

CHEMIZM TOKSYCZNOŚCI GLINU I JEGO ROLA W ROZWOJU CHOROBY ALZHEIMERA

Ewelina Kijak (Kraków)

Glin (Al) to trzeci, po tlenie i krzemie, pierwiastek budujący skorupę ziemską. Stanowi 7,9% jej masy i wchodzi w skład prawie wszystkich typów skał, głównie magmowych i metamorficznych, gdzie występuje w postaci glinokrzemianów a także boksytu i laterytowych glin zwietrzelinowych. Chociaż jest obecny w tak ogromnej ilości jest trudno dostępny dla organizmów żywych. Ze względu na swoją wysoką reaktywność nie występuje w naturze w stanie wolnym, lecz tworzy bardzo stabilny związek – tlenek glinu (Al_2O_3). Jego rozpuszczalność w glebie jest niska, ale postępujące zanieczyszczenie środowiska, zwiększona emisja gazów powodujących powstawanie kwaśnych deszczy, prowadzą do wymywania jonów glinu z gleby i przedostawania się ich do wód powierzchniowych, ekosystemów wodnych, organizmów roślinnych i kolejnych ogniw łańcucha troficznego.

Glin to srebrny, lekki i miękki metal, który jest wyjątkowo odporny na korozję. Jest pierwiastkiem trójwartościowym i zazwyczaj tworzy trójwartościowe, jonowe związki. To pierwiastek amfoteryczny – w pH około 6 jest praktycznie nierozpuszczalny. Jego rozpuszczalność rośnie wraz z wzrostem lub obniżeniem pH. Aluminium znajduje zastosowanie w niemalże wszystkich gałęziach przemysłu. Najczęściej bywa używany w przemyśle maszynowym, przy produkcji konstrukcji samolotowych, przewodników elektrycznych czy naczyń kuchennych, opakowań i puszek. Jest wykorzystywany w procesach oczyszczania ścieków, gdzie ma za zadanie zmniejszyć ilość mikroorganizmów oraz materii organicznej. Tą drogą przedostaje się do wody pitnej. Pierwiastek ten wchodzi w skład leków zobojętniających kwas solny w żołądku, leków przeciwbólowych, przeciwwymiotnych, szczepionek a także kosmetyków, takich jak matujące kremy, toniki czy fluidy bądź antyperspiranty. Znaleźć go również można w wyrobach spożywczych, w których pełni rolę barwnika, emulgatora, wybielacza lub środka przeciwbzylającego. W produktach pochodzenia roślinnego glin pochodzi z podłoża, na którym żyły rośliny i jest go wyjątkowo dużo w czarnym pieprzu, majeranku czy czarnej herbacie, gdzie występuje w rekordowej ilości 30 000 mg Al/kg suchej masy liści.

Glin jest pierwiastkiem określanym mianem ksenobiotyku – tj. takiego, który naturalnie nie wchodzi w skład organizmów żywych ani nie pełni w nich żadnej

biologicznej funkcji. Za to dość dobrze udokumentowano toksyczne działanie glinu na zwierzęta i na organizm ludzki. Wdychanie pyłów i dymów glinu może powodować wystąpienie zmian w płucach o charakterze pylicy, zwłóknienia tkanki płucnej, astmy, przewlekłego zapalenia płuc i oskrzeli. Nadmiar glinu w organizmie człowieka może prowadzić do wystąpienia niedokrwistości mikrocytarnej oraz chorób układu kostnego, jak np. osteomalacji, czyli tzw. rozmięknienia kości. Aluminium to znana substancja neurotoksyczna, mająca wpływ na rozwój m.in. encefalopatii dializacyjnej, demencji typu Alzheimerowskiego, stwardnienia zanikowego bocznego zachodniego Pacyfiku.

Aluminium może też przenikać do organizmu przez skórę a także być wstrzykiwany domięśniowo lub podskórną wraz ze szczepionkami. Poza tym glin przenika przez łożysko, co stanowi zagrożenie dla płodu; jest również obecny w mleku ssaków. Najwięcej Al^{3+} trafia do organizmu drogą pokarmową. Według Światowej Organizacji Zdrowia zjadamy około 5 mg glinu dziennie. Obecne w pokarmie związki glinu dysocjują w kwaśnym środowisku żołądka na wolne ligandy i trójwartościowe kationy Al^{3+} , które następnie ulegają hydratacji. Większość glinu pochłoniętego tą drogą trafia niezwiązana do dwunastnicy, gdzie we wzrastającym pH ulega deprotonacji i z wodzianu przekształcana jest w nierozpuszczalny wodorotlenek, który zostaje usunięty z kałem. Mniej niż 1% spożytego aluminium dostaje się do krwi. Prawdopodobnie w proces ten zaangażowany jest bierny mechanizm – dyfuzja przez komórki i macierz międzykomórkową. Absorpcję glinu z jelita zwiększa obecność kwasów karboksylowych, takich jak cytrynian i mleczan, które mogą wiązać jony tego pierwiastka. Trójwartościowe jony Al^{3+} mogą również wiązać fosforany, prowadząc w ten sposób do zmniejszenia ich ilości we krwi a w konsekwencji do zaburzeń szkieletu. U zdrowych ludzi nerki mogą wydalać cały glin wchłonięty drogą pokarmową. Natomiast w przypadku niewydolności nerek może dojść do kumulacji glinu w narządach.

Glin, który dostanie się do krwi, jest obecny w formie kompleksów z różnymi cząstkami organicznymi. Większość, 80–94% glinu, jest związana z transferyną – białkiem odpowiedzialnym za transport żelaza, a 7–8% tego pierwiastka obecnego w osoczu wiąże się z cytrynianem, który w normalnych warunkach

przyłącza jony wapnia. Al^{3+} z łatwością zastępuje wapń (bądź magnez) w takich kompleksach. Istnieją doniesienia, że pewna ilość glinu łączy się z erytrocytami, lecz nie wiadomo, czy jest on wchłonięty przez te komórki, czy tylko powiązany z występującą w błonie komórkowej erytrocytów transferyną.

Średnia zawartość glinu w organizmie zdrowego człowieka, z prawidłową funkcją nerek, wynosi około 30 – 330 mg. Natomiast fizjologiczne stężenie Al^{3+} w osoczu wynosi 1–10 $\mu g/l$. Najwyższe stężenia glinu u ludzi narażonych zawodowo stwierdzono w płucach i w kościach. Wysokie stężenia pierwiastka w płucach, które rosną wraz z wiekiem, wynikają z kumulacji nierozpuszczalnych związków glinu. Aluminium pobrane z pokarmem gromadzi się w pierwszej kolejności w tkance kostnej, śledzionie i wątrobie. Może się również deponować w nerkach, sercu i mózgu. Niezaabsorbowany glin pobrany z pokarmem usuwany jest z kałem, a ta część, która uległa wchłonięciu do krwioobiegu, niezależnie od drogi wchłaniania, ulega wydalaniu z moczem i w niewielkich ilościach wraz z żółcią.

Glin, podobnie jak żelazo, pobierany jest z krwi przez komórki organizmu w połączeniu z transferyną na drodze endocytozy (wchłaniania do komórki) za pośrednictwem receptorów. Uważa się, że pierwiastek ten łączy się z transferyną w miejscu wiązania jonów żelaza. Transferyna z przyłączonym jonom metalu pobierana jest przez komórki, które posiadają specyficzne dla tego białka receptory. Znajdują się one na powierzchni prawie każdej komórki, z wyjątkiem dojrziałych erytrocytów. Al^{3+} przyłączony do transferyny wiąże się do receptora i cały kompleks wnika do cytoplazmy w pęcherzyku utworzonym z błony komórkowej zwanym endosomem. Panujące w nim niskie pH powoduje dysocjację metalu od reszty kompleksu, który wraca z powrotem do błony komórkowej. W ten sposób glin przekracza także trudną do przebycia, bardzo selektywną dla większości związków, barierę krew – mózg. W mózgu działa neurotoksycznie, przyczyniając się do rozwoju choroby Alzheimera.

Szacuje się, że choroba Alzheimera (AD) dotyka obecnie około 25 milionów osób na całym świecie. Jest przewlekłą chorobą neurodegeneracyjną objawiającą się zaburzeniami pamięci oraz postępującą utratą funkcji poznawczych człowieka – mowy (afazja), zdolności do wykonywania celowych ruchów (apraksja), zdolności do rozpoznawania i używania znanych przedmiotów (agnozja), a także umiejętności planowania, organizowania i kontroli złożonych zachowań. Choroba ta to zespół neurologicznych i klinicznych nieprawidłowości obejmujący zanik kory mózgowej w wyniku tworzenia się tzw. płytek starczych w przestrzeniach międzykomórkowych

i splątków neurofibrilarnych wewnątrz komórek nerwowych (neuronów). Obserwuje się również utratę połączeń synaptycznych pomiędzy neuronami, stres oksydacyjny oraz nasiloną śmierć neuronów.

Pierwszym krokiem do rozwoju AD jest pojawienie się pomiędzy komórkami nerwowymi złożeń białka amyloidu β , czyli rozwój płytek starczych. Amyloid β powstaje z białka prekursorowego amyloidu β ($A\beta PP$) w wyniku jego rozszczepienia przez dwa transbłonowe enzymy, proteazy – β i γ sekretazę. Mutacje w genie kodującym białko $A\beta PP$ oraz presenilinę (gen kodujący katalityczną podjednostkę wchodzącą w skład γ -sekreazy) mogą powodować rozwój choroby. Kolejnym krokiem w przebiegu choroby Alzheimera jest pojawienie się splątków neurofibrilarnych wewnątrz komórek nerwowych, powstających w wyniku hiperfosforylacji białka tau, którego rolą jest stabilizacja jednego z elementów budujących wewnętrzny szkielet komórki – mikrotubul. Kiedy komórki umierają, splątki tworzą się w przestrzeni międzykomórkowej. Badania na zwierzętach dostarczają dowodów, że pojawienie się złożeń amyloidu β w mózgu królika inicjuje hiperfosforylację białka tau. Charakterystyczna jest też masowa, apoptotyczna śmierć komórek nerwowych – zarówno samych neuronów, jak i towarzyszących im komórek glejowych w mózgach osób dotkniętych AD.

Hipoteza, że glin może powodować rozwój choroby Alzheimera została sformułowana przez Igora Klatzo w 1965 roku. Stwierdził on, iż wstrzyknięcie soli glinu do mózgów królików prowadzi do rozwoju splątków neurofibrilarnych. Podobne wyniki uzyskali Crapper i wsp. na kotach (1973). Dowiedli oni także, że w mózgach ludzi cierpiących na chorobę Alzheimera stężenie glinu jest znacząco wyższe niż u ludzi zdrowych. W mózgach osób dotkniętych AD wykryto małe, nierozpuszczalne granulki zbudowane z krzemianu glinu, które były otoczone przez płytki zbudowane z białka – amyloidu. Pozwoliło to wysnuć wnioski, jakoby glinowe granulki miały powodować tworzenie się płytek starczych. Wiadomo jest również, że Al^{3+} wiąże się bezpośrednio do hiperfosforylowanego białka tau i deponuje w tworzących się splątkach neurofibrilarnych. Wpływa również na poziom neuroprzekaźników w mózgu – obniża poziom serotoniny i noradrenaliny w niektórych rejonach mózgu, np. w hipokampie, oraz powoduje obniżenie tam aktywności enzymu koniecznego do metabolizmu acetylocholin – acetylotransferazy cholinowej.

Jak do tej pory nie wykryto żadnej funkcji, jaką miałby pełnić glin w organizmie ludzkim. Wiadomo, że pierwiastek ten ma negatywny wpływ na procesy i białka, w których konieczna jest obecność innych

metali, takich jak magnez lub wapń. Przykładowo – Al^{3+} jest inhibitorem heksokinazy, zależnego od magnezu enzymu niezbędnego w procesie oddychania wewnątrzkomórkowego; zamiast jonów wapnia wiąże się z kalmoduliną i w ten sposób hamuje aktywność enzymów od niej zależnych jak cykliczna adenylationowa, która katalizuje produkcję cAMP – ważnej cząsteczki sygnałowej. Glin przyłącza się także do ATP i hamuje aktywność enzymów, dla których ten związek jest substratem, np. niezbędnej komórkom pompy sodowo-potasowej.

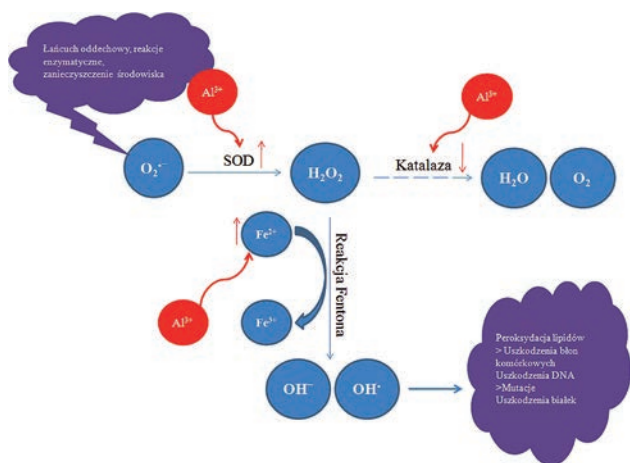
Glin jest pierwiastkiem zdolnym do indukowania tzw. stresu tlenowego, czyli zaburza równowagę pomiędzy ilością reaktywnych form tlenu – wolnych rodników czy nadtlenków, których jest bardzo dużo a ilością lub aktywnością przeciwutleniaczy mających te reaktywne formy tlenu usuwać. Wolne rodniki to związki lub atomy, które posiadają jeden niesparowany elektron. Dążą do pozbycia się go, bądź do przyłączenia kolejnego elektronu i dlatego utleniają napotkane na swej drodze białka, lipidy czy kwasy nukleinowe skutecznie je niszcząc. Glin, który nie ma zdolności do utleniania się i redukcji jest uznawany za metal powodujący wiele uszkodzeń poprzez zwiększanie wewnątrzkomórkowego stężenia aktywnej formy żelaza. W obecności redoks-aktywnego żelaza dochodzi do powstawania bardzo reaktywnych rodników hydroksylowych. Ponadto glin aktywuje dysmutazę ponadtlenkową (SOD) i hamuje katalazę – enzymy zaangażowane w utrzymanie równowagi redoks w komórkach. W takiej sytuacji powstające w komórce anionorodniki ponadtlenkowe są szybko przekształcane przez SOD do nadtlenku wodoru, którego

rozpad na wodę i tlen (katalizowany przez katalazę) jest spowolniony, prowadząc do powstania szkodliwych dla neuronów rodników hydroksylowych. Powodują one uszkodzenia DNA, peroksydację lipidów błon komórkowych, uszkodzenia aminokwasów i białek (ryc. 1).

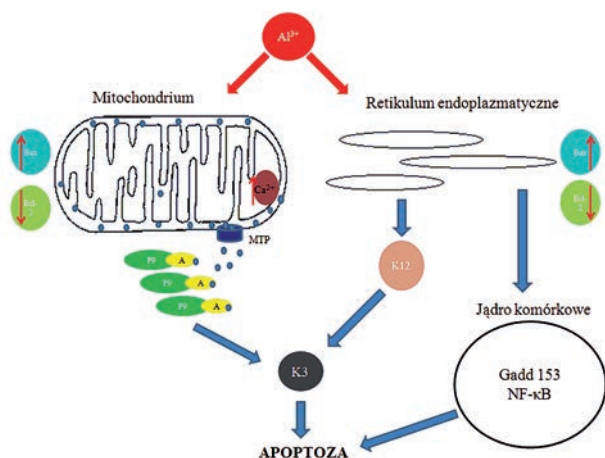
Uważa się, że głównym mechanizmem toksyczności glinu w komórkach jest uruchamianie szlaku apoptozy – jednego z typów programowanej śmierci komórki. Apoptoza to proces niezbędny do prawidłowego funkcjonowania organizmu, głównie w czasie rozwoju embrionalnego i płodowego, ale także w dojrzałym organizmie np. w jelicie lub w skórze. Glin indukuje w mózgu apoptozę wraz z wszelkimi jej symptomami – kurczeniem się komórki, kondensacją i fragmentacją chromatyny (DNA i białka chromosomów). Wywołuje apoptozę w astrocytach – jednym z typów komórek glejowych niezbędnych do funkcjonowania neuronów, prowadząc do śmierci samych neuronów. Akumuluje się także w komórkach nerwowych, powodując zmiany właściwości ich błony komórkowej. Wywołuje jej depolaryzację, czyli zanik gradientu ładunków elektrycznych i jonów występującego w poprzek błony komórkowej neuronu. Pod wpływem glinu zostaje zahamowana wymiana jonów wapnia i sodu w poprzek błon mitochondriów, co prowadzi do nadmiernego gromadzenia się jonów Ca^{2+} wewnątrz tych organelli. Wzrost stężenia Ca^{2+} w ich wnętrzu prowadzi do otwarcia specjalnego kanału w błonie mitochondriów – MTP (ang. *mitochondrial transition pore*). Przez ten kanał wypływa do cytoplazmy komórki mała cząsteczka – cytochrom c, który łączy się z cytoplazmatycznym czynnikiem Apaf-1 i uruchamia kaskadę kaspaz prowadząc do śmierci komórki (ryc. 2). Glin powoduje także zwiększenie ilości proapoptotycznych białek Bax i p53 oraz spadek hamującego apoptozę Bcl-2.

Glin wpływa nie tylko na mitochondria. Powoduje również znaczące zmiany w retikulum endoplazmatycznym (ER), które jest istotnym magazynem jonów wapnia w komórce, a także miejscem występowania cząsteczek regulujących programowaną śmierć komórki: Bcl-XL, Bax i Bcl-2. Glin wywołuje redystrybucję tych białek w komórce oraz aktywację kaspazy 12, która inicjuje apoptozę w sposób niezależny od mitochondriów. Jony Al^{3+} aktywują także czynniki transkrypcyjne Gadd 153 i NF- κ B, które po przejściu do jądra komórkowego inicjują programowaną śmierć komórki (ryc. 2).

Glin odkładający się w organizmie występuje w różnych organellach komórkowych – mitochondriach, lizosomach, retikulum endoplazmatycznym, a także w jądrze komórkowym. Wywołując tam stres oksydacyjny i generując powstawanie wolnych rodników indukuje uszkodzenia DNA. Hamuje również



Ryc. 1. Jony glinu powodują powstanie stresu oksydacyjnego w neuronach. Zwiększają aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), która przekształca powstający w komórce rodnik ponadtlenkowy ($O_2^{\cdot -}$) w nadtlenek wodoru (H_2O_2), a hamują katalazę, przez co rozpad H_2O_2 do wody (H_2O) i tlenu (O_2) jest spowolniony. Glin zwiększa stężenie reaktywnego żelaza w mózgu. Jego obecność umożliwia zachodzenie reakcji Fentona, prowadzącej do powstania rodnika hydroksylowego ($OH^{\cdot}$), uszkadzającego białka, lipidy i kwasy nukleinowe powodując liczne mutacje oraz degradację błon komórkowych.



Ryc. 2. Glin indukuje apoptozę w komórkach nerwowych. Wpływa na mitochondria powodując zwiększenie stężenia jonów wapnia (Ca^{2+}) w ich wnętrzu. Powoduje to otwarcie porów w błonach tych organelli (MTP) i uwolnienie cytochromu c do cytoplazmy komórki (niebieskie kuleczki). Cytochrom c łączy się z białkiem adaptorowym Apaf-1 (A) oraz z pro-kaspazą 9 (P9) tworząc apoptosom. Uaktywnia tym samym kaspazę 9 oraz całą kaskadę kaspaz, które uczestniczą w procesie śmierci komórki, w tym efektorową kaspazę 3 (K3). Glin zmienia też na poziomie białek regulujących apoptozę zarówno w mitochondriach, jak i w retikulum endoplazmatycznym (ER) – zwiększa ilość proapoptotycznego Bax a zmniejsza hamującego apoptozę Bcl-2. W retikulum endoplazmatycznym powoduje aktywację kaspazy 12 (K12), uruchamiającą kaskadę kaspaz efektorowych, niezależnie od mitochondriów. Stres i uszkodzenia ER wywołane przez glin aktywują czynniki transkrypcyjne – Gadd 153 i NF- κ B, które w jądrze komórkowym inicjują programowaną śmierć komórki. Rysunek wykonano w oparciu o J. Inorg. Biochem., 97 (2003), 151–154, J. Savory i wsp.

procesy naprawy uszkodzonego DNA poprzez zmniejszanie aktywności zaangażowanych w te procesy enzymów, jak np. ligaza DNA. Glin wiąże się do chromatyny i powoduje zmiany w trójwymiarowej strukturze materiału genetycznego. Łączy się z koniecznymi w procesach ekspresji genów białkami – czynnikami transkrypcyjnymi, uniemożliwiając im przyłączenie się do DNA i uruchomienie transkrypcji. Zaobserwowano niższy poziom ekspresji genów kodujących białka obniżające ilość wolnych rodników w komórce. W mózgach myszy z bardzo wysokim stężeniem Al^{3+} wykryto także podwyższony poziom ekspresji genów charakterystycznych dla mózgu ludzi chorujących na chorobę Alzheimera – amyloidu β oraz białka prekursorowego amyloidu.

Glin będąc tak szeroko wykorzystywanym w przemyśle pierwiastkiem może być jednocześnie bardzo niebezpieczny i przyczyniać się do rozwoju wielu schorzeń. Wpływa na komórki nerwowe poprzez indukowanie stresu oksydacyjnego, zmianę aktywności wielu enzymów, właściwości błony komórkowej czy wywołując uszkodzenia materiału genetycznego komórki. W wieloraki sposób uruchamia kaskadę kaspaz powodując śmierć neuronów oraz komórek glejowych. Ze względu na powszechne występowanie, a także na powodowane przez ten pierwiastek szkody został nazwany „nową toksyną środowiska”.

■ Ewelina Kijak jest doktorantką w Zakładzie Cytologii i Histologii Instytutu Zoologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie.
E-mail: ewelina.kijak@uj.edu.pl

KASPAZY – EGZEKUTORZY ŚMIERCI KOMÓRKI

Marta Filipiak (Kraków)

Śmierć kończy procesy życiowe wszystkich organizmów, ale śmierć pojedynczych komórek w organizmach wielokomórkowych jest niezbędna w ich rozwoju i – paradoksalnie – także w ich przeżyciu. Brak zdolności usuwania komórek zbędnych, starych, uszkodzonych i potencjalnie niebezpiecznych, prowadzi do zaburzenia równowagi całego organizmu, powstawania uszkodzeń, chorób, a co za tym idzie do szybkiej śmierci. Przed takim scenariuszem, zarówno rośliny jak i zwierzęta, są chronione przez procesy programowanej śmierci komórkowej, dla których instrukcja jest zapisana w genomie każdej komórki. Procesy te ulegają uruchomieniu wówczas, kiedy jej eliminacja jest korzystna dla organizmu jako całości. Obecnie znanych jest kilka rodzajów programowanej śmierci komórkowej, z których najlepiej poznanym jest proces apoptozy, często określany śmiercią samobójczą czy nawet altruistyczną degradacją komórki. Uszkodzone komórki ulegające

apoptozie same wytwarzają wszystkie białka odpowiedzialne za sprawne i szybkie przeprowadzenie tego procesu. Rozpoczynają tym sposobem kaskadę przemian, które w efekcie końcowym powodują ciche i nieszkodliwe dla organizmu unicestwienie jego pojedynczych elementów. Wszystkie składniki komórki apoptotycznej ulegają degradacji, a pozostałości DNA (kwas deoksyrybonukleinowy budujący chromosomy) – materiału genetycznego, białek, organelli i cytoplazmy zostają upakowane w struktury nazywane „ciałkami apoptotycznymi”. Struktury te pochłaniają na zasadzie fagocytozy sąsiednie komórki, nie pozwalając na rozwinięcie się odczynu zapalnego. Apoptoza jest więc procesem ściśle kontrolowanym, wymaga skomplikowanych mechanizmów regulujących, a także efektywnie działających białek wykonawczych. Egzekutorami apoptozy są enzymy zwane kaspazami, których aktywacja stanowi najczęściej „punkt bez odwrotu” dla życia komórki.