

Huntington Hastalığında Toksikite Mekanizmaları ve NMDAR-Aracılı Eksitotoksistide Poliaminlerin Rolü

Mechanisms of Toxicity in Huntington's Disease and the Role of Polyamines in NMDAR-Mediated Excitotoxicity: Review

Dr.Bio. Mehmet Ali TÜFEKÇİ,^a
Yrd.Doç.Dr. Nagehan ERSOY TUNALI^a

^aMoleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü,
Haliç Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi,
İstanbul

Geliş Tarihi/Received: 27.07.2010
Kabul Tarihi/Accepted: 05.06.2011

Yazışma Adresi/Correspondence:
Yrd.Doç.Dr. Nagehan ERSOY TUNALI
Haliç Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi,
Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü,
İstanbul,
TÜRKİYE/TURKEY
nagehanersoy@halic.edu.tr

ÖZET Huntington hastalığı, istemsiz koreik hareketler, bilişsel kayıplar ve psikolojik bozukluklarla karakterize edilen, otozomal dominant geçişli, geç başlangıçlı ve ölümcül bir hastalıktır. Hastalığa sebep olan mutasyon, IT-15 geninin birinci eksonunda tekrar eden CAG bazlarının sayılarındaki artıştır. Mutant genin ifadesi, striyatal gamma aminobütirik asit ileten (GABA-erjik) orta boy dikensi nöronların seçimli ölümüne neden olur. Mutant huntingtin (htt) proteininin konformasyonu, protein yıkımı ve übikülin-proteozom sistemi (UPS), gen yazılımı düzenlemelerindeki değişimler ve eksitotoksiste, nörodejenerasyonun moleküler mekanizmaları arasındadır. Uyarıcı kimyasalların aşırı miktarı hücreleri sürekli uyarak hassas hücrelerin eksitotoksik ölümlerine sebep olurlar. Glutamat da bazal gangliyadan salınan uyarıcı nörotransmitterlerden biridir. Huntington hastalığında striyatal nöronların kaybedilmesi glutamat reseptörü aracılı eksitotoksistenin patogeneizde etkili olabileceğine işaret eder. İyonotrofik glutamat reseptörleri (iGluR) arasından biri olan N-metil-D-Aspartat reseptörleri (NMDAR)'nin uyarılması ve bunu takiben nükleer faktör kappa B (NF ± B) yazılım faktörünün aktivasyonu nöronal ölüm ile sonuçlanır. NMDAR, glutamat bağlanma bölgelerine ek olarak poliamin bağlanma bölgeleri de içerir. Poliaminlerin mutant htt proteininin, NMDAR ve NF ± B yazılım faktörü ile ayrı ayrı ilişki içerisinde olması, bu proteinin, Huntington hastalığında meydana gelen nörodejenerasyonda merkezi bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle, Huntington hastalığında poliamin metabolizmasının detaylı araştırılması ve anlaşılması hastalığın tedavisinde yeni yaklaşımlar üretilmesini sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: Huntington hastalığı; NR2A NMDA reseptörü; reseptörler, glutamat; poliaminler

ABSTRACT Huntington's Disease is an autosomal dominant, late onset and fatal disorder characterized by involuntary choreic movements, cognitive dysfunction and psychological disturbances. The causative mutation is the expansion of the CAG repeats in the first exon of the IT-15 gene. Mutant gene expression causes selective death of striatal gamma aminobutyric acid releasing (GABA-ergic) medium size spiny neurons. Changes in the conformation of the mutant huntingtin (htt) protein, proteolysis and ubiquitin-proteasome system (UPS), transcriptional dysregulation and excitotoxicity are among the molecular mechanisms of neurodegeneration. Excess amounts of excitatory chemicals continuously stimulate the cells and cause excitotoxic death of vulnerable cells. Glutamate is one of the excitatory neurotransmitters released from basal ganglia. The striatal neuron loss in Huntington's Disease points out that glutamate receptor mediated excitotoxicity may play a role in the pathogenesis. Excitation of N-methyl-D-Aspartate receptors (NMDARs), which belong to ionotropic glutamate receptors (iGluR), followed by activation of nuclear factor kappa B (NF ± B) transcription factor result in neuronal death. NMDARs carry polyamine binding sites apart from glutamate binding sites. Since polyamines are in contact with the mutant htt protein, NMDARs and NF ± B transcription factor, they may play a central role in neurodegeneration observed in Huntington's Disease. Thus, detailed investigation and understanding of the polyamine metabolism in Huntington's Disease will provide new approaches in the treatment of the disease.

Key Words: Huntington disease; NR2A NMDA receptor; receptors, glutamate; polyamines

doi: 10.5336/medsci.2010-20459

Copyright © 2012 by Türkiye Klinikleri

Türkiye Klinikleri J Med Sci 2012;32(1):201-13

HUNTINGTON HASTALIĞINDA KLİNİK VE PATOLOJİK BULGULAR

Huntington hastalığı, istemsiz koreik hareketler, bilişsel kayıplar ve psikolojik bozukluklarla karakterize olan, otozomal dominant geçişli, geç başlangıçlı ve ölümcül bir hastalıktır.¹⁻⁴ Hastalık çoğunlukla 30-50 yaşları arasında ortaya çıkar; ancak 20 yaş ve öncesinde görülen juvenil formuna vakaların yaklaşık %10'unda rastlanır.⁵ Hastalığın görülme sıklığı Avrupa popülasyonlarında 1/10,000 olup, dünya üzerindeki tüm etnik gruplarda tanımlanmıştır. Günümüzde etkili bir tedavi henüz bulunmamaktadır ve hastalık ilk belirtilerin ortaya çıkışından 10-20 yıl sonra bireyin ölümüne neden olmaktadır.⁶ Huntington hastalığı çeşitli beyin bölgelerini farklı şekillerde etkilemektedir; ancak en belirgin nöropatolojik belirti lateral ventriküllerin genişlemesidir. Mutant genin ifadesi, kaudat-putamen çekirdeğindeki (striyatım) gamma aminobütirik asit ileten (GABA-erjik) orta boy dikensi nöronların seçimli yıkımına neden olur.⁷

Tespit edilebilen nöroanatomik hasar hastalığın son evrelerinde gözlenir; bu nedenle de hastalığın tüm belirtilerinin tek sorumlusunun nöroanatomik hasar olmadığı düşünülmektedir.^{8,9} Glutamat, iyonotrofik glutamat reseptörleri (iGluR)'ni ve metabotropik glutamat reseptörleri (mGluR)'ni aktive eder. iGluR, N-metil-D-Aspartat reseptörleri (NMDAR) ve NMDAR olmayan reseptörler olarak ikiye ayrılır. iGluR, iyon kanallarını kontrol eder ve merkezi sinir sistemi (MSS)'nde eksitotoksik nörotransmisyonun büyük bölümünden sorumludur.¹⁰ mGluR ise hücre içi enzimlerin G-proteini aracılı yol ile kontrolünü sağlar.

HUNTINGTON HASTALIĞININ GENETİĞİ

Hastalığın tanımlanmasından yaklaşık yüz yıl sonra, 1983 yılında, HH geninin 4. kromozomda olduğu tespit edilmiş ve 1993 yılında mutasyonun 4p16,3 lokusunda olduğu belirlenmiştir. Mutasyonun, IT-15 olarak isimlendirilen 67 eksonluk genin 1. eksonunda bulunan ve glutamin kodlayan sitozin-adenin-guanin (CAG) baz tekrarlarının sayılarındaki artış olduğu ortaya konulmuştur.¹¹ IT-15 genindeki tekrar sayıları, ilişkilendirildikleri fenotiplere göre dört gruba (Tablo 1) ayrılmıştır.^{12,13}

Hastalığın başlangıç yaşı CAG tekrar sayısı ile ters orantı göstermektedir. Ancak çalışmalar aynı tekrar sayısına sahip bireylerde hastalığın ortaya çıkma yaşlarının farklı olabildiğini ortaya koymaktadır. Bu nedenle, CAG tekrar sayısı hastalığın başlangıç göstergesi olarak kullanılamaz. Genellikle 40-50 CAG tekrarı olan bireylerde ilk hastalık belirtileri 30-50 yaşlarında görülmeye başlanırken, tekrar sayısının 55 ve üzerinde olduğu durumlarda juvenil başlangıçlar görülmektedir.¹³

HTT PROTEİNİ

IT-15 geninden kodlanan htt proteini, tüm hücre ve dokularda yaygın olarak ifade edilen 350 kDa büyüklüğünde bir protein olup, bilinen herhangi bir proteinle fonksiyonel homoloji göstermez.¹⁴ Proteinin ilk 17 amino asidi insan, fare, sıçan ve kirpi balığı htt proteinleri ile %100 homoloji göstermektedir. 17. amino asitten sonra CAG tekrarları ile kodlanan polimorfik poliglutamin (poliQ) dizisi bulunur. Bu dizileri poliprolin (poliP) tekrarları ve HEAT motifi izler. Htt ayrıca yazılım faktörlerinde sıklıkla bulunan ve dimerizasyonu kontrol eden lösinden zengin fermuar motifi; öncümRNA kesimi, protein işlenmesi ve reseptörsüz sin-

TABLO 1: IT-15 genindeki tekrar sayıları ve ilişkilendirildikleri fenotipler

CAG tekrar sayısı	Alel özelliği	Fenotip özelliği
<26	Normal alel	Sağlıklı bireyler
27-35	Mayotik instabilite	Sağlıklı, ancak bir sonraki nesile hastalığı aktarabilen bireyler
36-39	Azalmış etkinlik ya da orta aralık	Bireylerin bir kısmı hastalık belirtileri gösterebilir
>40	Huntington Hastalığı	Huntington Hastalığı

yal iletiminden sorumlu proteinlerde bulunan WW domenleri ve farazi çekirdek yerleşim dizisi görevi gören bir bazık peptit bölgesi de içermektedir.¹⁵

HTT PROTEİNİNİN İŞLEVLERİ

Huntington hastalığında görülen nöropatoloji dokuya özgüdür. Atrofi öncelikli olarak striyatüm ve daha az olarak korteksin derin tabakalarına doğru yayılır. Patolojinin striyatüm içinde de sınırlı olduğu belirlenmiştir. Geniş inter-nöronlarda ve dikensi olmayan nöronlarda herhangi bir değişiklik meydana gelmezken, orta boylu dikensi nöronlarda dejenerasyon gözlenir. Bu tip dokuya özgü bir patolojinin muhtemel açıklaması, htt'nin öncelikli olarak nörojenez duyarlı nöronlarda ifade edilmesi olabilir; ancak yapılan araştırmalar bu hipotezin doğruluğunu kanıtlayamamıştır.¹⁶⁻¹⁸ Htt proteini yaygın bir şekilde nöronal ve nöronal olmayan dokularda ifade edilmektedir ve bu proteinin en yaygın olduğu organ beyindir.¹⁹⁻²³ Ancak, mutant proteinin ifade seviyesi ile hastalığın patolojik bulguları örtüşmez. En yüksek protein seviyesi korteksin II, III ve IV. tabakalarının nöronlarında, hipokampusün granül hücrelerinde ve serebellumun Purkinje hücre tabakasında bulunmaktadır. Kaudat, putamen, globus pallidus ve talamusta orta seviyede protein ifadesi gerçekleşirken, gliyada çok az protein gözlenmektedir. Beyin gelişimi sırasında htt ifadesi sıkı bir şekilde düzenlenir. Embriyonik ve post-natal evreler boyunca htt ifadesi görülmektedir. Farelerde post-natal nöronal farklılaşmanın gerçekleştiği dönemde protein seviyesinde önemli bir artış olmaktadır.²⁴ Htt'nin ifadesi nörojenez derecelenmesini takip ederek ilk önce bazal önbeyinde ve beyin sapında, daha sonra korteks ve striyatümda ortaya çıkmaktadır. Protein başlangıçta hücrenin sitoplazmasına sınırlanmışken, hücrenin olgunlaşması ile birlikte sinir uçlarındaki ifadesi de artmaktadır. Metzler ve ark., embriyonik kök hücrelerinin *in vitro* nöronlara farklılaşmasının her aşamasında htt ifadesinin yüksek seviyede olduğunu tespit etmişlerdir.²⁵ Tüm bu bulgular htt'nin beyin gelişimi sırasında, muhtemelen hedef bağlantıların oluşumu esnasında ve sonrasında post-mitotik hücrelerin göçünde önemli rol oynadığını düşündürmektedir.

Hücre içi lokalizasyon çalışmaları htt'nin ağırlıklı olarak sitoplazmada bulunduğunu, bununla birlikte çekirdekte de bulunabileceğini göstermiştir.²⁶⁻²⁹ Fraksiyonasyon çalışmalarında htt'nin bazı kesecik zar proteinleri ile birlikte bulunduğu ve mutant ifadesinin normal nöronal kesecikli taşımayı etkilediği ortaya koyulmuştur.^{26,30} Diğer bazı araştırmalar ise htt'nin transferin reseptörü ile ilgili olduğunu ve onun düzenlenmesinde demir-cavabı proteini olabileceğini ileri sürmektedir.²⁹

Htt'nin kesecikli transport proteinleriyle ilgisi, zar trafiğinde rol oynadığını düşündürmüştür. Bu durumu destekler şekilde htt'nin retrograd taşınması ve protein yıkımında görevli çoklu kesecikli yapılarla, trans-golgi ağı, sitoplazma ve plazma zarının klatrin kaplı kesecikler ile birlikte yerleşimleri gösterilmiştir.³¹ Ayrıca proteinin mikrotübüllerle ve iskelet proteinleriyle ilgili olduğu, endositoz ve salgı yollarında, protein trafiğinde ve gen yazılımının düzenlenmesinde fonksiyonu olabileceği de öne sürülmektedir.^{32,33} Htt'nin dinaktin kompleksinin bir üyesi olduğu ve bu etkileşimin beyin-türevli nörotrofik faktörün kortiko-striyatal anterograd taşınması için gerekli olduğu tespit edilmiştir.³⁰ Ayrıca, normal htt'nin nöronlarda anti-apoptotik özelliklere sahip olabileceği de ileri sürülmektedir. Bu görüş, htt proteininden yoksun farelerde apoptotik hücrelerin anormal düzeylerde bulunması ile örtüşmektedir.³⁴ Tüm bu bilgiler ışığında, htt proteininin hücrede kompleks görevlere sahip olduğu, ancak özgün görevlerinin henüz kesinlik kazanmadığı söylenebilir.

HUNTINGTON HASTALIĞINDA TOKSİSİTE MEKANİZMALARI

PoliQ dizisi içeren proteinlerin tüm hücre ve dokularda yaygın olarak sentezlendiği, fakat sadece MSS' de seçici nörodejenerasyona sebep oldukları bilinmektedir. Nörodejenerasyonun moleküler mekanizması henüz tam olarak açıklanamadıysa da, mutant poliQ proteinlerinin özellikleri, hastalığın patogenezi mekanizması hakkında ipuçları verebilir.¹³

I. TOKSİK FONKSİYON KAZANIMI

Gendeki uzun CAG tekrarlarının proteine toksik fonksiyon kazandırdığı görüşü hakimdir.^{7,35} Homo-

zigot ve heterozigot bireyler arasında hastalığın başlangıç yaşı ve semptomların şiddeti açısından herhangi bir farklılık görülmemesi bu görüşü destekler niteliktedir. Huntington hastalığı geninin bir kopyasına sahip olmayan veya dengelenmiş translokasyon ile bu genin hasar gördüğü bireylerde hastalık fenotipinin görülmeşi, hastalığın patolojisinin fonksiyon kaybı nedeni ile olmadığını kanıtlamaktadır.^{11,36} Ayrıca hasta bireylerde gen ifadesinde herhangi bir azalma meydana gelmemektedir.¹⁴ Tüm bunlara ek olarak herhangi başka bir anlamsız ya da yanlış anlamlı mutasyonun bulunmayışı ve htt geninden yoksun farelerde heterozigot mutasyonun hastalık fenotipine neden olmaması, uzamış poliQ dizisinin fonksiyon kazanma yolu ile hastalığa neden olduğunu düşündürmektedir.^{14,37-40}

II. AGREGAT OLUŞUMU VE ÜBİKÜTİN-PROTEOZOM SİSTEMİ

Protein birikimleri pek çok nörolojik hastalıkta rastlanan bir durumdur. Protein agregatlarının, proteinin yapısındaki poliQ segmentinin ana zincir ve polar yan zincir amidleri arasında hidrojen bağları ile tutulan b-levhaları içerdiği ve çeşitli hücre içi ve hücre dışı bölgelere yerleştikleri bilinmektedir.⁴¹ Protein agregatları genellikle übikütilenmiş olup, pek çok hücrel protein yapılarına katabilirler. Übikütilen-pozitif agregatlar Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, amiyotrofik lateral skleroz, PoliQ hastalıkları ve Prion hastalığında görülmektedir.⁴²

PoliQ hastalıklarının patolojik mekanizmasının übikütilen-proteozom sistemi (UPS) ile ilişkisi iki genel mekanizma ile açıklanabilir. Birincisi, sayısı artmış poliQ içeren proteinin kendisi ya da agregatları proteozomlar ile bir araya gelir, ancak yıkıma karşı dayanıklıdır. Bu durum proteozom aktivitesini bloke eder ve diğer başka proteinlerin katabolizmasının engellenmesine neden olabilir. İkincisi, artan poliQ dizisine sahip proteinin biyolojik olarak aktif diğer önemli proteinlere bağlanarak işlevsiz komplekslerin oluşmasına yol açabilmesidir. Böylece, poliQ içeren proteinlerin übikütilen-aracılı aktivasyonu, yıkımı ya da agregasyonunun, diğer proteinleri yapılarına katma yeteneklerini sınırlandırmanın bir yolu olduğu düşünülebilir.⁴³

Hücre içi agregatlar ve nöronal çekirdek içi inklüzyonlar (NII) tüm poliQ hastalıkları için ortak bir özellik olmasına rağmen, hastalığın başlamasının nedeni değildir. Aksine, NII'ların oluşumunun poliQ toksisitesine karşı savunucu ve korucuyu role sahip olabileceği düşünülmektedir.^{44,45} İlginç olan, küçük htt agregatlarının übikütilenmemiş olmasıdır. Bu durum übikütilenasyonun, agregat oluşumunun ilerlemiş döneminde gerçekleştiğini düşündürmektedir. Ayrıca, hücrenin agregatları temizlemeye çalıştığının, ancak başarılı olmadığını da göstergesi olabilir.⁴² Mutant proteinin ifadesinin engellendiği HH modelinde, sadece hastalığın ilerleyişinin durması ile birlikte agregat oluşumunun tersine döndüğü ve motor işlevlerin tekrar iyileşmeye başladığı gösterilmiştir.⁴⁶ Genleri susturulan farelerde fenotipin ve agregatların ortadan kalkması, agregatların HH patolojisinin ve HH-benzeri patolojinin ilerlemesinin mutant proteinin ifadesi ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Agregatların yıkımının başarısız olması, normal ilerleyişin bozulmasına ve fizyolojik olarak önemli proteinlerin yıkımlarının engellenmesiyle yarı ömürlerinin değişmesine neden olabilir. Bu durumun olumsuz getirisi olarak, nöronların protein sentezi ve yıkımı arasındaki dengenin bozulması nedeni ile nörodejenerasyon ortaya çıkabilir.⁴⁷

Sonuç olarak mutant proteinlerin kazanılmış yeni özellikleri ile farklı protein etkileşimlerine, hücre için vazgeçilmez olan şaperonların, proteozomların ve çeşitli transkripsiyon faktörlerinin aktivitelerini engelleyerek transkripsiyon bozukluklarına, UPS'de aksaklıklara neden olarak hücre ölüme yol açtıkları düşünülebilir.

UPS sitoplazmanın yanı sıra çekirdekte de bulunduğu için dolayı, buradaki yanlış katlanan veya toksik özellik taşıyan proteinlerin temizlenmesinde önem taşır. Huntington hastalığı ve diğer poliQ hastalıklarında nörolojik semptomlar ve çekirdekte toksik protein birikimi yaşa bağlı olarak gözlenir; ilerleyen yaşla birlikte semptomların şiddeti ve protein birikiminde artış tespit edilmiştir. Bu kapsamda yapılan deneysel çalışmalar, mutant protein toksisitesinin yanı sıra, ilerleyen yaşın UPS işleyişinde aksaklıklara yol açan önemli bir faktör olduğunu göstermiştir.⁴⁷

III. PROTEOLİZ

Mutant proteinin toksisitesinin anlaşılması ile ilgili yapılan hücre kültürü, hayvan modelleri ve otopsi analizleri, poliQ proteinlerinin protein yıkımına uğradıklarını göstermektedir.⁴⁸ PoliQ proteinlerinin parçalanmasında rol oynayan, proteine özgül enzimler, kaspazlar (kaspaz 1, 3, 6, 7, 8) ve kalpainlerdir.⁴⁹ Kalpainler kalsiyumla aktive olan sistein proteazlardır. Sinir sisteminde proenzim heterodimerleri olarak bulunurlar. Kalpain aktivasyonu, kalpain inhibitörü olan kalpastatinin kaspazlar tarafından kesilmesi ile gerçekleşir. Kaspazlar, apoptoz ve yangıda rol oynayan bir grup sistein aspartat-spesifik proteazlardır.⁵⁰ Toksik fragman hipotezine göre, mutant poliQ proteinlerinin kesimleri, poliQ dizisini taşıyan N-terminal protein parçasının serbest kalmasına neden olur. Serbest ve toksik N-terminal protein, hücredeki kaspazların daha fazla aktivasyonuna neden olarak hücre ölüme yol açabilir.⁵¹ Ayrıca mutant proteinin kalpain ile kesilmesi engellendiğinde, htt agregatları ve toksisitenin azaldığı tespit edilmiştir.

IV. GEN İFADESİ DEĞİŞİMLERİ

PoliQ ve poliP bölgelerinin *in vitro* GAL4 DNA bağlanma bölgesi ile birleştiklerinde transkripsiyonu aktive ettikleri bildirilmiştir. Ayrıca polimer uzunluğu ile yazılım aktivitesinin artışında maksimum aktivitenin 10-30Q ve yaklaşık 10P ile gerçekleştiği gösterilmiştir. Böylece, artmış glutamin tekrarlı ve endojenik poliP'ye sahip htt proteini transkripsiyon aktivitesini kontrol edebilir ve bu durum açıkça gözlenebilen ya da gözlenemeyen genomik etkiler doğurabilir. Ayrıca, yabancıl-tip htt sitoplazmaya yerleşirken, artmış poliQ'lu ve endojenik poliP'li mutant htt sitoplazmik kesime uğradıktan sonra proteinin N-terminali çekirdeğe yerleşebilir.²⁸ Mutant htt nükleer reseptör ko-represör (NCoR), Sp1 ve CREB-bağlanma proteinleri (CBP) ile etkileşim içerisindedir. Böylece, mutant htt ile gen ifadesinin değişimi nörodejenerasyona sebep olabilecek muhtemel mekanizmalardan biri olarak görülebilir.⁵⁰

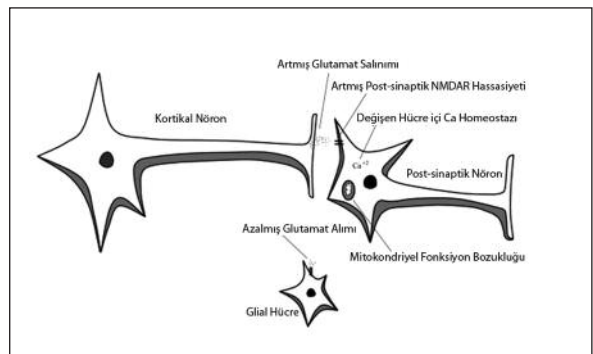
Sonuç olarak, homopolimerik glutamin ve prolin bölgeleri gen yazılımı düzenlemesinde rol alan pek çok proteinle ortak genel bir görünüme sahiptir.

tir.⁵² Bu sebeple, hastalık proteininin yapısındaki artan glutamin tekrarları, dejenerasyonla sonuçlanan anormal yazılım düzenlenmesine sebep olabilir.

V. EKSTOTOKSİSİTE VE GLUTAMAT RESEPTÖRLERİ

Huntington hastalığında striyatal nöronların kaybedilmesi, glutamat reseptörü aracılı ekstitoksitenin patogeneze etkili olabileceğine işaret eder. Uyarıcı kimyasallar beyin normal işleyişi için gerekli moleküllerdir; ancak aşırı miktarda bulduklarında hücreleri sürekli uyararak hassas hücrelerin ölümlerine sebep olurlar. Glutamat, bazal gangliya-dan salınan uyarıcı nörotransmitterlerden bir tanesidir. Bazal gangliya ve striyatım bölgelerine glutamat enjekte edilen sıçanlar ve primatlarda HH belirtileri ortaya çıkmaktadır.^{53,54} Kronik nörodejeratif hastalıklarda ekstitoksik bulgular, uyarıcı amino asit reseptörlerindeki bir anormallik ve/veya enerji metabolizmasının bozulmasının sonucu olarak meydana gelebilir (Şekil 1).^{7,55,56}

Erişkin MSS'de en yaygın olarak bulunan uyarıcı nörotransmitterlerin başında glutamat gelmektedir. Glutamatın sinaptogenez, öğrenme ve hafızada rol oynadığı, ayrıca iskemi, epilepsi ve nörodejeratif hastalıklar gibi patolojik pek çok durumda da etkili olduğu bilinmektedir.⁵⁷ Sinaptik iletişim sırasında glutamat seviyesi artar ve ardından glutamat taşıyıcılarıyla ya da difüzyonla sinapslardaki hücrelere geri alımı yolu ile glutamat ortadan kaldırılır.⁵⁸ Glutamat nöronlar ya da gliya-



ŞEKİL 1: Kortikostriyatal yolakta ekstitoksositeye neden olabilecek moleküler mekanizmalar. Ekstitoksik nöron ölümü kortikal aferent nöronlardan glutamat salınımının artışı, glial hücrelerin glutamat alımında azalma, post-sinaptik N-metil-D-Aspartat reseptörleri (NMDAR)'nin aşırı hassasiyeti, hücre içi Ca^{+2} homeostazındaki dengesizlik ve mitokondriyel fonksiyonların yerine getirilememesi sonucu gerçekleşir.

lar tarafından alındıktan sonra enzimatik olarak glutamine dönüştürülür; böylece tekrar glutamata dönüştürülene kadar hücre içinde saklanabilir. Yaralanma ya da MSS rahatsızlıkları gibi stres koşullarında glutamat sinaptik aralıklarda, ya doğrudan nöronlardan salınarak ya da gliyal glutamat taşıyıcılarının kapatılması ile artırılır.⁵⁹ Aşırı miktardaki hücre dışı glutamat seviyesi, nörotransmitter reseptörlerinin aşırı uyarılması nedeniyle hücrenin sağlığı ve yaşamı üzerinde olumsuz etkilere yol açabilir. Bunun yanında, yüksek seviyedeki hücre dışı glutamat, glutamat/sistin antiporterlerin fonksiyonunu engelleyerek glutasyon oluşumunu durdurur ve sonuç olarak hücre içi serbest radikal artışı ve hücrel toksisite meydana gelir.⁵⁹ Fare modeli ile yapılan bir araştırmada, yaşa bağlı olarak glutamat toksisitesinin arttığı ve bu durumun da striyatumdaki glutamat taşıyıcılarının seviyelerindeki azalma ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.⁶⁰

Glutamat, iGluR'yi ve mGluR'yi aktive eder. iGluR, iyon kanallarını kontrol eder ve MSS'de ek-sitotoksik nörotransmisyonun büyük bölümünden sorumludur.⁵⁷ mGluR ise hücre içi enzimlerin G-proteini aracılı yol ile kontrolünü sağlar. iGluR, NMDAR ve NMDAR olmayan reseptörler olarak ikiye ayrılır. NMDAR olmayanlar alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-isoksazol-propiyonik asit reseptörleri (AMPA) ve kâinat reseptörleri (KAR) olmak üzere kategorize edilebilir. iGluR, farmakolojik, elektrofizyolojik ve patofizyolojik olarak birbirlerinden ayırt edilirler. Normal nöronal transmisyonunda iGluR'nin ve mGluR'nin ikisinin birden bulunuşu ve bu reseptörlerin bir araya gelerek post-sinaptik zarda konumlanmaları sinapsın fonksiyonunu belirler. Normal glutamat reseptörünün fonksiyonundaki bir değişiklik, sinapsların performansında önemli sonuçlar doğurabilir.

N-METİL-D-ASPARTAT RESEPTÖRLERİ

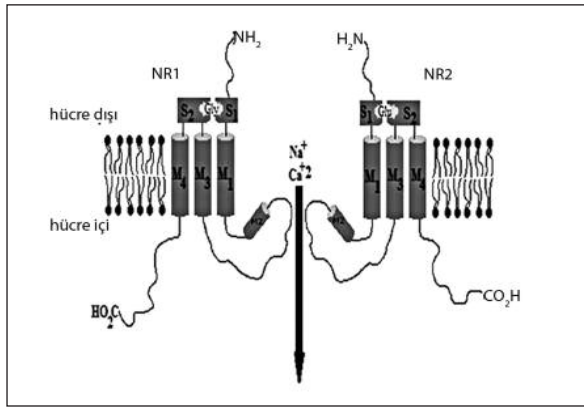
NMDAR'ların nöronal gelişme, sinaptik plastisite, yaralanma sonrasında hücre ölümüne neden olma, öğrenme ve hafıza gibi çeşitli olaylarda rollerinin olduğu gösterilmiştir.⁵⁷ NMDAR'ların her biri ligant-kapılı iyon kanallarıdır ve Na⁺, K⁺ ve Ca²⁺ iyonları için geçirgendirler. Kanallar uzun süre açık kaldığında hücre içine aşırı iyon geçişi nedeni ile

ozmotik şişme, serbest radikal oluşumu, hücre içinde kalsiyum düzeylerinin artması ile lipaz, endonükleaz ve proteazların aktif konuma geçmesi hücreyi ölüme götürmektedir.^{61,62} Eksitotoksitesinin Huntington hastalığının yanı sıra iskemik retinopati, inme, MSS travması, epilepsi, Parkinson hastalığı, amiyotrofik lateral skleroz ve Alzheimer hastalığı gibi çeşitli nöronal hastalıklarda rol oynadığı kanıtlanmıştır.⁶³⁻⁷⁰ Sinaptik NMDAR aktivitesi ile nöronlar için koruyucu rol oynayacak gen ifadeleri sağlanırken, ekstrasinaptik aktiviteler hücre ölümünü tetikler.⁶⁹ Sinaptik ve ekstrasinaptik NMDAR aktiviteleri arasındaki dengenin bozulmasının nöronlarda fonksiyon kaybına yol açtığı belirlenmiştir.⁷⁰

NMDAR'lar NR1 alt ünitesi farklı kesim varyantları (NR1A-H) ve NR2 (NR2A-D) alt ünitelerinden iki ya da daha fazlasının kombinasyonu ile meydana gelen bir tetramerik kompleksten oluşmaktadır. Düzenleyici NR2 alt üniteleri iyon kanalının ve reseptörün farmakolojik özelliklerinin belirlenmesinden sorumludur. NMDAR alt ünitelerinin üç adet transmembran domene (M1, M3 ve M4) ve bir adet zar içinde katlanıp iki ucu da sitoplazmaya bakan P-kıvrımına (M2) sahip olduğu tahmin edilmektedir (Şekil 2).⁵⁷

NMDAR alt tipleri NR2 alt ünitesi tarafından belirlenir ve değişik iyon kanallarının ve farmakolojik özelliklerin oluşmasını sağlar.⁷¹⁻⁷⁴ Örneğin, aynı glutamat uyarımının uygulanması ve aynı reseptör yoğunluğunda, NR1/NR2A NR1/NR2B'den daha geniş akım amplitüdü gösterir ve daha hızlı de-aktive olur; ancak sonuçta her ikisi de hücre için eşit akım alışı gösterir.⁷⁵

Beyinde, gelişim sırasında NR1'in sekiz farklı kesim çeşidinden (NR1A-H) en az bir tanesi tüm nöronlarda ifade edilirken, NR2 alt üniteleri daha farklı bir dağılım göstermektedir.⁷⁶ Prenatal dönemde NR2B ve NR2D mRNA'ları baskın durumdayken, NR2A ve NR2C mRNA'ları ancak doğuma yaklaşıldığı dönemde tespit edilebilmiştir. Postnatal dönemde NR2B mRNA seviyesi kaybolurken, NR2C seviyesi serebellar granüler hücre tabakasında artmaktadır. Erişkin hipokampüsünde NR2A ve NR2B mRNA'ları CA1 ve dentat girusta, NR2B



ŞEKİL 2: N-metil-D-Aspartat reseptörleri (NMDAR)'nin domen yapısı.

CA3 bölgesinde baskınken, ara nöronlarda NR2C ve NR2D ifadesi dominant durumdadır.⁷⁶

Dikkat çekici olarak GABA-erjik orta boy dikensi striyatal nöronlar öncelikle NR1A kesim çeşidi ile birlikte NR2B alt ünitelerini ifade etmektedirler.⁷⁷ Ön beyin bölgelerinde NR2A ve NR2B'nin her ikisi ile birlikte birkaç çeşit NR1 farklı-kesim-çeşidi kombinasyonu bulunmaktadır. Ancak serebellum ve beyin sapında ise NR2B bulunmamaktadır.^{76,78} GABA-erjik orta boy dikensi nöronlar dışındaki striyatal ara nöronlar çeşitliliğe sahiptir ve genellikle daha az NR2B/2A mRNA ve protein seviyeleri gözlenirken, NR2D mRNA'sı ifade ettikleri bilinmektedir.⁷⁹ NR1A kesim çeşidinin tam boy klonu protein kinaz C fosforilasyon bölgesi içerir ve kalmoduline bağlanır.⁵⁷ Böylece, NR1A ve NR2B alt ünitelerinin göreceli olarak üretimlerinin GABA-erjik orta boy dikensi nöronlarda artması, Huntington hastalığında seçimli nöronal hassasiyetin oluşmasını mümkün kılabilir. Bunu destekler nitelikte, mutant htt ve NR2B içeren NMDAR'lar arasındaki alt üniteye özgün etkileşimlerin nöron ölümüne yol açan mekanizmayı tetiklediği ve Huntington hastalığında nörodejenerasyonun önemli yürütücülerinin oldukları ortaya konulmuştur.⁸⁰

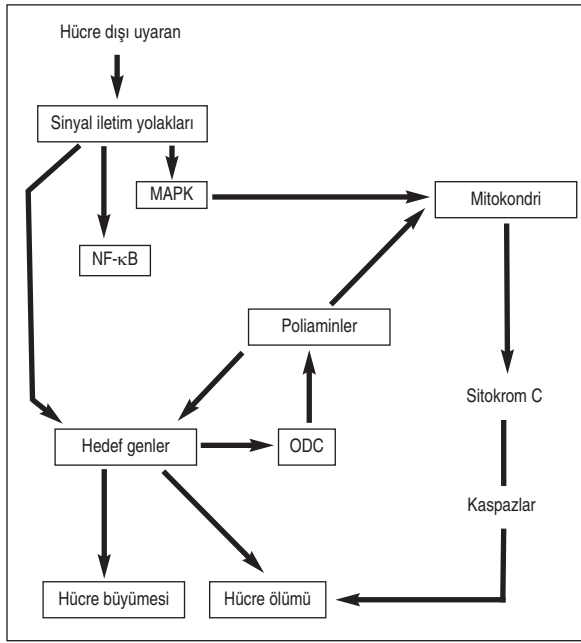
EKSİTOTOKSİSİTEDE NMDAR, NFκB VE POLİAMİN İLİŞKİSİ

MSS'de iGluR aracılığı ile meydana gelen nöron ölümlerinin moleküler mekanizması gün geçtikçe daha iyi anlaşılmasına başlanmıştır. Sıçan striyatal nöronlarında NMDAR, agonistik etkisi olan kuinolik

asit ile uyarıldığında, protein yıkım enzimi olan kaspaz 3 aktive olmaktadır. Kaspaz 3'ün NFκB'nin sitoplazmik bağlanma proteini olan inhibitör kappa B alfa'nın (IκBα) yıkımına neden olarak NFκB'nin serbest kalmasını ve böylece çekirdeğe translokasyonunu hızlandırdığı tespit edilmiştir.⁸¹ NFκB'nin çekirdeğe translokasyonu, hücrede c-myc, p53 ve siklin D1 miktarında artışa neden olarak GABA-erjik nöronlarda apoptoz görünümünde ölüme yol açmaktadır. NMDA olmayan reseptörlerin agonisti kainik asit ile oluşturulan eksitotoksitenin de benzer sonuçlar meydana getirdiği tespit edilmiştir.^{56,81}

NFκB kaskadının aktivasyonunu da içeren NMDAR aracılı eksitotoksik mekanizmanın intraselüler etkileri detaylı bir şekilde açıklığa kavuşturulabilirse, eksitotoksitenin etkili olduğu tahmin edilen Huntington hastalığı, Parkinson hastalığı ve Alzheimer hastalığı tedavisinde yeni yaklaşımlar oluşturulabilir.^{52,82,83} Bu açıdan bakıldığında NMDAR'nin düzenlenmesi ve işleyişi ile ilgili bilgiler önem taşımaktadır. NMDAR, glutamat/NMDA agonist bağlanma bölgelerine ek olarak poliamin bağlanma bölgesi ve diğer birkaç farklı düzenleyici bölge de içerirler.⁸⁴

Putresin (Put), spermidin (Spd) ve spermin (Spm) formlarında bulunan poliaminler, yaşayan tüm canlılarda bulunan polikationik alifatik aminlerdir. Hücrelerin büyüyüp optimal fonksiyonlarını yerine getirmeleri için hücre içi poliamin seviyesinin iyi bir şekilde düzenlenmesi gereklidir. Poliaminler aynı zamanda sitokrom c'nin mitokondriden salınımı yoluyla kaspazları aktifleyerek apoptoz sürecinin başlamasını ve bunu takiben hücre ölümünü tetikleyebilirler. Dolayısıyla, poliaminler çeşitli sinyal yollarındaki transkripsiyon faktörleriyle etkileşime girerek hücre büyümesini ve hücre canlılığını kontrol edebilen kilit moleküllerdir (Şekil 3). Buna ek olarak, sinyal yollarıyla kontrol edilen genler, poliamin biyosentezinden sorumlu ornitin dekarboksilaz (ODC) enziminin ifadesini de kontrol ederler. Polikationik doğaları nedeniyle negatif yüklü deoksiribonükleik asit, ribonükleik asit, proteinler ve fosfolipit gibi yapılarla etkileşerek kararlılıklarını sağlarlar. Nörolojik açıdan bakıldığında beyinde NMDAR ve iyon kanallarının



ŞEKİL 3: Hücre ölümü ve hücre büyümesi arasındaki dengeyi kontrol eden sinyal iletim yollarında poliaminlerin rolü.

açılışını düzenlerler ve nörodejenerasyon aşamalarında yer alırlar.⁸⁵⁻⁸⁷ Huntington hastalarının beyin örneklerinde Spm miktarının putamen bölgesinde önemli oranda azaldığı, kaudat nükleusta da istatistiksel anlamda olmasa da kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bir azalma meydana geldiği tespit edilmiştir.⁸⁸ CATHa katekolaminerjik (CAD) hücrelerinde mutant htt proteininin poliamin metabolizmasını olumsuz etkilediği ve artan *in vitro* poliamin miktarı ile mutant htt proteini agregat oluşumu arasında paralel bir bağlantı olduğu bilinmektedir.⁸⁹

Neonatal sıçanlarda poliamin biyosentezinin durdurulmasının, erişkinlik evresinde özellikle se-rebellumda nöronal kayıplara neden olduğu belirlenmiştir.^{90,91} Poliaminlerin sinir sisteminde bu tip önemli bir etkide bulunmalarının temelinde NMDAR ile etkileşimleri olduğu düşünülmektedir. Gelişim evresinde MSS'de poliamin miktarının en yüksek seviyesinde olduğu ve gelişim tamamlandığında miktarının azaldığı tespit edilmiştir.⁹¹ Gelişim döneminde NMDAR'nin de nöronal büyüme, hücre göçü ve sinaps oluşumunda etkili olması, poliaminlerin, NMDAR'yi düzenleyici işleve sahip olabileceklerini düşündürmektedir.⁹²

POLİAMİNLERİN NMDAR VE DİĞER İYON KANALI RESEPTÖRLERİ İLE İLİŞKİLERİ

Poliaminler ve iyon kanalları arasındaki etkileşim ilk kez poliamin içeren bir örümcek zehrinin omurgalılarda glutamat ile aktive olan iyon kanallarını bloke etmesi ile keşfedilmiştir.^{93,94} NMDAR, beyinde hipokampusun de dâhil olduğu pek çok bölgede bulunmaktadır. Reseptör proteininin her bir alt birimi dört önemli domene sahiptir. Bunlardan ikisi geniş hücre dışı bölgeye yerleşen amino terminal domen ve amino-bağlama domenidir. Amino terminal domen görevi alt ünitelerin bir araya gelişine aracılık etmek ve Zn^{+2} , H^{+} ve poliaminler gibi reseptör düzenleyiciler için bağlanma bölgesi sağlamaktır. Amino-bağlanma bölgesi ayrıca ligand bağlanma bölgesi olarak da isimlendirilir ve NR1 için glisin, NR2 için glutamat bağlanma bölgesi sağlar.⁹⁵

NMDAR'nin aktivasyonu için hem uyarıcı nörotransmitter L-glutamat ve ko-agonisti glisinin bağlanması, hem de membranın depolarize olması gerekir. Sinaps öncesi sinir ucundan salınmış olan glutamat, NMDAR olmayan glutamat reseptörlerine bağlanarak post-sinaptik nörona Na^{+} akışını başlatır ve zar depolarize olur. Depolarizasyon, NMDAR kanallarını kapatan Mg^{+2} engelini ortadan kaldırır ve Ca^{+2} iyonunun sinaps sonrası nörona girmesini sağlar. Artan Ca^{+2} konsantrasyonu yeni NMDAR olmayan glutamat reseptörlerinin üretilerek zara yerleşmesine ve hücrenin glutamata duyarlılığının artmasına neden olur. Böylelikle, Na^{+} ve Ca^{+2} 'un post-sinaptik nöronlara girişi uzun süreli potansiyel oluşumuna yol açarak merkezi sinir sistemini etkileyen birçok fonksiyonun gerçekleşmesine sebep olur. Örneğin, NMDAR, MSS'nin öğrenme ve hafıza ile ilişkilendirilen uzun süreli potansiyasyonunda önemli rol oynamaktadırlar.⁹⁶ Ancak, NMDAR'ın aşırı uyarılması, epilepsi ya da eksitotoksisite sebepli nörodejenerasyona yol açabilmektedir.⁹⁷ Bu nedenle, normal fizyolojik koşullarda reseptör uyarılmasının başlangıç zamanı ve süresi oldukça sıkı bir şekilde kontrol edilmektedir.

Hücre dışı Mg^{+2} voltaja bağımlı NMDAR'nin açık kanal engelleyicisi olarak davranırken, endojenik poliaminler (Spd ve Spm) iki düzenleyici etkiye sahiptirler. Poliaminlerin NMDAR üzerindeki etkileri, Spd'in NMDAR açık kanal engelleyicisi (+)-5-metil-10,11-dihidro-5H-dibenzo[*a,d*] siklohepten-5,10-imin'in (dizocilpine ya da MK-801) sıçan beyinde bağlanmasını artırdığının tespit edilmesi ile ortaya konulmuştur.⁹⁸ Daha sonraki çalışmalar, poliaminlerin MK-801 bağlanmasındaki etkilerinin, yüksek mikromolar konsantrasyonlarda antagonist ve düşük mikromolar konsantrasyonlarda ise agonist olmak üzere bifazik karakterli olduğunu ortaya koymuştur.⁹⁹ Ayrıca Spm'nin ve bunun sentetik analogunun MK-801 bağlanmasındaki antagonistik potansiyeli iki önemli faktör ile yakından ilgilidir; metilen iskeletinin uzunluğu ve terminal alkil grupların geometrisi. Yükün maskeleyenmesinin ve kanalın doğrudan bloke edilmesinin, poliaminlerin antagonistik etkilerinde önemli roller oynadıkları düşünülmektedir.¹⁰⁰

Poliaminlere ek olarak Zn^{2+} ve H^{+} iyonları da endojenik ligandlar olarak NMDAR'yi düzenleyebilirler.^{101,102} Tüm bu aracı moleküller etkilerini reseptör proteinin farklı bölgelerinde gerçekleştirirler. İlk dönem çalışmaları, NMDAR üzerinde poliaminler için özel tanıma bölgeleri olması gerektiğini düşündürmüştür; zira Put ve kadaverin, Spd ya da Spm'nin MK-801'in NMDAR'nin bağlanmasını uyarıcı etkisine antagonistik etki göstermişlerdir.⁹⁹ Bu bölgeler, Mg^{+2} ve Zn^{+2} için olan bölgelerden farklıdır. Spm için NMDAR'nin NR1 alt ünitesinde üç farklı bağlanma bölgesi bulunur.^{102,103} Bu bağlanma bölgelerinden iki tanesi reseptörün hücre dışı domeninde yerleşmiştir; bu bölgeler Spm için glutamat ve glisin bağlanmasını düzenleme bölgeleridir. Üçüncü bölge kanal porunun yanına yerleşmiştir ve poliaminler bu bölgeye hücre zarının her iki yanından erişerek, voltaja bağımlı kanalın bloke edilmesine neden olabilirler.⁹⁵

Spm'nin NMDAR üzerinde başka etkileri de bulunmaktadır. Glisinden bağımsız mekanizmadan farklı olarak, glisine bağımlı stimülasyonda Spm, reseptör ilgisini kuvvetlendirerek glisinin bağlanmasını artırır. Spm ayrıca glutamat için reseptörün afinitesini azaltarak NMDAR'nin proton

hassasiyetini düzenleyebilir.¹⁰⁴ Normal fizyolojik koşullarda reseptörler, hücre dışı protonlar tarafından bloke edilebilirler. Reseptörde, pH'ye duyarlı elementin NR1 alt ünitesinin 211. pozisyonundaki bir lizin olduğu tanımlanmıştır. NR1 alt ünitesinin hücre dışı amino terminal bölgesindeki 21 amino asitlik kısım (190-211. rezidüler), genin 5. ekzonu tarafından kodlanmaktadır.¹⁰⁵ Bu bölge, poliamin bağlanma bölgesi yakınında yerleşmiş yüzey ilmiğidir ve bölgenin, reseptör için düzenleyici olabileceği düşünülmektedir. Tüm bu bilgiler ışığında, NMDAR'nin hücre dışı Spm ile düzenlenmesinin çok yönlü olduğu açıkça görülmektedir. Kanal porunun transmembran doğası, ayrıca kanalın hücre içi poliaminler tarafından da düzenlenebilmesine olanak verir. Sıçan hipokampus kültürlerinde gerçekleştirilen elektrofizyolojik çalışmalar, hücre içi Spm havuzunun, MK-801 bağlanma ilgisini etkilemeden kanalın açılma ihtimalini düşürerek NMDAR'yi düzenleyebileceğini düşündürmektedir.

Poliaminler NMDAR'yi sadece düzenlemekle kalmaz, ayrıca diğer iyonotrofik reseptörler olan AMPAR ve KAR'yi de düzenlerler.¹⁰⁴ Üç glutamat reseptörü de topolojik olarak benzerdirler; ancak özgül alt üniteleri nedeni ile fonksiyonel olarak farklıdır. Spm NMDAR olmayan reseptör ailesinin Ca^{+2} -geçirgen alt tip reseptörlerinin hücre içine kalsiyum alımına aracılık edebilir.¹⁰⁶ NMDAR ve diğer iyon kanallarıyla etkileşimleri yolu ile poliaminler, memeli beyindeki pek çok sinyal olayını temel olarak ikincil mesajcı olan Ca^{+2} yolu ile etkileyebilirler.

SONUÇ

Huntington hastalığına sebep olan tek genetik mutasyon, IT-15 genindeki CAG tekrar dizilerinin normalden fazla sayıda artmış olmasıdır. Mutasyonun keşfedildiği 1993 yılından bu yana süregelen kapsamlı araştırmalar, iyi tanımlanmış ve genotip-fenotip ilişkisi detaylı olarak çözümlenmiş olan bu mutasyonun, nasıl bir moleküler yolak ile seçici nöron ölümüne yol açtığını aydınlatmakta henüz tam olarak başarılı olamamıştır. Bu durum ve şimdiye kadar ortaya koyulmuş olan veriler, hastalığın moleküler mekanizmasının oldukça kar-

maşık olduğuna ve ilk bakışta birbirleri ile ayrı tutulabilen molekül ve yolakların etkileşimlerinin detaylı olarak sorgulanması gerekliliğine işaret eder.

Huntington hastalığında eksitotoksik hücre ölümünün gerçekleştiğine dair veriler bulunmaktadır.^{55,56,68} Eksitotoksiste, uyarıcı amino asit reseptörlerinin aktivasyonu nedeniyle nöron ölümü olarak tanımlanır. NMDAR'nin uyarıcı bir amino asit olan glutamat ile uzun süreli aktivasyonu ve bunun sonucu olarak kaspazların aktiflenmesi, NFκB'nin serbestlenerek çekirdeğe geçişi ve c-myc, p53 gibi genlerin transkripsiyonlarının artışı söz konusudur. Dolayısıyla, Huntington hastalığının patogenezinde NMDAR, merkezi bir rol oynamaktadır. Bu durumda, Huntington hastalığında NMDAR fonksiyonlarının ortaya çıkarılması ve nasıl düzenlenebileceğinin irdelenmesi, hem hastalık mekanizmasının daha iyi aydınlatılmasına olanak sağlayacak, hem de tedavide yeni yaklaşımlar geliştirilmesine katkıda bulunacaktır. NMDAR üzerinde bağlanma bölgeleri olan poliaminlerin, bu reseptörlerin işleyişinde ve Huntington hastalığının patogenezinde önemli rol oynayabilecek moleküller oldukları düşünülebilir. Polikatyonik alifatik amin yapısında olan bu moleküllerin mutant htt ifadesi olan hücrelerdeki miktarları, hücre içi yerleşimleri ve sinyal yolaklarına etkileri araştırılmaya değer niteliktedir. Bugüne kadar poliaminlerin Huntington hastalığındaki rolü konusunda yapılan sadece iki çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalardan ilki, artan *in vitro* poliamin miktarı ile mutant htt agregatları oluşumunun paralellik gösterdiğini, ikincisi ise otopsi beyinlerinin putamen bölgesinde Spm miktarının azaldığını ortaya koymuştur.^{88,89} Bu bulgular ışığında poliaminlerin, Huntington hastalığının patogenezinde dahil oldukları söylenebilir. Ancak bu veriler, cevaplanması gereken birçok soruyu da beraberinde getirir. Normal ve mutant htt ifadesi olan hücrelerin poliamin miktarları arasında fark var mıdır? Eğer fark varsa bu durum hücre canlılığını etkiler mi? NMDAR alt birimlerinin farklı kombinasyon-

ları normal ve mutant htt ifadelili hücrelerde hücre canlılığını ve poliamin cevabını nasıl etkiler? Hücre canlılığı hangi genlerin ifadelerinin değişmesi ile ilişkilendirilebilir? Bu gen ifadelerinin değişimi IκBα yıkımı ve NFκB serbestlenmesi ile ilişkilendirilebilir mi? Hücre içi poliaminlerin, farklı NMDAR alt ünitelerine sahip hücrelerde IκBα yıkımına ve NFκB serbestlenmesine etkileri farklı mıdır? Bunların yanı sıra, hücreye dışarıdan eklenen poliaminlerin normal ve mutant hücrelerdeki htt yerleşimine, hücre içi poliamin havuzuna ve htt ifadesine etkileri nasıl olacaktır?

Bu sorular, Huntington hastalığı hücre modelleri oluşturularak geniş kapsamda araştırılmalıdır. Elde edilecek veriler, mutant htt ifadesinin hücre içi poliamin metabolizmasına etkilerini ortaya koyacak, NMDAR'nin alt ünite kompozisyonunun mutant htt varlığında poliaminlerle etkileşimindeki rolünü gösterecek ve patolojik durum üzerinde etkili olup olmadığını aydınlatılacak, NFκB'nin aktivasyonu ile anti-apoptotik genlerin ve poliamin sentezinden sorumlu olan ODC geninin aktivasyonu arasında bağlantı kurulabilecektir. Poliamin ve poliamin biyosentez inhibitörlerinin canlılığı mutant htt ile doğrudan etkileşerek, NMDAR aracılığıyla dolaylı olarak hücre içi NFκB'nin aktivasyonunu sağlayarak mı, yoksa bozulan poliamin katabolizması nedeniyle mi etkilediğinin belirlenmesi için daha detaylı araştırmalar yapılması gereklidir. NFκB'nin aktiflediği genlerin ifade seviyelerinin tayini ve hücre içi poliamin oksidazların seviyelerinin ölçümleri bu konuya daha fazla açıklık getirecektir.

Alınacak bu bilgiler ışığında Huntington hastalığında seçimli nöronal dejenerasyonda NMDAR aracılı eksitotoksistenin rolü ve poliaminlerin bu mekanizmadaki yeri aydınlatılabilecek ve hastalığın tedavisinde yeni yaklaşımlar geliştirilmesine olanak sağlanabilecektir.

Teşekkür

Şekillerin çizimlerine katkılarından dolayı Ar. Gör. N. Ozan Tiryakioğlu'na teşekkürlerimizi sunarız.

KAYNAKLAR

1. Quarrell O, Harper PS. The clinical neurology of Huntington's disease. In: Harper PS, ed. *Huntington's Disease*. 2nd ed. London: W.B. Saunders; 1991. p.37-80.
2. Okun MS. Huntington's disease: what we learned from the original essay. *Neurologist* 2003; 9(4):175-9.
3. Yalıtı I, Özten E, Tufan AE. [Psychiatric findings in a patient with Huntington's Chorea: case report]. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2006; 26(5):569-74.
4. Huntington G. On chorea. *George Huntington, M.D. J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 2003; 15(1):109-12.
5. Zdzienicka EM, Rakowicz H, Mierzevska D, Hoffman-Zacharska T, Jakubowska R, Ponia-towska A, et al. [Clinical and genetic study of juvenile form of Huntington's disease]. *Neurol Neurochir Pol* 2002;36(2):245-58.
6. Bonilla E. [Huntington disease. A review]. *Invest Clin* 2000;41(2):117-41.
7. Ho LW, Carmichael J, Swartz J, Wytttenbach A, Rankin J, Rubinsztein DC. The molecular biology of Huntington's disease. *Psychol Med* 2001;31(1):3-14.
8. Sieradzan KA, Mann DM. The selective vulnerability of nerve cells in Huntington's disease. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2001;27(1): 1-21.
9. Kim JS, Reading SA, Brashers-Krug T, Calhoun VD, Ross CA, Pearlson GD. Functional MRI study of a serial reaction time task in Huntington's disease. *Psychiatry Res* 2004;131(1): 23-30.
10. Beal MF. Mechanisms of excitotoxicity in neurologic diseases. *FASEB J* 1992;6(15):3338-44.
11. MacDonald ME, Ambrose CM, Duyao MP, Myers RH, Lin C, Srinidhi L, et al. A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. *Cell* 1993;72(6):971-83.
12. Telenius H, Almqvist E, Kremer B, Spence N, Squitieri F, Nichol K, et al. Somatic mosaicism in sperm is associated with intergenerational (CAG)_n changes in Huntington disease. *Hum Mol Genet* 1995;4(2):189-95.
13. Ersoy N, Başak AN. [Molecular biology of Huntington's disease]. *Turkish Journal of Neurology* 2005;11(1):27-44.
14. Ambrose CM, Duyao MP, Barnes G, Bates GP, Lin CS, Srinidhi J, et al. Structure and expression of the Huntington's disease gene: evidence against simple inactivation due to an expanded CAG repeat. *Somat Cell Mol Genet* 1994;20(1):27-38.
15. Myers RH, Marans KS, MacDonald ME. Huntington's disease. In: Wells RD, Warren ST, eds. *Genetic Instabilities and Hereditary Neurological Diseases*. 1st ed. San Diego: Academic Press; 1998. p.301-23.
16. Kosinski CM, Cha JH, Young AB, Persichetti F, MacDonald M, Gusella JF, et al. Huntingtin immunoreactivity in the rat neostriatum: differential accumulation in projection and interneurons. *Exp Neurol* 1997;144(2):239-47.
17. Gutekunst CA, Levey AI, Heilman CJ, Whaley WL, Yi H, Nash NR, et al. Identification and localization of huntingtin in brain and human lymphoblastoid cell lines with anti-fusion protein antibodies. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92(19):8710-4.
18. Cicchetti F, Prensa L, Wu Y, Parent A. Chemical anatomy of striatal interneurons in normal individuals and in patients with Huntington's disease. *Brain Res Rev* 2000;34(1-2):80-101.
19. Sharp AH, Loev SJ, Schilling G, Li SH, Li XJ, Bao J, et al. Widespread expression of Huntington's disease gene (IT15) protein product. *Neuron* 1995;14(5):1065-74.
20. Persichetti F, Ambrose CM, Ge P, McNeil SM, Srinidhi J, Anderson MA, et al. Normal and expanded Huntington's disease gene alleles produce distinguishable proteins due to translation across the CAG repeat. *Mol Med* 1995;1(4):374-83.
21. Strong TV, Tagle DA, Valdes JM, Emler LW, Boehm K, Swaroop M, et al. Widespread expression of the human and rat Huntington's disease gene in brain and nonneural tissues. *Nat Genet* 1993;5(3):259-65.
22. Li SH, Schilling G, Young WS, Li XJ, Margolis RL, Stine OC, et al. Huntington's disease gene (IT15) is widely expressed in human and rat tissues. *Neuron* 1993;11(5):985-93.
23. Landwehrmeyer GB, McNeil SM, Dure LS, Ge P, Aizawa H, Huang Q, et al. Huntington's disease gene: regional and cellular expression in brain of normal and affected individuals. *Ann Neurol* 1995;37(2):218-30.
24. Bhide PG, Day M, Sapp E, Schwarz C, Sheth A, Kim J, et al. Expression of normal and mutant huntingtin in the developing brain. *J Neurosci* 1996;16(17):5523-35.
25. Metzler M, Chen N, Helgason CD, Graham RK, Nichol K, McCutcheon K, et al. Life without huntingtin: normal differentiation into functional neurons. *J Neurochem* 1999;72(3): 1009-18.
26. DiFiglia M, Sapp E, Chase K, Schwarz C, Meloni A, Young C, et al. Huntingtin is a cytoplasmic protein associated with vesicles in human and rat brain neurons. *Neuron* 1995; 14(5):1075-81.
27. De Rooij KE, Dorsman JC, Smoor MA, Den Dunnen JT, Van Ommen GJ. Subcellular localization of the Huntington's disease gene product in cell lines by immunofluorescence and biochemical subcellular fractionation. *Hum Mol Genet* 1996;5(8):1093-9.
28. Bessert DA, Guttridge KL, Dunbar JC, Carlock LR. The identification of a functional nuclear localization signal in the Huntington disease protein. *Brain Res Mol Brain Res* 1995;33(1): 165-73.
29. Hilditch-Maguire P, Trettel F, Passani LA, Auerbach A, Persichetti F, MacDonald ME. Huntingtin: an iron-regulated protein essential for normal nuclear and perinuclear organelles. *Hum Mol Genet* 2000;9(19):2789-97.
30. Gardian G, Vecsei L. Huntington's disease: pathomechanism and therapeutic perspectives. *J Neural Transm* 2004;111(10-11):1485-94.
31. Velier J, Kim M, Schwarz C, Kim TW, Sapp E, Chase K, et al. Wild-type and mutant huntingtin's function in vesicle trafficking in the secretory and endocytic pathways. *Exp Neurol* 1998;152(1):34-40.
32. Takamoto T, Nukina N, Ide K, Kanazawa I. Huntington's disease gene product, huntingtin, associates with microtubules in vitro. *Mol Brain Res* 1997;51(1-2):8-14.
33. Li SH, Li XJ. Huntingtin-protein interactions and the pathogenesis of Huntington's disease. *Trends Genet* 2004;20(3):146-54.
34. Wanker EE. Protein aggregation in Huntington's and Parkinson's disease: implications for therapy. *Mol Med Today* 2000;6(10):387-91.
35. Ross CA. When more is less: pathogenesis of glutamine repeat neurodegenerative diseases. *Neuron* 1995;15(3):493-6.
36. Wexler NS, Young AB, Tanzi RE, Travers H, Starosta-Rubinstein S, Penney JB, et al. Homozygotes for Huntington's disease. *Nature* 1987;326(6109):194-7.
37. Gusella JF, Tanzi RE, Bader PI, Phelan MC, Stevenson R, Hayden MR, et al. Deletion of Huntington's disease-linked G8 (D4S 10) locus in Wolf-Hirschhorn syndrome. *Nature* 1985;318(6041):75-8.
38. La Spada AR, Paulson HL, Fischbeck KH. Trinucleotide repeat expansion in neurological disease. *Annals Neurol* 1994;36(6):814-22.
39. Duyao MP, Auerbach AB, Ryan A, Persichetti F, Barnes GT, McNeil SM, et al. Inactivation of the mouse Huntington's disease gene homolog Hdh. *Science* 1995;269(5222):407-10.
40. Zeitlin S, Liu JP, Chapman DL, Papaioannou VE, Efstratiadis A. Increased apoptosis and early embryonic lethality in mice nullizygous for the Huntington's disease gene homologue. *Nat Genet* 1995;11(2):155-63.

41. Perutz MF, Johnson T, Suzuki M, Finch JT. Glutamine repeats as polar zippers: their possible role in inherited neurodegenerative diseases. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91(12): 5355-8.
42. Cummings CJ, Reinstein E, Sun Y, Antalfy B, Jiang Y, Ciechanover A, et al. Mutation of the E6-AP ubiquitin ligase reduces nuclear inclusion frequency while accelerating polyglutamine-induced pathology in SCA1 mice. *Neuron* 1999;24(4):879-92.
43. Kaytor MD, Warren ST. Aberrant protein deposition and neurological disease. *J Biol Chem* 1999;274(53):37507-10.
44. Sisodia SS. Nuclear inclusions in glutamine repeat disorders: are they pernicious, coincidental or beneficial? *Cell* 1998;95(1):1-4.
45. Ross CA. Intranuclear neuronal inclusions: a common pathogenic mechanism for glutamine-repeat neurodegenerative diseases. *Neuron* 1997;19(6):1147-50.
46. Li XJ, Li S. Proteasomal dysfunction in aging and Huntington disease. *Neurobiol Dis* 2011; 43(1):4-8.
47. Yamamoto A, Lucas JJ, Hen R. Reversal of neuropathology and motor dysfunction in a conditional model of Huntington's disease. *Cell* 2000;101(1):57-66.
48. Tarlac V, Storey E. Role of proteolysis in polyglutamine disorders. *J Neurosci Res* 2003; 74(3):406-16.
49. Tomatr AG. [Apoptosis: programmed cell death]. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2003;23(6): 499-508.
50. Roze E, Bonnet C, Betuing S, Caboche J. Huntington's disease. *Adv Exp Med Biol* 2010; 685:45-63.
51. Wellington CL, Ellerby LM, Hackam AS, Margolis RL, Trifiro MA, Singaraja R, et al. Caspase cleavage of gene products associated with triplet expansion disorders generates truncated fragments containing the polyglutamine tract. *J Biol Chem* 1998;273(15):9158-67.
52. Gerber HP, Seipel K, Georgiev O, Hofferer M, Hug M, Rusconi S, et al. Transcriptional activation modulates by homopolymeric glutamine and proline stretches. *Science* 1994; 263(5148):808-11.
53. Coyle JT, Puttfarcken P. Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders. *Science* 1993;262(5134):689-95.
54. Fan MM, Raymond LA. N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor function and excitotoxicity in Huntington's disease. *Prog Neurobiol* 2007; 81(5-6):272-93.
55. Dong XX, Wang Y, Qin ZH. Molecular mechanisms of excitotoxicity and their relevance to pathogenesis of neurodegenerative diseases. *Acta Pharmacol Sin* 2009;30(4):379-87.
56. Kumar P, Kalonia H, Kumar A. Huntington's disease: pathogenesis to animal models. *Pharmacol Rep* 2010;62(1):1-14.
57. Dingledine R, Borges K, Bowie D, Traynelis SF. The glutamate receptor ion channels. *Pharmacol Rev* 1999;51(1):7-61.
58. Bergles DE, Diamond JS, Jahr CE. Clearance of glutamate inside the synapse and beyond. *Curr Opin Neurobiol* 1999;9(3):293-8.
59. Schubert D, Piasecki D. Oxidative glutamate toxicity can be a component of the excitotoxicity cascade. *J Neurosci* 2001;21(19):7455-62.
60. Estrada-Sánchez AM, Montiel T, Segovia J, Massieu L. Glutamate toxicity in the striatum of the R6/2 Huntington's disease transgenic mice is age-dependent and correlates with decreased levels of glutamate transporters. *Neurobiol Dis* 2009;34(1):78-86.
61. Sattler R, Tymianski M. Molecular mechanisms of calcium-dependent excitotoxicity. *J Mol Med (Berl)* 2000;78(1):3-13.
62. Beal MF. Role of excitotoxicity in human neurological disease. *Curr Opin Neurobiol* 1992; 2(5):657-62.
63. Lipton SA, Rosenberg PA. Excitatory amino acids as a final common pathway for neurologic disorders. *N Engl J Med* 1994;330(9):613-22.
64. Kalloniatis M. Amino acids in neurotransmission and disease. *J Am Optom Assoc* 1995; 66(12):750-7.
65. Ikonomidou C, Turski L. Excitotoxicity and neurodegenerative diseases. *Curr Opin Neurol* 1995;8(6):487-97.
66. Olney JW, Wozniak DF, Farber NB. Excitotoxic neurodegeneration in Alzheimer disease. New hypothesis and new therapeutic strategies. *Arch Neurol* 1997;54(10):1234-40.
67. Shaw PJ, Ince PG. Glutamate, excitotoxicity and amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol* 1997;244(Suppl 2):3-14.
68. Estrada Sánchez AM, Mejía-Toiber J, Massieu L. Excitotoxic neuronal death and the pathogenesis of Huntington's disease. *Arch Med Res* 2008;39(3):265-76.
69. Milnerwood AJ, Gladding CM, Pouladi MA, Kaufman AM, Hines RM, Boyd JD, et al. Early increase in extrasynaptic NMDA receptor signaling and expression contributes to phenotype onset in Huntington's disease mice. *Neuron* 2010;65(2):178-90.
70. Hardingham GE, Bading H. Synaptic versus extrasynaptic NMDA receptor signalling: implications for neurodegenerative disorders. *Nat Rev Neurosci* 2010;11(10):682-96.
71. Williams K, Chao J, Kashiwagi L, Masuko T, Igarashi K. Activation of N-methyl-D-aspartate receptors by glycine: role of an aspartate residue in the M3-M4 loop of the NR1 subunit. *Mol Pharmacol* 1996;50(4):701-8.
72. Chen N, Moshaver A, Raymond LA. Differential sensitivity of recombinant N-methyl-D-aspartate receptor subtypes to zinc inhibition. *Mol Pharmacol* 1997;51(6):1015-23.
73. Chen N, Luo T, Raymond LA. Subtype-dependence of NMDA receptor channel open probability. *J Neurosci* 1999;19(16):6844-54.
74. Charton JP, Herkert M, Becker CM, Schröder H. Cellular and subcellular localization of the 2B-subunit of the NMDA receptor in the adult rat telencephalon. *Brain Res* 1999;816(2):609-17.
75. Chen N, Luo T, Wellington C, Metzler M, McCutcheon K, Hayden MR, et al. Subtype-specific enhancement of NMDA receptor currents by mutant huntingtin. *J Neurochem* 1999; 72(5):1890-8.
76. Monyer H, Burnashev N, Laurie DJ, Sakmann B, Seeburg PH. Developmental and regional expression in the rat brain and functional properties of four NMDA receptors. *Neuron* 1994;12(3):529-40.
77. Ghasemzadeh MB, Sharma S, Surmeier DJ, Eberwine JH, Chesselet MF. Multiplicity of glutamate receptor subunits in single striatal neurons: an RNA amplification study. *Mol Pharmacol* 1996;49(5):852-9.
78. Portera-Cailliau C, Price DL, Martin LJ. N-methyl-D-aspartate receptor proteins NR2A and NR2B are differentially distributed in the developing rat central nervous system as revealed by subunit-specific antibodies. *Neurochem* 1996;66(2):692-700.
79. Chen Q, Reiner A. Cellular distribution of the NMDA receptor NR2A/2B subunits in the rat striatum. *Brain Res* 1996;743(1-2):346-52.
80. Heng MY, Detloff PJ, Wang PL, Tsien JZ, Albin RL. In vivo evidence for NMDA receptor-mediated excitotoxicity in a murine genetic model of Huntington disease. *J Neurosci* 2009;29(10):3200-5.
81. Qin ZH, Wang Y, Chen RW, Nakai M, Chuang DM, Chase TN. NF- κ B nuclear translocation upregulates c-Myc and p53 expression during NMDA receptor-mediated apoptosis in rat striatum. *J Neurosci* 1999;19(10):4023-33.
82. Hunot S, Brugg B, Ricard D, Michel PP, Muriel MP, Ruberg M, et al. Nuclear translocation of NF- κ B is increased in dopaminergic neurons of patients with Parkinson disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94(14):7531-6.
83. Meldrum B, Garthwaite J. Excitatory amino acid neurotoxicity and neurodegenerative disease. *Trends Pharmacol Sci* 1990;11(9):379-87.
84. Littleton JM, Lovinger D, Liljequist S, Ticku R, Matsumoto I, Barron S. Role of polyamines and NMDA receptors in ethanol dependence and withdrawal. *Alcohol Clin Exp Res* 2001; 25(5 Suppl ISBRA):132S-6S.

85. Ficker E, Tagliatalata M, Wible BA, Henley CM, Brown AM. Spermine and spermidine as gating molecules for inward rectifier K⁺ channels. *Science* 1994;266(5187):1068-72.
86. Fakler B, Brandle U, Glowatzki E, Weidemann S, Zenner HP, Ruppersberg JP. Strong voltage-dependent inward rectification of inward rectifier K⁺ channels is caused by intracellular spermine. *Cell* 1995;80(1):149-54.
87. Williams K. Modulation and block of ion channels: a new biology of polyamines. *Cellular Signalling* 1997;9(1):1-13.
88. Vivó M, de Vera N, Cortés R, Mengod G, Camón L, Martínez E. Polyamines in the basal ganglia of human brain. Influence of aging and degenerative movement disorders. *Neurosci Lett* 2001;304(1-2):107-11.
89. Colton CA, Xu Q, Burke JR, Bae SY, Wakefield JK, Nair A. Disrupted spermine homeostasis: a novel mechanism in polyglutamine-mediated aggregation and cell death. *J Neurosci* 2004;24(32):7118-27.
90. Sparapini M, Virgili M, Caprini M, Facchinetti F, Ciani E, Contestabile A. Effects of gestational or neonatal treatment with alphadimethylornithine on ornithine decarboxylase and polyamines in developing rat brain and on adult rat neurochemistry. *Exp Brain Res* 1996; 108(3):433-40.
91. Sircar R. Developmental maturation of NMDA receptor channel complex in postnatal rat brain. *Int J Dev Neurosci* 2000;18(1):121-31.
92. Johnson TD. Modulation of channel function by polyamines. *Trends Pharmacol Sci* 1996; 17(1):22-7.
93. Grishin EV, Volkova TM, Arseniev AS, Reshetova OS, Onoprienko VV. [Structural-functional characteristics of argiopine-the ion channel blockers from the spider *Argiope lobata* venom]. *Bioorg Khim* 1986;12(8):1121-4.
94. Mayer ML. Glutamate receptor ion channels. *Curr Opin Neurobiol* 2005;15(3):282-8.
95. Herin GA, Aizenman E. Amino terminal domain regulation of NMDA receptor function. *Eur J Pharmacol* 2004;500(1-3):101-11.
96. Nicoll RA, Malenka RC. Expression mechanisms underlying NMDA receptor-dependent long-term potentiation. *Ann N Y Acad Sci* 1999; 868:515-25.
97. Hartmann J, Ransmayr G, Riederer P. The glycine binding site of the NMDA receptor: involvement in neurodegeneration and new approach for neuroprotection. *J Neural Transm Suppl* 1994;43:53-7.
98. Bergeron RJ, Weimar WR, Wu Q, Feng Y, Mcmanis JS. Polyamine analogue regulation of NMDA MK-801 binding: a structure-activity study. *J Med Chem* 1996;39(26):5257-66.
99. Williams K, Romano C, Molinoff PB. Effects of polyamines on the binding of [3H]MK-801 to the N-methyl-D-aspartate receptor: pharmacological evidence for the existence of a polyamine recognition site. *Mol Pharmacol* 1989; 36(4):575-81.
100. Ransom RW, Deschenes NL. NMDA-induced hippocampal [3H] norepinephrine release is modulated by glycine. *Eur J Pharmacol* 1988; 156(1):149-55.
101. Williams K. Interactions of polyamines with ion channels. *Biochem J* 1997;325(2):289-97.
102. Westbrook GL, Mayer ML. Micromolar concentrations of Zn²⁺ antagonize NMDA and GABA responses of hippocampal neurons. *Nature* 1987;328(6131):640-3.
103. Turecek R, Vlcek K, Petrovic M, Horak M, Vlachova V, Vyklíčky L Jr. Intracellular spermine decreases open probability of N-methyl-D-aspartate receptor channels. *Neuroscience* 2004;125(4):879-87.
104. Traynelis SF, Hartley M, Heinemann SF. Control of proton sensitivity of the NMDA receptor by RNA splicing and polyamines. *Science* 1995;268(5212):873-6.
105. Klein RC, Prorok M, Galdzicki Z, Castellino FJ. The amino acid residue at sequence position 5 in the conantokin peptides partially governs subunit-selective antagonism of recombinant N-methyl-D-aspartate receptors. *J Biol Chem* 2001;276(29):26860-7.
106. Cu C, Bähring R, Mayer ML. The role of hydrophobic interactions in binding of polyamines to non-NMDA receptor ion channels. *Neuropharmacology* 1998;37(10-11):1381-91.