

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О РОЛИ ЛИЗОСОМАЛЬНЫХ ПРОТЕИНАЗ В ПАТОГЕНЕЗЕ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

© М.Г. Сорокина, М.А. Фомина, Д.С. Петров

Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова,
Рязань, Российская Федерация

Болезнь Альцгеймера – одно из наиболее распространенных нейродегенеративных заболеваний во всем мире. Изучение молекулярных механизмов данной патологии продолжается более ста лет, но до сих пор не разработана единая концепция патогенеза. Наиболее распространена теория «амилоидного каскада», согласно которой избыточное отложение амилоида (полипептида, образующегося из белка предшественника амилоида) запускает ряд патологических механизмов, в том числе гиперфосфорилирование белка тау, который в норме отвечает за стабилизацию микротрубочек нейронов. Как и все белки, амилоид и тау подвергаются протеолизу, поэтому изучение активности различных катепсинов является перспективным как в плане выявления молекулярных механизмов патогенеза, так и в плане дальнейшего использования активаторов или ингибиторов данных ферментов в качестве лекарственных средств при болезни Альцгеймера.

Среди цистеиновых катепсинов наиболее изучен вклад катепсина В в развитие болезни Альцгеймера, однако накопленные немногочисленные данные довольно противоречивы. С одной стороны, при повышении активности катепсина В увеличивается синтез одной из наиболее патогенной форм амилоида – пироглутамат-амилоид. В других же исследованиях доказана протективная роль данного фермента.

Перспективным направлением является изучение активности катепсинов при болезни Альцгеймера не только в тканях мозга, полученных при аутопсии, и спинномозговой жидкости, но и в тканях, легкодоступных для прижизненной диагностики, например, в клетках крови.

Ключевые слова: *болезнь Альцгеймера, катепсины, катепсин В, протеолиз.*

MODERN VIEWS ON THE ROLE OF LYSOSOMAL PROTEINASES IN THE PATHOGENESIS OF ALZHEIMER'S DISEASE

© M.G. Sorokina, M.A. Fomina, D.S. Petrov

Ryazan State Medical University, Ryazan, Russian Federation

Alzheimer's disease is one of the most common neurodegenerative diseases in the world. The study of the molecular mechanisms of this pathology lasts more than a hundred years, but a single concept of pathogenesis has not yet been developed. The most common theory of the «amyloid cascade», according to which excessive deposition of amyloid (a polypeptide derived from amyloid precursor protein) triggers a number of pathological mechanisms, including hyperphosphorylation of tau protein, which normally is responsible for the stabilization of neuronal microtubules. Like all proteins, amyloid and tau are subject to proteolysis, therefore, the study of the

activity of various cathepsins is promising both in terms of identifying the molecular mechanisms of pathogenesis and in terms of the further use of activators or inhibitors of these enzymes as drugs in Alzheimer's disease.

Among cysteine cathepsins, the contribution of cathepsin B to the progression of Alzheimer's disease is the most studied, but the accumulated few data are rather contradictory. On the one hand, with an increase in cathepsin B activity, the synthesis of one of the most pathogenic forms of amyloid, pyroglutamate-amyloid, increases. In other studies, the protective role of this enzyme has been proven.

A promising direction is to study the activity of cathepsins in Alzheimer's disease, not only in brain tissues obtained by autopsy, and cerebrospinal fluid, but also in tissues readily available for in vivo diagnosis, for example in blood cells.

Keywords: *Alzheimer's disease, cathepsins, cathepsin B, proteolysis.*

Болезнь Альцгеймера (БА) – одно из наиболее распространенных нейродегенеративных заболеваний во всем мире, приводящее к развитию деменции в пожилом возрасте. [1] По прогнозам специалистов ВОЗ к 2030 году количество больных в мире достигнет 65,7 миллионов, а к 2050 – 115,4. Учитывая, что в большинстве стран наблюдается тенденция к постарению населения, проблема изучения патогенеза и лечения БА приобретает особую актуальность [2].

Более ста лет, с момента открытия в 1907 году Алоисом Альцгеймером нейродегенеративного заболевания, патогенез БА – предмет активного изучения множества научных школ. Но до сих пор

не разработана единая теория, объясняющая все молекулярные механизмы развития патологии. Однако, не вызывает сомнения, что ключевую роль в инициации патологических изменений при БА играет усиление синтеза белка-предшественника амилоида (APP, *amyloid precursor protein*) и его протеолитический процессинг по альтернативному пути β - и γ -секретазами с образованием β -амилоида (β A1-40, A β). APP в норме расщепляется с помощью α -и γ -секретаз с образованием пептида P3 («неамилоидогенный путь»). Под действием β - и γ -секретаз APP расщепляется с образованием A β («амилоидогенный путь»). (рис. 1) [2].

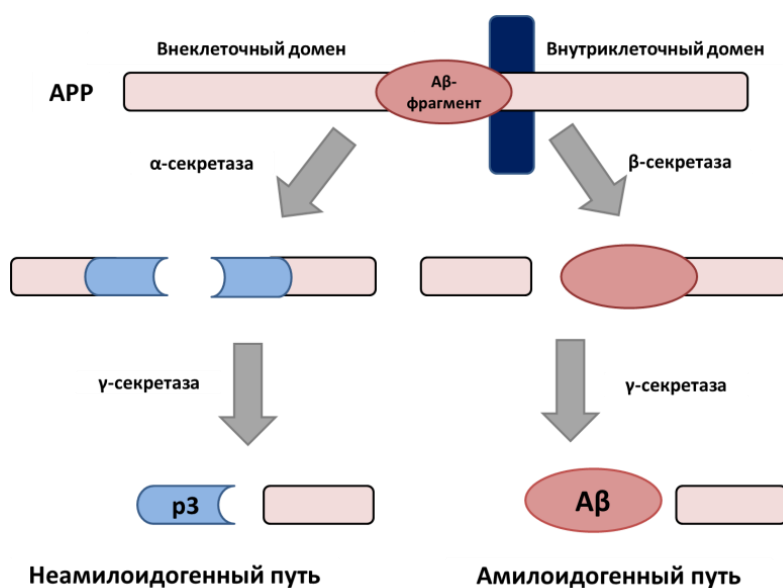


Рис. 1. Схема расщепления APP секретазами по амилоидогенному и неамилоидогенному пути (модифицировано из [3])

Нарушение фолдинга рβA1-40 приводит к последующей агрегации белка (образованию димеров, олигомеров, и в финале – полимеров), необратимому блокированию шаперонов и отложению амилоидных бляшек. Агрегация амилоида запускает воспалительную реакцию: происходит активация микроглии, астроцитов, медиаторов системы комплемента (фактор некроза опухоли, α, интерлейкин 1β, трансформирующий фактор роста β1 и интерлейкин 6).

Таким образом, отложение нерастворимого пептида Aβ рассматривают как первичное нейротоксическое воздействие при БА. [2]

Еще одно из звеньев патогенеза БА – формирование интранейрональных нейро-

фибрилярных сплетений из гиперфосфорилированного тау-белка, убиквитина, гликозаминогликанов. Микротубулярный протеин тау подвергается гиперфосфорилированию и последующей агрегации вследствие окислительного стресса, запущенного отложением Aβ (рис. 2). Патологические изменения в клеточной цитоскелетной морфологии влекут за собой дополнительные нейродегенеративные изменения, сопровождающиеся утратой синаптических связей и клеточных рецепторов. Воспалительный ответ на образование Aβ усиливает нейрональную дисфункцию и клеточную гибель, клинически проявляющиеся деменцией, когнитивными и поведенческими нарушениями [2,3].

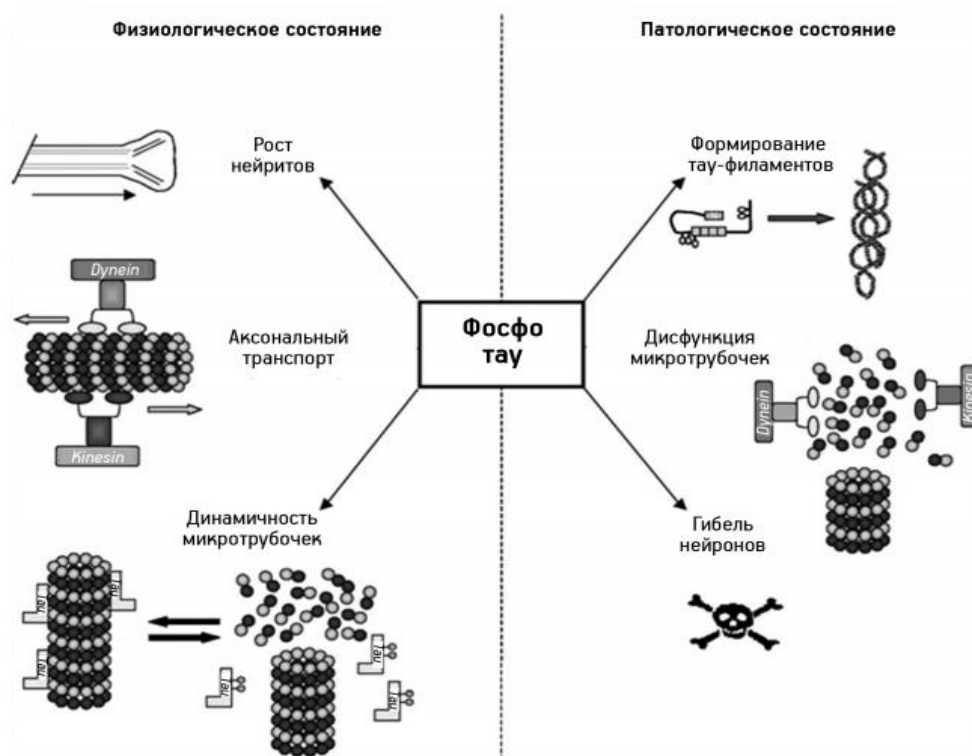


Рис. 2. Влияние патологического гиперфосфорилирования протеина тау (цитировано из [4])

APP является предметом обширной протеолитической обработки, поэтому теории о влиянии лизосомальных протеаз на возникновение БА, возможности диагностического исследования активности катепсинов в качестве маркера, применения их ингибиторов или индукторов в лечении заболевания, разрабатываются давно

[5]. А учитывая, что на данный момент терапевтический фокус отошел от рβA1-40 к т-белку и доказана его связь с нейродегенерацией, интерес к изучению лизосомальных протеаз (катепсинов) растет [1].

У людей к настоящему времени установлено существование 11 цистеиновых катепсинов: В, С, L, F, Н, К, О, S, V, X и

W. Некоторые из катепсинов, таких как катепсины В, Н, L, С и О, распространены в клетках организма повсеместно, в том числе в головном мозге, что указывает на то, что эти ферменты играют роль в общей деградации и обмене белка. Другие катепсины, такие как катепсины F, K, S, V, X и W (лимфопаин), демонстрируют более ограниченное распределение в клетках и тканях, хотя все они, за исключением катепсина W, также были обнаружены в центральной нервной системе. Кроме того, известно, что иммунные

клетки являются основным источником внеклеточных цистеиновых катепсинов при воспалении, в том числе в тканях головного мозга [6].

Все цистеиновые катепсины имеют сходное строение, представляют собой мономерные массой около 30 кДа, за исключением тетрамерного катепсина С. Ферменты состоят из двух доменов, в середине активного центра находятся два аминокислотных остатка (цистеин и гистидин), относящихся к разным доменам, которые формируют каталитический участок (рис. 3) [1].

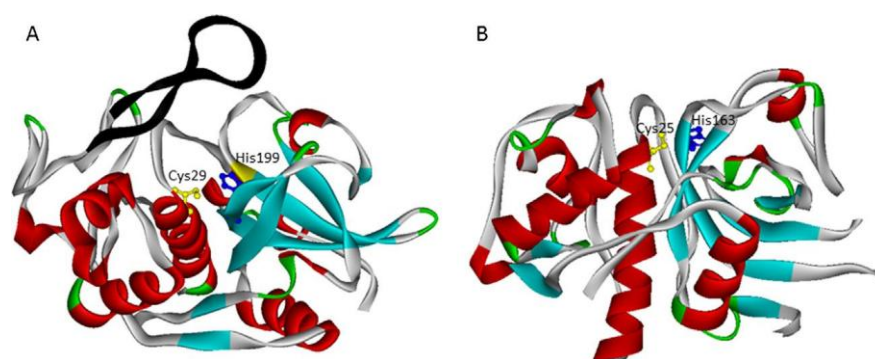


Рис. 3. А. Строение катепсина В;
В. Строение катепсина L (цитировано из [1])

Цистеиновые катепсины проявляют широкую субстратную специфичность, предпочтительно расщепляя пептидные связи после основных или гидрофобных аминокислотных остатков, но не способны расщеплять субстраты до или после остатков пролина. Большинство катепсинов преимущественно проявляют эндопептидазную активность, тогда как катепсины В, С, Н и X представляют собой экзопептидазы. Однако только катепсины С и X представляют собой строгие экзопептидазы, тогда как катепсины В и Н также проявляют активность эндопептидазы. Суммарно лизосомальные катепсины представляют собой эффективный механизм для расщепления белков на более мелкие фрагменты, в то время как дипептидазы и другие пептидазы завершают расщепление белков до свободных аминокислот [7,8].

Излишняя активность катепсина может быть очень опасной, если она неконтролируема. В дополнение к их локализа-

ции (автономное ограничение в лизосомах) их действие можно контролировать *in vivo* путем регулирования экспрессии соответствующих генов, посттрансляционных модификаций, изменением pH среды, воздействием эндогенных (например, цистатины) и экзогенных ингибиторов или комбинации всех этих факторов. Все лизосомальные катепсины синтезируются как неактивные препроэнзимы. После протеолитического удаления пропептида (отщепления N-концевого сигнального пептида в просвете эндоплазматического ретикулума и одновременного N-концевого гликозилирования проэнзима), который может проходить аутокаталитическим путем или опосредован другой протеазой, высвобождаются протеолитически активные зрелые катепсины [7,9].

Помимо цистеиновых протеиназ, в организме человека существует аспарагиновая протеиназа – катепсин D. Этот фермент также локализован в лизосомах, со-

стоит из двух доменов: тяжелого (34кДа) и легкого (14кДа). В активном центре катепсина D расположены 2 остатка аспарагиновой кислоты, каждый из которых принадлежит разным доменам. Оптимальным действием для данного катепсина является $pH=5,0$, а изменения pH считают основным регуляторным фактором активности, так как пока не выявлены специфические ингибиторы фермента [1].

Лизосомальные протеиназы играют ведущую роль в процессе деградации внутриклеточных структур – аутофагии. К настоящему моменту известны три основных типа аутофагии: макроаутофагии, микроаутофагии и опосредованной шаперонами аутофагия. Однако все три пути сходятся на уровне лизосом, где происходит деградация органелл и биомолекул. Нарушения процесса аутофагии, приводящее к накоплению аномальных белковых агрегатов, вносят значительный вклад в развитие нейродегенеративных заболеваний, в том числе при БА. Одной из возможных причин нарушения процесса аутофагии при БА, возможно, является дефицит протеолитической активности в лизосомах [1,10].

Наиболее широко изучена роль катепсина В в патогенезе БА. Однако накопленные к настоящему времени данные довольно противоречивы. Ряд исследований доказал, что катепсин В *in vivo* очень эффективен в деградации р β A1-40. Путем генетической абляции цистатина С (ингибитора цистеиновых протеиназ), была доказана нейропротекторная роль данного катепсина [1,11]. В другом исследовании было показано, что ингибирование катепсина В *in vivo* улучшает память и уменьшает А β у трансгенных мышей с БА [5].

Координально противоположные результаты получены в другом исследовании. Помимо А β , существует пироглутамат-амилоид- β -пептиды (pGlu-A β). Их считают особенно патогенными. Они представляют собой N-концевые усеченные участки А β , в которых глутамат на N-конце циклизуется до пироглутамата. Выключение гена катепсина В уменьшало уровень pGlu-A β (3-40/42). Сверхэкспрессия гена напротив,

увеличивала уровень pGlu-A β . Лечение трансгенных мышей с БА с помощью E64d, ингибитора катепсина В, уменьшало уровень pGlu-A β . Обработка нейрональных хромафинных клеток препаратом SA074 Me, который также является ингибитором катепсина В, приводило к снижению pGlu-A β . Одновременный нокаут гена и лечение E64d демонстрировало улучшение дефицита памяти у мышей [5].

В пользу патогенного влияния катепсина В свидетельствует и доказанная способность продуцирования зрелого интерлейкина-1 активированной микроглией, которая отвечает за нейровоспаление при БА, что также объясняет положительный эффект применения ингибиторов катепсина В [12].

Лизосомальные ферменты рассматривают как потенциальные маркеры в диагностике различных нейропатологий, в том числе БА [13]. В спинно-мозговой жидкости (СМЖ) и мозге пациентов с БА был выявлен повышенный уровень катепсинов В и D [14]. Вклад катепсина D в патогенез БА изучен менее детально. Известно, что данный катепсин, крупная лизосомальная аспарагиновая протеаза, недостаточно экспрессируется в моноцитах у больных БА, что приводит к нарушению деградации А β моноцитами. Кроме того, подавление катепсина D в клетках ТНР-1 (лейкозная клеточная линия с моноцитарными маркерами) значительно уменьшает клиренс амилоидных бляшек [15,16]. Таким образом, снижение экспрессии катепсина D в периферических моноцитах и повышение активности его в СМЖ является потенциальным маркером БА.

Данные о вкладе других лизосомальных протеиназ в патогенез БА фрагментарны. Известно, что источником катепсинов в головном мозге во время старения являются активированные клетки микроглии. Предполагается, что активированная микроглия участвует в нейровоспалении, которое сопровождается многочисленными нейродегенеративными расстройствами, включая БА. Один из катепсинов, секретируемых микроглией, пред-

ставляет собой катепсин S. Генетическая абляция катепсина S у мышей вызывает гиперлокомоторную активность, нарушения регуляции циркадных ритмов [1].

Также известно, что катепсин X, который обычно экспрессируется иммунными клетками, экспрессируется в микроглии и других частях мозга, и было установлено, что он активируется во время старения и в некоторых моделях нейродегенеративных расстройств. Кроме того, было обнаружено, что микроглиальный катепсин X участвует в регуляции функции мозга посредством обработки гамма-енолазы, которая может быть важна в патогенезе БА [1].

Другим цистеиновым катепсином, связанным с функцией мозга, является

катепсин С, который, как было установлено, участвует в нормальной нейронной функции в определенных областях мозга и участвует в воспалительных процессах, сопровождающих патогенез БА [1].

Таким образом, не вызывает сомнений тот факт, что лизосомальный протеолиз играет существенную роль в патогенезе БА. Перспективным является направление дальнейшего изучения влияния изменения активности катепсинов на возникновение и развитие БА, идентификация возможных маркеров заболевания, эффективных препаратов для лечения заболевания, которое является самой частой причиной слабоумия в пожилом и старческом возрасте.

Литература

1. Stoka V., Turk V., Turk B. Lysosomalcathepsins and their regulation in aging and neurodegeneration // *Ageing Research Reviews*. 2016. Vol. 32. P. 22-37.
2. Бачинская Н.Ю. Болезнь Альцгеймера // *Журнал неврологии им. Б.М. Маньковского*. 2013. №1. С. 88-102.
3. Соколик В.В. Болезнь Альцгеймера: генетическая предрасположенность, биохимические механизмы и психические проявления // *Украинский вестник психоневрологии*. 2007. №3 (52). С. 101-105.
4. Пальцев М.А., Зуев В.А., Кожевникова Е.О. Молекулярные маркеры ранней диагностики болезни Альцгеймера: перспективы исследования в периферических тканях // *Успехи геронтологии*. 2017. №6. С. 809-817.
5. Toneff T., Kindy M., Hook V. Brain pyroglutamate amyloid- β is produced by cathepsin protease inhibitor E64d, representing a potential Alzheimer's disease therapeutic // *J. Alzheimers. Dis*. 2014. Vol. 41. P. 129-149.
6. Mueller-Steiner S., Zhou Y., Arai H. Antiamyloidogenic and neuroprotective functions of cathepsin B: implications for Alzheimer's disease // *Neuron*. 2006. Vol. 51. P. 703-714.
7. Olson O.C., Joyce J.A. Cysteine cathepsin proteases: regulators of cancer progression and therapeutic response // *Nat. Rev. Cancer*. 2015. №15. P. 712-729.
8. Калинин Р.Е., Абаленихина Ю.В., Пшенников А.С. и др. Взаимосвязь окислительного карбонилирования белков и лизосомального протеолиза плазмы в условиях экспериментального моделирования ишемии и ишемии-реперфузии // *Наука молодых (Eruditio Juvenium)*. 2017. Т. 5, №3. С. 338-344.
9. Yamashima T. Reconsider Alzheimer's disease by the 'calpain-cathepsin hypothesis'-a perspective review // *Prog Neurobiol*. 2013. Vol. 105. P. 1-23.
10. Рендаков Н.Л., Лысенко Л.А., Люпина Ю.В. Роль лизосомальных протеиназ и эстрадиола в нейродегенерации, индуцированной болезнью Альцгеймера // *Доклады академии наук*. 2015. №1. С. 112-115.
11. Sun T., Turk V., Turk B. Cystatin C-cathepsin B axis regulates amyloid beta levels and associated neuronal deficit in an animal model of Alzheimer's disease // *Neuron*. 2008. Vol. 60. P. 247-257.
12. Wu Z., Sun L., Hashioka S., et al. Differential pathways for interleukin-1beta production activated by chromograin A and amyloid beta in microglia // *Neurobiol. Aging*. 2013. Vol. 34. P. 2715-2725.
13. Пупышев А.Б. Лизосомальные болезни накопления в Европе: проблема нейродегенерации и новые возможности терапевтических воздействий // *Сибирский научный медицинский журнал*. 2016. №2. С. 35-43.
14. Tasegian A., Paciotti S., Ceccarini M.R., et al. Origin of α -mannosidase in cerebrospinal fluid. In: 20th ESGLD Workshop and Graduated Course. Naples; 2015. P. 121.
15. Tian Z.Y., Wang T., Shang D.S., et al. Decreased expression of cathepsin D in monocytes is related to the defective degradation of amyloid- β in Alzheimer's disease // *J. Alzheimers. Dis*. 2014. №2 (42). P. 511-520.
16. Фомина М.А., Кудлаева А.М., Рябков А.Н. Влияние L-карнитина in vitro на активность лизосомальных цистеиновых протеиназ и состояние лизосомальных мембран. // *Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова*. 2017. Т.25, №1. С. 14-20.

References

1. Stoka V, Turk V, Turk B. Lysosomal cathepsins and their regulation in aging and neurodegeneration. *Ageing Research Reviews*. 2016;32:22-37.
2. Bachinskaya NYU. Alzheimer's disease. *Zhurnal nevrologii im. B.M. Man'kovskogo*. 2013;1:88-102. (In Russ).
3. Sokolik VV. Alzheimer's disease: genetic predisposition, biochemical mechanisms and mental manifestations. *Ukrainskij vestnik psihonevrologii*. 2007;3(52):101-5. (In Russ).
4. Pal'cev MA, Zuev VA, Kozhevnikova EO. Molecular markers for early diagnosis of Alzheimer's disease: research prospects in peripheral tissues. *Uspekhi gerontologii*. 2017;6:809-17. (In Russ).
5. Toneff T, Kindy M, Hook V. Brain pyroglutamate amyloid- β is produced by cathepsin protease inhibitor E64d, representing a potential Alzheimer's disease therapeutic. *J Alzheimers Dis*. 2014;41:129-49.
6. Mueller-Steiner S, Zhou Y, Arai H. Anti-amyloidogenic and neuroprotective functions of cathepsin B: implications for Alzheimer's disease. *Neuron*. 2006;51:703-14.
7. Olson OC, Joyce JA. Cysteine cathepsin proteases: regulators of cancer progression and therapeutic response. *Nat Rev Cancer*. 2015;15:712-29.
8. Kalinin RE, Abalenihina JuV, Pshennikov AS, et al. The relationship between oxidative carbonylation of proteins and lysosomal proteolysis of plasma under conditions of experimental modeling of ischemia and ischemia-reperfusion. *Science of the young (Eruditio Juvenium)*. 2017;(3): 338-44.
9. Yamashita T. Reconsider Alzheimer's disease by the 'calpain-cathepsin hypothesis'-a perspective review. *Prog Neurobiol*. 2013;105:1-23.
10. Rendakov NL, Lysenko LA, Lyupina YUV. The role of lysosomal proteases and estradiol in neurodegeneration induced by Alzheimer's disease. *Doklady akademii nauk*. 2015;1:112-5.
11. Sun T, Turk V, Turk B. Cystatin C-cathepsin B axis regulates amyloid beta levels and associated neuronal deficit in an animal model of Alzheimer's disease. *Neuron*. 2008;60:247-57.
12. Wu Z, Sun L, Hashioka S, et al. Differential pathways for interleukin-1 β production activated by chromograin A and amyloid beta in microglia. *Neurobiol Aging*. 2013;34:2715-25.
13. Pupyshev AB. Lysosomal accumulation diseases in Europe: the problem of neurodegeneration and the new possibilities of therapeutic effects. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal*. 2016;2:35-43.
14. Tasegian A, Paciotti S, et al. Origin of α -mannosidase in cerebrospinal fluid. In: 20th ESGLD Workshop and Graduated Course. Naples; 2015. P. 121.
15. Tian ZY, Wang T, Shang DS, et al. Decreased expression of cathepsin D in monocytes is related to the defective degradation of amyloid- β in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2014;2(42):511-20.
16. Fomina MA, Kudlaeva AM, Ryabkov AN. Effect of L-carnitine in vitro on the activity of lysosomal cysteine proteinases and the state of lysosomal membranes *I.P. Pavlov Russian Medical Biological Herald*. 2017;25(1):14-20.

Информация об авторах [Authors Info]

***Сорокина Мария Германовна** – ассистент кафедры биологической химии с курсом КЛД ФДПО, Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова Минздрава России, Рязань, Российская Федерация.

e-mail: mariyanaaber@yandex.ru

SPIN: 3119-2338, ORCID ID: 0000-0002-9719-036X.

Maria G., Sorokina – Assistant of the Department of Biological Chemistry, Ryazan State Medical University, Ryazan, Russian Federation.

e-mail: mariyanaaber@yandex.ru

SPIN: 3119-2338, ORCID ID: 0000-0002-9719-036X.

Фомина Мария Алексеевна – к.м.н., доцент кафедры биологической химии с курсом КЛД ФДПО, Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова Минздрава России, Рязань, Российская Федерация.

SPIN: 1480-4281.

Maria A. Fomina – PhD, Associate Professor of the Department of Biological Chemistry, Ryazan State Medical University, Ryazan, Russian Federation.

SPIN: 1480-4281.

Петров Дмитрий Сергеевич – д.м.н., заведующий кафедрой психиатрии и психотерапии ФДПО, Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова Минздрава России, Рязань, Российская Федерация.

SPIN: 5340-7683.

Dmitry S. Petrov – MD, PhD, Associate Professor of the Department of Psychiatry and Psychotherapy, Ryazan State Medical University, Ryazan, Russian Federation.

SPIN: 5340-7683.

Цитировать: Сорокина М.Г., Фомина М.А., Петров Д.С. Современные представления о роли лизосомальных протеиназ в патогенезе болезни Альцгеймера // Наука молодых (Eruditio Juvenium). 2018. Т. 6, №4. С. 582-588. doi:10.23888/HMJ201864582-588

To cite this article: Sorokina MG, Fomina MA, Petrov DS. Modern views on the role of lysosomal proteinases in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Science of the young (Eruditio Juvenium)*. 2018;6(4):582-8. doi:10.23888/HMJ201864582-588

Поступила / Received: 13.07.2018

Принята в печать / Accepted: 17.12.2018