

Na kakšen način se odstranjujejo izrabljeni in odvečni deli celice

Nobelova nagrada za fiziologijo oziroma medicino za leto 2016

Radovan Komel

Letošnjo nagrado za fiziologijo oziroma medicino je Nobelov odbor petdesetih uglednih profesorjev Inštituta Karolinska v Stocholmu podelil Jošinoriju Ohsumiju za odkritje in pojasnitev mehanizmov avtofagije, procesa razgradnje in reciklaže izrabljenih in odvečnih delov celice.

Kaj je avtofagija?

Beseda avtofagija izvira iz dveh grških besed, ki v prevodu pomenita »sámo« in »jesti«, dobesedno in glede na potek pojava bi lahko rekli »jesti samega sebe« ali »samopožiranje«. Opisuje proces, v katerem ev-

kariontska celica reciklira del svoje vsebine, tako da ujame delček citoplazme v vezikel, obdan z membrano, in tega preda razgradnji v lizosomih. V bistvu gre za prebavo in recikliranje nepotrebne ali odpadnega celičnega materiala v trenutku, ko mora ta biti odstranjen, da pusti prostor novo zgrajenemu.

V zgodnjih petdesetih letih preteklega stoletja je belgijski znanstvenik Christian de Duve odkril z membrano obdani celični organel **lizosom**, v katerem so encimi, ki v kislem okolju organela razgrajujejo vse vrste bioloških molekul: proteine, nukleinske ki-

Jošinori Ohsumi se je rodil leta 1945 v Fukuoki na Japonskem. Po doktoratu leta 1974 na Tokijski univerzi in nato triletnem raziskovalnem bivanju na Univerzi Rockefeller v New Yorku v Združenih državah Amerike se je vrnil na Univerzo v Tokiu in leta 1988 ustanovil svojo raziskovalno skupino. Od leta 2009 zaseda mesto profesorja na Tokijskem tehnološkem inštitutu.



sline, sladkorje in maščobe oziroma lipide. Razgradnja poteka s hidrolizo, razcepom kemijskih vezi z vodo:



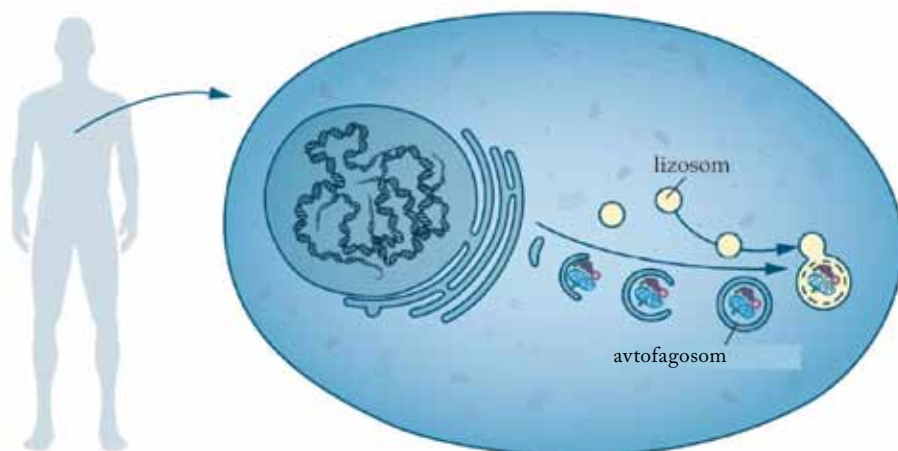
Na sliki je kot primer prikazana hidroliza organskega estra na njegovi izhodiščni sestavini, organsko kislino in alkohol. Obratna reakcija bi bila kondenzacija, sestavljanje estra iz kisline in alkohola.

Sinteza encimov lizosoma se začne v celičnem jedru, s prepisom (transkripcijo) ustreznih genov v sporočilne RNA (mRNA) in nato s prevodom (translacijo) le-teh na ribosomih endoplazemskega retikuluma v odgovarjajoče proteine (lizosomske encime), ki se v Golgijevem sistemu endoplazemskega retikuluma zapakirajo v vezikle, obdane z membrano. Ti encime prinesejo v že obstoječe lizosome ali pa z združitvijo z endosomi dozoriijo v na novo ustvarjene lizoso-

me. Endosomi so večji, z membrano obdani celični vezikli, katerih vloga sta zajetje in zbiranje snovi za razgradnjo v lizosomih. Lahko nastanejo, ko del celične membrane obda snovi, ki prihajajo v celico, lahko pa nastanejo tudi v notranjosti celice iz že omenjenega Golgijevega sistema. Kmalu po odkritju lizosoma so odkrili vezikle, ki lahko v lizosome dostavijo večje dele celične vsebine, tudi celotne organele, kot so na primer mitohondriji. Christian de Duve je te vezikle poimenoval **avtofagosomi** in proces zajetja, dostave in razgradnje celičnih sestavin **avtofagija**. Lizosomi v procesu avtofagije nimajo samo vloge »košev za odpadke«, temveč gre za nekakšno »reciklažo«, saj so odpadne snovi podvržene razgradnji na osnovne gradnike biomolekul in so na razpolago za nujne potrebe celice v trenutnih fizioloških razmerah.

Christian de Duve je za odkritje lizosomov in avtofagije leta 1974 prejel Nobelovo nagrado, vendar je sam potek avtofagije ostal velika uganka vse do devetdesetih let preteklega stoletja, ko se je Jošinori Ohsumi,

Avtofagosomi se razvijejo iz notranjemembranskega Golgijevega sistema in skupaj s citoplazmo »pogoltnejo« del celične vsebine, navzoče v citoplazmi, kot so na primer poškodovani ali izrabljeni proteini in celični organeli. Po zlitju z lizosomi se omenjena vsebina razgradi v manjše sestavne dele. To celicam zagotavlja hraniiva in sestavine za obnovo.
Vir: Nobelprize.org.



takrat izredni profesor na Tokijski univerzi, odločil, da bo proces raziskal s pomočjo kvasovke *Saccharomyces cerevisiae*, ki je tako kot človek evkariontski organizem, vendar zaradi preproste zgradbe in sestave zelo primerna kot model za preučevanje pojavov in biokemijskih procesov, ki potekajo pri višjih evkariontih.

Raziskovali so, kako poteka proces avtofagije

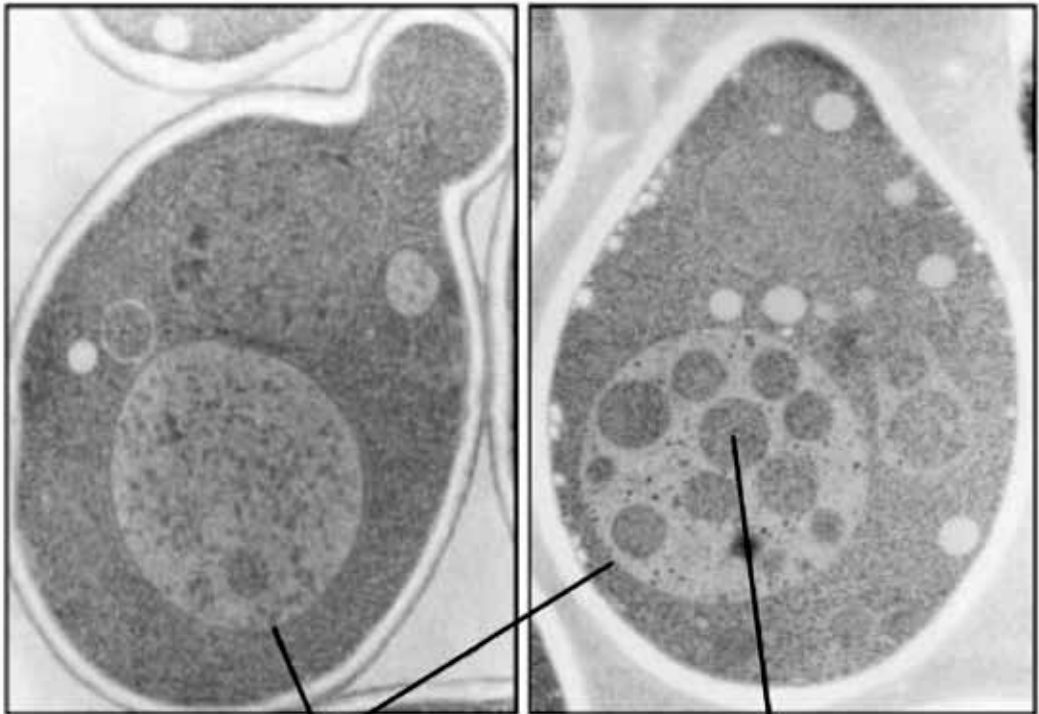
Izhodišče raziskave je bilo dejstvo, da v kvasnih celicah obstajajo mehurčki (vakuole), ki imajo podobno vlogo kot lizosomi

pri sesalcih. Ohsumi je predpostavil, da bi v primeru ustavitve razgradnje celičnih sestavin v vakuolah lahko prišlo do kopičenja nerazgrajenih sestavin citoplazme, ki jih je sicer z namenom razgradnje »pogoltnila« vakuola. Zato je razvil mutante kvasovke brez nekaj ključnih encimov vakuole, potrebnih za razgradnjo proteinov. Ko je mutirano kvasovko gojil v revnem gojišču brez nekaj pomembnih hraniv, je to za kvasne celice predstavljalo velik stres. Da bi se znebile odvečnih sestavin, nepotrebne razkošja v razmerah »lakote«, so izoblikovale velike vakuole, vidne pod svetlobnim mikroskopom,

Vakuola v celici kvasovke ima enako vlogo kot lizosom v celicah sesalcev. Ohsumi je razvil mutanto kvasovke brez vakuolnih razgradnih encimov. V razmerah stradanja je prišlo do hitrega kopičenja avtofagosomov v vakuoli. Vir: Nobelprize.org.

Celica mutirane kvasovke
v normalnih razmerah

Celica mutirane kvasovke
v razmerah stradanja



vakuola

avtofagosom

in v teh vakuolah so se dejansko tudi nako-
pičili majhni vezikli s sestavinami citoplaz-
me, saj v mutantnih celicah ni bilo encimov
za njihovo razgradnjo.

Takoj se je zastavilo vprašanje, kateri geni
oziroma njihovi proteinski produkti nadzi-
rajo začetek procesa avtofagije. Omenjeno
kvasno mutanto brez ključnih encimov za
vakuolno razgradnjo proteinov (v tem pri-
meru izvorni sev) je izpostavil mutagenim
kemikalijam in s tem pridobil veliko mno-
žico naključnih sekundarnih mutant ome-
njenega izvornega seva. S sistematičnim
pregledovanjem mutant je končno odkril
prvo, ki v vakuoli ni kopičila celičnih sest-
avin za razgradnjo, in seveda tudi odkril njen
poškodovani gen, katerega mutacija je one-
mogočila prinos celičnih sestavin oziroma
avtofagosomov v vakuolo. Gen je poimeno-
val »z avtofagijo povezani gen 1« (angl. Au-
toPhaGy related 1, APG1). Z nadaljnjim
pregledovanjem zbirke kvasnih mutant je
odkril še 15 drugih genov, ki so potrebni za
aktivacijo avtofagije, in vse poimenoval kot

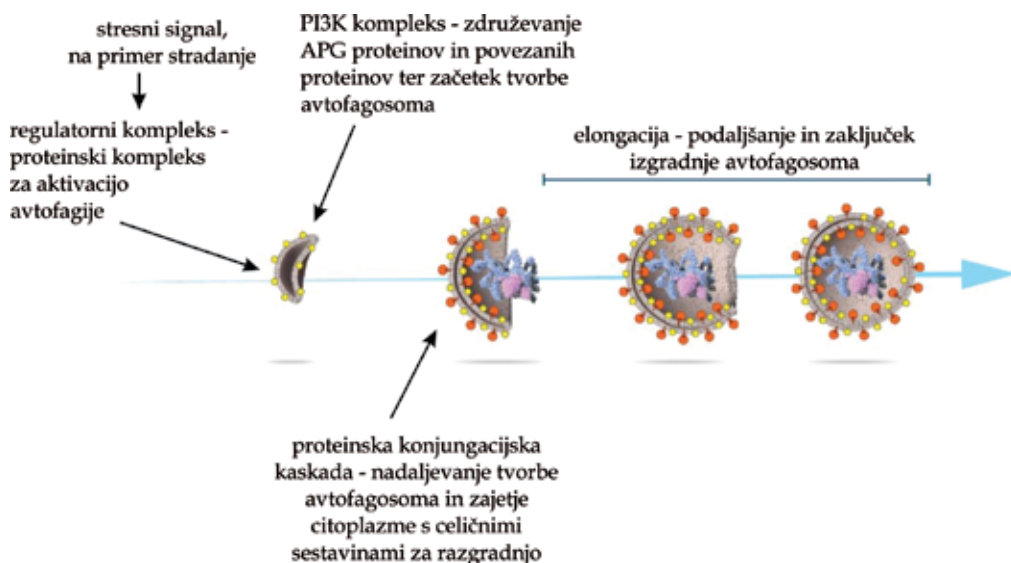
APG1-15. Proteinske produkte odkritih ge-
nov je označil z barvili, da so bili vidni pod
mikroskopom, in tako lahko določil, kje se
nahajajo med potekom avtofagije. Obenem
je z nizom elegantnih poskusov odkril tu-
di proteine, ki se z omenjenimi 15 proteini
povezujejo v proteinske komplekse, ki urav-
navajo posamezne stopnje nastajanja avtofa-
gosoma.

Različni obrazi avtofagije

Ohsumi in sodelavci so v nadaljevanju raz-
iskave odkrili tudi kvasnim APG ustrezne
gene, ki imajo vlogo pri uravnavanju av-
tofagije pri višjih evkariontih. Zato se je
uveljavil sistem skupnega imenovanja genov
avtofagije, namesto kratice APG, ki je v
začetku veljala za gene kvasovke, sedaj ve-
lja kratica ATG (angl. AuTophagy related
genes). Področje avtofagije je postalo eno od
najbolj preučevanih v biomedicinskih razi-
skavah, tako da smo v prvih letih drugega
tisočletja lahko zabeležili hiter porast objav
v uglednih znanstvenih revijah.

Ohsumi je preučil vloge proteinov iz ključnih genov avtofagije. Orisal je, kako stresni signali sprožijo proces avtofagije, in opisal mehanizem, s katerim proteini in proteinski kompleksi sprožijo posamezne stopnje tvorbe avtofagosoma.

Vir: Nobelprize.org.



Danes razlikujemo več podtipov avtofagije, odvisno od namena razgradnje. Najbolj preučevana je tako imenovana **makroavtofagija**, ki vključuje razgradnjo večjih delov citoplazme in celičnih organelov. V celicah stalno poteka **neselektivna avtofagija**, ki se navadno sproži kot odgovor na stres (na primer stradanje) in s tem povezano potrebo po racionalizaciji v spremenjenih fizioloških razmerah – potrebo po razgradnji odvečnih celičnih vsebin in zagotovitvi najbolj potrebnega hraniva. Po drugi strani pa poznamo tudi **selektivno avtofagijo** konkretnih (poškodovanih, nefunkcionalnih ali škodljivih) substratov (določenih proteinskih agregatov, citoplazemskih organelov, patogenih virusov in bakterij), v kateri sodelujejo specifične molekule, ki prepoznavajo omenjene razgradne tarče in jih pripnejo na proteinski kompleks v membrani avtofagosoma. Razlikujemo še **mikroavtofagijo**, ki vključuje neposredno »požiranje« citoplazemskega materiala, in sicer tako, da se okoli njega ovije kar membrana samega lizosoma. Pri **s šaperoni posredovani avtofagiji** pa se proteini s posebnimi razpoznavnimi deli vežejo na združbo šaperonov in tako neposredno prenesejo v lizosome. Šaperoni so sicer proteini, ki pri sintezi proteinov uravnavajo njihovo oblikovanje v pravilno tridimenzionalno zgradbo oziroma preprečujejo njihovo agregiranje v nefunkcionalne oblike. V stresnih razmerah imajo številni proteini težnjo, da denaturirajo in agregirajo v oblike, ki jih celica ne potrebuje ali so zanjo celo škodljive.

Zahvaljujoč delu Ohsumija in raziskovalcev, ki so mu sledili, danes vemo, da avtofagija nadzoruje pomembne fiziološke procese, pri katerih morajo biti celične sestavine razgrajene in razgradni produkti ponovno uporabljeni (reciklirani). Celica s tem hitro pridobi »gorivo« za svoje energijske potrebe in osnovne gradnike za obnovo svojih sestavnih delov, kar je posebno pomembno pri odzivu na stres, na primer na pomanjkanje hraniv (stradanje).

Avtofagija je pomemben del našega zdravja

Avtofagijo so, kot rečeno, v začetku prepoznali kot hiter celični odgovor na različne vrste stresa, danes pa vemo, da stalno poteka tudi v normalnem delovanju organizma in sodeluje pri vzdrževanju celičnega ravnotežja kot edinstven proces z zmožnostjo odstranjevanja dolgoživih proteinov in tudi v določenih fizioloških razmerah količinsko manj potrebnih organelov, kot so mitohondriji (organeli celičnega dihanja), peroksisomi (organeli, pomembni za oksidativno razgradnjo številnih vrst biomolekul in tudi razstrupljanje škodljivih snovi) in endoplazemski retikulum (mesto ribosomske sinteze proteinov ter proizvodnje in metabolizma lipidov). Avtofagija je ob tem del pomembnih fizioloških procesov, ki potrebujejo velike dele razpoložljive citoplazme, kar je značilno pri diferenciaciji celic in razvoju zarodka ter pri zmanjševanju posledic poškodb celic. Celice avtofagijo uporabljajo tudi za odstranjevanje poškodovanih oziroma izrabljenih proteinov in organelov, kar je med drugim zelo pomembno za zmanjševanje negativnih posledic staranja. S staranjem je povezano nastajanje netopnih agregatov nepravilno oblikovanih proteinov, ki so toksični za celice. Če pride do mutacij v genih avtofagije, je proces okrnjen ali ne poteka pravilno, zato lahko pride do nastanka boleznih metabolizma, kot je na primer diabetes tipa 2, ali nevrodegenerativnih boleznih, kot je na primer Parkinsonova bolezen. Nedelujoča avtofagija je značilna za številne genetske bolezni, katerih posledice so nepravilni razvoj možganov in intelektualna nezmožnost, zaostanek v razvoju, epilepsija in gibalne motnje. Moteno avtofagijo so povezali celo z rakom, ko so ugotovili povezanost raka dojke in jajčnikov z mutacijami v človeškem genu *BECN1*, ki je homolog kvasnega gena *ATG6*, udeležene pri uravnavanju začetnih stopenj avtofagije.

Avtofagija je torej notranji telesni program za recikliranje – zajame izrabljene in ško-

dljive sestavine celic, jih razgradi in daje njihove uporabne dele na razpolago za pridobivanje energije ali obnovo ali gradnjo novih celic. Proces je ključnega pomena za preprečevanje raka, obrambo pred okužbami in ohranjanje zdrave presnove za zaščito pred boleznimi, kot je na primer sladkorna bolezen. Zato ne preseneča, da trenutno po-

tekajo intenzivne raziskave, katerih cilj je razvoj zdravil, ki bi neposredno vplivala na potek avtofagije.

Vir:

Nobelprize.org: *The Official Web Site of the Nobel Prize* [https://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2016/press.html].

AIDS nekoč in danes – o bolezni, njenem razumevanju, zdravljenju in preprečevanju • Medicina

AIDS nekoč in danes – o bolezni, njenem razumevanju, zdravljenju in preprečevanju

Anja Voljavec

V osemdesetih letih prejšnjega stoletja je svet pretresla »nova« bolezen, katere odkritje je sprva osupnilo predvsem znanstvenike: njene zakonitosti so zahtevale nove modele tako v patologiji kot v epidemiologiji. Nova »kuga« se je širila neizprosno: tisti, ki jih je doletela, so umrli kljub najboljšemu zdravljenju. Bila je tuja ne le v svojem načinu delovanja, temveč je tudi prihajala od tujcev, množično hysterijo pa je sprožilo razkritje, da njeno širjenje vključuje spolnost, kri in droge. Zdelo se je, da je vdrla v urejeni svet iz čisto drugega, manj razvitega sveta, naseljenega z moralno oporečnimi ljudmi.

Izvor AIDS-a je begal znanstvenike vse od prvih omemb bolezni v zgodnjih osemdesetih letih. Spremljale so jih domiselne hipoteze, od iskanja krivca v promiskuitetnem homoseksualnem stevaru (tako imenovani »bolnik številka nič«) do programa cepljenja dvomljivega izvora. Četudi se zgodovina AIDS-a prične leta 1981, ko so Združene države Amerike prve uradno prepoznale novo bolezen, danes prevladuje mnenje, da izvori ležijo v Afriki, z najzgodnejšima dokumentiranimi primeroma okužbe v letih 1959 in 1960 v tedanjem Belgijskem Kongu. Na

človeka naj bi se razširila s šimpanzov med letoma 1884 in 1924 z lovom in uživanjem mesa. Znanstveniki so dolgo verjeli, da so primati gostili prednike virusa HIV največ milijon let; novejša raziskava pa so pokazale, da so bili predniki primatov z lentivirusi (rod virusov, kamor sodi tudi HIV) morda okuženi že pred 85 milijoni let.

AIDS ali sindrom pridobljene imunske pomanjkljivosti (angl. acquired immune deficiency syndrome) je posledica okužbe z virusom HIV (humani imunodeficientni virus). Virus napade imunski sistem, ga postopoma uničuje in sčasoma vodi v AIDS, ki se konča s smrtjo. AIDS je končno obdobje okužbe s HIV, za katero so značilne določene priložnostne okužbe, rakave bolezni in bolezni, ki jih virus povzroča neposredno.

Epidemija

Leta 1978 so bili prvič v zgodovini na voljo konceptualni in tehnični pristopi, ki so omogočili določitev in izolacijo humanega retrovirusa. Hkrati je bil to tudi čas, v katerem se je AIDS začel širiti. V začetku osemdesetih let so se v Kaliforniji in New Yorku začela pojavljati poročila o manjšem številu moških, diagnosticiranih z redkimi