

Varia

**Nagroda Nobla 2002 w dziedzinie fizjologii i medycyny:
Sydney Brenner, John E. Sulston, H. Robert Horvitz
„Genetyczna regulacja rozwoju organów i programowanej śmierci komórki”**

Agnieszka Adamczyk¹, Beata Biesaga¹, Jan Skołyszewski²

**The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2002:
Sydney Brenner, John E. Sulston, H. Robert Horvitz
“Genetic regulation of organ development and programmed cell death”**

In the year 2002, The Nobel Assembly at Karolinska Instituted decided to award The Nobel Prize in Physiology or Medicine to Sydney Brenner, Robert H. Horvitz and John E. Sulston for their discoveries concerning genetic regulation of organ development and programmed cell death.

*Human body consists of many cell types and all of them originate from a single, fertilized egg. Cells proliferate during embryonic development, and also in adult organism. It is clear that parallel to this process there must be a process of eliminating some cells to maintain the appropriate number of cells in tissue. The first Nobel Laureate, Sydney Brenner, used as experimental animal a nematode *Caenorhabditis elegans*, to investigate how mutation in genes can alter organ development. John Sulston showed that during development, some specific cells undergo programmed cell death. He also identified first mutation of genes involved in programmed cell death and demonstrated that protein coded by the *nuc-1* gene is necessary for DNA degradation. Robert Horvitz, using *C. elegans*, was trying to find out which genes control cell death. He discovered *ced-3* and *ced-4* genes, necessary in the process of death, and *ced-9* gene, which protects cells. He also found in human genome a *ced-3* like gene. The understanding of programmed cell death has proven of value for many research disciplines. Perturbations in this process lead to many diseases like cancer, neurodegenerative and autoimmune diseases.*

Ubiegłoroczni laureaci nagrody Nobla w dziedzinie fizjologii i medycyny to dwaj Brytyjczycy: Sydney Brenner i John E. Sulston oraz Amerykanin Robert H. Horvitz. Odkryli oni mechanizmy odpowiedzialne za rozwój organów i programowaną śmierć komórki. W czasie rozwoju płodowego organizmów żywych liczba komórek dramatycznie rośnie. Komórki dojrzewają i różnicują się, aby utworzyć narządy i tkanki. Również w dorosłym organizmie ciągle powstają nowe komórki. Równolegle z procesem powstawania nowych komórek, zarówno w dorosłym organizmie jak i w zarodku, musi też istnieć naturalny proces ich eliminacji, w celu utrzymania właściwej liczby komórek.

Sydney Brenner, pierwszy z laureatów, we wczesnych latach 60-tych zdał sobie sprawę, że podstawowe pytanie dotyczące różnicowania komórek i rozwoju organów będzie trudne do zbadania u wyższych zwierząt. Potrzebny był wielokomórkowy organizm znacznie prostszy niż ssa-

ki. Idealnym rozwiązaniem okazał się być nicienie *Caenorhabditis elegans*. Zwierzę to ma około 1 mm długości, krótki okres życia, a także jest bezbarwne, co czyni możliwym obserwacje pod mikroskopem kolejnych podziałów komórek. Badania Brennera pozwoliły na powiązanie aktywności konkretnych genów z ich wpływem na procesy rozwoju narządów nowego organizmu.

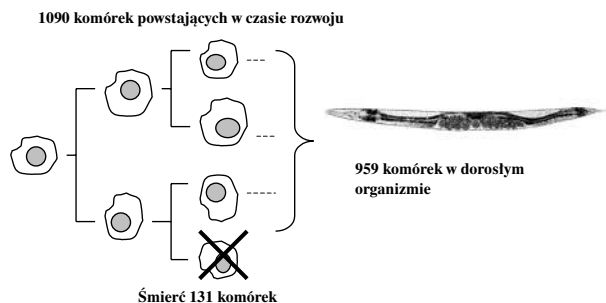
John Sulston rozszerzył prace Brennera i opracował technikę, za pomocą której możliwe było studiowanie wszystkich podziałów komórkowych w czasie rozwoju nicienia od zapłodnionego jaja do dorosłego organizmu. Wykazał, że każdy nicienie przechodzi przez taki sam proces, kierujący podziałami komórek i ich różnicowaniem. W przypadku tego organizmu, w wyniku podziałów jest generowanych 1090 komórek, jednakże 131 ginie i dorosłe zwierzę zawiera ich tylko 959 (Ryc. 1). A zatem niektóre, ściśle określone komórki umierają na drodze programowanej śmierci, nieodłącznego elementu procesu różnicowania. John Sulston odkrył także gen kodujący białko *nuc-1*, które uczestniczy w degradacji DNA w umierającej komórce.

Trzeci z laureatów Robert Horvitz kontynuował te prace, skupiając się na genetyce nicienia. W 1986 r. opisał dwa geny: *ced-3* i *ced-4*, promujące proces apoptozy. Póź-

¹ Pracownia Radiobiologii Klinicznej

² Klinika Radioterapii

Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie
Oddział w Krakowie



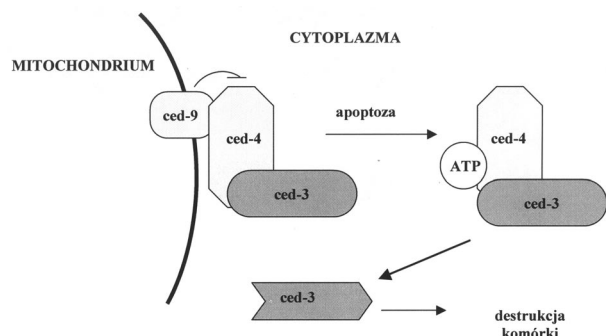
Ryc.1. Rozwój nicienia *Caenorhabditis elegans*

Figure 1. The development of nematode *Caenorhabditis elegans*

niej opisał też gen *ced-9*, hamujący ten proces. Wykazał również, że ludzki genom zawiera odpowiednik genu *ced-3*.

W procesie apoptozy możemy wyróżnić fazę wzbudzenia, etap wykonawczy i proces zniszczenia komórki. Apoptoza jest wywoływana przez dużą liczbę czynników chemicznych i fizycznych, zróżnicowanych zarówno jakościowo, jak i pod względem sposobu oddziaływania na komórkę. Wśród nich można wymienić: hormony, cytokiny, deficyt czynników wzrostowych oraz odżywczych. Różnorodność czynników wywołujących apoptozę doprowadziła do powstania wielu indywidualnych dróg wzbudzenia tego procesu. Sygnałem może być bezpośrednie uszkodzenie DNA lub sygnały z błony komórkowej.

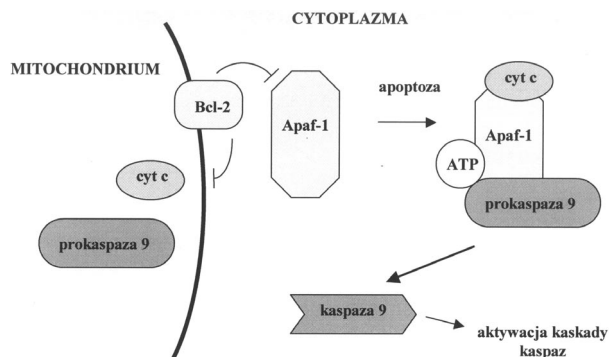
W fazie wykonawczej dochodzi do ostatecznego włączenia programu apoptozy. Faza ta wydaje się skupiać wiele indywidualnych ścieżek z fazy wzbudzenia. Właśnie dzięki badaniom Horvitz zidentyfikowano geny odpowiedzialne za ten proces u *C. elegans*. Główną rolę pełni tu białka *ced-3* i *ced-4*, stymulujące apoptozę i *ced-9*, hamujące ten proces. W żywej, prawidłowej komórce tworzy się kompleks białek *ced-4* i *ced-3*, z występującym, w błonie mitochondrium, białkiem *ced-9*. Jednakże, kiedy komórka odbierze sygnały włączające apoptozę, kompleks *ced-3/ced-4* jest uwalniany z błony, co prowadzi do aktywacji białka *ced-3*, będącego enzymem, proteazą, i rozpoczęcia destrukcji komórki (Ryc. 2). Białka *ced-3*, *ced-4* i *ced-9* mają swoje odpowiedniki u człowieka, są to: kaspaza 9, białko Apaf-1 i białko Bcl-2. Jednak u ssaków, a więc i u człowieka, proces apoptozy jest bardziej skomplikowany. Wydaje się, że mitochondrium jest centralnym organem w procesie programowanej śmierci komór-



Ryc. 2. Schemat aktywacji procesu apoptozy w komórkach nicienia

Figure 2. Activation of apoptosis in nematode's cells

ki. Białkami regulującymi przepuszczalność błon mitochondrium są białka z rodziny Bcl-2, jak i ich homologi. Do tej rodziny należą zarówno białka stymulujące proces apoptozy (*Bax*, *Bad*, *Bak*, *Bid*, *Bik*), jak i go hamujące (*Bcl-2*, *Bcl-w*, *Brag-1*). W błonach mitochondrium tworzą one homo- i heterodimery. Przewaga homodimerów Bcl-2 decyduje o przeżyciu, a większość homodimerów Bax o śmierci komórki. W prawidłowej komórce, Bcl-2 obecne w błonie mitochondrialnej, wiąże białko Apaf-1, hamując wypływ cytochromu *c* oraz prokaspaz 2, 3, 9. Po zadziałaniu czynnika indukującego apoptozę, cytochrom *c* wydostaje się z mitochondrium i przyłącza się do Apaf-1. Białko to zmienia swoją konformację i do kompleksu może przyłączyć się prokaspaza 9. W kompleksie nazywanym apoptosomem, następuje aktywacja prokaspazy 9 do kaspazy 9, a ta następnie aktywuje prokaspazę 3, prowadząc do włączenia kaskady kaspaz (Ryc. 3). Kaspazy, będące specyficznymi enzymami, proteazami cysteinowymi, odgrywają kluczową rolę w przebiegu efektorowej fazy apoptozy.



Ryc. 3. Schemat aktywacji procesu apoptozy przez białka, uwalniane z mitochondrium w komórkach ludzkich

Figure 3. Activation of apoptosis through proteins released from mitochondrion in human cells

W fazie zniszczenia komórki dochodzi do fragmentacji DNA, rozbicia cytoszkieletu, formowania ciałek apoptotycznych oraz fagocytozy. Proteazy, głównie kaspazy, które uległy aktywacji w fazie wykonawczej, trawią szereg białek: laminy jądrowe (uszkadzając błonę jądrową), histony, topoizomery, białka strukturalne oraz białka decydujące o naprawie DNA. Trawione też są białka uczestniczące w obróbce RNA, w prawidłowym przebiegu cyklu komórkowego i przekazywaniu sygnałów. W cytoplazmie trawieniu ulegają aktywnie i filamencie pośrednie cytoszkieletu, co zmienia kształt komórki. Białko AIF, uwalniane z mitochondrium, po przemieszczeniu do jądra, aktywuje endonukleazy, tnące DNA do 180 nukleotydowych fragmentów i ich wielokrotności. U *C. elegans* za destrukcję DNA jest odpowiedzialne białko *nuc-1*, opisane przez Sulstona, u człowieka rolę tę pełnią: *nuc-18*, DNaza I i II.

Procesy związane z fizjologiczną śmiercią komórki odgrywają też dużą rolę w patogenezie wielu chorób. Generalnie ograniczenie procesu apoptozy prowadzi do powstawania chorób związanych z zaburzeniami proliferacji

np. nowotworów oraz związanych z autoagresją komórek układu odpornościowego, takich jak toczeń rumieniowaty i reumatoidalne zapalenie stawów. Natomiast wzrost poziomu apoptozy jest związany z chorobami zwyrodnieniowymi. Przykładem są choroby zwyrodnieniowe ośrodkowego układu nerwowego, np. choroba Alzheimera i choroba Parkinsona, w których obserwuje się wzmożoną apoptozę neuronów. Również w wielu chorobach wirusowych dochodzi do zaburzeń w regulacji apoptozy.

Często terminów apoptoza i programowana śmierć komórki używa się zamiennie. Jednak termin „programowana śmierć” opisuje naturalną śmierć komórki, spowodowaną np. starzeniem się lub gdy komórka nie jest już potrzebna. Natomiast termin „apoptoza” określa śmierć komórek pod wpływem czynników uszkodzających ją, w większości zewnątrzkomórkowych. Jednak na poziomie molekularnym nie wykryto różnic pomiędzy tymi zjawiskami.

Podsumowując, prace ubiegłorocznych laureatów nagrody Nobla pomogły w zrozumieniu naturalnych procesów równowagi między tworzeniem się nowych komórek a ich śmiercią w organizmie. Zaburzona regulacja procesu apoptozy i programowanej śmierci jest związana z wieloma procesami chorobowymi i jej zrozumienie stwarza szansę na wprowadzenie nowych metod leczenia.

Otrzymano i przyjęto do druku: 12 czerwca 2003 r.

Mgr Agnieszka Adamczyk
Pracownia Radiobiologii Klinicznej
Centrum Onkologii – Instytut
im. Marii Skłodowskiej-Curie
ul. Garncarska 11, 31-115 Kraków