Poli(ADP-ribozil) polimeraza u životu i smrti živčanih stanica

Ahel, Josip

Undergraduate thesis / Završni rad

2014

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:330498

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb

zir.nsk.hr

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

PRIRODOSLOVNO MATEMATIČKI FAKULTET

BIOLOŠKI ODSJEK

Poli(ADP-ribozil) polimeraza u životu i smrti živčanih stanica

Poly(ADP-ribosyl) polymerase in life and death of neural cells

Seminarski rad

Josip Ahel

Preddiplomski studij molekularne biologije

Undergraduate Studies of Molecular Biology

Mentor: izv. prof. dr. sc. Maja Matulić

Zagreb, 2014.

Sadržaj

1. Uvod 1

1.1. Poli (ADP riboza) 1

1.2. PARP 1

1.3. Hidroliza PAR 1

1.4. Rasprostranjenost PARilacijskih sustava 2

2. PARP u životu i smrti stanica – opći pregled 2

2.1. PARP u odgovoru na oštećenje DNA 2

2.1.1. Skele PAR 3

2.1.2. PARilacija u reorganizaciji kromatina 3

2.1.3. PARP u kontroli transkripcije 4

2.2. PARP u apoptozi 5

2.2.1. PAR i faktor indukcije apoptoze 5

2.3. PARP u nekrozi 6

3. Specifičnosti PARilacije u živčanim stanicama 6

3.1. Indikacije specifičnih uloga PARilacije u živčanom sustavu 6

3.2. PARP u smrti živčanih stanica 7

3.2.1. Ekscitotoksičnost 7

3.2.3. PARP u upalnim procesima 8

3.2.4. PARP u akutnim i kroničnim oboljenjima živčanog sustava 9

4. Zaključci 10

4.1. Uloga PARP u stanici 10

4.2. Hidroliza PAR 13

5. Sažetak 14

6. Summary 15

7. Literaturna vrela 16

1. Uvod

1.1. Poli (ADP riboza)

Poli(ADP riboza) (PAR) je post-translacijska modifikacija proteina koju iz NAD^+ sintetiziraju proteini iz obitelji poli(ADP-ribozil) polimeraza (PARP). PARilacija je reverzibilna reakcija te postoje specijalizirani enzimi poput poli(ADP-ribozil) glikohidrolaze (PARG) koji hidroliziraju polimere PAR. PAR sudjeluje u regulaciji brojnih staničnih procesa poput transkripcije, replikacije, starenja, intracelularnog transporta, stanične smrti i popravka DNA (Tallis i sur., 2014).

1.2. PARP

Prvi otkriveni PARP jest PARP1, protein koji sudjeluje u nekoliko procesa (popravak lomova DNA, kontrola transkripcije i remodeliranje kromatina) te na koji otpada većina PARilacijske aktivnosti u stanici (Moroni, 2008). Analizama homologije, međutim, otkriveno je 17 različitih proteina iz obitelji PARP koji se razlikuju prema sastavu dodatnih nekatalitičkih proteinskih domena, te specifičnim ulogama u stanici (Perina i sur., 2014), a prema zajedničkim biokemijskim karakteristikama i ulogama u stanici podijeljeni su u 6 podskupina. Tako na primjer PARP proteini iz podskupine 1 u koji spadaju PARP1 i PARP2 te PARP5a (TANK1) i PARP5b (TANK2) iz podskupine 4 kataliziraju sintezu lanaca PAR-a s dugačkim lancima ADP riboze, dok većina ostalih PARP posjeduje primarno mono(ADP-ribozil)transferaznu aktivnost (Otto i sur, 2005). Iz tog se razloga u literaturi PARPove često naziva ADP-ribozil transferazama (ARTD).

1.3. Hidroliza PAR

Mnogo manje istraženi od proteina koji sintetiziraju PAR su proteini koji ga hidroliziraju. U tu skupinu spadaju PARG, proteini MacroD1 i MacroD2, ARH3, te

glikohidrolaza terminalne ADP riboze (TARG1). Kombinacija aktivnosti tih proteina omogućuje cijepanja egzohidrolazne i endohidrolazne prirode (Barkauskaite i sur., 2013), a TARG1 koji ne hidrolizira lance PAR omogućuje ne samo odvajanje terminalne ADP riboze nakon hidrolize ostatka polimera, već i oslobađanje čitavih polimera PARa, što ima ulogu u parthanatosu, posebnoj vrsti stanične smrti.

1.4. Rasprostranjenost PARilacijskih sustava

Proteini uključeni u PARilaciju pronađeni su u svih 6 eukariotskih supergrupa (*Opisthokonta, Excavata, Amoebozoa, Chromalveolata, Plantae, Rhizaria*) i pretpostavlja se da je nastala rano tijekom evolucije eukariota. U manjem broja prokariota također su nađeni PARilacijski proteini, ali u gotovo niti jednoj svi potrebni za cijeli PARilacijski sustav te se pretpostavlja da su dobiveni horizontalnim prijenosom gena (Perina i sur., 2014).

2. PARP u životu i smrti stanica – opći pregled

2.1. PARP u odgovoru na oštećenje DNA

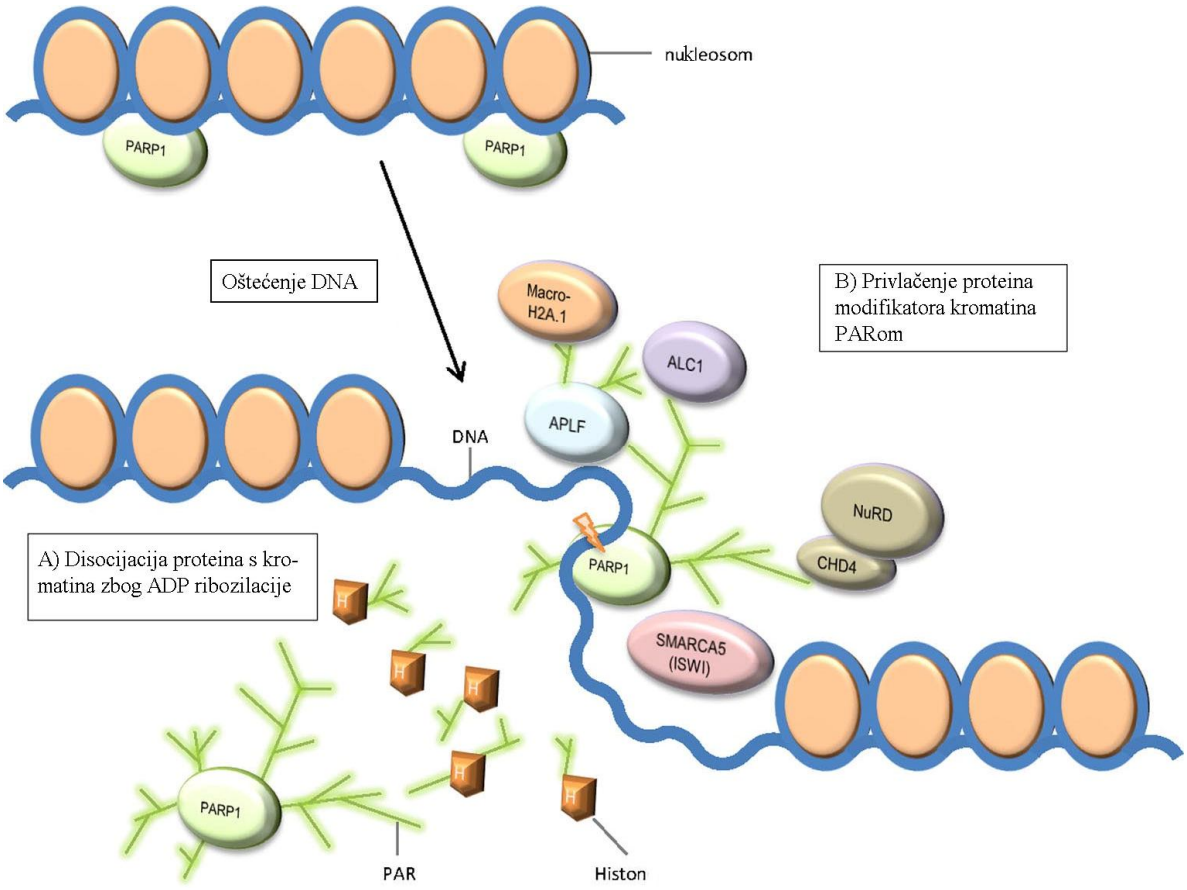
Oštećenje DNA predstavlja veliku opasnost za stanicu te, ako se ne popravi, dovodi do pojave mutacija ili stanične smrti. Zbog toga u stanici postoji velik broj proteinskih i neproteinskih faktora koji direktno ili indirektno sudjeluju u prepoznavanju i popravku oštećenja ili (u slučaju pretjerane količine oštećenja DNA) pokreću signalne kaskade za staničnu smrt. Zamijećeno je da prilikom pojave oštećenja DNA dolazi do povećane aktivnosti PARP1 koji modificira sebe i druge proteine, poput histona, time signalizirajući da je do oštećenja došlo, a i gdje se oštećenje nalazi. PARilacijom sudionika puteva popravka DNA dolazi do značajne modulacije njihove aktivnosti. Važnost PARP u popravku DNA pokazana je na stanicama s utišanim genima za PARP1 i PARP2 koje pokazuju povećanu genomsku nestabilnost (Trucco i sur., 1998)

2.1.1. Skele PAR

Povećana aktivnost PARP1 dovodi do stvaranja većih, razgranatih polimera ADP riboze na samom proteinu PARP1 (automodifikacija) i histonima na mjestu oštećenja DNA (El-Khamisy i sur., 2003). Skela PAR koja time nastaje sterički i elektrokemijski navodi proteine koji direktno sudjeluju u popravku DNA na mjesto oštećenja (osobito u popravku lomova u DNA i oštećenih baza DNA), poput polinukleotid kinaza, XRCC1, DNA ligaze III, DNA polimeraze beta i AP endonukleaze, a ostvaruje interakcije i s transkripcijskim faktorima uključenim u odgovor na oštećenje DNA poput p53 (Malanga i sur., 1998). p53 je izrazito poznat signalni protein povezan s cijelim nizom staničnih procesa, primjerice kontrolom replikacije, a gubitak funkcije tog proteina ključan je u razvoju brojnih vrsta tumora.

2.1.2. PARilacija u reorganizaciji kromatina

Popravak DNA kao i funkcioniranje ostalih procesa ovisnih o DNA, poput transkripcije i replikacije, značajno je otežan u gusto pakiranom kromatinu zbog velikih steričkih smetnji koje histoni, okolna DNA i ostali proteini asocirani uz kromatin predstavljaju proteinima uključenima u popravak DNA. Stoga se kromatin prilikom tih procesa reorganizira (mahom relaksira) te čitav niz proteina, poput histona, disocira s DNA pod utjecajem PARilacije (Slika 1.) i ostalih modifikacija poput acetilacije, fosforilacije i ubikvitinilacije (Tallis i sur., 2014). Međutim, istovremeno dolazi i do privlačenja i pozicioniranja brojnih remodelirajućih proteina poput ALC1 (Gottschalk i sur., 2012), APLF i kompleksa ISWI. ALC1 je helikaza ovisna o ATP koja fizički odmotava DNA na mjestu oštećenja, dok je APLF histonski šaperon koji se snažno veže za histone čime može olakšati disocijaciju histona s DNA ili dovoditi druge vrste histona na mjesto oštećenja. Kompleks ISWI je snažan reorganizator kromatina za koji je pokazano *in vitro* da može sastavljati nukleosome.



Slika 1. Reorganizacija kromatina pod utjecajem PARP. Prilagođeno i preuzeto iz Tallis i sur., 2014.

2.1.3. PARP u kontroli transkripcije

Aktivnost PARP1 ima i reprimirajući i aktivirajući učinak na transkripciju.

Jasno je da prisutnost transkripcijske mašinerije na mjestu oštećenja DNA može imati inhibitoran učinak na procese popravka zbog steričkih i kemijskih smetnji. Transkripcijska se represija postiže navođenjem transkripcijskih represora među kojima se ističu helikaza CHD4 te proteini iz grupe polikomb (PcG). CHD4 prilazi mjestima oštećenja DNA ovisno o PARilaciji (Polo i sur., 2010) te navodi NuRD (Slika 1.), kompleks koji remodelira kromatin i reprimira transkripciju. Kompleksi PRC1 i PRC2 iz grupe polikomb također pokazuju lokalizacijsku ovisnost o PARilaciji (Chou i sur., 2010).

Aktivacijska uloga PARP1 očituje se u aktivaciji transkripcije NFκB i faktora AP1 te omogućavanju translokacije NFκB iz citoplazme u jezgru. Navedeni transkripcijski aktivatori induciraju ekspresiju proteina uključenih u upalne procese (Chang i Alvarez-Gonzalez, 2001).

2.2. PARP u apoptozi

Programirana stanična smrt ili apoptoza je važan fenomen, posebno u višestaničnih organizama, jer omogućuje cio niz specifičnih događaja u embriogenezi, imunološkom odgovoru i zaštiti od tumora. Pokazalo se da u intrinzičnom putu pokretanja apoptoze ključnu signalnu ulogu ima upravo PAR, omogućavajući translokaciju apoptotskih efektora iz mitohondrija u jezgru.

2.2.1. PAR i faktor indukcije apoptoze

Faktor indukcije apoptoze (AIF) mitohondrijski je flavoprotein za koji je pokazano da translokacijom u jezgru pokreće programiranu staničnu smrt (Yu i sur., 2006). Naime, pojavom AIF u jezgri dolazi do aktivacije zasad nepoznatih proteina te fragmentacije DNA što rezultira staničnom smrću. Istovremeno, dolazi do kondenzacije jezgre, narušavanja mithondrijskog membranskog potencijala i premještanja fosfatidilserina u vanjski sloj stanične membrane. Do spomenutih procesa ne dolazi u stanicama s utišanim genom za PARP1 (Koh i sur., 2005). Ovaj oblik stanične smrti nazvan je parthanatos.

Eksperimentalno je dokazano da tretiranje kortikalnih neurona oslobođenim polimerima ADP riboze koji nisu vezani na proteine pokreće opisanu signalnu kaskadu, čak i uz utišan PARP1 (Yu i sur., 2006). Time je pokazano da je čisti polimer signal za otpuštanje AIF, a ne modificirani protein. Na koji način u živom organizmu dolazi do otpuštanja polimera ADP riboze iz jezgre nije u potpunosti razjašnjeno, budući da je PARilacija mahom lokalizirana u jezgri, ali obzirom da PARG ima i endoglikolitičku aktivnost (Barkauskaite i sur., 2013) moguće je da se nastali polimeri transportiraju iz jezgre nakon cijepanja PARGom te s vremenom i do mitohondrija. Također, nedavni eksperimenti *in vitro* sugeriraju da

aktivnošću TARG1 može doći do otpuštanja slobodnih polimera s proteina što bi također moglo imati utjecaj na translokaciju AIF.

2.3. PARP u nekrozi

Osim učinka na apoptozu, PARilacija može uzrokovati i nekrotičnu smrt. Naime, budući da je supstrat za sintezu PAR NAD^+, prekomjerna aktivacija PARP uslijed disregulacije, inflamacije ili ekstenzivnog oštećenja DNA može dovesti do narušavanja omjera NAD^+/NADH u stanici (Koh i sur., 2005). To dovodi do narušavanja funkcije mitohondrija i energetskog šoka stanice te naposlijetku aresta i raspada stanice.

3. Specifičnosti PARilacije u živčanim stanicama

3.1. Indikacije specifičnih uloga PARilacije u živčanom sustavu

Proteini PARP su prisutni u svim tkivima ljudskog organizma pa tako i u svim stanicama živčanog sustava gdje ima istu bazičnu funkciju kao i u ostalim tkivima. Međutim, obzirom da je živčani sustav podložan brojnim fiziološkim procesima koji ne postoje u drugim tkivima, npr. podražljivosti, pokazalo se da PARilacija poprima dodatne signalno regulatorne uloge. Mikroglija stanice su takozvani imunološki sustav mozga i primijećeno je da aktivnost PARP1 raste u fagocitirajućim mikroglija stanicama u usporedbi s mirujućima (Ullrich i sur., 2001). Nadalje, određeni su dijelovi mozga, poput kore i hipokampusa, izrazito osjetljivi na ekscitotoksičnost glutamata, čiji je važan medijator PARilacija (Yu i sur., 2003).

Također, poznato je da je efikasan metabolizam PAR važan za pravilno funkcioniranje živčanog sustava. Tako defekt u funkciji PARG u *D. melanogaster* dovodi do masovne neurodegeneracije (Hanai i sur., 2004). Slično, nedavno je pokazano da nasljedne mutacije u drugoj protein ADP-ribozil hidrolazi TARG1 dovode do fatalne neurodegenracije kod ljudi (Sharifi i sur., 2013).

3.2. PARP u smrti živčanih stanica

Kao i u svim ostalim stanicama, PARilacija je u živčanim stanicama medijator u apoptozi te može uzrokovati nekrotičnu smrt. Međutim, specifičnosti funkcije živčanog sustava otvaraju mogućnosti za posebne načine aktivacije spomenutih procesa, poput ekscitotoksičnosti, a fiziološke i metaboličke posebnosti živčanih stanica čine ih osjetljivijima na utjecaje upalnih procesa i drugih citotoksičnih tvari u čijoj ekspresiji također sudjeluje PARP.

3.2.1. Ekscitotoksičnost

Ekscitotoksičnost jest pojava toksičnog utjecaja određenog podražaja, najčešće neurotransmitera, na neurone. Najčešći oblik ekscitotoksičnosti je pretjerana aktivacija receptora NMDA glutamatom, a česta je nakon akutnih oboljenja poput moždanog udara.

Pretjeranom aktivacijom receptora NMDA dolazi do snažnog utoka Ca^{2+} iona u stanicu što kao rezultat ima aktivaciju brojnih proteaza, kinaza i fosfolipaza te povećanu aktivnost sintaze duškovog oksida (NOS) (Zhang i sur., 1994). Nastali dušikov oksid uzrokuje nastajanje oksidnih radikala koji uzrokuju brojna oštećenja DNA. PARP1 se pod utjecajem oštećenja pretjerano aktivira te sintetizira velike količine PAR trošeći stanični NAD^+. Kao rezultat, polimeri ADP riboze mogu dospjeti do mitohondrija gdje uzrokuju otpuštanje AIF i ulaz stanice u apoptozu, a nagli pad u koncentraciji NAD^+ uzrokuje energetski šok i pokretanje nekrotične smrti.

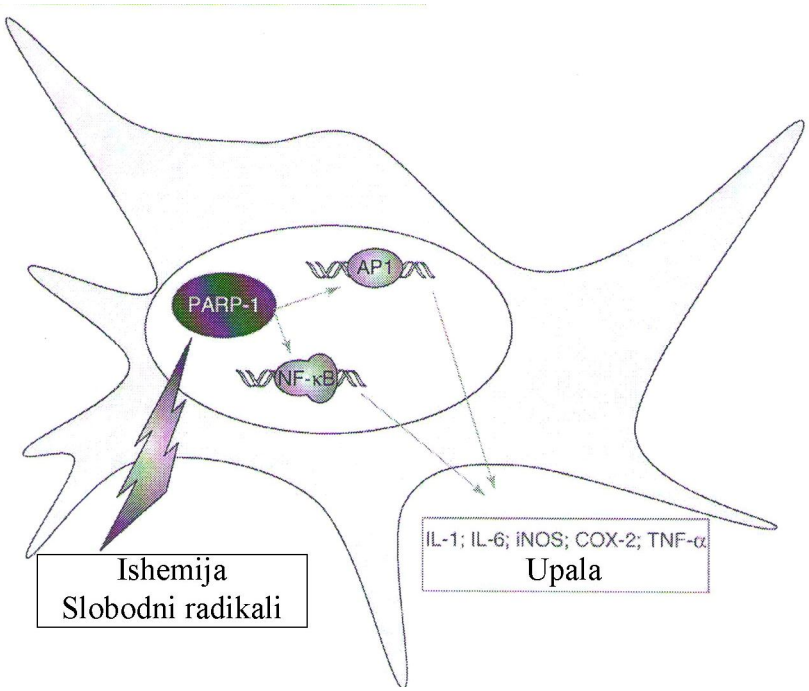
Uključenost PARP1 i NOS u ekscitotoksičnost glutamata pokazana je na živim miševima i kulturi neurona miševa s utišanim genima za ta dva proteina. Naime, takvi miševi ne pokazuju spomenutu reakciju na povećano podraživanje receptora NMDA (Sampei i sur., 2000, Koh i sur., 2005).

3.2.3. PARP u upalnim procesima

Najvažnije stanice uključene u upalne procese živčanog sustava su mikroglija stanice. Uloga PARP kao transkripcijskog regulatora pokazala se ključnom upravo u ekspresiji upalnih faktora, oslobađanju citotoksičnih faktora i migraciji mikroglija na mjesta neuralnih lezija.

Naime, aktivacijom NFκB i AP1, PARP inducira ekspresiju upalnih faktora poput IL-1, IL-6 i TNF-α (Slika 2.) te radikala i metaloproteinaza matriksa (MMP-9) zbog kojih dolazi do narušavanja bazalne lamine krvno moždane barijere. Bijele krvne stanice ulaze u neuralno tkivo gdje uzrokuju daljnja oštećenja oslobađanjem upalnih faktora i tvari citotoksičnoga djelovanja, poput radikala (Moroni, 2008, Koh i sur., 2005), čime se nastala šteta višestruko potencira.

Nadalje, pokazano je da migracija mikroglija stanica na mjesta oštećenja ovisi o aktivnosti PARP zbog utjecaja PARilacije na ekspresiju integrina, konkretno CD11a. Regulacija tog procesa također je rezultat regulacije transkripcije pomoću NFκB koji potiče ekspresiju spomenutog integrina, a utišavanje PARP1 gena dovodi do disfunkcije u migraciji mikroglija stanica (Ullrich i sur., 2001.).



Slika 2. Aktivacija ekspresije upalnih faktora i ostalih produata vezanih uz neurodegeneraciju uz posredovanje PARP. Prilagođeno i preuzeto iz Moroni, 2008.

3.2.4. PARP u akutnim i kroničnim oboljenjima živčanog sustava

Akutna oboljenja poput moždanog udara i traumatskih ozljeda mozga značajan su medicinski problem koji pogađa velik broj osoba diljem svijeta.

Mehanizmi stanične smrti uslijed traumatskih ozljeda nisu u potpunost razjašnjeni, no mehaničko oštećenje tkiva dovodi do nastanka reaktivnih kisikovih spojeva koji oštećuju DNA. Takav slijed događaja može potaknuti parthanatos. Pokazalo se da inhibicija PARP1 ima pozitivan učinak na ishode traumatskih ozljeda mozga (Koh i sur., 2005).

Moždani je udar pak mnogo pomnije istraživan i velik dio otkrića o mehanizmima djelovanja PARP na staničnu smrt načinjen je upravo istraživanjem induciranog moždanog udara u miševa. Pokazano je da, osim primarne smrti neurona na samom žarištu moždanog udara uslijed anoksije, dolazi do sekundarne neurodegeneracije u područjima udaljenim od samog žarišta, i to mahom uslijed ekscitotoskičnosti zbog otpuštenih tvari iz raspadanutih stanica u žarištu (Koh i sur., 2005). Upravo u tom procesu ključnu ulogu igraju PARP1 i ostali sudionici poput NOS koji uzrokuju već opisane procese stanične smrti, što je dokazano

smanjenom razinom neurodegeneracije u miševima s utišanim PARP1 genom (Eliasson i sampei, 1997).

Kronična su oboljenja živčanog sustava poput Parkinsonove i Alzheimerove bolesti također značajan problem u modernoj medicini.

Parkinsonova je bolest uzrokovana odumiranjem dopaminergičkih neurona u određenom dijelu mozga. Proučavanjem mehanizma inducirane smrti spomenutih neurona uz pomoć neurotoksina MTPT, došlo se do zaključka da su važan medijator nakupljanje glutamata i receptori NMDA. Ukoliko se stanice tretiraju antagonistima receptora NMDA, dolazi do značajno manjeg oštećenja nego u stanicama divljeg tipa (Turski i sur., 1991). To ukazuje na povezanost s ekscitotoksičnosti glutamata čiji je pak ključni medijator PARP. Nadalje, pokazalo se da je upravo translokacija AIF uzrok stanične smrti prilikom tretiranja s MTPT, što ukazuje na dodatnu povezanost s PARilacijom (Wang i sur., 2003).

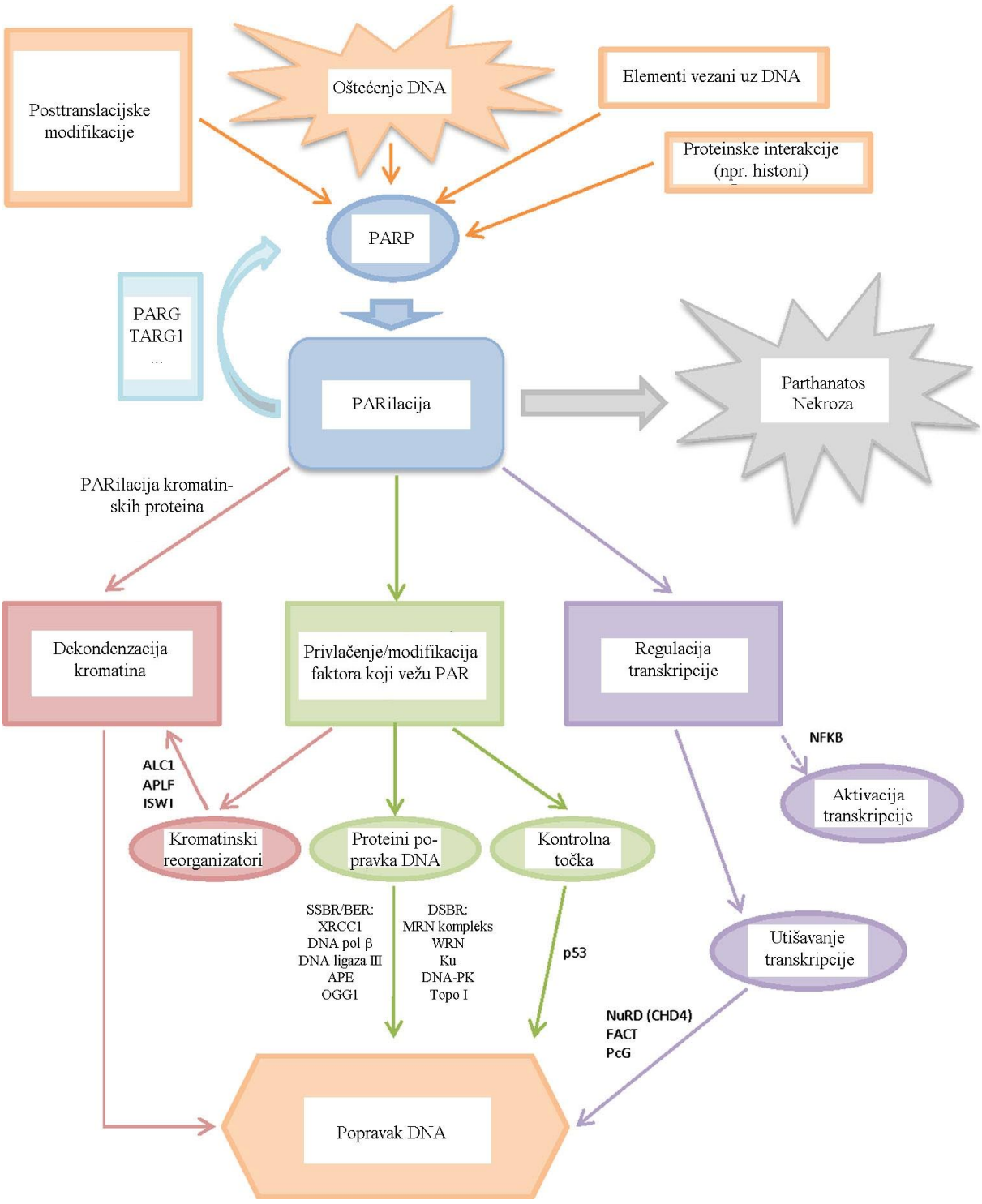
Alzheimerova je bolest neurodegenerativna bolest uslijed koje dolazi do nakupljanja plakova amiloidnih β peptida u dijelovima živčanog sustava gdje uzrokuju oksidativni stres i pokretanje kaskada slobodnih radikala, zbog čega dolazi do odumiranja živčanih stanica. Pokazalo se, međutim, da je aktivnost PARP1 povećana u osoba s Alzheimerovom bolesti što bi moglo uzrokovati neurodegeneraciju uslijed parthanatosa. Nadalje, pokazano je da postoji korelacija između polimorfizma u genu za PARP1 i obolijevanja od Alzheimerove bolesti (Strosznajder i sur., 2012).

4. Zaključci

4.1. Uloga PARP u stanici

PARP je važan regulatorni i signalni protein u stanici uključen u niz staničnih procesa (Slika 3.), osobito procese povezane uz popravak DNA reorganizacije kromatina, regulacije transkripcije te upravljanja određenim vrstama popravka DNA. Utjecaj na spomenute procese

ostvaruje se PARilacijom ciljnih proteina i formiranjem skela PAR koje omogućuju lokalizaciju faktora koji direktno sudjeluju u tim procesima. PARP značajnu ulogu ima i u nekrozi uslijed energetskog šoka i parthanatosu, specijalnoj vrsti apoptoze. Zbog osobite fiziologije živčanog sustava, živčane su stanice osjetljivije na staničnu smrt uz sudjelovanje PARP, pogotovo na ekscitotoksičnost glutamata koja uzrokuje apoptotičku smrt uz posredovanje AIF, ali i nekrotičnu smrt zbog koje može doći i do oštećenja okolnog tkiva uslijed otpuštanja upalnih faktora i radikala. Zbog toga PARP ima bitnu ulogu i u akutnim i u kroničnim oboljenjima. Pokazano je da upravo PARP vrši jednu od ključnih uloga u sekundarnoj smrti živčanih stanica uslijed moždanog udara, a postoje indicije i da ima ulogu u patologiji Parkinsonove i Alzheimerove bolesti. Sva ta saznanja ističu ulogu PARP kao važnog signalnog i regulatornog proteina u stanici, osobito u živčanom sustavu, te ukazuju na PARP kao potencijalnu metu terapija za spomenuta oboljenja.



Slika 3. Uloge PARP u stanici. Prilagođeno i preuzeto iz Tallis i sur., 2014. (DSBR = popravak dvolančanih lomova DNA, SSBR = popravak jednolančanih lomova DNA, BER = popravak izrezivanjem baza)

4.2. Hidroliza PAR

Pogled na PARilaciju i na ulogu PARP u stanici bio bi nepotpun bez razmatranja antagonističkih proteina, glikohidrolaza specifičnih za PAR, poput PARG i TARG1. PARG i TARG1 bi mogli igrati ključnu ulogu u parthanatosu, međutim rasvjetljenje točne uloge, ako je ima, zahtijeva dodatne eksperimente. Nadalje, neurodegenerativni utjecaj nedostatka PARG u *D. melanogaster* te TARG1 u ljudi ukazuje na važnu ulogu tog proteina u razvoju i funkciji živčanog sustava, čineći ih mogućim ciljevima budućih istraživanja.

5. Sažetak

Poli(ADP riboza) je post-translacijska modifikacija proteina koju iz NAD^+ sintetiziraju proteini iz obitelji Poli(ADP-ribozil) polimeraza. Poli(ADP-ribozil)acija je reverzibilna reakcija te povratnu reakciju katalizira nekolicina specifičnih enzima. Poli(ADP-ribozil)acijski sustavi su prisutni u svim eukariotskim supergrupama. U ovom se radu nudi pregled dosadašnjih saznanja o ulogama poli(ADP-ribozil)acije u popravku DNA, reorganizaciji kromatina, regulaciji transkripcije te nekrozi i apoptozi, s posebnim osvrtom na učinke poli(ADP-ribozil)acije u živčanom sustavu. Poli(ADP-ribozil) polimeraze ključan su medijator u tim procesima regulirajući aktivnost čitavog niza proteina koji su direktno uključeni u spomenute procese i to stvaranjem skela poli(ADP riboze) ili direktnom modifikacijom ciljnih proteina. Nadalje, pretjerana aktivnosti poli(ADP-ribozil) polimeraza može dovesti do nekrotične smrti stanica uslije energetskog šoka ili parthanatosa uslijed translokacije mitohondrijskih signala smrti. Do pretjerane aktivacije poli(ADP-ribozil) polimeraza u živčanom sustavu može doći uslijed ekscitotoksičnog djelovanja glutamata te akutnih oboljenja poput moždanog udara i traumatskih ozljeda, kada dolazi do oksidativnog stresa, značajne aktivacije upalnih procesa te neurodegeneracije uz posredovanje poli(ADP-ribozil) polimeraze. Postoje indikacije da poli(ADP-ribozil) polimeraza ima ulogu u patologiji Parkinsonove i Alzheimerove bolesti. U svim spomenutim procesima bitnu ulogu vjerojatno također imaju i glikohidrolaza terminalne ADP riboze te poli(ADP-ribozil) glikohidrolaza, koje su puno slabije istražene, no učinak disfunkcije ovih proteina na živčani sustav naglašava njihovu važnu ulogu u istom.

6. Summary

Poly(ADP-ribose) is a post-translational modification of proteins synthesized by the poly(ADP-ribosyl) polimerase family enzymes from NAD^+. Poly(ADP-ribosyl)ation is a reversible reaction with specific enzymes catalysing the hydrolysis of poly(ADP-ribose). Poly(ADP-ribosyl)ation systems are found in all six eukaryotic supergroups. In this paper, I offer a review of up-to-date findings about the roles of poly(ADP-ribosyl)ation in DNA repair, chromatin reoragnization, transcription regulation, necrosis and apoptosis, with emphasis on the function of poly(ADP-ribosyl)ation in the nervous system. In these processes, poly(ADP-ribosyl) polimerases play a key role regulating the activity of numerous proteins directly engaged in these processes. This is achieved by forming poly(ADP-ribose) scaffolds or by direct modification of target proteins. Moreover, excessive poly(ADP-ribosyl) polimerase activity may lead to necrotic cell death by energy shock or to parthanatos caused by translocation of mitochondrial death signals. In the nervous system, excessive poly(ADP-ribosyl) polimerase activity can be caused by the excitotoxic action of glutamate and by acute conditions, such as stroke and traumatic injuries, during which cells experience oxidative stress, significant activation of inflammatory processes and poly(ADP-ribosyl) polimerase-mediated neurodegeneration. Poly(ADP-ribosyl) glycohydrolase and terminal (ADP-ribose) glycohydrolase most likely also play significant roles in the aforementioned processes as disfunctionality in these two proteins has severe neurodegenerative effects.

7. Literaturna vrela

Barkauskaite, E., A. Brassington, E.S. Tan, J. Warwicker, M.S. Dunstan, B. Banos, P. Lafite, Ahel M., Mitchison T.J., Ahel I., Leys, D. Visualization of poly(ADP-ribose) bound to PARG reveals inherent balance between exo- and endo-glycohydrolase activities. *Nature Communications* 4 (2013).

Chang, W. J., R. Alvarez-Gonzalez. The sequence-specific DNA binding of NF-Kappa B is reversibly regulated by the automodification reaction of poly (ADP-ribose) polymerase 1. *The Journal of Biological Chemistry* 276 (2001): 47664–70.

Chou, D.M., B. Adamson, N.E. Dephoure, X. Tan, A.C. Nottke, K.E. Hurov, S.P. Gygi, M.P. Colaiácovo, S.J. Elledge. A chromatin localization screen reveals poly (ADP ribose)-regulated recruitment of the repressive polycomb and NuRD complexes to sites of DNA damage. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107 (2010): 18475–80.

El-Khamisy, S.F., M. Masutani, H. Suzuki, K. W. Caldecott. A requirement for PARP-1 for the assembly or stability of XRCC1 nuclear foci at sites of oxidative DNA damage. *Nucleic Acids Research* 31 (2003): 5526–33.

Gottschalk, A. J., R. D. Trivedi, J. W. Conaway, R. C. Conaway. Activation of the SNF2 family ATPase ALC1 by poly(ADP-ribose) in a stable ALC1·PARP1·nucleosome intermediate. *The Journal of Biological Chemistry* 287 (2012): 43527–32.

Hanai, S., M. Kanai, S. Ohashi, K. Okamoto, M. Yamada, H. Takahashi, M. Miwa. Loss of poly(ADP-ribose) glycohydrolase causes progressive neurodegeneration in Drosophila melanogaster. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101 (2004): 82–86.

Koh, D. W., T. M. Dawson, V. L. Dawson. Poly(ADP-ribosyl)ation regulation of life and death in the nervous system. *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS* 62 (2005): 760–68.

Malanga, M., J. M. Pleschke, H. E. Kleczkowska, F. R. Althaus. Poly(ADP-ribose) binds to specific domains of p53 and alters its DNA binding functions. *The Journal of Biological Chemistry* 273 (1998): 11839–43.

Moroni, F. Poly(ADP-ribose)polymerase 1 (PARP-1) and postischemic brain damage. *Current Opinion in Pharmacology* 8 (2008): 96–103.

Otto, H., P.A. Reche, F. Bazan, K. Dittmar, F. Haag, F. Koch-Nolte. In silico characterization of the family of PARP-like poly(ADP-ribosyl)transferases (pARTs). *BMC Genomics* 6 (2005): 139.

Perina, D., A. Mikoč, J. Ahel, H. Ćetković, R. Žaja, I. Ahel. Distribution of protein poly(ADP-ribosyl)ation systems across all domains of life. *DNA Repair* (2014)

Polo, S.E., A. Kaidi, L. Baskcomb, Y. Galanty, S.P. Jackson. Regulation of DNA-damage responses and cell-cycle progression by the chromatin remodelling factor CHD4. *The EMBO Journal* 29 (2010): 3130–39.

Sampei, K., A. S. Mandir, Y. Asano, P. C. Wong, R. J. Traystman, V. L. Dawson, T. M. Dawson, P. D. Hurn. Stroke outcome in double-mutant antioxidant transgenic mice. *Stroke; a Journal of Cerebral Circulation* 31 (2000): 2685–91.

Sharifi, R, R. Morra, C. D. Appel, M. Tallis, B. Chioza, G. Jankevicius, M.A. Simpson, Matic, I., Ozkan, E., Golia B. Deficiency of terminal ADP-ribose protein glycohydrolase TARG1/C6orf130 in neurodegenerative disease. *The EMBO Journal* 32 (2013): 1225–37.

Strosznajder, J.B., G.A. Czapski, A. Adamczyk, R.P. Strosznajder. Poly(ADP-ribose) polymerase-1 in amyloid beta toxicity and Alzheimer's disease. *Molecular Neurobiology* 46 (2012): 78–84.

Tallis, M., R. Morra, E. Barkauskaite, I. Ahel. Poly(ADP-ribosyl)ation in regulation of chromatin structure and the DNA damage response. *Chromosoma* 123 (2014): 79–90.

Trucco, C., F. J. Oliver, G. de Murcia, J. Ménissier-de Murcia. DNA repair defect in poly(ADP-ribose) polymerase-deficient cell lines. *Nucleic Acids Research* 26 (1998): 2644–49.

Turski, L., K. Bressler, K. J. Rettig, P. A. Löschmann, H. Wachtel. Protection of substantia nigra from MPP+ neurotoxicity by N-methyl-D-aspartate antagonists. *Nature* 349 (1991): 414–18.

Ullrich, O., A. Diestel, I. Y. Eyüpoglu, R. Nitsch. Regulation of microglial expression of integrins by poly(ADP-ribose) polymerase-1. *Nature Cell Biology* 3 (2001): 1035–42.

Wang, H., M. Shimoji, S.W. Yu, T.M. Dawson, V.L. Dawson. Apoptosis inducing factor and PARP-mediated injury in the MPTP mouse model of Parkinson's disease. *Annals of the New York Academy of Sciences* 991 (2003): 132–39.

Yu, S.W., S.A. Andrabi, H. Wang, N.S. Kim, G.G. Poirier, T.M. Dawson, V.L. Dawson. Apoptosis-inducing factor mediates poly(ADP-ribose) (PAR) polymer-induced cell death. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103 (2006): 18314–19.

Yu, S.W., H. Wang, T.M. Dawson, V.L. Dawson. Poly(ADP-ribose) polymerase-1 and apoptosis inducing factor in neurotoxicity. *Neurobiology of Disease* 14 (2003): 303–17.

Zhang, J., V. L. Dawson, T. M. Dawson, S. H. Snyder. Nitric oxide activation of poly(ADP-ribose) synthetase in neurotoxicity. *Science (New York, N.Y.)* 263 (1994): 687–89.