Nörodejeneratif Hastalıklarda Katlanmamış Protein Cevabının Tedavi Edici Potansiyeli

Therapeutic Potential of Unfolded Protein Response in Neurodegenerative Diseases

Aslı OKAN OFLAMAZ, Necdet DEMİR

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye

Yazışma Adresi
Correspondence Address

Necdet DEMİR
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Antalya Türkiye

E-posta: ndemir@akdeniz.edu.tr

Geliş tarihi \ Received : 06.04.2017
Kabul tarihi \ Accepted : 22.04.2017
Elektronik yayın tarihi : 17.04.2018
Online published

ÖZ

Endoplazmik retikulum (ER) sekretuvar veya membran proteinlerin sentezinden, salgılanmasından, lipid metabolizmasından ve Ca^{2}+'un depolanmasından sorumludur. Hipoksi, oksidatif stres, glukoz yoksunluğu, viral enfeksiyonlar ve ortamın sıcaklığı gibi hem fizyolojik hem de patolojik stres (zorlama) koşulları, yanlış katlanmış ya da katlanmamış proteinlerin ER lümeninde birikmesine neden olur. ER dengesinin bozulmasıyla ER stresi adı verilen olay meydana gelir. Hücreler normal durumlarına tekrar kavuşmak için strese karşı "katlanmamış protein cevabı (Unfolded Protein Response, UPR)" adı verilen sinyal yolağını aktif hale getirirler. UPR sinyali genel protein translasyonunu (sentezi) azaltarak ER lümeninde biriken protein yükünü azaltmayı hedefler. Ayrıca kontrolünde yer alan moleküler şaperonların (refakatçiler) transkripsiyonunu artırarak katlanmamış proteinlerin uygun bir şekilde katlanmalarını sağlar. Hafif ER stresi varlığında UPR, hücreyi koruyucu yönde etkilerken, uzun süren ve şiddetli ER stresi koşullarında hücreyi ölüme götüren, hücre kaderini belirleyen anahtar sinyal yolağıdır. Apoptozu tetiklediği durumlarda hastalıkların ortaya çıkması kaçınılmazdır. Özellikle son yapılan çalışmalarda, beyinin spesifik bölgelerinde protein birikimine bağlı gelişen nörodejeneratif hastalıklar ER stresi ile ilişkilendirilmektedir. Dolayısıyla UPR'de önemli rolleri olan moleküler şaperonlara benzer kimyasal şaperonların, ER stresine bağlı gelişen hastalıklarda tedavi edici potansiyelleri tartışılmaktadır. Bu derlemede, nörodejeneratif hastalıklarda ER stresi ve UPR'nin rolü ve bu sinyal yolaklarının olası tedavi edici mekanizmaları, güncel literatüre bağlı olarak değerlendirilmektedir.

Anahtar Sözcükler: Katlanmamış protein cevabı, Nörodejeneratif hastalıklar, Endoplazmik retikulum

ABSTRACT

The endoplasmic reticulum (ER) is responsible for lipid metabolism, Ca^{2}+ storage and synthesis and secretion of secretory or membrane proteins. Both physiological and pathological stress conditions including hypoxia, oxidative stress, glucose deprivation, viral infections and ambient temperature cause accumulation of unfolded or misfolded proteins in the ER lumen. When ER homeostasis is impaired, a condition called ER stress occurs. Cells activate the signaling pathway called the Unfolded Protein Response (UPR) to regain their normal state. The UPR signal aims to reduce the protein burden accumulated in the ER lumen by reducing overall protein translation. It also allows the molecular chaperones to fold the unfolded proteins appropriately by increasing their transcription. In the presence of mild ER stress, the UPR effects cells in a protective way while it is the key signaling pathway that determines the cell destiny and leads to cell death under prolonged and severe ER stress conditions. It is inevitable for diseases to occur when apoptosis is triggered. Protein accumulation in the specific regions of the brain in neurodegenerative diseases have been linked to ER stress in recent studies. The therapeutic potentials of chemical chaperones similar to molecular chaperones, which have important roles in UPR, have therefore attracted interest. In this review, the role of ER stress and the UPR in neurodegenerative diseases and the possible therapeutic mechanisms of these signaling pathways have been evaluated based on the current literature.

Key Words: Unfolded protein response, Neurodegenerative diseases, Endoplasmic reticulum

DOI: 10.17954/amj.2018.129

GİRİŞ

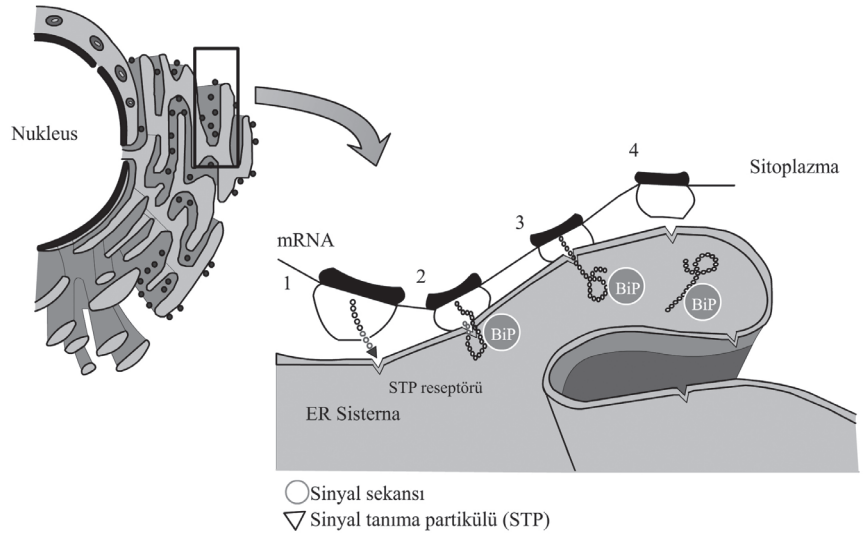
Artan ER stresi ve bununla ilişkili UPR fizyolojik süreçlerde olduğu kadar patolojik koşullar altında da önemli bir rol oynamaktadır. UPR çoğunlukla hücreleri korur ve bozulan hücre dengesini yeniden sağlar. Ancak, uzun süreli UPR aktivasyonu çeşitli patolojilerin gelişimine yol açabilir. Obezite ve Tip 2 diyabet (1), Wolcott-Rallison sendromu (2), α1-Antitripsin eksikliği (3), kistik fibrozis (4) ve nörodejeneratif hastalıklar (5-7) ER stresi ve UPR ile ilişkilendirilmektedir. Bütün bu hastalıkların ortak noktası, hastalığa ilişkin proteinin sürekli olarak ER'de yanlış katlanarak birikmesidir. Son yıllarda ER stresi ile ilişkili nörolojik hastalıkların, UPR sinyal yolağındaki elemanların manipülasyonuyla, özellikle moleküler şaperonların kullanımıyla tedavi edilebileceği yönünde çalışmalar bulunmaktadır (8-10).

Endoplazmik Retikulum ve Endoplazmik Retikulum Stresi

Endoplazmik retikulum, bütün ökaryotik hücrelerde bulunan zarla kaplı yassı kesecik ve kanalcıklardan oluşan önemli bir organeldir (11). Zarların sitozole bakan yüzeyinde ribozom bulunduran Granüllü Endoplazmik Retikulum, proteinlerin sentezinden ve salgılanmasından sorumlu iken, Düz Endoplazmik Retikulum ribozomdan yoksun olduğu için protein sentezine dahil olmaz, fakat kalsiyum dengesinin düzenlenmesinden, karbonhidrat metabolizmasından, yağ asitleri ve fosfolipidlerin sentezinden sorumludur (12).

ER'de değişime uğrayacak sekretuvar ya da membran proteinleri öncelikle N-terminal ER sinyal sekansı ile işaretlenirler. Ko-translasyonel modifikasyon boyunca, sinyal tanıma partikülü (signal recognition particle, SRP) yeni oluşan proteinin üzerindeki sinyal sekansını, ribozomu ve ER membranı üzerindeki SRP reseptörünü tanıyarak bağlanır. Sonra ribozom-yeni oluşan polipeptid zincir kompleksi, SEC61 (endoplazmik retikulum membran protein translokatörü) translokonuna transfer olur. Sinyal peptidi ER membranı üzerinde yer alan sinyal peptidaz tarafından yarıklanarak yeni oluşan zincir translokon aracılığı ile ER lümenine girer (13). ER'de bulunan katlanma enzimleri ve moleküler şaperonlar; buraya gelen proteinlerin uygun konformasyonlarda katlanarak olgun hale geçmelerine yardımcı olurken bir yandan da yanlış katlanan proteinlerin yıkımının gerçekleşmesinde rol oynarlar (Şekil 1) (14).

Glukozla regüle edilen protein (Glucose regulated protein, GRP) sistemine dahil olan ısı şoku proteini 70 (Heat shock protein 70, Hsp70) ailesinin şaperonları ve ısı şoku proteini 40 (Heat shock protein 40, Hsp40) ailesinin ko-şaperonları, ER lektin benzeri şaperon sistemine dahil olan transferazlar ve glukozidazlar ile birlikte kalretikulin ve kalneksin, protein disülfid izomeraz ailesi disülfid bağlı oksidaz, redüktaz ve izomeraz enzimleri ER'nin kalite kontrol sistemini (endoplasmic reticulum quality control, ERQC) oluşturan önemli yapı taşlarıdır. ERQC sistemi ile yeni oluşan bir proteinin doğal konformasyonuna dönüşümü gerçekleşir. Uygun bir şekilde katlanan proteinler veziküler taşıyıcılar vasıtasıyla Golgi aygıtına taşınarak buradan ya plazma membranına ya da lizozomal membrana veya salgılanmak için granüllerin içine yüklenirler. ERQC sisteminin seçici şaperonları ve ER degradasyon artırıcı α-mannozidaz benzeri protein gibi spesifik mannoz lektinler uygun olmayan, yanlış katlanmış ya da katlanmamış proteinleri etiketler. Bu durum proteinlerin tanınmalarını ve SEC61



1. Değişime uğrayacak proteinler N-terminal ER sinyal sekansı ile işaretlenir. STP yeni oluşan proteinin üzerindeki sinyal sekansını, ribozomu ve STP reseptörünü tanır ve bağlanır.

2. Ribozom ve yeni oluşan polipeptit zincir kompleksi SEC61 translokonuna transfer olur.

3. Sinyal sekansı sinyal peptidaz tarafından uzaklaştırılır. Yeni oluşan zincir translokon aracılığı ile ER lümenine girer.

4. ER'de bulunan katlanma enzimleri ve moleküler şaperonlar (örn. BiP) proteinleri uygun konformasyonlarada katlanmalarına yardımcı olurlar.

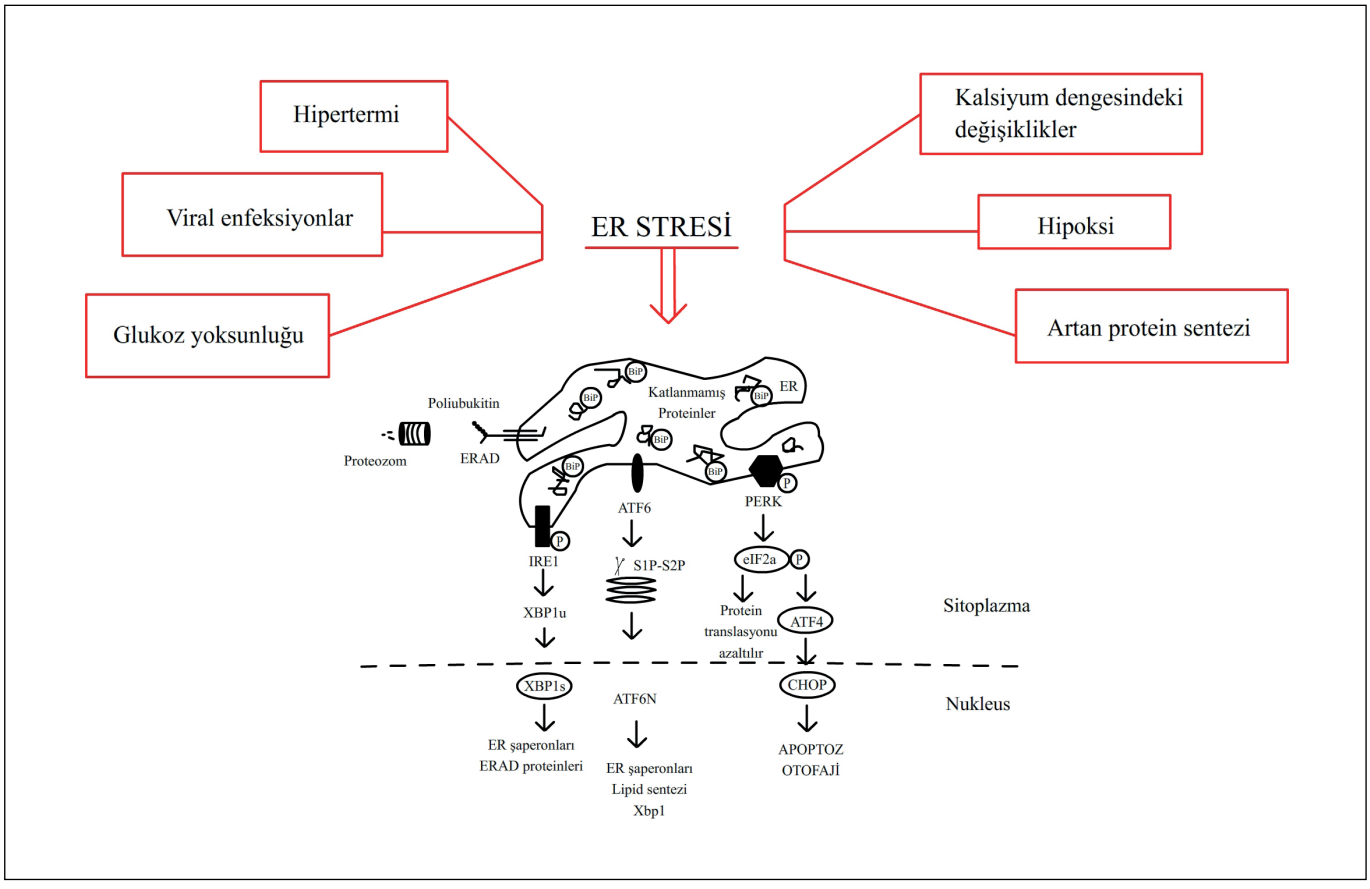
Şekil 1: Endoplazmik retikulumda protein sentezi (57) (Modifiye edilmiştir).

translokonu vasıtasıyla sitozole retrotranslokosyonu kolaylaştırır (13).

ER'nin, evrimsel olarak plazma membranının invajinasyonu ile geliştiği öne sürülmektedir (15). ER'nin lümeni ekstraselüler koşullara benzer bir çevreye sahiptir. Örneğin, lümende depolanan kalsiyum konsantrasyonu ekstraselüler çevreninki ile aynıdır. Yüksek kalsiyum konsantrasyonu burada bulunan enzimlerin ve ER şaperonlarının aktivite göstermeleri için gereklidir (16). Böylelikle, bütün sekretuar ve membran proteinleri hücreden ayrılmadan önce ER'nin içinden geçerek, aslında ekstraselüler çevre ile karşı karşıya gelirler. Böylece, ER son olarak proteinlerin uygunluğunu kontrol eder ve konformasyonlarını sabitler (11).

ER, sekretuar yolağa doğru gönderilecek proteinlerin geçiş bölgesidir. Buraya gelen yeni sentezlenen peptidler, uygun işlevsel protein özelliklerini kazanmak için moleküler şaperonlar aracılığı ile N-bağlı glikozillenme, disülfid bağ oluşumu, hidroksillenme gibi post-translasyonal modifikasyonlar geçirerek en düşük enerji konformasyonu olan tersiyer yapıda katlanırlar. Doğru katlanan proteinler paketleme ve salgılama için Golgi aygıtına ya da membrana taşınır (17).

Oldukça aktif olan ER'nin karmaşık işlevleri, hem hücre içindeki hem de mikro çevresindeki faktörlerden etkilenir. Örneğin, glukoz yoksunluğu, viral enfeksiyonlar, hipertermi, kalsiyum dengesindeki değişiklikler, hipoksi, artan protein sentezi gibi faktörler ER homeostazını bozar ve protein katlanmalarında hatalara neden olur. Böyle bir durumda yanlış katlanmış ya da katlanmamış proteinler ER'de birikir. Sonuç olarak hücrede ER stresi meydana gelir (18). ER, hücresel iyileşme ve hayatta kalma mekanizması olarak, strese katlanmamış protein cevabı UPR ile karşılık verir. Yanlış katlanan proteinler glukoz ile regüle edilen protein (glucose-regulated protein, GRP) 78 ve GRP94 gibi polipeptid bağlayıcı proteinler tarafından doğru konformasyonda katlanmaları sağlanır. Tamir edilemeyen proteinler ise, hücre dışına iki ayrı mekanizma ile çıkarılır. Bu mekanizmalardan ilki 'Endoplazmik Retikulum İlişkili Bozunma (ER-associated degradation-ERAD)'dır. Fonksiyonel olarak uygun konformasyonlarını kazanamayan proteinler ERAD aracılığı ile sitozole geri taşınır ve parçalanmaları için proteozomlara teslim edilir. İkinci mekanizma ise hasarlı proteinlerin hücresel artıklar ile bir araya gelerek oluşturdukları agrezomun otofaji yardımıyla geri dönüştürülmesidir (19). Bu mekanizmalar UPR tarafından düzenlenir (Şekil 2). Akut durumda meydana gelen fizyolojik bir yanıt olan UPR, çözümlenemeyen kronik ER stresi koşulları altında patolojilere yol açtığı gibi hücrenin ölümüne de neden



Şekil 2: ER Stresine yol açan faktörler ve katlanmamış protein cevabı sinyali.

olabilir (20). Hücre kaderini belirlemede etkili olan önemli mekanizmalardan birini oluşturan ER stresi, bu nedenle tedaviye yönelik pek çok çalışmanın odak noktası durumundadır (21, 22).

Katlanmamış Protein Cevabı (UPR)

UPR, ER lümeninde bulunan üç transmembran proteininin aktivasyonu ile başlatılır: Protein kinaz RNA benzeri ER kinaz (protein kinase RNA-like endoplasmic reticulum, PERK), inositol gerektiren enzim-1 (inositol-requiring enzyme 1, IRE-1) ve aktive edici transkripsiyon faktörü-6 (activating transcription factor 6, ATF-6). Bu transmembran proteinler normal koşullarda ER lümeninin yanında bulunan ve bir ER şaperonu olan immunglobulin ağır zincir bağlayan protein/glikoz ile düzenlenen protein 78 (binding immunglobulin protein, BiP/GRP78)'e bağlı durumdayken inaktiftirler. Stres koşullarında ER lümeninde biriken hatalı katlanmış proteinler BiP/GRP78 havuzunu azaltırlar ve GRP78'in ER stres sensörleri olan PERK, IRE1α ve ATF6'dan ayrılmasına neden olurlar (23).

Tip 1 transmembran proteini olan PERK, GRP78'den ayrıldığı zaman kinaz domaini otofosforillenir ve dimerizasyonu gerçekleşir. Böylelikle PERK, aktif hale gelir. PERK'in aktivasyonu ile birlikte downstream efektörü olan ökaryotik başlatıcı faktör 2 alfa (eucaryotic initiation factor 2 alpha, eIf2α) fosforillenir. ER'ye gelen yeni protein yükünü hafifletmek ve hücrenin hayatta kalımını sağlamak için genel protein translasyonu azaltılır (24).

5' transle olmayan bölgelerinde iç ribozomal giriş bölgesi gibi bazı düzenleyici sekansları taşıyan genler, eIf2α bağımlı translasyonal engeli geçebilirler (23). Bu genlerden biri aktive edici transkripsiyon faktörü 4 (activating transcription factor 4, ATF4)'tür. eIf2α'nın fosforillenmesi ile birlikte aktive olan ATF4, ER işlevi ve apoptoza katkı sağlayan genler için transkripsiyon faktörü gibi rol oynar. Örneğin, apoptotik hücre ölüm yolağının aktive olmasında rol oynayan transkripsiyon faktörü C/EBP homolog proteinin (C/EBP homolog protein, CHOP) indüksüyonu ATF4'e bağlıdır (25). ATF4 tarafından indüklenen diğer bir gende büyümenin durması ile ve DNA hasarı ile uyarılabilen protein 34 (growth arrest and DNA damage-inducible protein, GADD34)'tür. GADD34, ökaryotik serin/treonin fosfataz protein fosfataz 1'e bağlanarak eIf2α'nın defosforile olması için negatif geri besleme gibi görev yapar (26). PERK'in aktive olması ile birlikte hücrenin hayatta kalması için fosforillenen diğer bir protein nükleer faktör eritroid 2 ilişkili faktör (nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2)'dir. Nrf2, Kelch benzeri ECH-ilişkili protein 1 (Kelch-like ECH-associated protein 1, Keap 1) ile birlikte sitoplazmik kompleks oluşturur. Nrf2/Keap 1 kompleksi stres olmayan koşullarda sitoplazmada bulunur ve ubuikitin-proteozom tarafından parçalanır. Stres durumunda ise Nrf2 kompleksten ayılır ve nükleusa taşınır. Antioksidan proteinleri ve detoksifiye eden enzimleri kodlayan genler için transkripsiyon faktörü gibi davranır (27).

UPR'nin ikinci kolu IRE1'dir. PERK gibi IRE1'de tip 1 transmembran kinazdır ve her iki proteinin ER lüminal domainleri, ER stresi ile düzenlenen oligomerizasyon domainleridir. IRE1, hem kinaz hem de endonükleaz aktivitesine sahiptir. IRE1'in ER lüminal domaininden BiP ayrıldıktan sonra, IRE1 oligomerize olur ve otofosforilasyon ile kinaz aktivitesi artar (28). c-Jun N-terminal kinazı (c-jun N-terminal kinase, JNK) aktive ederek kaspaz sinyal kaskadını başlatır. IRE1'in endoribonükleaz domaini ise X-box bağlayıcı protein-1 olarak adlandırılan transkripsiyon faktörünün mRNA'sından 26 nükleotit uzaklaştırarak Xbp-1'in uç birleştirme (Xbp-1 spliced, Xbp-1s) formunu oluşturur. Xbp-1'in uç birleştirme olmayan formu (Xbp-1 unspliced, Xbp-1u) sürekli sentezlenir. Ancak kararsızdır ve hızlı bir şekilde parçalanır. Yapılan çalışmalara göre; Xbp-1u, UPR'deki Xbp-1 yolağının potansiyel inhibitörüdür ve proteoliz ile ortamdan uzaklaştırılması uygun UPR aktivasyonu için gereklidir (29). Nükleusa taşınan aktif Xbp-1s ise; ER şaperonlarının ve ERAD proteinlerinin ifadelerini artırır. Ayrıca ER'nin genişlemesinde rol oynar (11).

UPR'nin üçüncü kolu aktive edici transkripsiyon faktörü 6 (activating transcription factor 6, ATF6)'dır. Tip 2 transmembran proteini olan ATF6'nın, ATF6 α ve ATF6 β olmak üzere iki adet homolog proteini vardır. Bu proteinlerin, korunmuş DNA bağlayan domainleri ve farklı transkripsiyonel aktivasyon domainleri vardır. Bunlar nükleusa taşınır ve spesifik düzenleyici elemanlara bağlanarak GRP78 gibi ER stresi cevabında rol oynayan genlerin ifadesini etkilerler. ER stresinin çözülmesine katkıda bulunarak, hücrenin hayatta kalmasına yardımcı olurlar. N-ATF6α'nın hızlı bir şekilde parçalandığı ve güçlü transkripsiyonel aktivatör olduğu, bunun yanında N-ATF6β'nın yavaş bir şekilde parçalandığı ve zayıf aktivatör olduğu gösterilmiştir (30).

ATF6, N terminalinde iki adet GLS1 ve GLS2 olarak adlandırılan Golgi lokalizasyon sinyali içerir. Normal koşullarda GRP78, GLS1 ile etkileşim halinde bulunarak ATF6'nın inaktif formda kalmasını sağlar. ER stresi sırasında GRP78'in ayrılması ile birlikte ATF6'nın Golgi aygıtına taşınımı gerçekleşir. Bu süreç, GLS2 domainine ihtiyaç duyar. ATF6, Golgi'de Site 1 (S1P) ve Site 2 (SP2) proteazlar tarafından intramembran proteolize uğrar. Yarıklanan kısım, nükleusa taşınır ve UPR hedef genlerinin aktivasyonunu sağlayan transkripsiyon faktörü gibi davranır (31). Lipid sentezinde rol alan genlerin, ER şaperonlarının ve Xbp1'in ifadelerini artırır (Şekil 2) (11).

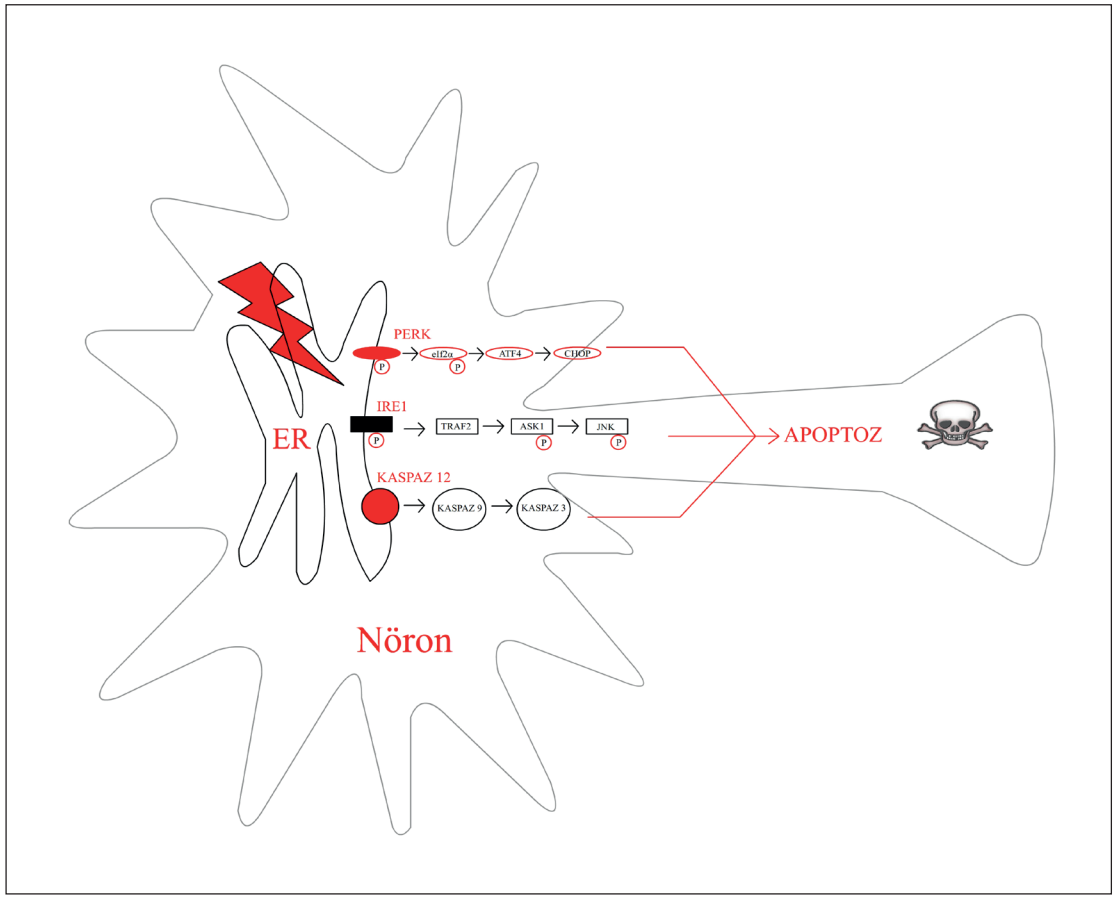
Kronik ER stresinin fizyolojik bir sonucu olan hücre ölümü; kanser, inflamasyon, metabolik hastalıklar ve nörodejeneratif rahatsızlıkları kapsayan pek çok hastalığın patogenezinde önemli rol oynamaktadır (32). ER stresi ile bağlantılı en az üç apoptoz yolağı bilinmektedir. Bunlardan ilki CHOP transkripsiyonel aktivasyonudur. Şiddetli ER stresine cevap olarak, PERK-eIf2α-ATF4 yolağı CHOP gibi proapoptotik faktörlerin transkripsiyonunu aktive eder. bZIP transkripsiyon faktörlerinin C/EBP ailesinin bir üyesi olan (33) CHOP, aynı zamanda gelişimi durdurucu ve DNA hasar indükleyici gen 153 (growth arrest and DNA damage 153, GADD153) ve DNA hasar indüklenebilir transkript 3 (DNA damage-inducible transcript 3, DDIT3) olarak da bilinir. B hücre-lenfoma 2 (B- cell lymphoma- 2, Bcl-2)'nin ifadesi CHOP ifadesinden fazla olduğunda CHOP indüklü apoptozu indüklerken, CHOP ifadesinin fazla olması Bcl-2 proteininin azalmasına neden olur (Şekil 3) (34).

İkincisi; IRE1, tümör nekroz faktör reseptör ilişkili faktör 2 (TNF receptor-associated factor 2, TRAF2) ve apoptoz sinyal düzenleyici kinaz 1 (apoptosis signal-regulating kinase 1, ASK1) kompleksi tarafından düzenlenen JNK yolağının aktivasyonudur (Şekil 3) (35).

Üçüncüsü ise ER ilişkili Kaspaz 12'nin aktivasyonudur. Ölüm reseptörü aracılı ya da mitokondri hedefli apoptotik sinyaller tarafından aktive olmazken, ER stresi tarafından aktive edilmektedir. Prokaspaz 12 endoplazmik retikulumun sitoplazmik kısmında bulunur ve ER stresi ile yarıklanır ve aktive olur. Kaspaz 12 sadece rodentlerde ifade edilmektedir. İnsandaki homoloğu evrim sırasında çeşitli mutasyonlar tarafından susturulmuştur (36). Kalsiyum bağımlı sistein proteaz ailesinden kalpainlerin Kaspaz 12 aktivasyonunda rol oynadığı gösterilmiştir. Kalpain eksik fare embriyonik fibroblastlarında ERS ile indüklenen Kaspaz 12 aktivasyonunda azalma ve ER stresi ilişkili apoptoza direnç gösterdikleri gözlenmiştir (37). Buna ek olarak IRE1'in TRAF2 aracılığıyla Kaspaz 12'nin oligomerizasyonunu ve yarıklanmasını indüklediği gösterilmiştir (38). Kaspaz 12'den başka Kaspaz 3, 6, 7, 8 ve 9 çeşitli ER stresi çalışmalarında gösterilmiştir. Özellikle Kaspaz 12'nin ER stresi ile indüklenen apoptoza aracı olduğu ileri sürülmektedir (39). Yarıklanan Kaspaz 12, prokaspaz 9'un yarıklanmasına neden olur. Aktif Kaspaz 9'da Kaspaz 3'ün aktivasyonuna neden olarak apoptozun gerçekleşmesini sağlar (Şekil 3) (40).

UPR ile İlişkili Nörodejeneratif Hastalıklar

Nörodejeneratif hastalıklarda, nöronal kayıpların tespit edildiği beyinin spesifik bölgelerinde protein kümelerine rastlanır. Bunun gibi patolojilerde, ER lümeninde biriken yanlış katlanmış proteinlerin varlığından kaynaklanan ER stresi ile nörodejenerasyon arasında bir ilişkinin



Şekil 3: Endoplazmik retikulum stresi ile başlatılan apoptoz mekanizmaları.

olduğu düşünülmektedir. Sinir sistemindeki ER stresinin çözülmesi için başlatılan UPR'nin rolü spekülatif olsa da, UPR aktivasyonu, tedavi seçenekleri sınırlı olan Parkinson, Huntington ve Alzheimer gibi çeşitli nörodejeneratif hastalıklarda gözlenmiştir (41). Son yapılan çalışmalar, nörodejeneratif hastalıklarda meydana gelen nöronal kayıpların, UPR manipülasyonu ile tedavi edilebileceğini düşündürmektedir (8-10).

Parkinson Hastalığı

Parkinson hastalığı (Parkinson's disease, PD), Lewry cisimciklerinin beyinde substansiya nigra pars kompakta bölgesinde anormal birikmesi sonucu dopaminerjik nöronların kaybıyla karakterize, nörodejeneratif hareket bozukluğudur. Seyrek görülen PD'de Lewry cisimciklerinin ana komponenti α-sinüklein (α-synuclein, α-Syn)'dir. α-Syn'deki mutasyonlar otozomal dominant kalıtılan PD'ye neden olur. Dopamin ifade eden ve nöronal büyüme faktörü ile nöronal benzeri fenotipe farklılaşan sıçan feokromositoma PC12 hücre hattında, mutant A53T α-Syn indüksiyonunun ER stresini başlattığı ve Kaspaz 12 aktivitesini artırdığı gösterilmiştir (42). Otozomal çekinik juvenil parkinsonizm olarak bilinen PD'nin familyal formunda, parçalanacak proteinleri işaretleyen ubukitin protein ligaz E3'ü kodlayan *Parkin* geni hasarlıdır. Hatalı E3 aktivitesi sonucu Parkin substratları işaretlenemediği için parçalanmaz ve ER'de birikerek, nöronlarda ER stresine neden olurlar. Parkin proteininin UPR ile olan ilişkisi *in vitro* çalışmalarda ortaya konulmuştur. Dopaminerjik nöroblastoma hücrelerinde, Parkinin aşırı ifadesinin ER stresini azalttığı ve UPR tarafından indüklenen nöronal hücre apoptozunu baskıladığı gözlenmiştir (11). Silva ve ark. dopamin nöron ölümünü indüklemek için, gelişen ve yetişkin farelere 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) ve 6 hydroxydopamin (6OHDA) uygulayarak, her iki modelde de CHOP'un nöronal hücre ölümünü düzenlediğini öne sürmüşlerdir. Çünkü CHOP mutasyona uğratılarak işlevsiz hale getirildiğinde, dopaminerjik nöronların apoptoza direnç geliştirdikleri gözlenmiştir (43).

Huntington Hastalığı

Özellikle striatumda, nöronların dejenerasyonu ve kaybı ile karakterize kalıtsal otozomal dominant nörodejeneratif bir hastalıktır. Huntingtin proteinini (htt) kodlayan gendeki CAG trinükleotidlerin tekrarlarındaki artıştan kaynaklanan genetik bir hastalıktır. CAG artışından dolayı poliglutamin hastalığı olarak da adlandırılır (44). Uzun htt protein fragmentleri birbirine bağlanır ve perinüklear alanda sitoplazma bölgelerinde birikir. Çoğunlukla nörondaki bu birikimler hareketi, düşünmeyi ve duyguyu kontrol eden beyin bölgelerinin işlevini bozar (11). Htt proteininin ER morfogenezinin devamlığında da önemli olduğu vurgulanmıştır. Mutant htt proteininin sitozolde biriktiği ve ER stresini indüklediği öne sürülmektedir. *In vitro* modellerde, apoptoz sinyali düzenleyici kinaz 1 (apoptosis signal-regulating kinase 1, ASK1) proteini ve birikmiş htt varlığında ER stres belirteçleri olan GRP78 (BiP), IRE1, PERK, CHOP ve Kaspaz 12 ifadelerinde artış gözlenmiştir. ASK 1, htt proteinleri ile etkileşime girip ER stresini indüklediği öne sürülmüştür. Fare motor işlev bozukluğunu artıran ASK1'in inhibisyonu ile inaktif olan ASK'in htt proteinleri ile etkileşimi sonucu htt protein birikiminin önlendiği düşünülmektedir (44). Biriken protein yükünü azaltarak ER homeostazını sürdürmek yanlış katlanan protein birikimi kaynaklı hastalıkların ilerlemesini durdurabilir.

Alzheimer Hastalığı

Yaş ile bağlantılı nörodejeneratif bir hastalık olan Alzheimer hastalığının (Alzheimer's disease, AD), en önemli klinik belirtisi hafıza kaybı ve kognitif yetersizliktir. Nöropatolojik olarak, beyinde amiloid beta (Aβ) içerikli ekstraselüler plak birikimi, hiperfosforile tau proteini içeren nörofibriler yumakların varlığı ve nöronal hücre ölümüne bağlı nöron kaybı ile karakterizedir (44). AD'nin gelişiminde ve patogenezinde ER'nin rolü birçok çalışmada gösterilmiştir (7, 45). AD patolojisinin farklı evrelerinde UPR aktivasyonunu inceleyen Hoozemaans ve ark., Alzheimer hastalarına ait postmortem beyinde hipokampüs ve temporal korteks bölgelerindeki nöronlarda, BiP/GRP78 ve p-PERK lokalizasyon ve ifade değerlerinin kontrol grubuna göre arttığını göstermişlerdir (7). β ve γ sekretazlar tarafından amiloid öncül proteinin (amyloid precursor protein, APP) yarıklanmasıyla üretilen Aβ 42 rezidü peptidinin ekstraselüler ve yanlış katlanmış şekilde ER'de birikimi ile amiloid plaklar meydana gelmektedir (46). Bundan dolayı, özellikle Aβ 42 üretiminin inhibisyonu ile hastalığın ilerlemesi ve gelişmesinin durdurabileceği bildirilmektedir (47).

Kimyasal Şaperonlar

Son zamanlarda, nörodejeneratif hastalıklarda UPR'de önemli rolleri olan moleküler şaperonlar gibi davranan kimyasal şaperonların etkileri incelenmiştir (48, 49).

Alzheimer, Parkinson ve Huntington gibi çeşitli nörodejeneratif hastalıklar protein katlanmasındaki hatalardan kaynaklanmaktadır. Hastalığa spesifik protein, yanlış katlandığı zaman, beyinde birikim gösterir. Bu toksik agregatlar nöronal fonksiyon bozukluğu, hücre ölümü ve klinik semptomlara neden olur. Terapötik yaklaşım yanlış katlanan ve biriken proteinlerin doğal konformasyonunu korumak ve sabitlemektir. Son zamanlarda hatalı katlanan protein seviyelerini azaltmada etkili olan şaperon olarak bilinen küçük moleküllerin, bu tür hastalıkları tedavi etmede etkili olabilecekleri düşünülmektedir (50).

Nörotoksik agregatların birikimini önlemek için, protein kalite kontrol sistemine sahip hücreler protein katlanmasını kontrol ederler ve yanlış katlanan proteinleri ortadan kaldırırlar. Ne yazık ki yaş ilerledikçe protein sentezi, katlanması ve parçalanmasındaki denge değişebilir ve hatalı katlanan proteinlerin fazla birikimi protein kalite kontrol sisteminin kapasitesini aşabilir. Bu durumda hücre normal fonksiyonuna yeniden kavuşmak için UPR ile birlikte protein sentezini durdurur ve protein katlanmasında rol oynayan şaperonların ortamdaki seviyelerini artırır. Eğer UPR, ortamdaki katlanmamış proteinlerin birikimini engelleyemez ise hücreyi apoptoza yönlendirir (Şekil 3). Özellikle, protein kontrol sisteminin etkinliğini artırarak yanlış katlanan protein hastalıkları ile mücadele edilebilir (50).

Protein kontrol sisteminin önemli bir parçası olan şaperonlar, doğru katlanan uygun proteinleri tanıyarak onların parçalanmasını ve uygun yerlere taşınımını sağlayarak birikimi engellerler. Şaperonlar moleküler, farmakolojik ve kimyasal olmak üzere üç grupta sınıflandırılır. Moleküler şaperonlar, yanlış katlanan proteinlerin doğru bir şekilde katlanmasında diğer şaperonlara göre daha etkindir. Örneğin; ısı şoku proteinleri, nörodejeneratif hastalıklarda, hücrelerde bulunan nöroprotektif özellikte başlıca moleküler şaperonlardır (51).

Kimyasal ya da termal olarak indüklenen denaturasyona karşı protein konformasyonunu stabil olarak kalmasını sağlayan düşük moleküler ağırlıklı bir grup kimyasal ya da farmasötik şaperon bulunmaktadır (11). Farmakolojik şaperonlar, spesifik olarak proteinlere bağlanır, proteinlerin yeniden katlanmalarını sağlar ya da bu proteinleri daha kararlı bir yapıda kalmalarını indükler. Kimyasal şaperonlar ise yeni sentezlenen proteinlere non-spesifik şekilde bağlanırlar ve protein sekresyon sürecini artırırlar. Bu şaperonların, ER kapasitesini artıran, ERAD ve ER protein katlama aktivitesinde yer alan genlerin transkripsiyonunu artırdığı düşünülmektedir. Ayrıca kimyasal şaperonlar, ER lümeni içine kalsiyum akışını değiştirerek kalsiyum dengesini etkileyebilirler (11). Farmakolojik şaperonların aksine, bu moleküller sadece yüksek konsantrasyonlarda etki gösterirler (50). Polioller, aminler, gliserol, trimetilamin N-oksid (TMAO), dimetil sulfoksit, 4-fenil butirik asit (PBA) ve tauroursadeoksikolik asit (TUDCA) kimyasal şaperon aktivitesine sahip ajanlardan bazılarıdır (11). Son zamanlarda, nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde kimyasal şaperonların rolü ve terapötik potansiyelleri büyük ilgi görmektedir.

Kimyasal ajanlardan TMAO, termodinamik olarak kararsız proteinlerin katlanmasını ve yüksek işlevsel aktivitesini tekrar kazanmalarını sağlar. *In vitro* çalışmalarda, TMAO'nun Parkinson hastalığında katlanmamış formda biriken α-synuclein proteininin doğal konformasyonuna dönüşümünü indüklediği gösterilmiştir (52). Benzer şekilde, TMAO ve poliollerin, Alzheimer hastalığında biriken amyloid beta peptidin normal konformasyonuna dönüşümünü hızlandırdığı belirlenmiştir (53).

PBA ve TUDCA, katlanmamış proteinlerin hidrofobik kısımları ile etkileşime girerek, proteinlerin bir araya gelerek birikmesini engellerler. Özellikle PBA, Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (U.S. Food and Drug Administration, FDA) tarafından tedavide kullanımı onaylanan küçük moleküler bir şaperondur. ER stresine karşı UPR sinyal yolağını hedefleyen çalışmalarda koruyucu etkileri olduğu gösterilmiştir. PBA, kan-beyin bariyerini geçebilme özelliğinden dolayı nöropatolojik durumlarda aday terapötiktir (11). Alzheimer hastalığı nöronal hücre kültür modelinde, PBA ile tedavi, tau proteini fosforilasyonunun azalmasını sağlayarak nöroprotektif bir etki göstermiştir. Benzer şekilde Parkinson hastalığı hücre modelinde, PBA'nın, oksidatif stresi ve protein birikimini azaltan önemli genlerin ifadelerini indüklediği gösterilmiştir (50). PBA'nın AD farelere oral yolla uygulanması sonucu kognitif hasarlar düzelmiş ve hipokampüste bulunan çok sayıda plağın sayısı azalmıştır (54). Hayvan çalışmalarından yola çıkarak PBA'nın oral yolla etkili tedavisi insanlara uyarlanmıştır. Alzheimer tedavisinde etkili dozun günde 15 g olduğu belirtilirken, uzun süreli klinik çalışmaların yapılması gerektiği vurgulanmıştır (50).

Karaciğerde kolesterolden sentezlenen asidik steroidler safra asitleridir. Bunlar ince bağırsaklarda bakteriler tarafından dehidroksile olurlar ve deoksikolik asit ya da ursadeoksikolik asit (ursadeoxycholic acid, UDCA) gibi ikincil safra asitlerine dönüşürler. İkincil safra asitleri karaciğere döner ve UDCA'nın taurine aminoasiti ile konjuge olarak Tauroursadeoksikolik asiti (tauroursodeoxycholic acid, TUDCA) oluşturması gibi, aminoasitler ile konjuge olurlar. Başlıca görevleri, besin ile alınan yağ ve yağda çözünen vitaminlerin bağırsaklardan emilimini sağlamaktır (55). Hem UDCA hem de TUDCA, kaspaz aktivasyonunun ve ER stresinin azalmasında, oksijen radikal oluşumunun inhibe edilmesinde rol oynayan güçlü apoptoz inhibitörleridir. Alzheimer, Parkinson ve Huntington gibi nörodejeneratif hastalık modellerinde TUDCA'nın anti-apoptotik ajan olarak davrandığı ve sitoprotektif özellikler gösterdiği belirtilmiştir (56). Sıçan Huntington hastalığı modelinde TUDCA ile tedavi sonucunda hem davranışsal bozuklukların hem de nöropatolojinin önlendiği gösterilmiştir. Ayrıca, Huntington hastalığına sahip genetik fare modelinde de TUDCA'nın yararlı etkileri gösterilmiştir. Striatal nöropatolojinin azaldığı, daha küçük ve daha az ubikitinlenmiş nöronal intranükleer huntingtin inklüzyonlarının varlığı kaydedilmiştir. Lokomotor ve sensorimotor hasarlarının önemli derecede iyileştiği gözlenmiştir (55).

SONUÇ

ER stresine karşı koruyucu olan kimyasal şaperonların nörodejeneratif hastalıklar ile ilişkili fonksiyonel bozuklukları ve nöron ölümünü azaltıcı potansiyele sahip olduğu gösterilmiştir. Ayrıca UPR sinyalinde yer alan proteinlerin aktivasyonunun ya da inhibisyonunun hastalığın seyrini etkileyebileceği bildirilmiştir. Dolayısıyla, UPR'nin anahtar elemanları olan moleküler şaperonların ve diğer sinyal proteinlerinin tedavi edici etkili uygulamalarının belirlenmesi için UPR'nin moleküler düzeyde nasıl düzenlendiği daha ayrıntılı biçimde araştırılmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Ozcan U, Cao Q, Yilmaz E, Lee AH, Iwakoshi NN, Ozdelen E, Tuncman G, Görgün C, Glimcher LH, Hotamıslıgil GS. Endoplasmic reticulum stress links obesity, insulin action, and type 2 diabetes. Science 2004; 306(5695): 457-61.
2. Biason-Lauber A, Lang-Muritano M, Vaccora T, Schoenle EJ. Loss of kinase activity in a patient with Wolcott-Rallison syndrome caused by a novel mutation in the EIF2AK3 gene. Diabetes 2002; 51(7): 2301-5.
3. Lawless MW, Greene CM, Mulgrew A, Taggart CC, O'Neil SJ, McElvaney NG. Activation of endoplasmic reticulum-specific stress responses associated with the conformational disease Z alpha 1-antitrypsin deficiency. Journal of Immunology 2004; 172(9): 5722-6.
4. Rab A, Bartoszewski R, Jurkuvenaite A, Wakefield J, Collawn JF, Bebok Z. Endoplasmic reticulum stress and the unfolded protein response regulate genomic cystic fibrosis transmembrane conductance regulator expression. American Journal of Physiology 2007; 292(2):C756-66.
5. Vidal R, Cabellora B, Couve A, Hetz C. Converging pathways in the occurrence of endoplasmic reticulum (ER) stress in Huntington's disease. Current Molecular Medicine 2011; 11(1):1-12.
6. Takahashi R, Imai Y, Hattori N, Mizuno Y. Parkin and endoplasmic reticulum stress. Annals of the New York Academy of Sicences 2003; 991:101-6.
7. Hoozemans JJ, Veerhuis R, Van Haastert ES, Rozemuller JM, Baas F, Eikelenboom P, Scheper W. The unfolded protein response is activated in Alzheimer's disease. Acta Neuropathologica 2005; 110(2):165-72.
8. Wong DP, Chu JM, Hung VK, Lee DK, Cheng CH, Yung KK, Yue KK. Modulation of endoplasmic reticulum chaperone GRP78 by high glucose in hippocampus of streptozotocin-induced diabetic mice and C6 astrocytic cells. Neurochemistry International 2013; 63(6):551-60.
9. Wang CY, Xie JW, Wang T, Xu Y, Cai JH, Wang X, Zhao BL, An L, Wang ZY. Hypoxia-triggered m-calpain activation evokes endoplasmic reticulum stress and neuropathogenesis in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. CNS neuroscience & Therapeutics 2013; 19(10):820-33.
10. Kang EB, Kwon IS, Koo JH, Kim EJ, Kim CH, Lee J, Yang CH, Lee YI, Cho IH, Cho JY. Treadmill exercise represses neuronal cell death and inflammation during Aβ-induced ER stress by regulating unfolded protein response in aged presenilin 2 mutant mice. Apoptosis 2013; 18(11):1332-47.
11. Park SW, Ozcan U. Potential for therapeutic manipulation of the UPR in disease. Seminars in immunopathology 2013; 35(3):351-73.
12. Aşan E, Dağdeviren A. Moleküler Histoloji Hücre. Ankara: Atlas Kitapçılık, 2012: 253.
13. Chaudhari N, Talwar P, Parimisetty A, Lefebvre d'Hellencourt C, Ravanan P. A molecular web: Endoplasmic reticulum stress, inflammation, and oxidative stress. Frontiers in Cellular Neuroscience 2014; 8:213.
14. Buck TM, Wright CM, Brodsky JL. The activities and function of molecular chaperones in the endoplasmic reticulum. Seminars in Cell & Developmental Biology 2007; 18(6):751-61.
15. Braakman I, Bulleid NJ. Protein folding and modification in the mammalian endoplasmic reticulum. Annual Review of Biochemistry 2011; 80:71-99.
16. Koch GL. The endoplasmic reticulum and calcium storage. Bioessays 1990; 12(11):527-31.
17. Hicke L, Schekman R. Molecular machinery required for protein transport from the endoplasmic reticulum to the Golgi complex. Bioessays 1990; 12(6):253-8.
18. Malhotra JD, Kaufman RJ. Endoplasmic reticulum stress and oxidative stress: A vicious cycle or a double-edged sword? Antioxidants & Redox Signalling 2007; 9(12):2277-93.
19. Schönthal AH. Endoplasmic reticulum stress: its role in disease and novel prospects for therapy. Scientifica (Cairo) 2012; 2012:857516.
20. Tabas I, Ron D. Integrating the mechanisms of apoptosis induced by endoplasmic reticulum stress. Nature Cell Biology 2011; 13(3):184-90.
21. Moreno JA, Halliday M, Molloy C, Radford H, Verity N, Axten JM, Ortori CA, Willis AE, Fischer PM, Barrett DA, Mallucci GR. Oral treatment targeting the unfolded protein response prevents neurodegeneration and clinical disease in prion-infected mice. Science Translational Medicine 2013; 5(206):206ra138.

22. Vidal RL, Figueroa A, Court FA, Thielen P, Molina C, Wirth C, Cabellora B, Kiffin R, Segura-Aguilar J, Cuervo AM, Glimcher LH, Hetz C. Targeting the UPR transcription factor XBP1 protects against Huntington's disease through the regulation of FoxO1 and autophagy. Hum Mol Genet 2012; 21(10):2245-62.
23. Schroder M, Kaufman RJ. The mammalian unfolded protein response. Annual Review of Biochemistry 2005; 74:739-89.
24. Harding HP, Zhang Y, Bertolotti A, Zeng H, Ron D. Perk is essential for translational regulation and cell survival during the unfolded protein response. Molecular Cell 2000; 5(5):897-904.
25. Szegezdi E, Logue SE, Gorman AM, Samali A. Mediators of endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis. EMBO Reports 2006; 7(9):880-5.
26. Brush MH, Weiser DC, Shenolikar S. Growth arrest and DNA damage-inducible protein GADD34 targets protein phosphatase 1 alpha to the endoplasmic reticulum and promotes dephosphorylation of the alpha subunit of eukaryotic translation initiation factor 2. Molecular and Cellular Biology 2003; 23(4):1292-303.
27. Itoh K, Wakabayashi N, Katoh Y, Ishii T, Igarashi K, Engel JD, Yamamoto M. Keap1 represses nuclear activation of antioxidant responsive elements by Nrf2 through binding to the amino-terminal Neh2 domain. Genes & Development 1999; 13(1):76-86.
28. Liu CY, Wong HN, Schauerte JA, Kaufman RJ. The protein kinase/endoribonuclease IRE1alpha that signals the unfolded protein response has a luminal N-terminal ligand-independent dimerization domain. Journal of Biological Chemistry 2002; 277(21):18346-56.
29. Tirosh B, Iwakoshi NN, Glimcher LH, Ploegh HL. Rapid turnover of unspliced Xbp-1 as a factor that modulates the unfolded protein response. Journal of Biological Chemistry 2006; 281(9):5852-60.
30. Thuerauf DJ, Marcinko M, Belmont PJ, Glembotski CC. Effects of the isoform-specific characteristics of ATF6 alpha and ATF6 beta on endoplasmic reticulum stress response gene expression and cell viability. Journal of Biological Chemistry 2007; 282(31):22865-78.
31. Shen J, Chen X, Hendershot L, Prywes R. ER stress regulation of ATF6 localization by dissociation of BiP/GRP78 binding and unmasking of Golgi localization signals. Developmental Cell 2002; 3(1):99-111.
32. Kaufman RJ. Orchestrating the unfolded protein response in health and disease. Journal of Clinical Investigation 2002; 110(10):1389-98.
33. Kadowaki H, Nishitoh H. Signaling pathways from the endoplasmic reticulum and their roles in disease. Genes (Basel) 2013; 4(3):306-33.
34. McCullough KD, Martindale JL, Klotz LO, Aw TY, Holbrook NJ. Gadd153 sensitizes cells to endoplasmic reticulum stress by down-regulating Bcl2 and perturbing the cellular redox state. Molecular and Cellular Biology 2001; 21(4):1249-59.
35. Nishitoh H, Matsuzawa A, Tobiume K, Saegusa K, Takeda K, Inoue K, Hori S, Kakizuka A, Ichijo H. ASK1 is essential for endoplasmic reticulum stress-induced neuronal cell death triggered by expanded polyglutamine repeats. Genes & Development 2002; 16(11):1345-55.
36. Nakagawa T, Zhu H, Morishima N, Li E, Xu J, Yankner BA, Yuan J. Caspase-12 mediates endoplasmic-reticulum-specific apoptosis and cytotoxicity by amyloid-beta. Nature 2000; 403(6765): 98-103.
37. Rao RV, Hermel E, Castro-Obregon S, del Rio G, Ellerby HM, Bredesen DE. Coupling endoplasmic reticulum stress to the cell death program. Mechanism of caspase activation. Journal of Biological Chemistry 2001; 276(36):33869-74.
38. Yoneda T, Imaizumi K, Oono K, Yui D, Gomi F, Katayama T, Tohyama M. Activation of caspase-12, an endoplastic reticulum (ER) resident caspase, through tumor necrosis factor receptor-associated factor 2-dependent mechanism in response to the ER stress. Journal of Biological Chemistry 2001; 276(17):13935-40.
39. Szegezdi E, Fitzgerald U, Samali A. Caspase-12 and ER-stress-mediated apoptosis: The story so far. Annals of the New York Academy of Sciences 2003; 1010:186-94.
40. Morishima N, Nakanishi K, Takenouchi H, Shibata T, Yasuhiko Y. An endoplasmic reticulum stress-specific caspase cascade in apoptosis. Cytochrome c-independent activation of caspase-9 by caspase-12. Journal of Biological Chemistry 2002; 277(37):34287-94.
41. Torres M, Matamala JM, Duran-Aniotz C, Cornejo VH, Foley A, Hetz C. ER stress signaling and neurodegeneration: At the intersection between Alzheimer's disease and Prion-related disorders. Virus Research 2015; 207:69-75.
42. Smith WW, Jiang H, Pei Z, Tanaka Y, Morita H, Sawa A, Dawson VL, Dawson TM, Ross CA. Endoplasmic reticulum stress and mitochondrial cell death pathways mediate A53T mutant alpha-synuclein-induced toxicity. Human Molecular Genetics 2005; 14(24):3801-11.
43. Silva RM, Ries V, Oo TF, Yarygina O, Jackson-Lewis V, Ryu EJ, Lu PD, Marciniak SJ, Ron D, Przedborski S, Kholodilov N, Greene LA, Burke RE. CHOP/GADD153 is a mediator of apoptotic death in substantia nigra dopamine neurons in an in vivo neurotoxin model of parkinsonism. Journal of Neurochemistry 2005; 95(4):974-86.

44. Placido AI, Pereira CM, Duarte AI, Candeias E, Correia SC, Carvalho C, Cardosa S, Oliveira CR, Moreira PI. Modulation of endoplasmic reticulum stress: an opportunity to prevent neurodegeneration? CNS & Neurological Disorders Drug Targets 2015; 14(4):518-33.
45. Katayama T, Imaizumi K, Manabe T, Hitomi J, Kudo T, Tohyama M. Induction of neuronal death by ER stress in Alzheimer's disease. Journal of Chemical Neuroanatomy 2004; 28(1-2):67-78.
46. Hardy J, Selkoe DJ, The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: Progress and problems on the road to therapeutics. Science 2002; 297(5580):353-6.
47. Hartmann T, Bieger SC, Brühl B, Tienari PJ, Ida N, Allsop D, Roberts GW, Masters CL, Dotti CG, Unsicker K, Beyreuther K. Distinct sites of intracellular production for Alzheimer's disease A beta40/42 amyloid peptides. Nature Medicine 1997; 3(9):1016-20.
48. Wiey JC, Pettan-Brewer C, Ladiges WC. Phenylbutyric acid reduces amyloid plaques and rescues cognitive behavior in AD transgenic mice. Aging Cell 2011; 10(3):418-28.
49. Ramalho RM, Borralho PM, Castro RE, Sola S, Steer CJ, Rodrigues CM. Tauroursodeoxycholic acid modulates p53-mediated apoptosis in Alzheimer's disease mutant neuroblastoma cells. Journal of Neurochemistry 2002; 98(5):1610-8.
50. Cortez L, Sim V. The therapeutic potential of chemical chaperones in protein folding diseases. Prion 2014; 8(2):197-202.
51. Turturici G, Sconzo G, Geraci F. Hsp70 and its molecular role in nervous system diseases. Biochemistry Research International 2011; 2011:618127.
52. Uversky VN, Li J, Fink AL. Trimethylamine-N-oxide-induced folding of alpha-synuclein. FEBS Letters 2001; 509(1):31-5.
53. Yang DS, Yip CM, Huang TH, Chakrabartty A, Fraser PE. Manipulating the amyloid-beta aggregation pathway with chemical chaperones. Journal of Biological Chemistry 1999; 274(46):32970-4.
54. Ricobaraza A, Cuadrado-Tejedor M, Garcia-Osta A. Long-term phenylbutyrate administration prevents memory deficits in Tg2576 mice by decreasing Abeta. Frontiers in Bioscience (Elite edition) 2011; 3:1375-84.
55. Keene CD, Rodrigues CM, Eich T, Chhabra MS, Steer CJ, Low WC. Tauroursodeoxycholic acid, a bile acid, is neuroprotective in a transgenic animal model of Huntington's disease. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 2002; 99(16):10671-6.
56. Vang S, Longley K, Steer CJ, Low WC. The unexpected uses of urso- and Tauroursodeoxycholic acid in the treatment of non-liver diseases. Global Advances in Health and Medicine: Improving Healthcare Outcomes Worldwide 2014; 3(3):58-69.
57. http://www.bio.utexas.edu/faculty/sjasper/bio212/proteins.html.