



ЗАГАДКА

ХОРЕИ ГЕНТИНГТОНА

Элена Каттано, Доротея Ригамонти, Киара Цукато

Прошло почти десять лет с тех пор, как ученые идентифицировали ген, отвечающий за развитие хореи Гентингтона. Однако до сих пор неясно, как мутантный ген оказывает свое разрушительное воздействие.

Поначалу человек выглядит вполне здоровым, лишь изредка на лице появляются странные гримасы. Затем они становятся все более заметными, возникают хаотичные произвольные движения, особенно ярко выраженные при психологической или физической нагрузке. Позже появляется танцующая походка – кажется, что человек просто выпил немного лишнего, затем «танцы» повторяются все чаще и становятся все более мучительными. У больного снижается интеллект, он не может выполнять простую повседневную работу. На более поздних стадиях наступают апатия, раздражительность и, наконец, – слабоумие и психоз. Отличавшийся прежде отменным здоровьем жизнерадостный человек превращается в жалкую безжизненную тень.

Таков зловещий портрет хореи Гентингтона, наследственного заболевания, наступающего человека в возрасте от 30 до 40 лет. Эффективного лечения не существует. Болезнь медленно, но неуклонно прогрессирует, приводит к полной инвалидности и гибели через 15–20 лет. Несмотря на то, что поражается прежде всего центральная нервная система, больной умирает от сердечной или легочной недостаточности, поскольку час-

то бывает прикован к постели, либо от черепно-мозговых травм, возникающих в результате частых падений.

Ген, мутации в котором приводят к развитию хореи Гентингтона, был идентифицирован в 1993 г. учеными из разных стран, в том числе Джеймсом Гузеллой (James F. Gusella) из Массачусетского госпиталя общего профиля в г. Чарльз-таун и Фрэнсисом Коллинзом (Francis Collins), который в то время работал в Мичиганском университете в Анн-Арборе. Вскоре появились молекулярно-генетические тесты, позволяющие обнаружить мутантный ген у членов семьи, в истории которой встречались страдавшие этим недугом. Поскольку болезнь является аутосомно-доминантной, любой член семьи, унаследовавший аномальный ген, неизбежно заболевает и с вероятностью 50% передает его каждому из своих детей. Однако далеко не все соглашаются пройти тестирование, многие предпочитают полагаться на случай и ничего не знать.

Ученые разъясняют больным, как работает мутантный ген, как уменьшить его вредоносное действие. Есть данные, что мутация, являющаяся причиной болезни, имеет двойкий эффект: аномальный белок, кодируемый мутантным геном, не только оказывает токсическое действие на нервные клетки, он уже не способствует, как раньше, синтезу одного из основных факторов роста, и без этого фактора остается очень важный отдел мозга. ▶

Болезнь наступает человека в самом расцвете сил: появляются странные гримасы, произвольные хаотичные движения, танцующая походка, психические отклонения. В конце концов жизнь больного становится невыносимой. А в основе патологии лежит увеличение числа повторов из трех нуклеотидов – цитозина-аденина-гуанина (CAG) – в молекуле ДНК.



Опыты на животных и первые клинические испытания на человеке дают основания полагать, что воздействие можно частично компенсировать, вводя в организм недостающий фактор роста. Но все, что сегодня известно о патогенезе болезни Гентингтона, – лишь часть сложной картины, на которой еще много белых пятен.

От хорей Гентингтона к гену гентингтину

Своим названием болезнь обязана психиатру из Огайо Джорджу Гентингтону. В 1872 г. он подробно описал необычное наследственное заболевание, которое наблюдал среди членов одной семьи из Нью-Йорка. Особенно бросались в глаза двигательные нарушения – быстрые хаотичные движения, танцующая походка. Эти симптомы и дали название болезни – хорей, от греческого *choros* – танец. Сегодня хорей Гентингтона – одно из самых распространенных заболеваний мозга, встречающихся с частотой 1 на 10 000.

В основе болезни лежит атрофический процесс в нейронах полосатого тела, структуры, расположенной в глубине мозга и входящей в состав базальных ганглиев. В норме эти нейроны «отфильтровывают» сигналы, поступающие в двигательную зону коры головного мозга. Когда они отмирают, эта зона чрезмерно активизируется, что приводит к хаотичным произвольным движениям. Почему при этом возникают психические нарушения – не вполне ясно.

Ген хорей Гентингтона, кодирующий белок гентингтин, находится на конце короткого плеча 4-й хромосомы. Гены – это сегменты ДНК, в которых в закодированном виде содержится информация о белках. Генетический код состоит из четырех «букв» – азотистых оснований аденина (А), тимина (Т), цитозина (С) и гуанина (G). В двойной спирали ДНК эти основания соединяются друг с другом определенным образом: А образует пару – «перекладину» в винтовой лестнице ДНК – с Т, а G – с С. (Когда клетке нужно синтезировать какой-то белок, двойная спираль слегка раскручивается в нужном месте и комплементарные цепи расходятся, так что клеточная машина, осуществляющая синтез белка, может считывать закодированную в ДНК информацию.) Каждую из 20 аминокислот, из которых состоят белки, кодируют три основания, поэтому код называется триплетным.

Идентифицировав ген *гентингтин*, ученые обнаружили, что даже у здоровых людей его нуклеотидная последовательность, дойдя до определенного места, начинает «заикаться», повторяя триплетное слово CAG от 9 до 35 раз (повышенное число тринуклеотидных повторов встречается и в других генах и ассоциируется с различными дегенеративными заболеваниями, такими, как миотоническая дистрофия). Но у больных хореей Гентингтона – число повторов достигает 250! Примечательно, что чем оно больше, тем раньше развивается болезнь. По неясным пока причинам в ряду поколений, составля-

ющих одну семью, протяженность участка с аномально большим числом повторов увеличивается, причем особенно быстро, когда мутантный ген наследуется по отцовской линии.

Теории и гипотезы

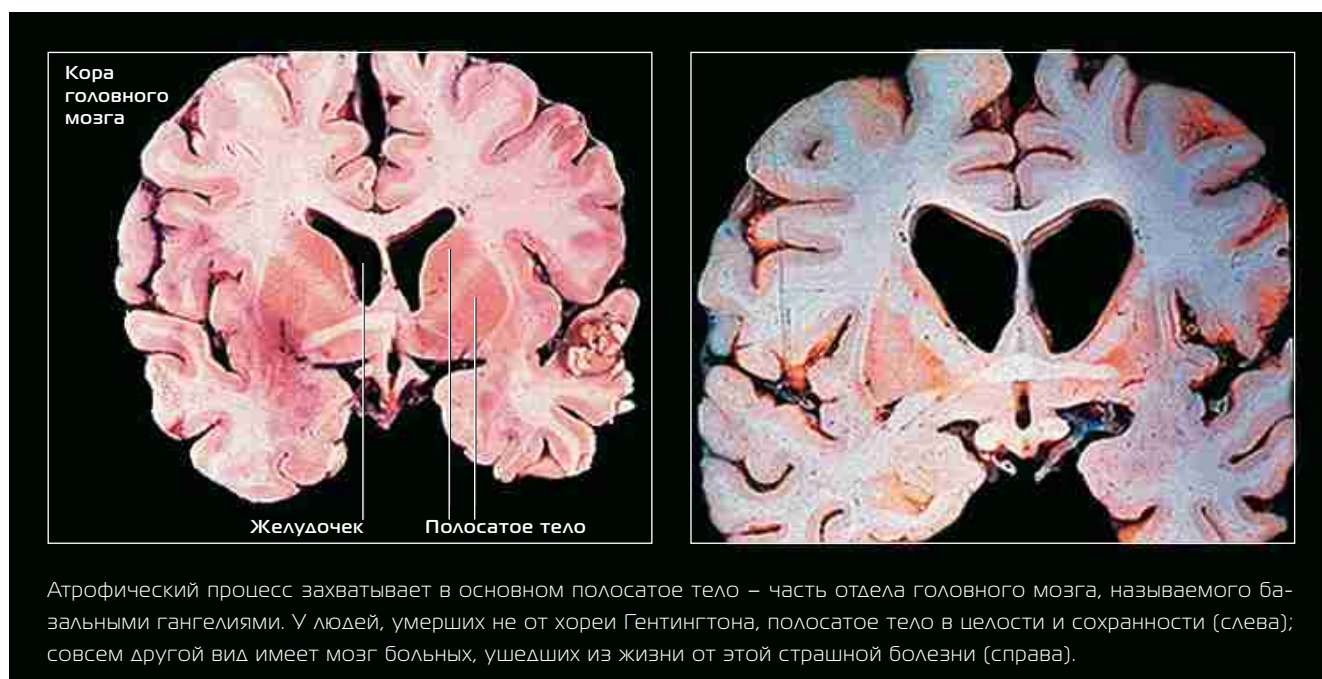
Триплет CAG кодирует аминокислоту глутамин (ее обозначают буквой Q), поэтому у больных хореей Гентингтона белок гентингтин содержит полиглутаминовый сегмент длиной более 36 звеньев. Но почему это приводит к столь трагичным последствиям?

Проще всего предположить, что белок с аномально большим числом остатков Q не может нормально функционировать. Однако гипотеза «утраты функции» была отвергнута, поскольку уже в ранних исследованиях обнаружилось, что гентингтин синтезируется не только в клетках полосатого тела, но и в других отделах мозга, никак не связанных с заболеванием. Кроме того, у каждого человека имеются две копии любого гена: одну он получает от отца, другую от матери. Одна из копий гена гентингтина у больного скорее всего будет нормальной, и в клетках будет синтезироваться достаточное количество полноценного белка. Известен и такой факт: у больных с синдромом Вольфа–Хиршорна (редкого заболевания, обусловленного обширной делецией конца короткого плеча 4-й хромосомы вместе с геном гентингтина) никаких симптомов хорей Гентингтона не наблюдается.

Согласно другой гипотезе «изменения функции», мутация в гене гентингтине приводит к синтезу токсичного белка. Наличие протяженного полиглутаминового участка изменяет конформацию белка, и он склеивается с другими белками (прежде всего с нормальным гентингтином) и выводит их из строя. Это объясняет и тот факт, что мутантный ген наследуется по аутосомно-доминантному типу. По мнению Макса Перутца (Max Perutz) из Кембриджской лаборатории молекулярной биологии Совета медицинских исследований, полиглутамино-

ОБЗОР: ХОРЕЯ ГЕНТИНГТОНА

- Хорей Гентингтона – наследственное заболевание, обусловленное мутацией в гене под названием гентингтин, который находится на конце короткого плеча 4-й хромосомы.
- Носителей дефектного гена можно выявить с помощью генетического теста, но помочь им пока невозможно.
- Мутантный ген содержит огромное число повторов CAG, что приводит к синтезу мутантного белка гентингтина с избыточным количеством остатков глутамина.
- Мутантный белок, по-видимому, оказывает токсическое действие на один из ключевых отделов головного мозга. Кроме того, он больше не может «включать» ген очень важного для мозга фактора роста.



Атрофический процесс захватывает в основном полосатое тело – часть отдела головного мозга, называемого базальными гангелиями. У людей, умерших не от хореи Гентингтона, полосатое тело в целости и сохранности (слева); совсем другой вид имеет мозг больных, ушедших из жизни от этой страшной болезни (справа).

вые участки мутантного гентингтина укладываются с образованием так называемого β -слоя, а, как известно, именно эта структура ответственна за образование белковых комплексов. Эрих Ванкер (Erich Wanker) из берлинского Института Макса Дельбрюка, Джилл Бейтс (Jill Bates) из госпиталя Гюи в Лондоне и Мариан Дифиглиа (Marian DiFiglia) из Массачусетского госпиталя общего профиля в Бостоне обнаружили агрегаты мутантного гентингтина в мозге мыши, а также в мозге больных, умерших от этого недуга.

Но почему агрегаты гентингтина вызывают неврологические симптомы, характерные для хореи Гентингтона? Этот вопрос остается без ответа. Согласно одной из гипотез, протеасомы, клеточные органеллы, разрушающие вышедшие из строя или токсичные белки, неспособны справиться с мутантным гентингином вследствие его необычной конформации. В результате аномальный белок накапливается в клетках и убивает их. Но почему при этом страдает только одна структура головного мозга – полосатое тело? Есть и прямо противоположные гипотезы, согласно которым агрегаты не только

не отвечают за патологию, но и обеспечивают клетку неким защитным механизмом, предохраняющим ее от токсического действия полиглутамината. Так или иначе, исследование роли агрегатов – ключевой момент в выяснении патогенеза хореи Гентингтона. А поиски способов, позволяющих избежать их образование или разрушить уже существующие, могут привести к созданию лекарственных препаратов, способных противостоять болезни.

Еще одно направление исследований – идентификация веществ, образующихся только в полосатом теле и взаимодействующих с гентингином. Входя в состав агрегатов, они могут влиять на их токсичность. Уже найдены три группы белков, которые связываются с гентингином, но ни один из них, по-видимому, не отвечает за токсичность мутантного гентингтина. Не получен и ответ на вопрос, почему атаке подвергаются только клетки полосатого тела.

«Служба спасения» мозга

Чтобы разгадать головоломку, мы и наши коллеги, в том числе Скотт Цейтлин (Scott Zeitlin) из Колумбийского университета, занялись изучением функции

нормального гентингтина. Сначала мы попытались ввести в нейроны, выращенные в культуре, лишние копии нормального гена и его мутантных форм и посмотреть, к каким последствиям это приведет. Выяснилось, что клетки, синтезирующие нормальный гентингтин в избыточном количестве, выживают в неблагоприятных условиях, в которых обычные клетки погибают. Более того, гентингтин предотвращает апоптоз (запрограммированную гибель) нейронов, блокируя каскад молекулярных процессов, которые обычно к нему приводят. Мы пришли к выводу, что в нейронах нормальный гентингтин выполняет функцию спасателя.

Цейтлин с коллегами продвинулись еще дальше: они создали так называемых «нокаутных» мышей, у которых обе копии гена гентингтина «выключались», как только животные достигали зрелости. У грызунов с инактивированным геном прекращался синтез гентингтина и возникали серьезные мозговые нарушения. Блокирование синтеза гентингтина у животных разного возраста приводило к гибели нейронов мозга в результате апоптоза. Кроме того, у мышей с дефицитом нормального гентингтина появлялись ▶

такие же неврологические симптомы, как и у мышей, синтезирующих мутантный белок. Это означает, что отсутствие нормального гентингтина и синтез гентингтина мутантного – две стороны одной медали.

Пытаясь разгадать, почему страдают только нейроны полосатого тела, мы

обратились к изучению нейротропного вещества *BDNF* – фактора роста, необходимого для развития нейронов полосатого тела и их нормальной работы. Обычно *BDNF* синтезируется в теле нейронов коры головного мозга и затем переправляется в полосатое тело по волокнам, соединяющим эти

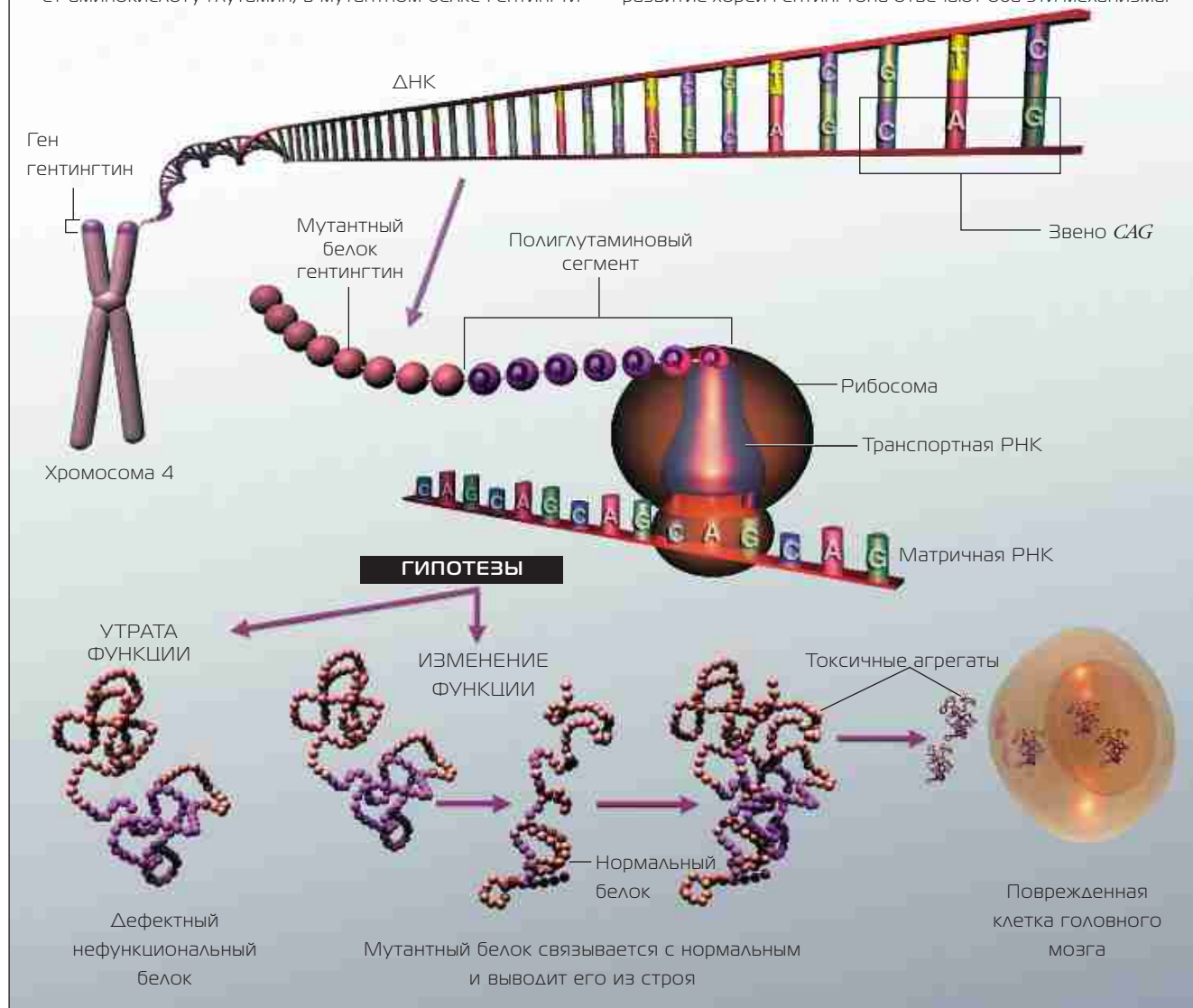
отделы мозга. И мы подумали: может, существует какая-то связь между гентинггином и *BDNF*?

Вскоре мы обнаружили интересную вещь: нормальный гентинггин способствует синтезу *BDNF* в нейронах, растущих в культуре. В частности, он «включает» ген, кодирующий *BDNF*,

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ ХОРЕИ ГЕНТИНГГОНА

Есть разные гипотезы происхождения хореи Гентингтона. Ген гентинггин, мутации в котором приводят к этому заболеванию, в норме содержит от 9 до 35 повторов *CAG*. В дефектном гене их гораздо больше – от 40 до 60. Как и всякий другой ген, гентинггин транскрибируется с образованием матричной РНК (мРНК), на которой затем синтезируется белок гентинггин. Поскольку *CAG* кодирует аминокислоту глутамин, в мутантном белке гентинги-

не появляется протяженный участок, состоящий только из остатков глутамина (полиглутамин). Это может привести к тому, что белок перестает работать (гипотеза «утраты функции»), или к тому, что он ассоциирует с нормальным гентинггином и выводит его из строя (гипотеза «изменения функции»). Полагают, что агрегаты гентинггина токсичны для клеток головного мозга. Возможно, за развитие хореи Гентингтона отвечают оба эти механизма.



и нейроны начинают интенсивно синтезировать фактор роста. Мутантный же белок не обладает таким активирующим свойством. Наличие связи между *BDNF* и гентингином подтвердили и опыты на генетически модифицированных мышцах. Оказалось, что у грызунов, синтезирующих нормальный гентингин в избыточном количестве, в мозге содержится больше *BDNF*, чем обычно, а у мышей, синтезирующих мутантный белок, этого не происходит.

Обобщив все данные, мы пришли к выводу, что хорей Гентингтона – гораздо более сложное заболевание, чем казалось ранее. Мутантный белок образует токсичные агрегаты, убивающие клетки, а мозг лишается нормального гентингина, который обычно «включает» ген, кодирующий *BDNF*. Несомненно, эти два эффекта взаимосвязаны. В 1999 г. ученые подтвердили это, показав в экспериментах на генетически модифицированных мышцах, что мутантный гентингин может выводить из строя нормальную форму этого белка.

Удастся ли спасти мозг?

Осознав всю сложность хорей Гентингтона, мы стали искать способы ее лечения. Все имеющиеся сегодня препараты лишь смягчают симптомы и обладают серьезными побочными эффектами. Седативные средства, позволяющие контролировать произвольные движения, приводят к снижению уровня нейромедиатора дофамина в головном мозге и усиливают депрессию. Антидепрессанты снимают депрессию, но при этом часто возвращается хорейческая симптоматика. При галлюцинациях и бреде больным назначают нейролептики, но лишь в очень небольших дозах, поскольку они усиливают произвольные движения. Уже несколько лет проводятся испытания лекарственного препарата рилузола, механизм действия которого неизвестен, но его уже используют для лечения амиотрофического бокового склероза. Приходится признать, что препарат малоэффективен в обоих случаях.

Более новаторский подход – замена поврежденных нейронов с помощью трансплантации тканей плода или инъекции либо инфузии нейротропных факторов, например *BDNF*. Уже получены обнадеживающие результаты. Марк Песчански (Marc Peschanski) и его сотрудники из Медицинской школы в Крете (Франция) трансплантировали нейроны плода в полосатое тело пяти больных хореей Гентингтона, и у трех из них наблюдалось заметное улучшение двигательных функций и повышение интеллекта. Чтобы обойти этические проблемы, связанные с использованием клеток плода, ученые пытаются вырастить нервные стволовые клетки в культуре. Однако не получится ли так, что мутантный гентингин, вырабатываемый нейронами больного, выведет из строя нормальный белок, который будут синтезировать трансплантированные нейроны? По этой и другим причинам перспективы трансплантационного метода лечения пока не ясны.

В результате опытов на животных обнаружилось, что гибель клеток полосатого тела предотвращает цилиарный нейротропный фактор (*CNTF*). Но не так-то просто доставить этот фактор роста в головной мозг в достаточном количестве, так чтобы он сохранил свою активность. При пероральном введении такие белки, как *BDNF* и *CNTF*, разрушаются в желудке. При инъекции или инфузии они иногда не могут преодолеть клеточный барьер, защищающий мозг

от ненужных веществ, циркулирующих в крови. Чтобы обойти эти трудности, Патрик Эбишер (Patrick Aebischer) из Медицинской школы Лозаннского университета (Швейцария) разработал генно-терапевтический способ: он имплантировал в правый желудочек капсулу с полупроницаемыми стенками с генетически модифицированными клетками, способными синтезировать *CNTF*. Сначала метод был опробован на шимпанзе, и когда Эбишер убедился, что из капсулы непрерывно высвобождается *CNTF*, он вместе с Песчански приступил к опытам на небольшой группе больных. Тот факт, что именно *CNTF*, а не *BDNF* стали испытывать на людях первым, объясняется тем, что его благотворное действие на клетки полосатого тела было обнаружено на несколько лет раньше. Сейчас несколько групп исследователей планируют провести аналогичные испытания с *BDNF*.

Следует обратить особое внимание на ген *BDNF* как на потенциальное лекарственное средство. Если какое-либо вещество, подобно гентингтину, сможет «включить» этот ген, то удастся компенсировать эффект мутации. Думаю, будущее за такими лекарственными препаратами, которые смогут устранять токсическое действие мутантного гентингина, не влияя при этом на свойства гентингина нормального. Постигая тайну болезни Гентингтона, мы даем надежду будущим поколениям. ■

ОБ АВТОРАХ:

Элена Катанео (Elena Cattaneo), **Доротея Ригамонти** (Dorothea Rigamonti) и **Киара Цукато** (Chiara Zuccato) работают в отделении фармакологии и в Центре нейродегенеративных нарушений при Миланском университете (Италия). Катанео – профессор фармацевтической биотехнологии. С 1995 г. сотрудничает с Коалицией по методам лечения – международной исследовательской организацией, поддерживаемой Американским обществом по борьбе с хореей Гентингтона, и с инициативной группой по лечению хорей Гентингтона, финансируемой Фондом по наследственным заболеваниям. С 1988 г. – эксперт Итальянского фонда Телетона. Она удостоена многих наград и почетных званий, в частности, награждена медалью президента Италии Карло Адзельо Чампи за работы по исследованию стволовых клеток и патогенеза хорей Гентингтона. Ригамонти и Цукато – ассистенты Катанео и работают в ее лаборатории.