

Moleküler Şaperonlar ve Epilepsi Molecular Chaperones and Epilepsy

Cenk Orak, Ferhat Şirinyıldız

Arş.Gör., Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fiziyoloji Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye

Özet

Proteinlerin üç boyutlu yapısının oluşturulmasında rol alan moleküler şaperonların düzeyi hücrel stres etkenlerinin artışıyla paralellik göstermektedir. Yüksek sıcaklık, hipoksi, alkol ve arsenik gibi toksinler ile inflamasyonda hücre içi konsantrasyonu artan moleküler şaperonlara, ısı şok proteinleri (İŞP) adı verilmektedir. Alzheimer ve Parkinson gibi nörodejeneratif hastalıklarda olduğu gibi epilepside de İŞP'lerin patofizyolojik rolü olabileceği düşünülmektedir. Anormal deşarjların olduğu bölgenin lokalizasyonundan, nöbet şiddeti ve hücre hasarının belirlenmesine kadar geniş bir yelpazede İŞP'ler gelecek vaad etmektedir. Tüm bunların yanı sıra hücrel ve moleküler mekanizmaların aydınlatılması yeni tedavi yaklaşımları için farmakolojik hedefleri de ortaya koyacaktır.

Anahtar kelimeler: Epilepsi, hücrel stres, şaperon

Summary

The level of molecular 'chaperones' involved in the formation of the three-dimensional structure of proteins correlates with the increase of cellular stressors. The molecular 'chaperons' that increase intracellular concentration during exposure to high temperature, hypoxia, toxins such as alcohol and arsenic, and inflammation are called heat shock proteins (HSP). As in neurodegenerative diseases such as Alzheimer's and Parkinson's, HSPs are thought to have a pathophysiological role for epilepsy. From the localization of the region with abnormal discharges, to the determination of seizure severity and cell damage, there is a promising future of the HSPs. In addition, elucidation of the cellular and molecular mechanisms will reveal pharmacological targets for new therapeutic approaches.

Key words: Epilepsy, cellular stress, chaperone

Kabul tarihi: 21.12.2017

Giriş

Moleküler şaperonlar, diğer proteinlerin katlanmasını kolaylaştıran veya polipeptitleri stabilize ederek hatalı katlanmalarını engelleyen proteinlerdir (1). Katlanma hataları en çok yüksek sıcaklıkta meydana geldiği için, bugün moleküler şaperon olarak bildiğimiz proteinlerin çoğu başta yüksek sıcaklığa maruziyet olmak üzere bazı hücrel koşullarda sentezlenen ve ısı şok proteinleri (İŞP) olarak adlandırılan bir grup proteini tanımlar (2,3).

Isı şok proteinlerinin artmasıyla sonuçlanan pek çok stres etkeni durumu ilişkili sürece ısı şok yanıtı adı verilmektedir. Uzun süren açlık, hipoksi, dehidratasyon, inflamatuvar süreçler, alkol, ultraviyole ışınlarına maruziyet ve bazı toksik bileşenler ile iz elementlerin alımı ısı şok yanıtını başlatabilmektedir (4). İŞP'ler neredeyse tüm ökaryot ve prokaryot hücrelerde normal düzeylerde bulunup birçok stres koşuluna bağlı olarak ısı şok yanıtında artış gösterdiği için bu proteinlere "stres

proteinleri" ismi de verilmektedir. Hücrede sinyal iletiminde, nörodejeneratif hastalıklarda, neoplastik süreçlerde ve immunolojik gelişimde stres yanıtının bir bileşeni olarak devreye girdikleri düşünülmektedir (5).

İŞP'ler çok sayıda proteinin ısı şoku süresince kümelenecek çökmesini engelleyen, denatüre olmuş proteinleri tanıyarak tekrar katlanmalarına yardımcı olan ve tüm bu işlemleri yapmak için gerekli zamanı sağlamak üzere apoptozu engelleyen güçlü düzenleyici moleküler şaperonlar olarak diğer tüm proteinler gibi hücrel stres etkenlerine maruz kalırlar (6,7,8). Ancak sağlam moleküler yapıları, kuvvetli hidrojen bağları ve hücre içi lipofilik paketlenmeleri dolayısıyla diğer proteinlere kıyasla daha düşük hasara maruz kalmaktadırlar (9). Bu özellikleriyle neoplastik hücrelerin korunarak malignitelerinin devam ettirilmesine de sebep olmaktadır (10).

Moleküler ağırlıklarına göre en önemli ısı şok proteini aileleri İŞP 100, İŞP 90, İŞP 70, İŞP 60 ve küçük boyutlu İŞP proteinleridir (9).

İŞP 100

Yüz-110 kDa moleküler ağırlığa sahip olan bu grup proteinler stres altında bulunmasa bile normal olarak hücrelerde bazal seviyede sürekli olarak sentezlenmektedirler. Fizyolojik koşullar altında bu proteinler, moleküler şaperonlar gibi fonksiyon göstererek proteinlerin yeniden düzenlenmesinde görev almaktadır. Isıya karşı toleransın geliştirilmesinde rol oynadıkları öngörülmektedir. İŞP 100 protein kümelerini ayırmak için onları eritir. Özellikle İŞP 100 ailesi içinde yer alan İŞP 104, yeni kümelenmiş proteinleri kurtarma yeteneğine sahiptir (11).

İŞP 90

İŞP 100 ailesine oldukça benzeyen bir molekül olarak birlikte hücre iskeleti üzerine etki ederler. Kalmodulin ve aktin bağlayıcı etkinlikleri söz konusu olup bu etkileri için hücre içi kalsiyum iyonuna ve ATP'ye ihtiyaç duyarlar (12,13,14). Normal hücre bölünmesinde görev yapan proteinlerin stabilizasyonunda, hücrenin büyümesi ve onarımı sırasında gerekli olan hücre dışı uyaranların etkilerinin düzenlenmesinde rol alırlar (15). "Vascular Growth Endothelial Factor" (VGEF) ve "Epidermal Growth Factor" (EGF) reseptörlerinin fonksiyonlarını düzenleyerek tümör gelişiminin devamlılığında önem taşırlar (16). Tümör hücrelerinde ısı şok yanıtının oluşmasıyla konsantrasyonu artan İŞP90 tümörün yaşam süresini uzattığı için, İŞP90'ın inhibe edilmesi bazı neoplastik hücrelerin dirençlerini kırabilmektedir (16).

İŞP 70

Hücrenin nekrozuna bağlı olarak İŞP60'la birlikte hücre dışında da bulunabilen İŞP70 hücre içi proteinlerin çökmesinin engellenmesi ve çöken proteinlerin çözünebilir hale getirilip yeniden katlanmasında görev almaktadır (4,17). Aynı zamanda İŞP70'in kanser hücre kültürlerinde p53 ve p21 protein fonksiyonları üzerinden malign hücre ömrünü uzattıkları gösterilmiştir (19). İŞP70 ailesinin tüm bu etkileri için ortamda glutamin bulunmalıdır, glutamin düzeyleri düşük bireylerde yeterli düzeyde İŞP70 eksprese edilememektedir (18).

İŞP 60

Aynı zamanda 'chaperonin' olarak da bilinen İŞP60; İŞP70 ve İŞP90'la birlikte üç büyük moleküler şaperon ailesinden biri olarak en yüksek oranda mitokondriyal matrikste bulunmaktadır (20). İŞP60, mitokondriyal proteinlerin katlanmasında yer alarak yanlış katlanmış veya denatüre olmuş proteinlerin proteolizinde görev yapar. Bu etkisini ATP bağımlı olarak İŞP10 ile birlikte gösterir (21).

Küçük boyutlu İŞP'ler

Yapısında alfa kristalin içeren ve 12-43 kDa ağırlığında olan birçok moleküler şaperon proteini bu gruba dahildir (22). İnsan lensinin yapısında bulunarak katarakt gelişimini önledikleri bilinmektedir (23,24). Küçük boyutlu İŞP'lerin mutasyona uğradıklarında Alzheimer ve Parkinson hastalığı patofizyolojisinde yer aldıkları; kalp, beyin, böbrek ve intestinal iskemi reperfüzyon hasarında koruyucu rol oynadıkları gösterilmiştir (22,23,25).

Moleküler Şaperonların Epilepsideki Rolü

Epilepsi, beyindeki olağandışı veya senkronize nöronal deşarjlar sonucu oluşan geçici semptomların (nöbetlerin) eşlik ettiği, çoğunlukla kronik olan nörolojik bir rahatsızlıktır (26). Epileptogenez ise beyinde tekrarlayan spontan nöbetlerin kalıcı bir duruma dönüşmesini sağlayan moleküler ve hücrel değişiklikler sonucu meydana gelen hücrel hasar sürecini tanımlamaktadır (27). Epileptogenezde ısı şok proteinlerinin rolünü anlamak terapötik müdahale için moleküler hedeflerin belirlenmesine yardımcı olabilecektir.

Sinir sisteminde serebral iskemi, nörodejeneratif hastalıklar, travma ve epilepsi gibi patolojiler sonucu İŞP'ler indüklenmektedir. İŞP'lerin artan ekspresyonları nöronlar, glialar ve endotelial hücrelerden tespit edilebilmektedir. Bağlantılı olarak bu hücrelerin ölümüne neden olabilecek epileptik nöbetler gibi her türlü patolojik süreçte artan İŞP konsantrasyonlarını tespit etmek mümkündür (29).

Küçük boyutlu İŞP ailesinin bir üyesi olan İŞP27'nin dirençli epileptiform aktivite gösteren neokortekte yüksek konsantrasyonlara ulaştığı gösterilmiştir. Bu artış nöral hücrelerle sınırlı kalmayıp glial hücrelerde de meydana gelmektedir. Fokal epilepsilerde artan İŞP

konsantrasyonundan yararlanarak epileptik odağın belirlenmesinden yararlanılabileceği gibi artan İŞP-27 düzeylerine sekonder olarak, İŞP-27'yi inhibe eden İŞP-BAP1 düzeylerinin de artması dolayısıyla İŞP-BAP1'in epilepside koruyucu bir rol oynayabileceği düşünülmektedir (28).

İŞP70'in kainik asit (KA) ile indüklenmiş olan deneysel temporal lob epilepsisi modelinde rolü tam olarak kanıtlanamasa da etkisi tespit edilmiştir. KA uygulanmasının ardından hipokampal nöronlarda KA dozuyla ilişkili olarak İŞP70 ekspresyonunun arttığı tespit edilmiştir. Bununla beraber artan İŞP70 düzeyinin kesin bir nöroproteksiyona neden olduğu tespit edilememiş, yalnızca akut fazdaki epileptik nöbetlerin bir ayırıcı olabileceği çıkarımına varılmıştır (30).

Akut epileptik fazda fokal İŞP 70 düzeyindeki artışın hem epilepsi hem de inmede nöronal sağkalımı desteklediği sonucuna ulaşılmıştır. Yanlış katlanan proteinlerin bazı epileptik süreçlere neden olabileceği fikri epileptik süreçlerde İŞP'lerin nöroprotektif olarak kullanılabilmesi yaklaşımını ortaya çıkarmıştır. Böylece gelecekte kronik epilepsi hastalarında nöron hasarını azaltmak için kullanılacak bir gen terapisiyle İŞP 70 proteininin sentezini gerçekleştiren gen grubunda oluşturulabilecek artmış ekspresyonun, yanlış katlanmanın önüne geçerek, nöronal hayatta kalımı sağlayabileceği düşünülmektedir (31).

Deney hayvanlarına ekzojen olarak verilen İŞP70'in korteks, hipokampus, talamus ve hipotalamus gibi bazı beyin bölgelerine nüfus ettiği belirlenmiştir. İŞP70 verilen hayvanlarda kimyasallarla indüklenerek oluşturulan jeneralize tonik klonik epilepsi nöbetlerinin şiddetinin azaldığı tespit edilmiştir. Böylece ekzojen uygulanan İŞP70'in kan beyin bariyerini geçtiği ve antikonvulsif etkileri olabileceği gösterilmiştir (32).

KA ile indüklenmiş olan deneysel epilepsisi olan deney hayvanlarına verilen asma yaprağı ve yaprak sapından elde edilen bir polifenol olan vineatrolün İŞP72 miktarını ve epileptik nöbetlerin şiddetini azalttığı saptanmıştır (33). Bu da İŞP72 miktarını azaltan moleküllerin epileptik nöbet şiddetini azaltabilme potansiyeli olduğunu göstermektedir.

59 gönüllü insan ile yapılan bir çalışmada, İŞP70 düzeyleri ile nöbet şiddeti arasında bir bağlantı bulunmuş ve İŞP70'in nöronal hasarın bir indikatörü olarak değerlendirilebileceği gösterilmiştir (34).

Sonuç

Yıkıcı bir hastalık olan epilepsinin hücrel ve moleküler mekanizmaları olası tedavi hedeflerinin açığa çıkarılmasında önemli bir basamaktır. Isı şoku proteinlerinin keşfi ve ardından patofizyolojik süreçlerdeki rollerinin açığa çıkarılmaya başlanması, bu proteinlerin çoğu nörolojik bozuklukta etkisi olabileceği gibi epilepsi ve epileptogenezde de anahtar rol üstlenebileceğini göstermiştir. Hem epileptik aktivitenin bir indikatörü, hem hücrel hasarın bir belirleyicisi hem de hücre onarımının önemli bir elemanı olarak gösterilen ısı şok proteinleri, tedavi süreçlerinde daha kısa sürede etkili sonuçlar alınabilmesinin önünü açabilecektir.

Kaynaklar

1. Aufricht C. Heat-shock protein 70: molecular supertool? *Pediatric Nephrology* 2005;20(6):707-13.
2. Hubbard TJP, Sander C. The role of heat-shock and chaperone proteins in protein folding: possible molecular mechanisms. *Protein Engineering, Design and Selection* 1991;4(7): 711-7.
3. Hartl FU. Molecular chaperones in cellular protein folding. *Nature* 1996;381(6583):571.
4. Petrof EO, Ciancio MJ, Chang EB. Role and regulation of intestinal epithelial heat shock proteins in health and disease. *Journal of Digestive Diseases* 2004;5(2):45-50.
5. Öztürk E, Kahveci N, Özlük K, Yılmazlar T. Isı şok proteinleri. *Ulusal Cerrahi Dergisi* 2009;25(4):131-6.
6. Milton J, Schle S. How the cell copes with stress and the function of heat shock proteins. *Pediatric Research* 1994;36(1):1-6.
7. Hut HM, Kampinga HH, Sibon OC. Hsp70 protects mitotic cells against heat-induced centrosome damage and division abnormalities. *Molecular Biology of the Cell* 2005;16(8):3776-85.
8. Beere HM. The stress of dying: the role of heat shock proteins in the regulation of apoptosis. *Journal of Cell Science* 2004;117(13): 2641-51.

9. Liang P, MacRae TH. Molecular chaperones and the cytoskeleton. *Journal of Cell Science* 1997;110(13):1431-40.
10. Ciocca DR, Calderwood SK. Heat shock proteins in cancer: diagnostic, prognostic, predictive, and treatment implications. *Cell Stress & Chaperones* 2005;10(2):86-103.
11. Schirmer EC, Glover JR, Singer MA, Lindquist S. HSP100/Clp proteins: a common mechanism explains diverse functions. *Trends in Biochemical Sciences* 1996;21(8):289-96.
12. Koyasu S, Nishida E, Miyata Y et al. HSP100, a 100-kDa heat shock protein, is a Ca²⁺ calmodulin-regulated actin-binding protein. *Journal of Biological Chemistry* 1989;264(25):15083-7.
13. Oksala NK, Laaksonen DE, Lappalainen J et al. Heat shock protein 60 response to exercise in diabetes: Effects of α -lipoic acid supplementation. *Journal of Diabetes and its Complications* 2006;20(4):257-61.
14. Peng X, Guo X, Borkan SC et al. Heat shock protein 90 stabilization of ErbB2 expression is disrupted by ATP depletion in myocytes. *Journal of Biological Chemistry* 2005;280(13):13148-52.
15. Pratt WB, Toft DO. Regulation of signaling protein function and trafficking by the hsp90/hsp70-based chaperone machinery. *Experimental Biology and Medicine* 2003;228(2):111-33.
16. Neckers L, Ivy SP. Heat shock protein 90. *Current Opinion in Oncology* 2003;15(6):419-24.
17. Pockley AG, Bulmer J, Hanks BM, Wright BH. Identification of human heat shock protein 60 (Hsp60) and anti-Hsp60 antibodies in the peripheral circulation of normal individuals. *Cell Stress & Chaperones* 1999;4(1):29.
18. Weitzel LRB, Wischmeyer PE. Glutamine in critical illness: the time has come, the time is now. *Critical Care Clinics* 2010;26(3):515-25.
19. Sherman M, Multhoff G. Heat shock proteins in cancer. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2007;1113(1):192-201.
20. Garrido C, Gurbuxani S, Ravagnan L, Kroemer G. Heat shock proteins: endogenous modulators of apoptotic cell death. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2001;286(3):433-42.
21. Parcellier A, Gurbuxani S, Schmitt E et al. Heat shock proteins, cellular chaperones that modulate mitochondrial cell death pathways. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2003;304(3):505-12.
22. Sun Y, MacRae TH. The small heat shock proteins and their role in human disease. *The FEBS Journal* 2005;272(11):2613-27.
23. Horwitz J. Alpha-crystallin. *Experimental Eye Research* 2003;76(2):145-53.
24. Clark JI, Muchowski PJ. Small heat-shock proteins and their potential role in human disease. *Current Opinion in Structural Biology* 2000;10(1):52-9.
25. Otaka M, Odashima M, Watanabe S. Role of heat shock proteins (molecular chaperones) in intestinal mucosal protection. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2006;348(1):1-5.
26. Fisher RS, Boas WVE, Blume W et al. Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia* 2005;46(4):470-2.
27. Pitkänen A, Lukasiuk K. Molecular and cellular basis of epileptogenesis in symptomatic epilepsy. *Epilepsy & Behavior* 2009;14(1):16-25.
28. Xi ZQ, Sun JJ, Wang XF et al. HSPBAP1 is found extensively in the anterior temporal neocortex of patients with intractable epilepsy. *Synapse* 2007;61(9):741-7.
29. Romi F, Helgeland G, Gilhus NE. Heat-shock proteins in clinical neurology. *European Neurology* 2011;66(2):65-9.
30. Ben-Ari Y. Limbic seizure and brain damage produced by kainic acid: mechanisms and relevance to human temporal lobe epilepsy. *Neuroscience* 1985;14(2):375-403.
31. Yenari MA, Fink SL, Sun GH et al. Gene therapy with HSP72 is neuroprotective in rat models of stroke and epilepsy. *Annals of Neurology* 1998;44(4):584-91.
32. Gupta YK, Briyal S. Protective effect of vineatrol against kainic acid induced seizures, oxidative stress and on the expression of heat shock proteins in rats. *European Neuropsychopharmacology* 2006;16(2):85-91.
33. Briyal S, Sharma M, Gupta YK. Protective Effect of Vineatrol Against Kainic Acid Induced Seizures, Oxidative Stress and Expression of Heat Shock Proteins in Rats. *Epilepsia* 2005;46:371-2.
34. Rejda K, Kuhle J, Rüegg S et al. Neurofilament heavy chain and heat shock protein 70 as markers of seizure-related brain injury. *Epilepsia* 2012;53(5):922-7.

İletişim:

Arş.Gör. Cenk Orak

Adnan Menderes Üniv. Tıp Fak. Fiziyojji AD

E-mail: cenkorak@hotmail.com