експресії членів родини білків Bcl-2 спостерігається у мишей, мутантних по Cu/Zn-SOD. Залучення апоптозу в АБС підтверджується ще і тим фактом, що надекспресія Bcl-2, який належить до антиапоптичних білків [28], і застосування інгібіторів каспаз сповільнює процес дегенерації та відмирання моторних нейронів у Cu/Zn-SOD мутантних мишей [34].

Одержано численні переконливі докази позитивної ролі антиапоптичних факторів не лише при їхній дії у культурі клітин і на модельних організмах, а й у дослідженні експериментальних медичних препаратів для лікування різних

нейродегенеративних розладів людини. До останніх антиапоптичних агентів належать мелатонін (основний гормон епіфізу) та резвератрол (природний фітоалексин), спільною рисою яких є природне походження та відсутність токсичної дії на клітини людини [44, 3]. Також обговорюється можлива терапевтична роль низки таких інгібіторів каспаз, як GSK3 (glycogen synthase kinase 3) [35] і JNK (Jun N-terminal kinase) [23], які тісно пов'язані зі специфічними ендogenousними шляхами активації апоптозу.

## 2. Роль індукції клітинного циклу в дегенерації зрілих нейронів

Поділ клітин і їхня загибель – два основних фізіологічних процеси, які регулюють тканинний гомеостаз у дорослому організмі. Нейрони відрізняються від інших клітин, оскільки становлять собою постмітотичні клітини. Саме ця властивість нейронів забезпечує формування і збереження спогадів та інших навичок вищої нервової діяльності. Відмирання нейронів у хребетних можливе як під час нормального розвитку, так і при патологіях, включаючи процеси, катастрофічні для нервової системи. Хоча, як уже зазначалося вище, в обох випадках відмирання нейронів іде шляхом апоптозу [25], очевидно, що як тригери, так і молекулярні механізми цих типів відмирання нейронів є різні.

Найбільш багатообіцяюча теорія полягає в тому, що нейрони деградують, оскільки повертаються до летального клітинного циклу. Схоже, що диференційовані нейрони є незворотно постмітотичними клітинами, оскільки можливий поділ клітин, і клітинні процеси підготовки до поділу можуть спричинити порушення у цитоскелеті та синаптичних структурах, які, у свою чергу, погіршать міжнейронні зв'язки, а отже, і їхнє функціонування.

Уперше це питання постало більше десятиліття тому, коли кількома різними дослідницькими групами було описано супровід маркерами клітинного циклу запрограмованої загибелі нейронів [18, 22, 27, 42]. Так, Херруп і співавт. [22] продемонстрували, що багаторазова індукція клітинного циклу має зв'язок з відмиранням нейронів. Відмирання нейронів було припинене в кількох експериментальних ситуаціях, коли нейрони змушені були повернутися зі стадії клітинного циклу до  $G_0$  фази. Автори дослідили відмирання у двох популяціях нейронів: кори мозочка й оливних ядер. Неврологічний мутант миші *staggerer* (sg/sg) характеризувався дефіцитом клітин Пуркінє. У нього значна частина гранулярних клітин мозочка і нейрони оливних ядер відмирили через відсутність трофічної підтримки. Вміст трьох маркерів клітинного циклу – цикліну D, проліферативного ядерного антигену клітини (PCNA) і бромдезоксидуридину BrdU підвищувався у гранулярних клітинах перед їхнім відмиранням. Подальші дослідження встановили, що відмирання справді відбувається апоптично. Разом ці дані вказали на зв'язок між клітинною смертю у нервовій системі, яка розвивається, і відмиранням нейронів, що включає втрату контролю клітинного циклу.

На цей час накопичено багато доказів участі факторів клітинного циклу нейронів у патогенезі хвороби Альцгеймера. Один із перших було описано групою дослідників на чолі з Херруп [22], яка показала, що  $\beta$ -амілоїдна активація мікроглії індукує клітинний цикл і загибель клітин у культурі кіркових нейронів. Культура кортикальних нейронів мишей піддавалася впливові лише  $\beta$ -амілоїду, лише

клітин мікроглії або клітин мікроглії, активованих  $\beta$ -амілоїдом. Підвищення смертності клітин було виявлено у відповідь на кожен із цих чинників, однак лише активація  $\beta$ -амілоїдом мікроглії зумовила збільшення кількості нейронів, що було виявлено маркерами клітинного циклу PCNA (proliferating cell nuclear antigen) або цикліну D і сполук BrdU (bromodeoxyurine). Методами подвійної мітки BrdU і TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated biotin nick end-labelling) виявили, що нейрони, які „ділилися”, фактично мертві та, найбільш імовірно, загинули внаслідок апоптозу. Ці результати підтверджують модель, у якій мікроглія, активована  $\beta$ -амілоїдом, є ключовою подією у прогресуванні хвороби Альцгеймера.

Одночасно інша група дослідників [6] показала, що мітотичні сигнали  $\beta$ -амілоїду зумовлюють відмирання нейронів. Обидва пептиди  $\beta$ -амілоїду (1–40) або (1–42) і їх активний фермент (25–35) діють як проліферативні сигнали для диференційованих нейронів кори, повертаючи їх до клітинного циклу. Подальші події клітинного циклу в проліферованих клітинах, у тому числі індукція фосфорилування цикліну D1, фосфорилування pRb (retinoblastoma protein) та індукція циклінів E і A, не відбувалися після S-фази. Інактивація циклін-залежних кіназ (CDK) CDK4 чи CDK2 відбувається перед вступом в S-фазу, і настає розвиток апоптозу в нейронах під дією  $\beta$ -амілоїду (25–35). Був зроблений висновок, що нейрони повинні перейти G1/S до передачі сигналу  $\beta$ -амілоїдного пептиду. В пошуках сигнальних молекул, що лежать на межі між клітинною проліферацією й апоптичною загибеллю, Копані та співр. [6] роблять наголос на гангліозиді GD3. Веберхем і співр. [40] представили дані, які підтверджують вплив експресії цикліну C в патогенезі хвороби Альцгеймера. Автори висунули гіпотезу, що повторний перехід до клітинного циклу, можливо, веде до розвитку Альцгеймероподібних патологій у гіпокампі та загибелі клітин у людей похилого віку.

Мітотична активація, можливо, має місце у низці нейродегенеративних захворювань. Хусеман і співр. [24] застосували метод антитіл, специфічних до CDK2, його активатора цикліну B1 і трьох фосфоепітопів CDK2 до районів мозку, що пошкоджуються при нейродегенеративних захворюваннях: TG3 фосфоепітоп у tau-білку та нуклеоліні, MPM2 фосфоепітоп у різних субстратах і H5 фосфоепітоп в РНК полімеразі II. Результати засвідчили, що нейрони з пошкодженнями при нейродегенеративних захворюваннях, включаючи синдром Дауна, скроневу деменцію, зчеплену з 17-ю хромосомою, кортикобазальну деградацію, Паркінсон–АБС Гуам (GP–АБС), хворобу Німанна–Піка типу С, хворобу Піка, мають різноманітну етіологію в мітотичній активації.

Відмирання нейронів після ішемії мозку, можливо, асоційоване з активацією CDK та неактивністю (нерегуляцією) циклінів, забезпечуючи нормальний вхід нейронів у клітинний цикл. Кастедо і співр. [4] виявили підвищений рівень експресії у нейронах білків клітинного циклу після ішемії мозку в людей. Добре відомі антисироватки використовувалися для дослідження експресії в нейронах CDK2, CDK4 та циклінів A, D1 та E у відділах мозку пацієнтів, що страждали від серцевої недостатності чи інфаркту і помирали протягом часу від 3,5 годин до 9 днів. У нейронах спостерігалися підвищений рівень цикліну D1, CDK2 та меншою мірою CDK4, рівень циклінів A та E був низьким, або вони були взагалі відсутні. Ці результати вказують, що мозкова ішемія індукує вихід деяких нейронів із фази G<sub>0</sub> і перехід у G<sub>1</sub> фазу клітинного циклу.

Ранганазан і Бовсер [36] дослідили експресію та субклітинне розміщення регуляторів клітинного циклу в фазі  $G_1$  і S у нейронах спинного мозку і сенсорах кори у хворих на АБС різних вікових категорій і контрольної групи. Дані вказують на гіперфосфорилування pRb у мотонейронах під час АБС, підвищення рівня цикліну D і перерозподіл E2F1 у цитоплазмі мотонейронів і глії. Ці дані свідчать, що  $G_1$ -S фазова активація відбувається протягом розвитку АБС і, можливо, бере участь у молекулярних механізмах, що регулюють відмирання мотонейронів [36]. Цікаво, що подібні результати були одержані при використанні моделі АБС у миші, експресуючи мутантну форму супероксиддисмутази (SOD1 G37R).

Було виявлено [32] цілий ряд молекул, які відіграють першочергову роль у певних фазах клітинного циклу, тоді як інші молекули діють під час диференціювання нейронів. Ці відкриття дали змогу більш детально дослідити комплекс молекулярних механізмів, що координують проліферацію та диференціацію. У клітинах, що діляться, CDКазі регулюють проліферацію, диференціацію, старіння й апоптоз. У той же час усі CDКазі в постмітотичних нейронах, за винятком CDK5, є неактивними [32]. Відкриття регуляторів клітинного циклу спрямувало дослідження в нове русло. Важливо, що неточна регуляція відбувається в нейронах при багатьох нейродегенеративних захворюваннях, у тому числі при хворобі Альцгеймера, хворобі Паркінсона й АБС [25]. Зміни в експресії цих білків у нейронах індукують смерть клітини з ознаками апоптозу. Дерегуляція клітинного циклу CDK5-зв'язаними коактиваторами, p25 і p29, сприяє нейродегенерації, змінюючи фосфорилування цитоплазматичних білків клітинного циклу [43]. Атипова активація CDK1, можливо, сприяє появі ознак апоптозу при нейродегенеративних захворюваннях [4]. З іншого боку, такі CDКазі, як CDK2, CDK4 і CDK6, діють на шляху, що веде до відмирання нейронів, пригнічуючи транскрипцію E2F1 на стадії переходу з  $G_1$  в S-фазу. Тому CDK5 і в цілому CDКазі, можливо, діють спільно у здоровій центральній нервовій системі, але вони, можливо, і сприяють відмиранню нейронів.

Важливим фактом слід вважати те, що поділ нейронів не настає, хоча вступ у S-фазу відбувається. Були описані двоядерні нейрони [49], утворення яких не супроводжувалося ні конденсуванням хромосом, ні формуванням веретена поділу, ні цитокінезом. Це відповідає гіпотезі, що нейрони, які піддалися активації клітинного циклу, блокуються на переході фаз  $G_2/S$ , перш ніж вони помруть. Крім того, саме особливість цитоскелета нейронів, яка забезпечує їхні специфічні функції та структуру детритів і аксонів, унеможлиблює формування веретена поділу та цитокінез. На користь цього, зокрема, свідчать дані про аномальне фосфорилування tau-білка при хворобі Альцгеймера, яке властиве мітотичним клітинам, та колоколізація такого фосфорильованого tau із білками регуляторами клітинного циклу [11, 48, 21].

Інший механізм нейродегенерації, зв'язаної з клітинним циклом, можливо, має за посередників онкопротеїни p53. Білок p53 є основним регулятором розвитку нейронів, а також проліферації та загибелі. Міллер і співр. [31] висунули гіпотезу, що p53 підтримує постмітотичну особливість диференційованих нейронів. Для підтвердження гіпотези були одержані нові лінії умовно безсмертних коркових клітин – популяції клітин одержані від трансгенних мишей, які не містили p53.

Згідно з результатами, р53 зі середньою активністю були задіяні у проліферацію, виживання та збереження постмітотичної природи нейрон-подібних клітин. Одержано переконливі докази онкогену р53 в механізмі загибелі дофамінергічних нейронів при хворобі Паркінсона [8]. Важливо, що р53 задіяний у кількох сигнальних каскадах клітинних процесів, зумовлених не лише мутантними формами білків, які зумовлюють спадкові форми захворювання, а й у спорадичних випадках хвороби Паркінсона.

Виникає питання, чи активація білків клітинного циклу є обов'язковою при відмиранні нейронів? Справді, гени, що кодують білки клітинного циклу (такі як цикліни чи CDКаз), є повторно експресовані в нейронах, які відмирають, у відповідь на різні чинники, в тому числі екзотоксини, гіпоксію та ішемію, втрату трофічної підтримки чи наявність  $\beta$ -амілоїду. Згідно з наявними даними [4, 16], деякі з цих факторів можуть призводити до подій, що є типовими для середини  $G_1$ -фази, зокрема, активація CDK 4/6 є необхідною для індукції відмирання нейронів. В інших випадках цикл має тривати далі, і кроки, що є типовими для  $G_1/S$  переходу, потрібні при загибелі нейронів. Нарешті, є умови, в яких білки клітинного циклу можуть повторно експресуватись, але не сприяють відмиранню нейронів. Копані та співр. [6] висунули гіпотезу, що передача сигналів клітинного циклу є обов'язковою для демісії нейрона, коли інші механізми недостатні для нейродегенерації. За цією схемою передсмертну межу встановлено рівнем пошкодження ДНК. Кожного разу, коли пошкодження ДНК є нижчим від цієї межі, передача сигналів клітинного циклу стає критичною для індукції відмирання нейронів через р53 залежний чи незалежний шляхи.

Інше питання, яке виникає у результаті вищезазначених обговорень, чи є підстави стверджувати, що відмирання нейронів при нейродегенеративних захворюваннях відбувається шляхом апоптозу? Деякі вчені [6] заперечують факт апоптозу при нейродегенерації. Смерть клітин при нейродегенеративних захворюваннях має морфологічні особливості апоптозу, але при цьому є ознаки, що не подібні на класичний процес апоптозу. В першу чергу, фагоцити швидко поглинають апоптичні клітини. Однак у мозку пацієнтів із нейродегенеративними захворюваннями нейрони поволі відмирають, і це може тривати місяцями [46]. Крім того, частина клітин є тетраплоїдами, інші – диплоїдні, залежно від того, як далеко зайшов клітинний цикл за різних умов. Гуляєва і співр. [18] вважають, що найкраще визначити нейронну загибель при нейродегенеративних захворюваннях як апоптозоподібну, підкреслюючи морфологічні особливості відмирання клітини. З іншого боку, є достатньо доказів одночасного виявлення білків клітинного циклу та проапоптичних факторів [7, 15]. Так, активація CDK1 у  $G_2$  періоді може зумовлювати фосфорилування й активацію проапоптичного білка BAD [26]; а активація р53 разом із ушкодженням ДНК неминуче призводить до експресії апоптичних факторів [41]. Однак необхідне продовження вивчення особливостей клітинного циклу нейронів і його ролі у патогенезі нейродегенеративних захворювань для більш чіткого розуміння зв'язку між активацією до поділу та загибеллю нервових клітин.



## ВИСНОВКИ

Спільним для всіх дегенеративних захворювань центральної нервової системи є зниження стійкості нервових клітин до активаторів апоптозу. Однак ланцюг подій, що призводить до апоптозу, має суттєві відмінності при різних захворюваннях. Після диференціації нейрони стають постмітотичними клітинами, більше того, своїми функціональними особливостями вони зобов'язані саме відмові від активності клітинного циклу. Тому виявлення активації факторів клітинного циклу в нейронах, очевидно, є проявом патологічних процесів, а саме, це може бути частиною регульованої відповіді на стресові чинники різного походження. На це вказує той факт, що проліферативні білки у нейронах здатні виконувати не стандартні функції активації клітинного поділу, а функції посередників для запуску програмованої загибелі. Переконливі докази нейропротекторної дії інгібіторів апоптозу показують перспективу створення ефективних лікарських засобів.

Вплив факторів зовнішнього середовища може мати значення при виникненні нейродегенерацій, проте ці впливи та механізми їхньої дії ще не достатньо вивчені. Актуальними залишаються дослідження як екзогенних, так і ендогенних сигнальних шляхів відмирання клітин центральної нервової системи.

1. *Beal M., Flint N.* Parkinson's disease. Experimental models of Parkinson's disease. **Nature Rev. Neuroscience**, 2001; 2: 325–334.
2. *Bossey-Wetzel E., Barsoum M., Godzik A., et al.* Mitochondrial fission in apoptosis, neurodegeneration and aging. **Current Opinion in Cell Biology**, 2003; 15(6): 706–716.
3. *Camins A., Sureda F., Junyent F. et al.* An overview of investigational antiapoptotic drugs with potential application for the treatment of neurodegenerative disorders. **Expert Opin. Investig. Drugs**, 2010; 19(5): 587–604.
4. *Castedo M., Perfettini J.L., Roumier T. et al.* Cyclin-dependent kinase-1: linking apoptosis to cell cycle and mitotic catastrophe. **Cell Death. Differ.**, 2002; 9(12): 1287–1293.
5. *Cooper A., Gitler A., Cashikar A.*  $\alpha$ -Synuclein Blocks ER-Golgi Traffic and Rab1 Rescues Neuron Loss in Parkinson's Models. **Science**, 2006; 313(57): 328–335.
6. *Copani A., Melchiorri D., Caricasole A. et al.* Beta-amyloid-induced synthesis of the ganglioside GD3 is a requisite for cell cycle reactivation and apoptosis in neurons. **J. Neurosci**, 2002; 22(10): 3963–3968.
7. *Currais A., Hortobagyi T., Soriano S.* The neuronal cell cycle as a mechanism of pathogenesis in Alzheimer's disease. **Aging**, 2009; 1(4): 363–371.
8. *da Costa A.C., Checler F.* Apoptosis in Parkinson's disease: Is p53 the missing link between genetic and sporadic Parkinsonism? **Cell Signal**, 2010; in print.
9. *De Zio D., Giunta L., Corvaro M., et al.* Expanding roles of programmed cell death in mammalian neurodevelopment. **Cell. Dev. Biol**, 2005; 16(2): 281–294.
10. *Demir O., Singh S., Klimaschewski L. et al.* From birth till death: neurogenesis, cell cycle, and neurodegeneration. **Anat. Rec. (Hoboken)**, 2009; 292(12): 1953–1961.
11. *Dranovsky A., Vincent I., Gregor L. et al.* Cdc2 phosphorylation of nucleolin demarcates mitotic stages and Alzheimer's disease pathology. **Neurobiol. Aging**, 2001; 22(4): 517–528.
12. *Driscoll M., Gerstbrein B.* Dying for a cause: invertebrate genetics takes on human neurodegeneration. **Nature Reviews**, 2003; 4: 181–193.
13. *Edinger A., Thompson C.* Death by design: apoptosis, necrosis and autophagy. **Current Opinion in Cell Biology**, 2004; 16(6): 663–669.

14. *Elmore S.* Apoptosis: a Review of Programmed Cell Death. **Toxicologic Pathology**, 2007; 35: 495–516.
15. *Erol A.* Are paradoxical cell cycle activities in neurons and glia related to the metabolic theory of Alzheimer's disease? **J. Alzheimers Dis**, 2010; 19(1): 129–135.
16. *Friedlander R.* Apoptosis and Caspases in Neurodegenerative Diseases. **Engl. J. Med**, 2003; 348: 1365–1375.
17. *Gil G.M., Rego A.C.* Mechanisms of neurodegeneration in Huntington's disease. **Eur. J. Neurosci**, 2008; 27: 2803–2820.
18. *Gulyaeva N.V.* Cell cycle induction in postmitotic mature neurons and neurodegeneration: a basic for novel Therapeutic strategies in neurodegenerative disease? **Нейрохимия**, 2004; 21(3): 190–194.
19. *Haass C., De Strooper B.* The presenilins in Alzheimer's disease – proteolysis holds the key. **Science**, 1999; 286: 916–919.
20. *Heng M.Y., Detloff P.J., Albin R.L.* Rodent genetic models of Huntington disease. **Neurobiol. Dis**, 2008; 27: 11–18.
21. *Hernandez-Ortega K., Ferrera P., Arias C* Sequential expression of cell cycle regulators and Alzheimer's disease related proteins in entorhinal cortex after hippocampal excitotoxic damage. **J. Neurosci. Res**, 2007; 85(8): 1744–1751.
22. *Herrup K., Busser J.C.* The induction of multiple cell cycle events precedes target-related neuronal death. **Development**, 1995; 121(8): 2385–2395.
23. *Hom R.K., Bowers S., Sealy J.M., et al.* Design and synthesis of disubstituted thiophene and thiazole based inhibitors of JNK. **Bioorg. Med. Chem. Lett**, 2010; 20(24): 7303–7307.
24. *Husseman J.W., Nochlin D., Vincent I.* Mitotic activation: a convergent mechanism for a cohort of neurodegenerative disease. **Neurobiol. Aging**, 2000; 21(6): 815–828.
25. *Ishimura R., Martin G.R., Ackerman S.L.* Loss of apoptosis-inducing factor results in cell-type-specific neurogenesis defects. **J. Neurosci**, 2008; 28: 4938–4948.
26. *Konishi Y., Lehtinen M., Donovan N. et al.* Cdc2 phosphorylation of BAD links the cell cycle to the cell death machinery. **Mol. Cell**, 2002; 9(5): 1005–1016.
27. *Lin S., Chong Z.Z., Maiese K.* Cell cycle induction in post-mitotic neurons proceeds in concert with the initial phase of programmed cell death in rat. **Neurosci. Lett**, 2001; 310(2-3): 173–177.
28. *Lukiw W.J., Bazan N.G.* Survival signalling in Alzheimer's disease. **Biochem. Soc. Trans**, 2006; 34: 1277–1282.
29. *Martin L.J., Liu Z., Chen K. et al.* Motor neuron degeneration in amyotrophic lateral sclerosis mutant superoxide dismutase-1 transgenic mice: mechanisms of mitochondriopathy and cell death. **J. Comp. Neurol**, 2007; 500: 20–46.
30. *Mattson S., Scotte M., Garier S. et al.* Differential expression of apoptosis-associated genes post-hepatectomy in cirrhotic vs. normal rats. **Apoptosis**, 2000; 5(2): 173–179.
31. *Miller M.W., Peter A., Wharton S.B., et al.* Proliferation and death of conditionally immortalized neural cells from murine neocortex: p53 alters the ability of neuron-like cells to re-enter the cell cycle. **Brain Res**, 2003; 7: 57–66.
32. *Nguyen M.D., Boudreau M., Kriz J. et al.* Cell cycle regulators in the neuronal death pathway of amyotrophic lateral sclerosis caused by mutant superoxide dismutase1. **J. Neurosci**, 2003; 23(6): 2131–2140.
33. *Nunomura A., Moreira P.I., Lee H.G.* Neuronal death and survival under oxidative stress in Alzheimer and Parkinson diseases. **CNS Neuronal Disorder Drug. Targets**, 2007; 6: 411–423.
34. *Pasinelli P., Brown R.H.* Molecular biology of amyotrophic lateral sclerosis: insights from genetics. **Nat. Rev. Neurosci**, 2006; 7: 710–723.

35. Pérez-Martínez D.A. The role of lithium in neurodegenerative diseases: new registries for old actors. **Neurologia**, 2009; 24(3): 143146.
36. Ranganathan S., Bowser R. Alterations in G-1 to S-phase cell cycle regulators during amyotrophic lateral sclerosis. **Am. J. Pathol**, 2003; 162(3): 823–835.
37. Rigamonti D., Bauer J.H., De-Fraja C. et al. Wild-type huntingtin protects from apoptosis upstream of caspase-3. **J.Neurosci**, 2000; 20: 3705–13.
38. Robert M., Friedlander M.D. Apoptosis and caspases in neurodegenerative disease. **N. Engl. Med**, 2003; 348: 1365–1375.
39. Suzuki T. Molecular cloning of a novel apoptosis-related gene human Nap1 (NCKAP1) and its possible relation to Alzheimer disease. **Genomics**, 2000; 63: 246–254.
40. Ueberham U., Hessel A., Arendt T. Cyclin C expression is involved in the pathogenesis of Alzheimer's disease. **Neurobiol. Aging**, 2003; 24: 427–435.
41. Viana R., Fonseca M., Ramalho R. et al. Organelle stress sensors and cell death mechanisms in neurodegenerative diseases. **CNS Neuronal Disorder Drug/ Targets**, 2010; 9(6): 679–692.
42. Vincent I., Rosado M., Davies P. Mitotic mechanisms in Alzheimer's disease? **J. Cell Biol**, 1996; 132(3): 413–425.
43. Walsh E.P., Brown N.H. A screen to identify *Drosophila* genes required to integrin-mediated adhesion. **Genetics**, 1998; 150(2): 791–05.
44. Wang X. The anti-apoptotic activity of melatonin in neurodegenerative diseases. **CNS Neurosci. Ther.**, 2009; 15(4): 345–7.
45. Whitworth A., Wes P., Pallanck L. *Drosophila* models pioneer a new approach to drug discovery for Parkinson's disease. **Drug. Discov. Today**, 2006; 11: 119–126.
46. Yang Y., Mufson E.J., Herrup K. Neuronal cell death is preceded by cell cycle events at all stages of Alzheimer's disease. **J. Neurosci**, 2003; 23(7): 2557–2563.
47. Zhivotovsky B, Orrenius S. Cell cycle and cell death in disease: past, present and future. **J. Intern Med**, 2010; 268(5): 395–409.
48. Zhu X., Mc Shea A., Peggy L.R. et al. Elevated expression of a regulator of the G2/M phase of the cell cycle, neuronal CIP1 associated regulator of cyclin B, in Alzheimer's disease. **J. Neurosci. Res**, 2004; 75(5): 698–703.
49. Zhu X., Siedlak S.L., Wang Y. et al. Neuronal binucleation in Alzheimer disease hippocampus. **Neurobiol**, 2008; 34(4): 457–465.

---

## MECHANISMS OF CELL DEATH IN NEURODEGENERATIVE PROCESSES

**N. P. Matiytsiv**

*Ivan Franko National University of Lviv, 4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine*

*e-mail: m.n.p@mail.ru*

Processes of apoptotic cell death as the main mechanism of neurodegeneration in different types of pathologies are described. Evidence is presented on cell cycle activation in differentiated neurons and on relation between proliferation factors and regulation of neuron death. Hypothesis is referred on possible therapeutic strategies of the mechanisms of pathogenesis of degenerative diseases of nervous system.

**Key words:** neurodegenerative diseases, apoptosis, cell cycle, apoptosis inhibitors.

## МЕХАНИЗМЫ КЛЕТочНОЙ СМЕРТИ ПРИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ПРОЦЕССАХ

**Н. П. Матійців**

*Львовский национальный университет имени Ивана Франко  
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина  
e-mail: m.n.p@mail.ru*

В обзоре рассмотрены процессы апоптической гибели клеток центральной нервной системы как основного механизма нейродегенерации при различных типах патологий. Описаны доказательства активации клеточного цикла в дифференцированных нейронах и связь факторов пролиферации с регулируемой гибелью нервных клеток. Приведены гипотезы возможных терапевтических стратегий в свете указанных механизмов патогенеза дегенеративных заболеваний нервной системы.

**Ключевые слова:** нейродегенеративные заболевания, апоптоз, клеточный цикл, ингибиторы апоптоза.

Одержано: 27.09.2010