

Received: 2014.11.07  
Accepted: 2016.02.08  
Published: 2016.05.05

## Znaczenie podwyższenia i obniżenia aktywności proteasomów w patomechanizmie wybranych schorzeń

### Significance of increased and reduced proteasome activity in the pathomechanism of selected disorders

Marzena Tylicka<sup>1</sup>, Ewa Matuszczak<sup>2</sup>, Maria Karpińska<sup>1</sup>, Wojciech Dębek<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Zakład Biofizyki, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

<sup>2</sup>Klinika Chirurgii Dziecięcej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

#### Streszczenie

Aktywność proteasomów (P), wewnątrzkomórkowych struktur odpowiedzialnych za rozkład białek, wpływa znacząco na przebieg głównych procesów biologicznych. Obniżenie aktywności proteasomów upośledza rozpad patologicznych białek i powoduje ich nagromadzenie w komórce, natomiast nadczynność proteasomów jest przyczyną niedoboru białek niezbędnych do funkcjonowania organizmu. Badanie aktywności proteasomów, jako markera przebiegu różnych chorób, może być przydatne w ich diagnostyce. Podejmowane są też próby farmakologicznej regulacji funkcji proteasomów, głównie przez zastosowanie substancji hamujących ich aktywność.

**Słowa kluczowe:** degradacja białka • proteasomy • szlak ubiquityna-proteasom • czynnik transkrypcyjny NF-κB • inhibitory proteasomów

#### Summary

Proteasomes are structures responsible for the elimination of damaged and misfolded proteins. Thus, they also regulate the most important intracellular processes. Changes in their functions can lead to many molecular diseases. There are two possible disorders in the function of proteasomes. Their increasing activity causes excessive degradation of important cell proteins. On the other hand, their insufficiency can inhibit the degradation of pathological proteins and lead to their accumulation.

The increase of proteasome activity and the degradation of important proteins are observed in many pathological disorders. Therefore the study of pharmacological methods using proteasome inhibitors has gained growing interest in the last years.

This review summarizes recent findings regarding the role of proteasomes in pathogenesis of selected diseases and discusses the potential use of proteasomes in diagnosis of different disorders.

**Key words:** proteasomes • protein degradation • ubiquitin-proteasome pathway • nuclear factor kappa B • proteasome inhibitors

**Full-text PDF:** <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1201198>**Word count:** 4220**Tables:** –**Figures:** 4**References:** 44**Adres autorki:** dr n. med. Marzena Tylicka, Zakład Biofizyki, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, ul. A Mickiewicza 2a, 15-222 Białystok; e-mail: marzena.tylicka@umb.edu.pl**Wykaz skrótów:** **A $\beta$**  – amyloid  $\beta$ , **CAG** – aminokwas kodujący glutaminę, **CFTR** – błonowy regulator przewodnictwa, **ECM** – macierz pozakomórkowa, **IL** – interleukina, **I $\kappa$ B $\alpha$**  – inhibitor czynnika transkrypcji jądrowej kappa B, **IRS** – receptor insuliny, **HSP** – białka szoku termicznego, **HTT** – gen huntingtyny, **NF- $\kappa$ B** – czynnik transkrypcji jądrowej kappa B, **P** – proteasomy, **TGF $\beta$ 1** – transformujący czynnik wzrostu  $\beta$ 1, **TNF-a** – czynnik martwicy nowotworów, **Ub** – ubikwityna, **UP** – ubikwityna-proteasom.

## WPROWADZENIE

Białka są głównym składnikiem budulcowym organizmu oraz pełnią główną rolę w przebiegu wewnątrzkomórkowych reakcji biochemicznych w jądrze komórkowym, cytosolu i siateczce endoplazmatycznej. Podlegają ciągłym przemianom, będąc jednocześnie przedmiotem biosyntezy oraz degradacji. Usuwane są wówczas m.in. białka zbędne, nieprawidłowo zbudowane lub uszkodzone, co ma znaczenie w utrzymaniu homeostazy komórkowej, a tym samym zapobieganiu chorobom o podłożu molekularnym. Zachowanie stanu równowagi między procesami syntezy i rozkładu pozwala utrzymać stosowne stężenie niezbędnych oraz eliminację niepotrzebnych, a czasem nawet niebezpiecznych związków białkowych [38].

Istnieją dwa główne komórkowe systemy proteolityczne: układ lizosomalny, degradujący białka przedostające się z otoczenia do komórki w wyniku endocytozy oraz wewnątrzkomórkowe ulegające autofagocytozie po podaniu komórki silnemu stresowi, a także system proteasomalny, odpowiedzialny za rozkład białek wewnątrzkomórkowych [19,44]. Pozalizosomalny szlak degradacji białek z udziałem proteasomów jest główną drogą eliminacji nieprawidłowych białek, które wykazują np. nieprawidłową konformację, spowodowaną przez zaburzenia translacji, mutacje, wolne rodniki czy nadmiar ciepła [4]. Proteasomy degradują również prawidłowe białka regulacyjne, o krótkim czasie półtrwania oraz stabilne białka funkcjonalne i strukturalne o długim okresie półtrwania [34,44].

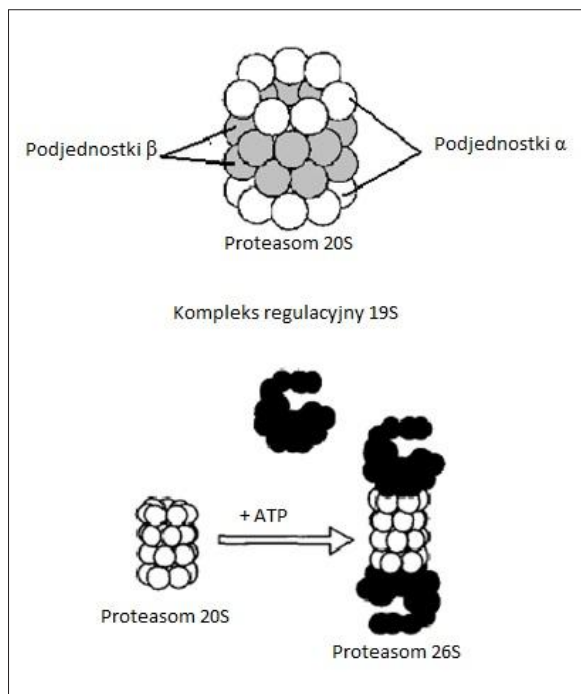
Proteasomalna degradacja białek umożliwia uzyskanie ich mniejszych, biologicznie aktywnych fragmentów lub odzyskanie wolnych aminokwasów, służących do budowy nowych struktur [42]. Proteasomy biorą udział w głównych procesach wewnątrzkomórkowych, takich jak cykl komórkowy, różnicowanie się komórek, odpowiedź immunologiczna, apoptoza, a ich dysfunkcja leży u podstaw wielu chorób [19,34].

## PROTEASOMY I ICH STRUKTURA

Proteasomy są dużymi wielocząsteczkowymi kompleksami enzymatycznymi o masie cząsteczkowej wynoszącej około 2 MDa, zbudowanymi z białek. Wewnątrz komórki organizmu człowieka znajduje się prawie 30 tys. proteasomów, które są umiejscowione głównie w cytoplazmie oraz jądrze komórkowym [20]. Mogą występować w dwóch podstawowych postaciach: 20S i 26S [5].

Proteasomy 20S wyglądają jak pusty w środku pierścień o średnicy 11 nm (ryc.1). Zbudowane są z 28 podjednostek białkowych o masie cząsteczkowej 21-35 kDa, ułożonych w 4 pierścienie [34]. Zewnętrzne pierścienie tworzy 7 podjednostek  $\alpha$  ( $\alpha$ 1- $\alpha$ 7), a pierścienie wewnętrzne 7 podjednostek  $\beta$  ( $\beta$ 1- $\beta$ 7). Większość z nich jest nieaktywna enzymatycznie z wyjątkiem  $\beta$ 1,  $\beta$ 2 i  $\beta$ 5. Z tymi podjednostkami są związane trzy główne aktywności proteasomów 20S: chymotrypsynopodobna (odpowiada za nią podjednostka  $\beta$ 5), trypsynopodobna (podjednostka  $\beta$ 2) i hydrolizująca wiązania peptydyloglutamylove nazywaną również kaspazopodobną (podjednostka  $\beta$ 1). W proteasomach 20S zachodzi szybki rozpad wiązań peptydowych z wytworzeniem peptydów zbudowanych z 8-12 aminokwasów [19,44]. Mogą hydrolizować wiązania aminokwasów rozgałęzionych oraz wiązania powstające między krótkołańcuchowymi i obojętnie elektrycznymi aminokwasami [5,13,19,34,44].

Proteasomy 26S mają kształt ciężarka gimnastycznego, który powstaje przez przyłączenie do podstawowej podjednostki 20S z obydwu stron elementów 19S (inaczej aktywator PA 700) (ryc.1). Rdzeń cylindryczny 20S odpowiada za aktywność proteolityczną proteasomu 26S, a podjednostki 19S pełnią funkcje aktywujące i regulacyjne. Kompleksy regulacyjne 19S odpowiadają przede wszystkim za rozpoznanie substratu, odszczepienie od niego łańcucha reszt ubikwityny oraz zmianę jego konfiguracji przestrzennej na taką, która umożliwi proteolizę białka przez jądro proteolityczne proteasomu 26S [1,13,19,34].



Ryc. 1. Struktura proteasomu 20S i 26S

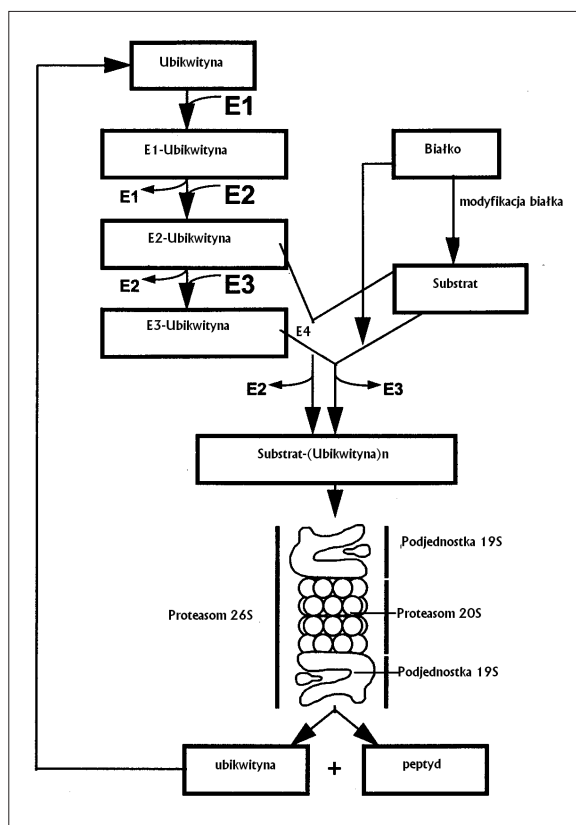
### PROTEASOMALNA DEGRADACJA BIAŁEK

Naukowcy przez wiele lat koncentrowali uwagę na syntezie białek. W toku prowadzonych badań zwrócono jednak uwagę na istotny problem związany z koniecznością zapewnienia obecności w komórce tylko tych białek, które są konieczne. Pozostałe białka są niepotrzebne, a czasem niebezpieczne. Komórki muszą zatem zawierać system rozpoznający i niszczący niepotrzebne i niebezpieczne białka. System degradujący białka odkryli Ciechanover, Herschko i Rose. Składa się z trzech elementów: proteasomów niszczących białka, ubikwiny, która zaznacza białka przeznaczone do degradacji i układu białek, który kontroluje oraz rozpoznaje białka wymagające zniszczenia. Tematyka prowadzonych badań nad systemem degradacji białek w komórkach okazała się na tyle istotna, że w 2004 r. jego odkrywcy otrzymali Nagrodę Nobla w dziedzinie chemii za „odkrycie zależnej od ubikwiny degradacji białek”, w której główną rolę odgrywają proteasomy [5].

Większość proteasomów komórkowych stanowią proteasomy 20S. Szacuje się, że ich liczba jest dwukrotnie większa od proteasomów 26S. Proteasomy 20S nie są zdolne do proteolizy ubikwiny białek komórkowych, ponieważ w budowie nie mają podjednostki 19S. Mogą za to degradować niezubikwiny białka o wadliwej strukturze przestrzennej [8]. Proteasomy 20S skuteczniej niż proteasomy 26S degradują niektóre białka uszkodzone przez wolne rodniki, takie jak: kalmodulina, hemoglobina czy mioglobina, a także białka regulacyjne o krótkim i długim czasie półtrwania. Ponadto prowadzone badania wskazują na zdolność P 20S

do degradacji utlenionych białek w przeciwieństwie do P 26S, które w procesie oksydacji ulegają dezaktywacji. Proteoliza białek nieoznaczonych ubikwiny przez proteasomy 20S jest możliwa dzięki różnym mechanizmom. Niekiedy sam substrat wiąże się z proteasomem za pomocą grupy funkcyjnej lub innej cząsteczki, inne same otwierają kanał proteasomu 20S. Degradacja jest również możliwa w następstwie zmian allosterycznych (zmian powinowactwa chemicznego proteasomu do cząsteczek) prowadzących do selektywnej aktywacji centrów katalitycznych proteasomu 20S [30].

Proteasomy 26S degradują głównie białka sprzężone z ubikwiny (Ub). Ubikwiny jest procesem wieloetapowym i wymaga udziału zarówno różnych enzymów, jak i dostarczenia energii pochodzącej z ATP. Zanim ubikwiny przyłączy się do substratu białkowego, ulega aktywacji w reakcji transestryfikacji zależnej od ATP i przyłączeniu do grupy tiolowej (-SH) cysteiny w centrum enzymu aktywującego E1. Następnie tak zaktywowana jest przenoszona na grupę aminową białkowych substratów przez resztę cysteinową enzymu koniugującego E2, by w końcowym etapie nastąpiło jej przeniesienie na docelowe białko z udziałem enzymu zwanego ligazą ubikwiny E3 [15,35,44]. Przyłączenie do białka jednej cząsteczki ubikwiny jest niewystarczającym sygnałem do zainicjowania degradacji. Dopiero przyłączenie 4 reszt ubikwiny pozwala na rozpoznanie przeznaczonego do degradacji substratu białkowego przez proteasom



Ryc. 2. Mechanizm proteolizy białek z udziałem szlaku ubikwiny-proteasom

26S (ryc.2) [17]. Podjednostki 19S proteasomu rozwijają łańcuch białkowy i ułatwiają w ten sposób przemieszczenie białka do wnętrza komory proteasomu, gdzie ulega rozkładowi. Jednocześnie ubikwityna jest uwalniana do cytosolu i kierowana do wtórnego obiegu znakowania następnych białek [4].

Proteasomy 26S wykazują zdolność do proteolizy niektórych białek niesprzężonych z ubikwityną. Pierwszym białkiem, dla którego wykazano możliwość degradacji z udziałem proteasomu 26S bez uprzedniego oznakowania Ub była dekarboksylaza ornitynowa. Ponadto w sposób ubikwitynoniezależny proteasom 26S może degradować także kalmodulinę, troponinę C, zależny od cyklin inhibitor p21<sup>Cip1</sup> i supresorowe białko p53. Białko supresorowe p53 może być degradowane dwojako, niezależnie od ubikwityny, w wyniku degradacji regulowanej przez oksydoreduktazę chinonu NADPH lub po oznakowaniu przez Ub [30].

### ZABURZENIA W FUNKCJONOWANIU SZLAKU UBIKWITYNA-PROTEASOM I ICH SKUTKI DLA ORGANIZMU

Dysfunkcja proteasomalnego systemu degradacji białek może doprowadzić do wielu schorzeń. Zwiększoną aktywność proteasomów obserwuje się w stanach katabolicznych, towarzyszących głodzeniu, posocznicy czy urazom, co jest związane z indukcją mięśniowych ligaz ubikwitynowych. Nadmierna aktywność układu UP przejawia się również w chorobach o podłożu immunologicznym, takich jak mukowiscydoza, niewydolność nerek, dziedziczne nadciśnienie nerkowe oraz w chorobach nowotworowych, np. rak płuc, okrężnicy, jajnika, nerki, białaczka mieloblastyczna [4,14,20,29]. Osłabienie wydolności układu proteasomalnego występuje w chorobach neurodegeneracyjnych, w tym w chorobie Alzheimera, Parkinsona, Huntingtona i ataksjach rdzeniowo-mózdkowych. Mniejsza aktywność proteasomów jest również charakterystyczna dla zakażeń wirusami HIV, HBV, a także w chorobie Wilsona i anemii Fanconiego.

W mechanizmie powstawania wielu chorób uczestniczy pośrednio NF-κB, który ulega aktywacji pod wpływem działania proteasomów. Należy do stale obecnych w komórce, niewymagających syntezy *de novo*, szybko działających czynników transkrypcyjnych, odpowiadających natychmiast na bodźce uszkadzające komórkę, takie jak np. wolne rodniki tlenowe, TNF-α, IL-1, LPS, kokaina, promieniowanie jonizujące. Jako bezpośredni czynnik aktywujący wytwarzanie cytokin i tzw. czynników przeżycia, NF-κB jest głównym regulatorem wzrostu i przetrwania komórek, poddanych działaniu bodźców uszkadzających. Działanie NF-κB hamuje apoptozę i eliminację zbędnych, uszkodzonych i zmutowanych komórek [4,29]. Aktywność tego czynnika jest związana z degradacją jego inhibitora, w której uczestniczą proteasomy. Oprócz degradacji inhibitora czynnika transkrypcyjnego NF-κB, duże znaczenie w patogenezie wielu chorób ma proteasomalna degradacja innych białek również ważnych dla prawidłowego funkcjonowania organizmu.

### PATOMECHANIZM WYBRANYCH CHOROÓB W ASPEKTCIE PODWYŻSZENIA AKTYWNOŚCI PROTEASOMÓW

W ostatnich latach pojawiły się przesłanki, które mogłyby wskazywać na sensowność włączenia proteasomów do markerów wykorzystywanych w badaniach klinicznych. Część stanów patologicznych organizmu wiąże się ze wzmożoną ich aktywnością. Proponowany niżej przegląd dotyczy chorób będących najczęściej przedmiotem prowadzonych badań i w których przebiegu wzrasta zdolność proteasomów do degradacji białek. W patogenezie wielu z nich podkreśla się istotny udział proteasomów związany z aktywowaniem czynnika transkrypcyjnego NF-κB.

**Szpiczak mnogi** jest nowotworem układu krwiotwórczego powstałym z komórek plazmatycznych. Pod wpływem aktywacji NF-κB, w wyniku proteasomalnej degradacji jego inhibitora, są wytwarzane cząsteczki przylegania międzykomórkowego. Przyleganie patologicznych plazmacytów do komórek zrębowych szpiku kostnego wywołuje transkrypcję z udziałem NF-κB i wydzielanie m.in. IL-6, która sprzyja przeżyciu komórek szpiczaka mnogiego w szpiku kostnym. Zahamowanie aktywności proteasomów w komórkach nowotworowych z zastosowaniem bortezomibu zmniejsza ekspresję różnych czynników wzrostu, przeżycia i angiogenetycznych, umożliwiających rozwój i proliferację komórek nowotworowych [20].

U podłoża **reumatoidalnego zapalenia stawów** leżą zaburzenia odporności, objawiające się występowaniem uogólnionego procesu zapalnego, ujawniającego się bólem, obrzękiem i sztywnością stawów. Proces zapalny uszkadzający układ ruchu inicjowany jest przez prozapalne mediatory w postaci cytokin (TNF-α, IL-1), chemokin (IL-8) i proteinaz (metaloproteinazy, katepsyny), których wytwarzanie jest kontrolowane przez NF-κB. Ponieważ zwiększenie aktywności proteasomów, które powodują degradację inhibitora NF-κB, nasila wytwarzanie czynników pozapalnych w reumatoidalnym zapaleniu stawów, poprawę stanu chorego usiłuje się uzyskać m.in. przez zastosowanie inhibitorów proteasomów, takich jak np. związek PS-341 [24].

**Astma i przewlekła obturacyjna choroba płuc** są złożonymi, wieloczynnikowymi schorzeniami dróg oddechowych obciążonymi wysokim stopniem zachorowalności i śmiertelności. Astma jest związana z odpowiedzią alergiczną, podczas gdy przyczyną choroby zapalnej płuc jest m.in. ekspozycja na dym papierosowy. Wieloczynnikowość tych chorób wynika z tego, że białka klasy II z rodziny białek NF-κB indukują wiele czynników prozapalnych, takich jak chemokiny, cytokiny, molekuly adhezyjne, mucyny oddechowe, czynniki wzrostowe i angiogenne. Wskazuje to na ważną rolę NF-κB w patogenezie chorób dróg oddechowych [10].

Astma jest przewlekłym, zapalnym schorzeniem dróg oddechowych. Towarzyszy jej przechodzenie komórek zapalnych eozynofili (komórek kwasochłonnych) do dróg oddechowych [11,12]. Pod wpływem bodźca (np. stres,



cytokiny) inhibitor IκB ulega fosforylacji i jest wiązany przez łańcuch poliubikwitynowy, a następnie ulega degradacji. Powoduje to uwolnienie NF-κB, który przedostaje się do jądra komórkowego. Wiąże się wówczas ze zgodnymi sekwencjami genów związanych z czynnikami wzrostu/przeżycia, powoduje ich transkrypcję i doprowadza do syntezy wielu białek prozapalnych. Ponadto reguluje ekspresję licznych cytokin oraz przyczynia się do migracji komórek zapalnych do dróg oddechowych. W astmie obserwuje się znaczne zwiększenie aktywności proteasomów, co uzasadnia konieczność wykorzystywania ich inhibitorów mających na celu zahamowanie redukcji IκB i jednocześnie zmniejszenie działania zapalnego czynnika transkrypcyjnego NF-κB [10,11,12].

Liczne badania wskazują na zastosowanie w leczeniu astmy inhibitora PS-519, który znacznie zmniejsza przenikanie eozynofili do płuc, a tym samym osłabia stan zapalny. Ponadto w literaturze znajdują się wzmianki o inhibitorze PS-341, który działa hamująco na rozwój astmy [12].

Zapalne uszkodzenie płuc jest rezultatem zwiększonej akumulacji aktywnych neutrofilów i następującego w dalszej kolejności uszkodzenia mięszu płuc. Gromadzenie immunoglobulin w płucach intensyfikuje aktywację makrofagów pęcherzykowych. Ich aktywacja zwiększa aktywność czynnika transkrypcyjnego NF-κB, co sprzyja zwiększeniu wytwarzania prozapalnych cytokin (IL-6, IL-1, czynnika martwicy guza TNF-α), czynników przeżycia (inhibitory białek apoptozy) i cząsteczek przylegania międzykomórkowego. Zwiększenie aktywności czynnika transkrypcyjnego jest spowodowane także wzrostem aktywności proteasomów. Uzasadnia to celowość stosowania inhibitorów proteasomów, których działanie zmniejsza wytwarzanie chemokin oraz zahamuje akumulację neutrofilów, zapobiegając występowaniu schorzeń płuc.

W profilaktyce chorób nowotworowych płuc wykorzystywany jest bortezomib, który hamuje aktywność czynnika transkrypcyjnego blokując proteasomalną degradację IκB – głównego regulatora wzrostu i przeżycia komórek nowotworowych [1,21].

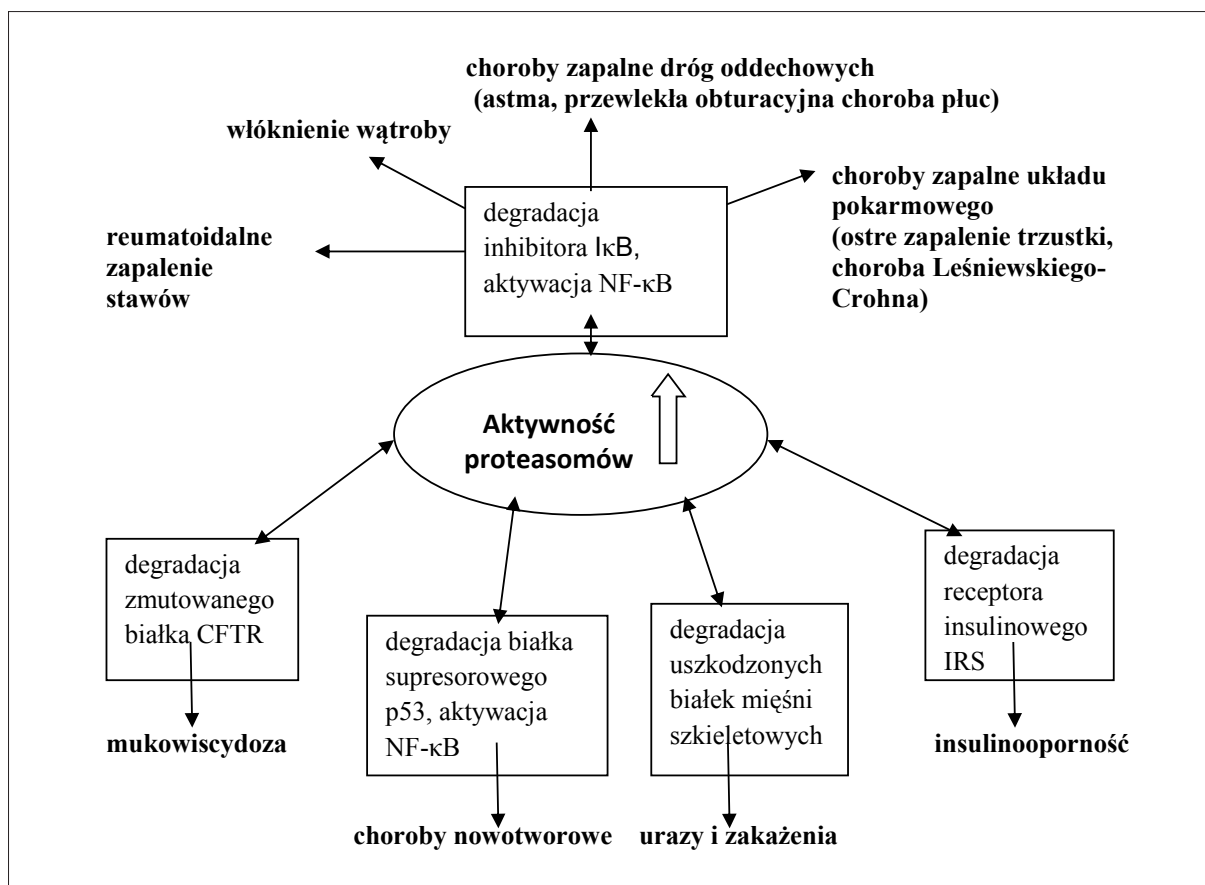
**Ostre zapalenie trzustki** jest ostrym stanem zapalnym gruczołu związanym z przedwczesną aktywacją proenzymów trzustkowych. W przebiegu choroby zapalnej trzustki następuje uszkodzenie komórek groniastych. Zmiany patologiczne w tkance groniastej wywołują odpowiedź zapalną, której towarzyszy ekspresja mediatorów prozapalnych (TNF-α, IL-6), oraz wzrost aktywności czynnika NF-κB, spowodowany zwiększoną aktywnością proteasomów degradujących inhibitor IκB. Obniżenie aktywności NF-κB uzyskuje się przez zastosowanie inhibitora proteasomów MG132. Nie tylko hamuje aktywność proteasomów, ale także zwiększa ekspresję białek szoku termicznego HSP. Oba działania osłabiają stan zapalny trzustki [22].

**Choroba Leśniewskiego-Crohna** to przewlekły proces zapalny ściany przewodu pokarmowego. Może dotyczyć każdego odcinka, ale najczęściej umiejscawia się w końco-

wej części jelita cienkiego oraz początkowej jelita grubego. W przebiegu tej choroby niekontrolowana aktywacja prozapalnych limfocytów T CD4+ inicjuje proces zapalny oraz prowadzi do wzrostu wytwarzania cytokin w śluzówce jelit zaatakowanych chorobą Crohna. Powstające cytokiny odgrywają ważną rolę w patogenezie schorzenia. Przeprowadzone badania wykazały, że spośród nich najważniejszą rolę w inicjowaniu miejscowego zapalenia jelit i regulacji odpowiedzi zapalnej pełni IL-23. Synteza IL-23 oraz innych prozapalnych cytokin i chemokin jest zależna od aktywności czynnika NF-κB. W profilaktyce tego schorzenia podstawowe znaczenie mogą mieć również inhibitory proteasomów, które osłabiają zapalną odpowiedź organizmu [43].

**Włóknienie wątroby**, które w końcowym stadium doprowadza do marskości wątroby to poważny problem kliniczny. Towarzyszy mu długotrwały, przewlekły proces zapalny aktywujący procesy mające na celu „gojenie się rany” – czyli nadmierne gromadzenie elementów macierzy pozakomórkowej (ECM – extracellular matrix) i zastępowanie uszkodzonej tkanki narządu elementami tkanki łącznej. Komórkami, które odgrywają ważną rolę w tym procesie są wątrobowe komórki gwieździste aktywowane w przebiegu zapalenia do wątrobowych miofibroblastów. Te natomiast wydzielają wiele cytokin i czynników wzrostu oraz składników ECM mających wpływ na inne komórki, których wzajemne oddziaływania doprowadzają do procesu włóknienia. Duże znaczenie wśród nich ma transformujący czynnik wzrostu TGF-β1 pobudzający zwrótnie komórki gwieździste aktywowane do syntezy kolagenu i innych składników ECM. W aktywowanych do miofibroblastów komórkach wątrobowych podstawową rolę w procesie prozapalnym odgrywa jądrowy czynnik transkrypcyjny NF-κB. W wolnej postaci hamuje apoptozę komórek wytwarzających nadmiar tkanki łącznej. W przypadku włóknienia wątroby następuje wzrost aktywności proteasomów, które są odpowiedzialne za degradację inhibitora tego czynnika. W przebiegu leczenia wskazane jest stosowanie inhibitorów proteasomów, które hamując ich aktywność zapobiegają aktywowaniu NF-κB. Powszechnie stosowana w tym celu jest sulfasalazyna, wykorzystywana w przewlekłych chorobach zapalnych i reumatoidalnym zapaleniu stawów [31].

**Insulinooporność** jest przyczyną wielu chorób, tj.: otyłości, nadciśnienia, niewydolności serca czy cukrzycy. Zaburza homeostazę glukozy, powodując zmniejszenie wrażliwości mięśni, tkanki tłuszczowej, wątroby oraz innych tkanek na insulinę. Wzrost stężenia insuliny po spożyciu pokarmu hamuje glukoneogenezę, zwiększa wchłanianie insuliny przez mięśnie i tkankę tłuszczową oraz hamuje lipolizę w tkance tłuszczowej. Natomiast jej spadek (spowodowany niespożywaniem pożywienia w ciągu dłuższego czasu) oraz jednoczesny wzrost stężenia glukagonu i epinefryny stymulują wytwarzanie glukozy i lipolizę. Otyłość jest najbardziej powszechną chorobą, która jest przyczyną insulinooporności. Głównym elementem w jej patogenezie jest niewydolność insuliny do hamowania wytwarzania glukozy oraz jej usuwania. Wzrost stężenia



Ryc. 3. Dysfunkcja proteasomalnego systemu degradacji białek związana ze wzrostem aktywności proteasomów a patomechanizm wybranych chorób

glukozy we krwi stymuluje komórki beta trzustki do wytwarzania większej ilości insuliny.

Wewnątrzkomórkowa degradacja białek jest niezbędna do utrzymywania prawidłowej homeostazy komórkowej. Przeprowadzone badania wykazały, że kontrola degradacji swoistych protein z udziałem proteasomów odgrywa ważną rolę w procesie insulinooporności. Szczególnie istotna jest degradacja receptora insulinowego (IRS – insulin receptor substrate). Receptor ten pełni ważną funkcję polegającą na blokowaniu cząsteczek insuliny we wgłębieniu receptora. Wówczas ulega aktywacji i stymuluje jedną ze struktur znajdujących się w komórce do wykonania przypisanego zadania: zniszczenia lub przekształcenia określonej substancji. Nadmierna ekspozycja komórek na insulinę prowadzi do degradacji IRS. Insulina łączy się w komórkach ze swoistym receptorem i wywołuje jego fosforylację, aktywując kinazę tyrozynową i dalsze szlaki sygnałowe insuliny. Fosforylacja przebiegająca pod wpływem enzymów z grupy kinaz zwykle zmienia konformację receptora insulinowego, jego aktywność oraz zdolność do wiązania się z innymi białkami. N-końcowy fragment tak zmienionego białka IRS zostaje naznaczony przez ubiquitynę, a następnie jest degradowany przez proteasom 26S podczas pobudzenia wytwarzania insuliny. Oporność na działanie insuliny może się rozwinąć w następstwie zaburzeń czynności lub struktury receptora insulinowego.

Może być także wywołana zaburzeniami poreceptorowymi, wśród których wyróżnia się zaburzenia procesów sygnalizujących przyłączenie insuliny do receptora insulinowego oraz zaburzenia struktury i funkcji transporterów glukozy do wnętrza komórki. Także wirusowe zapalenie wątroby typu C (HCV) jest wynikiem proteasomalnej degradacji IRS1 oraz IRS2. Znacząca rola szlaku UP w powstawaniu insulinooporności pozwala na zastosowanie substancji regulujących układ ubiquityna-proteasom, tym samym pozwalając na skuteczną terapię [3].

Urazy i zakażenia w aspekcie zapobiegania i sposobu terapii są dużym wyzwaniem w leczeniu chirurgicznym. Układ ubiquityna-proteasom uczestniczy w wywołanych zakażeniem mięśniowych procesach katabolicznych. Zakażenie wiąże się z osłabieniem siły mięśni szkieletowych, gdzie następuje intensywne degradacja białek do aminokwasów, przekształcanych w glukozę, podstawowe źródło energii. Większość białek mięśniowych jest rozkładana po uprzednim naznaczeniu przez ubiquitynę. Aktywność proteasomów w mięśniach wzrasta wprost proporcjonalnie do nasilenia procesów katabolicznych [18]. W przebiegu choroby oparzeniowej obserwuje się również nasiloną degradację białek mięśni szkieletowych, ulegających proteasomalnej degradacji. Zaburzeniem bilansu syntezy i degradacji białek w chorobie oparzeniowej towarzyszy utrata masy mięśniowej [8,16,25,31,41].

W **chorobach nowotworowych** niekontrolowane podziały komórek nowotworowych są m.in. wynikiem mutacji genów kodujących białka uczestniczące w cyklu komórkowym. Układ ubikwityna-proteasom (UPS) kontroluje ekspresję genów przez degradację czynników transkrypcyjnych, tj. p53, c-Jun, c-Fos, NF- $\kappa$ B, c-Myc, HIF-1 $\alpha$ . Białko supresorowe p53 jest zaangażowane w regulację wielu procesów komórkowych, przy czym odgrywa główną rolę w programowanej śmierci zużytych lub uszkodzonych komórek. W chorobach nowotworowych obserwuje się zwiększenie aktywności proteasomów i nasiloną degradację białka p53. Przy obniżonym stężeniu tego białka uszkodzenia DNA nie zostają naprawione, a komórki z poważnymi defektami nie ulegają apoptozie. Zwiększa się liczba zmutowanych komórek, potencjalnie przekształcających się w komórki nowotworowe. Niepożądana, nasiloną degradacja białka p53 może być hamowana przez inhibitory proteasomów, które są coraz powszechniej stosowane w terapii onkologicznej [2,14,29].

**Mukowiscydoza (CF)** jest pośrednio spowodowana mutacją w genie kodującym białko CFTR (CFTR – cystic fibrosis transmembrane conductance regulator), pełniącym funkcję kanału błonowego dla transportu jonów chlorkowych. Mutacja tego typu zaburza transport białka CFTR z siateczki śródplazmatycznej (ER – reticulum endoplasmaticum), w której dzięki funkcjonującemu systemowi kontroli białek dochodzi do jego degradacji. Główną rolę w eliminacji białek w ER odgrywa układ ubikwityna-proteasom. Glikozylowane w siateczce śródplazmatycznej białko CFTR ulega poliubikwitynacji z udziałem ATP. Powstały w ten sposób kompleks uszkodzonego białka z cząsteczkami Ub ściśle wiąże się z membraną ER i inicjuje degradację z udziałem cytosolowych proteasomów 26S, które wówczas wykazują zwiększoną aktywność. Mutacja wprawdzie nie zakłóca funkcji białka CFTR, ale powoduje w ten sposób jego znaczący niedobór. Bezpośrednią przyczyną mukowiscydozy jest brak białka CFTR i niewydolność kanału chlorkowego z jego klinicznymi konsekwencjami, np. zaleganie śluzu [20,42]. Mutacje białka CFTR hamujące transport jonowy w nabłonku prowadzą do niewydolności płuc i trzustki, które najczęściej są przyczyną znacznej śmiertelności wśród pacjentów cierpiących z powodu CF. W zależności od molekularnego charakteru wśród mutacji białka CFTR wyróżnia się różnego rodzaju klasy. Najcięższe symptomy mukowiscydozy są związane z mutacjami klasy I, II i III. Mutacje klasy I mogą wynikać m.in. z delecji lub innych mutacji genowych typu non-sens. W wyniku mutacji klasy III powstają białka o długim czasie półtrwania i zdezaktywowanym kanale jonowym. Najbardziej rozpowszechnioną jest mutacja klasy II związana z nieprawidłową strukturą białka CFTR, które jest rozpoznawane i degradowane przez proteasomalny system kontrolny [40].

Przegląd najnowszej literatury wskazuje na wzrastające wśród naukowców przekonanie o prawdopodobnej roli proteasomów w patomechanizmie określonych chorób. Dotychczasowe badania pozwoliły na skorelowanie pewnych chorób ze zwiększającą się aktywnością proteaso-

mów i zaproponowanie schematu przedstawiającego tę korelację (ryc.3).

#### **PATOMECHANIZM WYBRANYCH CHOROÓB W ASPEKTCIE OBNIŻENIA AKTYWNOŚCI PROTEASOMÓW**

Nie wszystkie choroby wiążą się ze wzmoczoną aktywnością proteasomów. Dostępne źródła literaturowe opisują stany patologiczne, w których przebiegu następuje hamowanie proteasomalnej degradacji białek. Proteasomy tracą wówczas najważniejsze funkcje i tym samym zaburzają gospodarkę białkową. Najczęściej opisywane są choroby neurodegeneracyjne i niedokrwienne.

**Choroba Parkinsona** jest schorzeniem neurodegeneracyjnym, które w obrazie histopatologicznym charakteryzuje się występowaniem ciał Lewy'ego. Ich głównym składnikiem są agregaty  $\alpha$ -synukleiny;  $\alpha$ -synukleina jest 14-aminokwasowym białkiem, które występuje głównie w zakończeniach presynaptycznych neuronów. W stanie fizjologicznym jest niepofałdowana, dobrze rozpuszczalna oraz termostabilna. W warunkach patologicznych nabywa skłonności do akumulacji, gdy w komórce znajduje się jej wystarczająca ilość. Wzrost stężenia źle sfałdowanych białek  $\alpha$ -synukleiny nie tylko inicjuje ich agregację, ale również indukuje degeneracyjne zmiany w transfekowanych komórkach. Agregaty białkowe charakteryzuje oporność na działanie enzymów proteolitycznych oraz nierozpuszczalność. Rozwój procesu patologicznego trwa wiele lat. W tym czasie w obrębie wypustek komórkowych pojawiają się charakterystyczne ciała wtrętowe, a w obrębie ciał komórek nerwowych ciała Lewy'ego zawierające głównie białka neutrofilamenów, ubikwitynę i agregaty nieprawidłowo skumulowanej  $\alpha$ -synukleiny. O ile wolne cząstki  $\alpha$ -synukleiny mogą być degradowane przez proteasomy, o tyle agregaty tego białka hamują proteasomalną degradację. Hamowanie układu UP przez złogi białek obniża aktywność proteasomów [14,29]. Przyczyn choroby Parkinsona upatruje się także w czynnikach genetycznych. Jest to związane z mutacjami w genach kodujących ligazę ubikwitynową (Parkin) oraz w genach kodujących kinazę (PINK-1). PINK-1 reguluje mitochondrialną kontrolę jakości, Parkin natomiast jest zaangażowany w ubikwitynację i degradację białek z udziałem proteasomu. Mutacje PINK-1 i Parkin upośledzają ich funkcjonowanie, powodując gromadzenie się uszkodzonych i toksycznych białek w komórkach [18,39].

Objawami choroby Parkinsona są zaburzenia ruchowe, które mogą dotyczyć różnych części ciała. Za kontrolę ruchu, napięcia mięśni i koordynację odpowiada dopamina, która jest uwalniana i syntezowana przez neurony dopaminergiczne. W utrzymaniu homeostazy dopaminy ważną rolę odgrywa  $\alpha$ -synukleina i tym samym jest niezbędna do prawidłowego funkcjonowania neuronów dopaminergicznych [18,39]. W prawidłowo funkcjonujących neuronach następuje synteza i uwalnianie dopaminy. W syntezie dopaminy uczestniczy enzym hydroksylazy tyrozynowej.  $\alpha$ -synukleina jako białko regulatorowe może się wiązać z cząsteczką hydroksylazy tyrozynowej

(HT) i upośledzać jej działanie. O ile fizjologiczna, rozpuszczalna  $\alpha$ -synukleina nie wykazuje hamującego działania na hydroksylazę tyrozynową, o tyle agregaty tego białka deregulują działanie tego enzymu, znacznie zmniejszając syntezę dopaminy. Podstawowym czynnikiem patogeny parkinsonizmu jest uszkodzenie części zbitej istoty czarnej neuronów dopaminergicznych, a tym samym zaburzenie ich funkcji związanej z syntezą i uwalnianiem dopaminy. Prowadzi to do zespołu dysregulacji dopaminowej, która przejawia się upośledzeniem ruchowym [32].

**Choroba Alzheimera** jest postacią starczej demencji, w której dochodzi do zaniku kory mózgowej z jednoczesnym odkładaniem się w ścianach naczyń krwionośnych blaszek starczych zbudowanych z  $\beta$ -amyloidu. Stwierdza się także nadmierną agregację białka tau w postaci splątów neurofibrylnych [37].

Nieprawidłowe funkcjonowanie białka tau wywołuje zaburzenia funkcji neuronu, a w końcu jego śmierć. Źródłem zmian patologicznych w mózgu są także jednoczesne zaburzenia równowagi między tworzeniem, a degradacją  $\beta$ -amyloidu.

Zmiany związane z patologią  $\beta$ -amyloidu i białka tau dotyczą tych samych obszarów mózgu. Amyloid  $\beta$  ( $A\beta$ ) selektywnie hamuje aktywność proteasomu 26S, tym samym zwiększając wytwarzanie  $\beta$ -amyloidu i jego prekursorów. Białko  $A\beta$  może być zbudowane z 40 aminokwasów ( $A\beta_{40}$ ) oraz 42 aminokwasów ( $A\beta_{42}$ ). Postać  $A\beta_{42}$  wykazuje silniejsze właściwości neurotoksyczne i zaburza istotne mechanizmy komórkowe powodując zaburzenie funkcjonalności komórek neuronowych. Zarówno  $A\beta_{42}$  i  $A\beta_{40}$  blokują funkcje proteasomów.  $A\beta_{40}$  wiąże się z powierzchnią proteasomu i hamuje aktywność chymotrypsynopodobną proteasomu 20S, podczas gdy  $A\beta_{42}$  działa analogicznie do stosowanych inhibitorów proteasomów [27].

Białko tau jest degradowane przez proteasomy 20S i 26S, natomiast jego agregaty obniżają aktywność proteasomów. Im większy jest stopień agregacji tego patologicznego białka, tym silniej hamowana jest aktywność enzymów proteolitycznych. Białko tau znajdujące się w mózgu łączy się z ubikwityną powodując jej mutację. Zmutowana ubikwityna hamuje aktywność proteolityczną proteasomu i zmniejsza aktywność enzymów aktywujących i przenoszących ubikwitynę [14,29].

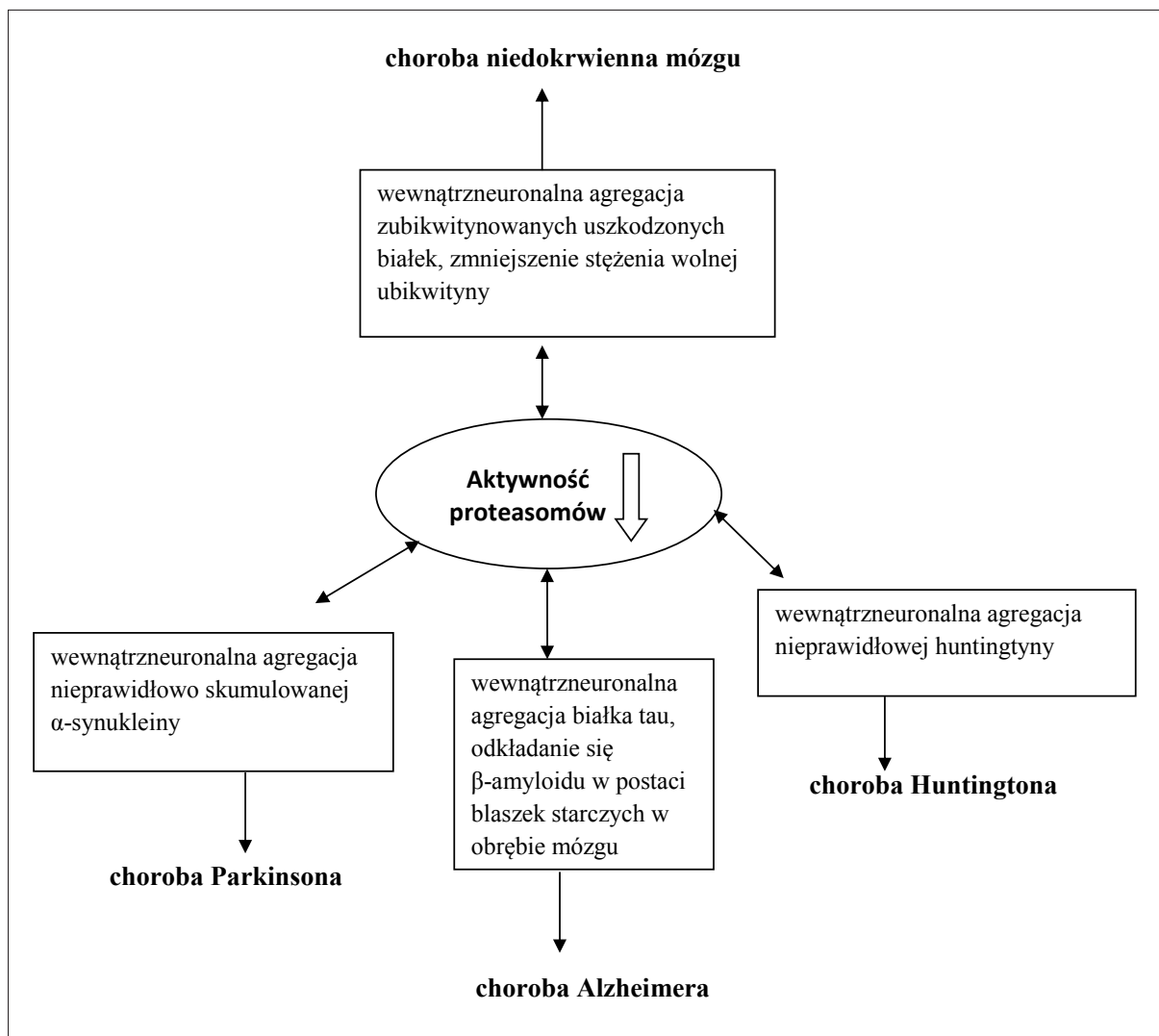
**Choroba Huntingtona** jest postępującą zwyrodnieniową chorobą ośrodkowego układu nerwowego (OUN), której objawami są zaburzenia ruchowe, otępienie oraz zaburzenia psychiczne. Choroba jest spowodowana mutacją genu *HTT*, który koduje nieprawidłowe białko huntingtynę (*HTT*). Mutacja genu *HTT* polega na zwiększeniu liczby powtórzeń CAG kodujących glutaminę. Powtórzenia CAG prowadzą do translacji białka huntingtyny z łańcuchem poliglutaminowym we fragmencie N-końcowym białka. Ciąg powtórzeń glutaminowych tworzy nieprawidłową konformację białka *HTT* [23]. Zmutowane białko w OUN

zaburza wiele procesów komórkowych na poziomie molekularnym i biochemicznym. Powoduje m.in. obumieranie komórek nerwowych przez co upośledza przekazywanie sygnałów do komórek mięśniowych. W miarę postępowania choroby dochodzi do hiperagregacji huntingtyny w neuronach oraz pojawienia się wewnątrzjądrowych i cytoplazmatycznych ciał wtrętowych w neuronach, zwłaszcza w korze mózgowej. Agregaty zmutowanego białka hamują działanie układu ubikwityna-proteasom, zaburzając funkcję neuronów [4,29].

**Chorobom niedokrwiennym serca i mózgu** towarzyszy stan zapalny. Stres oksydacyjny będący jego skutkiem, powoduje nadmierne wytwarzanie białek o niewłaściwej konformacji. W patologicznych sytuacjach, takich jak m.in. stan niedokrwienia/reperfuzji dochodzi do wzmożonego wytwarzania wolnych rodników, co może spowodować uszkodzenie komórek lub indukować procesy apoptozy. Wolne rodniki tlenowe i reaktywne formy tlenu (RFT-reactive oxygen species) mogą reagować z różnymi strukturami komórkowymi, powodując konwersję białek, peroksydację lipidową czy uszkodzenie struktury kwasów nukleinowych. Reakcje silnych oksydantów z białkami powodują utlenianie reszt aminokwasowych i grup prostetycznych, a tym samym zaburzają ich funkcje biologiczne lub całkowicie unieczynniają. Tworzenie się modyfikacji białkowych pod wpływem oddziaływania RFT może spowodować fragmentację łańcucha polipeptydowego oraz powstawanie dimerów lub agregatów białkowych. Tworzące się usieciowane agregaty białkowe hamują funkcje proteasomów bądź też je inaktywują w wyniku zmniejszenia ekspresji lub modyfikacje podjednostek. Ponadto nadmierne wytwarzanie uszkodzonych w wyniku niedokrwienia białek inicjuje proces przyłączania cząstek ubikwityny i w niedotlenionych narządach tworzą się jej agregaty [11,26,33].

W niedokrwieniu mózgu agregacja prowadzi do nieodwracalnej inhibicji translacji w obumierających neuronach. Cytoplazmatyczne agregaty zawierające ubikwitynę oraz chaperony (granulki stresu) mogą doprowadzić do trwałego zatrzymania translacji i wrażliwości piramidowych neuronów CA1. Niekorzystnie na funkcje proteasomów wpływa także to, że agregaty białkowe przyczyniają się do odłączenia podjednostki 19S pełniącej funkcje aktywujące i regulacyjne proteasomu. Wewnątrzneuronalna akumulacja zubikwitynowanych białek i zmniejszenie stężenia wolnej ubikwityny w następstwie chorób niedokrwienych osłabiają funkcję proteasomów. W niedokrwieniu mózgu dochodzi do osłabienia funkcji proteasomów 26S, gdyż następuje ich rozpad w wyniku odłączenia elementu regulacyjnego 19S. Jednak, podczas gdy proteasomy 26S regenerują się pod wpływem przywrócenia krążenia krwi (reperfuzja), w wielu wrażliwych obszarach, takich jak neurony CA1 w hipokampie, działanie proteasomów 19S i 20S jest nieodwracalnie hamowane. Osłabienie aktywności proteasomów przejawia się nadmierną akumulacją zubikwitynowanych białek tworzących agregaty zawierające także uszkodzone białka, które powinny być degradowane [6].





Ryc. 4. Dysfunkcja proteasomalnego systemu degradacji białek związana z obniżeniem aktywności proteasomów a patomechanizm wybranych chorób

Chorobom niedokrwiennym serca towarzyszy dysfunkcja proteasomów polegająca na osłabieniu funkcjonowania szlaku UPS, zwłaszcza na etapie ubikwitynacji uszkodzonych białek. Odłączenie podjednostki 19S od rdzenia 20S, aktywacja proteasomów oraz ubikwitynacja białek wymagają energii pochodzącej z ATP. Na skutek niedokrwienia wewnątrzkomórkowe stężenie ATP ulega obniżeniu, powodując tym samym zmniejszenie sercowej aktywności proteasomów [7].

Niedawne badania wskazują, że reperфуzja bardziej niż niedokrwienie może doprowadzić do akumulacji agregatów ubikwitynowych w korze nowej oraz w obszarach, w których następuje przywrócenie krążenia krwi.

Analiza dostępnej literatury pozwoliła na zaprojektowanie schematu uwzględniającego choroby, w których patomechanizmie istotne znaczenie może mieć obniżona aktywność proteasomów (ryc.4).

#### INNE CHOROBY A DYSFUNKCJA PROTEASOMALNEGO UKŁADU DEGRADACJI BIAŁEK

Liczne doniesienia wskazują, że zaburzenia w układzie ubikwityna-proteasom mogą występować także w innych chorobach, m.in. w autoimmunologicznym zapaleniu wątroby, dystrofii mięśniowej, chorobie nerek, miażdżycy naczyń krwionośnych, chorobie Cushinga, zaćmie, a nawet w coraz powszechniej występującej otyłości. Prowadzone są badania zmierzające do ustalenia mechanizmu ich powstawania oraz roli proteasomów w tym procesie [30,34,35,36]. Degradacja białek przebiega szczególnie intensywnie w czasie, gdy organizm jest wycieńczony rozwijającą się chorobą, zwłaszcza w takich chorobach, jak AIDS czy cukrzyca [6].

#### PODSUMOWANIE

Prawidłowe funkcjonowanie układu ubikwityna-proteasom umożliwia zachowanie homeostazy procesów we-

wnątrzkomórkowych i usunięcie uszkodzonych białek. Dysfunkcja tego szlaku odgrywa istotną rolę w rozwoju wielu chorób nowotworowych, neurodegeneracyjnych, infekcyjnych i o podłożu immunologicznym. Niezwykle ważne jest jak najlepsze poznanie mechanizmów odpowiedzialnych za ubikwitynację i opracowanie metod farmakologicznej interwencji w funkcjonowanie tego układu polegających m.in. na zastosowaniu swoistych, niskocząsteczkowych inhibitorów proteasomu i enzymów katalizujących ubikwitynację. Ingerencja w funkcjonowanie układu proteasomalnej degradacji białek może się okazać wydajnym narzędziem terapeutycznym.

makologicznej interwencji w funkcjonowanie tego układu polegających m.in. na zastosowaniu swoistych, niskocząsteczkowych inhibitorów proteasomu i enzymów katalizujących ubikwitynację. Ingerencja w funkcjonowanie układu proteasomalnej degradacji białek może się okazać wydajnym narzędziem terapeutycznym.

## PIŚMIENICTWO

- [1] Adams J.: The proteasome: structure, function and role in the cell. *Cancer Treat. Rev.*, 2003; 29: 3-9
- [2] Almond J.B., Cohen G.M.: The proteasome: a novel target for cancer chemotherapy. *Leukemia*, 2002; 16: 433-443
- [3] Balasubramanyam M., Sampathkumar R., Mohan V.: Is insulin signaling molecules misguided in diabetes for ubiquitin-proteasome mediated degradation. *Mol. Cell. Biochem.*, 2005; 275: 117-125
- [4] Bubko I., Gruber B.M., Anuszewska E.L.: Rola proteasomu w terapii chorób nieuleczalnych. *Postępy Hig. Med. Dosw.*, 2010; 64: 314-325
- [5] Bury M., Niemierko A.: Proteasomalna degradacja białek komórkowych. *Postępy Biol. Kom.*, 2005; 32: 435-448
- [6] Caldeira M.V., Salazar I.L., Curcio M., Canzoniero L.M., Duarte C.B.: Role of the ubiquitin-proteasome system in brain ischemia: friend or foe? *Prog. Neurobiol.*, 2014; 112: 50-69
- [7] Calise J., Powell S.R.: The ubiquitin proteasome system and myocardial ischemia. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2013; 304: H337-H349
- [8] Chai J., Wu Y., Sheng Z.: The relationship between skeletal muscle proteolysis and ubiquitin-proteasome proteolytic pathway in burned rats. *Burns*, 2002; 28: 527-533
- [9] Chang T.L., Chang C.J., Lee W.J., Lin M.N., Huang Y.W., Fan K.: The roles of ubiquitin and 26S proteasome in human obesity. *Metabolism*, 2009; 58: 1643-1648
- [10] Edwards M.R., Bartlett N.W., Clarke D., Birrell M., Belvisi M., Johnston S.L.: Targeting the NF- $\kappa$ B pathway in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Pharmacol. Ther.*, 2009; 121: 1-13
- [11] Elliott P.J., Pien C.S., McCormack T.A., Chapman I.D., Adams J.: Proteasome inhibition: a novel mechanism to combat asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1999; 104: 294-300
- [12] Elliott P.J., Zollner T.M., Boehncke W.H.: Proteasome inhibition: a new anti-inflammatory strategy. *J. Mol. Med.*, 2003; 81: 235-245
- [13] Gerrds W.L., de Jong W.W., Boelens W., Bloemendal H.: Structure and assembly of the 20S proteasome. *Cell. Mol. Life Sci.*, 1998; 54: 253-262
- [14] Golab J., Bauer T.M., Daniel V., Naujokat C.: Role of the ubiquitin-proteasome pathway in the diagnosis of human diseases. *Clin. Chim. Acta*, 2004; 340: 27-40
- [15] Hasselgren P.: Role of the ubiquitin-proteasome pathway in sepsis-induced muscle catabolism. *Mol. Biol. Rep.*, 1999; 26: 71-76
- [16] Hatakeyama S., Nakayama K.: Ubiquitylation as a quality control system for intracellular proteins. *J. Biochem.*, 2003; 134: 1-8
- [17] Herrmann J., Ciechanover A., Lerman L.O., Lerman A.: The ubiquitin-proteasome system in cardiovascular diseases – a hypothesis extended. *Cardiovasc. Res.*, 2004; 61: 11-21
- [18] Hilker R., Brotchie J.M., Chapman J.: Pros and cons of a prion like pathogenesis in Parkinson's disease. *BMC Neurol.*, 2011; 11: 74-78
- [19] Huang L., Chen C.H.: Proteasome regulators: activators and inhibitors. *Curr. Med. Chem.*, 2009; 16: 931-939
- [20] Kazula A., Kazula E.: Proteasomy a nowe kierunki terapii. *Farm. Pol.*, 2009; 65: 511-523
- [21] Lentsch A.B., Ward P.A.: Regulation of experimental lung inflammation. *Respir. Physiol.*, 2001; 128: 17-22
- [22] Letoha T., Somlai C., Takacs T., Szabolcs A., Rakonczay Z. Jr., Jármay K., Szalontai T., Varga I., Kaszaki J., Boros I., Duda E., Hackler L., Kurucz I., Penke B.: The proteasome inhibitor MG132 protects against acute pancreatitis. *Free Radic. Biol. Med.*, 2005; 39: 1142-1151
- [23] Li X.J., Li S.: Proteasomal dysfunction in aging and Huntington disease. *Neurobiol. Dis.*, 2011; 43: 4-8
- [24] Liu H., Pope R.M.: The role of apoptosis in rheumatoid arthritis. *Curr. Opin. Pharmacol.*, 2003; 3: 317-322
- [25] Matuszczak E., Tylicka M., Dębek W., Hermanowicz A., Ostrowska H.: Correlation between circulating proteasome activity, total protein and C-reactive protein levels following burn in children. *Burns*, 2014; 40: 842-847
- [26] Michalak A., Krzeszowiak J., Markiewicz-Górka I.: Starzenie się organizmu a stres oksydacyjny oraz zmniejszona sprawność systemów naprawczych. *Postępy Hig. Med. Dosw.*, 2014; 68: 1483-1491
- [27] Morawe T., Hiebel C., Kern A., Behl C.: Protein homeostasis, aging and Alzheimer's disease. *Mol. Neurobiol.*, 2012; 46: 41-54
- [28] Muddu A.K., Guha I.N., Elsharkawy A.M., Mann D.A.: Resolving fibrosis in the diseased liver: translating the scientific promise to the clinic. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2007; 39: 695-714
- [29] Naujokat C., Hoffmann S.: Role and function of the 26S proteasome in proliferation and apoptosis. *Lab. Invest.*, 2002; 82: 965-980
- [30] Orłowski M., Wilk S.: Ubiquitin-independent proteolytic functions of the proteasome. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2003; 415: 1-5
- [31] Pereira C., Murphy K., Jeschke M., Herndon D.N.: Post burn muscle wasting and the effects of treatments. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2005; 37: 1948-1961
- [32] Perez R.G., Hastings T.G.: Could a loss of  $\alpha$ -synuclein function put dopaminergic neurons at risk? *J. Neurochem.*, 2004; 89: 1318-1324
- [33] Phillips J.B., Williams A.J., Adams J., Elliott P.J., Tortella F.C.: Proteasome inhibitor PS519 reduces infarction and attenuates leukocyte infiltration in a rat model of focal cerebral ischemia. *Stroke*, 2000; 31: 1686-1693
- [34] Qureshi N., Vogel S.N., Van Way C. 3rd, Papsian C.J., Qureshi A.A., Morrison D.C.: The proteasome. A central regulator of inflammation and macrophage function. *Immunol. Res.*, 2005; 31: 243-260
- [35] Rajan V., Mitch W.E.: Ubiquitin, proteasomes and proteolytic mechanism activated by kidney diseases. *Biochim. Biophys. Acta*, 2008; 1782: 795-799
- [36] Roth G.A., Moser B., Krenn C., Roth-Walter F., Hetz H., Richter S., Brunner M., Jensen-Jarolim E., Wolner E., Hoetzenecker K., Boltz-Nitulescu G., Ankersmit H.J.: Heightened levels of circulating 20S proteasome in critically ill patients. *Eur. J. Clin. Invest.*, 2005; 35: 399-403

- [37] Schmidt M., Finley D.: Regulation of proteasome activity in health and disease. *Biochim. Biophys. Acta*, 2014; 1843: 13-25
- [38] Su V., Lau A.F.: Ubiquitin-like and ubiquitin-associated domain proteins: significance in proteasomal degradation. *Cell. Mol. Life. Sci.*, 2009; 66: 2819-2833
- [39] Szwed A., Miłowska K.: Rola białek w chorobach neurodegeneracyjnych. *Postępy Hig. Med. Dosw.*, 2012; 66: 187-195
- [40] Turnbull E.L., Rosser M.F., Cyr D.M.: The role of the UPS in cystic fibrosis. *BMC Biochem.*, 2007; 8: S11
- [41] Tylicka M., Matuszczak E., Dębek W., Hermanowicz A., Ostrowska H.: Circulating proteasome activity following mild head injury in children. *Childs Nerv. Syst.*, 2014; 30: 1191-1196
- [42] Vankeerberghen A., Cuppens H., Cassiman J.: The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator: an intriguing protein with pleiotropic functions. *J. Cyst. Fibros.*, 2002; 1: 13-29
- [43] Visekruna A., Slavova N., Dullat S., Gröne J., Kroesen A.J., Ritz J.P., Buhr H.J., Steinhoff U.: Expression of catalytic proteasome subunits in the gut of patients with Crohn's disease. *Int. J. Colorectal Dis.*, 2009; 24: 1133-1139
- [44] Wójcik C.: Proteasomy i szlak degradacji białek zależny od ubiquityny. *Postępy Biol. Kom.*, 1995; 22: 295-315

---

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.