

*Prehľadová práca***Amyloidová teória v etiopatogenéze Alzheimerovej choroby**Marián Bernadič, Juraj Cisár, ¹Michal Bernadič**Súhrn**

Alzheimerova choroba je neurodegeneratívna choroba, ktorej vonkajším príznakom je demencia. Incidencia tohto typu demencie stále narastá. Alzheimerova choroba je spojená s progresívnym fyzickým a psychickým postihnutím pacientov. Invalidizácia pacientov a s tým súvisiaca zdravotná starostlivosť predstavujú závažný ekonomický problém. Alzheimerova choroba je charakterizovaná poruchou pamäti, progredujúcim kognitívnym deficitom a behaviorálnymi zmenami, ktoré výrazne ovplyvňujú každodenný život pacienta. Napriek pokrokom v medicíne stále nepoznáme príčiny ochorenia, a preto sa nevieme vyjadriť k prevencii ochorenia, diagnostika nie je dostatočne senzitívna a ani špecifická. Kauzálna terapia, ktorá by progresiu ochorenia zastavila, prípadne zvrátila, zatiaľ neexistuje. Histopatologické nálezy senilných plakov v CNS sa spájajú s beta-amyloidom, neurofibrilárne kľbká s tau proteínom. Jednou z troch základných teórií vzniku Alzheimerovej choroby je amyloidová teória, ktorú chceme v tejto prehľadovej práci priblížiť.

Kľúčové slová: Alzheimerova choroba, amyloid β , amyloidová teória, senilné plaky, tau proteín, neurofibrilárne kľbká, mitochondriálna dysfunkcia.

Summary

Alzheimer disease is neurodegenerative disease with common type of dementia in elderly. Incidence of this type of dementia is still rising. Alzheimer disease cause progressive physical and psychological disability in these patients. Invalidisation of patients and associated healthcare represent severe economical issue. Alzheimer disease is characterised by memory loss, progressive cognitive impairment and behavioral changes that seriously interfere with daily life. Despite advancement in understanding the etiopathogenesis of this dementia, diagnostic methods are not enough specific and sensitive. Causal therapy, which could stop the progression, not only slow it, doesn't exist yet. The subject of paper is comparison of some opinions on etiopathogenesis of disease with detailed description of each neuropathological processes and interaction between them. The thesis also informs about history, epidemiology, clinical image, diagnostic methods and therapeutic options of this disease.

Key words: Alzheimer disease, amyloid β , amyloid theory, senile plaques, tau protein, neurofibrillar tangles, mitochondrial dysfunction.

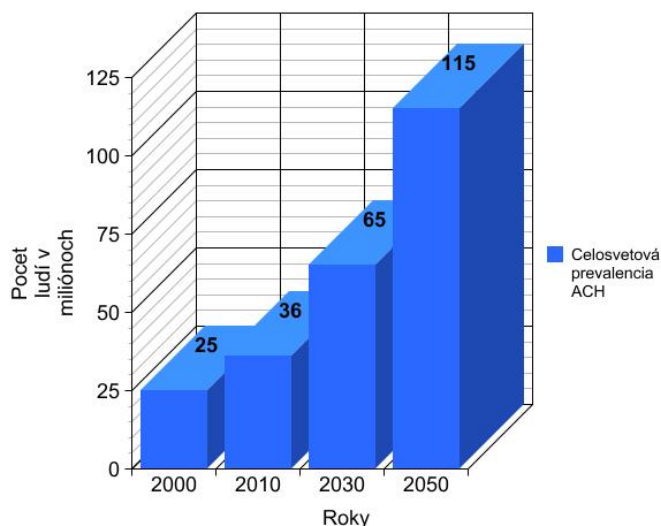
Problematika etiopatogenézy Alzheimerovej choroby sa za posledné desaťročie dostala do popredia záujmu najmä kvôli stále narastajúcej incidencii a progresívnemu priebehu, ktorý má vždy zlú prognózu. Preto je nevyhnutné, aby sa vynaložilo čo najviac úsilia s cieľom dôkladného preskúmania a jednoznačného objasnenia etiopatogenézy demencie tohto typu.

Alzheimerova choroba (ACH) je v súčasnosti príčinou najčastejšieho typu demencie. Postihuje 36 miliónov ľudí na celom svete a do roku 2030 sa predpokladá nárast počtu postihnutých týmto typom demencie na 66 miliónov. V USA je odhadovaný počet 5,3 milióna, v Európe 7,3 milióna. Do roku 2030 sa predpokladá dvojnásobok a roku 2050 dokonca trojnásobné zvýšenie prevalencie tohto ochorenia. Na Slovensku nie sú presné epidemiologické údaje o prevalencii Alzheimerovej choroby, odhady sú okolo 60 000 pacientov. Morbidita a mortalita ACH stále narastajú (obr. 1). Nárast incidencie a prevalencie sa spája nielen s novými diagnostickými kritériami, ale aj stále vyšším priemerným vekom obyvateľstva. Vek sa považuje za jeden z hlavných rizikových faktorov. V krajinách EU alebo USA je každý desiaty človek po 65. roku života postihnutý istým stupňom

Ústav patologickej fyziológie, Lekárska fakulta Univerzity Komenského, ¹Chirurgická klinika SZU a NOÚ, Bratislava
Adresa pre korešpondenciu: Prof. MUDr. Marián Bernadič, CSc.,
 Ústav patologickej fyziológie, Lekárska fakulta Univerzity Komenského, Sasinkova 4, 811 01 Bratislava
 e-mail: marian.bernadic@fmed.uniba.sk

demencie, po 85. roku sú dokonca u tretiny ľudí diagnostikované symptómy typické pre demenciu (Prince et al., 2011).

Tento nárast prevalencie má veľký socioekonomický dopad na spoločnosť. ACH skracuje dĺžku života a je jedným z hlavných dôvodov fyzickej disability, invalidity, inštitucionalizácie a zníženia kvality života pacienta. Na starostlivosť o týchto pacientov, či už doma alebo v špecializovaných zariadeniach, sú potrebné veľké finančné zdroje. Celosvetovo bolo roku 2010 vynaložených až 315 miliárd dolárov na terapiu, diagnostiku a celkovú starostlivosť o pacientov s ACH.



Obrázok 1. Výskyt Alzheimerovej choroby a očakávané trendy.

Mechanizmus vzniku ACH nie je známy. Ochorenie sa začína pravdepodobne v locus coeruleus, ktoré je zodpovedné za tvorbu noradrenalínu pre hypotalamus. Chronický stres, resp. zápal, vedie k zvýšenej činnosti locus coeruleus, znižuje sa tvorba noradrenalínu, čo ovplyvňuje negatívne neuromoduláciu, neurogenézu. Pri strese sa môže noradrenalín vylučovať aj mimo vakuol do cytoplazmy, kde sa rozkladá za vzniku toxických medziproduktov, ktoré poškodzujú nielen cytoplazmu, ale aj bunkové organely. Táto hypotéza zatiaľ nie je potvrdená a je v štádiu experimentálneho overovania. V súčasnosti sú platné najčastejšie tieto etiopatogenetické teórie: amyloidová metabolická kaskáda (amyloidová hypotéza), ale stále častejšie sa spomínajú aj potranslačná modifikácia tau proteínu (tau hypotéza), mitochondriová hypotéza, oxidačný stres a zápal, apoenzymE a mnoho iných.

Amyloidová hypotéza

Amyloidová kaskáda, ktorej základom je extracelulárna depozícia AB peptidov v podobe senilných plakov, sa považuje za primárnu hypotézu vzniku ACH (Hardy et al., 2006). Aj keď je význam amyloidovej hypotézy v neuropatológii ACH nepopierateľný, sama o sebe nedokáže vysvetliť komplexnosť biochemických a patologických zmien v ACH. Preto sa usudzuje, že vznik patologických zmien

v mozgu je spôsobený viacerými procesmi, ktoré sa navzájom podmieňujú a ovplyvňujú (Bachman et al., 2003).

Tvorba amyloidu β

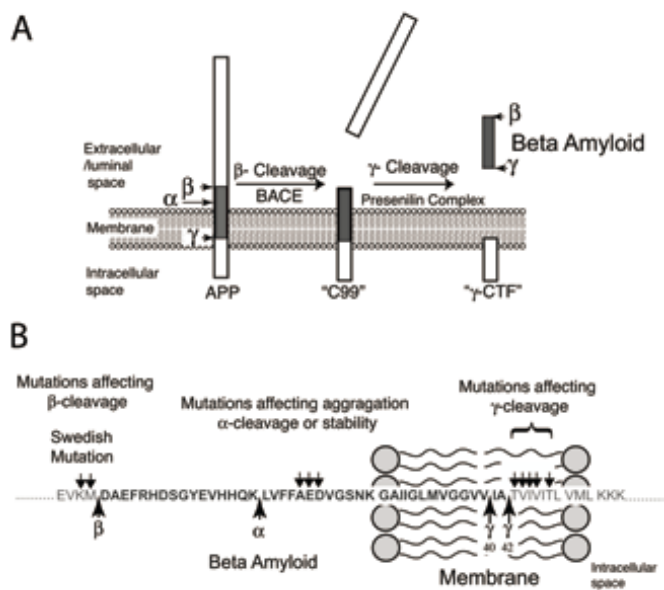
Amyloid β vzniká proteolytickým štiepením transmembránového proteínu nazývaného amyloidový prekursorový proteín (APP) (Hardy et al., 1997). Samotné štiepenie APP môže prebiehať dvoma spôsobmi:

- Neamyloidogénna dráha (α dráha). Je to najčastejší spôsob štiepenia, pričom APP je najprv štipené α -sekretázou a následne γ -sekretázou a pri tom vznikajú malé fragmenty, ktoré netvoria depozity.
- Amyloidogénna dráha (β dráha). Týmto spôsobom dochádza najprv k štiepeniu APP β -sekretázou (BACE), ktorá vedie k tvorbe väčšieho fragmentu s APP β , ktorý sa uvoľňuje extracelulárne, a menšieho transmembránového C – terminálneho fragmentu pozostávajúceho z 99 aminokyselín (C99). C99 sa potom štiepi γ -sekretázou na samotný amyloid β , ktorý je zložený z 38 – 43 aminokyselín a na intracelulárnu C-terminálnu doménu APP (AICD) (Selkoe et al., 1994). Častejšie vzniká menšia molekula amyloidu β , A β 40, ktorá bola považovaná za menej toxickú. Jej prítomnosť bola detegovaná v perivaskulárnom priestore cerebrálnych artérií. Väčšia molekula amyloidu β , A β 42 je základným komponentom senilných plakov (Pettersen et al., 2008).

Amyloidový prekursorový proteín, jeho fyziologický význam a patológia

APP má veľký význam pre správne fungovanie neurónov a CNS ako celku. Jeho fyziologická úloha je regulácia synaptickej aktivity ako aj štruktúry synaptických spojení. Aj produkt štiepenia APP, AICD má regulačnú funkciu, reguluje metabolizmus cholesterolu. Po tom, čo sa vytvorí peptid AICD, je stabilizovaný proteínom Fe65 a následne tvorí väzbu s transkripčným faktorom Tip60. Vznik tohto komplexu iniciuje transkripciu degradačného enzýmu neprylizínu, ktorý štiepi mnohé proteíny, vrátane amyloidu β . APP, resp. jeho fragmenty ovplyvňujú syntézu lipoproteínových receptorov (Liu et al., 2008) a enzýmov zúčastňujúcich sa na tvorbe rôznych lipidov (Grimm et al., 2005). Huang a kol. pozorovali neuroprotektívny význam APP v zmysle inhibície Cdk5, ktorá je zodpovedná za hyperfosforyláciu tau proteínu (Huang et al., 2000).

Patológia APP spočíva hlavne v mutácii génu pre tento proteín, ktoré sú spojené s familiárnou formou ACH a duplícite tohto génu, ktorý sa vyskytuje pri trizómii chromozómu 21. Mutácie tohto génu môžu viesť k rôznym patologickým zmenám, najmä k zvýšenej depozícii amyloidu β , ale aj v podobe apoptózy neurónov v olfaktorickej oblasti mozgu bez prítomnosti senilných plakov, čo môže byť jeden zo skorých príznakov familiárnej formy ACH (Chen et al., 2004).



Obrázok 2. Schématické znázornenie tvorby amyloidu β . **A.** APP je veľký transmembránový proteín, ktorý je najprv štiepený BACE na β mieste molekuly a potom na γ mieste γ -sekretázou, pričom vzniká amyloid β . **B.** Sekvencia aminokyselín APP a jej jednotlivé časti, miesta štiepenia a najčastejšie miesta mutácií (podľa Selkoe et al., 1994).

Štiepenie APP

V tvorbe amyloidu β má dôležitú úlohu štiepenie APP prostredníctvom β -sekretázy (BACE1 a jej homológ BACE2), ktorá je regulovaná mnohými mediátormi. Medzi ne patrí napr. proteín kináza C (Wang et al., 2008). Narušená homeostáza kalcia v intracelulárnom priestore stimuluje génovú expresiu BACE1 prostredníctvom nukleárneho faktora aktivovaného T-lymfocytmi (NFAT1), čo vedie k zvýšenej tvorbe amyloidu β . Rovnaký efekt na expresiu BACE1 má aj produkt štiepenia APP, A β 42 prostredníctvom NF κ B signálnej dráhy intracelulárne, ale aj A β 42 z extracelulárneho priestoru, ktorý sa tam nachádza v podobe senilných plakov. A β 40 takýto účinok nemá. Okrem toho, štiepenie LRP (lipoprotein receptor related protein) vedie k endocytóze APP a apoE, čo môže ovplyvniť tvorbu amyloidu β (Lin et al., 2001).

Klasickou predstavou degradácie APP je, že pri jeho štiepení sa vzniknutý amyloid β nachádza na bunkovej membráne a následne sa uvoľňuje do extracelulárneho priestoru s jeho následnou depozíciou a samotným neurotoxickým účinkom. V súčasnosti sa našli dôkazy, že tento proces sa celý deje intracelulárne (Xu et al., 1997). Pri testovaní novej formy liečby, sa inhibuje vezikulárny transport APP z endoplazmatického retikula alebo Golgiho aparátu na bunkovú membránu. Tento výskum mal však nečakaný výsledok. Nielenže to nezabránilo tvorbe amyloidu β , ale bol objavený význam endoplazmatického retikula a Golgiho

aparátu v etiopatogenéze ACH. Pri degradácii APP v ER došlo k vzniku A β 42, ktorý ostáva intracelulárne a v GA vzniká A β 40, ktorý sa dostáva sekrečnými vezikulami do extracelulárneho priestoru (Greenfield et al., 1999). Tiež bolo dokázané, že APP, ktorý sa nachádza na bunkovej membráne, sa degraduje intracelulárne v endozómoch/lyzozómoch. Túto informáciu podporuje fakt, že nízke pH, ktoré v lyzozómoch je, podporuje tvorbu oligomérov amyloidu β (Huang et al., 2000).

Štruktúra amyloidu β a jeho agregácia

Amyloid β je klasifikovaný do dvoch podskupín na základe jeho stavby:

- Amorfny amyloid β , ktorý tvorí difúzne plaky a predstavuje preamyloidové štádium. Ako ďalšiu jeho štruktúrnú charakteristiku možno považovať jeho rozpustnosť, čo vedie k jeho difúzii v extracelulárnom aj intracelulárnom priestore. Táto jeho vlastnosť nám umožňuje určiť jeho hladinu z periférnej krvi alebo mozgomiechového moku.
- Fibrilárny amyloid β tvorí neuritické plaky, čo sa spája s neurotoxickým a neurodegeneratívnym potenciálom. Je nerozpustný, a preto je jeho prítomnosť takmer výlučne v extracelulárnych senilných plakoch.

Zvýšené množstvo rozpustnej aj nerozpustnej formy amyloidu β nachádzame u pacientov s ACH, ale je silnejšia asociácia medzi hladinou rozpustného amyloidu β a mierou synaptického poškodenia, vedúceho ku kognitívnemu deficitu (Keil et al., 2004). Naproti tomu korelácia medzi počtom ložísk senilných plakov a mierou kognitívneho deficitu nie je dostatočná (Berg et al., 1998). Na základe týchto poznatkov možno usudzovať, že rozpustný amyloid β má schopnosť iniciovať neurodegeneratívny proces a to následne vedie k jeho akumulácii a tvorbe plakov, resp. tieto procesy prebiehajú paralelne.

Viaceré štúdie ukázali, že amyloid β tvorí komplexné štruktúry rôznej veľkosti. Základnou stavebnou jednotkou týchto štruktúr je monomér amyloidu β . Najmenšou takouto štruktúrou je amyloid β s nízkou molekulovou hmotnosťou (LMW A β), pozostávajúci z dimérov. Ostatné štruktúry vznikajúce agregáciou týchto základných stavebných jednotiek, patria do skupiny oligomérov. Medzi ne sa zaraďujú difúzne ligandy odvodené od amyloidu β (ADDLs), protofibrily a fibrily. V rámci ich vzniku je istý rovnovážny stav a možnosť premeny medzi jednotlivými štruktúrami, s výnimkou premeny protofibríl na fibrily. Tento proces je totiž ireverzibilný a tieto formy majú tendenciu sa zväčšovať (Gorman et al., 2003). Tento rovnovážny stav úzko súvisí s prostredím, v ktorom sú, preto zmeny pH, teploty, časového faktoru, koncentrácie elektrolytov a aj samotného amyloidu β vedie k tvorbe väčších agregátov, ktoré sa ťažšie štiepia a odbúrávajú (tab. 1) (Serpell et al., 2000).

Tabuľka 1. Názvy štruktúr, ktoré amyloid β tvorí, ich zloženie, veľkosť, neurotoxicita a farbitelnosť kongo-červeňou (Gorman et al., 2003).

	Štruktúra	Veľkosť	Neurotoxicita	Farbenie kongo-červeň
Monomér A β		0,1-0,2	-	-
LMW A β	Mono – dimér	0,6	+	-
ADDL	Trimer – 24mer	50	+	+
Oligomer A β			+	+
Protofibrily		60-80	+	+
Protofilamenty (PF)		25-30	+	+
Fibrily	5-6 PF	70-120	+	+

Konformácia monomérov a dimerov amyloidu β je hlavne vo forme α -helixu. Tá sa mení u oligomérov na β -skladaný list (Serpell et al., 2000). ADDL predstavujú najjednoduchšiu formu protofibríl, preto sa v istom percente ADDL môže pozorovať sekundárna štruktúra v podobe β -skladaného listu. Premena jednoduchších foriem štruktúr amyloidu β na zložitejšie formy v podobe oligomérov, vrátane fibrilárneho amyloidu β , zahŕňa zmenu sekundárnej štruktúry z α -helixu na β -skladaný list. Práve kvôli tejto premene sú oligoméry nerozpustné a ťažšie sa štiepia.

Sekundárna štruktúra závisí aj od veľkosti molekuly samotného amyloidu β . A β 42 sa považuje za toxickejšiu formu než A β 40 hlavne preto, že aminokyseliny sú na N-terminálnom a C-terminálnom konci vo forme intramolekulárneho β -skladaného listu, ktorý stabilizuje molekulu, čo vedie k tvorbe fibríl s následnou agregáciou (Novak et al., 1991). A β 40 takúto štruktúru nemá, je rozpustnejší, netvorí tak často fibrily, ktoré by viedli k agregácii amyloidu β a aj vďaka tomu sa ľahšie dostáva cez hematoencefalickú bariéru do systémovej cirkulácie (Weller et al., 2009).

Senilné plaky predstavujú extracelulárne depozity amyloidu β a spolu s intracelulárnou depozíciou hyperfosforylovaného tau proteínu spôsobujú skoré patologické zmeny mozgu pred tým, než dôjde k významnému úbytku neurónov u ľudí s ACH, ale aj u ľudí s fyziologickým starnutím mozgu. Senilné plaky majú dve histologické formy, difúznú a neuritickú s denznou centrálnou časťou. Difúzna obsahuje amorfny amyloid β , sekundárna štruktúra je v podobe α -helixu a v ich okolí nie sú dystrofické neurity (Huang et al., 2000). Neuritická forma naopak obsahuje fibrilárny amyloid β s konformáciou β -skladaného listu s okolitou dystrofiou neuritov. Difúzna forma sa častejšie vyskytuje u ľudí bez príznakov ACH, neuritická skôr u ľudí s diagnostikovanou ACH (Petersen et al., 2006). Z toho nemožno jednoducho usudzovať, že difúzna je benígnejšia forma, lebo môže byť prítomná u ľudí v presymptomatickom štádiu ACH, ktorá následne progreduje za vzniku denznejších, neuritických plakov, čo spôsobí objavenie prvých symptómov ACH.

Toxicita amyloidu β

Skúmanie toxicity amyloidu β ukázalo, aký rôznorodý môže byť jeho účinok na bunku. Dlhो prevládal názor, že amyloid β sa nachádza výlučne extracelulárne. Teraz však vieme, že celý proces sa začína intracelulárne. Má negatívny vplyv na fungovanie bunky tým, že tvorí agregáty, ktoré zaťažujú bunku, poškadzujú synaptický prenos a aj samotnú membránu.

Amyloid β a jeho intracelulárna akumulácia

Oligomerizácia amyloidu β prebiehajúca intracelulárne je prítomná v skorších štádiách ACH. Jeho extracelulárna depozícia je skôr prejavom progresie ochorenia. Predpokladá sa, že neuróny zaťažené veľkým množstvom agregovaného amyloidu β podliehajú apoptóze s následným uvoľnením týchto agregátov, ktoré predstavujú základ senilných plakov. Preto je v pokročilejšom štádiu ACH prevaha extracelulárneho depozitu nad intracelulárnym (Andorfer et al., 2005).

Amyloid β a jeho sekvestrácia

Koncentrácia amyloidu β je závislá nie len na jeho syntéze (mutácie génov pre PS1, PS2 a APP), ale aj na jeho odstraňovaní (gén pre enzým neprilyzín) (Clarimon et al., 2003). Tieto mutácie predstavujú rizikové faktory pre vznik ACH. Samotné senilné plaky sú fagocytované bunkami mikroglie. V súčasnosti je známych niekoľko receptorov, ktoré sú schopné viazať amyloid β v podobe monomérov aj fibríl. Medzi takéto receptory patrí scavenger receptor CD36, integrínové receptory, RAGE (receptors for advanced glycolisation products) a FPRL1 (Verdier et al., 2004). Mikroglálne bunky sú často v okolí neuritických plakov. Väzba amyloidu β môže viesť k zahájeniu zápalového procesu, ktorý vedie k endocytóze týchto peptidov. Aj keď je tento dej vo všeobecnosti prospešný pri degradácii toxických elementov, v tomto prípade to tak byť nemusí. Ako sme už spomenuli, nové výskumy naznačujú, že nízke pH v endozómoch vedie k oligomerizácii amyloidu β , ktorý sa

ťažko degraduje, hromadí sa a vedie k zániku bunky samotnej, či už je to neurón alebo bunka mikroglie.

Amyloid β a dlhodobá potenciácia synpatickej účinnosti (LTP)

LTP predstavuje dej, ktorý prostredníctvom potenciácie účinnosti synaptických spojení závislej od stimulu, vedie k uchovávaní pamäťových stôp. Experimenty na zvieracích modeloch ukázali, že porucha LTP sa deje ešte pred výskytom apoptózy neurónov. Porucha LTP bola u týchto modelových zvierat vyvolaná intracerebrálnym podaním oligomérov amyloidu β (Walsh et al., 2002). Oligoméry pravdepodobne spôsobujú deteorizáciu tohto deja, extracelulárne prostredníctvom membránových receptorov alebo intracelulárne, uložené v endozómoch s ich následnou agregáciou (Cleary et al., 2005).

Amyloid β a acetylcholínový synaptický prenos vzruchu

Narušenie synaptického prenosu, ktorého mediátorom je acetylcholín, sa vyskytuje už skorých štádiách ACH a jeho zvýšenie je jedným z hlavných terapeutických prístupov používaných v súčasnosti. Amyloid β sa s vysokou afinitou viaže na $\alpha 7n$ acetylcholínový receptor (Wang et al., 2000). Táto väzba vedie k inhibícii intracelulárneho uvoľňovania kalcia ako druhého posla a tiež bráni v extacelulárnej sekrécii samotného acetylcholínu. Obe tieto procesy sú považované za základ samotnej neurotransmisie a samotnej synpatickej plasticity. Táto interakcia medzi receptorom a amyloidom β vedie k jeho internalizácii a intracelulárnej akumulácii. $A7n$ acetylcholínový receptor je najviac koncentrovaný na neurónoch v hipokampe a mozgovej kôre, čo možno považovať za dôkaz, že výsledky týchto výskumov sú hodnoverné. Zaujímavosťou je, že nikotín u fajčiarov spôsobuje up-reguláciu týchto receptorov, čo vedie k zvýšenej miere internalizácie amyloidu β a jeho intracelulárnej akumulácii.

Amyloid β a jeho vplyv na elektrické vlastnosti membrány

Elektrická integrita biologických membrán je nevyhnutná pre správne fungovanie a životaschopnosť neurónov. Porucha pokojového potenciálu plazmatickej membrány je pravdepodobne jedným z toxických efektov, ktoré vedú k narušeniu LTP a transmisie neuromediátorov. Rovnakým spôsobom dochádza k poškodeniu mitochondriálnej membrány, ktorá spôsobuje oxidačný stres ako jeden z komponentov etiopatogenézy ACH (Abramov et al., 2004). Výsledky výskumov nie sú také jednoznačné. Podľa niektorých výskumov agregáty amyloidu β sa ukladajú do bunkovej membrány a tvoria pórom podobné štruktúry. To vedie k nekontrolovateľnému influxu iónov a vody s následnou lýzou bunky. Iné výskumy však tieto výsledky popierajú (Kayed et al., 2004).

Agregáty amyloidu β tvoriace pórom podobné štruktúry pozostávajú z 30–60 monomérov a nápadne sa podobajú

bakteriálnym toxínom, ktoré tvoria póry v bunkovej stene. Tieto pórom podobné štruktúry spôsobujú depolarizáciu bunky a tiež influx kalciových iónov. Túto hypotézu potvrdzuje hneď niekoľko výskumov. Hartmann a spol. zistili prostredníctvom špecifických laboratórnych metód, že koncentrácia kalciových iónov narastala aj po deplécii intracelulárnych zásob (Hartmann et al., 1997). Toto je v súlade so zisteniami Mattsona a spol. - a to, že ani podanie efektívneho kalciového blokátora, v tomto prípade kobalt, nezastavilo influx kalciových iónov (Mattson et al., 1992). Všetky tieto tvrdenia vedú k záveru, že takáto „netesniaca“ membrána vedie k nekontrolovateľnému vstupu iónov kalcia do bunky. Jeho zvýšená koncentrácia ovplyvňuje množstvo signálnych dráh, čo vedie k apoptóze bunky (Lin et al., 2001).

Diskusia

Pôvodné názory na etiopatogenézu ACH, ktoré sa vytvorili len na základe neuropatologických nálezov u pacientov s ACH, sa za posledných 20 rokov zmenili. Tomuto hlbšiemu pochopeniu etiopatogenézy ACH vďačíme mnohým štúdiám zaoberajúcim sa genetickými a molekulárnymi abnormalitami, ktoré sa spájajú s touto zákernou chorobou. Tieto nové poznatky dramaticky zlepšili naše diagnostické a terapeutické možnosti, no na to, aby boli naozaj efektívne a progresiu ochorenia zastavili a nie len spomalili, potrebujeme identifikovať vysoko špecifické abnormálne procesy vedúce k neurodegeneratívnemu poškodeniu mozgu u pacientov s ACH.

Staršie názory zahŕňali amyloid β , ktorý tvorí senilné plaky a tau proteín tvoriaci neurofibrilárne kľbká. Tieto patologické procesy sa považovali za patognomické a tieto polymerezované, resp. fibrilárne štruktúry predstavovali aj pôvodcov kognitívneho deficitu u pacientov s ACH. Dnes už existuje mnoho hypotéz, ktoré majú vplyv na vznik neurodegeneratívneho poškodenia, ale všetky sú málo špecifické a vyskytujú sa aj pri iných demenciách, ba dokonca aj v prípade fyziologického starnutia (okrem amyloidovej a tau hypotézy aj mitochondriálna hypotéza, zápalová hypotéza, vaskulárna hypotéza, vplyv medi na vznik ACH a mnohé iné). Patologický obraz ACH je tak komplexný, že pravdepodobne nie jeden, ale skôr kombinácia rizikových faktorov a patologických dejov vede ku vzniku symptómov ACH.

Jednotlivé patologické procesy a ich vzájomná interakcia

Patologické procesy prebiehajúce v neurónoch postihnutých ACH sú pomerne známe. Otázkou zostáva, čo je primum movens, resp. prvotná príčina vzniku ACH. Amyloidovú hypotézu podporujú tri argumenty.

Prvým a pravdepodobne najpresvedčujúcejším argumentom je genetický podklad vzniku familiárnej formy ACH. Mutácia génov kódujúcich APP, presenilín 1 a presenilín 2 dokázateľne spôsobuje zvýšenú tvorbu amyloidu, jeho agregáciu a depozíciu. Všetky známe mutácie asociované s ACH ovplyvňujú výlučne metabolizmus amyloidu (Ballard et al., 2011). Napriek všetkým snahám sa však doteraz

nepodarilo potvrdiť priamy vzťah medzi mutáciami týchto génov a patologickými zmenami v neurónoch v rámci ACH. Neexistuje žiadna korelácia medzi hladinou amyloidu β a vekom vzniku familiárnej formy ACH. V prípade mutácie presenilínu 1 a 2 taktiež nekoreluje miera expresie týchto génov a hladina amyloidu β (Citron et al., 1997). Na zvieracích modeloch s mutáciou APP génu sa ukázalo, že táto mutácia vedie k zvýšenej tvorbe amyloidu β , čo má toxický efekt na synaptické spojenia. Napriek tomu nevznikajú depozity amyloidu vo forme senilných plakov. Toxické poškodenie synaptických spojení v mozgu dobre koreluje kognitívnym deficitom, ale senilné plaky, typ mutácie APP génu a ani množstvo samotného APP takúto koreláciu nemajú (Mucke et al., 2000). Podobne na tom je apoE ϵ 4, ktorý reguluje metabolizmus lipidov a pravdepodobne má vplyv aj na imunitné reakcie, reparáciu tkanív a homeostázu buniek. Prebehlo viacero štúdií, ktoré sa snažili objasniť význam apoE ϵ 4 v etiopatogenéze ACH, výsledky si však navzájom protirečia (Verghese et al., 2011).

Druhý argument podporujúci amyloidovú hypotézu je jeho analóg v periférnych tkanivách prítomný pri rôznych systémových ochoreniach. U týchto ochorení bol pozorovaný cytotoxický účinok voľnej oligomerickej formy amyloidu. Molekulárny podklad jeho toxicity spočíva vo vzniku oxidačného stresu, poškodenia bunkovej membrány a apoptózy bunky. Relevantnosť týchto poznatkov je však nedostatočná, keďže existuje výrazný polymorfizmus amyloidovej agregácie a jeho toxicity v jednotlivých orgánoch (Merlini et al., 2003).

Tretí argument zahŕňa toxicitu voľného oligomerickeho amyloidu β v mozgu zvieracích modelov. Má cytotoxický účinok na synapsy a spôsobuje poruchu LTP (Tomlyama et al., 2008). Okrem toho oligomerická forma amyloidu β indukuje in vitro tvorbu hyperfosforylovaného tau proteínu a neuronálne poškodenie bez prítomnosti fibrilárnej formy amyloidu β (Jin et al., 2011). Množstvo oligomérov amyloidu β zo vzoriek ľudského mozgového tkaniva získané post mortem je vyššie u mladých ľudí, ktorí sú zdraví, než u starších ľudí.

Prvé údaje, ktoré spochybňovali jedinečnosť amyloidovej hypotézy v etiopatogenéze ACH pochádzajú z rôznych neuropatologických výskumov. Tomlinson et al. (1987) zistili, že neurofibrilárne kľbká a senilné plaky sa nachádzajú v hipokampe a temporálnom laloku mozgu nielen u ľudí s MCI, ale aj u úplne zdravých ľudí bez akéhokoľvek kognitívneho deficitu. Ďalšie výskumy ukázali, že u ľudí s klinickým obrazom demencie sa našli početné ložiská neurofibrilárnych kľbiok v kôre temporálneho laloka a následne aj v asociovaných častiach neokortexu, pričom prítomnosť depozitov amyloidu β bola minimálna. Taktiež bola potvrdená asociácia medzi množstvom neurofibrilárnych kľbiok a závažnosťou demencie. Šírenie týchto neurofibrilárnych kľbiok v neokortexe spôsobuje progresiu demencie. Na základe týchto výsledkov bolo nevyhnutné dôkladnejšie zhodnotiť množstvo neurofibrilárnych kľbiok a amyloidových depozitov za pomoci presných stereologických meraní CA1 poľa hipokampu, kôry a arey-9. Tieto merania sa porovnávali s výsledkami MMSE a dokázali, že NFT, ktoré zapríčiňujú deštrukciu neurónov, viac koreluje s kognitívnym deficitom ako senilné plaky. Existuje spojitosť nie len medzi

NFT a kognitívnym deficitom, ale samozrejme aj redukcia množstva neurónov má na túto skutočnosť podstatný vplyv. Ďalším účinkom NFT vo vzťahu s kognitívnym deficitom, je jeho poškodenie presynaptických vezikulárných bielkovín, synaptofyzínov v hipokampe a temporálnom kortexe. Podobné výsledky sa dosiahli prostredníctvom histopatologických štúdií (Carter et al., 2001). V niekoľkých histopatologických vzorkách sa ukázalo, že NFT sa môže vyskytovať bez amyloidu β , amyloid β sa však nachádza v patologických vzorkách spolu s NFT. Zvieracie modely myši s mutáciou APP mali kognitívny deficit len vtedy, ak bola zvýšená hladina NFT. Zlepšenie ich kognitívnych funkcií sa dosiahlo podaním protilátky proti amyloidu β , ktoré redukciu amyloidu β dosiahli redukciou aj NFT. Všetky tieto výsledky možno zhodnotiť tak, že aj keď amyloid β vedie k tvorbe NFT, skutočný vplyv na kognitívne schopnosti má NFT a aj samotná závažnosť demencie závisí viac od množstva NFT, než amyloidu β .

Zo všetkých týchto údajov vyplýva, že amyloid β je tzv. primum movens ACH. Sám však nespôsobuje závažný kognitívny deficit. Na to, aby došlo k závažnejšiemu poškodeniu neurónov, ktoré by sa prejavili týmito kognitívnymi zmenami, je zrejme potrebná súčinnosť amyloidu β spolu s hyperfosforylovaným tau proteínom a dysfunkciou mitochondrií (obe tieto ďalšie teórie si predstavíme v nasledujúcich číslach časopisu).

Literatúra

Abramov, A.Y., Canevari, L., Duchon, M. R.: Beta-amyloid peptides induce mitochondrial dysfunction and oxidative stress in astrocytes and death of neurons through activation of NADPH oxidase. *J. Neurosci.*, 24, 2004, s. 565-575.

Alzheimer, A., Stelzmann, R.A., Schnitzlein, H.N., Murtagh, F.R.: An English translation of Alzheimer's 1907 paper: „Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde“. *Clin. Anat.*, 8, 1995, s. 429-431.

Bachman, D.L., Wolf, P.A., Linn, R.T., Knoefel, J.E., Cobb, J.L., Belanger, A.J., White, L.R., D'Agostino, R.B.: Incidence of dementia and probable Alzheimer's disease in a general population: the Framingham study. *Neurology*, 1993, 43, s. 515-519.

Ballard, C., Gauthier, S., Corbett, A. et al.: Alzheimer's disease. *Lancet*, 2011, 377, s. 1019-1031.

Bartoš, A., Řipova, D.: Pokroky v diagnostice Alzheimerovy nemoci. *Psychiat. Prax.*, 2007, 1, s. 17-21.

Berg, L., McKeel, D.W., Jr., Miller, J.P. et al. Clinicopathologic studies in cognitively healthy aging and Alzheimer's disease: relation of histologic markers to dementia severity, age, sex, and apolipoprotein E genotype. *Arch. Neurol.*, 1998, 55, s. 326-335.

Carter, J., Lippa, C.F.: Beta-amyloid, neuronal death and Alzheimer's disease. *Curr. Mol. Med.*, 2001, 1, s. 733-737.

Citron, M., Westaway, D., Xia, W. et al.: Mutant presenilins of Alzheimer's disease increase production of 42-

- residue amyloid β -protein in both transfected cells and transgenic mice. *Nat. Med.*, 1997, 3, s. 67–72.
- Clarimon, J., Munoz, F.J., Boada, M., Tarraga, L., Sunyer, J., Bertranpetit, J., Comas, D.:** Possible increased risk for Alzheimer's disease associated with neprilysin gene. *J. Neural. Transm.*, 110, 2003, s. 651–657.
- Cleary, J.P., Walsh, D.M., Hofmeister, J.J., Shankar, G.M., Kuskowski, M.A., Selkoe, D.J., Ashe, K.H.:** Natural oligomers of the amyloid-beta protein specifically disrupt cognitive function. *Nat. Neurosci.*, 8, 2005, s. 79–84.
- Gorman, P.M., Yip, C.M., Fraser, P.E., Chakrabarty, A.:** Alternate aggregation pathways of the Alzheimer beta-amyloid peptide: Abeta association kinetics at endosomal pH. *J. Mol. Biol.*, 2003, 325, s. 743–757.
- Greenfield, J.P., Tsai, J., Gouras, G.K., Hai, B., Thinakaran, G., Checler, F., Sisodia, S.S., Greengard, P., Xu, H.:** Endoplasmic reticulum and trans-Golgi network generate distinct populations of Alzheimer beta-amyloid peptides. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 96, 1999, s. 742–747.
- Grimm, M.O., Grimm, H.S., Patzold, A.J., Zinser, E.G., Halonen, R., Duering, M., Tschape, J.A., De Strooper, B., Muller, U., Shen, J., Hartmann, T.:** Regulation of cholesterol and sphingomyelin metabolism by amyloid-beta and presenilin. *Nat. Cell. Biol.*, 2005, 7, s. 1118–1123.
- Hardy, J.:** A hundred years of Alzheimer's disease research. *Neuron*, 52, 2006, s. 3–13.
- Hardy, J.:** Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis: an update and reappraisal. *J. Alzheimers Dis.*, 2006, 9, s. 151–153.
- Hardy, J.:** Amyloid, the presenilins and Alzheimer's disease. *Trends Neurosci.*, 1997, 20, s. 154–159.
- Hardy, J., Selkoe, D.J.:** The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science*, 2002, 297, s. 353–356.
- Hartmann, T., Bieger, S.C., Bruhl, B., Tienari, P.J., Ida, N., Allsop, D., Roberts, G.W., Masters, C.L., Dotti, C.G., Unsicker, K., Beyreuther, K.:** Distinct sites of intracellular production for Alzheimer's disease A beta40/42 amyloid peptides. *Nat. Med.*, 3, 1997, s. 1016–1020.
- Huang, T.H., Yang, D.S., Fraser, P.E., Chakrabarty, A.:** Alternate aggregation pathways of the Alzheimer beta-amyloid peptide. An in vitro model of preamyloid. *J. Biol. Chem.*, 2000, 275, s. 3436–3440.
- Huang, T.H., Yang, D.S., Plaskos, N.P., Go, S., Yip, C.M., Fraser, P.E., Chakrabarty, A.:** Structural studies of soluble oligomers of the Alzheimer beta-amyloid peptide. *J. Mol. Biol.*, 297, 2000, s. 73–87.
- Chen, X.H., Siman, R., Iwata, A., Meaney, D.F., Trojanowski, J.Q., Smith, D.H.:** Long-term accumulation of amyloid-beta, beta-secretase, presenilin-1, and caspase-3 in damaged axons following brain trauma. *Am. J. Pathol.*, 2004, 165(2), s. 357–371.
- Jin, M., Shepardson, N., Yang, T. et al.:** Soluble amyloid betaprotein dimers isolated from Alzheimer cortex directly induce tau hyperphosphorylation and neuritic degeneration. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2011, 108, s. 5819–5824.
- Kayed, R., Sokolov, Y., Edmonds, B., McIntire, T.M., Milton, S.C., Hall, J.E., Glabe, C.G.:** Permeabilization of lipid bilayers is a common conformation-dependent activity of soluble amyloid oligomers in protein misfolding diseases. *J. Biol. Chem.*, 279, 2004, s. 46363–46366.
- Keil, U., Bonert, A., Marques, C.A., Scherping, I., Weyermann, J., Strosznajder, J.B., Muller-Spahn, F., Haass, C., Czech, C., Pradier, L., Muller, W.E., Eckert, A.:** Amyloid beta-induced changes in nitric oxide production and mitochondrial activity lead to apoptosis. *J. Biol. Chem.*, 2004, 279, 50310–50314.
- Liu, F., Iqbal, K., Grundke-Iqbal, I., Wegiel, J., Gong, C.X.:** Decrease of protein phosphatase 2A and its association with accumulation and hyperphosphorylation of tau in Down syndrome. *J. Alzheimers Dis.*, 2008, 13, s. 295–302.
- Lin, H., Bhatia, R., Lal, R.:** Amyloid beta protein forms ion channels: implications for Alzheimer's disease pathophysiology. *Faseb. J.*, 15, 2001, s. 2433–2444.
- Mattson, M.P., Cheng, B., Davis, D., Bryant, K., Lieberburg, I., Rydel, R.E.:** Beta-amyloid peptides destabilize calcium homeostasis and render human cortical neurons vulnerable to excitotoxicity. *J. Neurosci.*, 12, 1992, s. 376–389.
- Merlini, G., Bellotti, V.:** Molecular mechanisms of amyloidosis. *N. Engl. J. Med.*, 2003, 349, s. 583–596.
- Novak, M., Jakes, R., Edwards, P.C., Milstein, C., Wischik, C.M.:** Difference between the tau protein of Alzheimer paired helical filament core and normal tau revealed by epitope analysis of monoclonal antibodies 423 and 7.51. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991, 88, s. 5837–5841.
- Petersen, R.C., Parisi, J.E., Dickson, D.W. et al.:** Neuropathologic features of amnesic mild cognitive impairment. *Arch. Neurol.*, 2006, 63, s. 665–672.
- Selkoe, D.J.:** Normal and abnormal biology of the beta-amyloid precursor protein. *Ann. Rev. Neurosci.*, 1994, 17, s. 489–517.
- Serpell, L.C.:** Alzheimer's amyloid fibrils: structure and assembly. *Biochim. Biophys. Acta*, 2000, 1502, s. 16–30.
- Tomlinson, B.E., Blessed, G., Roth, M.:** Observations on the brains of non-demented old people. *J. Neurol. Sci.*, 7, 1968, s. 331–356.
- Verdier, Y., Zarandi, M., Penke, B.:** Amyloid beta-peptide interactions with neuronal and glial cell plasma membrane: binding sites and implications for Alzheimer's disease. *J. Pept. Sci.*, 10, 2004, s. 229–248.
- Verghese, P.B., Castellano, J.M., Holtzman, D.M.:** Apolipoprotein E in Alzheimer's disease and other neurological disorders. *Lancet Neurol.*, 2011, 10, s. 241–252.
- Walsh, D.M., Klyubin, I., Fadeeva, J.V., Cullen, W.K., Anwyl, R., Wolfe, M.S., Rowan, M.J., Selkoe, D.J.:** Naturally secreted oligomers of amyloid beta protein potently inhibit hippocampal long-term potentiation in vivo. *Nature*, 416, 2002, s. 535–539.

Wang, L., Shim, H., Xie, C., Cai, H.: Activation of protein kinase C modulates BACE1-mediated beta-secretase activity. *Neurobiol. Aging*, 2008, 29, s. 357–367.

Weller, R.O., Boche, D., Nicoll, J.A.: Microvasculature changes and cerebral amyloid angiopathy in Alzheimer's disease and their potential impact on therapy. *Acta Neuropathol.*, 2009, 118, s. 87-102.

Xu, Q., Bernardo, A., Walker, D., Kanegawa, T., Mahley, R.W., Huang, Y.: Profile and Regulation of Apolipoprotein E (ApoE) expression in the CNS in mice with targeting of green fluorescent protein gene to the ApoE locus. *J. Neurosci.*, 2006, 26, s. 4985–4994.

Do redakcie došlo 6.7.2015.