

Mara Popović¹, Barbara Gazič²

Proteinopatije – bolezni odlaganja napačno zvutih beljakovin

Proteinopathies – Diseases Involving Deposition of Misfolded Proteins

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: amiloidoza, Alzheimerjeva bolezen, neurodegenerativne bolezni

Proteinopatije so bolezni odlaganja napačno zvutih beljakovin. Molekule napačno zvutih beljakovin se združujejo in odlagajo v različnih tkivih ter jih s tem kvarijo. Napačno zvite beljakovine lahko neposredno ali posredno povzročijo smrt celice in celo bolnika, če so prizadeti za preživetje pomembni organi. Vzroki napačnega zvijanja beljakovin so: mutacije, napake pri prepisovanju genskega zapisa, napake, ki nastanejo po prevajanju ob normalni primarni strukturi beljakovine, povečana tvorba beljakovin ali motnje v njihovi razgradnji. Dejavniki tveganja za nastanek proteinopatij, ki niso genetsko pogojene, so staranje, kronične bolezni, nekateri tumorji in dializa. Napačno zvite beljakovine se lahko odlagajo v medceličnini ali v celicah, kjer tvorijo različne znotrajcelične vključke. Poznamo več kot 25 beljakovin, ki so nagnjene k napačnemu zvijanju in odlaganju v tkivih. Proteinopatije delimo glede na strukturne in barvne lastnosti beljakovinskih odlag v skupino amiloidoz in v skupino ne-amiloidnih proteinopatij. Glede na obseg odlaganja je proteinopatija, amiloidna ali ne-amiloidna, lahko sistemska, kadar prizadene več organov, ali omejena, kadar prizadene en sam organ. Najpogostejša sistemska proteinopatija je sistemska amiloidoza z odlaganjem lahkih verig imunoglobulinov, najpogostejša omejena proteinopatija pa je Alzheimerjeva bolezen. Proteinopatije poimenujemo tudi po okvarjeni beljakovini: monoklonalne imunoglobulinopatije, tauopatije, sinukleinoopatije, prionoopatije in druge. Proteinopatije so praviloma napredujoče bolezni, ki jih danes še ne znamo uspešno zdraviti.

ABSTRACT

KEY WORDS: amyloidosis, Alzheimer's disease, neurodegenerative diseases

Proteinopathies are protein deposition diseases caused by misfolded proteins. Molecules of misfolded proteins are prone to aggregate and damage the tissue, and eventually they may kill the patient if a vital organ is affected. There are many causes of protein misfolding, including gene mutations, failure in gene transcription or post-translational protein folding despite normal primary structure, protein overproduction and aberrant proteolysis. Risk factors for non-genetic proteinopathies are ageing, certain chronic diseases, certain tumors and dialysis. Misfolded protein could be deposited in the extracellular matrix or inside the cells, forming different inclusions. So far, more than 25 proteins have been identified to be prone to misfold and cause the disease. Based on the structural and tinctorial properties of misfolded protein aggregates, proteinopathies are divided to amyloidoses and non-amyloid proteinopathies. Proteinopathies can be systemic or localized, when several or only one organ is involved, respectively. The most frequent systemic proteinopathy is systemic amyloidosis which involves the deposition of immunoglobulin light chains, and the most frequent localised proteinopathy is Alzheimer's disease. Proteinopathies can be named by the misfolded proteins: monoclonal immunoglobulin deposition disease, tauopathies, synucleinopathies, prionopathies etc. Proteinopathies are progressive diseases, but most of them are so far incurable.

¹ Izr. prof. dr. Mara Popović, dr. med., Inštitut za patologijo, Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani, Korytkova 2, 1000 Ljubljana.

² Dr. Barbara Gazič, dr. med., Onkološki inštitut Ljubljana, Zaloška 2, 1000 Ljubljana.

VZROK IN RAZVOJ PROTEINOPATIJ

Ključni dogodek v razvoju proteinopatij je napačno zvijanje beljakovinskih molekul (1). V sekundarni zgradbi napačno zvitih beljakovin se poveča vsebnost oblike beta nagubanega lista. Pri takšni obliki so izpostavljena hidrofobna mesta, ki povečajo nagnjenost beljakovinskih molekul k polimerizaciji in kopičenju oz. tvorbi netopnih izvenceličnih ali znotrajceličnih odlag.

Vzroki za napačno zvijanje beljakovin so različni in večkrat slabo pojasnjeni. Najbolj očiten vzrok napačnega zvijanja beljakovin je napaka v genskem zapisu, ki s spremembo primarne zgradbe beljakovine ustvari pogoje za napačno zvijanje. Tako nastajajo dedne proteinopatije, ki so veliko redkejše od sporadičnih. Slednje so običajno boleznih starejših ljudi, npr. senilna sistemska amiloidoza, in predvsem nevrodegenerativne bolezni, kot so Alzheimerjeva bolezen (AB), Parkinsonova bolezen (PB), sporadična Creutzfeldt-Jakobova bolezen (sCJB) in druge. Pomemben dejavnik tveganja mnogih proteinopatij je staranje. Glede na izsledke raziskav ima staranje sistemov, ki so vključeni v nadzor zvijanja beljakovin, popravljanja učinkov oksidativnega stresa in razgradnje beljakovin, ključno vlogo v procesu staranja organizma (2, 3). Ob prepisovanju in pripravljanju beljakovin za njihovo funkcijo nastajajo v beljakovinskih molekulah napake, ki jih organizem uspešno odstranjuje s posebnimi popravilnimi sistemi (2). Ti se starajo skupaj z organizmom ter tako postajajo manj učinkoviti (3). Škodljivo delovanje oksidativnega stresa na prepisovanje in zvijanje beljakovin se z leti kopiči in povečana količina okvarjenih beljakovinskih molekul postaja prevelik zalogaj za postarane sisteme, ki so v mlajših letih uspešno odstranjevali napačno zvite molekule. Sistema, ki sta pomembna v presnovi beljakovin in sta lahko odgovorna za nastanek proteinopatij, sta:

- sistem šaperonov ali nadzorovalnih beljakovin, ki nadzorujejo zvijanje in glikozilacijo beljakovin ter proteolizo (4),
- sistem proteaz, ki vključuje povsod prisotne proteosome, ki razgrajujejo odslužene beljakovine (5).

Sporadična AB je klasičen primer proteinopatije, ki najverjetneje nastane zaradi zmanjšane učinkovitosti obeh sistemov. Nezadostna razgradnja amiloidnega prekursorskega proteina (APP) povzroči nastanek peptida A β . Njegove molekule zaradi pospešenega zvijanja v obliko β nagubanega lista polimerizirajo in se odlagajo v obliki senilnih leh v nevroplilu skorje in subkortikalne sive možganovine. Redki dedni obliki te bolezni, ki se razvijeta zaradi napak v genu za beljakovino presenilin-1 na kromosomu 14 in v genu za beljakovino presenilin-2 na kromosomu 1, potrjujeta domnevo, da nastane peptid A β zaradi nezadostne razgradnje beljakovin. Produkti teh dveh spremenjenih genov uravnavajo aktivnost γ -sekretaze, proteolitičnega encima, ki skupaj z β -sekretazo omogočajo nastanek peptida A β (6). Po vsej verjetnosti nastaja manjša količina A β pri vseh ljudeh, vendar ga sistemi odstranjevanja napačno zvitih beljakovin zaznajo in odstranijo. V starosti nastaja A β v večjih količinah, najverjetneje zaradi kopičenja učinkov oksidativnega stresa. Njegovo odstranjevanje ni več dovolj učinkovito, zato se odlaga v možganih. Pogosto so v možganih starejših ljudi, ki niso imeli znakov demence, dokazali odlage A β , vendar v manjšem številu in na omejenih področjih? Zelo verjetno je za klinično izraznost AB potrebna zadostna količina odlag, pomembna pa je tudi njihova anatomsko razporeditev.

Povečano nastajanje APP v zadnjih letih življenja bolnikov z Downovim sindromom vodi do nastanka sprememb v možganih, ki so enake spremembam pri AB.

Za nastanek proteinopatij pa ne zadošča le povečana količina beljakovin, ki so nagnjene k napačnem zvijanju. To potrjujeta sistemska amiloidoza AA in AL. AA se razvije redko ob kroničnih vnetnih boleznih, AL pa le pri 10–15% obolelih za multiplim mielomom. Za razvoj bolezni so torej potrebne še dodatne napake v sistemih, ki nadzirajo zvijanje beljakovin in odstranjevanje napačno zvitih beljakovin.

Najverjetneje so tudi spremembe lastnosti mikrookolja, kot so pH, koncentracija elektrolitov in prostih radikalov ter sprememba temperature, pomembne tako za večjo nagnjenost nekaterih beljakovin k napačnem zvijanju kakor tudi za delovanje popravilnih sistemov.

Tabela 1. Glavni predstavniki različnih oblik proteinopatij. AL – amiloidoza lahkih verig imunoglobulinov, AA – reaktivna sistemska amiloidoza, SA – senilna amiloidoza, SB – sladkorna bolezen, PiB – Pikova bolezen, AB – Alzheimerjeva bolezen, CAA – cerebralna amiloidna angiopatija, IBM – miozitis z vključki (ang. inclusion body myositis), ALS – amiotrofična lateralna skleroza, MSA – multi-sistemska atrofija, HB – Huntingtonova bolezen, SCA – spinocerebelarna atrofija, FTL-D-U – frontotemporalna lobarna demenca z ubikvitinom, LCDD – bolezen odlaganja lahkih verig (ang. light chain deposition disease) imunoglobulinov, HCDD – bolezen odlaganja težkih verig (ang. heavy chain deposition disease) imunoglobulinov, LHCD – bolezen odlaganja lahkih in težkih verig (ang. light and heavy chain deposition disease) imunoglobulinov.

	AMILOIDNE	NE-AMILOIDNE FIBRILARNE	NE-AMILOIDNE NEFIBRILARNE
Sistemske	Amiloidoza lahkih verig (AL) Amiloidoza A (AA) Senilna amiloidoza (SA)		LCDD HCDD LHCDD
Lokalizirane	SB tip II AB, PB, CAA IBM	Neurodegenerativne bolezni (PiB, ALS, MSA, HB, SCA, FTL-D-U) Fibrilarni glomerulonefritis	Možganska LCDD
Tumorske	Amiloidom		Agregom

RAZDELITEV PROTEINOPATIJ

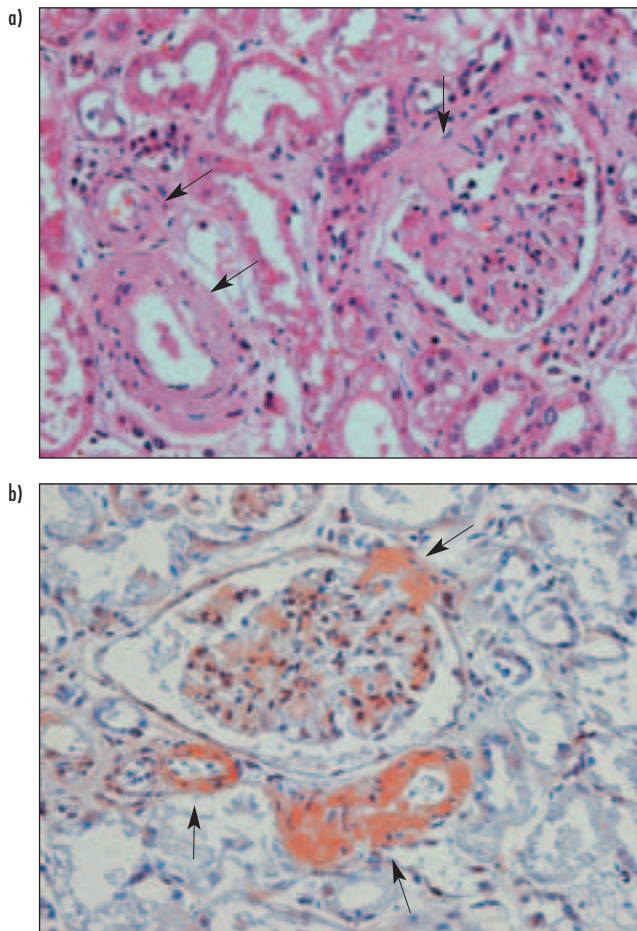
Proteinopatije delimo glede na ultrastrukturne in fizikalno-barvne lastnosti odlag napačno zviti beljakovin na amiloidne proteinopatije ali amiloidoze ter ne-amiloidne fibrilarne in nefibrilarne proteinopatije. Glede na razširjenost odlag pa jih delimo na sistemske in lokalizirane. Proteinopatije se redko lahko kažejo tudi v obliki tumorja (tabela 1).

SISTEMSKE PROTEINOPATIJE

Sistemske proteinopatije so običajno amiloidoze, redkeje tudi ne-amiloidne nefibrilarne proteinopatije. Bolezni odlaganja monoklonskih imunoglobulinov (ang. *monoclonal immunoglobulin deposition diseases* – MIDD) se največkrat kažejo kot sistemska amiloidoza, pri kateri se običajno odlagajo lahke verige λ ali κ (ang. *amyloidosis light chain* – AL), redkeje težke verige (ang. *amyloidosis heavy chain* – AH). Redkeje gre za odlaganje različnih delov imunoglobulinov v obliki amorfnih ali zrnčastih odlag, ki nimajo ultrastrukturnih lastnosti amiloida (7). Glede na to, kateri del imunoglobulinov je napačno zviti in se odlaga v nefibrilarnih odlagah, razlikujemo bolezen odlaganja lahkih verig (LCDD), bolezen odlaganja težkih verig (HCDD) in bolezen odlaganja lahkih in težkih verig (LHDD) imu-

noglobulinov. Pri obeh tipih MIDD sta vedno prizadeti ledvici (slika 1). Pri AL so poleg ledvic lahko hudo prizadeti še srce, jezik, vranica, jetra, trebušna slinavka, nadledvičnica, gastrointestinalna pot (GIT), periferni živci, sklepi in drugi organi, medtem ko so pri ne-amiloidnih oblikah MIDD drugi organi, predvsem jetra in srce, običajno blažje prizadeti (8). Medtem ko je AL povezana s multiplim mielomom le v 20% (9), je neoplastična proliferacija plazmatk opisana pri 50–60% ne-amiloidnih MIDD (7). Opisani so primeri MIDD s sočasnim odlaganjem amiloidnih in ne-amiloidnih odlag lahkih verig imunoglobulinov (10).

Druga pogostejša sistemska proteinopatija je sekundarna ali reaktivna amiloidoza, ki je povezana s kroničnimi vnetnimi boleznimi, kot so kronični artritis, Crohnova bolezen, osteomielitis, tuberkuloza, revmatična polimialgija, povezana je lahko tudi z družinsko mediteransko mrzlico ali z nekaterimi malignomi, kot je Hodgkinova bolezen. Ob kroničnem vnetju jetra proizvajajo velike količine serumskega proteina A, ki se zaradi neučinkovite razgradnje odlaga v obliki amiloida A v različnih organih, s podobno razporeditvijo kot lahke verige pri AL amiloidozi. Reaktivno ali sekundarno sistemska amiloidoza zato imenujemo tudi amiloidoza AA (11, 12, 13).



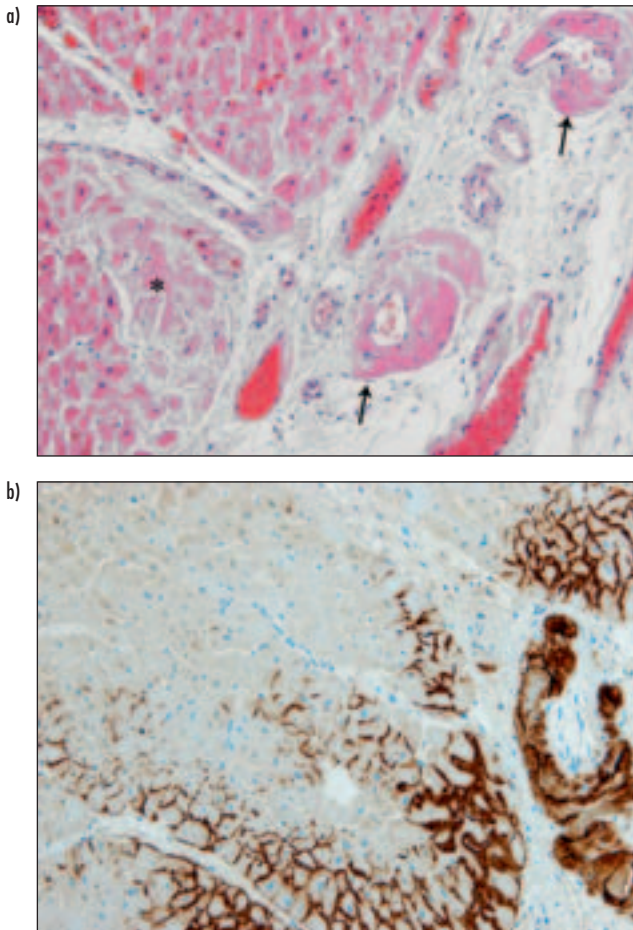
Slika 1. Amiloidoza ledvice. V arterijah in arterioli je eozinofilna snov (hematoxilin-eozin – HE na sliki a), ki je kongofilna (kongo rdeče na sliki b; puščice).

Tretja sistemska amiloidoza je senilna amiloidoza (14, 15). Kot lahko sklepamo iz imena, se pri tej bolezni odlaga napačno zvita beljakovina transtiretin predvsem v srčni mišici (slika 2) in v manjši meri v pljučih starejših ljudi, lahko pa tudi v drugih organih. Transtiretin je beljakovina, ki ima v svoji naravni sekundarni strukturi visok delež oblike beta nagubanega lista, zaradi česar je nagnjena k polimerizaciji (16). Poznamo več kot 70 točkovnih mutacij v genu za transtiretin, ki so odgovorne za napačno zvijanje beljakovine in pojavljanje sicer redkih družinskih transtiretinopatij. Kažejo se s sliko družinske amiloidne polinevropatije, kardiopatije, okuloleptomeningealne amiloidoze ali sistemske amiloidoze s prizadetostjo več organov (17).

Pri sistemskih boleznih odlaganja napačno zvutih beljakovin možgani običajno niso neposredno prizadeti. Napačno zvite beljakovine pa lahko vstopijo v osrednje živčevje v področju horoidnega pleteža in cirkumventrikularnega organa, ki nimata krvnomožganske pregrade, in se tam odlagajo. Te odlage običajno ne škodujejo živčevju (18). Izjema je družinska okuloleptomeningealna transtiretinska amiloidoza, ki lahko posredno okvari delovanje možganov. Zaradi motenega obtoka skozi prizadeto leptomeningealno žilje nastanejo hipoksično-ishemične okvare, predvsem možganske skorje in debla (17).

LOKALIZIRANE PROTEINOPATIJE

Lokalizirane proteinopatije so omejene le na en organ. Najpogostejše lokalizirane protei-

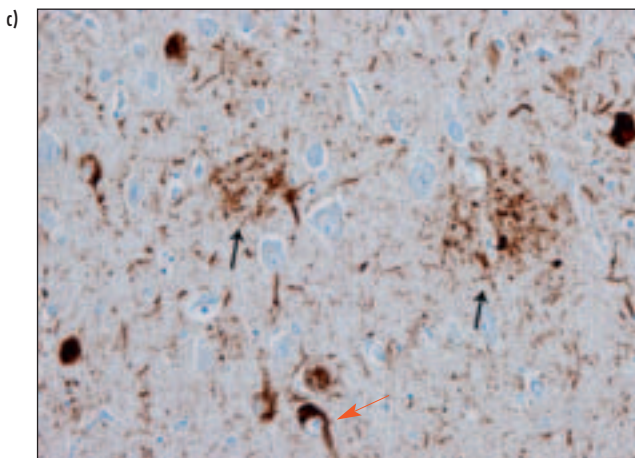
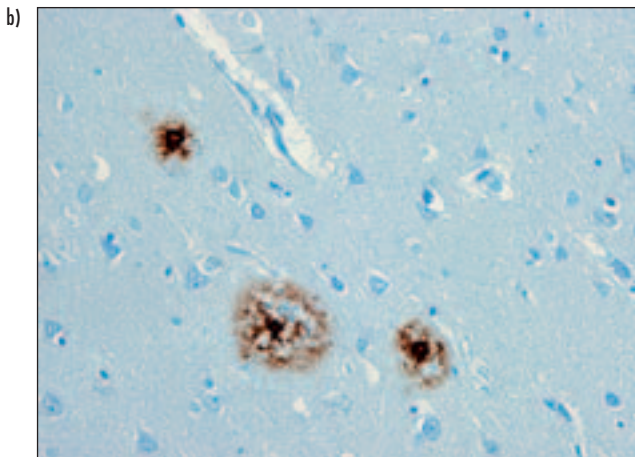
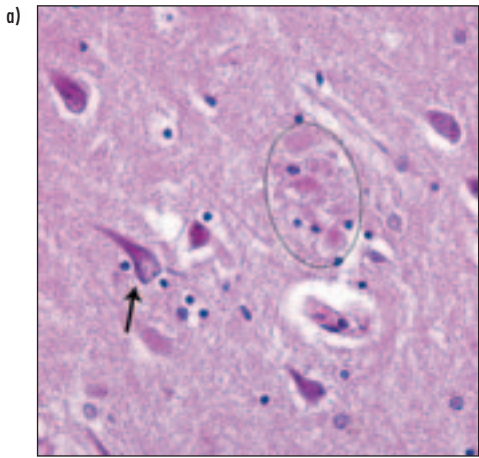


Slika 2. Senilna amiloidoza srca.
 a) Eozinofilna amorfn snov v steni epikardialnega žilja in med mišičnimi vlakni (zvezdica).
 b) Imunohistokemijsko barvanje na transtiretin pokaže odlaganje te beljakovine pri senilni amiloidozi (IHR, zajčje poliklonalno protitelo proti transtiretinu, DAKO, št. A 0002).

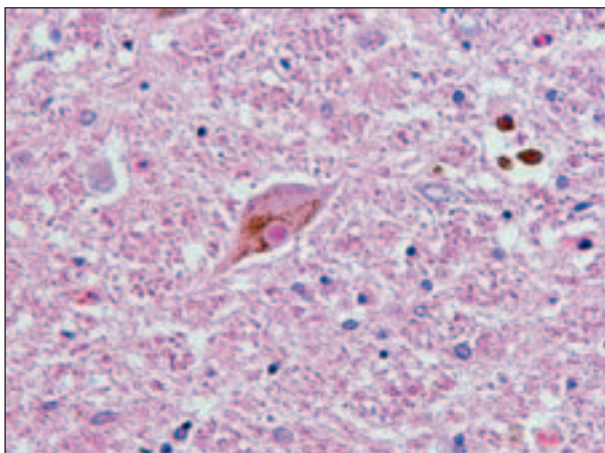
nopatije so nevrodegenerativne bolezni. Med njimi je najpogostejša AB, ki prizadene vsakega tretjega človeka po 85. letu starosti (19). Pri AB se dve napačno zviti beljakovini odlagata v dveh različnih oblikah odlag. A β peptid iz 42 aminokislin, ki nastane zaradi napačne razgradnje velike molekule APP, se odlaga izven celic v obliki senilnih plakov (slika 3). Beljakovina tau, vezana na mikrotubule, ki je v patološki obliki hiperfosforilirana, pa se odlaga v obliki nevrofibrilarnih pentelj (NFP) v perikarionu nevronov, v distrofičnih nevrotilih senilnih plakov in v distrofičnih končičih v nevrotilu (slika 3). Obe odlagi imata barvne lastnosti amiloida (20). Peptid A β 40 se pri nekaterih bolnikih z AB ali tudi brez povezave s to boleznijo odlaga v žilju mehkih možganskih ovojnici in možganske skorje ter povzro-

ča cerebralno amiloidno angiopatijo (CAA). CAA se klinično kaže s spontanimi možganskimi krvavitvami, lahko pa tudi s hitro napredujoče demence. AB sodi v veliko skupino taupatij skupaj z nekaterimi drugimi nevrodegenerativnimi boleznimi, kot so: ne-Alzheimerjeve frontotemporalne demence, progresivna supranuklearna paraliza (PSP) in kortikobazalna degeneracija (KBD). Vzrok vseh teh bolezni je konformacijsko spremenjena beljakovina tau (21).

Parkinsonova bolezen je druga najpogostejša nevrodegenerativna bolezen. Je lokalizirana proteinopatija, pri kateri se okvarjena beljakovina α -sinuklein odlaga v obliki znotrajcitoplazemskih Lewyjevih telesc in Lewyjevih nevrinov predvsem v pigmentiranih nevronih možganskega debla (slika 4). Med



Slika 3. Alzheimerjeva bolezen (AB).
a) Senilni plak (v krogu) in neurofibrilarna pentlja (NFP) v perikarionu nevrona (puščica) sta spremembi, značilni za AB.
b) V senilnih plakih se odlaga beta amiloid (IHR, klon 6F/3D, DAKO).
c) Hiperfosforilirana beljakovina tau se odlaga v NFP (rdeča puščica), distrofičnih nevrnih senilnih plakov (puščici) in v distrofičnih končcih v nevrpilu (IHR, zajčje protitelo proti človeški tau beljakovini, DAKO, št. A 024).



Slika 4. Parkinsonova bolezen. Lewyjevo telesce, agregat napačno zvite beljakovine alfa-sinuklein v pigmentiranem nevronu substance nigre (HE).

sinukleinopatije sodijo tudi demenca z difuznimi Lewyjevim telesci (ang. *diffuse Lewy body dementia* – DLBD) in multisistemska atrofija (MSA) (22, 23). Pri MSA se napačno zvita beljakovina odlaga predvsem v citoplazmi glialnih celic.

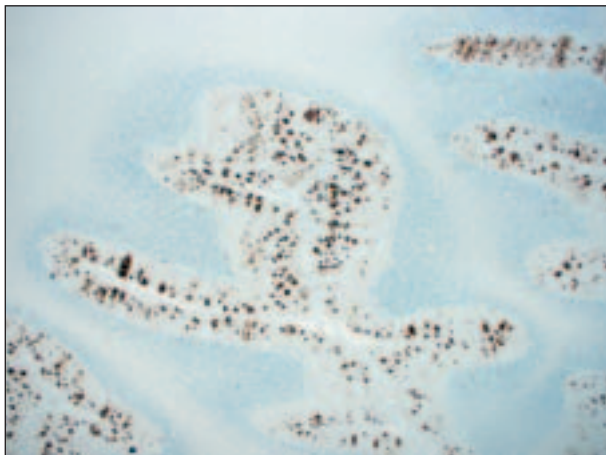
Tretja, redkejša skupina nevrodegenerativnih boleznih so poliglutaminopatije, ki so predvsem genetske bolezni, nastale zaradi ponovitev kodona CAG, zapisa za aminokislino glutamin, v različnih beljakovinah. Ponovitev, ki so lahko različno številne, so odgovorne za napačno zvijanje in odlaganje nekaterih spremenjenih beljakovin. V skupino poliglutaminopatij sodijo Huntingtonova bolezen s prizadeto beljakovino huntingtin ter različne spinocerebelarne ataksije (SCA), pri katerih so prizadete različne beljakovine (24). Napačno zvite beljakovine se odlagajo v jedrih nevronov.

Amiotrofična lateralna skleroza (ALS), nevrodegenerativna bolezen zgornjega in spodnjega motoričnega nevrona, je prav tako proteinopatija. Pri 5–10% dednih oblik ALS je okvarjena beljakovina superoksidna dismutaza-1 (SOD1). Do sedaj je opisanih vsaj 50 različnih mutacij gena *SOD1* na kromosomu 21, vendar pa vse mutacije ne povzročajo bolezni. Zaenkrat ni pojasnjeno, ali je SOD1 odgovorna za nastanek bolezni pri sporadični obliki ALS (25). Pred kratkim je bila opisana frontotemporalna lobarna degeneracija (FTLD) z boleznijo motoričnega nevrona ali brez nje, povzroča jo odlaganje napačno zvi-

te beljakovine TDP-43 (ang. *transactive response DNA-binding protein 43*) (26). Vse kaže, da ima ta beljakovina pomembno vlogo tudi pri razvoju sporadične ALS (27).

Posebej zanimiva in raziskana skupina proteinopatij je skupina redkih prionskih boleznih, ki prizadenejo človeka in nekatere druge sesalce. Beljakovina, odgovorna za prionske bolezni, je patološka izo-oblika celičnega prionskega proteina (PrP^C), poimenovana prion in običajno označena PrP^{Sc}. Le-ta se napačno zvija, polimerizira in odlaga v možganih ter jih uničuje. Zaenkrat je prion tudi edina znana okvarjena beljakovina, ki je sposobna povzročiti bolezen, če vstopi v možgane zdravega osebk (28, 29). Beljakovina PrP^{Sc} naj bi prisilila normalno izo-obliko prionskega proteina PrP^C, da privzame njeno podobo. Na ta način sproži katalitični proces polimerizacije, kopičenja in uničevanja možganov s histološko sliko propadanja nevronov, reaktivne glioze in spužvaste degeneracije nevro-pila (30). Amiloidne odlage PrP^{Sc} se pojavijo le pri nekaterih prionskih boleznih (slika 5). Vse oblike prionskih boleznih, tudi genetske, lahko prenesemo na poskusne živali, od tod pogosto uporabljen sinonim »prenosne ali transmisivne spongiformne encefalopatije« (TSE).

Med proteinopatije oz. nevrodegenerativne bolezni sodi tudi Alexandrova bolezen, redka genetska levkodistrofija, ki prizadene predvsem otroke in mladostnike, redkeje odrasle (31). Zaradi napake v genu za glialni



Slika 5. Gerstmann-Straussler-Scheinkejev sindrom (GSS). Številni multicentrični plaki v molekularni plasti skorje malih možganov, sestavljeni iz patološko zvitega prionskega proteina, PrP^{Sc} (IHR, klon 3F4, Dedham, ZDA).

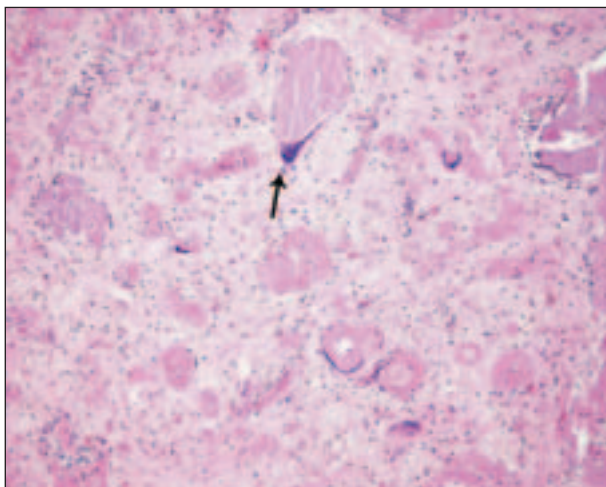
fibrilarni kisli protein (GFAP), intermediarni filament astrocitov, ki se nahaja na kromosomu 17, se tvorijo skupki te beljakovine, poimenovani Rhosentalova vlakna. Rhosentalova vlakna se odlagajo v citoplazmatskih podaljških astrocitov predvsem ob žilah ter pod ependimom in možgansko žilnico.

Ne-amiloidno odlaganje lahkih verig lambda v obliki cerebralne vaskulopatije s hudo prizadetostjo podaljšane hrbtenjače pri mladem bolniku s paranoidno shizofrenijo je prvi opisani primer lokalizirane LCDD, omejene na možgane (slika 6) (32).

Lokalizirane proteinopatije so lahko omejene tudi na druge organe, kot npr. na skeletno mišico. Najpogostejša oblika proteinopatske

miopatije je miozitis z vključki (ang. *inclusion body myositis – IBM*). Kot sporadična oblika se pojavi po 50. letu starosti, redkeje pa pri mlajših osebah kot dedna bolezen (33). Pri IBM so fibrilarne odlage v mišičnih vlaknih in njihovih jedrih sestavljene iz A β in beljakovine tau, ki tvori parne zvite filamente, podobno kot pri AB. Opisane so tudi druge redke dedne proteinopatske miopatije, kot so dezminopatija, aktinopatija, α B-kristalinopatija in miopatija s hialinimi telesci (ang. *hyalin body myopathy – HBM*). Pri slednji se odlagajo zrnati depoziti, bogati z miozinom (34).

Družinska amiloidna polinevropatija je prav tako lokalizirana proteinopatija, ki je največkrat posledica odlaganja napačno zvite



Slika 6. Bolezen odlaganja lahkih verig λ v možganih. Obilne eozinofilne odlage amorfnih snovi v stenah intracerebralnega žila. Velikanke tujkovega tipa ob nekaterih odlagah (puščica).

beljakovine transtiretin, redkeje pa posledica odlaganja beljakovin apolipoprotein A I ali gelsolin v perifernem živčevju.

Med lokalizirane proteinopatije sodijo tudi: z dializo povezana amiloidoza, pri kateri se v sklepih odlaga β_2 -mikroglobulin, posebna oblika sladkorne bolezni tipa II, kjer se v Langerhansovih otočkih odlaga beljakovina amilin, atrialna amiloidoza, pri kateri se v srčnem atriju odlaga beljakovina atrijski natriuretčni faktor, ter odlaganje amiloida v medularnem karcinomu ščitnice, kjer amiloidne odlage tvori kalcitonin.

TUMORSKE OBLIKE ODLAGANJA NAPAČNO ZVITIH BELJAKOVIN

Napačno zvite beljakovine se lahko odlagajo v nekaterih organih v obliki tumorja. Večina gre za odlage delov imunoglobulinov, najpogosteje lahkih verig, v obliki amiloidnih (amiloidomi) in redkeje ne-amiloidnih (agregomi) odlag (35, 36, 37). Amiloidomi so opisani v pljučih, grlu, prebavnem in genitourinarnem traktu, vranici, dojki, trebušni slinavki, mehkih tkivih (35) in tudi možganih (36). Vsi do sedaj opisani amiloidomi lahkih verig imunoglobulinov v možganih so bili sestavljeni izključno iz lahkih verig λ (32). Le redki primeri agregomov lahkih verig κ so opisani v bezgavkah in pljučih (37).

HISTOPATOLOŠKA DIAGNOSTIKA PROTEINOPATIJ

Skupna lastnost vseh napačno zvutih beljakovin, ki tvorijo zunaj- in/ali znotrajcelične agregate, je hidrofobnost. Zaradi te lastnosti se napačno zvite molekule med seboj združujejo, tvorijo oligo- in polimere ter se odlagajo v obliki različnih odlag, ki jih organizem ne more odstraniti niti s pomočjo makrofagne sistema. Z mikroskopsko preiskavo ob odlagah napačno zvutih beljakovin večkrat vidimo večjedrne tujkove velikanke, ki poskušajo fagocitirati beljakovinske odlage, vendar jim to ne uspe.

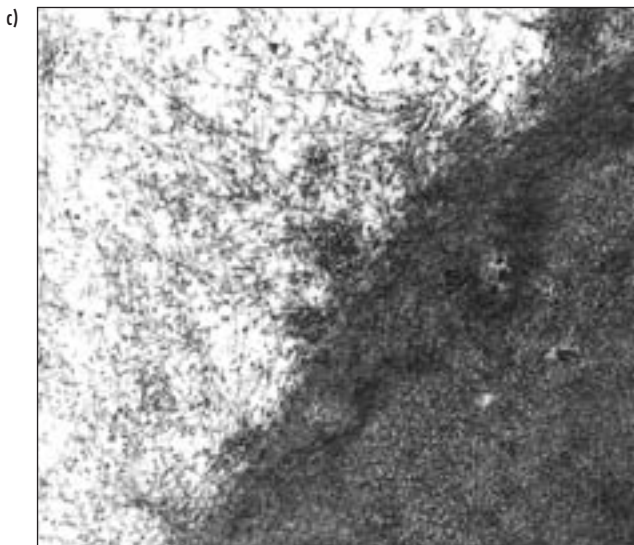
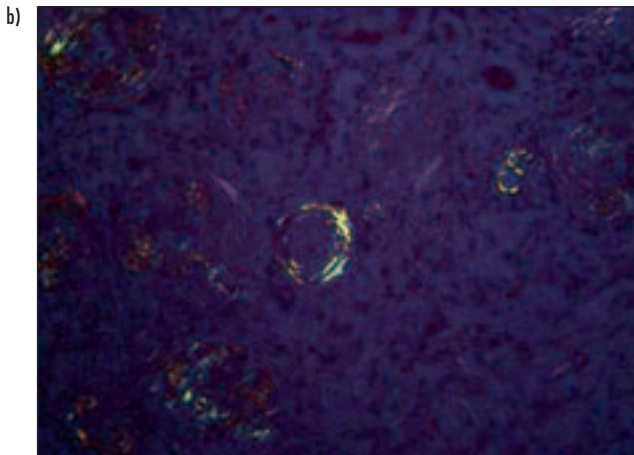
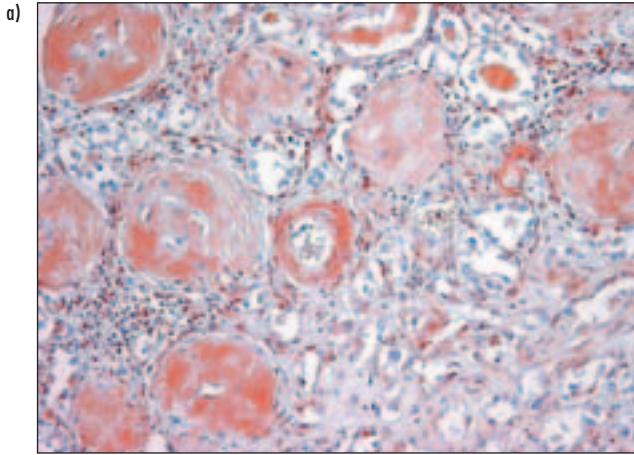
V patologiji lahko beljakovinske odlage prikažemo s posebnimi barvili, ki se vežejo na hidrofobna mesta napačno zvutih beljakovin. Nekatera barvila se vežejo izključno na amiloidne fibrile in so zato specifična in diagno-

stična za amiloidne odlage. Tako barvilo je kongo rdeče, ki po vezavi na amiloid v polarizacijskem mikroskopu dvojno lomi svetlobo v svetlo zelenem odtenku (slika 7). Tioflavin T in S sta nespecifični barvili, ki se vežeta na vse oblike odlag napačno zvutih beljakovin, tako na fibrilarne kot tudi na nefibrilarne. PAS je še manj specifično barvilo, ki obarva odlage napačno zvutih beljakovin, vendar tudi normalno zvite beljakovine, uje-te v žilnih stenah pri arteriolohialnozi ledvic in možganov bolnikov s povišanim krvnim tlakom. Poleg barvnih lastnosti pa so za diagnostiko pomembne tudi ultrastrukturne lastnosti odlag napačno zvutih beljakovin, ki pripomorejo k natančnejši opredelitvi le-teh (slika 7). Amiloidne odlage so sestavljene iz 7–13 nm debelih fibril, ki se ne vejijo. Ne-amiloidne odlage MIDD imajo zrnčasto ali amorfnoutrastrukturo in se odlagajo običajno ob bazalni membrani žil ali ledvičnih tubulov. Barvne in ultrastrukturne lastnosti napačno zvutih beljakovin so pomembne zlasti za diagnostiko zunajceličnih odlag napačno zvutih beljakovin. Znotrajcitoplazemski vključki različnih napačno zvutih beljakovin so pomemben substrat zaradi svoje posebne oblike, ki je običajno značilna za določeno bolezen. Ocenjujemo jo s pomočjo svetlobnega mikroskopa.

Imunohistokemija nam z uporabo specifičnih protiteles proti napačno zvitim beljakovinam omogoča zanesljivo diagnostiko proteinopatij, saj lahko natančno ugotovimo, katera beljakovina je napačno zvita in odgovorna za nastanek odlag.

TOKSIČNOST ODLAG NAPAČNO ZVITIH BELJAKOVIN

Ni še pojasnjeno, ali so odlage napačno zvutih beljakovin neposredno škodljive za celice oziroma tkivo. Pri sistemskih amiloidozah so odlage amiloida v različnih organih tako obilne, da zagotovo prispevajo k njihovi odpovedi. Pri nevrodegenerativnih boleznih so monomere in oligomere okvarjenih beljakovin verjetno bolj škodljive kot fibrilarni agregati, ker preko mehanizma prostih radikalov in oksidativnega stresa lahko aktivirajo apoptozo (38). Okvara nevronov nato sproži aktivacijo mikro- in astroglije, kar dodatno okvari



Slika 7. Diagnostika amiloidoze.
a) Kongofilne odlage amorfne snovi v žilnih stenah in glomerulih ledvice (kongo rdeče).
b) Zelena dvolomnost kongofilnih odlag v polarizacijskem mikroskopu.
c) Ultrastruktura amiloida – ravne fibrile premera 10 nm.

nevrone preko mediatorjev vnetja, ki jih glialne celice izločajo.

Pogostnost nevrodegenerativnih bolezní se s starostjo povečuje, zato postaja zaradi vse

daljše življenjske dobe v razvitem svetu problem nevrodegenerativnih bolezní vedno bolj pereč in narekuje iskanje učinkovitejših terapevtskih rešitev, ki zaenkrat še niso na voljo.

LITERATURA

- Merlin G, Bellotti V. Molecular mechanisms of amyloidosis. *N Engl J Med* 2003; 349: 583–96.
- Garcia-Mata R, Gao Y-S, Sztul E. Hassles with taking out the garbage: Aggravating aggresomes. *Traffic* 2002; 3: 388–96.
- Macario AJL, Macario EC. Review: Sick chaperones and ageing: a perspective. *Ageing Res Rev* 2002; 1: 295–311.
- Ben-Zi AP, Goloubinoff P. Review: mechanisms of disaggregation and refolding of stable protein aggregates by molecular chaperones. *J Struct Biol* 2001; 135: 84–95.
- Ciechanover A, Orian A, Schwartz AL. Ubiquitin-mediated proteolysis: biological regulation via destruction. *BioEssays* 2000; 22: 442–51.
- Xing Y, Higuchi K. Amyloid fibril proteins. *Mech Ageing Dev* 2002; 123: 1625–36.
- Buxbaum JN, Chuba JV, Hellman GC, et al. Monoclonal immunoglobulin deposition disease: Light chain and light and heavy chain deposition disease and their relation to light chain amyloidosis. *Ann Intern Med* 1990; 11: 455–64.
- Buxbaum J, Gallo G. Nonamyloidotic monoclonal immunoglobulin deposition disease. Light-chain, heavy-chain, and light- and heavy-chain deposition disease. *Hematol Oncol Clin N America* 1999; 13: 1235–48.
- Kyle RA, Gertz MA. Primary systemic amyloidosis: Clinical and laboratory features in 474 cases. *Semin Hematol* 1995; 32: 45–59.
- Stokes MB, Jaghirdar J, Burchstin O, et al. Nodular pulmonary immunoglobulin light chain deposits with coexistent amyloid and nonamyloid features in an HIV-infected patient. *Mod Pathol* 1997; 10: 1059–65.
- Cunnane G. Amyloid precursors and amyloidosis in inflammatory arthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2001; 13 (1): 67–77.
- Rocken C, Shakespeare A. Pathology, diagnosis and pathogenesis of AA amyloidosis. *Virchows Arch* 2002; 440: 111–22.
- Escriba A, Morales E, Albizua E, et al. Secondary (AA-type) amyloidosis in patients with polymyalgia rheumatica. *Am J Kidney Dis* 2000; 35 (1): 137–40.
- Strege RJ, Saeger W, Linke RP. Diagnosis and immunohistochemical classification of systemic amyloidosis. Report of 43 cases in an unselected autopsy series. *Virchows Arch* 1998; 433 (1): 19–27.
- Mimassi N, Youinou P, Penneç YL. Amyloidosis and ageing. *Ann Med Interne (Paris)* 2002; 153 (6): 383–8.
- Damas AM, Saraiva MJ. Review: TTR amyloidosis-structural features leading to protein aggregation and their implications on therapeutic strategies. *J Struct Biol* 2000; 130 (2–3): 290–9.
- Brett M, Persey MR, Reilly MM, et al. Transthyretin Leu12Pro is associated with systemic, neuropathic and leptomeningeal amyloidosis. *Brain* 1999; 122: 183–90.
- Schroder R, Linke RP. Cerebrovascular involvement in systemic AA and AL amyloidosis: a clear haematogenic pattern. *Virchows Arch* 1999; 434 (6): 551–60.
- Mayeux R. Epidemiology and neurodegeneration. *Annu Rev Neurosci* 2003; 26: 81–104.
- Smid L, Vovko TD, Popovic M, et al. The 2,6-disubstituted naphthalene derivative FDDNP labeling reliably predicts Congo red birefringence of protein deposits in brain sections of selected human neurodegenerative diseases. *Brain Pathol* 2006; 16 (2): 124–30.
- Spillantini MG, Goedert M. Tau protein pathology in neurodegenerative diseases. *Trends Neurosci* 1998; 21 (10): 428–33.
- Spillantini MG, Goedert M. The alpha-synucleinopathies: Parkinson's disease, dementia with Lewy bodies, and multiple system atrophy. *Ann N Y Acad Sci* 2000; 920: 16–27.
- Jellinger KA. Neuropathological spectrum of synucleinopathies. *Mov Disord* 2003; 18: S2–12.
- Paulson HL. Human Genetics '99: trinucleotide repeats. Protein fate in neurodegenerative proteinopathies: polyglutamine disease join the (mis)fold. *Am J Hum Gen* 1999; 64: 339–45.
- Barber SC, Mead RJ, Shaw PJ. Oxidative stress in ALS: a mechanism of neurodegeneration and therapeutic target. *Biochem Biophys Acta* 2006; 1762 (11–12): 1051–67.
- Kwong LK, Uryu K, Trojanowski JQ, et al. TDP-43 proteinopathies: Neurodegenerative protein misfolding diseases without amyloidosis. *Neurosignals* 2007; 16: 41–51.
- Talbot K, Ansorge O. Recent advances in the genetics of amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia: common pathways in neurodegenerative disease. *Hum Mol Genet* 2006; 15: 182–7.

28. Gajdusek GC, Gibbs CJ, Alpers M. Experimental transmission of Kuru-like syndrome to chimpanzees. *Nature* 1966; 209: 794–6.
29. Prusiner SB. Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science* 1982; 216: 136–44.
30. Budka H, Aguzzi A, Brown P, et al. Neuropathological diagnostic criteria for Creutzfeldt-Jakob disease (CJD) and other human spongiform encephalopathies (prion diseases). *Brain Pathol* 1995; 5 (4): 459–66.
31. Li R, Messing A, Goldman JE, et al. GFAP mutations in Alexander disease. *Int J Dev Neurosci* 2002; 20 (3–5): 259–68.
32. Popović M, Tavčar R, Glavač D, et al. Light chain deposition disease restricted to the brain: the first case report. *Hum Pathol* 2007; 38: 179–84.
33. Askanas V, Engel WK. Sporadic inclusion-body myositis and hereditary inclusion-body myopathies: current concepts of diagnosis and pathogenesis. *Curr Opin Rheumatol* 1998; 10 (6): 530–42.
34. Goebel HH, Warlo I. Gene-related protein surplus myopathies. *Mol Genet Metab* 2000; 71: 267–75.
35. Krishnan J, Chu WS, Elrod JP, et al. Tumoral presentation of amyloidosis (amyloidomas) in soft tissue. A report of 14 cases. *Am J Clin Pathol* 1993; 100: 135–44.
36. Tabatabai G, Bachring J, Hochberg FH. Primary amyloidoma of the brain parenchima. *Arch Neurol* 2005; 62: 477–80.
37. Rostagno A, Frizzera G, Ylagan L, et al. Tumoral non-amyloidotic monoclonal immunoglobulin light chain deposits («aggregoma»): presenting feature of B-cell dyscrasia in three cases with immunohistochemical and biological analysis. *Brit J Haemathol* 2002; 119: 62–9.
38. Stefani M, Dobson CM. Protein aggregation and aggregate toxicity: new insights into protein folding, misfolding diseases and biological evolution. *J Mol Med* 2003; 81: 678–99.

Prispelo 7. 10. 2008