

Příčiny patologické konformace bílkovin

Konformační změna je změna sekundární, terciální nebo kvartérní **struktury** proteinu, aniž by se změnila jeho struktura primární. Sbalování proteinů je **sled konformačních přeměn**, který umožňuje polypeptidovému řetězci zaujmout biologicky aktivní strukturu. Ke sbalování dochází během translace i *in vitro* při renaturaci. Tento **proces je velmi komplexní** a o zákonitostech jeho průběhu zatím nejsou dostatečně známé informace. Zatímco malé jednořetězcové bílkoviny se obvykle svinují do své nativní struktury samovolně, kdy je proces sbalování dán jejich primární strukturou, větší komplexní bílkoviny někdy potřebují ke správnému svinutí pomocnou bílkovinu tzv. **chaperon**.

Společným znakem nemocí způsobených patologickou konformací proteinů je tvorba struktur β -skládaného listu, ta je obvykle stabilizována oligomerizací a agregací proteinu. Důsledkem tohoto procesu vznikají **depozita** amyloidu podobných agregátů v nejrůznějších orgánech, dochází k jejich **poškození a ztrátě funkcí** proteinu. Konformační defekt způsobuje nemoc.

Chaperony

 *Podrobnější informace naleznete na stránce Chaperony.*

Chaperony jsou proteiny podílející se na **sbalování** dalších bílkovin. Chrání je před vznikem patologických konformací. Chaperony jsou **ATP-asy**, které jsou nespecifické ke svým ligandům. Jejich syntéza nastává při buněčném stresu jako např. změnách teploty, chladu, vlivem detergentů, změnou pH, iontové síly, účinkem toxických látek a snad i některých potravin. Syntézou chaperonů se tedy buňka brání denaturačním účinkům stresových faktorů.

1. **Molekulární:** Rozpoznávají patologický protein, váží se na hydrofobní povrch a inhibují agregaci. Patří sem hlavně tzv. **heat shock proteiny** (vznikající při tepelném poškození) – chrání před denaturací.
2. **Chemické:** Upravují podmínky uvnitř buněk, stabilizují proteiny proti tepelné a chemické denaturaci (glycerol).
3. **Farmakologické:** Váží se na specifickou konformaci, stabilizují ji. Prevence před proteosomální degradací.

Uplatnění:

- pomáhají proteinům se správně sbalit;
- mohou umožnit bílkovině se i rozbalit;
- zabraňují bílkovinám sbalit se předčasně;
- zabraňují intermolekulárním interakcím ještě nesbalených proteinů a tím i jejich precipitaci.

Problematika sbalování proteinu

Dnes známe primární strukturu asi 100 000 bílkovin, terciální struktura je objevena asi u desetiny z nich. Problém sbalování proteinů není jednoduchou záležitostí, protože **protein vystřídá několik konformací**, než se stane funkčním. **Princip samosbalování** není úplně jednoduchý, protože by trval příliš dlouho, a produkty by zřejmě ihned reagovaly s dalšími látkami v cytoplasmě a vznikla by tak nerozpuštělná směs.

Anfinsenův postulát

Nativní prostorové uspořádání bílkoviny je určeno samotným pořadím aminokyselin v jejím řetězci^[1] Nevýznamnější roli hrají aminokyseliny proteinového jádra a hydrofobní interakce mezi nimi. Rychlost sbalování odpovídá tomu, jak jsou od sebe vzdálené aminokyseliny, které na sebe vzájemně působí. Interagují-li spolu aminokyseliny, které spolu v řetězci sousedí, probíhá sbalování rychleji. Naopak je-li pro sbalení potřebná interakce mezi vzdálenými aminokyselinami, bude probíhat pomalu.

Levinthalův paradox

Sbalování proteinu je řízeno **termodynamicky** – protein se sbaluje do energeticky nejvýhodnější konformace. Toto sbalování ale nemůže probíhat zcela náhodně, protože možných konformací je ohromné množství; kdyby měl protein postupně procházet mnoha možnými konformacemi, trvalo by sbalování mnohem déle, než ve skutečnosti pozorujeme^[2].

Nativní struktura vzniká termodynamicky, avšak jejímu vzniku předchází vytvoření několika meziproductů. Sbalování začíná v tzv. nukleačních centrech – částech polypeptidového řetězce, které mají uspořádanější strukturu. Nukleační centra se sbalí jako první; tím je určeno další sbalování proteinu a výrazně snížen počet možných konformací, které může protein během sbalování zaujímat.

Důsledek patologické konformace proteinů

1. **Vznik toxické bílkoviny: Neurodegenerativní onemocnění** – chronické, progresivní onemocnění; ztráta neuronů; kumulace patologických proteinů a vznik agregátů (Alzheimerova choroba, Parkinsonova choroba,

Hungtingtonova choroba).

2. **Ztráta funkce:** Cystická fibrosa - mutace genu pro chloridový kanál.

3. **Ukládání: Amyloidosy** – fibrily nejsou toxické, ale nerozpustné. Ukládání způsobuje poškození tkání.

Nemoci způsobené patologickou konformací proteinů

Patří sem např. **Amyloidóza**, Alzheimerova nemoc nebo Parkinsonova nemoc.

Patologická konformace proteinů u Alzheimerovy choroby

 *Podrobnější informace o diagnostice, klinickém obrazu a terapii naleznete na stránce Alzheimerova choroba.*

Alzheimerova choroba je **progresivní degenerativní onemocnění mozku**, kdy se extracelulárně ukládají deposita β -amyloidu. Podklad nemoci je genetický, špatně sbalené proteiny se postupem času střádají. Prekurzorový protein, který je špatně štěpený, je **β -amyloidní prekurzorový protein** (β -APP). V mozku pacienta se vyskytují minimálně **dva různé proteinové agregáty**:

1. chybně složený cytoskeletární **protein tau**;
2. plaky tvořené fragmenty membránového proteinu β -APP (β -amyloid, viz dále)



Vznik amyloidních plaků

β -APP je transmembránový protein nejasné funkce. Normálně se štěpí na jiném místě, pak jeho fragmenty nemají patologickou funkci. Blízko N-konce (viz obrázek) proteinu se vyskytuje sekvence aminokyselin (je jich 42) zvaná amyloidní β -peptid. Právě tento fragment vytváří ony proteinové agregáty nalézané v mozcích pacientů s diagnózou Alzheimerova choroba. Amyloidní β -peptid snadno polymerizuje za vzniku nerozpustných fibrilárních struktur. Tyto **neuritické plaky** se sporadicky vyskytují i u zdravých jedinců, avšak u pacientů s Alzheimerovou chorobou jsou přítomny ve velkém množství. Ze struktur mozku je postižen hlavně hippocampus (nejvyšší výskyt plaků). Reaktivní mikrogliální buňky postupem času plaky infiltrují, dochází také k obklopení astrocytárními buňkami. To má za následek uvolnění volných O_2 radikálů a cytokinů, což se projeví jako aseptický zánět. Nakonec okolní neurony odumírají. Jelikož největší nakupení amyloidu je v oblasti hippocampu, pacienti mají největší problémy s pamětí, jsou dezorientovaní a nedokáží se sami o sebe postarat.

Terapie Alzheimerovy choroby

- inhibice a opravení konformačních změn;
- vývoj nových peptidů (β -sheet breakers);
- chaperony – experimentálně studovány.

Patologická konformace proteinů u Parkinsonovy choroby

 *Podrobnější informace o diagnostice, klinickém obrazu a terapii naleznete na stránce Parkinsonova choroba.*

Hlavní příčinou časně vznikající autosomálně recesivní familiární PD a izolované juvenilní PD (vznik do věku 20 let) jsou mutace genu *parkin*. Genetické vyšetření je k potvrzení diagnózy nutné (klinický obraz není dostačující).

Patogenetickým podkladem je úbytek dopaminergních neuronů v mozku (např. oblast substantia nigra). Buňky postupně chřadnou a v jejich nitru se pozvolna objevují tzv. **Lewyho tělíska**. Jejich vznik a význam je nejasný, jsou však pro Parkinsonovu chorobu charakteristické. Zánik těchto neuronů není úplný a není ani jediným podkladem vzniku choroby. Také některé další populace buněk (cholinergní, serotoninergní, adrenergní) bývají postižené, i když ne tak výrazně. Není známo, co tyto populace spojuje a proč zbylá část mozku zůstává více-méně intaktní. Parkinsonova choroba postihuje také některé nervové buňky mimo mozek – nervové buňky v mazových žlázách kůže (mastná kůže Parkinsoniků, rozvíjí se seborrhoická dermatitida). Také se vyskytuje zácpa, dysurie, impotence.

Místem, kde dochází k největšímu poškození je již zmiňovaná **substantia nigra**. Z této lokality vycházejí axony neuronů nahoru k buňkám bazálních ganglií. Ty se účastní procesu regulace pohybů. Nepodléhají přímo degeneraci, ovlivňuje je však úbytek dopaminu (a tedy „špatná“ informace) ze substantia nigra. Hlavním důsledkem různých propojení v mozku je nakonec **zvýšená aktivita globus pallidus** – tím dochází k nadměrné stimulaci thalamu. To vysvětluje možnost neurochirurgické léčby – pallidotomie – kdy může dojít k částečné úpravě příznaků choroby.

První příznaky se objeví až tehdy, když se produkce dopaminu v buňkách substantia nigra sníží o 80%. Prakticky to znamená úbytek alespoň poloviny dopaminergních neuronů. Mozek tedy kompenzuje značný úbytek dopaminu, aniž by se to klinicky projevilo.

Priony a jimi způsobená onemocnění

Scrapie

Skrapie je nepochybně nejdéle známá prionopatie. U postižené ovce se nejdříve projeví útlum, který se střídá s obdobími přehnané aktivity (se zvířetem „sijou všichni čerti“). Později se může objevit silné svědění. V následujících fázích choroby se objeví poškození CNS (narušena koordinace pohybů) – zvířata našlapují zvysoka, jako kdyby

klusala (proto český lidový název klusavka). Nemoc končí ochrnutím a smrtí ovce. Člověk se prionem nenakazí, zřejmě není možné, aby ovčí prion sloužil jako matrice pro proměnu lidského PrPC (na rozdíl od prionů skotu, který toto umí a lidé pak onemocní novou variantou Creutzfeldt-Jakobovy choroby, viz níže).

Bovinní spongiformní encefalopatie

BSE („nemoc šílených krav“) byla **u skotu** pozorována poprvé v roce **1986**. O deset let později byla také popsána nová varianta **Creutzfeldt-Jakobovy nemoci** (CJD). Stoupá počet důkazů o podobnosti původce BSE a původce nové varianty CJD. Nemocí šílených krav se nazývá proto, že v pozdních stádiích vyvolává u zvířat zvláštní chování. Makroskopický nález na mozku (*pórovatění*) v pozdějších stádiích připomíná houbu (spongiformní = houbovitěrné). Variantou BSE by mohlo být (dle předpokladů) onemocnění ovčí scrapie. Inkubační doba onemocnění je několik let. Zatím nemáme důkaz (resp. konkrétní případ), že by byl přenos na člověka možný.

Patogeneza: Prionový celulórní protein (**PrPC**) se **přirozeně vyskytuje** na membránách gangliových buněk mozku. Podílí se na regulaci procesů spánku a bdění a na udržování homeostatických mechanismů organismu. PrPC může měnit svou konformaci na patologickou izoformu PrPSc (příčiny nejsou objasněny). PrPC a PrPSc se neliší v primární struktuře, rozdíly ale nalezneme v prostorovém uspořádání. PrPSc je ze 41 % strukturně β -skládaný list, zatím co PrPC ze 42 % α -helix. Díky tomu získává PrPSc extrémní odolnost vůči chemickým a fyzikálním vlivům a účinkům proteáz.

Creutzfeldt-Jakobova nemoc

CJD je velice **vzácné onemocnění** patřící do skupiny **transmisivních spongiformních encefalopatií**. Tato nemoc se vyskytne asi u 1 člověka z milionu. Příčinou je vznik **patologické bílkoviny** v mozku některých lidí. Prionová bílkovina se u CJD dostane do buněk mozku a v nich se zachová jako virus. Postižené buňky jsou nakonec tak zaplněné prionovými bílkovinami, že prasknou a odumrou. Nemoc se začne projevovat rychle postupujícím **rozpadem osobnosti a demencí**. Proces by se dal připodobnit k rychle a velmi těžce probíhající Alzheimerově chorobě, která je navíc spojená s vážným narušením pohyblivosti a třesem. Od objevení se prvních příznaků člověk **zemře do několika měsíců**.