

# Uloga I $\kappa$ B kinaznog kompleksa kod Huntingtonove bolesti

---

Vuković, Nikolina

Undergraduate thesis / Završni rad

2018

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of biology / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za biologiju**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:181:797081>

*Rights / Prava:* [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-04-25**



**ODJEL ZA  
BIOLOGIJU**  
Sveučilište Josipa Jurja  
Strossmayera u Osijeku

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of Department of biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek](#)



Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za biologiju

Preddiplomski sveučilišni studij Biologija

Nikolina Vuković

**Uloga I $\kappa$ B kinaznog kompleksa kod Huntingtonove  
bolesti**

Završni rad

Osijek, 2018. godina

**TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA**  
**Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku**  
**Odjel za biologiju**  
**Preddiplomski sveučilišni studij Biologija**  
**Znanstveno područje: Prirodne znanosti**  
**Znanstveno polje: Biologija**

**Završni rad**

## **Uloga I $\kappa$ B kinaznog kompleksa kod Huntingtonove bolesti**

Nikolina Vuković

**Rad je izrađen:** na Odjelu za biologiju, Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku na Zavodu za biokemiju i ekofiziologiju biljaka, Laboratorij za biokemiju

**Mentor:** Doc. dr. sc. Senka Blažetić

**Kratak sažetak završnog rada:** Huntingtonova bolest jedna je od poznatijih nasljednih bolesti živčanog sustava. Karakteriziraju je simptomi kao što su nekontrolirani motorni pokreti te postepeno kognitivno propadanje koji uglavnom nastupaju u srednjoj životnoj dobi. Mutacija DNA uzrokovana višestrukim ponavljanjem tripleta dušičnih baza CAG uzrok je oboljenja. Dijagnoza bolesti postavlja se genetičkim testiranjem, a liječenje se zasad temelji na ublažavanju simptoma. Iako su biokemijski putevi bolesti višestruko istraženi, stručnjaci još uvijek dolaze do novih spoznaja o pojedinim regulatornim molekulama. I $\kappa$ B kompleks je složena proteinska struktura, a po funkciji enzim građen od tri podjedinice. U organizmu je sveprisutan no u neuronima CNS kod HB pacijenata ključan je u signalnim putevima bolesti. I $\kappa$ B $\beta$  podjedinica kompleksa važna je u procesu imunološkog odgovora, a kod Huntingtonove bolesti inhibicija ili stimulacija aktivnosti I $\kappa$ B $\beta$  direktno utječe na razvoj simptoma pa i napredak same bolesti.

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Ključne riječi:** I $\kappa$ B $\beta$  podjedinica, HTT gen, nuklearni faktor  $\kappa$ B, neuroinflamacija, CNS

**Rad je pohranjen:** na mrežnim stranicama Odjela za biologiju te u Nacionalnom repozitoriju završnih i diplomskih radova Nacionalne i sveučilišne knjižnice u Zagrebu.

**BASIC DOCUMENTATION CARD****Bachelor's thesis****Josip Juraj Strossmayer University of Osijek****Department of Biology****Undergraduate university study programme in Biology****Scientific Area:** Natural Sciences**Scientific Field:** Biology**The role of I $\kappa$ B kinase complex at Huntington's disease**

Nikolina Vuković

**Thesis performed at:** Department of Biology, J.J. Strossmayer University in Osijek

Sub-department of Biochemistry and Eco-physiology of Plants, Laboratory of

Biochemistry

**Supervisor:** Senka Blažetić, PhD, Assistant Professor

**Short abstract:** Huntington's disease represents a well known hereditary disorder of nervous system. It is characterized by symptoms such as uncontrolled motor movements and gradual cognitive decay that generally occur in middle age. Cause of the disease is mutation that happens as a result of multiple repeated CAG nitrogen bases. Diagnosis is set by genetic testing, and treatment is based on the relief of the symptoms. Although the biochemical pathways of the disease have been researched, experts are still coming up with new findings about some regulatory molecules. The I $\kappa$ B complex is a compounded protein structure of three subunits, with the function of an enzyme. In organism is ubiquitous, but in CNS neurons of HB patients is crucial in signal pathways of the disease. The I $\kappa$ B $\beta$  subunit of complex is important in the immune response processes and at Huntington's disease, inhibition or stimulation of I $\kappa$ B $\beta$  activity directly affects the development of symptoms and progression of the illness.

**Original in:** Croatian**Key words:** I $\kappa$ B $\beta$  subunit, HTT gen, nuclear factor  $\kappa$ B, neuroinflammation, CNS

**Thesis deposited:** on the Department of Biology website and the Croatian Digital Theses Repository of the National and University Library in Zagreb.

# SADRŽAJ

|                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------|----|
| 1. UVOD .....                                                  | 1  |
| 2. OSNOVNI DIO .....                                           | 3  |
| 2.1. Klinička slika Huntingtonove bolesti .....                | 3  |
| 2.2. Molekularna dijagnostika .....                            | 4  |
| 2.3. IκB kinazni kompleks .....                                | 5  |
| 2.3.1. Podjedinice kinaznog kompleksa .....                    | 6  |
| 2.4. Nuklearni faktor κB .....                                 | 7  |
| 2.5. Huntingtonova bolest i IκB kinazni kompleks .....         | 8  |
| 2.5.1. IκB/NF-κB signalizacija i neuroinflamacija kod HB ..... | 8  |
| 2.5.2. Mutant HDx1 i IκBβ .....                                | 10 |
| 2.5.3. IκB regulacija podjele HTT .....                        | 11 |
| 2.5.4. Uloga IκB kompleksa u fosforilaciji HTT .....           | 13 |
| 2.6. Terapeutski potencijal IκB kompleksa .....                | 14 |
| 3. ZAKLJUČAK .....                                             | 17 |
| 4. LITERATURA .....                                            | 18 |

## POPIS KRATICA

AB - Alzheimerova bolest

CAG - Triplet nukleotidnih baza citozin-adenin-gvanin

CNS - Središnji živčani sustav

DNA - Deoksiribonukleinska kiselina

HB - Huntingtonova bolest

HDx1 - Toksičan N-terminalni fragment Huntingtin gena

HTT - Huntingtin gen

HLH - Heliks-petlja-heliks (eng. *helix-loop-helix*)

I $\kappa$ B - I-kappa-B kinazni kompleks

I $\kappa$ B $\alpha$  - Podjedinica I-kappa-B kinaznog kompleksa alfa

I $\kappa$ B $\beta$  - Podjedinica I-kappa-B kinaznog kompleksa beta

I $\kappa$ B $\gamma$  - Podjedinica I-kappa-B kinaznog kompleksa gama

LZ - Leucinski otvarač (eng. *leucine zipper*)

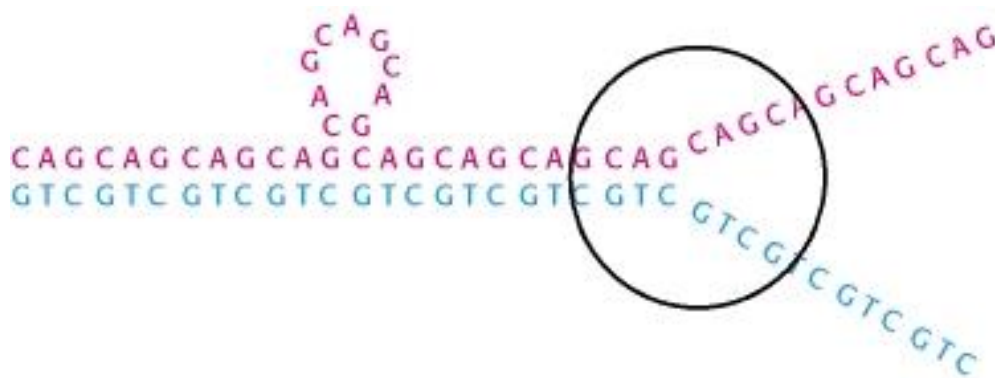
NF- $\kappa$ B - Nuklearni faktor  $\kappa$ B

NEMO - Drugi naziv za I $\kappa$ B $\gamma$

PB - Parkinsonova bolest

## 1. UVOD

Huntingtonova bolest (HB) je jedna od češćih hereditarnih bolesti živčanog sustava. To je autosomno dominantna nasljedna bolest koju karakteriziraju progresivni motorni, emocionalni i kognitivni poremećaji, a uobičajeno se javlja između 35. i 45. godine života. Često se naziva još i Huntingtonovom korejom zbog abnormalnih motornih kretnji koje uzrokuje. Prevalencija bolesti iznosi 5 – 10 oboljelih na 100 000 stanovnika. Prvi put ju je opisao 1872. godine američki liječnik George Huntington (Demarin i Trkanjec, 2008). Ubraja se u poremećaje pokreta koji obuhvaćaju poremećaj funkcije bazalnih ganglija obilježen poremećajima izvođenja voljnih ili pojavom nevoljnih, nekontroliranih kretnji. Uzrok bolesti je mutacija huntingtin gena (HTT) na kratkom kraku kromosoma 4 (4p 16.3). Normalna vrijednost ponavljanja CAG tripleta (Slika 1.) je 11 do 34 – srednja vrijednost 19. Osobe s 40 i više ponavljanja razvijaju Huntingtonovu bolest. Duljina CAG ponavljanja je u pozitivnoj korelaciji sa stupnjem razvoja bolesti, a slučajevi sa ranijim početkom bolesti imaju najveći broj ponavljanja. Izraženija je kod osoba koje nasljeđuju bolest od oca. Ponavljanje tripleta može se povećati tijekom gametogeneze, osobito u muškaraca. To stvara dulje abnormalne poliglutaminske proteine. Sama progresija bolesti je sporija u starijih bolesnika, a početak bolesti se gotovo u istoj dobi javlja kod jednojajčanih blizanaca (Brinar i sur., 2009).



**Slika 1.** Ponavljanje tripleta dušičnih baza CAG

(Izvor: Web 1)

I $\kappa$ B kinazni kompleks je istaknuti regulator neuroinflamacije kod HB. U patogenezi bolesti ključna je uloga I $\kappa$ B $\beta$  podjedinice kompleksa. Upalni medijatori se nakupljaju u CNS oboljelih, dok koncentracija citokina pozitivno korelira s progresijom bolesti. I $\kappa$ B $\beta$  također može izravno kontrolirati neurotoksičnost HTT gena (Khoshnan i sur. 2004). U slučajevima oštećenja DNA u jezgrama neurona, aktivacija I $\kappa$ B $\beta$  uzrokuje cijepanje mut i ne-mutiranog HTT, te stimulira nakupljanje štetnih oligomernih fragmenata. Štoviše, N-terminalni dijelovi mutiranog HTT (HDx1) se izravno vežu i aktiviraju I $\kappa$ B $\beta$ . Prema tome, I $\kappa$ B $\beta$ -ovisno cijepanje mutanta HTT i nakupljanje HDx1 može biti uvelike štetno (Khoshnan i sur. 2009). Povišena aktivnost I $\kappa$ B $\beta$  prisutna je u cijelom CNS simptomatskog mišjeg modela HB ekspresije HDx1, dok je kod asimptomatskih miševa s mutantom HTT pune duljine lokalizirana na području striatuma. I $\kappa$ B $\beta$  također može utjecati na fosforilaciju HTT na Ser13 i Ser16, što je povezano s HB patologijom (Thompson i sur. 2009). Inhibicija I $\kappa$ B $\beta$  u CNS smanjuje neuroinflamaciju i pruža zaštitu u kemijskom modelu HB. Ovi nalazi podržavaju aktivnu ulogu I $\kappa$ B $\beta$  u patogenezi Huntingtonove bolesti te predstavljaju primjer kako interakcije genskog okoliša (oštećenja DNA i upale) mogu utjecati na HTT neurotoksičnost (Haver i sur. 2011).

## **2. OSNOVNI DIO**

### **2.1. Klinička slika Huntingtonove bolesti**

Huntingtonova bolest se najčešće klinički prezentira u srednjoj životnoj dobi (od 30 do 50 godina), neurološkim, psihijatrijskim te kognitivnim simptomima ili njihovom kombinacijom (Sertić i sur., 2015). Neurološki simptomi obično se javljaju u vidu koreatskih hiperkineza (pokreti poput plesa) koji su u početku blagi te lokalizirani, s napretkom bolesti postaju izraženiji. Psihijatrijski simptomi obično se pojavljuju s neurološkim simptomima ili im prethode, a zastupljeni su u 33-76% bolesnika. Obuhvaćaju poremećaje ličnosti i ponašanja, demenciju, depresiju i psihozu. Kognitivni simptomi u početku su blagi te primarno zahvaćaju izvršne funkcije, kao rezultat supkortikalnog poremećaja. Oboljeli gube mentalnu fleksibilnost te se počinju otežano snalaziti u novonastalim situacijama. Kognitivni deficit je progresivan i u uznapredovaloj fazi HB pojavljuje se naglašena supkortikalna demencija koja zahvaća sve kognitivne domene (Sertić i sur., 2015). Veliki broj ponovljenih CAG tripleta, izrazita depresija i apatija te rani početak bolesti predstavljaju čimbenike koji imaju direktan utjecaj na brzinu razvoja kognitivnog deficita.

Bolest se rjeđe javlja u dječjoj dobi i adolescenciji ili nakon 50. godine života. Najčešći rani znakovi bolesti su promjene osobnosti i ponašanja, bolesnici postaju razdražljivi, zapuštaju sebe i obitelj, mijenjaju radna mjesta, a kasnije postaju agresivni, iritabilni ili čak nasilni. Nerijetko dolazi do promjena raspoloženja i depresije, a u manje slučajeva se javljaju halucinacije, paranoidnost i psihoza. U početnim stadijima koreja je fokalna ili segmentalna, a kasnije napreduje i zahvaća cijelo tijelo. Uočljive su grimase mimične muskulature, a pri zahvaćanju bulbularnih moždanih živaca govor postaje isprekidan i nerazumljiv. Zbog nevoljnih pokreta kretnji jezika i usta, kao i poremećene funkcije bulbularnih mišića nastupaju poremećaji gutanja. Gubi se spretnost prstiju, a hiperkineze onemogućuju obavljanje svrhovitih radnji, pogotovo kretanje. Mišićni je tonus smanjen. Kod 50% bolesnika prisutni su okulomotorički poremećaji, posebice pareza prema gore. U 6–10% oboljelih Huntingtonova bolest može početi parkinsonizmom (Westphalova varijanta). Tijekom napredovanja bolesti demencija postaje sve izrazitija. Koreja obično doseže vrhunac za desetak godina. Završni stadij bolesti obilježen je

abulijom, apatijom i dubokom demencijom. Bolesnici umiru od opće iscrpljenosti i komplikacija (Demarin i Trkanjec, 2008).

## 2.2. Molekularna dijagnostika

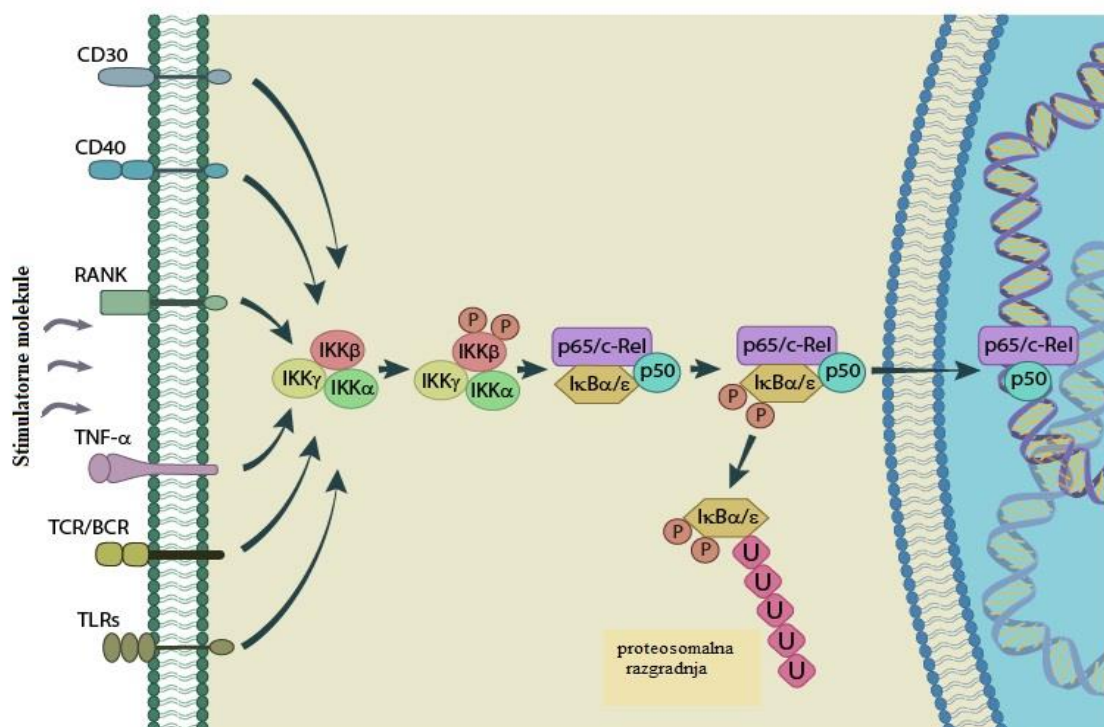
Kod Huntingtonove bolesti kao autosomno – dominantnog oboljenja često dolazi do ranog pojavljivanja kod potomaka, najčešće se to događa u slučajevima gdje potomak nasljeđuje HTT gen od oca. Kod takvih situacija je karakteristična spontana i brza mutacija gena. Molekularna podloga mutacije gena je povećanje broja nukleotidnih baza citozin-adenin-gvanin tripleta u njegovom prvom eksonu (Sertić i sur. 2015). Produkt ekspresije normalnog gena je protein huntingtin za koji danas još nije utvrđena specifična funkcija. Postoje naznake da sudjeluje u unutarstaničnom transportu, regulaciji transkripcije, inhibiciji apoptoze i embrionalnom razvoju. Kao rezultat većeg broja CAG tripleta, proporcionalno raste koncentracija promijenjenog poliglutaminskog proteina u stanici. Ovisno o broju ponavljanja CAG tripleta različite su kliničke manifestacije bolesti i tip mutiranog alela (Tablica 1).

**Tablica 1.** Odnos broja ponavljanja tripleta CAG i ekspresije Huntingtonove bolesti  
(Preuzeto i prilagođeno prema Sertić i sur. 2015.)

| Broj ponavljanja CAG tripleta | Ekspresija bolesti                                                                                                                              |
|-------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ≤ 26                          | Normalni (zdravi alel).                                                                                                                         |
| 27-35                         | Intermedijarni alel, još uvijek nije patološki nalaz, no broj ponavljanja može se povećati pri prijenosu na potomke te u njih izazvati bolest.  |
| 36-39                         | Ekspandirani alel, bolest se može pojaviti u kasnijoj životnoj dobi ili se neće pojaviti, potomci imaju povećan rizik oboljevanja.              |
| ≥40                           | Ekspandirani alel, bolest će se pojaviti s velikom sigurnošću, nisu zabilježeni asimptomatski pojedinci s ovim brojem ponavljanja CAG tripleta. |

### 2.3. I $\kappa$ B kinazni kompleks

I $\kappa$ B kinazni kompleks ili IKK jedan je od ključnih elemenata u NF- $\kappa$ B kaskadi. Ovaj enzimski kompleks se sastoji od dvije katalitičke podjedinice: I $\kappa$ B $\alpha$  i I $\kappa$ B $\beta$  te regulatorne podjedinice I $\kappa$ B $\gamma$  ili NEMO. Dokazano je postojanje dodatnih trajnih i trenutnih komponenti čija funkcija još uvijek nije definirana. Biokemijskim pročišćavanjem kompleksa utvrđena je molekularna težina od 700-900 kDa. Njegova je ključna uloga u fosforilaciji serinskih aminokiselinskih završetaka istoimenih inhibitornih proteina I $\kappa$ B. Oni su smješteni u citoplazmi stanice, a sudjeluju u imunološkom odgovoru. I $\kappa$ B kompleks fosforilira inhibitorne I $\kappa$ B proteine stimuliran upalnim citokinima, bakterijskim i virusnim produktima. Nakon modifikacije fosforilacijom, inhibitorni proteini se poliubikvitiniraju i unište djelovanjem proteosoma. Posljedično će u jezgru stanice slobodno ulaziti transkripcijski faktori NF- $\kappa$ B te aktivirati transkripciju različitih gena koji sudjeluju u imunološkom i upalnom odgovoru, prijanjanju stanice, kontroli rasta i zaštiti u apoptozi (Slika 2.) (A. Israël, 2010).

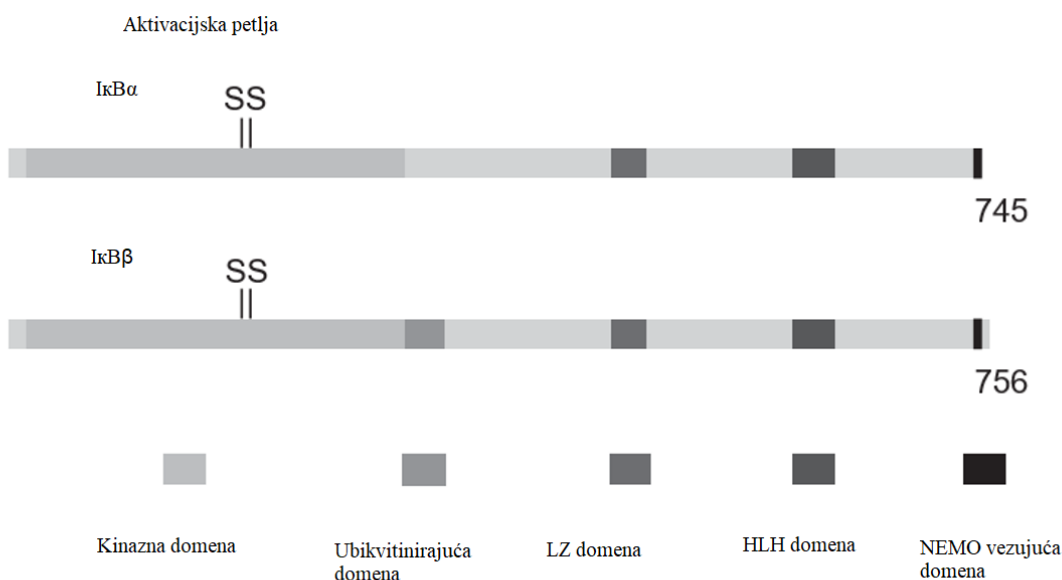


**Slika 2.** I $\kappa$ B kompleks aktivacija u NF- $\kappa$ B kaskadi (Izvor: Web 2)

### 2.3.1. Podjedinice kinaznog kompleksa

I $\kappa$ B $\alpha$  i I $\kappa$ B $\beta$  podjedinice strukturno su jednake u 50% građe, a zajedno čine amino-terminalnu domenu, u obliku HLH strukture. Ona sudjeluje u katalitičkom djelovanju cijelog kompleksa i upravljanju leucinskim otvaračem. Uloga LZ je u hetero ili homodimerizaciji podjedinica. Dodatno I $\kappa$ B $\alpha$  ima jezgrin lokalizacijski signal, vjerojatno povezan s njegovom nuklearnom aktivnošću (Sil i sur. 2004). I $\kappa$ B $\beta$  pak ima ubikvitinirajuću domenu čija funkcija je trenutačno još nepoznata (Slika 3.).

Nekatalitička podjedinica I $\kappa$ B $\gamma$ /NEMO je proteinska domena od 48 kDa. Njezina je ključna uloga u kaskadnoj aktivaciji NF- $\kappa$ B. Temeljem istraživanja strukturne građe pomoću rentgenske kristalografije, utvrđeno je da se radi o dimernoj i paralelnoj intermolekularnoj zavojnici, uz izuzetak karboksi terminalnog kraja. Amino terminalni kraj NEMO je važan za interakciju s katalitičkim podjedinicama. Aminokiselinski ostaci 44-111 I $\kappa$ B $\gamma$ /NEMO povezuju se s aminokiselinskim ostacima 701-746 I $\kappa$ B $\beta$  podjedinice, pri čemu tvore asimetričnu četverostruku helix strukturu. Ona je građena od dva paralelna NEMO dimera, od kojih svaki monomer oblikuje  $\alpha$  – heliks uzvojnicu u obliku polumjeseca koja se poglavito povezuje s dva helikazna I $\kappa$ B $\beta$  peptida (A. Israël, 2010). Ti peptidi međusobno ne ulaze u direktne interakcije, već samo putem navedene strukture.



**Slika 3.** Shematski prikaz građe I $\kappa$ B kinaznog kompleksa  
(preuzeto i prilagođeno prema A. Israël, 2010).

## 2.4. Nuklearni faktor $\kappa$ B

Nuklearni faktor  $\kappa$ B označava skupinu srodnih homo i heterodimernih transkripcijskih čimbenika koji mogu aktivirati različite skupine ciljnih gena uključenih u proliferaciju, stanično preživljavanje i imunološki odgovor (Nishikori, 2005). Grupno strukturno povezanih proteina čini ukupno pet članova: RelA (p65), RelB, cRel, NF- $\kappa$ B1 (p50; p105), i NF- $\kappa$ B2 (p52; p100) koji dolaze u raznim homodimernim i heterodimernim oblicima. Pri tome članovi RelA, c-Rel i RelB imaju transaktivacijsku domenu C-terminalnog dijela. NF $\kappa$ B1/p105 i NF- $\kappa$ B2/p100 su inaktivni prekursori p50 i p52 proteina i smješteni su u citoplazmi (Schmid i Birbach, 2008). Proteolitičkim procesom pomiče se C-terminalna inhibitorna domena, što uzrokuje pomicanje proteina u jezgru stanice (Dolcet, 2005). P50 i p52 dolaze obično u obliku homodimera ili heterodimera, vezani s jednim od navedena tri proteina, koji imaju transaktivacijsku domenu. RelA i p50 postoje u divljem obliku staničnog tipa, dok je c-Rel ekspresija ograničena na hematopoetske stanice i limfocite. Ekspresija RelB ograničena je na visoko specifična mjesta kao što su timus, limfni čvorovi ili Peyerove pločice koje grade limfni folikuli u sloju *lamina propria mucosae* i *tela submucosa* crvuljka i sluznice tankoga crijeva. NF- $\kappa$ B je izražen u citoplazmi gotovo svih vrsta stanica, gdje je njegovo djelovanje pod kontrolom obitelji regulatornih proteina odnosno NF- $\kappa$ B (I $\kappa$ B) (Gilmore i Gerondakis, 2011; Nishikori, 2005).

NF- $\kappa$ B signalni put ima ključnu ulogu u kontroli preživljavanja normalnih i malignih B limfocita kontrolirajući višebrojne regulacijske puteve za smrt stanice. NF- $\kappa$ B može pozitivno utjecati na opstanak stanica moduliranjem tumor nekrotizirajućeg faktora, tip 1/2 receptora (TNFR1/2) signala inhibiranjem apoptoze posredstvom FAS (eng. *first apoptosis signal receptor*) te ograničavanjem aktivnosti BCL2 gena (Škunca i Planinc-Peraica, 2015). Osim toga, ima značajnu ulogu u reguliranju ekspresije gena bitnih za stvaranje urođenog i adaptivnog imunološkog odgovora. To su geni: TNF, VEGF, IL-1, IL-6, ciklin D1, c-MYC (Nishikori, 2005). U neaktivnom stanju, NF- $\kappa$ B heterodimeri (c-REL ili RELA homolog i NF- $\kappa$ B1) su u citoplazmi vezani na inhibitor kappa B (I $\kappa$ B). Tijekom NF- $\kappa$ B aktivacije I-kappa-kinaze (I $\kappa$ B) fosforilacijom I $\kappa$ B dovodi do razgradnje inhibitora NF- $\kappa$ B heterodimera u citoplazmi. Aktivirani NF- $\kappa$ B heterodimer je translociran u jezgru gdje potiče transkripciju NF- $\kappa$ B okrenutu ciljnim genima (Gilmore i Gerondakis, 2011; Bea i sur. 2005).

## **2.5. Huntingtonova bolest i I $\kappa$ B kinazni kompleks**

Dva potencijalna modifikatora u procesu patogeneze HB su neuroinflamacija i nakupljanje oštećene DNA u neuronima mozga. I $\kappa$ B kinazni kompleks regulira utjecaj tih modifikatora. Fosforilacijom se I $\kappa$ B kompleks degradira pomoću ubikvitinirajućeg proteasoma, što mu omogućava vezanje na promotore mnogih gena, poput citokina. Podjedinica kompleksa I $\kappa$ B $\beta$  je predominantna kinazna podjedinica kod imunološkog odgovora (Hacker i Kerin, 2006). U organizmu je I $\kappa$ B kompleks sveprisutan no u središnjem živčanom sustavu mu je uloga manje poznata. Regulacija I $\kappa$ B/NF- $\kappa$ B signalizacije važna je u procesima neuralnog održavanja, rasta i plastičnosti. Poznato je da aktivacija I $\kappa$ B $\beta$  podjedinice pozitivno utječe na procese vezane za neurodegeneraciju kod HB (Mattson i Meffert, 2006). Prekomjerna aktivnost navedene podjedinice se podudara i s ostalim neurodegenerativnim oboljenjima poput Alzheimerove bolesti (AB), multiple skleroze (MS), Parkinsonove bolesti (PB) i ishemije (Khoshnan i sur. 2004). Samim time, inhibicija aktivnosti I $\kappa$ B $\beta$  imati će pozitivan utjecaj na neurone u slučajevima AB, PB, HB i ishemije.

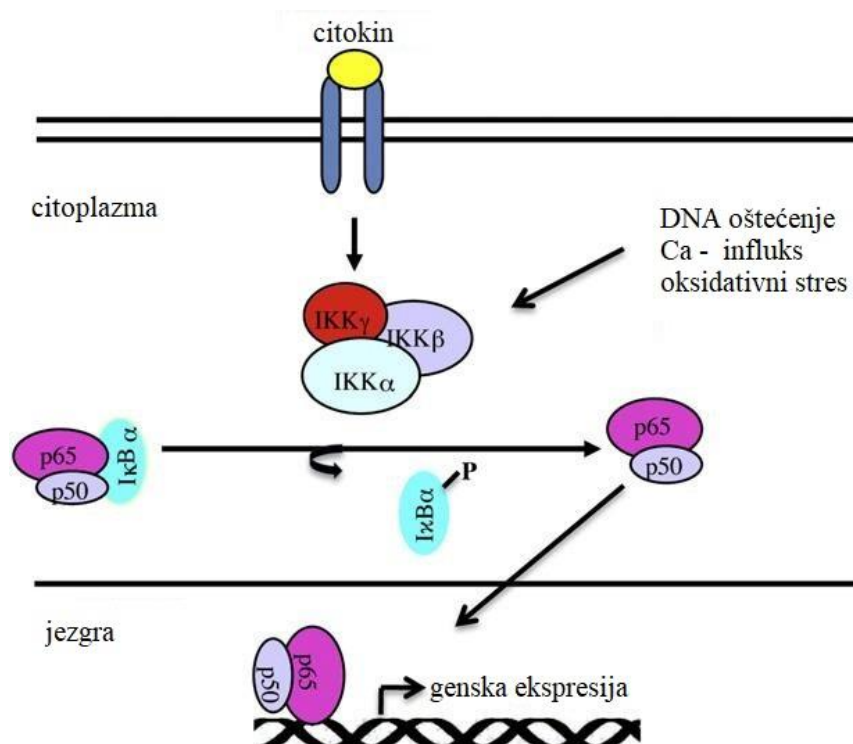
### **2.5.1. I $\kappa$ B/NF- $\kappa$ B signalizacija i neuroinflamacija kod HB**

Neuroinflamacija se definira kao kompleksan imunološki odgovor mozga, uslijed kojeg dolazi do aktivacije glija stanica, oslobađanja upalnih čimbenika (citokina, kemokina) i stvaranja reaktivnih kisikovih i dušikovih vrsta (Milatović i sur. 2011). Upalni odgovori u mozgu također su povezani s povećanom razinom prostaglandina (PG), osobito PGE2. PGE2 signalizacija je posredovana interakcijom različitih receptora povezanih s G proteinima, koji su različito ekspresirani na neuronskim i glijalnim stanicama kroz središnji živčani sustav. Povišena razina PGE2 i upalni medijatori također su svojstveni mozgu u fazi starenja. Intenzivnije stanje neuroinflamacije čini stariji mozak osjetljivijim na razorne učinke intrinzičnih i ekstrinzičnih čimbenika poput bolesti, infekcija, toksina ili stresa (Milatović i sur. 2011).

Kao rezultat neuroinflamacijskih odgovora u situacijama poput HB može doći i do nakupljanja amiloidnih proteina, što je znak negativnog djelovanja različitih tipova faktora. Klinički dijagnosticirani HB pacijenti pokazuju povećanu razinu upalnog citokina IL-6 u serumu i CNS 16 godina prije iskazivanja prvih simptoma, a njegova razina je u korelaciji

sa stupnjem razvoja bolesti. Drugi citokini, uključujući IL-1 $\beta$ , IL-8 i TNF također su obilni u simptomatskim pacijentima HB, kao i u HB životinjskim modelima (Björkqvist i sur. 2008). Istraživanjem postmortalnih mozgova HB, uz navedene, utvrđena je abnormalna razina upalnih medijatora: CCL2, IL-10, IL-6, IL-8 i MMP9 u različitim područjima mozga (Silverstroni i sur. 2009).

I $\kappa$ B/NF- $\kappa$ B signalni put je glavni inicijator opisanih upalnih medijatora te je kod HB poremećen (Khoshnan i sur. 2004; Hacker i Kerin, 2006). Povišena aktivnost I $\kappa$ B $\beta$  tokom istraživanja uočena je kod genetski modificiranog miša kao laboratorijskog modela s HB. Kod njega je eksprimiran i toksičan N-terminalni fragment HTT gena tzv. HDx1. Ove životinje također su pokazale visoku razinu upalnih citokina, uključujući IL-6, IL-1 $\beta$  i TNF-a u serumu i CNS, što je u skladu s dereguliranim I $\kappa$ B/NF- $\kappa$ B signalnim putem. Aktivirane mikroglija stanice, koje su vjerojatno izvor povišenih citokina u CNS, otkrivene su u predkliničkim HB mozgovima i njihova se akumulacija podudara s disfunkcijom neurona striatuma (Tai i sur. 2007; Björkqvist i sur. 2008). Istraživanja su pokazala da odstranjivanje I $\kappa$ B $\beta$  iz mikroglija, reducira inflamaciju i neurotoksičnost kod laboratorijskih modela s HB. Navedene studije ukazuju na ključnu ulogu I $\kappa$ B $\beta$  u neuroinflamaciji i ističu neravnotežu kao temeljni uzrok povišenih citokina u CNS kod HB pacijenata. Aberantna aktivnost I $\kappa$ B/NF- $\kappa$ B signalnog puta može biti također odgovorna za abnormalnu razinu upalnih medijatora u serumu HB pacijenata. Njihove imunološke stanice su preosjetljive na upalne reakcije i proizvode velike koncentracije citokina u odnosu na referentnu količinu kod zdravih osoba (Björkqvist i sur. 2008). Striatalni neuroni koji eksprimiraju mutante HTT pokazuju pretjeranu aktivnost I $\kappa$ B/NF- $\kappa$ B signalnog puta kada se stimuliraju citokinima, stimulatorima I $\kappa$ B $\beta$  (Slika 4.). Na taj način mutirani HTT pojačava stanične odgovore na podražaje koji aktiviraju I $\kappa$ B $\beta$  (Khoshnan i sur. 2004).



**Slika 4.** Shematski prikaz aktivacije I $\kappa$ B kompleksa (Preuzeto i prilagođeno prema Hacker i Karin, 2006).

Kompleks se stimulira vanjskim čimbenicima (citokin) i unutrašnjim (DNA oštećenje, Ca influks, oksidativni stres). Aktivirani kompleks fosforilira I $\kappa$ B $\alpha$ , koja pokreće disocijaciju kompleksa i propušta NF- $\kappa$ B proteine u jezgru stanice gdje reguliraju gensku ekspresiju.

### 2.5.2. Mutant HDx1 i I $\kappa$ B $\beta$

Jedan od faktora koji može aktivirati I $\kappa$ B/NF- $\kappa$ B signalni put je akumulacija amiloidnih proteina i njihovih prekursora kao što je amiloidogeni A $\beta$  fragment (Kaltschmidt i sur. 2005). Dokazano je da se HDx1 koji ima amiloidogena svojstva, izravno povezuje s I $\kappa$ B $\gamma$  podjedinicom kompleksa. To povezivanje zahtijeva prošireni poliglutaminski ogranak ili tzv. polyQ (eng. *polyglutamine*) i prolinske motive u HDx1. Navedena interakcija potiče sklapanje i aktivaciju kompleksa, a prekida se rekombinantnim strukturama čije je djelovanje usmjereno na poliprolinske motive u HDx1 (Khoshnan i sur. 2002, 2004.). Trimerizacija I $\kappa$ B $\gamma$  je preduvjet za aktivaciju I $\kappa$ B kompleksa. Također je ustanovljeno da topljivi HDx1 potiče sastavljanje SDS-rezistentnog trimera I $\kappa$ B $\gamma$  u ljudskom modelnom neuronu (Khoshnan, 2009). Vezanje HDx1 na I $\kappa$ B $\gamma$  može djelovati kao nukleacijski signal za prestrukturiranje drugih I $\kappa$ B podjedinica, da bi se

formirao aktivni kompleks. Sposobnost HDx1 da izravno aktivira kompleks I $\kappa$ B može biti glavni uzrok širokog spektra I $\kappa$ B $\beta$  aktivnosti i neuroinflamacije opažene u CNS modelnih miševa (R6 /2HD) (Ona i sur., 1999; Khoshnan i sur., 2004; Björkqvist i sur., 2008). S druge strane u presimptomatskom mišjem modelu (HdhQ150) koji ima ekspresioniran HTT pune dužine, povećana I $\kappa$ B $\beta$  aktivnost je otkrivena samo u striatumu, primarnom mjestu mutantne HTT toksičnosti. Ekspandirani HTT ne može aktivirati I $\kappa$ B $\beta$  no HDx1 se postepeno nakuplja u mozgu HdhQ150 (Khoshnan i sur., 2004; Landles i sur., 2010). Selektivna osjetljivost striatuma na okolne uvjete, može potaknuti stvaranje HDx1 i lokalno aktivirati I $\kappa$ B u HdhQ150. HDx1 se također nakuplja u različitim dijelovima HB mozga, a moguće je nakupljanje i unutar drugih tkiva (Kim i sur., 2001). Ona mogu aberantno aktivirati I $\kappa$ B $\beta$ , dok akutna i regulirana aktivacija I $\kappa$ B $\beta$  može biti zaštitna te ključna za fiziološku homeostazu. Stimulacija postupnim nakupljanjem HDx1 može dovesti do abnormalnosti kao što su neuroinflamacija i potencijalno neurodegeneracija kod HB (Khoshnan i sur. 2004).

### **2.5.3. I $\kappa$ B regulacija podjele HTT**

Podijela ili cijepanje HTT pomoću proteolitičkih enzima predstavlja jedan od ključnih koraka u patogenezi HB. N-terminalni fragmenti sa proširenim polyQ ponavljanjima su toksičniji od HTT mutanata pune dužine u staničnim i animalnim modelima HB. Također cijepanje HTT mutanata pune dužine je preduvjet za početak simptoma kod nekih modela. Kao primjer kod laboratorijskih miševa modela YAC-128 HB, inaktivacija kaspaze-6 kao mjesta cijepanja mutiranog HTT inaktivira neuropatološke procese. Poznate su kaspaze i kalpaini koji cijepaju HTT i proizvode potencijalno neurotoksične N-terminalne fragmente (Graham i sur. 2000; Zuccato i Cattaneo, 2010). Faktori koji induciraju cijepanje HTT još nisu u potpunosti istraženi no pretpostavlja se da su genetski ili faktori mjesta. Mogući faktor mjesta koji utječe na progresiju HB kod mozga u fazi starenje je postupno nakupljanje oštećene DNA u stanici (Katyal and McKinnon, 2008). Kod pacijenata s dijagnosticiranom HB utvrđena je povišena razina oštećenja DNA u mozgu, ali i smanjena razina normalnog HTT što smanjuje neuronsku otpornost na agense koji uzrokuju DNA oštećenja. Istraživanjem faktora koji bi mogli potaknuti cijepanje HTT, otkrilo se da iste tvari koje uzrokuju cijepanje DNA u neuronima, potiču cijepanje normalnog i mutiranog HTT (Khoshnan i sur. 2009).

Cijepanje HTT uzrokovano DNA oštećenjima, ovisno je o I $\kappa$ B $\beta$  podjedinici kompleksa. Uklanjanje I $\kappa$ B $\beta$  ekspresije zajedno s shRNA (eng. *short hairpin RNA*) ili blokiranje njezine aktivnosti pomoću malih inhibitornih molekula smanjuje aktivnost kaspaza i kasnije cijepanje HTT (Khoshnan i sur. 2009). I $\kappa$ B $\beta$  fosforilira Bcl-xL (eng. *B-cell lymphoma-extra large*) koji inače potiče njegovu degradaciju u neuronima izloženim agensima koji oštećuju DNA. Redukcija Bcl-xL stimulira kaspaze koje cijepaju HTT. Normalan HTT se također cijepa i u stanicama izloženim upalnim citokinima (Zhang i sur. 2006; Thompson i sur. 2009). U neuronima normalan HTT regulira mnoge važne funkcije poput vitalnosti stanice, neurogeneze, zaštitu od genotoksičnog stresa i ekspresiju BDNF (eng. *brain-derived neurotrophic factor*) (Godin i sur. 2010; Zuccato i Cattaneo, 2010). I $\kappa$ B $\beta$  može doprinijeti neurodegeneraciji inaktivacijom snižavanjem i normalnog HTT. Istovremeno I $\kappa$ B $\beta$ -ovisno cijepanje mutanta HTT može proizvesti supstrate za daljnju obradu koja će generirati neurotoksične oligomerne vrste. Na taj način I $\kappa$ B $\beta$  može regulirati neke od najranijih koraka u patologiji HB kod mišjih modela (Ratovitski i sur. 2009).

Smanjena ekspresija djelatnosti I $\kappa$ B $\beta$  također smanjuje toksične efekte DNA oštećenja i pozitivno djeluje na neuronski oporavak. I $\kappa$ B $\beta$  je ključni regulator odgovora na DNA oštećenje i neophodan dio staničnog preživljavanja (Wu i sur. 2006; Wu i Miyamoto, 2008). DNA oštećenja također potiču proizvodnju upalnih citokina IL-6, za koje je vjerojatno da su I $\kappa$ B $\beta$  ovisni i povišeni u ranim presimptomatskim slučajevima HB (Björkqvist i sur. 2008; Rodier i sur. 2009). Tokom proliferacije stanice su funkcionalno adekvatne za oporavak u slučaju DNA oštećenja. Post-mitotički neuroni prolaze kroz aktivaciju staničnog ciklusa i apoptozu kada su izloženi djelovanju takvih štetnih agenasa. Redukcija ekspresije I $\kappa$ B $\beta$  u post-mitotičkim humanim neuronima sprječava inkorporiranje BrdU (eng. *bromodeoxyuridine*) kao markera sinteze DNA. Smanjeno djelovanje I $\kappa$ B $\beta$  inhibira i aktivaciju pro-apoptotičkih kaspaza. Samim time, I $\kappa$ B $\beta$  podjedinica kompleksa može biti jedna od ključnih kontrolnih točaka u regulaciji gubitka neurona uzrokovanog nakupljanjem DNA oštećenja (Kruman i sur. 2004; Khoshnan i sur. 2009; Kim i Tsai 2009).

Djelovanje I $\kappa$ B $\alpha$  podjedinice ima suprotan učinak. Oštećenje DNA u ljudskim neuronima će smanjiti aktivnost I $\kappa$ B $\alpha$ , dok stimulacija aktivnosti ove podjedinice ima za

posljedicu inhibiciju aktivnosti kaspaza, aktiviranih DNA oštećenjima i cijepanjem HTT. Poznato je kako I $\kappa$ B $\alpha$  djeluje poput inhibitora I $\kappa$ B $\beta$  u različitim modelnim aktivnostima. Kao primjer je činjenica da uklanjanje I $\kappa$ B $\alpha$  stimulira I $\kappa$ B $\beta$ -ovisnu ekspresiju proupalnih citokina u imunološkim stanicama. Zato se previđa da zaštitni učinak I $\kappa$ B $\alpha$  na HTT cijepanje uključuje inhibiciju I $\kappa$ B $\beta$ . I $\kappa$ B $\alpha$  utječe i na druge neurozaštitne signalne puteve (Li i sur. 2005; Chariot 2009; Khoshnan 2009). I $\kappa$ B $\alpha$  fosforilira i stimulira aktivnost CREB vezujućeg proteina (CBP) i histona-3. Ta aktivnost se smatra važnom u procesu vraćanja memorije i stvaranja sinaptičkih interakcija u području hipokampusa. CBP regulira ekspresiju neuralnih gena poput BDNF koji je induciran djelovanjem I $\kappa$ B $\alpha$ . S obzirom da su razine CBP i BDNF u HB mozgu smanjene, vjeruje se da faktori regulacije I $\kappa$ B $\alpha$  imaju neurozaštitnička svojstva (Anest i sur. 2003; Huang i sur. 2007; Lubin i Sweatt 2007; Greer i Grenberg 2008; Zuccato i Cattaneo 2010). Navedene promjene suprotne su efektima koje izaziva djelovanje I $\kappa$ B $\beta$  na cijepanje HTT i promicanje upale u CNS. Samim time promjene u homeostazi razine podjedinica I $\kappa$ B kompleksa mogu biti kritične odrednice neuroinflamacije i neuralne vitalnosti u situacijama kao što su nakupljanje DNA oštećenja u stanici.

#### **2.5.4. Uloga I $\kappa$ B kompleksa u fosforilaciji HTT**

U procesu unutarstanične lokalizacije, transporta i toksičnosti ključna je uloga N-terminalnog dijela peptidnog motiva građenog od 17 aminokiselina (Zuccato i Cattaneo 2010). Nedavno provedena istraživanja su pokazala da I $\kappa$ B kompleks fosforilira dva serinska aminokiselinska ostatka (Ser13 i Ser16) HTT te da potencijalno može povećati promet normalnog HDx1u modelnim neuronima. Dokazano je i da aktivacija I $\kappa$ B $\beta$  izazvanog citokinima u striatalnim prekursorskim stanicama miša, uzrokuje cijepanje normalnog HTT i generira fosforilirane fragmente različitih duljina koji se potom eliminiraju autofagijom (Thompson i sur. 2009). Abnormalna fosforilacija posredovana I $\kappa$ B $\beta$  podjedinicom i transport normalnog HTT može biti štetan s obzirom na to da je normalan HTT važan za vitalnost neurona i ekspresiju BDNF (Zuccato i Cattaneo 2010). Unatoč tome, I $\kappa$ B $\beta$  nema utjecaj na promet mutiranog HDx1 premda se on nakuplja u jezgri, što bi moglo biti neurotoksično (Thompson i sur. 2009). Nedavne studije pokazuju da se mutirani HDx1 fosforiliran na Ser16, selektivno nakuplja u jezgri striatalnih neurona, pri čemu narušava promet tvari iz jezgre i korelira s progresijom bolesti. Tako, I $\kappa$ B $\beta$ -

posredovana fosforilacija mutanta HTT može doprinijeti progresiji bolesti (Havel i sur. 2011).

Inhibicija I $\kappa$ B $\beta$  pomoću malih inhibitornih molekula ili shRNA stimulira fosforilaciju HTT na N-terminalnom djelu bez utjecaja na njegov transport (Truant i sur. 2010). Dok ti suprotni učinci I $\kappa$ B $\beta$  na HTT fosforilaciju zahtijevaju daljnje pojašnjenje, poznato je da fosfor-mimetik Ser13 i Ser16 u mutantu HTT daje neuroprotekciju i ublažava simptome kod HB miševa (Gu i sur. 2009). Nejasno je utječe li I $\kappa$ B $\beta$  na fosforilaciju HTT *in vivo* ili pak na stabilnost HTT, unutarstanični transport, cijepanje i oligomerizaciju. Naznake da bi inhibicija I $\kappa$ B $\beta$  mogla stimulirati fosforilaciju HTT, potvrđuje tezu da aktivacija I $\kappa$ B $\beta$  može biti štetna (Gu i sur. 2009.). I $\kappa$ B $\beta$  podjedinica inducirana povišenim koncentracijama citokina i abnormalnim razinama oštećenja DNA, mogla bi ubrzati cijepanje i promet normalnog HTT i na taj način oštetiti neurone (Khoshnan i sur. 2009; Thompson i sur. 2009). U odnosu na to, ako I $\kappa$ B $\beta$  fosforilira mutirani HTT, može uzrokovati nakupljanje HDx1 u jezgri i pri tom inducirati patološki put. Daljnja istraživanja na miševima s HB kod kojih je uklonjena I $\kappa$ B $\beta$  podjedinica kompleksa bi morala dati nove važne informacije o ulozi I $\kappa$ B $\beta$  u HTT fosforilaciji pa i patologiji Huntingtonove bolesti (Thompson i sur. 2009; Havel i sur. 2011).

## **2.6. Terapeutski potencijal I $\kappa$ B kompleksa**

Dosadašnja istraživanja upućuju na to da potiskivanje aktivnosti I $\kappa$ B može zaustaviti napredak HB. Inhibicija I $\kappa$ B $\beta$  može smanjiti neuroinflamaciju i proizvodnju upalnih citokina, koji se smatraju važnim modifikatorima HB progresije (Björkqvist i sur. 2008). I $\kappa$ B $\beta$ -ovisna neuroinflamacija također je implicirana u PB i AB te posredovana kaspazama važnim za cijepanje HTT (Khoshnan i sur. 2009; Burguillos i sur. 2011). Na taj način, snižavanje aktivnosti I $\kappa$ B $\beta$  može ukloniti toksične učinke neuroinflamacije, koja je sastavni dio nekoliko neurodegenerativnih poremećaja (Glass i sur. 2010). U slučaju HB blokiranje I $\kappa$ B $\beta$  aktivnosti bi trebalo umanjiti cijepanje normalnog i mutiranog HTT, usporiti nakupljanje oligomernih toksičnih fragmenata, kao i propadanje neurona zbog genotoksičnih faktora (Khoshnan i sur. 2009; Thompson i sur. 2009). Inhibitori I $\kappa$ B $\beta$  smanjuju neurotoksičnost HDx1 kod modelnog HB mozga prema dosad još neobjašnjenom mehanizmu, dok stimulacija I $\kappa$ B $\beta$  aktivnosti uzrokuje nakupljanje HDx1 što može intenzivirati neurotoksičnost (Khoshnan i sur. 2004; Thompson i sur. 2009; Zuccato i

Cattaneo, 2010). Stoga, istraživanja učinaka inhibitora I $\kappa$ B $\beta$  u životinjskim modelima HB bi mogla dovesti do razvoja novih terapeutika.

Dosad su otkriveni brojni inhibitori I $\kappa$ B $\beta$  čiji neurozaštitnički efekti u modelima bolesti još uvijek nisu potpuno razjašnjeni. Ipak, poticajni rezultati dobiveni su istraživanjem NEMO terminalne domene, koja odgovara C-terminalnom kraju I $\kappa$ B $\beta$  te sprječava vezanje I $\kappa$ B $\gamma$  s I $\kappa$ B $\alpha$ , odnosno nastajanje aktivnog kompleksa (Madge i May 2009). Takva sistemska primjena NEMO podjedinice blokira neurodegeneraciju, ometa aktivaciju mikroglija u području substantia nigra mozga te poboljšava motoričku funkciju kod PB modela miša (Ghosh i sur. 2007). Kod ishemije je također utvrđeno smanjenje neurodegeneracijskih procesa uslijed unošenja inhibitornih molekula I $\kappa$ B $\beta$  podjedinice (Herrmann i sur. 2005). Kemijska i genetička inhibicija I $\kappa$ B $\beta$  sprječava degeneraciju spinalnih neurona stimuliranu mutantnim HDx1 (Khoshnan i sur. 2009). Otkriveno je kako I $\kappa$ B $\beta$  inhibitori blokiraju aktivaciju kaspaze-6 kao jednog od istaknutih enzima patogeneze HB (Graham i sur. 2006; Khoshnan i sur. 2009). Ovi nalazi potvrđuju procjenu I $\kappa$ B $\beta$  inhibitora u HB životinjskim modelima. Nekoliko inhibitora I $\kappa$ B $\beta$  ušlo je u klinička ispitivanja zbog njihovog učinka na malignost bolesti. S obzirom na povišene razine upalnih citokina u serumu i CNS pre-simptomatskih bolesnika s HB (Björkqvist i sur. 2008), moglo bi se razaznatati može li rano sistemsko unošenje I $\kappa$ B $\beta$  inhibitora utjecati na vrijeme početka i progresije bolesti u HB životinjskim modelima (Lee i Hung 2008; Khoshnan i Patterson 2011).

Unatoč obećavajućim terapijskim mogućnostima, dugotrajna primjena I $\kappa$ B $\beta$  inhibitora bi mogla dovesti do neželjenih nuspojava s obzirom na važnost I $\kappa$ B $\beta$  kod razvoja imunoloških stanica. Stoga bi rješenje bilo u razvijanju strategija za selektivnu inhibiciju I $\kappa$ B $\beta$  u mozgu. Jedna takva moguća strategija je uklanjanje ekspresije I $\kappa$ B $\beta$  u CNS putem isporuke shRNA, sintetičkih miRNA (eng. *micro RNA*) ili anti-sense oligonukleotida (Boudreau i Davidson, 2010). Poznato je da brisanje I $\kappa$ B $\beta$  u CNS modelnih miševa nema nikakvog vidljivog učinka na neuralni razvoj i rast, a uvelike ublažava neurodegeneraciju kod ishemije (Herrmann i sur. 2005; Van Loo i sur. 2006). Smanjenje I $\kappa$ B $\beta$  u CNS sprječava demijelinizaciju induciranu neurotoksičnim sredstvima (Raasch i sur. 2011). Samim time, dugotrajna inhibicija I $\kappa$ B $\beta$  u CNS ne može imati velike štetne nuspojave. Utišavanje I $\kappa$ B $\beta$  ekspresije je zaštitno u ljudskim neuronima izloženim toksičnim sredstvima i sprječava aktivaciju kaspaza, koje cijepaju normalan HTT (Khoshnan i sur. 2009; Thompson i sur. 2009). Ispitivanje takvih strategija u životinjskim

modelima HB je vrijedan pokušaj testiranja učinkovitosti, isporuke i potencijalnih nuspojava.

### 3. ZAKLJUČAK

Premda je uloga I $\kappa$ B kompleksa, posebice I $\kappa$ B $\beta$  podjedinice u neuroinflamaciji i NF- $\kappa$ B signalizaciji Huntingtonove bolesti dobro opisana, objašnjenje funkcije I $\kappa$ B $\beta$  neovisno o NF- $\kappa$ B u CNS i dalje je nerazjašnjeno. Daljnja istraživanja bi se morala usmjeriti na praćenje progresije HB kod oboljelih kada se aktivnost ove podjedinice u CNS inhibira, pošto takvo molekularno upravljanje prema dosadašnjim saznanjima, predstavlja najperspektivniju terapijsku opciju. Činjenica da početak inflamacije počinje mnogo ranije u odnosu na pojavu simptoma, pokazuje da je iregularno djelovanje I $\kappa$ B $\beta$  zastupljeno u imunološkim stanicama i moguće ostalim organima. Stoga bi razjašnjenje uloge I $\kappa$ B $\beta$  u imunološkom sustavu pacijenata također moglo dati uvid u složenu interakciju podjedinice s bolešću. Uloga I $\kappa$ B $\beta$  u reguliranju fosforilacije HTT također je nedokučena u potpunosti i potrebne su daljnje studije kako bi se razotkrio ovaj aspekt I $\kappa$ B $\beta$  u neurobiologiji HTT. Uz to, istraživanja su utvrdila da fosfo-mimetici Ser13 i Ser16 u mutantnom HDx1 induciraju konformaciju koja je manje podložna oligomerizaciji i potencijalno manje toksična. Prema svemu navedenom, buduće studije o faktorima koji imaju regulatorni utjecaj na razvoj ali i inhibiciju Huntingtonove bolesti, bi trebale otkriti nove ciljeve i učinkovitije načine za terapiju i ranu intervenciju.

## 4. LITERATURA

Anest V., Hanson J.L., Cogswell P.C., Steinbrecher K.A., Strahl B.D., Baldwin A.S. (2003) A nucleosomal function for IkappaB kinase-alpha in NF-kappaB-dependent gene expression. *Nature* 423:659–663

Bea S. i sur. (2005) Diffuse large B-cell lymphoma subgroups have distinct genetic profiles that influence tumor biology and improve gene-expression-based survival prediction. *Blood* 106:3183-3190

Björkqvist M., Wild E.J., Thiele J., Silvestroni A., Andre R., Lahiri, N. (2008) A novel pathogenic pathway of immune activation detectable before clinical onset in Huntington's disease. *The Journal of experimental medicine*. 205:1869–1877

Boudreau R.L., Davidson B.L. (2010) RNAi therapeutics for CNS disorders. *Brain Res.* 1338:112–121

Brinar V i sur. (2009) Huntingtonova koreja. Brinar V., Klepac N., Habek M. *Neurologija za medicinare*. Medicinska naklada, Zagreb, 296-298

Burguillos M.A., Deierborg T., Kavanagh E., Persson A., Hajji N., Garcia-Quintanilla A. (2011) Caspase signaling controls microglia activation and neurotoxicity. *Nature* 323: Vol. 472

Demarin V., Trkanjec Z. (2008) *Neurologija za stomatologe*. Medicinska naklada, Zagreb.  
Israël A. (2010) *The IKK Complex, a central regulator of NF-κB Activation*. Cold Spring Harbor Laboratory Press

Dolcet X., Llobet D., Pallers J., X. M.-G. (2005) NF-κB in development and progression of human cancer. *Virchows Arch* 446:475-482

Chariot A. (2009) The NF-kappaB-independent functions of IKK subunits in immunity and cancer. *Trends Cell Biology*. 19:404–413

Ghosh A., Roy A., Liu X., Kordower J.H., Mufson E.J., Hartley D.M. (2007) Selective inhibition of NF-kappaB activation prevents dopaminergic neuronal loss in a mouse model of Parkinson's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 104:18754–18759 Madge L.A., May Herrmann O., Baumann B., de

- Lorenzi R., Muhammad S., Zhang W., Kleesiek J. (2005) IKK mediates ischemia-induced neuronal death. *Nature Medicine*. 11:1322–1329
- Gilmore T.D., Gerondakis S. (2011) The c-Rel Transcription Factor in Development and Disease. *Genes & Cancer* 2 (7):695-711
- Glass C.K., Saijo K., Winner B., Marchetto M.C., Gage F.H. (2010) Mechanisms underlying inflammation in neurodegeneration. *Cell* 140:918–934
- Godin J.D., Colombo K., Molina-Calavita M., Keryer G., Zala D. (2010) Huntingtin is required for mitotic spindle orientation and mammalian neurogenesis. *Neuron* 67:392–406
- Graham R.K., Deng Y., Slow E.J., Haigh B., Bissada N., Lu G. (2006) Cleavage at the caspase-6 site is required for neuronal dysfunction and degeneration due to mutant huntingtin. *Cell* 125:1179–1191
- Greer P.L., Greenberg M.E. (2008) From synapse to nucleus: calcium-dependent gene transcription in the control of synapse development and function. *Neuron* 59:846–860
- Gu X., Greiner E.R., Mishra R., Kodali R., Osmand A., Finkbeiner S. (2009) Serines 13 and 16 are critical determinants of full-length human mutant huntingtin induced disease pathogenesis in HD mice. *Neuron* 64:828–840
- Hacker, H., Karin, M., (2006) Regulation and function of IKK and IKK-related kinases. *Science Signaling STKE*. 357, re13
- Havel L.S., Wang C.E., Wade B., Huang B., Li S., Li X.J. (2011) Preferential accumulation of N-terminal mutant huntingtin in the nuclei of striatal neurons is regulated by phosphorylation. *Human Molecular Genetics*. 20:1424–1437
- Huang W.C., Ju T.K., Hung M.C., Chen C.C. (2007) Phosphorylation of CBP by IKK $\alpha$  promotes cell growth by switching the binding preference of CBP from p53 to NF-kappaB. *Molecular Cell* 26:75–87
- Kaltschmidt B., Widera D., Kaltschmidt C. (2005) Signaling via NF-kappaB in the nervous system. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1745:287–299
- Katyal S., McKinnon P.J. (2008) DNA strand breaks, neurodegeneration and aging in the brain. *Mechanisms of Ageing and Development*. 129:483–491
- Khoshnan A., Ko J., Patterson P.H. (2002) Effects of intracellular expression of anti-huntingtin antibodies of various specificities on mutant huntingtin aggregation and

toxicity. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America National Academy of Sciences. 99:1002–1007

Khoshnan, A., Ko, J., Watkin, E.E., Paige, L.A., Reinhart, P.H., Patterson, P.H., (2004) Activation of the IkappaB kinase complex and nuclear factor-kappaB contributes to mutant huntingtin neurotoxicity. Journal of Neuroscience. 24:7999–8008

Khoshnan A., Ko J., Tescu S., Brundin P., Patterson P.H. (2009) IKK $\alpha$  and IKK $\beta$  regulation of DNA damage-induced cleavage of huntingtin. Public Library of Science 4:e5768

Kim,Y.J., Yi Y., Sapp E., Wang Y., Cuiffo B., Kegel K.B. (2001) Caspase 3-cleaved N-terminal fragments of wild-type and mutant huntingtin are present in normal and Huntington's disease brains, associate with membranes, and undergo calpain-dependent proteolysis. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America National Academy of Sciences. 98:12784–12789

Kruman I.I., Wersto R.P., Cardozo-Pelaez F., Smilenov L., Chan S.L., Chrest F.J. (2004) Cell cycle activation linked to neuronal cell death initiated by DNA damage. Neuron 41:549–556

Landles C., Sathasivam K., Weiss A., Woodman B., Moffitt H., Finkbeiner S. (2010) Proteolysis of mutant huntingtin produces an exon 1 fragment that accumulates as an aggregated protein in neuronal nuclei in Huntington disease. The Journal of Biological Chemistry. 285:8808–8823

Lee D.F., Hung M.C. (2008) Advances in targeting IKK and IKK-related kinases for cancer therapy. Clinical Cancer Reserach. 14:5656–5662

Li Q., Lu Q., Bottero V., Estepa G., Morrison L., Mercurio F., Verma I.M. (2005) Enhanced NF-kappaB activation and cellular function in macrophages lacking IkappaB kinase 1 (IKK1). Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America National Academy of Sciences. 102:12425–12430

Lubin F.D., Sweatt J.D. (2007) The IkappaB kinase regulates chromatin structure during reconsolidation of conditioned fear memories. Neuron 55:942–957

Mattson, M.P., Meffert, M.K., (2006) Roles for NF-kappaB in nerve cell survival, plasticity, and disease. Cell Death and Differentiation. 13, 852–860

- Milatović D., Zaja-Milatović S., Breyer R. M., Aschner M., Montine T. J. (2011) Neuroinflammation and oxidative injury in developmental neurotoxicity. *Reproductive and Developmental Toxicology*. Academic Press:847-854
- M.J. (2009) Inhibiting proinflammatory NF-kappaB signaling using cell penetrating NEMO binding domain peptides. *Methods in Molecular Biology*. 512:209–232
- Nishikori M. (2005) Classical and Alternative NF-κB Activation Pathways and Their Roles in Lymphoid Malignancies. *Journal of Clinical and Experimental Hematopathology*. Vol. 45. No. 1
- Ona V.O., Li M., Vonsattel J.P., Andrews L.J., Khan S.Q., Chung W.M. (1999) Inhibition of caspase-1 slows disease progression in a mouse model of Huntington's disease. *Nature* 399:263–267
- Raasch J., Zeller N., van Loo G., Merkler D., Mildner A., Erny D., Knobloch K.P. (2011) I{kappa}B kinase 2 determines oligodendrocyte loss by non-cell-autonomous activation of NF-κB in the central nervous system. *Brain* 134:1184–1198
- Ratovitski T., Gucek M., Jiang H., Chighladze E., Waldron E., D'Ambola J. (2009) Mutant huntingtin N-terminal fragments of specific size mediate aggregation and toxicity in neuronal cells. *The Journal of Biological Chemistry*. 284:10855–10867
- Rodier F., Coppé J.P., Patil C.K., Hoeijmakers W.A., Muñoz D.P., Raza S.R. (2009) Persistent DNA damage signaling triggers senescence-associated inflammatory cytokine secretion. *Nature Cell Biology*. 11:973–979
- Schmid J.A., Birbach A. (2008) IκB kinase β (IKKβ/IKK2/IKBKB) – A key molecule in signaling to the transcription factor NF-κB. *Cytokine & Growth Factor Reviews* 19:157-165
- Sertić J. i sur., (2015) *Klinička kemija i molekularna dijagnostika u kliničkoj praksi*. Medicinska naklada, Zagreb.
- Sil A.K., Maeda S., Sano Y., Roop D.R., Karin M. (2004) IκB-kinase-α acts in epidermis to control skeletal and craniophacial morphogenesis. *Nature* 428:660-664
- Silvestroni, A., Faull R.L., Strand A.D., Möller T. (2009) Distinct neuroinflammatory profile in post-mortem human Huntington's disease. *Neuroreport* 20:1098–10103

Škunca Ž., Planinc-Peraica A. (2015) Prognostički utjecaj NF-κB ekspresije kod podskupina difuznog B-velikostaničnog limfoma. Izvorni rad. Opća bolnica Zadar, Odjel za hematologiju, Zadar i Klinička bolnica Merkur, Klinika za unutarnje bolesti. Zagreb, Hrvatska.

Tai Y.F., Pavese N., Gerhard A., Tabrizi S.J., Barker R.A., Brooks D.J. (2007) Microglial activation in presymptomatic Huntington's disease gene carriers. *Brain* 130:1759–1766

Thompson L.M., Aiken C.T., Kaltenbach L.S., Agrawal N., Illes K., Khoshnan A. (2009) IKK phosphorylates Huntingtin and targets it for degradation by the proteasome and lysosome. *The Journal of Cell Biology*. 187:1083–1099

Van Loo G., De Lorenzi R., Schmidt H., Huth M., Mildner A., Schmidt-Supprian M. (2006) Inhibition of transcription factor NF-kappaB in the central nervous system ameliorates autoimmune encephalomyelitis in mice. *Nature immunology*. 7:954–961

Wu Z.H., Shi Y., Tibbetts R.S., Miyamoto S. (2006) Molecular linkage between the kinase ATM and NF-kappaB signaling in response to genotoxic stimuli. *Science* 311:1141–1146

Zhang Y., Leavitt B.R., van Raamsdonk J.M., Dragatsis I., Goldowitz D., MacDonald M.E. (2006) Huntingtin inhibits caspase-3 activation. *The EMBO Journal*. 25:5896–5906

Zuccato C., Cattaneo E. (2010) Molecular mechanisms and potential therapeutical targets in Huntington's disease. *Physiological Reviews*. 90:905–981

WEB izvori:

Web 1: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK22525/figure/A3844/?report=objectonly> (Preuzeto 9.6.2018.)

Web 2: <https://www.mechanobio.info/what-is-mechanosignaling/signaling-pathways/what-is-the-nf-%CE%BAb-pathway/> (Preuzeto 9.6.2018.)