

آپوپتوز در بیماری‌های نورودژنراتیو

دکتر علیرضا خلعتبری

استادیار، گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری.

چکیده

بیماری‌های نورودژنراتیو موجب بروز دامنه وسیعی از اختلالات نورولوژیک در سیستم عصبی مرکزی می‌گردد. امروزه محققین بر نقش محوری آپوپتوز در بیماری‌های نورودژنراتیو تاکید فراوان دارند. با توجه به محدودیت‌های موجود در توانایی ترمیم سیستم عصبی مرکزی آسیب دیده، کاهش آسیب‌های وارده از طریق مهار مرگ سلول‌های عصبی بسیار حائز اهمیت است. در دهه‌های اخیر پیشرفت‌های قابل توجهی در زمینه شناخت فرایند آپوپتوز در سطح مولکولی به دست آمده است. همچنین با توجه به شناخت مکانیسم‌های موثر در فرایند آپوپتوز، تحقیقات متعددی نیز در خصوص بررسی اثرات احتمالی ترکیبات نوروپروتکتیو در کاهش یا مهار آپوپتوز سلول‌های عصبی صورت گرفته است. در این مقاله مروری بر مکانیسم‌های مولکولی فرایند آپوپتوز و نقش آن در پاتولوژی بیماری‌های نورودژنراتیو تا حد امکان انجام شد. همچنین مروری بر تلاش‌های انجام شده در زمینه مهار آپوپتوز سلول‌های عصبی توسط ترکیبات نوروپروتکتیو در مدل‌های انسانی و تجربی بیماری‌های نورودژنراتیو صورت گرفت.

کلید واژه‌ها: بیماری‌های نورودژنراتیو، آپوپتوز، ترکیبات آنتی آپوپتوتیک

نویسنده مسؤول: دکتر علیرضا خلعتبری، پست الکترونیکی khalat90@yahoo.com

نشانی: ساری، کیلومتر ۱۷ جاده خزرآباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم (ص)، دانشکده پزشکی، گروه علوم تشریح، تلفن ۰۱۵۱-۳۵۴۳۷۶۴-۳۵۴۳۰۸۷، نمابر ۳۵۴۳۰۸۷
وصول مقاله: ۹۲/۱/۱۷، اصلاح نهایی: ۹۲/۹/۲۰، پذیرش مقاله: ۹۲/۱۰/۳

مقدمه

بیماری‌های نورودژنراتیو به دو دسته حاد (نظیر استروک، ترومای مغزی و ضایعات نخاعی) و مزمن (مانند بیماری آلزایمر، پارکینسون، ALS و هانتینگتون) تقسیم می‌شود. این گروه از بیماری‌ها موجب بروز دامنه وسیعی از اختلالات حاد یا مزمن نورولوژیک در سیستم عصبی مرکزی می‌گردند. بیماری‌های نورودژنراتیو مزمن که تحت تاثیر عوامل خطری نظیر افزایش سن، پلی مورفیسم‌های ژنتیکی، اختلال در عملکرد غدد درون ریز، استرس‌های اکسیداتیو، التهاب عصبی، عفونت، Exitotoxicity و تماس با نوروتوکسین‌ها به وجود می‌آید؛ همراه با کاهش پیشرونده توانایی‌های حسی-حرکتی، ادراکی-شناختی و رفتاری است که مشخصه آنها از دست رفتن سلول‌های عصبی با افزایش سن در نواحی از قشر مغز، هسته‌های قاعده‌ای، مخچه، ساقه مغز و سیستم حرکتی است (۱). این در حالی است که در بیماری‌های نورودژنراتیو حاد، به طور همزمان و نیز پس از ایجاد ضایعه، مرگ سلول‌های عصبی رخ می‌دهد (۲). اگرچه مکانیسم‌های مولکولی موثر در پاتوژنز بیماری‌های نورودژنراتیو (حاد و مزمن) همچنان در ابهام قرار دارد؛ با این وجود بر نقش استرس‌های اکسیداتیو،

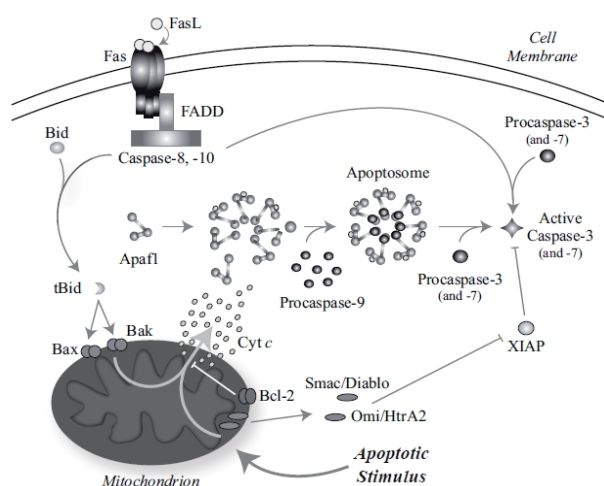
Exitotoxicity، التهاب، تجمع پروتئین‌های تغییر یافته (misfolded)، اختلال در هموستاز کلسیم و نیز آپوپتوز (Apoptosis) به عنوان عوامل احتمالی موثر در نورودژنراسیون تاکید می‌گردد (۱). با توجه به محدودیت‌های فراوان موجود در توانایی ترمیم سیستم عصبی مرکزی آسیب دیده، کاهش هرچه بیشتر آسیب‌های وارده از طریق مهار مرگ آپوپتوتیک سلول‌های عصبی (تحت تاثیر محرک‌های آپوپتوز نظیر توکسین‌ها، تشعشعات، هیپوکسی، استرس‌های اکسیداتیو، ایسکمی، آسیب DNA و فقدان عوامل تروفیک) بسیار حائز اهمیت است. در این مقاله با توجه به نقش کلیدی آپوپتوز در بیماری‌های نورودژنراتیو و اختلالات نورولوژیک حاصل از آن، مکانیسم‌های احتمالی این پدیده و راه‌های مقابله و مهار آن در سیستم عصبی مرکزی آسیب دیده مورد بررسی قرار گرفت.

آپوپتوز (مرگ برنامه ریزی شده)

آپوپتوز دارای مشخصات بیوشیمیایی و مورفولوژیک اختصاصی شامل چروک خوردگی سلول، بلینینگ غشای سلول، تراکم کروماتین، قطعه‌قطعه شدن DNA و تشکیل اجسام آپوپتوتیک است (۳و۴). مجموعه این تغییرات به دنبال فعالیت آنزیم‌هایی تحت عنوان کاسپاز و در نتیجه پروتئولیز اجزای سلولی صورت می‌گیرد.

آپوپتوزی منتقل شده از طریق گیرنده‌های مرگ به عهده دارند (۶). مکانیسم اصلی این مسیر در واقع تغییر در نفوذپذیری غشای خارجی میتوکندری (MOMP) است که البته نقش اصلی در این تغییرات را پروتئین‌های خانواده Bcl-2 به عهده دارند. پروتئین‌های خانواده Bcl-2 به دو دسته پروتئین‌های آنتی‌آپوپتوتیک شامل Bcl-2، Bcl-xL، Bcl-w، Mcl-1 و A1 و نیز پروتئین‌های پروآپوپتوتیک تقسیم می‌شوند. پروتئین‌های پروآپوپتوتیک خود براساس تعداد domain homology (BH) Bcl-2 به دو زیر گروه BH3-only proteins (نظیر Bad، Bid، Bim و Puma) و نیز پروتئین‌هایی که دامنه‌های BH1، BH2 و BH3 را دارند (نظیر Bax و Bak)؛ تقسیم می‌شوند (۷). پروتئین‌های پروآپوپتوتیک عموماً در سیتوزول به عنوان سنسورهای آسیب سلولی یا استرس وجود دارند. محرک‌های آپوپتوز (نظیر توکسین‌ها، تشعشعات، هیپوکسی، استرس‌های اکسیداتیو، ایسکمی، آسیب DNA و فقدان عوامل تروفیک) موجب تغییر در ساختار پروتئین‌های Bax و Bak می‌گردد. در نتیجه این تغییرات، پروتئین‌های مذکور به میتوکندری انتقال یافته و موجب تشکیل منافذ و یا واکنش با کانال‌های غشایی و موجب تسریع MOMP در غشای میتوکندری می‌گردند (۸و۹). اعضای آنتی‌آپوپتوتیک خانواده Bcl-2 (موجود در غشای خارجی میتوکندری) با فعالیت Bax و یا Bak مقابله نموده و در نتیجه موجب مهار MOMP می‌شوند. BH3-only proteins نقش مهمی را در این تنظیم ایفا می‌نمایند. به‌طوری که بعضی از آنها تحت عنوان effectors (نظیر Bid و Bim) می‌توانند مستقیماً موجب فعالسازی Bax و Bak و نیز برخی دیگر تحت عنوان sensitizers (نظیر Noxa، Puma و Bad) شده و با پروتئین‌های آنتی‌آپوپتوتیک مقابله نموده و سلول را برای مرگ حساس می‌نمایند. به‌دنبال افزایش نفوذپذیری غشای میتوکندری، آزادسازی سیتوکروم C و دیگر مولکول‌های پروآپوپتوتیک از میتوکندری (از فضای بین غشاهای داخلی و خارجی) به سیتوزول سلول صورت می‌گیرد. سیتوکروم C در سیتوزول سلول و با حضور dATP موجب القای تشکیل apoptosome (کمپلکس ماکرومولکولار حاوی Apaf1) می‌گردد. آپوپتوزوم نیز باعث جذب و فعالسازی پروکاسپاز ۹ و تسریع فعالیت‌های پروتئولایتیک آن می‌گردد (۱۰). کاسپاز ۹ فعال و متصل به آپوپتوزوم نیز به نوبه خود موجب جذب و فعالسازی کاسپازهای مجری (کاسپاز ۳ و یا کاسپاز ۹) می‌شود. از طرف دیگر القای MOMP موجب رهایی دیگر عوامل پروآپوپتوتیک (نظیر Smac/Diablo و Omi/AtrA2) شده که آنها نیز موجب غیرفعال شدن مهارکننده‌های پروتئین‌های آپوپتوتیک (نظیر IAPs) می‌شوند. به عبارت دیگر IAPs با فعالیت کاسپازهای مجری (در شرایطی که استرس وجود ندارد) مخالفت می‌نمایند. در بین IAPs، پروتئین

کاسپازها در واقع یک خانواده ۱۴ عضوی از پروتئازهای حاوی سیستئین است که در سلول به عنوان زیموژن‌های غیرفعال تولید می‌شوند. کاسپازها براساس نحوه فعالیت‌شان در فرایند آپوپتوز به دو دسته کاسپازهای آغازگر (initiator) و کاسپازهای مجری (executioner یا effector) تقسیم می‌شوند. کاسپازهای آغازگر فعال (شامل کاسپاز ۲، ۸، ۹ و ۱۰) موجب کلیواژ و فعالسازی کاسپازهای مجری (شامل کاسپاز ۳، ۶ و ۷) و در نتیجه کلیواژ سوبستراهای اختصاصی (پروتئین‌های درون‌سلولی نظیر پروتئین‌های اسکلت سلولی) و بروز تغییرات سلولی مختص آپوپتوز می‌شوند (۵). به‌طور کلی در پستانداران دو مسیر در خصوص فعالسازی کاسپازها مطرح است که شامل مسیر داخلی یا مسیر وابسته به میتوکندری و نیز مسیر خارجی یا مسیر وابسته به گیرنده‌های مرگ است (شکل یک).



شکل ۱: مسیر داخلی و خارجی آپوپتوز

مسیر داخلی (intrinsic apoptotic pathway): این مسیر در پی استرس‌های سلولی (ناشی از تشعشعات، مواد شیمیایی، عفونت‌های ویروسی، فقدان عوامل رشد و نیز استرس‌های اکسیداتیو ایجاد شده توسط رادیکال‌های آزاد) فعال می‌گردد. در این مسیر میتوکندری‌ها نقش مهمی در تنظیم مرگ سلولی به‌عهده دارند (شکل یک) (۱). میتوکندری‌ها حاوی تعدادی پروتئین تحت عنوان پروتئین‌های پروآپوپتوتیک (pro-apoptotic) نظیر AIF (apoptosis inducing factor)، Smac/DIABLO و سیتوکروم C هستند. این عوامل به‌دنبال تشکیل منافذ در غشای میتوکندری به‌نام PT pore (permeability transition pore) از میتوکندری‌ها آزاد می‌شوند. این منافذ توسط پروتئین‌های پروآپوپتوتیک فعال شده خانواده Bcl-2 (به‌واسطه سیگنال‌های آپوپتوزی نظیر فقدان عوامل رشد، وجود رادیکال‌های آزاد و استرس‌های سلولی) تشکیل می‌شوند. همچنین میتوکندری‌ها نقش مهمی در تشدید سیگنال‌های

و فعال سازی کمپلکس Fas و جذب پروتئین های آداپتور می گردد. بخش DD گیرنده Fas با بخش DD پروتئین آداپتور (FADD) واکنش داده و سپس بخش DED پروتئین آداپتور موجب جذب پروکاسپاز ۸ (یا ۱۰) و تشکیل (death-inducing signaling complex) DISC می گردد. از طرف دیگر تشکیل DISC منجر به فعال سازی کاسپاز ۸ و در نتیجه موجب فعال سازی کاسپازهای مجری (effector) می گردد (۱۶ و ۱۷) (شکل یک). مسیر خارجی در برخی از انواع سلول ها موجب القای فعالیت مسیر داخلی، فعالیت Bid توسط کاسپاز ۸ و نیز تشکیل truncated Bid (t-Bid) می گردد. t-Bid تشکیل شده به میتو کندری منتقل شده و موجب رهایی سیتوکروم C و فعال سازی کاسپازها می شود. در مجموع هم مسیر داخلی و هم مسیر خارجی از طریق فعال کردن کاسپاز ۳ و دیگر کاسپازهای مجری، موجب تخریب ساختارهای سلولی و بروز تغییرات فنوتیپی مورد نظر در سلول های آپوپتوتیک می گردد.

بیماری های نورودژنراتیو مزمن

در بیماری های نورودژنراتیو مزمن نظیر هانتینگتون، پارکینسون، آلزایمر و ALS فرایند دژنراسیون پیش رونده (عمدتاً از نوع آپوپتوز) در گروه خاصی از سلول های عصبی صورت می گیرد.

بیماری هانتینگتون (Huntington's Disease): مهم ترین

تغییرات پاتولوژیک شناسایی شده در مغز این بیمار، مرگ انتخابی نورون های جسم مخطط و قشر مغز است. این بیماری در اثر تغییرات حاصله در huntingtin gene و تغییر در huntingtin (Htt) protein به وجود می آید. تغییرات حاصله موجب مرگ نورون های GABAergic جسم مخطط (آسیب پذیرترین سلول ها در بیماری هانتینگتون) می گردد (۱۸). هر چند دلایل مرگ انتخابی این سلول ها هنوز به درستی مشخص نشده؛ اما مکانیسم های مختلفی در خصوص پاتوژنز بیماری هانتینگتون مطرح است و از جمله آنها می توان به اختلال در عملکرد میتو کندری، آسیب excitotoxicity، استرس اکسیداتیو و آپوپتوز اشاره نمود. بررسی ها بیانگر نقش آپوپتوز در مرگ سلولی نورون های جسم مخطط در طی پیشرفت بیماری است. به طوری که قطعه قطعه شدن DNA به همراه آپوپتوز در نورون های جسم مخطط این بیمار، پس از مرگ توسط روش تانل شناسایی شده است (۱۹). همچنین کاسپاز ۶ فعال در مراحل اولیه در مغز این بیمار شناسایی شده است. با توجه به شناسایی ژن جهش یافته در بیماری هانتینگتون، امروزه از مدل حیوانی این بیماری برای شناخت دقیق مکانیسم و همچنین اثرات مهای ترکیبات مختلف استفاده می گردد. بررسی ها بیانگر افزایش فعالیت کاسپاز ۱ در مدل تجربی و مغز این قبیل بیمار در مقایسه با گروه کنترل بوده است. به طوری که مهار فعالیت آن موجب تاخیر در شروع بیماری و میزان مرگ و میر (در مدل حیوانی هانتینگتون) شده است. تزریق درون بطنی به مدت چهار هفته z-VAD-fmk

می تواند به طور مستقیم موجب مهار خواص پروتئولیتیک کاسپاز ۳، ۷ و ۹ شود (۱۳-۱۱).

مسیر خارجی (extrinsic apoptotic pathway): این مسیر در

واقع به واسطه گیرنده های اختصاصی موجود در سطح سلول به نام گیرنده های مرگ (death receptor) فعال می گردد (شکل یک). این گیرنده ها موجب انتقال سیگنال های آپوپتوزی از لیگاند های اختصاصی مربوطه به داخل سلول می شوند. به طوری که پس از اتصال گیرنده با لیگاند مربوطه (در مدت چند ثانیه)، کاسپازها فعال شده و در مدت چند ساعت موجب مرگ آپوپتوتیک سلول می گردد (۱۴). گیرنده های مرگ در واقع اعضای خانواده TNFR (tumor necrosis factor receptor) بوده و هر کدام دارای لیگاند های اختصاصی هستند (جدول یک). البته اعضای دیگری از خانواده TNFR (شامل NGF، CD40، OX40، CD27، 4-1BB و CD30) وجود دارند که جزء گیرنده مرگ نیستند (۱۴ و ۱۵).

جدول ۱: گیرنده های مرگ و لیگاند های مربوطه

لیگاند های مربوطه	گیرنده مرگ
CD95L (FasL), DAXX	Fas (CD95, Apo1)
TNF, Lymphotoxin alpha	TNFR1 (p55, CD120a)
Apo3L (TWEAK)	DR3 (Apo3, WSL-1, TRAMP, LARD)
TRAIL (Apo2L)	DR4
TRAIL (Apo2L)	DR5 (Apo2, TRAIL-R2, TRICK2, KILLER)
کاملاً شناسایی نشده	CAR1

گیرنده های مرگ دارای بخش های درون سلولی شامل death domain (DD) و نیز death effector domain (DED) هستند. مولکول های آداپتور (adapter-molecules) نظیر FADD، TRADD یا DAXX نیز خود دارای death domain هستند. به طوری که می توانند با گیرنده های مرگ واکنش داده و موجب انتقال سیگنال های آپوپتوتیک به ماشین مرگ سلول شوند (۱۵). از طرف دیگر لیگاندها می توانند یا به صورت عوامل محلول (soluble factor) و یا بر روی سطح سلول هایی نظیر لنفوسیت های سیتوتوکسیک نوع T بیان شوند. این لیگاندها به گیرنده سلول آسیب دیده و یا آلوده به ویروس باند شده و موجب آپوپتوز شده و مانع از تکثیر و سرطانی شدن سلول می گردند. آپوپتوز همچنین می تواند از طریق آزاد سازی گرانزیم B (Granzyme B) توسط لنفوسیت های سیتوتوکسیک نوع T به داخل سلول و فعال سازی مستقیم کاسپازهای ۳، ۷، ۸ و ۱۰ نیز القاء شود. از جمله گیرنده های مرگی که در سال های اخیر مورد توجه قرار گرفته؛ گیرنده Fas است. مطالعات نشان داده این گیرنده در واقع یک مولکول غشایی تیپ یک بوده و دارای تشابه ساختاری با گیرنده های خانواده TNF و NGF است (۱۴). از طرفی لیگاند Fas (FasL) یک پروتئین غشایی تیپ دو است. اتصال FasL به گیرنده مربوطه منجر به تشکیل

(به‌وسیله 3-nitropropionic) موجب تاخیر در بروز علائم این بیماری گردید (۲۲). تزریق Verapamil و diltiazem (از جمله متوقف کننده‌های کانال کلسیمی) موجب تعدیل آسیب‌های اکسیداتیو، میزان واسطه‌های التهابی و فعالیت کاسپاز ۳ و نهایتاً بهبود فعالیت‌های حرکتی در مدل تجربی هانتینگتون (با تزریق QA) گردید (۲۶).

بیماری پارکینسون (Parkinson's Disease): علائم بالینی این بیماری عمدتاً در نتیجه از بین رفتن نورون‌های دوپامینرژیک در جسم سیاه (substantia nigra) مغز به‌وجود می‌آید. از دیگر مشخصات پاتولوژیک این بیماری می‌توان به وجود Lewy neuritis و Lewy bodies در نورون‌های زنده اشاره نمود. بررسی‌های اولیه انجام شده بر روی مغز بیماران پارکینسونی پس از مرگ بیانگر نقش کاسپاز ۳ به عنوان یکی از عوامل اساسی در مرگ سلول‌های موجود در جسم سیاه بوده است (۲۷). امروزه اطلاعات زیادی در خصوص روند مرگ نورون‌های جسم سیاه بیماران پارکینسونی از طریق ایجاد مدل‌های تجربی پارکینسون در *in vivo* (حیوانات نوروتوکسیک) و *in vitro* (کشت سلولی) حاصل شده است. در این خصوص مطالعات نشان داده که نوروتوکسین‌های MPTP (mitochondrial permeability transition pore) و 6-OHDA (6-Hydroxydopamine) منجر به مرگ نورون‌های دوپامینرژیک در *in vivo* و *in vitro* می‌گردد. 6-OHDA با سه مکانیسم تولید ROS (reactive oxygen species) تولید پراکسیدهای هیدروژن و مهار کمپلکس‌های میتوکندریایی IV موجب القای مرگ سلولی می‌شود (۲۸ و ۲۹).

تزریق MTPT به میزان ۳۰ mg/kg روزانه به مدت ۵ روز در مدل حیوانی موجب القای آپوتوز در سلول‌های دوپامینرژیک جسم سیاه شد. به طوری که فعالیت کاسپاز ۳ و تراکم کروماتین در این سلول‌ها مشاهده گردید که نشان دهنده نقش آپوتوز به‌خصوص مسیر میتوکندریایی، در از بین رفتن نورون‌های دوپامینرژیک در مدل تجربی پارکینسون ناشی از تزریق MTPT بود (۳۰). هرچند در حال حاضر درمان موثری برای مهار مرگ سلول‌های عصبی جسم سیاه مغز افراد پارکینسونی وجود ندارد؛ ولیکن نقایص دوپامینرژیک می‌تواند به طور موقت از طریق مصرف آگونیست‌های دوپامین و dopamine precursor L-dopa جبران شود. با توجه به نقش فرایند آپوتوز در بیماری پارکینسون، مطالعات گسترده‌ای در خصوص استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های مختلف در *in vivo* و *in vitro* صورت گرفته است. به عنوان مثال آنتی‌اکسیدان Astaxanthin موجب مهار آپوتوز، مهار تولید ROS، مهار افزایش بیان Bax، مهار کاهش بیان Bcl-2، مهار دیپولاریزاسیون غشای میتوکندری و مهار فعالیت کاسپاز ۳ می‌گردد. استفاده از Astaxanthin به میزان ۳۰ mg/kg به مدت ۲۸ روز به‌طور معنی‌داری موجب کاهش مرگ سلولی القا

(مهار کننده کاسپاز) موجب تاخیر در پیشرفت بیماری و مرگ در مدل حیوانی هانتینگتون شده است (۲۰). برخلاف کاسپاز ۱، بیان کاسپاز ۳ در طول بیماری افزایش می‌یابد. Htt یکی از سوبستراهای کاسپاز ۱ و ۳ است که در نتیجه کلیواژ آن، میزان neurotoxic Htt fragment افزایش یافته که در نتیجه موجب وارد شدن استرس به سلول‌ها و افزایش فعالیت کاسپازها و در نهایت آپوتوز در طی پیشرفت بیماری می‌گردد (۲۱). همچنین توزیع سیتوکروم C و کاسپاز ۹ در بیماران هانتینگتون و نیز مدل تجربی آن مورد بررسی قرار گرفته است. مطالعات نشان داده با افزایش شدت بیماری، میزان سیتوکروم C در سلول‌های عصبی افزایش می‌یابد و در نتیجه موجب دژنراسیون بیشتر سلول‌های جسم مخطط می‌گردد. همچنین در نورون‌های جسم مخطط این بیماران، کاسپاز ۹ فعال قابل شناسایی بوده است. در مدل حیوانی هانتینگتون افزایش موقتی در بیان و انتقال سیتوکروم C دیده شد و در مقابل کاسپازهای ۳ و ۹ در مراحل بعدی بیماری فعال گردید (۲۲). همچنین در مدل تجربی فعالیت پیشرونده و متوالی کاسپازها مشاهده گردید. به‌طوری که کاسپاز ۱ در مراحل ابتدایی بیماری، کاسپاز ۳ و ۹ در مراحل میانی بیماری و کاسپاز ۸ در مراحل پیشرفته بیماری فعال گردید. همچنین بررسی‌ها بیانگر تغییر در تعادل اعضای خانواده پروآپتوتیک Bcl-2 در مراحل میانی و نهایی روند بیماری به موازات رهایی سیتوکروم C از میتوکندری در مدل حیوانی بود. افزایش بیان Bcl-2 (با تغییرات ژنتیکی) موجب تاخیر در شروع اختلالات حرکتی و افزایش بقای حیوانات گردید (۲۳). با توجه به شناخت مکانیسم‌های موثر در بیماری (با ایجاد مدل تجربی) و تأکید بر نقش آپوتوز، تحقیقات متعددی در خصوص به‌کارگیری و بررسی اثرات احتمالی ترکیبات نوروپروتکتیو (از طریق مهار کاسپازهای ۱ و ۳) صورت گرفته است. چرا که داروهای موجود فقط تا حدودی موجب کنترل حرکات غیرطبیعی بدن می‌شوند. در مطالعات تجربی از تزریق 3-nitropropionic، malonate و یا Quinolinic acid (QA) در داخل جسم مخطط مغز برای ایجاد مدل تجربی HD استفاده گردید. علائم پاتوفیزیولوژی از جمله تخلیه ATP، اختلال در عملکرد میتوکندری، افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و آسیب‌های اکسیداتیو، رهایی سیتوکروم C و فعالیت کاسپازها و مرگ انتخابی سلول‌های عصبی و افزایش غلظت کلسیم سیتوزول و از طرفی اختلالات حرکتی این بیماری را به‌وجود می‌آورد. تزریق M826 (مهار کننده کاسپاز ۳) در داخل جسم مخطط پس از تزریق malonate موجب کاهش بیان کاسپاز ۳ فعال، قطعه‌قطعه شدن DNA و وسعت منطقه آسیب دیده شده است (۲۴). همچنین تزریق روزانه minocycline موجب مهار افزایش بیان کاسپاز ۱ و ۳، کند شدن روند پیشرفت بیماری و تاخیر در مرگ حیوانات در مدل تجربی گردید (۲۵). تزریق ملاتونین نیز در مدل تجربی هانتینگتون

بیماری آمیوتروفیک لاترال اسکروز (ALS): یک

بیماری حرکتی پیشرونده است که در آن نورون‌های حرکتی مغز، ساقه مغز و نخاع دچار مرگ سلولی می‌شوند. مکانیسم‌های احتمالی دخیل در پاتوژنز ALS شامل استرس اکسیداتیو، glutamate excitotoxicity، اختلال در عملکرد میتوکنندری، استرس شبکه آندوپلاسمی، قطع انتقال آکسونی و نیز آپوپتوز است. مطالعات انجام شده در مدل‌های تجربی و نیز بیماران مبتلا به ALS بیانگر نقش آپوپتوز در دژنراسیون نورون‌های حرکتی در طی پیشرفت بیماری است. به‌طوری که افزایش بیان Bax و کاهش بیان Bcl-2 در نخاع (۴۶ و ۴۷)، افزایش فعالیت کاسپاز ۱ و کاسپاز ۳ به‌طور همزمان با ظهور نورون‌های آپپتوتیک در نخاع (۴۸ و ۴۹)، انتقال پروتئین Bax به میتوکنندری و رهایی سیتوکروم C در سیتوزول در طی پیشرفت بیماری به همراه فعالیت کاسپاز ۹ و کاسپاز ۷ در نخاع (۵۰) مشاهده شده است. همچنین مطالعات نشان داده که افزایش بیان Bcl-2 موجب تأخیر در شروع بیماری به‌واسطه تأخیر در مرگ نورون‌های حرکتی، فعالیت کاسپازها و از بین رفتن فیبرهای عصبی میلین‌دار می‌شود (۴۸ و ۵۱). همچنین مهار کاسپاز ۱ موجب افزایش بقای حیوانات می‌گردد (۵۲) و مهار فارماکولوژیکی کاسپازها با استفاده از z-VAD-fmk موجب تأخیر در شروع بیماری و افزایش بقای حیوانات می‌گردد (۴۹). همچنین حذف پروتئین‌های Bax و Bak موجود در سلول‌های عصبی در مدل تجربی ALS موجب حفظ نورون‌های حرکتی، تأخیر در شروع علائم بیماری و افزایش بقای حیوانات می‌شود (۵۳). مجموع بررسی‌های انجام شده بر نقش فرایند آپوپتوز به‌ویژه مسیر وابسته به میتوکنندری در مرگ نورون‌های حرکتی و پاتوژنز این بیماری تأکید دارد. لذا به‌کارگیری عوامل مهارکننده آپوپتوز، نقش مهمی در کاهش پیشرفت بیماری و به تأخیر انداختن آن ایفا می‌نماید. در این رابطه مطالعات نشان داده که استفاده از minocycline (مهارکننده رهایی سیتوکروم C از طریق کاهش نفوذپذیری غشای میتوکنندری) باعث تأخیر در شروع بیماری و افزایش بقای حیوان در مدل تجربی ALS می‌شود (۵۴). در مطالعات in vivo (مدل حیوانی ALS) و in vitro (کشت سلولی) اختلال در ساختار و عملکرد میتوکنندری‌ها مشاهده شده است. به‌طوری که تجمع غیرطبیعی میتوکنندری‌ها و وجود واکوئل‌های میتوکندریایی در حال اضمحلال در نورون‌های حرکتی (مدل حیوانی ALS) و نیز قطعه قطعه شدن گسترده میتوکنندری (در کشت سلولی مدل ALS) مشاهده گردید. وجود میتوکنندری با مورفولوژی غیرطبیعی شناسایی شده در نورون‌های حرکتی بیماران مبتلا به ALS بیانگر نقش کلیدی میتوکنندری در پاتوژنز این بیماری است. مجموع مشخصات آسیب میتوکنندری در مدل تجربی ALS شامل کاهش فعالیت زنجیره تنفسی و پتانسیل غشای میتوکنندری (۵۵ و ۵۶)؛ تغییر در هموستاز کلسیم (۵۷ و ۵۸)؛ افزایش آسیب DNA

شده توسط MTPT در سلول‌های دوپامینرژیک جسم سیاه موش گردید (۳۱). Morin یک ترکیب طبیعی است که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و مهارکنندگی تکثیر سلولی در vivo و in vitro است. این ترکیب موجب تعدیل آپوپتوز القا شده توسط MPP+، تعدیل فعالیت کاسپاز ۳ و تعدیل تولید ROS در in vitro می‌گردد (۳۲). تزریق داخلی صفاقی این ترکیب موجب تعدیل اختلالات رفتاری، کاهش میزان دوپامین و مرگ سلول‌های دوپامینرژیک در مدل حیوانی پارکینسون (القا شده توسط MTPT) می‌گردد. همچنین تحقیقات بیانگر خواص آنتی‌آپوپتوتیک و مهارکنندگی پارکینسون در مدل حیوانی ترکیباتی نظیر Osthole و SCM/98 است (۳۳ و ۳۴).

بیماری آلزایمر (Alzheimer's Disease): از مهم‌ترین

مشخصات هیستوپاتوتیک این بیماری می‌توان به وجود neuritic plaques, neurofibrillary tangles و همچنین مرگ سلول‌های عصبی در هیپوکامپ و قشر مغز اشاره نمود. مطالعات انجام شده بر روی مغز بیماران مبتلا به آلزایمر بیانگر افزایش آپوپتوز تا ۵۰ برابر در سلول‌های عصبی مغز نسبت به گروه کنترل (۳۵)، ایجاد همزمان قطعه قطعه شدن DNA و افزایش پروتئین c-Jun (۳۶)، کاهش بیان Bcl-2 و افزایش بیان Bax به همراه neurofibrillary tangles (۳۷)، افزایش قابل توجه synaptic procaspase-3 و کاسپاز ۳ فعال نسبت به گروه کنترل (۳۸)، کاهش فعالیت کمپلکس‌های II، III، IV و سیتوکروم اکسیداز (۳۹) و نیز وجود کاسپاز ۳ فعال شده در داخل گرانول‌های اتوفاجی (autophagic granules) (۴۰) بوده است. همچنین بررسی‌ها نشان داده است که افزایش C31 و Aβ peptide (حاصل از کلیوژ سوبسترای کاسپاز ۳ به نام APP) نقش مهمی را در القای آپوپتوز و پاتولوژی بیماری آلزایمر به عهده دارند (۴۱). هرچند مکانیسم القای آپوپتوز این ترکیبات تاکنون به روشنی مشخص نشده؛ ولی اعتقاد بر آن است که این ترکیبات موجب افزایش رادیکال‌های آزاد و افزایش استرس‌های اکسیداتیو می‌شوند. مطالعات in vitro نشان داد افزودن Aβ peptide به محیط کشت سلول‌های عصبی موجب بلینینگ غشای سلول (۴۲)، تراکم کروماتین هسته (۴۳) و فعالیت کاسپاز (۴۴) می‌گردد. کاسپاز ۳ فعال موجود در سیناپس، موجب از بین رفتن خارهای دندریتی، اختلال در چرخه عصبی و تسریع در مرگ سلول‌های عصبی شده است و این امر بیشترین ارتباط با پاتولوژی بیمار آلزایمر را دارا بوده است. مهار فارماکولوژیک فعالیت کاسپاز ۳ در مدل تجربی آلزایمر (توسط ترکیباتی نظیر z-DEVD-fmk) موجب کاهش علائم این بیماری شده است (۴۵). برای اساس یکی از استراتژی‌های درمانی این بیماری در آینده، کنترل هرچه بیشتر آپوپتوز سلول‌های عصبی در مراحل اولیه است.

میتو کندری (۵۹) و نیز تغییرات در پروتئوم میتو کندریایی (شامل کاهش مکانیسم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی) است (۶۰ و ۶۱). در این خصوص بررسی‌ها نشان داده است که استفاده از ملاتونین (۶۲) و GDNF (glial cell derived neurotrophic factor) در ALS موجب تاخیر در پیشرفت بیماری و افزایش بقا می‌گردد (۶۳). تزریق روزانه داخل صفاقی Li_2Co_3 (lithium carbonate) در مدل تجربی ALS، شروع و دوره بیماری را به تاخیر انداخته و همچنین موجب افزایش طول عمر می‌گردد (۶۴). همچنین در مطالعات بالینی نیز استفاده همزمان از lithium و riluzole پیشرفت بیماری را به تاخیر انداخته است (۶۴). مطالعات دیگر نشان داده است که تزریق G-CSF (به مدت ۸ هفته) موجب افزایش بقای نورون‌های حرکتی، کاهش آتروفی عضلانی و بهبود فعالیت‌های حرکتی در مدل تجربی ALS می‌شود (۶۵). در این ارتباط بررسی‌های *in vitro* نشان داده است که G-CSF به واسطه کاهش فعالیت کاسپاز ۳ موجب حمایت سلول‌های عصبی در مقابل آپوتوز می‌شود. همچنین در مدل حیوانی ALS تزریق G-CSF موجب القای Bcl-x در نخاع (به عنوان یکی از شاخص‌های آنتی‌آپوتوتیک) شده و بیانگر اثر ضدآپوتوزی مستقیم آن در نورون‌های حرکتی نخاع (با تزریق درون وریدی یا درون نخاعی G-CSF) است (۶۵).

بیماری‌های نورودژنراتیو حاد

فرایند آپوتوز در بیماری‌های نورودژنراتیو حاد نظیر استروک، ترومای مغزی و ضایعات نخاعی نیز از جمله مکانیسم‌های مهم و موثر در میزان بروز اختلالات پس از ضایعات است.

ضایعات مغزی: بررسی‌ها نشان داده است که مرگ سلولی شناسایی شده در بافت آسیب دیده مغز، دارای ترکیبی از الگوهای نکروز و آپوتوز است. سلول‌های نکروتیک در مرکز محل ضایعه، و در مقابل سلول‌های آپوتوتیک در اطراف آن (به نام منطقه penumbra) مشاهده می‌گردد. البته در مطالعات تجربی، ترکیبی از مشخصه‌های مورفولوژی و بیوشیمیایی نکروز و آپوتوز به طور همزمان در یک سلول عصبی منفرد نیز مشاهده شده است (۶۶). لذا اعتقاد بر این است که آپوتوز در واقع یک رخداد اولیه در سلول‌هایی که دچار کمبود اکسیژن و انرژی شده‌اند؛ بوده و نکروز در شرایطی که ذخایر انرژی مورد نیاز فرایند آپوتوز در سلول سریعاً تخلیه شود؛ رخ خواهد داد. در واقع نکروز از توقف فرایند آپوتوز (به جهت تخلیه شدید انرژی) در مرکز محل ضایعه و آپوتوز در منطقه penumbra (محلی که میزان انرژی مورد نیاز فرایند آپوتوز وجود دارد) گسترش می‌یابد. لذا محققین بر آن هستند که تا حد ممکن منطقه penumbra را در طی مراحل بعدی پس از ضایعه حفظ نمایند. چرا که از بین رفتن سلول‌های این منطقه موجب گسترش اختلالات نورولوژیک می‌گردد. براین اساس به کارگیری ترکیبات کاهش دهنده آپوتوز (آنتی آپوتوتیک) می‌تواند نقش

مهمی را در کاهش اختلالات نورولوژیک پس از ضایعات مغزی ایفا نمایند. نخستین شواهد در خصوص نقش آپوتوز در ضایعات مغزی در مدل تجربی استروک حاصل شده است. مطالعات نشان داده که کاسپاز ۱ نقش مهمی را در آپوتوز پاتولوژیک ایفا می‌نماید و لذا مهار فعالیت پروتئازهای خانواده ICE (interleukin-1 β converting enzyme) موجب کاهش آسیب بافتی و حفظ عملکرد مغز به دنبال ایسکمی مغزی می‌شود (۶۷). همچنین مطالعات بیانگر رهایی سیتوکروم C و فعالیت کاسپازهای ۱، ۳، ۸، ۹ و ۱۱ به دنبال ایسکمی مغزی است (۶۸ و ۶۹). بررسی‌ها نشان داده است که افزایش بیان Bcl-2 در نورون موجب افزایش مقاومت آن به ایسکمی مغزی می‌گردد. به طوری که در موش‌های ترانسژنیک Bcl-2، حجم انفارکتوس مغزی تا ۵۰ درصد در مقایسه با موش‌های معمولی کاهش می‌یابد (۷۰). همچنین در مدل تجربی ایسکمی مغزی به نقش Bid در مرگ سلول‌های عصبی تاکید شده است (۷۱). استفاده از مهارکننده‌های کاسپاز نظیر z-VAD-fmk، z-DEVD-fmk و YVAD-cmk در مدل تجربی ایسکمی مغزی موجب کاهش منطقه آسیب دیده و نیز کاهش اختلالات نورولوژیک می‌گردد (۷۲ و ۷۳). همچنین بررسی‌ها بیانگر نقش محوری آپوتوز در ضایعات تروماتیک مغزی است. آپوتوز پس از ترومای مغزی ممکن است توسط عواملی نظیر اسیدهای آمینه تحریک کننده، افزایش کلسیم و رادیکال‌های آزاد درون سلولی، پروتئازهای خانواده کاسپاز و نیز تغییر در بالانس بین عوامل پروآپوتوتیک و آنتی آپوتوتیک صورت می‌گیرد (۷۴). در مدل تجربی ترومای مغزی در موش صحرایی، کاسپازهای ۸ و ۹ (یک ساعت پس از ضایعه) و کاسپاز ۳ (۶ ساعت پس از ضایعه) شناسایی شدند (۷۵). فرایند غالب آپوتوز در نورون‌های پستانداران از طریق مسیر وابسته به میتو کندری است؛ ولیکن شواهدی مبنی بر بیان Fas و FasL و نقش آن در آپوتوز پس از ترومای مغزی مشاهده شده است. Fas و FasL در نورون‌های قشر مغز منطقه آسیب دیده (پس از ترومای مغزی) بیان شده و sFas در مایع مغزی نخاعی این بیماران شناسایی شده است (۷۵). به خاطر نقش ژن P53 در نسخه برداری ژن Fas، لذا حذف یا مهار آن موجب مهار روند آپوتوز به دنبال ترومای مغزی می‌گردد (۷۶). از طرف دیگر مطالعات بیانگر افزایش بیان کاسپازهای ۳، ۸ و ۹ و فعالیت آنها در نورون‌ها پس از ترومای مغزی است؛ لذا درمان با مهارکننده‌های کاسپاز نظیر z-VAD-fmk موجب بهبود عملکرد حرکتی در مدل تجربی ترومای مغزی نسبت به گروه کنترل شده است (۷۷). همچنین افزایش بیان Bax و کاهش بیان Bcl-2 هم در مدل تجربی و هم در بیماران ترومای مغزی مشاهده شده است (۷۸). مرگ سلولی آپوتوز در ترومای مغزی می‌تواند به واسطه آسیب DNA، تشکیل رادیکال‌های آزاد، آسیب میتو کندری و کاهش عوامل تروفیک ایجاد گردد. تاکنون

گیرنده‌هایی نظیر Fas و P75 را نیز بیان می‌نمایند که موجب تحریک شروع فرایند آپوپتوز می‌گردد (۸۵). آپوپتوز سلول‌های الیگودندروسیت موجب demyelination آکسون‌ها و اختلالات حرکتی نورولوژیک می‌گردد. در سال‌های اخیر عمده تحقیقات معطوف به آسیب‌های ثانویه نخاعی بوده است. زیرا فرایندهای این مرحله تا حدودی قابل پیشگیری است که از جمله آنها می‌توان به استفاده از ترکیبات آنتی آپوپتوتیک، مهارکننده‌های رادیکال‌های آزاد و عوامل ضدالتهابی اشاره نمود. تاکنون از ترکیبات دارویی متعددی در ضایعات نخاعی استفاده شده است که از جمله آنها می‌توان به استفاده از کورتیکواستروئیدها، گانگلیوزیدها، آنتاگونیست‌های اپوئید، آنتاگونیست‌های گیرنده گلوتامات و کانال‌های یونی و نیز مهارکننده‌های cyclooxygenase اشاره نمود (۸۶). در مطالعاتی به نقش آنتی آپوپتوتیک methylprednisolon (افزایش دهنده بیان bcl-2) در ضایعات نخاعی (بالینی و مدل تجربی) اشاره شده است (۸۷و۸۸). همچنین به کارگیری عوامل فارماکولوژیک مهارکننده کاسپازها (نظیر z-DEVD.fmk)، از جمله استراتژی‌های مهار آپوپتوز در ضایعات نخاعی است (۸۹). در مطالعاتی نیز از آنتی اکسیدان‌های طبیعی نظیر EGCG و oleuropein برای مهار آپوپتوز در مدل تجربی ضایعات نخاعی استفاده شده است. به طوری که موجب افزایش بیان bcl-2 و کاهش بیان bax و در نتیجه کاهش سلول‌های آپوپتوتیک گردید (۹۰و۹۱). از جمله دیگر استراتژی‌های درمانی در سال‌های اخیر می‌توان به سلول درمانی برای جایگزینی سلول‌های مرده در بخش ضایعه دیده نخاع اشاره نمود (۹۲).

نتیجه گیری

فرایند آپوپتوز در بیماری‌های نورودژنراتیو (حاد و مزمن) دارای نقش مهم و محوری است. از طرف دیگر فرایند آپوپتوز در سلول‌های عصبی پستانداران عمدتاً از طریق مسیر وابسته به میتوکندری (مسیر داخلی) صورت می‌گیرد. لذا استراتژی‌های درمانی که موجب محدودیت آسیب‌های میتوکندری و در نتیجه کاهش اختلالات عملکرد میتوکندری و یا حذف میتوکندری‌های آسیب دیده شوند؛ افقی تازه در درمان بیماری‌های نورودژنراتیو فراهم خواهند آورد. با وجود مطالعاتی که تاکنون در خصوص مهار آپوپتوز توسط ترکیبات مختلف صورت گرفته؛ ولی پیشرفت‌های حاصله چندان موثر و شایان ذکر نبوده است. لذا بررسی‌های بیشتری در شناخت هرچه بیشتر فرایند آپوپتوز و طراحی استراتژی‌های درمانی برای مهار یا توقف آن به منظور تعدیل و یا بهبود بیماری‌های نورودژنراتیو ضروری به نظر می‌رسد.

درمان‌های فارماکولوژیک متعددی برای مهار روند آپوپتوز در ترومای مغزی که عمدتاً کاسپاز ۳ را مورد هدف قرار می‌دهد؛ پیشنهاد شده است. به عنوان مثال تزریق درون مغزی مهارکننده کاسپاز ۳ (N-benzyloxy carbonyl-Asp-Glu-Val-Asp-fluoromethyl keton) در مدل تجربی ترومای مغزی در موش صحرایی، موجب کاهش منطقه آسیب دیده و کاهش میزان مرگ سلول‌های هیپوکامپ شده است. هرچند به لحاظ حرکتی تفاوتی با گروه کنترل مشاهده نشد (۷۹). همچنین Minocycline موجب کاهش فعالیت کاسپاز ۱ و کاهش وسعت منطقه آسیب دیده در موش صحرایی پس از ترومای مغزی گردید (۸۰). Cyclosporine A از طریق مهار نفوذپذیری منافذ غشای میتوکندری، مهار جابجایی سیتوکروم C به سیتوزول و در نتیجه مهار فعال‌سازی کاسپازها موجب تعدیل آسیب آکسون‌ها و کاهش حجم منطقه آسیب دیده می‌گردد (۸۱). مطالعات نشان داده است که substance P موجب کاهش حجم منطقه آسیب دیده و بهبود عملکرد حرکتی در ترومای مغزی می‌شود. این ماده میل ترکیبی بالایی با گیرنده neurokinin-1 داشته و در نتیجه موجب کاهش فعالیت کاسپازها و قطعه قطعه شدن DNA می‌گردد (۸۱و۸۲). البته لازم به ذکر است که استفاده از مهارکننده‌های آپوپتوزی فقط در ضایعات تروماتیک مغزی خفیف و متوسط موثر است؛ زیرا در ضایعات شدید، عمدتاً نکرور رخ می‌دهد.

ضایعات نخاعی: اختلالات نورولوژیک پس از ضایعات نخاعی در نتیجه آسیب مکانیکی اولیه و نیز فرایند دژنراسیون ثانویه به وجود می‌آید. شدت این اختلالات وابسته به وسعت آسیب‌های ثانویه‌ای است که به واسطه وقایع سلولی، مولکولی و بیوشیمیایی نظیر نفوذ یون کلسیم به سلول، پراکسیداسیون ناشی از رادیکال‌های آزاد، واکنش‌های التهابی، واکنش‌های سیستم ایمنی و اختلالات حاصله در عروق خونی به وجود می‌آید (۸۳). همچنین مطالعات نشان داده است که آپوپتوز از جمله مکانیسم‌های مهم و کلیدی آسیب ثانویه در ضایعات نخاعی است (۸۴) که به واسطه عوامل متعددی نظیر glutamatergic excitotoxicity، افزایش رادیکال‌های آزاد، سیتوکین‌ها و واکنش‌های التهابی القا می‌شود. البته در ضایعات نخاعی نظیر ضایعات مغزی هم سلول‌های نکروتیک و هم سلول‌های آپوپتوتیک مشاهده می‌گردد. به طوری که هرچه شدت ضایعه افزایش یابد؛ میزان سلول‌های نکروتیک نیز افزایش می‌یابد. در ضایعات نخاعی انسانی و مدل تجربی حیوانی، گسترش آپوپتوز (پس از گذشت هفته‌ها از زمان ایجاد ضایعه) در اطراف منطقه آسیب دیده اولیه مشاهده می‌گردد. پس از ضایعات نخاعی، سلول‌های الیگودندروسیت بسیار مستعد به آپوپتوز بوده و حتی

References

- Cavallucci V, D'Amelio M. Matter of life and death: the pharmacological approaches targeting apoptosis in brain diseases. *Curr Pharm Des.* 2011;17(3):215-29.
- Wong J, Hoe NW, Zhiwei F, Ng I. Apoptosis and traumatic brain injury. *Neurocrit Care.* 2005;3(2):177-82.
- Wyllie AH, Kerr JF, Currie AR. Cell death: the significance of apoptosis. *Int Rev Cytol.* 1980;68:251-306.
- Rich T, Watson CJ, Wyllie A. Apoptosis: the germs of death. *Nat Cell Biol.* 1999 Jul;1(3):E69-71.
- Fuentes-Prior P, Salvesen GS. The protein structures that shape caspase activity, specificity, activation and inhibition. *Biochem J.* 2004 Dec;384(Pt 2):201-32.
- Dash Ph. Apoptosis. Available at: www.ppgorgsistem.ics.ufba.br/arquivos/fatima/Apoptosis.pdf
- Adams JM, Cory S. The Bcl-2 protein family: arbiters of cell survival. *Science.* 1998 Aug;281(5381):1322-6.
- Er E, Oliver L, Cartron PF, Juin P, Manon S, Vallette FM. Mitochondria as the target of the pro-apoptotic protein Bax. *Biochim Biophys Acta.* 2006 Sep-Oct;1757(9-10):1301-11.
- Kroemer G, Galluzzi L, Brenner C. Mitochondrial membrane permeabilization in cell death. *Physiol Rev.* 2007 Jan;87(1):99-163.
- Acehan D, Jiang X, Morgan DG, Heuser JE, Wang X, Akey CW. Three-dimensional structure of the apoptosome: implications for assembly, procaspase-9 binding, and activation. *Mol Cell.* 2002 Feb;9(2):423-32.
- Verhagen AM, Ekert PG, Pakusch M, Silke J, Connolly LM, Reid GE, et al. Identification of DIABLO, a mammalian protein that promotes apoptosis by binding to and antagonizing IAP proteins. *Cell.* 2000 Jul;102(1):43-53.
- Srinivasula SM, Hegde R, Saleh A, Datta P, Shiozaki E, Chai J, et al. A conserved XIAP-interaction motif in caspase-9 and Smac/DIABLO regulates caspase activity and apoptosis. *Nature.* 2001 Mar;410(6824):112-6.
- Salvesen GS, Duckett CS. IAP proteins: blocking the road to death's door. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2002 Jun;3(6):401-10.
- Ekert PG, Vaux DL. Apoptosis and the immune system. *Br Med Bull.* 1997;53(3):591-603.
- Schulze-Osthoff K, Ferrari D, Los M, Wesselborg S, Peter ME. Apoptosis signaling by death receptors. *Eur J Biochem.* 1998 Jun;254(3):439-59.
- Peter ME, Krammer PH. The CD95(APO-1/Fas) DISC and beyond. *Cell Death Differ.* 2003 Jan;10(1):26-35.
- Scaffidi C, Fulda S, Srinivasan A, Friesen C, Li F, Tomaselli KJ, et al. Two CD95 (APO-1/Fas) signaling pathways. *EMBO J.* 1998 Mar;17(6):1675-87.
- [No authors listed] A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. The Huntington's Disease Collaborative Research Group. *Cell.* 1993 Mar;72(6):971-83.
- Dragunow M, Faull RL, Lawlor P, Beilharz EJ, Singleton K, Walker EB, et al. In situ evidence for DNA fragmentation in Huntington's disease striatum and Alzheimer's disease temporal lobes. *Neuroreport.* 1995 May;6(7):1053-7.
- Ona VO, Li M, Vonsattel JP, Andrews LJ, Khan SQ, Chung WM, et al. Inhibition of caspase-1 slows disease progression in a mouse model of Huntington's disease. *Nature.* 1999 May;399(6733):263-7.
- Goldberg YP, Nicholson DW, Rasper DM, Kalchman MA, Koide HB, Graham RK, et al. Cleavage of huntingtin by apopain, a proapoptotic cysteine protease, is modulated by the polyglutamine tract. *Nat Genet.* 1996 Aug;13(4):442-9.
- Kiechle T, Dedeoglu A, Kubilus J, Kowall NW, Beal MF, Friedlander RM, et al. Cytochrome C and caspase-9 expression in Huntington's disease. *Neuromolecular Med.* 2002;1(3):183-95.
- Zhang Y, Ona VO, Li M, Drozda M, Dubois-Dauphin M, Przedborski S, et al. Sequential activation of individual caspases, and of alterations in Bcl-2 proapoptotic signals in a mouse model of Huntington's disease. *J Neurochem.* 2003 Dec;87(5):1184-92.
- Toulmond S, Tang K, Bureau Y, Ashdown H, Degen S, O'Donnell R, et al. Neuroprotective effects of M826, a reversible caspase-3 inhibitor, in the rat malonate model of Huntington's disease. *Br J Pharmacol.* 2004 Feb;141(4):689-97.
- Chen M, Ona VO, Li M, Ferrante RJ, Fink KB, Zhu S, et al. Minocycline inhibits caspase-1 and caspase-3 expression and delays mortality in a transgenic mouse model of Huntington disease. *Nat Med.* 2000 Jul;6(7):797-801.
- Kalonia H, Kumar P, Kumar A. Attenuation of proinflammatory cytokines and apoptotic process by verapamil and diltiazem against quinolinic acid induced Huntington like alterations in rats. *Brain Res.* 2011 Feb 4;1372:115-26.
- Hartmann A, Hunot S, Michel PP, Muriel MP, Vyas S, Faucheux BA, et al. Caspase-3: A vulnerability factor and final effector in apoptotic death of dopaminergic neurons in Parkinson's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000 Mar;97(6):2875-80.
- Bloem BR, Irwin I, Buruma OJ, Haan J, Roos RA, Tetrad JW, et al. The MPTP model: versatile contributions to the treatment of idiopathic Parkinson's disease. *J Neurol Sci.* 1990 Jul;97(2-3):273-93.
- Blum D, Torch S, Nissou MF, Benabid AL, Verna JM. Extracellular toxicity of 6-hydroxydopamine on PC12 cells. *Neurosci Lett.* 2000 Apr;283(3):193-6.
- Tatton NA, Kish SJ. In situ detection of apoptotic nuclei in the substantia nigra compacta of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-treated mice using terminal deoxynucleotidyl transferase labelling and acridine orange staining. *Neuroscience.* 1997 Apr;77(4):1037-48.
- Lee DH, Kim CS, Lee YJ. Astaxanthin protects against MPTP/MPP+-induced mitochondrial dysfunction and ROS production in vivo and in vitro. *Food Chem Toxicol.* 2011 Jan;49(1):271-80.
- Zhang ZT, Cao XB, Xiong N, Wang HC, Huang JS, Sun SG, et al. Morin exerts neuroprotective actions in Parkinson disease models in vitro and in vivo. *Acta Pharmacol Sin.* 2010 Aug;31(8):900-6.
- Liu WB, Zhou J, Qu Y, Li X, Lu CT, Xie KL, et al. Neuroprotective effect of osthole on MPP+-induced cytotoxicity in PC12 cells via inhibition of mitochondrial dysfunction and ROS production. *Neurochem Int.* 2010 Oct;57(3):206-15.
- Shi XR, Hong ZY, Liu HR, Zhang YC, Zhu YZ. Neuroprotective effects of SCM198 on 6-hydroxydopamine-induced behavioral deficit in rats and cytotoxicity in neuronal SH-SY5Y cells. *Neurochem Int.* 2011 Jul;58(8):851-60.
- Behl C. Apoptosis and Alzheimer's disease. *J Neural Transm.* 2000;107(11):1325-44.
- Selznick LA, Holtzman DM, Han BH, Gökden M, Srinivasan

AN, Johnson EM Jr, et al. In situ immunodetection of neuronal caspase-3 activation in Alzheimer disease. *J Neuropathol Exp Neurol*. 1999 Sep;58(9):1020-6.

36. Su JH, Deng G, Cotman CW. Bax protein expression is increased in Alzheimer's brain: correlations with DNA damage, Bcl-2 expression, and brain pathology. *J Neuropathol Exp Neurol*. 1997 Jan;56(1):86-93.

37. Scheff SW, Price DA, Schmitt FA, DeKosky ST, Mufson EJ. Synaptic alterations in CA1 in mild Alzheimer disease and mild cognitive impairment. *Neurology*. 2007 May;68(18):1501-8.

38. Chagnon P, Bétard C, Robitaille Y, Cholette A, Gauvreau D. Distribution of brain cytochrome oxidase activity in various neurodegenerative diseases. *Neuroreport*. 1995 Mar;6(5):711-5.

39. Stadelmann C, Deckwerth TL, Srinivasan A, Bancher C, Brück W, Jellinger K, et al. Activation of caspase-3 in single neurons and autophagic granules of granulovacuolar degeneration in Alzheimer's disease. Evidence for apoptotic cell death. *Am J Pathol*. 1999 Nov;155(5):1459-66.

40. Lu DC, Rabizadeh S, Chandra S, Shayya RF, Ellerby LM, Ye X, et al. A second cytotoxic proteolytic peptide derived from amyloid beta-protein precursor. *Nat Med*. 2000 Apr;6(4):397-404.

41. Ivins KJ, Bui ET, Cotman CW. Beta-amyloid induces local neurite degeneration in cultured hippocampal neurons: evidence for neuritic apoptosis. *Neurobiol Dis*. 1998 Nov;5(5):365-78.

42. Loo DT, Copani A, Pike CJ, Whittemore ER, Walencewicz AJ, Cotman CW. Apoptosis is induced by beta-amyloid in cultured central nervous system neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993 Sep;90(17):7951-5.

43. Ivins KJ, Thornton PL, Rohn TT, Cotman CW. Neuronal apoptosis induced by beta-amyloid is mediated by caspase-8. *Neurobiol Dis*. 1999 Oct;6(5):440-9.

44. D'Amelio M, Cavallucci V, Middei S, Marchetti C, Pacioni S, Ferri A, et al. Caspase-3 triggers early synaptic dysfunction in a mouse model of Alzheimer's disease. *Nat Neurosci*. 2011 Jan;14(1):69-76.

45. Martin LJ. Neuronal death in amyotrophic lateral sclerosis is apoptosis: possible contribution of a programmed cell death mechanism. *J Neuropathol Exp Neurol*. 1999 May;58(5):459-71.

46. Vukosavic S, Dubois-Dauphin M, Romero N, Przedborski S. Bax and Bcl-2 interaction in a transgenic mouse model of familial amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurochem*. 1999 Dec;73(6):2460-8.

47. Vukosavic S, Stefanis L, Jackson-Lewis V, Guégan C, Romero N, Chen C, et al. Delaying caspase activation by Bcl-2: A clue to disease retardation in a transgenic mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurosci*. 2000 Dec;20(24):9119-25.

48. Li M, Ona VO, Guégan C, Chen M, Jackson-Lewis V, Andrews LJ, et al. Functional role of caspase-1 and caspase-3 in an ALS transgenic mouse model. *Science*. 2000 Apr;288(5464):335-9.

49. Guégan C, Vila M, Rosoklija G, Hays AP, Przedborski S. Recruitment of the mitochondrial-dependent apoptotic pathway in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurosci*. 2001 Sep;21(17):6569-76.

50. Guégan C, Vila M, Rosoklija G, Hays AP, Przedborski S. Bcl-2: prolonging life in a transgenic mouse model of familial amyotrophic lateral sclerosis. *Science*. 1997 Jul;277(5325):559-62.

51. Friedlander RM, Brown RH, Gagliardini V, Wang J, Yuan J. Inhibition of ICE slows ALS in mice. *Nature*. 1997 Jul;388(6637):31.

52. Reyes NA, Fisher JK, Austgen K, VandenBerg S, Huang EJ, Oakes SA. Blocking the mitochondrial apoptotic pathway preserves motor neuron viability and function in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *J Clin Invest*. 2010 Oct;120(10):3673-9.

53. Zhu S, Stavrovskaya IG, Drozda M, Kim BY, Ona V, Li M, et al. Minocycline inhibits cytochrome c release and delays progression of amyotrophic lateral sclerosis in mice. *Nature*. 2002 May;417(6884):74-8.

54. Menzies FM, Cookson MR, Taylor RW, Turnbull DM, Chrzanowska-Lightowlers ZM, Dong L, et al. Mitochondrial dysfunction in a cell culture model of familial amyotrophic lateral sclerosis. *Brain*. 2002 Jul;125(Pt 7):1522-33.

55. Jung C, Higgins CM, Xu Z. Mitochondrial electron transport chain complex dysfunction in a transgenic mouse model for amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurochem*. 2002 Nov;83(3):535-45.

56. Carri MT, Ferri A, Battistoni A, Famhy L, Gabbianelli R, Poccia F, et al. Expression of a Cu,Zn superoxide dismutase typical of familial amyotrophic lateral sclerosis induces mitochondrial alteration and increase of cytosolic Ca²⁺ concentration in transfected neuroblastoma SH-SY5Y cells. *FEBS Lett*. 1997 Sep;414(2):365-8.

57. Swerdlow RH, Parks JK, Cassarino DS, Trimmer PA, Miller SW, Maguire DJ, et al. Mitochondria in sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Exp Neurol*. 1998 Sep;153(1):135-42.

58. Siklós L, Engelhardt J, Harati Y, Smith RG, Joó F, Appel SH. Ultrastructural evidence for altered calcium in motor nerve terminals in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol*. 1996 Feb;39(2):203-16.

59. Fukada K, Zhang F, Vien A, Cashman NR, Zhu H. Mitochondrial proteomic analysis of a cell line model of familial amyotrophic lateral sclerosis. *Mol Cell Proteomics*. 2004 Dec;3(12):1211-23.

60. Wood-Allum CA, Barber SC, Kirby J, Heath P, Holden H, Mead R, et al. Impairment of mitochondrial anti-oxidant defence in SOD1-related motor neuron injury and amelioration by ebselen. *Brain*. 2006 Jul;129(Pt 7):1693-709.

61. Weishaupt JH, Bartels C, Pölking E, Dietrich J, Rohde G, Poeggeler B, et al. Reduced oxidative damage in ALS by high-dose enteral melatonin treatment. *J Pineal Res*. 2006 Nov;41(4):313-23.

62. Alisky JM, Davidson BL. Gene therapy for amyotrophic lateral sclerosis and other motor neuron diseases. *Hum Gene Ther*. 2000 Nov;11(17):2315-29.

63. Fornai F, Longone P, Cafaro L, Kastsiuchenka O, Ferrucci M, Manca ML, et al. Lithium delays progression of amyotrophic lateral sclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008 Feb;105(6):2052-7.

64. Pitzer C, Krüger C, Plaas C, Kirsch F, Dittgen T, Müller R, et al. Granulocyte-colony stimulating factor improves outcome in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Brain*. 2008 Dec;131(Pt 12):3335-47.

65. Benchoua A, Guégan C, Couriaud C, Hosseini H, Sampaño N, Morin D, et al. Specific caspase pathways are activated in the two stages of cerebral infarction. *J Neurosci*. 2001 Sep;21(18):7127-34.

66. Friedlander RM, Gagliardini V, Hara H, Fink KB, Li W, MacDonald G, et al. Expression of a dominant negative mutant of interleukin-1 beta converting enzyme in transgenic mice prevents neuronal cell death induced by trophic factor withdrawal and ischemic brain injury. *J Exp Med*. 1997 Mar;185(5):933-40.

67. Rabuffetti M, Sciorati C, Tarozzo G, Clementi E, Manfredi AA, Beltramo M. Inhibition of caspase-1-like activity by Ac-Tyr-Val-Ala-Asp-chloromethyl ketone induces long-lasting neuroprotection in cerebral ischemia through apoptosis reduction and decrease of proinflammatory cytokines. *J Neurosci*. 2000 Jun;20(12):4398-404.
68. Kang SJ, Wang S, Hara H, Peterson EP, Namura S, Amin-Hanjani S, et al. Dual role of caspase-11 in mediating activation of caspase-1 and caspase-3 under pathological conditions. *J Cell Biol*. 2000 May;149(3):613-22.
69. Martinou JC, Dubois-Dauphin M, Staple JK, Rodriguez I, Frankowski H, Missotten M, et al. Overexpression of BCL-2 in transgenic mice protects neurons from naturally occurring cell death and experimental ischemia. *Neuron*. 1994 Oct;13(4):1017-30.
70. Plesnila N, Zinkel S, Le DA, Amin-Hanjani S, Wu Y, Qiu J, et al. BID mediates neuronal cell death after oxygen/ glucose deprivation and focal cerebral ischemia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001 Dec;98(26):15318-23.
71. Fink K, Zhu J, Namura S, Shimizu-Sasamata M, Endres M, Ma J, et al. Prolonged therapeutic window for ischemic brain damage caused by delayed caspase activation. *J Cereb Blood Flow Metab*. 1998 Oct;18(10):1071-6.
72. Hara H, Friedlander RM, Gagliardini V, Ayata C, Fink K, Huang Z, et al. Inhibition of interleukin 1 β converting enzyme family proteases reduces ischemic and excitotoxic neuronal damage. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997 Mar;94(5):2007-12.
73. Raghupathi R, Graham DI, McIntosh TK. Apoptosis after traumatic brain injury. *J Neurotrauma*. 2000 Oct;17(10):927-38.
74. Lenzlinger PM, Marx A, Trentz O, Kossmann T, Morganti-Kossmann MC. Prolonged intrathecal release of soluble Fas following severe traumatic brain injury in humans. *J Neuroimmunol*. 2002 Jan;122(1-2):167-74.
75. Peli J, Schröter M, Rudaz C, Hahne M, Meyer C, Reichmann E, et al. Oncogenic Ras inhibits Fas ligand-mediated apoptosis by downregulating the expression of Fas. *EMBO J*. 1999 Apr;18(7):1824-31.
76. Robertson GS, Crocker SJ, Nicholson DW, Schulz JB. Neuroprotection by the inhibition of apoptosis. *Brain Pathol*. 2000 Apr;10(2):283-92.
77. Zuzarte-Luís V, Hurlé JM. Programmed cell death in the developing limb. *Int J Dev Biol*. 2002;46(7):871-6.
78. Clark RS, Kochanek PM, Watkins SC, Chen M, Dixon CE, Seidberg NA, et al. Caspase-3 mediated neuronal death after traumatic brain injury in rats. *J Neurochem*. 2000 Feb;74(2):740-53.
79. Sanchez Mejia RO, Ona VO, Li M, Friedlander RM. Minocycline reduces traumatic brain injury-mediated caspase-1 activation, tissue damage, and neurological dysfunction. *Neurosurgery*. 2001 Jun;48(6):1393-9; discussion 1399-401.
80. Szabó I, Zoratti M. The giant channel of the inner mitochondrial membrane is inhibited by cyclosporin A. *J Biol Chem*. 1991 Feb;266(6):3376-9.
81. Lallemand F, Lefebvre PP, Hans G, Rigo JM, Van de Water TR, Moonen G, et al. Substance P protects spiral ganglion neurons from apoptosis via PKC-Ca²⁺-MAPK/ERK pathways. *J Neurochem*. 2003 Oct;87(2):508-21.
82. Amar AP, Levy ML. Pathogenesis and pharmacological strategies for mitigating secondary damage in acute spinal cord injury. *Neurosurgery*. 1999 May;44(5):1027-39.
83. Liu XZ, Xu XM, Hu R, Du C, Zhang SX, McDonald JW, et al. Neuronal and glial apoptosis after traumatic spinal cord injury. *J Neurosci*. 1997 Jul;17(14):5395-406.
84. Casha S, Yu WR, Fehlings MG. Oligodendroglial apoptosis occurs along degenerating axons and is associated with FAS and p75 expression following spinal cord injury in the rat. *Neuroscience*. 2001;103(1):203-18.
85. Kwon BK, Tetzlaff W, Grauer JN, Beiner J, Vaccaro AR. Pathophysiology and pharmacologic treatment of acute spinal cord injury. *Spine J*. 2004 Jul-Aug;4(4):451-64.
86. Lukáš R, Zýková I, Barsa P, Srám J. [Current role of methylprednisolone in the treatment of acute spinal cord injury]. *Acta Chir Orthop Traumatol Cech*. 2011;78(4):305-13. [Article in Czech]
87. Pettiford JN, Bikhchandani J, Ostlie DJ, St Peter SD, Sharp RJ, Juang D. A review: the role of high dose methylprednisolone in spinal cord trauma in children. *Pediatr Surg Int*. 2012 Mar;28(3):287-94.
88. Barut S, Unlü YA, Karaoğlu A, Tunçdemir M, Dağıstanlı FK, Öztürk M, et al. The neuroprotective effects of z-DEVD.fmk, a caspase-3 inhibitor, on traumatic spinal cord injury in rats. *Surg Neurol*. 2005 Sep;64(3):213-20.
89. Khalatbary AR, Tiraihi T, Boroujeni MB, Ahmadvand H, Tavafi M, Tamjidipoor A. Effects of epigallocatechin gallate on tissue protection and functional recovery after contusive spinal cord injury in rats. *Brain Res*. 2010 Jan;1306:168-75.
90. Khalatbary AR, Ahmadvand H. Neuroprotective effect of oleuropein following spinal cord injury in rats. *Neurol Res*. 2012 Jan;34(1):44-51.
91. Khalatbary AR, Tiraihi T. Localization of bone marrow stromal cells in injured spinal cord treated by intravenous route depends on the hemorrhagic lesions in traumatized spinal tissues. *Neurol Res*. 2007 Jan;29(1):21-6.
92. Ankeny DP, McTigue DM, Jakeman LB. Bone marrow transplants provide tissue protection and directional guidance for axons after contusive spinal cord injury in rats. *Exp Neurol*. 2004 Nov;190(1):17-31.

Review Article

Apoptosis in neurodegenerative diseases

Khalatbary AR (Ph.D)

Assistant Professor, Department of Anatomy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran.

Abstract

Neurodegenerative diseases cause a range of neurological disorders in the central nervous system. Today's researchers emphasize the pivotal role of apoptosis in neurodegenerative diseases. Given that injured central nervous system has limited regenerative capacity, it is of extreme importance to limit the damage by inhibition of neuronal death. During the past decade, considerable progress has been made in understanding the process of apoptosis at molecular level. Also, according to the understanding of the mechanisms of apoptosis, several studies have examined the possible effects of neuroprotective compounds for reducing or inhibiting neuronal apoptosis. In this review article, it has been attempted to review the role of apoptosis in the pathology of neurodegenerative diseases. Also, an overview has been made in the field of neuronal apoptosis inhibitor with neuroprotective compounds in human and experimental models of neurodegenerative diseases.

Keywords: Neurodegenerative diseases, Apoptosis, Anti-apoptotic compounds

Corresponding Author: Khalatbary AR (Ph.D), E-mail: khalat90@yahoo.com

Received 6 Apr 2013

Revised 11 Dec 2013

Accepted 24 Dec 2013