

HUMANIN: Ένα αμινοπεπτίδιο προστατευτικό έναντι του οξειδωτικού στρες. Μπορεί να υπάρξουν εφαρμογές της στη Γυναικολογία- Μαιευτική;

Νικολακόπουλος Ν. Παναγιώτης

Γυναικολογική κλινική 424 ΓΣΝΕ (Γενικό Στρατιωτικό Νοσοκομείο Εκπαιδευσεως), Ευκαρπία, Τ.Κ. 56429, Θεσσαλονίκη
Α' Μαιευτική και Γυναικολογική κλινική Αριστοτέλειου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης, Γενικό Περιφερειακό Νοσοκομείο Θεσσαλονίκης Παπαγεωργίου, Περιφερειακή Οδός Θεσσαλονίκης, Τ.Κ. 56429

Αλληλογραφία: Παναγιώτης Ν. Νικολακόπουλος, Τηλ. 6949206964/ email: pnikolakopoulos@yahoo.gr

Περίληψη

Η humanin αποτελεί ένα 24- αμινοπεπτίδιο που κωδικοποιείται από το μιτοχονδριακό 16SRNA. Αρχικά απομονώθηκε από τον ινιακό λοβό ασθενών με νόσο Alzheimer. Παρόλο που ο πρώτος ρόλος που αποδόθηκε στη humanin ήταν η προστασία των νευρικών κυττάρων από την απόπτωση, ένας μεγάλος αριθμός μελετών υποδεικνύει τη humanin ως έναν παράγοντα επιβίωσης ευρέως φάσματος. Μέχρι σήμερα έχει αποδειχθεί ότι η humanin δρα κυτταροπροστατευτικά σε μια ποικιλία ιστών πέρα από το νευρικό σύστημα. Οι μελέτες αυτές διευρύνουν το επίπεδο δράσης της humanin και δημιουργούν προοπτικές για καινοτόμες έρευνες. Περαιτέρω μελέτες απαιτούνται για την αποσαφήνιση των μηχανισμών δράσης της humanin, καθώς και για τη διερεύνηση του πιθανού διαγνωστικού και θεραπευτικού της ρόλου στα νοσήματα που συναντώνται στη Μαιευτική- Γυναικολογία.

Λέξεις κλειδιά: humanin, οξειδωτικό στρες, προεκλαμψία, ενδοθήλιο

Εισαγωγή

Η humanin ανακαλύφθηκε το 2001 από τον καθηγητή Nishimoto και την ομάδα του. Αποτελεί το πρώτο πεπτίδιο που βρέθηκε να προέρχεται από το μιτοχονδριακό γονιδίωμα¹. Ο όρος humanin επινοήθηκε από τον ίδιο, με σκοπό να υποδηλώσει τη δυνατότητα αυτού του μορίου να προσφέρει πιο ανθρώπινες συνθήκες ζωής σε ασθενείς με νόσο Alzheimer (AD- Alzheimer's Disease)². Πιο συγκεκριμένα, οι ερευνητές έψαχναν κλώνους γονιδίων επιβίωσης σε μια βάση δεδομένων συμπληρωματικού DNA (cDNA). Η βάση αυτή δεδομένων δημιουργήθηκε από τμήματα εγκεφάλου (ινιακό λοβό) ασθενών με νόσο Alzheimer που έμειναν ανεπηρέαστα από το στρες της νόσου. Αναζητώντας, λοιπόν, κλώνους γονιδίων με ικανότητα να προστατεύουν τους νευρώνες από τον κυτταρικό θάνατο, προσδιορίστηκαν κλώνοι των οποίων η αλληλουχία ήταν πανομοιότυπη με ένα τμήμα μιτοχονδριακού 16S rRNA. Ο κυτταρικός θάνατος των νευρώνων αυτών προκαλείται από μία μεταλλαγμένη μορφή της πρόδρομης πρωτεΐνης

του αμιλοειδούς (APP- amyloid precursor protein), μετάλλαξη που συνδέεται με την πρόωμη έναρξη της οικογενούς AD (FAD- Familial Alzheimer's Disease). Περαιτέρω μελέτη των κλώνων αυτών, αποκάλυψε την αλληλουχία που παράγει ένα πεπτίδιο 24 αμινοξέων, το οποίο στη συνέχεια ονομάστηκε humanin^{3, 4}. Το γονίδιο, επομένως, της humanin περιλαμβάνεται στην αλληλουχία του 16sRNA γονιδίου. Πρόκειται δηλαδή για ένα γονίδιο μέσα σε ένα άλλο γονίδιο¹. Μέχρι σήμερα δεν είναι σαφές κατά πόσο η humanin μεταφράζεται στο μιτοχόνδριο ή στο κυτταρόπλασμα. Τα μιτοχόνδρια χρησιμοποιούν ένα γενετικό κώδικα ελαφρώς διαφορετικό από αυτόν που χρησιμοποιείται στη μετάφραση που γίνεται στο κυτταρόπλασμα, παράγοντας ένα ξεχωριστό πεπτίδιο από την ίδια ακολουθία². Για το λόγο αυτό, το ακριβές μέγεθος της humanin δεν είναι ακόμα γνωστό. Η μετάφραση στα μιτοχόνδρια παράγει ένα 21- αμινοπεπτίδιο, ενώ στο κυτταρόπλασμα παράγει ένα 24- αμινοπεπτίδιο¹. Παρόλα αυτά, έχει απο-

δειχθεί ότι η humanin είναι βιολογικά αποτελεσματική χρησιμοποιώντας, είτε τους μιτοχονδριακούς κώδικες, είτε τους κυτταροπλασματικούς, με αποτέλεσμα η περιοχική μετάφραση να παραμένει ακόμα απροσδιόριστη⁵.

Ο μηχανισμός δράσης της humanin

Σε ένα μεγάλο αριθμό μελετών έχει ερευνηθεί ο μηχανισμός δράσης της humanin. Η humanin μπορεί να βρισκείται ελεύθερη στην κυκλοφορία (πλάσμα), καθώς και συνδεδεμένη στις κυτταρικές μεμβράνες⁶. Η προστατευτική της δράση επάγεται αλληλεπιδρώντας με τους ειδικούς υποδοχείς-στόχους της. Έχει αναφερθεί ότι αλληλεπιδρά με τρεις τύπους υποδοχέων. Η κυτταροπλασματική humanin συνδέεται με την Bax πρωτεΐνη, ουδετεροποιώντας το επαγόμενο από αυτήν προ-αποπτωτικό σηματοδοτικό μονοπάτι. Η εκκρινόμενη humanin συνδέεται με τον διαμεμβρανικό υποδοχέα FPRL1 (formyl-peptide receptor-like-1). Τέλος, η νευροπροστατευτική της δράση στη νόσο Alzheimer επάγεται μέσω ενός διαμεμβρανικού υποδοχέα, που ονομάζεται ετεροτριμερής υποδοχέας της humanin (htHTR- hetero trimeric Humanin receptor)⁷.

Ενδοκυττάρια, η αντι-αποπτωτική δράση της humanin επάγεται με την αλληλεπίδρασή της με πρωτεΐνες του αποπτωτικού μονοπατιού. Συνδεδεμένη με την Bax πρωτεΐνη, αποτρέπει τη μετακίνησή της από το κυτταρόπλασμα στα μιτοχόνδρια. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την αναστολή του κυτταρικού θανάτου μέσω της απελευθέρωσης του κυτοχρώματος c και άλλων αποπτωτικών πρωτεϊνών. Επομένως, το σύμπλοκο humanin-Bax συγκρατείται στο κυτταρόπλασμα και η αλληλεπίδραση αυτή προστατεύει το κύτταρο από την απόπτωση⁵. Η humanin συνδέεται ακόμα με τις tBid και BimEL (μια ισομορφή της Bim) προαποπτωτικές πρωτεΐνες, εμποδίζοντας την ενεργοποίηση των Bax και Bak πρωτεϊνών και καταργώντας την αγωνιστική δράση της BimEL στα προαποπτωτικά μέλη της Bcl-2 οικογένειας^{8,9}. Οι μελέτες αυτές διεκρύνουν το πεδίο δράσης της humanin, προτείνοντας ένα σημαντικό ενδοκυττάριο ρόλο, εκτός από την εξωκυττάρια δράση της².

Εξωκυττάρια, η δράση της humanin επάγεται από δύο διαμεμβρανικούς υποδοχείς. Ο πρώτος υποδοχέας της humanin που περιγράφηκε, ήταν ένας διαμεμβρανικός υποδοχέας συζευγμένος με G πρωτεΐνη, ο FPRL1 (formyl-peptide receptor-like-1), ο οποίος έχει συνδεθεί

με την νόσο Alzheimer. Παρατηρήθηκε ότι, τόσο η μορφή του πεπτιδίου του β-αμυλοειδούς με τα 42 αμινοξέα (Ab₄₂), όσο και η humanin, ήταν σε θέση να ενεργοποιήσουν τον FPRL1, προκαλώντας επιστράτευση των μονοπύρηνων. Από τους δύο συνδέτες, μόνο το Ab₄₂ ήταν κυτταροτοξικό και μπορούσε να προκαλέσει κυτταρικό θάνατο μέσω της απόπτωσης. Η κυτταροτοξικότητα αυτή μπορεί να αναστραφεί από τη humanin η οποία, ανταγωνιζόμενη το Ab₄₂ στη σύνδεση με τον υποδοχέα FPRL1, επιτυγχάνει τη νευροπροστατευτική της δράση. Επιπλέον, η humanin δρα ως ένας αγωνιστής του FPRL1 υποδοχέα, επάγοντας την κινητοποίηση του Ca²⁺ και την ταχεία ενεργοποίηση του ERK1/2 σηματοδοτικού μονοπατιού, ενός μονοπατιού το οποίο επάγεται από αυτού του είδους τους υποδοχείς και θα μπορούσε να συμβάλει στον κυτταροπροστατευτικό ρόλο της humanin¹⁰.

Ο δεύτερος υποδοχέας της humanin που περιγράφηκε, είναι ο htHTR που ανήκει στην οικογένεια των υποδοχέων της ιντερλευκίνη-6 (IL-6). Ο υποδοχέας αυτός ανακαλύφθηκε μετά από τη διαπίστωση των ερευνητών ότι η humanin ασκεί νευροπροστατευτική δράση, ανεξάρτητα από τον FPRL1 υποδοχέα, προκαλώντας την ενεργοποίηση του STAT3 μονοπατιού. Η διαπίστωση αυτή οδήγησε στην υπόθεση ότι ο υποδοχέας της humanin θα μπορούσε να ανήκει στην οικογένεια των υποδοχέων κυτοκίνης [11]. Πρόκειται για ένα τριμερές σύμπλοκο που αποτελείται από την CNTFR (ciliary neurotrophic factor receptor) υπομονάδα, από έναν υποδοχέα κυτοκίνης τον WSX-1 και από μια διαμεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη την gp130 (CNTFR/WSX-1/gp130). Η gp130 αποτελεί μια κοινή υπομονάδα των υποδοχέων της IL-6, που είναι υπεύθυνη για την επαγωγή των σηματοδοτικών μονοπατιών JAK/ STAT και ERK1/2. Η CNTF είναι μία γνωστή κυτοκίνη της οικογένειας της IL-6. Όλες οι παραπάνω υπομονάδες εκφράζονται στους νευρώνες. Η humanin, επίσης, φαίνεται να προωθεί τον ετεροολιγομερισμό των CNTFR, WSX-1 και gp130^{12,13}.

Λαμβάνοντας υπόψη το σύνολο των διαφορετικών δράσεων που έχει η humanin, θεωρείται πιθανό και οι δύο τύποι των υποδοχέων, που περιγράφηκαν παραπάνω, να είναι σημαντικοί στη διαμεσολάβηση των ποικίλων δράσεών της. Ωστόσο, απαιτούνται περισσότερες και πιο εξειδικευμένες μελέτες προκειμένου να διασαφηνιστούν οι ρόλοι των μονοπατιών που επάγουν².

Επιπρόσθετα, η δράση και η έκφραση της humanin επηρεάζεται και από τη σύνδεσή της με άλλες πρωτεΐνες, όπως για παράδειγμα η IGFBP-3, η TRIM11 και η VSTM2L⁷. Η IGFBP-3 (insulin-like growth factor-binding protein-3) αλληλεπιδρά με τη humanin, άλλοτε με ανταγωνιστική και άλλοτε με συναγωνιστική δράση¹⁴. Η TRIM11 (tripartite motif-containing protein 11) συμμετέχει στην ενδοκυττάρια ρύθμιση των επιπέδων της humanin, οδηγώντας την σε αποδόμηση μέσω του συστήματος της ουβικουΐτινης¹⁵. Τέλος, η VSTM2L (V-set and transmembrane domain containing 2 like) πρωτεΐνη ανταγωνίζεται την επαγόμενη από τη humanin προστασία των νευρώνων έναντι της απόπτωσης¹⁶.

Δράσεις της humanin

Όπως προαναφέρθηκε, η humanin ανακαλύφθηκε κατά τη διάρκεια της έρευνας, για την ανεύρεση παραγόντων επιβίωσης, σε περιοχές εγκεφάλου ασθενών με νόσο Alzheimer που δεν έχουν επηρεαστεί από τη νόσο. Για το λόγο αυτό, δεν αποτελεί έκπληξη το γεγονός ότι την πιο καλά μελετημένη πτυχή της βιολογίας της humanin αποτελεί η ευεργετική της δράση στην προστασία από το στρες που σχετίζεται με τη νόσο Alzheimer¹. Αρχικά, οι μελέτες πραγματοποιήθηκαν σε κυτταροκαλλιέργειες^{4, 17}. Οι μελέτες αυτές έδειξαν ότι η humanin προστατεύει τα νευρικά κύτταρα, όχι μόνο από τη νευροτοξικότητα που προκαλείται από το β αμυλοειδές (Aβ)₁₋₄₃, αλλά από όλα τα, μέχρι τώρα γνωστά, μεταλλαγμένα γονίδια που προκαλούν την οικογενή μορφή της νόσου Alzheimer (APP, presenilin 1 και presenilin 2)^{4, 17}. Στη συνέχεια, ακολουθήσαν in vivo μελέτες με χρήση παραγώγων humanin σε ζωικά μοντέλα της νόσου Alzheimer. Με τις μελέτες αυτές διαπιστώθηκε βελτίωση της απώλειας μνήμης στα ζωικά μοντέλα, επιβεβαιώνοντας τα προηγούμενα ευρήματα¹⁸⁻²⁰. Η προστατευτική δράση της humanin αποδείχθηκε αργότερα ότι οφείλεται σε μείωση της φλεγμονώδους απάντησης και της απόπτωσης²¹, καθώς και σε βελτίωση της λειτουργικότητας των συνάψεων, παράγοντες που επηρεάζονται από το β αμυλοειδές και στους οποίους οφείλονται τα συμπτώματα της νόσου²². Οι πιο πρόσφατες μελέτες εξέτασαν τη θεραπευτική χρήση της humanin και των παραγώγων της σε διαγονιδιακά ζωικά μοντέλα της νόσου, παρατηρώντας μείωση της συσσώρευσης του β

αμυλοειδούς καθώς και βελτίωση της μνήμης^{20, 23}. Σύμφωνα με τις μελέτες αυτές, διαφαίνεται ο θεραπευτικός και προφυλακτικός ρόλος της humanin στη αντιμετώπιση της νόσου Alzheimer. Παρά το γεγονός ότι η νόσος Alzheimer αποτελεί τη νούμερο ένα αιτία άνοιας στους ενήλικες, υπάρχουν και πολλές άλλες νευροεκφυλιστικές ασθένειες, όπως η νόσος του Huntington. Λαμβάνοντας υπόψη την αντι-αποπτωτική δράση της humanin, πολλά εργαστήρια εξέτασαν τη χρήση της για την πρόληψη των νευροεκφυλιστικών νόσων, με αντικρουόμενα αποτελέσματα^{4, 24}. Συνεπώς, περισσότερες μελέτες απαιτούνται για να εξακριβωθεί ο ρόλος της humanin σε αυτές τις νόσους¹.

Πέρα όμως από τη δράση της humanin στο νευρικό σύστημα, ο κυτταροπροστατευτικός της ρόλος αποδείχθηκε ότι επεκτείνεται και σε άλλους ιστούς. Η humanin βρέθηκε να εκφράζεται σε κύτταρα Leydig και να προάγει την επιβίωσή τους, αποτελώντας έναν αντιαποπτωτικό παράγοντα με παρουσία και στους όρχεις ποντικών²⁵.

Η humanin εκφράζεται και στους σκελετικούς μυς. Μελέτες σε ασθενείς με σύνδρομο MELAS (mitochondrial encephalomyopathy with lactic acidosis and stroke-like episodes)²⁶ και σε ασθενείς με χρόνια προοδευτική εξωτερική οφθαλμοπληγία (CPEO- chronic progressive external ophthalmoplegia)²⁷, έδειξαν ότι τα επίπεδα της humanin είναι σημαντικά αυξημένα στους σκελετικούς μύες των ασθενών αυτών. Πρόκειται για δύο, μιτοχονδριακής αιτιολογίας, νόσους που χαρακτηρίζονται από ελαττωματική σύνθεση ATP, λόγω μιτοχονδριακής διαταραχής. Η humanin μπορεί και αποκαθιστά τα επίπεδα του ATP σε λεμφοκύτταρα, μυϊκά και νευρικά κύτταρα προστατεύοντας τα από τον κυτταρικό θάνατο- απόπτωση λόγω ενεργειακής κρίσης²⁸. Είναι πιθανό, το στρες που οφείλεται σε αυτές τις παθολογικές καταστάσεις να επάγει τα αυξημένα επίπεδα της humanin².

Επιπρόσθετα, όπως παρατηρήθηκε σε in vitro πειράματα, η humanin εκφράζεται και στα νησίδια του Langerhans, ασκώντας προστατευτικό ρόλο έναντι της επαγόμενης από τις κυτοκίνες απόπτωση των β-κυττάρων του παγκρέατος. Βελτίωσε, επίσης, την ανοχή γλυκόζης και καθυστέρησε την εκδήλωση του σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 (T1DM- type 1 diabetes mellitus) σε in vivo μελέτες, καταστέλλοντας σημαντικά τη φλεγμονή και τη λεμφοκυτταρική διήθηση εντός των παγκρεατικών νησιδίων του

Langerhans. Θα μπορούσε, επομένως, η humanin να θεωρηθεί ένας νέος θεραπευτικός στόχος για μία χρόνια αυτοάνοση νόσο, τον T1DM²⁹.

Η humanin, όμως, φαίνεται να έχει και μεταβολική δράση. Λαμβάνοντας υπόψη τη σχέση της αντίστασης της ινσουλίνης με τη νόσο Alzheimer³⁰, μελετήθηκε, όπως ήταν φυσικό, η δράση της humanin στο μεταβολισμό της γλυκόζης. Η χορήγηση humanin και των παραγώγων της βελτίωσε σημαντικά την ευαισθησία στην ινσουλίνη και μείωσε την παραγωγή γλυκόζης από το ήπαρ ζωικών μοντέλων. Οι δράσεις αυτές οφείλονται, εν μέρει, στην ενεργοποίηση του STAT3 μονοπατιού στον υποθάλαμο, υποδηλώνοντας μία κεντρική δράση της humanin στο μεταβολισμό της γλυκόζης. Το αποτέλεσμα αυτό, πιθανό να επάγεται από τον CNTFR/WSX-1/gp130 υποδοχέα της humanin³¹.

Τέλος, αναδεικνύεται ο ρόλος της humanin στο καρδιαγγειακό και κεντρικό νευρικό σύστημα. Εξασθενεί το στρες, που προκαλείται από την ισχαιμία και στη συνέχεια την επαναιμάτωση των ιστών, στο αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο και στο έμφραγμα του μυοκαρδίου. Σε *in vivo* μελέτες, αποδείχθηκε η ικανότητα της humanin να μειώνει το μέγεθος της εγκεφαλικής βλάβης, μετά από απόφραξη της μέσης εγκεφαλικής αρτηρίας σε πειραματόζωα³², καθώς και να ασκεί καρδιοπροστατευτικό ρόλο σε ζωικά μοντέλα μυοκαρδιακής ισχαιμίας, μετά από απόφραξη της αριστερής στεφανιαίας αρτηρίας⁶.

Humanin και οξειδωτικό στρες

Εκτενής βιβλιογραφία συνδέει την παθογένεση της νόσου Alzheimer με τις βλάβες που προκαλούνται από το οξειδωτικό στρες. Έχει δείχθει ότι η οξείδωση σημαντικών βιομορίων συμβαίνει νωρίς στην έναρξη της νόσου Alzheimer και προηγείται των κλινικών της συμπτωμάτων³³. Επιπλέον, το οξειδωτικό στρες έχει εμπλακεί σε ένα πλήθος ασθενειών. Η επιτυχία της humanin στη θεραπεία του στρες που προκαλείται από το Αβ αμιλοειδές, οδήγησε αρκετούς ερευνητές στη μελέτη της ικανότητας της humanin να προστατεύει και από το οξειδωτικό στρες γενικότερα¹.

Πράγματι, η χορήγηση humanin σε καλλιέργειες αμιβλοστοροειδούς έδειξε ότι μπορεί να προστατεύει τα κύτταρα αυτά από τον κυτταρικό θάνατο που οφείλεται στις δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS- Reactive Oxygen

Species) και συγκεκριμένα στο υπεροξείδιο του υδρογόνου (H₂O₂) και κατά συνέπεια στο οξειδωτικό στρες. Η παρατήρηση αυτή προτείνει τη humanin ως έναν πιθανό θεραπευτικό στόχο για τις αμιβλοστοροειδοπάθειες που συνδέονται με τον κυτταρικό θάνατο³⁴.

Στη συνέχεια, λαμβάνοντας υπόψη το γεγονός ότι το οξειδωτικό στρες παίζει σημαντικό ρόλο και στην αθηροσκλήρωση, μελετήθηκε η ικανότητα της humanin να προστατεύει τα ενδοθηλιακά κύτταρα από το οξειδωτικό στρες (υψηλά επίπεδα ROS) και την απόπτωση, καταστάσεις που σχετίζονται με την αθηρογένεση³⁵. Σε *in vitro* μελέτη που ακολούθησε, αποδείχθηκε ότι η humanin εκφράζεται στο στρώμα των ενδοθηλιακών κυττάρων του αγγειακού τοιχώματος των ανθρώπινων αρτηριών και φλεβών και ότι τα προστατεύει από το οξειδωτικό στρες. Πιο συγκεκριμένα, η χορήγηση humanin εξασθένησε τον ox-LDL επαγόμενο σχηματισμό ROS και την απόπτωση κατά 50%³⁶. Η οξειδωμένη μορφή της LDL (ox-LDL) παράγεται από τις αντιδραστικές μορφές οξυγόνου (ROS), ενώ ταυτόχρονα ενισχύει (μετά την παραγωγή της) το οξειδωτικό στρες, δημιουργώντας ένα φαύλο κύκλο με τελικό αποτέλεσμα τη δημιουργία της αθηροσκληρωτικής πλάκας³⁷. Επιπλέον, τα επίπεδα της humanin βρέθηκαν να μειώνονται με την αύξηση της ηλικίας, ενός παράγοντα που συνήθως συνδέεται με αύξηση στο οξειδωτικό στρες και με μείωση στην ενδοθηλιακή κυτταρική λειτουργία. Με βάση τα παραπάνω δεδομένα, υποστηρίζεται ένας δυνητικός ρόλος της humanin στο μηχανισμό αντι-οξειδωτικής άμυνας στην καρδιαγγειακή νόσο και κατά συνέπεια ανοίγονται νέες προοπτικές στην ανακάλυψη νέων θεραπευτικών προσεγγίσεων για την αντιμετώπιση της αθηροσκλήρωσης.³⁶

Προς επιβεβαίωση των παραπάνω δεδομένων ακολούθησε *in vivo* μελέτη. Οι ερευνητές χορήγησαν σε πειραματόζωα, που τρέφονταν με δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε χοληστερόλη, ένα ανάλογο της humanin (HNGF6A). Με την παραπάνω μελέτη παρουσιάστηκε η ικανότητα της HNGF6A να μειώνει το μέγεθος της αθηρωματικής πλάκας, να εμποδίζει την ανάπτυξη ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας, ενώ διατηρεί την έκφραση της συνθετάσης του ενδοθηλιακού νιτρικού οξειδίου NO (eNOS) στην αρτηρία. Συνεπώς, η χορήγηση της HNGF6A οδήγησε σε σημαντική βελτίωση της καρδιαγγειακής λειτουργίας σε ζωικά μοντέλα,

ασκώντας προστατευτική δράση στην ενδοθηλιακή λειτουργία και στην εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης³⁸. Η ίδια μελέτη προτείνει ότι οι μηχανισμοί που ευθύνονται εν μέρει για την προστατευτική δράση της humanin στην αθηροσκλήρωση, είναι η δράση έναντι του οξειδωτικού στρες και της απόπτωσης καθώς και η διατήρηση της eNOS³⁸.

Με βάση τα δεδομένα αυτά, το ερευνητικό ενδιαφέρον επικεντρώθηκε στη μελέτη της humanin σε σχέση με την αθηροσκλήρωση στον άνθρωπο. Για το σκοπό αυτό μελετήθηκαν ανθρώπινα δείγματα καρωτιδικών αθηρωματικών πλακών. Με τη μελέτη αυτή, διαπιστώθηκε για πρώτη φορά η παρουσία της humanin σε καρωτιδικές αθηροσκληρωτικές πλάκες. Βρέθηκε ότι η έκφρασή της είναι μεγαλύτερη, περίπου διπλάσια, σε ασθενείς με συμπτωματική νόσο (ιστορικό ισχαιμικού εγκεφαλικού επεισοδίου) σε σύγκριση με τους ασυμπτωματικούς. Επιπρόσθετα, ο ρυθμός της απόπτωσης σε αυτές τις συμπτωματικές πλάκες είναι μεγαλύτερος³⁹. Η ευεργετική επίδραση της αναστολής της απόπτωσης στην αθηροσκλήρωση είναι αμφιλεγόμενη. Η απόπτωση μπορεί να βοηθήσει στην καταστολή της εξέλιξης των πρώιμων πλακών, μέσω της απόπτωσης των μακροφάγων στα αρχικά στάδια της αθηρωματικής νόσου. Αντίθετα, σε προχωρημένα στάδια της νόσου, η απόπτωση των μακροφάγων ευθύνεται για την ανάπτυξη του νεκρωτικού πυρήνα, ενός σημαντικού παράγοντα που συμβάλλει στην αστάθεια των αθηρωματικών πλακών⁴⁰. Με δεδομένο αυτές τις παρατηρήσεις, η humanin αποτελεί ένα ενδογενώς εκφραζόμενο πεπτίδιο στην αρτηριοσκληρωτική πλάκα, που φαίνεται να έχει κυτταροπροστατευτικές ιδιότητες με έναν ξεχωριστό ρόλο στην καταστολή της απόπτωσης³⁹.

Όπως φαίνεται από τα παραπάνω, η έκφραση της humanin στο ενδοθήλιο και στις αθηρωματικές πλάκες, και η ικανότητά της να ανακουφίζει τα καταστροφικά αποτελέσματα της ROS-επαγόμενης ενδοθηλιακής βλάβης, είναι καλά τεκμηριωμένη. Διαφαίνεται, επομένως, μια θετική δομική και λειτουργική επίδραση της humanin στο αγγειακό σύστημα. Το οξειδωτικό στρες σχετίζεται με την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, ενώ η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία αποτελεί προάγγελο της αθηροσκλήρωσης⁴¹. Συνεπώς, μεταβολές των επιπέδων της humanin στον άνθρωπο, θα έπρεπε να σχετίζονται με ενδοθηλιακή δυσλειτουργία. Πράγματι, σε ασθενείς με παρουσία ενδοθηλια-

κής δυσλειτουργίας των στεφανιαίων αγγείων, τα επίπεδα της humanin ήταν χαμηλότερα από εκείνους με φυσιολογικό ενδοθήλιο. Άρα, τα κυκλοφορούντα επίπεδα humanin συνδέονται με βελτίωση της μικροαγγειακής ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας. Αυτό το εύρημα που συνδέει έναν αντι-αποπτωτικό παράγοντα με τη διατήρηση της ενδοθηλιακής λειτουργίας, θα μπορούσε, ενδεχομένως, να κρύβει ένα νέο μηχανισμό που εμπλέκεται στη ρύθμιση της αγγειακής λειτουργίας⁴². Με την παραπάνω μελέτη περιγράφηκε και μία άμεση συσχέτιση μεταξύ του αριθμού των λευκοκυττάρων και την ενδοθηλιακή λειτουργία στα στεφανιαία αγγεία, καθώς και μια ταυτόχρονη θετική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της humanin, του BMI και τον αριθμό των κυκλοφορούντων μονοκύτταρων και λεμφοκυττάρων. Αυτή η αντανάκλαστική αύξηση θα μπορούσε να χρησιμεύσει ως μια προστατευτική απάντηση σε πληθυσμούς υψηλού κινδύνου για αθηροσκλήρωση. Συμπερασματικά, υπάρχει μια δυναμική διαγνωστική ή και θεραπευτική σχέση μεταξύ των χαμηλών ενδογενών κυκλοφορούντων επιπέδων humanin και της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας στον άνθρωπο. Δεν είναι απίθανο, η humanin να χρησιμεύει στη σταθεροποίηση του ενδοθηλίου, αναιρώντας τις ανεπιθύμητες συνέπειες της αγγειακής φλεγμονής⁴².

Συνδυάζοντας τα στοιχεία που προέκυψαν από τις παραπάνω μελέτες, συμπεραίνεται ότι τα αυξημένα επίπεδα της humanin που βρέθηκαν σε αθηρωματικές πλάκες, αποτελούν μία προστατευτική απάντηση στο στρες και ότι η humanin θα μπορούσε να προστατεύει έναντι του οξειδωτικού στρες¹.

Humanin και προεκλαμψία

Παρόμοια με τις προηγούμενες μελέτες, το οξειδωτικό στρες έχει αποδειχθεί ότι παίζει σημαντικό ρόλο και σε νοσήματα που αφορούν τη Γυναικολογία-Μαιευτική. Η ενδομητρίωση⁴³, το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών⁴⁴, η πρόπτωση πυελικών οργάνων⁴⁵, η υπογονιμότητα⁴⁶ και η προεκλαμψία⁴⁷ είναι μερικά από αυτά. Παρόλα αυτά, δεν υπάρχουν μέχρι σήμερα βιβλιογραφικά δεδομένα ως προς τη συσχέτισή τους με την Humanin.

Η προεκλαμψία, ειδικότερα, αποτελεί μία σημαντική αιτία νοσηρότητας και θνητότητας κατά τη διάρκεια της κύησης και του τοκετού. Χαρακτηρίζεται από υπέρταση και αυξημένη συστηματική φλεγμονώδη απάντηση, που πι-

θανώς ξεκινά από την εκτεταμένη ενδοθηλιακή βλάβη. Οι ασθενείς με προεκλαμψία παρουσιάζουν, επίσης, αυξημένο οξειδωτικό στρες, αυξημένη συσσώρευση αμινοπεπτιδίων και ενεργοποίηση του πηκτικού μηχανισμού και εμφανή στοιχεία δυσλιπιδαιμίας⁴⁸. Τις τελευταίες δεκαετίες γίνεται, ολοένα και περισσότερο, εμφανές ότι οι γυναίκες με ιστορικό προεκλαμψίας βρίσκονται σε αυξημένο κίνδυνο για εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου στη μετέπειτα ζωή τους⁴⁹⁻⁵¹. Η διαπίστωση αυτή, ενισχύει την υπόθεση ότι η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία που παίζει σημαντικότατο ρόλο στην παθογένεση, τόσο της αθηροσκληρώσεως, όσο και της προεκλαμψίας, πιθανότατα προκαλείται από τους ίδιους μεσολαβητές και παράγοντες φλεγμονής⁵².

Η humanin, επομένως, παρόμοια με την αθηροσκληρώση, στην οποία δρα ως ένας κυτταροπροστατευτικός παράγοντας, θα μπορούσε να υποτεθεί ότι διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην προστασία των ενδοθηλιακών κυττάρων, έναντι του οξειδωτικού στρες που λαμβάνει χώρα στην προεκλαμψία. Συνεπώς, τα επίπεδα της humanin θα μπορούσαν να σχετίζονται με τη διατήρηση της φυσιολογικής ενδοθηλιακής λειτουργίας στην προεκλαμψία, εισάγοντας έναν πιθανώς νέο διαγνωστικό και θεραπευτικό στόχο. Επιπλέον, θα μπορούσαν να αποτελούν δείκτη της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας που συμβαίνει στην προεκλαμψία και κατ' επέκταση να χρησιμοποιηθούν, ίσως, ως προγνωστικός βιοχημικός δείκτης της νόσου.

Επίλογος

Η humanin αποτελεί το πρώτο περιγραφόμενο πεπτίδιο που προέρχεται από τα μιτοχόνδρια και έχει νευροπροστατευτική δράση. Η προστατευτικής της δράση επεκτάθηκε ραγδαίως από τη νόσο Alzheimer σε άλλα μοντέλα ασθενειών, διευρύνοντας το ρόλο καθώς και τις δράσεις της. Αξίζει να σημειωθεί ότι στις περισσότερες από τις νόσους που έχει μελετηθεί η humanin, το οξειδωτικό στρες αποτελεί τον κοινό παρονομαστή, θέτοντας το ερώτημα στους ερευνητές αν η humanin αποτελεί ένα γενικότερο κυτταροπροστατευτικό παράγοντα κατά του οξειδωτικού στρες. Συνδυάζοντας τα μέχρι τώρα δεδομένα, η συσχέτιση της humanin με τα γυναικολογικά-μαιευτικά νοσήματα και ιδιαίτερα με την προεκλαμψία, λόγω της αιτιολογικής της σχέση με την καρδιαγγειακή νόσο, θα μπορούσε να αποτελέσει αντικείμενο μελλοντικής μελέ-

της. Η επιβεβαίωση της συμμετοχής της humanin στην παθογένεση της προεκλαμψίας, ασκώντας προστατευτικό ρόλο έναντι του οξειδωτικού στρες και της φλεγμονώδους αντίδρασης σε επίπεδο αγγείων, θα ανοίξει νέους ορίζοντες στην αντιμετώπιση και κατανόηση της νόσου.

Η ανασκόπηση αυτή έγινε στα πλαίσια διδακτορικής διατριβής στην Α Μαιευτική και Γυναικολογική κλινική του Αριστοτέλειου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης.

HUMANIN: a cytoprotective peptide against oxidative stress. Is it possible to play a role in Gynecology- Obstetrics?

Nikolakopoulos P.

Department of Gynecology, 424 General Military Hospital of Thessaloniki- GREECE

First department of Obstetrics and Gynecology, Aristotle University of Thessaloniki- Papageorgiou Hospital

Correspondence: Panagiotis N. Nikolakopoulos

Tel.: +30 6949206964

E-mail: pnikolakopoulos@yahoo.gr

Summary

Humanin is a 24-amino acid peptide encoded by mitochondrial 16SRNA, that firstly isolated from the occipital lobe of patients with Alzheimer's disease. Although it was identified as an anti-neuronal death factor, extensive literature indicates humanin as a wide spectrum survival factor. To date, humanin has been shown to play a role in preventing cell death among various tissues outside of the nervous system. These studies have broadened the scope of humanin activity and opened up a new field of research. Further studies are needed to clarify the mechanisms underlying these findings and explore the diagnostic and/or therapeutic implications of humanin in obstetrics- gynecology.

Key words: humanin, oxidative stress, preeclampsia, endothelium

Βιβλιογραφία

1. Yen, K., et al., The Emerging Role of the Mitochondria-Derived Peptide Humanin in Stress Resistance. *J Mol Endocrinol*, 2012.
2. Lee, C., K. Yen, and P. Cohen, Humanin: a harbinger of mitochondrial-derived peptides? *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 2013.
3. Hashimoto, Y., et al., Mechanisms of neuroprotection by a novel rescue factor humanin from Swedish mutant amyloid precursor protein. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001. 283(2): p. 460-8.
4. Hashimoto, Y., et al., A rescue factor abolishing neuronal cell death by a wide spectrum of familial Alzheimer's disease genes and Abeta. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001. 98(11): p. 6336-41.
5. Guo, B., et al., Humanin peptide suppresses apoptosis by interfering with Bax activation. *Nature*, 2003. 423(6938): p. 456-61.
6. Muzumdar, R.H., et al., Acute humanin therapy attenuates myocar-

- dial ischemia and reperfusion injury in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010. 30(10): p. 1940-8.
- 7.Hashimoto, Y., et al., Secreted calmodulin-like skin protein inhibits neuronal death in cell-based Alzheimer's disease models via the heterotrimeric Humanin receptor. *Cell Death Dis*, 2013. 4: p. e555.
 - 8.Luciano, F., et al., Cytoprotective peptide humanin binds and inhibits proapoptotic Bcl-2/Bax family protein BimEL. *J Biol Chem*, 2005. 280(16): p. 15825-35.
 - 9.Zhai, D., et al., Humanin binds and nullifies Bid activity by blocking its activation of Bax and Bak. *J Biol Chem*, 2005. 280(16): p. 15815-24.
 - 10.Ying, G., et al., Humanin, a newly identified neuroprotective factor, uses the G protein-coupled formylpeptide receptor-like-1 as a functional receptor. *J Immunol*, 2004. 172(11): p. 7078-85.
 - 11.Hashimoto, Y., et al., Involvement of tyrosine kinases and STAT3 in Humanin-mediated neuroprotection. *Life Sci*, 2005. 77(24): p. 3092-104.
 - 12.Hashimoto, Y., et al., Humanin inhibits neuronal cell death by interacting with a cytokine receptor complex or complexes involving CNTF receptor alpha/WSX-1/gp130. *Mol Biol Cell*, 2009. 20(12): p. 2864-73.
 - 13.Hashimoto, Y., M. Kurita, and M. Matsuoka, Identification of soluble WSX-1 not as a dominant-negative but as an alternative functional subunit of a receptor for an anti-Alzheimer's disease rescue factor Humanin. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009. 389(1): p. 95-9.
 - 14.Ikonen, M., et al., Interaction between the Alzheimer's survival peptide humanin and insulin-like growth factor-binding protein 3 regulates cell survival and apoptosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003. 100(22): p. 13042-7.
 - 15.Niikura, T., et al., A tripartite motif protein TRIM11 binds and destabilizes Humanin, a neuroprotective peptide against Alzheimer's disease-relevant insults. *Eur J Neurosci*, 2003. 17(6): p. 1150-8.
 - 16.Rossini, L., et al., VSTM2L is a novel secreted antagonist of the neuroprotective peptide Humanin. *FASEB J*, 2011. 25(6): p. 1983-2000.
 - 17.Hashimoto, Y., et al., Detailed characterization of neuroprotection by a rescue factor humanin against various Alzheimer's disease-relevant insults. *J Neurosci*, 2001. 21(23): p. 9235-45.
 - 18.Mamiya, T. and M. Ukai, [Gly(14)]-Humanin improved the learning and memory impairment induced by scopolamine in vivo. *Br J Pharmacol*, 2001. 134(8): p. 1597-9.
 - 19.Krejcová, G., J. Patocka, and J. Slaninová, Effect of humanin analogues on experimentally induced impairment of spatial memory in rats. *J Pept Sci*, 2004. 10(10): p. 636-9.
 - 20.Niikura, T., et al., A humanin derivative reduces amyloid beta accumulation and ameliorates memory deficit in triple transgenic mice. *PLoS ONE*, 2011. 6(1): p. e16259.
 - 21.Miao, J., et al., S14G-Humanin ameliorates Abeta25-35-induced behavioral deficits by reducing neuroinflammatory responses and apoptosis in mice. *Neuropeptides*, 2008. 42(5-6): p. 557-67.
 - 22.Zhang, W., et al., Protective effect of S14G-humanin against beta-amyloid induced LTP inhibition in mouse hippocampal slices. *Peptides*, 2009. 30(6): p. 1197-202.
 - 23.Zhang, W., et al., S14G-humanin improves cognitive deficits and reduces amyloid pathology in the middle-aged APPsw/PS1dE9 mice. *Pharmacol Biochem Behav*, 2012. 100(3): p. 361-9.
 - 24.Kariya, S., et al., Humanin attenuates apoptosis induced by DRPLA proteins with expanded polyglutamine stretches. *J Mol Neurosci*, 2005. 25(2): p. 165-9.
 - 25.Colon, E., et al., Anti-apoptotic factor humanin is expressed in the testis and prevents cell-death in leydig cells during the first wave of spermatogenesis. *J Cell Physiol*, 2006. 208(2): p. 373-85.
 - 26.Kariya, S., et al., Humanin detected in skeletal muscles of MELAS patients: a possible new therapeutic agent. *Acta Neuropathol*, 2005. 109(4): p. 367-72.
 - 27.Kin, T., et al., Humanin expression in skeletal muscles of patients with chronic progressive external ophthalmoplegia. *J Hum Genet*, 2006. 51(6): p. 555-8.
 - 28.Kariya, S., et al., Effect of humanin on decreased ATP levels of human lymphocytes harboring A3243G mutant mitochondrial DNA. *Neuropeptides*, 2005. 39(2): p. 97-101.
 - 29.Hoang, P.T., et al., The neurosurvival factor Humanin inhibits beta-cell apoptosis via signal transducer and activator of transcription 3 activation and delays and ameliorates diabetes in nonobese diabetic mice. *Metabolism*, 2010. 59(3): p. 343-9.
 - 30.Craft, S., Insulin resistance syndrome and Alzheimer's disease: age- and obesity-related effects on memory, amyloid, and inflammation. *Neurobiol Aging*, 2005. 26 Suppl 1: p. 65-9.
 - 31.Muzumdar, R.H., et al., Humanin: a novel central regulator of peripheral insulin action. *PLoS ONE*, 2009. 4(7): p. e6334.
 - 32.Xu, X., et al., Humanin is a novel neuroprotective agent against stroke. *Stroke*, 2006. 37(10): p. 2613-9.
 - 33.Lovell, M.A. and W.R. Markesbery, Oxidative damage in mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease. *J Neurosci Res*, 2007. 85(14): p. 3036-40.
 - 34.Yang, Z., et al., Protective effects of tetramethylpyrazine on rat retinal cell cultures. *Neurochem Int*, 2008. 52(6): p. 1176-87.
 - 35.Madamanchi, N.R., A. Vendrov, and M.S. Runge, Oxidative stress and vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005. 25(1): p. 29-38.
 - 36.Bachar, A.R., et al., Humanin is expressed in human vascular walls and has a cytoprotective effect against oxidized LDL-induced oxidative stress. *Cardiovasc Res*, 2010. 88(2): p. 360-6.
 - 37.Galle, J., et al., Impact of oxidized low density lipoprotein on vascular cells. *Atherosclerosis*, 2006. 185(2): p. 219-26.
 - 38.Oh, Y.K., et al., Humanin preserves endothelial function and prevents atherosclerotic plaque progression in hypercholesterolemic ApoE deficient mice. *Atherosclerosis*, 2011. 219(1): p. 65-73.
 - 39.Zacharias, D.G., et al., Humanin, a cytoprotective peptide, is expressed in carotid atherosclerotic [corrected] plaques in humans. *PLoS ONE*, 2012. 7(2): p. e31065.
 - 40.Seimon, T. and I. Tabas, Mechanisms and consequences of macrophage apoptosis in atherosclerosis. *J Lipid Res*, 2009. 50 Suppl: p. S382-7.
 - 41.Bonetti, P.O., L.O. Lerman, and A. Lerman, Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003. 23(2): p. 168-75.
 - 42.Widmer, R.J., et al., Circulating humanin levels are associated with preserved coronary endothelial function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2012.
 - 43.Polak, G., et al., Increased levels of oxidative stress markers in the peritoneal fluid of women with endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2013.
 - 44.Hilali, N., et al., Increased prolidase activity and oxidative stress in PCOS. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2012.
 - 45.Kim, E.J., et al., Involvement of oxidative stress and mitochondrial apoptosis in the pathogenesis of pelvic organ prolapse. *J Urol*, 2013. 189(2): p. 588-94.
 - 46.Naher, Z.U., et al., Effect of oxidative stress in male infertility. *Myensingh Med J*, 2013. 22(1): p. 136-42.
 - 47.Gohil, J.T., P.K. Patel, and P. Gupta, Evaluation of oxidative stress and antioxidant defence in subjects of preeclampsia. *J Obstet Gynaecol India*, 2011. 61(6): p. 638-40.
 - 48.Fan, P., et al., Maternal and fetal plasma platelet-activating factor acetylhydrolase activity and distribution in pre-eclampsia. *Pediatr Res*, 2012. 72(4): p. 426-31.
 - 49.Carty, D.M., C. Delles, and A.F. Dominiczak, Preeclampsia and future maternal health. *J Hypertens*. 28(7): p. 1349-55.
 - 50.Garovic, V.D. and P. August, Preeclampsia and the Future Risk of Hypertension: The Pregnant Evidence. *Current Hypertension Reports*, 2013: p. 1-8.
 - 51.Schausberger, C.E., et al., Hypertensive Disorders of Pregnancy - A Life-Long Risk?! *Geburtshilfe und Frauenheilkunde*, 2013. 73(1): p. 47-52.
 - 52.Craici, I., S. Wagner, and V.D. Garovic, Preeclampsia and future cardiovascular risk: formal risk factor or failed stress test? *Ther Adv Cardiovasc Dis*, 2008. 2(4): p. 249-59.