

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Změny buněčné funkce při neurodegenerativních chorobách
Bakalářská práce

2022

Kristýna Vaňková

University of Pardubice
Faculty of Chemical Technology

Cellular changes in neurodegenerative disorders
Bachelor Thesis

2022

Kristýna Vaňková

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2020/2021

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Kristýna Vaňková**
Osobní číslo: **C18298**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Změny buněčné funkce při neurodegenerativních chorobách**
Téma práce anglicky: **Cellular Changes in Neurodegenerative Disorders**
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

1) Zpracujte literární rešerši zaměřenou na popis buněčných změn u neurodegenerativních chorob. V rámci textu se nejprve zaměřte na popis rozdělení demencí, přičemž pozornost především věnujte Alzheimerově či Parkinsonově chorobě. Následně podrobně popište změny, které se v buňkách při vybraných neurodegenerativních chorobách odehrávají, a to jak z pohledu příčin těchto chorob, tak i s ohledem na jejich patologický vývoj.

2) Ke zpracování kompilace využijte elektronických vědeckých databází, jako jsou např. *ScienceDirect*, *HighWire*, *NCBI Pubmed*, apod.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Vedoucí bakalářské práce: **doc. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **18. prosince 2020**
Termín odevzdání bakalářské práce: **2. července 2021**

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc. v.r.
děkan

L.S.

prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 26. února 2021

Prohlašuji:

Práci s názvem Změny buněčné funkce při neurodegenerativních chorobách jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 24. 6. 2022

Kristýna Vaňková

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych tímto poděkovala doc. RNDr. Tomáši Roušarovi. Ph.D. za odborné vedení mé práce, přínosné konzultace a za jeho cenné rady a připomínky, to vše navíc v nelehké době distanční výuky. Dále bych chtěla poděkovat svým přátelům a rodině za jejich trpělivost a podporu po celou dobu mého studia.

ANOTACE

Práce je věnována neurodegenerativním onemocněním se zaměřením na patologické mechanismy a změny buněčné funkce u Alzheimerovy choroby. Tyto změny popisuje jak z pohledu patogeneze, tak z pohledu dalšího vývoje nemoci. Dále se zabývá současnými možnostmi v diagnostice a léčbě tohoto onemocnění.

KLÍČOVÁ SLOVA

Alzheimerova choroba, neurodegenerace, beta-amyloid, tau protein, apolipoprotein E

ANNOTATION

The work is devoted to neurodegenerative disorders with a focus on pathological mechanisms and changes in cellular function in Alzheimer's disease, both in terms of pathogenesis and in terms of its further development. It also deals with the current options in the diagnosis and treatment of this disease.

KEYWORDS

Alzheimer's disease, neurodegeneration, beta-amyloid, tau protein, apolipoprotein E

OBSAH

SEZNAM OBRÁZKŮ	10
SEZNAM TABULEK.....	10
SEZNAM GRAFŮ	10
SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK	11
Úvod	12
1. CHARAKTERIZACE NEURODEGENERACE	13
1.1 Stavba nervové tkáně	13
1.2 Patogeneze onemocnění.....	14
1.3 Klasifikace neurodegenerativních onemocnění	14
1.4 Základní přehled neurodegenerativních onemocnění	16
1.4.1 Frontotemporální lobární degenerace	16
1.4.2 Parkinsonova choroba.....	16
1.4.3 Demence s Lewyho tělísky	17
1.4.4 Huntingtonova nemoc.....	17
1.4.5 Creutzfeldtova-Jakobova nemoc.....	18
2. ALZHEIMEROVA CHOROBA.....	19
2.1 Charakteristika onemocnění	19
2.2 Historie onemocnění	19
2.3 Epidemiologie.....	19
2.4 Formy Alzheimerovy choroby a jejich rizikové faktory	20
2.4.1 Dědičná forma.....	21
2.4.2 Sporadická forma.....	21
3. PATOGENEZE ALZHEIMEROVY CHOROBY	22
3.1 Beta-amyloid.....	22
3.1.1 Amyloidový prekurzorový protein	22
3.1.2 Vznik amyloidních plaků.....	22
3.2 Tau protein.....	23
3.2.1 Fyziologický tau protein	23
3.2.2 Patologie tau proteinu	24
3.3 Apolipoprotein E.....	24
3.3.1 Apolipoprotein E4.....	25
3.3.2 Apolipoprotein E2.....	25

3.4	Dysfunkce hematoencefalické bariéry	25
3.5	Poruchy metabolismu lipidů	26
3.5.1	Role lipidů v mozku.....	26
3.5.2	Lipidy a Alzheimerova choroba	27
3.6	Poruchy metabolismu glukózy.....	27
3.7	Dysfunkce mitochondrií	28
3.8	Stres endoplazmatického retikula	28
3.9	Akumulace neutrofilů	29
3.10	Cholinergní hypotéza.....	29
3.11	Další vývoj a průběh onemocnění	29
3.11.1	Změny na buněčné úrovni	29
3.11.2	Histologické změny	30
3.11.3	Klinické projevy	31
4.	DIAGNOSTIKA A LÉČBA ALZHEIMEROVY CHOROBY	32
4.1	Stádia Alzheimerovy choroby	32
4.1.1	Role preklinického stádia při včasném záchytu onemocnění	32
4.2	První objevy	32
4.3	Dnešní možnosti v diagnostice onemocnění.....	33
4.3.1	Pozitronová emisní tomografie.....	33
4.3.2	Magnetická rezonance	33
4.3.3	Výpočetní tomografie	34
4.3.4	Elektroencefalografie.....	34
4.3.5	Biomarkery v tělních tekutinách.....	34
4.4	Léčba.....	35
4.4.1	Inhibitory acetylcholinesterázy	35
4.4.2	Terapie kmenovými buňkami	36
4.4.3	Nanoléčiva	37
	Závěr	38
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	40

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1: Stavba neuronu	13
Obr. 2: Správná funkce tau proteinu při stabilizaci mikrotubulů	23
Obr. 3: Patologická funkce tau proteinu	24
Obr. 4: Stavba hematoencefalické bariéry	26
Obr. 5: Histologické změny na mozku u pacienta s AD v porovnání s mozkem zdravého člověka	30
Obr. 6: CT snímek pacienta v pozdním stádiu AD.....	34
Obr. 7: Využití kmenových buněk při léčbě AD	36

SEZNAM TABULEK

Tab. 1: Základní klasifikace neurodegenerativních onemocnění	15
--	----

SEZNAM GRAFŮ

Graf 1: Četnost AD v závislosti na věku	20
---	----

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

AD	Alzheimerova choroba (<i>Alzheimer disease</i>)
Ach	acetylcholin
APOE	apolipoprotein E
APP	amyloidový prekurzorový protein
Aβ40	beta-amyloid o délce 40 aminokyselin
Aβ42	beta-amyloid o délce 42 aminokyselin
CNS	centrální nervový systém
CT	výpočetní tomografie (<i>computed tomography</i>)
EOAD	Alzheimerova choroba s časným nástupem (<i>early onset Alzheimer disease</i>)
ER	endoplazmatické retikulum
FDG	18-fluorodeoxyglukóza
FLD	frontotemporální lobární degenerace
GLUT	glukózový transportér
HD	Huntingtonova nemoc (<i>Huntington disease</i>)
HEB	hematoencefalická bariéra
LOAD	Alzheimerova choroba s pozdním nástupem (<i>late onset Alzheimer disease</i>)
MRI	magnetická rezonance (<i>magnetic resonance imaging</i>)
NFT	neurofibrilární klubka (<i>neurofibrillary tangles</i>)
PD	Parkinsonova choroba (<i>Parkinson disease</i>)
PET	pozitronová emisní tomografie
PNS	periferní nervový systém
ROS	reaktivní formy kyslíku (<i>reactive oxygen species</i>)
UPR	rozložená proteinová odpověď (<i>unfolded protein response</i>)

Úvod

Pro neurodegenerativní onemocnění je typický úbytek neuronů spojený se ztrátou synapsí a následným snížením kognitivních schopností člověka. Vlivem těchto neurodegenerativních změn se u nemocného může objevit demence, která doprovází většinu z těchto nemocí.

Alzheimerova choroba, pojmenovaná podle svého objevitele Aloise Alzheimerova, je příčinou až 80 % všech demencí. Je také jedním z nejčastějších neurodegenerativních onemocnění vůbec. Ač není zcela znám princip patogeneze a příčiny vzniku tohoto onemocnění, největší zásluhu na jeho progresi přisuzujeme hromadění patologického proteinu beta-amyloidu ve formě neuritických plaků a shlukování tau proteinu ve formě neurofibrilární spleti.

První část práce se věnuje klasifikaci neurodegenerativních onemocnění. Následuje stručný popis nejčastějších neurodegenerativních nemocí, u kterých jsou vysvětleny principy jejich patogeneze a popsány hlavní klinické projevy.

V další části je podrobně popsána Alzheimerova choroba, včetně rizikových faktorů a genetických dispozic, které přispívají k jejímu vzniku. Následuje rozbor hlavních patologických mechanismů a buněčných změn, podílejících se na patogenezi a dalším vývoji onemocnění, a také popis klinických příznaků nemoci.

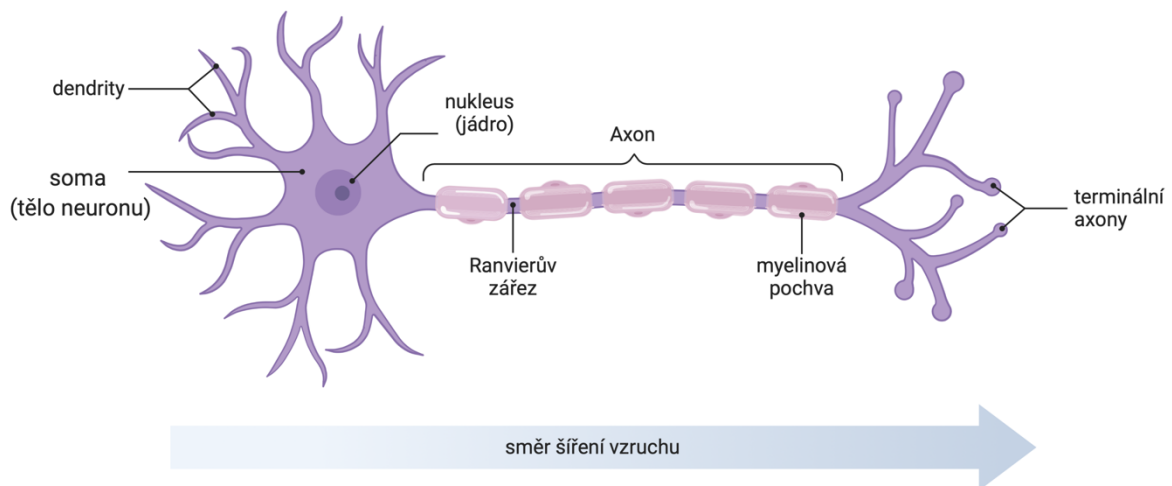
Závěrečná část je věnována diagnostice a také terapeutickým možnostem Alzheimerovy choroby. Popsány jsou jak současné možnosti léčby, tak i experimentální léčebné strategie.

1. CHARAKTERIZACE NEURODEGENERACE

1.1 Stavba nervové tkáně

Nervovou tkáň můžeme popsat jako velmi komplikovanou prostorovou síť, skládající se z neuronů a neuroglií. Její základní funkcí je přenos informací. Vjem z vnějšího okolí je přijatý prostřednictvím receptorů a poté je zpracován. Odpovědí je vyslání příslušného signálu na efektory. Stručně řečeno, dochází k přenosu vzruchů prostřednictvím drah neuronů. Samotná nervová soustava se skládá z periferního nervového systému (PNS) a centrálního nervového systému (CNS) – mozku a míchy (Trojan, 2003).

Základní stavební jednotkou nervové soustavy je nervová buňka neboli neuron. Jednotlivé neurony mezi sebou komunikují pomocí funkčních kontaktů, tzv. synapsí. Samotný neuron se skládá z těla a z výběžků, které můžeme rozdělit na dostředivé dendrity, které signály přijímají a na odstředivé axony, které signál přenášejí na další neuron (obr. 1). Dendrity jsou výběžky kratší, početnější a rozvětvené. Přijatá synapse přechází na neuron pomocí dendritických trnů, které se vyskytují na ploše dendritu. Naopak delší axon má nervová buňka většinou jen jeden, na konci se větví. Tělo neuronu (soma, perikaryon) obsahuje neuroplazmu s jádrem a jadérkem, a také buněčné orgány, především velké množství mitochondrií a ribozomů. V okolí těl neuronů se nachází neuroglie, které slouží k podpoře a vyživování neuronů (Mravec, 2013).



Obr. 1: Stavba neuronu.

1.2 Patogeneze onemocnění

Pro neurodegenerativní onemocnění je typická progresivní ztráta určitých skupin nervových buněk, každá z těchto skupin je pak charakteristická pro dané onemocnění. Vlivem ztráty neuronů poté dochází k různým klinickým projevům (Kovacs, 2018).

Vznik onemocnění podmiňuje kombinace a působení několika patologických mechanismů současně. Jedním z nich je hromadění proteinů v CNS, kdy každý protein je typický pro jiné neurodegenerativní onemocnění. Můžeme je proto označit za proteinopatie. U daných proteinů nejprve dochází k jejich konformační změně, například vlivem mutace. Tyto pozměněné bílkoviny se poté ukládají a postupně hromadí v CNS ve formě plaků, a to v takovém množství, že se pro neurony stávají toxickými. Mezi další faktory podmiňující vznik onemocnění patří genetické vlivy, nebo také buněčná apoptóza a s ní spojená zvýšená produkce reaktivních forem kyslíku (ROS) zejména v mitochondriích, a to v důsledku postižení enzymatické buněčné výbavy. Při zvýšené produkci ROS totiž dochází k tomu, že tyto radikály buňky nestíhají dostatečně odbourávat a detoxikovat je. Tímto nesouladem nastává nerovnováha, tzv. oxidační stres. Právě oxidační stres se podílí na vzniku mnoha onemocnění, včetně těch neurodegenerativních, a to tím, že oxiduje životně důležité buněčné složky, jako jsou lipidy, proteiny či nukleové kyseliny, a může tak vést k poškození buněk a již zmiňované buněčné apoptóze (Hroudová et al., 2014; Rusina et al., 2014).

1.3 Klasifikace neurodegenerativních onemocnění

Neurodegenerativní onemocnění můžeme klasifikovat hned několika způsoby. Například Dugger a Dickinson (2017) uvádí, že je lze klasifikovat podle primárních klinických příznaků, anatomického umístění neurodegenerace (např.: spinocerebelární degenerace) a podle hlavní molekulární abnormality.

Jedna z dalších možností je klasifikace dle patofyziologie (tab. 1), jak uvádí Matěj s Rusinou (2014), a to na Alzheimerovu chorobu (AD), frontotemporální lobární degeneraci (FLD) synukleinopatii, onemocnění s opakováním tripletů, prionová onemocnění, onemocnění motorického neuronu a ostatní onemocnění (např. familiární britská demence).

Tab. 1: Základní klasifikace neurodegenerativních onemocnění (upraveno dle Rusina et al., 2014).

<p>Alzheimerova choroba</p>	<ul style="list-style-type: none"> – dohází k extracelulární akumulaci beta-amyloidu a k intracelulárnímu ukládání depozit hyperfosforylovaného tau proteinu – těmito depozity se poškozuji neurony, které nakonec podléhají apoptóze
<p>Frontotemporální lobární degenerace</p>	<ul style="list-style-type: none"> – způsobena poruchami metabolismu některých proteinů – vzniklý abnormální protein poté reaguje s neuronem a vede k jeho apoptóze – typická je degenerace frontálních a temporálních laloků mozku – můžeme ji dle příčiny vzniku dělit na tau a non-tau
<p>Synukleinopatie</p>	<ul style="list-style-type: none"> – řadíme mezi ně Parkinsonovu nemoc a demenci s Lewyho tělísky – pro onemocnění je typická přítomnost intracelulárních inkluzí, které obsahují patologickou formu proteinu alfa-synukleinu
<p>Onemocnění s opakováním tripletů</p>	<ul style="list-style-type: none"> – dochází k zmnožení trinukleotidů cytozin – adenin – guanin nebo cytozin – adenin – adenin – zmnožený úsek ovlivní strukturu vznikajícího proteinu a dochází tak k jeho mutaci – tyto proteiny se poté ukládají v neuronech a aktivují jejich apoptózu
<p>Prionová onemocnění</p>	<ul style="list-style-type: none"> – způsobené konformační přeměnou prionového proteinu na jeho izoformu, kterou tělo nedokáže metabolizovat – tento pozměněný protein se následně hromadí v mozkové tkáni – dochází k degeneraci a postupnému zániku neuronů
<p>Onemocnění motorického neuronu</p>	<ul style="list-style-type: none"> – pro toto onemocnění je typický úbytek motorických neuronů v mozku i míše – můžeme pozorovat atrofii míchy a také tzv. Buninova tělíška (drobné inkluze barvitelné eosinem) v motorických neuronech – nejčastější formou je amyotrofická laterální skleróza

1.4 Základní přehled neurodegenerativních onemocnění

Společným rysem všech neurodegenerativních onemocnění je akumulace patologicky pozměněného proteinu. Dochází tak k poškození nervové tkáně a tím k případnému vzniku demence. Její nejčastější příčinou je AD, která se řadí zároveň i mezi nejčastější neurodegenerativní choroby vůbec. Druhou nejčastější příčinou vzniku demence jsou synukleinopatie, mezi které patří Parkinsonova choroba (PD) a demence s Lewyho tělísky (Rusina et al., 2014).

1.4.1 Frontotemporální lobární degenerace

Jedná se o onemocnění charakterizované atrofií frontálního a temporálního laloku mozku. Tato degenerace souvisí s akumulací abnormálních proteinů v neuronech či gliových buňkách, která vede až k jejich apoptóze. Typů FLD máme hned několik. Jednou z možností je její rozdělení na behaviorální variantu, dále sémantickou demenci, a nakonec na progresivní nonfluentní afázii. Onemocnění se navíc může vyskytovat i v kombinaci s jinými, jako například s AD, onemocněním motorických neuronů nebo některými parkinsonskými syndromy. Dříve byli FLD postihnutí zejména lidé mladší 65 let. Dnes však není výjimkou i pacient starší 70 let a více (Gil et al., 2018).

Další možností je rozdělení FLD na základě depozit patologicky změněného proteinu, a to na tautopatie a non-tau FLD. Tautopatie vznikají abnormálním metabolismem tzv. tau proteinu (odvozeno od anglického „tubulin associated unit“), který je zodpovědný za stavbu mikrotubul. Do této kategorie patří například Pickova nemoc s typickými tzv. Pickovými tělísky, což jsou depozita tau proteinu. Jedná se o zhruba 5 % případů FLD. Pro non-tau variantu jsou typické inkluze různých bílkovin. Nejznámějším zástupcem této kategorie jsou ubikvitinopatie, pro které je charakteristická pozitivní reakce s protilátkou proti ubikvitinu, což je polypeptid podílející se na degradaci jiných proteinů (Rusina et al., 2014).

1.4.2 Parkinsonova choroba

Patří do kategorie synukleinopatií, které jsou charakteristické přítomností intracelulárních inkluzí s mutovaným proteinem alfa-synukleinem. PD můžeme podle příčiny vzniku rozdělit na sporadickou (idiopatickou) a na familiární. Patogeneticky je toto onemocnění pravděpodobně výsledkem kombinace genetických faktorů a faktorů zevního prostředí, jejichž vlivem dochází mimo jiné ke vzniku oxidačního stresu, který vede až ke smrti neuronů. Pro PD je typická postupná degenerace mezimozku, zejména pak jeho oblasti zvané *substantia nigra* (černá substance), která je zodpovědná za produkci neurotransmiteru dopaminu. V případě PD

je dopaminu vlivem degenerace *substantia nigra* nedostatek, a tak dochází k poruchám motorického systému. Následkem toho mají lidé trpící touto chorobou obtíže s ovládním pohybového aparátu. Typicky se pak jedná o bradykinezi, kdy jsou pohyby nemocného oproti normálnímu stavu zpomalenější, a o rigiditu neboli svalovou ztuhlost. Charakteristickým příznakem je i tremor (třes), kdy člověk trpí samovolnými záškuby různých částí těla, nejčastěji pak rukou a nohou (Bartels a Leenders, 2009).

Před prvním projevem těchto příznaků (klinická fáze), můžeme zaznamenat fázi prodromální, která je bezpříznaková a může trvat až 20 let (Bjornevik et al., 2020).

1.4.3 Demence s Lewyho tělísky

Stejně jako PD se řadí mezi synukleinopatie. Na rozdíl od ní se však objevuje v pozdějším věku a má rychlejší průběh. Pro toto onemocnění je typická akumulace tzv. Lewyho tělísek, která jsou tvořena z již zmiňovaného degenerovaného proteinu alfa-synukleinu. Tato tělíška se hromadí v neuronech mozkové tkáně, včetně její kůry. U demence s Lewyho tělísky se také objevují změny typické pro AD, nejčastěji jsou to depozita beta-amyloidu ve formě plaků (De Oliviera et al., 2020; Rusina et al., 2014).

Mezi klinické projevy nemoci patří zrakové halucinace nebo porucha chování v REM fázi spánku, kdy pacienti vykřikují ze spánku a jsou v jeho průběhu celkově neklidní. K projevům patří i tzv. parkinsonismus, jedná se o kombinaci hypokineze, rigidity a dalších obtíží pohybového aparátu, které jsou typické pro PD (Phillips et al., 2021).

1.4.4 Huntingtonova nemoc

Patří do skupiny neurodegenerací, jejichž příčinou je opakování tripletů. Jedná se o autozomálně dominantní onemocnění způsobené mutací v genu, který řídí vznik proteinu huntingtinu. Funkce tohoto proteinu není zatím zcela objasněna, známé je však to, že se podílí na axonálním transportu (Sprenger et al., 2021).

Při Huntingtonově nemoci (HD) dochází ke zvýšenému opakování tripletu cytozin-adenin-guanin. Tento triplet kóduje vznik aminokyseliny glutaminu, a fyziologicky se v proteinu huntingtin opakuje cca 6–35. V tomto případě, vlivem mutace, vzniká více než 36 repetice. Vzniklý fragment huntingtinu má schopnost agregace a tvorby fibril, ze kterých se následně formují inkluze. Působením těchto toxických inkluzí dochází ke smrti neuronů, nejčastěji v bazálních gangliích, konkrétně pak v části mozku zvané striatum (Perevozchikova et al., 2014).

Toto onemocnění nejčastěji postihuje lidi ve středním věku. Udává se, že čím více repetice tripletu gen obsahuje, tím dříve se může HD projevit. Samotné změny v mozkové tkáni

mohou být patrné i více jak 10 let před prvními klinickými příznaky. Mezi ně patří nejčastěji chorea (proto je onemocnění známé i jako Huntingtonova chorea) neboli nepravidelné a náhodné pohyby různých částí těla, které jsou způsobené poškozením bazálních ganglií, které se uplatňují při řízení pohybu. HD ovlivňuje z části i chování, pacienti pak nezřídka trpí například depresemi. Udávaná doba života, po nástupu klinických příznaků, je asi patnáct let (Lee et al., 2020).

1.4.5 Creutzfeldtova-Jakobova nemoc

Creutzfeldtovu-Jakobovu nemoc řadíme mezi prionová onemocnění, při kterých dochází ke změně uspořádání buněčného prionového proteinu do abnormálních patologických forem s více řetězci. Tato změna probíhá v rámci posttranslačních úprav, probíhajících s největší pravděpodobností v endozomech. Konkrétně dochází ke konverzi z α -helikálního prionového proteinu na izoformu s β -listem. Tím se mění i jeho vlastnosti, vzniklý protein je tak náchylnější k agregaci. (Canas et al., 2019; Lee a Kuczera, 2021).

Role fyziologického buněčného prionového proteinu není zcela objasněna, předpokládá se, že má úlohu při ochraně buněk před oxidačním stresem a také antiapoptotickou a cytoprotektivní aktivitu (Prcina a Kontsekova, 2011).

Oproti tomu abnormální prionový protein, který vznikl mutací a buňky ho nedokážou metabolizovat, se v mozku začne postupně hromadit ve formě difuzních depozit. Pro onemocnění je také typická spongiformní přeměna mozkové tkáně. Dochází ke ztrátě synapsí a apoptóze neuronů (Porter a Leemans, 2013).

Creutzfeldtovu-Jakobovu nemoc můžeme rozdělit dle příčiny vzniku na sporadickou, která je způsobená spontánní mutací a zaujímá asi 80–95 % všech případů, dále na dědičnou (10–15 %) a na získanou (1 %), způsobenou kontaktem s infekčními částicemi, které se do těla dostanou konzumací kontaminovaného masa nebo například transfúzí nakažené krve. Onemocnění zatím není léčitelné a úmrtnost tedy dosahuje 100 %. Typický věk nástupu sporadické varianty je mezi 55 a 75 lety, kdy po stanovení diagnózy lidé většinou umírají do šesti měsíců. U získané varianty je udávaná doba přežití o něco delší, průměrně čtrnáct měsíců (Harrington et al., 2021).

2. ALZHEIMEROVA CHOROBA

2.1 Charakteristika onemocnění

Jedná se o progresivní neurodegenerativní onemocnění spojené s extracelulárním hromaděním beta-amyloidu a intracelulárním ukládáním tau proteinu ve formě intraneuronálních neurofibrilárních klubek (NFT). V případě AD mají oba tyto proteiny patologickou strukturu, jsou ve vodě nerozpustné a hromadí se ve tkáni. Dochází k apoptóze neuronů a následně atrofii mozku, což vede ke vzniku demence. Většina případů AD je sporadická, pouze u 1 % byla zjištěna autozomálně dominantní dědičnost (Duyckaerts et al., 2009; Rusina et al., 2014).

2.2 Historie onemocnění

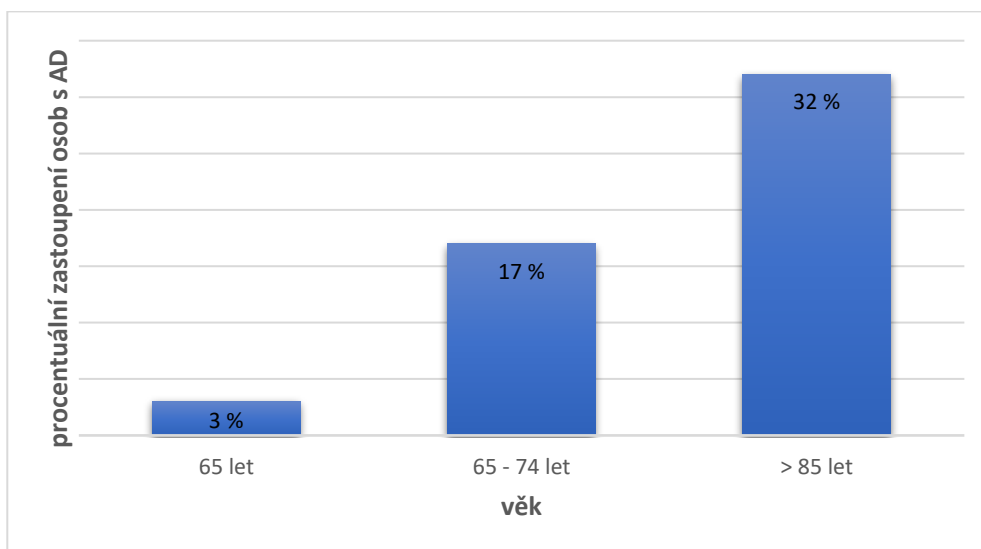
Termín Alzheimerova choroba, vznikl teprve na počátku 20. století. Do té doby se jednotlivá neurodegenerativní onemocnění nijak nerozlišovala, všechna byla známá pod jedním pojmem – demence.

Na počátku objevu AD jako takové, stál německý psychiatr a neuropatolog Alois Alzheimer. Změnám v mozku a jeho histologii se věnoval již na počátku své kariéry, ale až později, u jedné z jeho pacientek, si všiml něčeho neobvyklého. Auguste Deter byla ve svých 51 letech hospitalizována v ústavu pro duševně choré ve Frankfurtu jako pomatená a dezorientovaná, se zhoršenou pamětí a progresivní změnou osobnosti. Po její smrti požádal Alois Alzheimer o zaslání záznamů a o pitvu jejího mozku, na kterém objevil značné histopatologické změny. V na první pohled zdravém neuronu zaznamenal několik fibril o charakteristické tloušťce a také si všiml mnoha ložisek vzniklých ukládáním zvláštní látky v mozkové kůře. Jak bylo později zjištěno, fibrily byly shluky tau proteinu a onou zvláštní látkou byl nahromaděný beta-amyloid. Svůj náález Alzheimer přednesl na jedné z psychiatrických schůzí, nesetkal se však se žádným zájmem. O rok později, v roce 1907, tyto změny podrobně popsal pod názvem „Charakterizace závažného onemocnění mozkové kůry“ a až následně, v jedné z knih, jeho kolega, psychiatr Emil Kraepelin, po něm toto onemocnění pojmenoval jako Alzheimerovu chorobu (Cipriani et al., 2011).

2.3 Epidemiologie

Nejčastější příčinou demencí je AD. Jedná se asi o 60–80 % všech případů. Polovina z těchto pacientů má diagnostikovanou AD samotnou, u druhé poloviny se jedná o smíšené demence. Prevalence tohoto onemocnění v populaci postupně narůstá, a to zejména proto,

že přibývá počet obyvatel starších 65 let. Právě u těchto lidí totiž zaznamenáváme první větší nárůst, konkrétně v tomto věku trpí AD asi 2–3 % populace. S přibývajícím věkem se výskyt případů onemocnění postupně zvyšuje (graf 1), ve věkovém rozmezí 65–74 let je to 17 %, v případě 85 let a více se s touto chorobou potýká asi 32 % populace (Alzheimer's association, 2020).



Graf 1: Četnost AD v závislosti na věku (data převzata z Alzheimer's association, 2020).

V roce 2006 bylo s AD zaznamenáno na celém světě asi 26,6 milionů lidí a s postupem času toto číslo dále vzrůstalo. Odhaduje se, že se v Evropě v příštích letech počet osob s AD zvýší až o 87 %. V roce 2050 by tak mohlo být 106,8 milionů lidí postihnuto tímto onemocněním, z toho 16,5 milionů v Evropě. Příčina tohoto nárůstu je spojována s tím, že se ve světě postupně zlepšuje kvalita života, což vede ke stárnutí populace (Niu et al., 2017).

2.4 Formy Alzheimerovy choroby a jejich rizikové faktory

Nejčastěji se AD rozděluje na základě věku, ve kterém se u pacienta rozvine. Pokud onemocnění propukne u lidí mladších 65 let, jedná se o AD s časným nástupem (EOAD), což představuje cca 1–5 % případů. Při propuknutí nemoci u jedinců starších 65 let se pak jedná o AD s pozdním nástupem (LOAD), která představuje 95 % všech případů. EOAD je progresivnější a vázaná na mendelovskou dědičnost, LOAD má naopak pomalejší nástup a je pro ni typická nemendelovská dědičnost (Reitz a Mayeux, 2014).

Jiná možnost rozdělení AD je na více prostudovanou formu dědičnou (familiární) a na formu sporadickou, jejíž příčina není přesně probádána. Mluvíme tedy pouze o faktorech,

kteřé k jejímu vzniku přispívají. Valná většina případů AD je sporadických, o formu dědičnou se jedná pouze u cca 1 % pacientů. Obě formy, ač mají jiný průběh vzniku, vedou v závěru k hromadění beta-amyloidu a shlukování tau proteinu v mozkové tkáni (Rusina et al., 2014).

2.4.1 Dědičná forma

V případě geneticky podmíněné AD se nemoc u jedince projeví jako příčina zděděných mutovaných genů, a to většinou principem autozomálně dominantní dědičnosti. Jedná se konkrétně o mutaci na třech genech, na genu pro amyloidový prekurzorový protein (APP) na 21. chromozomu, na genu pro protein presenilin 1 na 14. chromozomu a na genu pro presenilin 2 na 1. chromozomu. Pravděpodobnost, že mutace těchto genů souvisí právě se vznikem AD, je vysoká, jelikož jejich penetrance dosahuje více jak 85 %, tj. vedou s jistotou k hromadění beta-amyloidu a časnému projevu onemocnění. Díky vysoké penetraci jsou tyto geny používány také při diagnostice AD jako tzv. biomarkery (Reitz a Mayeux, 2014; Rusina et al., 2014).

2.4.2 Sporadická forma

U sporadické formy AD není přesně znám princip patogeneze. Na vzniku onemocnění se zde pravděpodobně podílí kombinace hned několika faktorů. Co se dědičnosti týká, můžeme zde hovořit pouze o jednom genetickém rizikovém faktoru, který však není mendelovsky vázán. Jedná se o gen pro apolipoprotein E (APOE) na 19. chromozomu. APOE je zapojen do metabolismu tuků v organismu a vyskytuje se ve třech izoformách, kódovaných celkem třemi alelami: APOE2, E3 a E4, z nichž se nejvíce na vzniku AD podílí poslední zmíněná. Její přítomnost pro rozvoj onemocnění však není nezbytná, představuje asi 20–50% riziko. Konkrétně se uvádí, že v případě heterozygotů přítomnost jedné alely E4 zvyšuje riziko vzniku onemocnění 3–4x, u homozygotů je to 10–12x (Breitner et al., 1999; Rusina et al., 2014).

Kromě tohoto genu se za rizikové faktory AD považují i cerebrovaskulární onemocnění, která mohou vést k poškození důležitých oblastí mozku, a také hypertenze, jelikož má vliv na vaskulární integritu hematoencefalické bariéry (HEB). Případná změna vede k extravazaci bílkovin do mozku, následnému snížení neuronální funkce a také k poškození buněk. Dále riziko představuje například i diabetes mellitus II. typu, nadváha či kouření (Reitz a Mayeux. 2014).

3. PATOGENEZE ALZHEIMEROVY CHOROBY

3.1 Beta-amyloid

Beta-amyloid je vláknitá bílkovina, skládající se obvykle z 36–43 aminokyselin. Vzniká z transmembránového APP, který je součástí buněčné membrány. Beta-amyloid je pravděpodobně hlavním spouštěčem AD, a tak je tato tzv. hypotéza amyloidní kaskády nejvíce využívanou teorií, která alespoň částečně objasňuje patogenezi tohoto onemocnění (Ono a Watanabe-Nakayama, 2021).

3.1.1 *Amyloidový prekurzorový protein*

Jedná se o transmembránový protein, vyskytující se zejména v CNS, dále pak v játrech či slinivce břišní. Tento protein je štěpen dvěma různými cestami za pomoci proteáz. Neamyloidogenní cesta, využívající štěpení enzymem alfa sekretázou, vede k produkci peptidů, které mají ochranné účinky na regulaci metabolismu a které mimo jiné také zvyšují aktivitu transportérů glukózy v neuronech. Oproti tomu amyloidogenní cesta vede štěpením beta a gama sekretázami k produkci beta-amyloidu (Guo et al., 2021).

3.1.2 *Vznik amyloidních plaků*

Fyziologicky probíhá štěpení beta-amyloidu z APP pomocí enzymu alfa sekretázy. U pacientů s AD ale převažuje štěpení pomocí beta a gama sekretáz, které probíhá dvěma po sobě následujícími procesy. Nejprve je APP štěpen beta sekretázou za vzniku fragmentu o délce 99 aminokyselin. Následuje štěpení gama sekretázou, a nakonec vznik finálního beta-amyloidu s různými délkami sekvencí, konkrétně v rozmezí od 36 do 43 aminokyselin. Nejčastější varianty beta-amyloidu u člověka jsou se 40 (A β 40) a s 42 (A β 42) zbytky. Kvůli převaze štěpení beta a gama sekretázami a narušení rovnováhy mezi produkcí a eliminací beta-amyloidu, dochází nakonec k jeho agregaci a ke vzniku amyloidních plaků, které se hromadí v mozku i jeho cévách. Nejvíce je v placích zastoupený A β 42, který je zároveň i více neurotoxický než A β 40. Takto vzniklá depozita beta-amyloidu lze nalézt u pacientů s mírnějším kognitivním deficitem, u pacientů s již plně probíhající AD a také například u Downova syndromu (Duyckaerts et al., 2009; Lin et al., 2019)

Lékaři předpokládají, že tvorba a ukládání amyloidů začíná již cca dvacet let před vznikem klinických příznaků a rozvojem nemoci. V souvislosti s tím již probíhá několik studií, při kterých se zjišťuje riziko vzniku AD u mladých jedinců pozitivních na amyloidy, jinak však zdravých a bez potíží s kognitivními funkcemi (Apostolova, 2016).

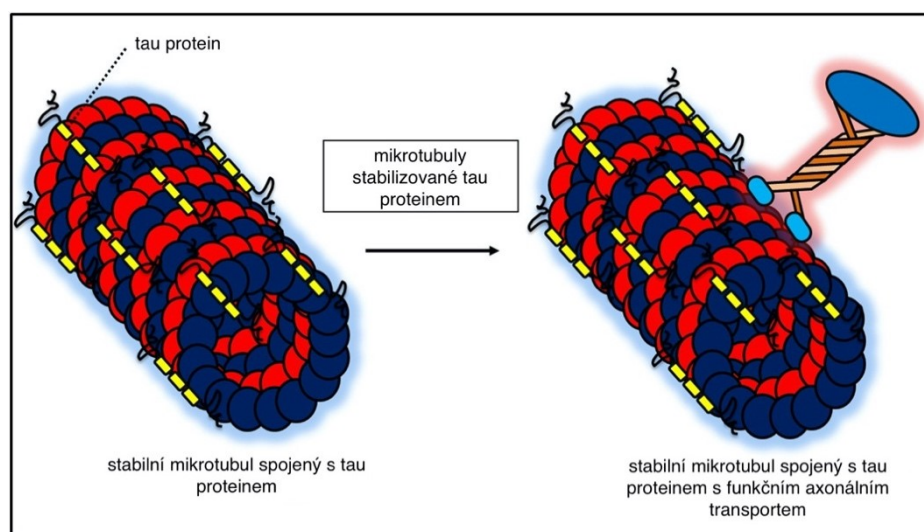
3.2 Tau protein

Stejně jako beta-amyloid, hraje pozměněný tau protein klíčovou roli při patogenezi AD. Hladiny hyperfosforylovaného tau proteinu korelují s mírou neurodegenerace, mohou tak být využity k jejímu sledování (Sonuç Karaboga a Sezgintürk, 2020).

3.2.1 Fyziologický tau protein

K objevení tau proteinu jako faktoru, který je potřebný pro správnou tvorbu mikrotubulů, došlo v polovině 70. let 20. století. Nachází se v axonech neuronů, kde umožňuje správné uspořádání bílkoviny tubulinu, což je základní stavební jednotka mikrotubul. Vlákná mikrotubul jsou složkou cytoskeletu a slouží zejména k transportu buněčných složek. Tau protein stabilizací těchto mikrotubulů tedy může regulovat i strukturu a funkci neuronu (obr. 2). Na mikrotubuly se tau protein váže prostřednictvím svých vazebných domén, které obsahují několik repetitivních tubulin-vazebných vzorců. Ty se pevně vážou na tubulin, nacházející se na záporně nabitěm povrchu mikrotubulů, prostřednictvím pozitivně nabitě oblasti tau proteinu, bohaté na aminokyselinu prolin. Ke vzniku této vazby napomáhá i fosforylace tau proteinu, a to vznikem buněčné polarizace (Kolarova et al., 2012; Muralidar et al., 2020).

V CNS se tau protein nachází v šesti izoformách, které vznikají z jediného genu, umístěného na 17. chromozomu, odlišným sestřihem exonů. Tyto izoformy mají různou povahu a typický vzájemný poměr, který se v případě neurodegenerativních onemocnění mění (Muralidar et al., 2020).

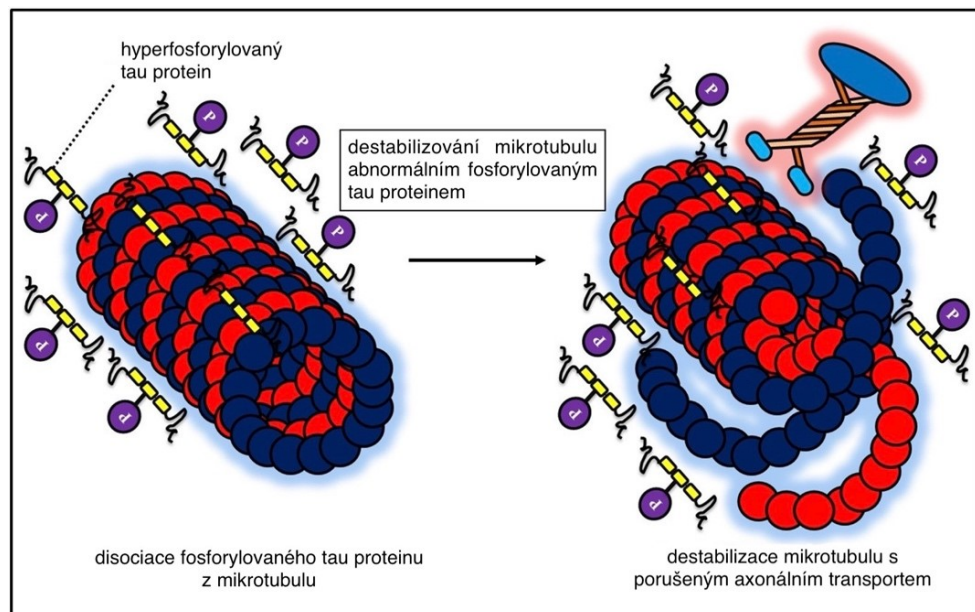


Obr. 2: Správná funkce tau proteinu při stabilizaci mikrotubulů (upraveno dle Muralidar et al., 2020).

3.2.2 Patologie tau proteinu

Za patologických podmínek dochází k hyperfosforylaci tau proteinu, což ovlivní i jeho náboj. Tím se sníží afinita neuronálních mikrotubulů, dojde tak k jejich chybné stavbě a následné destabilizaci (obr. 3). Tento tau protein má také tendenci ke shlukování a tvorbě oligomerů. To nakonec ústí k tvorbě NFT. Tyto klubka vedou k zastavení buněčného transportu a tím ke smrti neuronu, proto se NFT mohou považovat za neurotoxiny. Tento nedostatečný axonální transport následně vede ke snížení míry kognice. Hyperfosforylovaný tau protein také aktivuje produkci proteinů oddělujících mikrotubuly, což vede k jejich další destabilizaci. Všechny tyto patologické pochody u pacientů s AD podporuje i přítomnost beta-amyloidu (Muralidar et al., 2020; Kolarova et al., 2012).

Výskyt NFT však není typický pouze pro AD, lze je nalézt také u chronické traumatické encefalopatie, u onemocnění *dementia pugilistica*, prionových onemocnění, nebo také u některých zdravých, fyziologicky stárnoucích pacientů. Souhrnně můžeme tyto onemocnění nazývat tautopatiemi (Apostolova, 2016).



Obr. 3: Patologická funkce tau proteinu. Vlivem jeho hyperfosforylace dochází k destabilizaci a rozpadu mikrotubulů (upraveno dle Muralidar et al., 2020).

3.3 Apolipoprotein E

Jedná se o glykoprotein složený z 299 aminokyselin. Syntetizován je především v játrech a mozku. Známý je díky svému zapojení do transportu a metabolismu lipidů. Jak již bylo řečeno, existují tři alely APOE, a to E2, E3 a E4. U lidí se nejvíce vyskytuje izoforma E3,

tuto alelu má až 75 % populace. Alelu E4 má asi 20 % a E2 pouze 5 % populace (Wu a Zhao, 2016).

3.3.1 Apolipoprotein E4

Bylo zjištěno že výskyt alely APOE4 je hlavním rizikovým faktorem, přispívajícím ke vzniku sporadické formy AD. Mechanismus negativního účinku APOE4 není zcela znám. Bylo však pozorováno, že u nositelů alely APOE4 se v mozku ve větší míře vyskytují amyloidní plaky, jelikož tato alela snižuje clearance beta-amyloidu z mozku. Výskyt této alely je spojen i s patogenezí tau proteinu a aktivací mikroglíí. Mikroglie jsou nervové imunitní buňky, které jsou zodpovědné za udržování homeostatické rovnováhy. Při jejím narušení pak reagují spuštěním zánětlivé reakce. APOE4 je schopen ovlivnit tuto funkci mikroglíí, dochází tak k chronické mikroglíální aktivaci, vyskytující se u AD. Na zvířecích modelech byl pozorován i vliv této chronické aktivace na zvýšení produkce amyloidních plaků. APOE4 je také spojován se zvýšenou vaskulární tuhostí (Krasemann et al., 2017; Riphagen et al., 2021).

3.3.2 Apolipoprotein E2

Oproti tomu u APOE2 bylo prokázáno, že oddaluje věk nástupu tohoto onemocnění. Tato alela u svých nositelů snižuje riziko vzniku AD až o 40 %. U pacientů s AD a alelou E2 bylo zatím zaznamenáno snížené ukládání beta-amyloidu ve formě plaků. Další neuroprotektivní vlastnosti E2 jsou zatím zkoumány (Katz et al., 2017; Wu a Zhao, 2016).

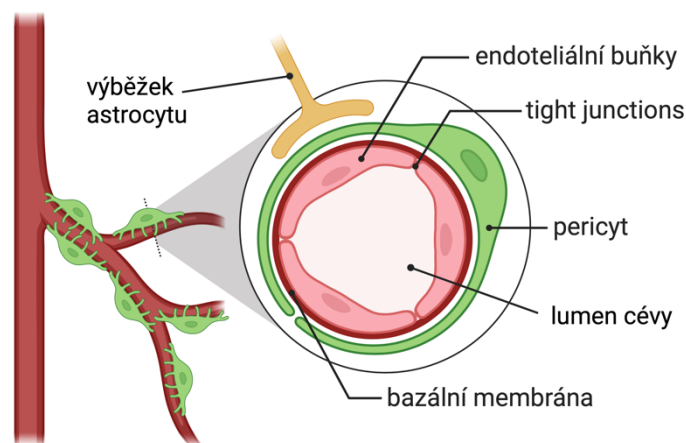
Zkoumá se i pozitivní vliv na AD po genovém dodání APOE2 pomocí virového vektoru. Při testu na myších byl výsledek velice slibný, po osmi týdnech po podání došlo k požadovanému zvýšení exprese APOE2 v CNS. Ten následně působil na patologické účinky APOE4 a tvorbu amyloidních plaků v hipokampu. Již probíhá i klinická studie s pacienty APOE4 homozygotními, u kterých se APOE2 dodává injekčně. Pokud se tato metoda osvědčí, může v budoucnu pomoci s prevencí či léčbou AD (Wisniewski a Drummond, 2020; Zhao et al., 2015).

3.4 Dysfunkce hematoencefalické bariéry

Krevní řečiště a mozková tkáň jsou navzájem odděleny prostřednictvím HEB. Tato bariéra reguluje transport molekul do mozku a také je zodpovědná za odvod toxických látek do krve. Ze strany krevního řečiště jsou jejím podkladem endoteliální buňky, mezi kterými je specializovaný těsný spoj, tzv. *tight junction*. Tyto buňky jsou obklopeny bazální laminou a ze strany mozku sousedí s astrocyty. Součástí HEB jsou i pericyty, které regulují průtok krve,

tvorbu těsných spojů, vezikulární transport a také samotnou propustnost bariéry (obr. 4). U pacientů s AD byl zaznamenán významný pokles počtu pericytů v kůře a hipokampu, tento pokles je spojen i s mírou dysfunkce HEB. K degeneraci pericytů přispívá například přítomnost patologického beta-amyloidu. Funkci HEB může negativně ovlivnit i tau protein. Vlivem porušení bariéry následně dochází ke zhoršení neurodegenerativního procesu a zánětu v mozkové tkáni. Bylo však pozorováno, že po snížení hladiny tau proteinu došlo k ustálení integrity HEB (Iadecola, 2015; Zenaro et al., 2017).

Vliv na rozpad bariéry má i APOE4. Ten aktivuje protizánětlivý faktor cyklofilin A v pericytech. Tato aktivace vede k vychytávání velkého množství neurotoxických proteinů z krve a ke snížení cerebrálního průtoku krve. Tím může dojít k iniciaci neurodegenerativních pochodů v mozkové tkáni (Bell et al., 2012).



Obr. 4: Stavba hematoencefalické bariéry.

3.5 Poruchy metabolismu lipidů

U pacientů s diagnostikovanou AD byly zaznamenány četné změny v lipidovém metabolismu, spojené s kognitivními poruchami. Otázkou zůstává, zda je tato porucha metabolismu jakýmsi spouštěčem kognitivního poškození, či naopak zda porušená kognice vede ke změněnému metabolismu (Ooi et al., 2021).

3.5.1 Role lipidů v mozku

Lipidy jsou pro funkci mozku nepostradatelné, o čem svědčí i fakt, že zaujímají až 60 % suché hmotnosti mozku. Vlivem omezené propustnosti HEB, se téměř všechny syntetizují přímo v CNS. Vpuštěny přes bariéru jsou pouze lipoproteiny o nízké hustotě. Lipidy jsou

v mozku, a nejen v něm, součástí buněčných membrán (fosfolipidy) či slouží jako zdroj energie (beta-oxidace mastných kyselin v astrocytech) (Ooi et al., 2021).

Jedním z nejdůležitějších lipidů je cholesterol, který je produkován zejména astrocyty a oligodendrocyty. Je součástí myelinu, který izoluje a chrání axony, a tím umožňuje rychlý přenos vzruchu z jednoho neuronu na druhý. Při demyelinizaci, například v případě roztroušené sklerózy, dochází k přenosu cholesterolu a k jeho použití pro nové myelinové membrány. Cholesterol je také důležitý pro udržení strukturální funkce (Berghoff et al., 2021).

3.5.2 Lipidy a Alzheimerova choroba

Bylo zjištěno, že vlivem oxidačního stresu, který při AD vzniká různými cestami a má podíl na její progresi, dochází ke změnám ve složení lipidů. Jednalo se zejména o cholesterol nebo sfingolipidy. Tato změna vedla k podpoře neurodegenerace. Mimo jiné se na myším modelu potvrdilo, že AD předcházela změna ve složení mastných kyselin. Určité spojení mezi metabolismem lipidů a rozvojem AD je i APOE. Je totiž hlavním přenašečem cholesterolu do neuronů. Přesný mechanismus, jak by mohlo docházet ke změně metabolismu cholesterolu vlivem APOE, není znám. Když ale vezmeme v úvahu, že alela APOE4 je hlavním rizikovým faktorem AD, je jeho negativní vliv na lipidový metabolismus více než pravděpodobný (Li et al., 2021; Ooi et al., 2021).

3.6 Poruchy metabolismu glukózy

Glukóza je hlavním energetickým zdrojem mozku. Na její spotřebě se podílí až z 25 %. Za její transport do mozkové tkáně zodpovídají glukózové transportéry (GLUT), konkrétně GLUT1 nacházející se v astrocytech a GLUT3 v neuronech. Narušení metabolismu glukózy se u jedinců s AD objevuje již s několikaletým předstihem. Bylo u nich pozorováno výrazné snížení GLUT a tím i snížený transport glukózy. Kromě toho došlo i ke snížení mitochondriálního pyruvátdehydrogenázového komplexu. Jedná se o komplex tří enzymů uvnitř mitochondrie, které mají důležitou roli v metabolismu glukózy. Tyto enzymy katalyzují oxidativní dekarboxylaci pyruvátu, vzniklého z glukózy procesem glykolýzy. V temporální kůře mozku a hipokampu bylo dále pozorováno i snížení cytochrom c oxidázy, článku dýchacího řetězce. Všechny tyto pochody přispívají k poruše metabolismu glukózy a tvorby energie pro buňky, čímž dojde k dalšímu podpoření neurodegenerace mozkové tkáně (Xu et al., 2021).

3.7 Dysfunkce mitochondrií

Mitochondrie jsou buněčné organely, zodpovědné především za dodávání energie ve formě adenosintrifosfátu procesem oxidativní fosforylace. Podílí se také na regulaci intracelulárního vápníku a na vytváření membránového potenciálu. Zejména pro nervovou tkáň jsou tyto organely nezbytné a jakékoliv jejich poškození tak má na mozek negativní dopad (Singulani et al., 2021; Yang et al., 2020).

Během AD je často pozorována jejich dysfunkce, která se jako první objevuje právě v neuronech. Projevuje se zejména rozpadem mitochondriálního dýchacího řetězce či nadměrnou tvorbou ROS a vznikem oxidačního stresu. Na něj jsou citlivé především nervové buňky, jelikož mají nízkou schopnost zachycovat volné radikály. Dále dochází i k uvolňování apoptotických faktorů, například cytochromu c. Jeho přítomnost pak dává okolním buňkám signál k zahájení apoptózy (Yang et al., 2020; Zeng et al., 2021).

Dále bylo pozorováno i snížení enzymů lokalizovaných v mitochondriích a také snížení komplexu elektronového transportního řetězce. Toto snížením u pacientů s AD korelovalo s počtem amyloidních plaků, což ještě více poukazuje na negativní dopad dysfunkce mitochondrií na progresi onemocnění (Singulani et al., 2021).

3.8 Stres endoplazmatického retikula

Stres endoplazmatického retikula (ER) má podíl na etiologii neurodegenerativních chorob, včetně AD. Je však otázkou, zda stres ER hraje přímou roli v rozvoji AD nebo je pouze jeho součástí (Uddin et al., 2021).

Tuto organelu můžeme popsat jako velice komplikovaný systém cisteren a kanálků, který je v kontaktu i s jinými organelami v buňce. ER je zodpovědné zejména za syntézu a následnou organizaci proteinů, dále pak za syntézu lipidů či polysacharidů. Dělí se na hladké a drsné ER, které na svém povrchu nese ribozomy (Lee a Blackstone, 2021).

Stres ER je sled buněčných reakcí, spuštěných jako odezva na narušení homeostázy této organely. Může k němu dojít vlivem nedostatku glukózy jako zdroje energie, ischemie, poruch homeostázy vápníku nebo vlivem redoxních změn. Spouštěčem může být i hromadění beta-amyloidu. Reakcí na stres ER je aktivace tzv. rozložené proteinové odpovědi (UPR). Pokud je však stres dlouhodobý, UPR tuto funkci ztrácí a dochází k aktivaci apoptotických faktorů. Při AD byla pozorována zvýšená exprese UPR regulátorů a také eukaryotického iniciačního faktoru 2α , u kterého byla pozorována spojitost se ztrátou synapsí a kognitivními poruchami na myších modelech AD (Goswami et al., 2020; Uddin et al., 2021).

3.9 Akumulace neutrofilů

Neutrofilní granulocyty jsou jedním z typů leukocytů. Jejich úkolem je obrana proti patogenům, především prostřednictvím fagocytózy. U pacientů s AD bylo pozorováno jejich zvýšení s adherací v cévách mozku. Neutrofilly vykazovaly hyperreaktivitu a produkovaly zvýšené množství ROS. Ty mohou přispívat k poruše HEB, a to například poškozením těsných spojů. Vlivem porušené bariéry dochází ke snížení clearance beta-amyloidu, která vede k jeho akumulaci v mozku (Dong et al., 2018).

3.10 Cholinergní hypotéza

Acetylcholin (ACh) je neurotransmitter, který se váže na dva typy receptorů, a to na nikotinové a muskarinové. Tyto receptory poté ovlivňují množství kognitivních funkcí, mezi které patří například udržení vědomí či pozornosti. Tento tzv. cholinergní systém je zodpovědný i za paměť. Při AD dochází k porušení těchto receptorů, zejména působením beta-amyloidu. Dochází i ke snižování hladiny ACh, což způsobí kognitivní pokles, který je jedním z příznaků tohoto onemocnění (Lombardo a Maskos, 2015).

V počátcích výzkumu a hledání příčin AD, znalost těchto patologických procesů vedla ke vzniku cholinergní hypotézy jako hlavní teorie vzniku onemocnění. Podle ní změny v cholinergním systému, například nedostatečné množství ACh, významně přispívají a vedou k nástupu AD. Časem se však od této hypotézy jako hlavní teorie vysvětlující příčinu vzniku onemocnění upustilo a pozornost se zaměřila spíše na vliv amyloidních plaků a NFT na mozkovou tkáň (Craig et al., 2011).

3.11 Další vývoj a průběh onemocnění

Průběh AD je většinou pozvolný. Příznaky nastupují pomalu a může dojít lehce k jejich záměně, jelikož nejsou typické pouze pro toto onemocnění. Oproti tomu ke změnám na buněčné úrovni a ke změnám histologickým dohází už několik desítek let předem (Alzheimer's association, 2020).

3.11.1 Změny na buněčné úrovni

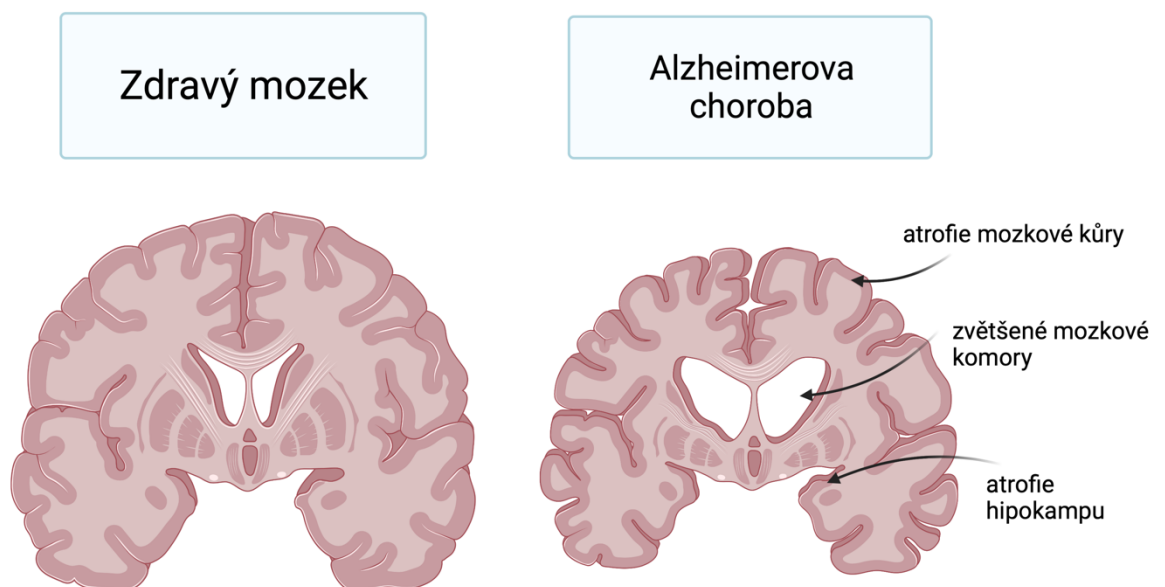
V mozku zdravého pacienta s několika miliardami neuronů se mezi každým z nich vytváří synapse, které jsou zodpovědné za přenos vzruchu. Tyto synapse převádějí z jednoho neuronu na druhý signály elektrické, ve formě akčního potenciálu, na chemické (tzv. chemické synapse), a to pomocí exocytózy vezikulů obsahujících neurotransmitery. Uvolněné

neurotransmitery z presynaptické membrány projdou synaptickou štěrbinou a pomocí receptorů na postsynaptické membráně jsou zachyceny na druhém neuronu. Kromě zmíněného Ach mezi neurotransmitery patří například glutamát nebo glycin. Druhým, vzácnějším typem synapsí, jsou synapse elektrické, které jsou rychlejší a umožňují tok proudu přenosem iontů prostřednictvím spojovacích kanálů. Takto navzájem propojené neurony tak tvoří velkou komunikační síť, která dává za vznik myšlenkám, pocitům i vzpomínkám (Rudenko a Takahashi, 2019).

U pacienta s AD dochází k patologickým změnám na úrovni neuronů. Za tyto změny jsou zodpovědné především dva faktory, a to již zmíněný beta-amyloid a jeho hromadění ve formě plaků a také tau protein a z něj vznikající NFT. Akumulace beta-amyloidu může časem vést k přímému poškození až smrti neuronu. Vznikající NFT zase blokuje přívod živin a dalších potřebných látek do neuronu což vede opět k jeho degeneraci. Dochází tak ke ztrátám synapsí v mozku a pacient tak postupně začíná mít problémy s pamětí. Bylo zjištěno, že ke zvýšení hladiny beta-amyloidu dochází už cca dvacet let před projevem nemoci. Ke snížení metabolismu glukózy dochází osmnáct let před prvními příznaky a atrofie mozku začíná až s třináctiletým předstihem (Alzheimer's association, 2020).

3.11.2 Histologické změny

Pro mozek postihnutý touto nemocí je typická jeho postupná atrofie, způsobená masivním úbytkem neuronů (obr. 5).



Obr. 5: Histologické změny na mozku u pacienta s AD v porovnání s mozkiem zdravého člověka. Patrná je zejména atrofie mozkové kůry se zvětšením mozkových komor.

Jako první ji můžeme zaznamenat v oblasti mozku zvaném hipokampus, jenž je zodpovědný za krátkodobou paměť a orientaci v prostoru.

Dále můžeme na mozku pozorovat zánět. Předpokládá se, že k němu dochází aktivací mikroglíí. V tomto případě se mikroglie snaží vycytat patologický beta-amyloid a tau protein, a dále cílí i na odumírající buňky v mozkové tkáni. S postupem času, i když se mikroglie začnou hromadit, nezvládají nakonec vycytat vše a zánět se tak stane chronickým (Alzheimer's association, 2020).

3.11.3 Klinické projevy

Projevy onemocnění jsou u každého pacienta odlišné, začínají se projevovat v různou dobu a mají také různou rychlost progresu. Většinou však postupují pomalu a zpočátku se dají zaměnit s jiným onemocněním nebo i s fyziologickými pochody, které se objevují ve stáří. Pro každou z fází AD jsou typické různé příznaky, které se s postupem onemocnění zhoršují. Nejprve se u pacienta objevují menší výpadky paměti. Dochází k zapomínání názvů předmětů či míst nebo k problémům s vyjádřením správného slova ve větě. V pokročilejším stádiu AD už může působit zmateně, je dezorientovaný, mění se mu nálady nebo stále opakuje nějaký vzorec chování nebo nějakou činnost. V konečné fázi se objevují již velké problémy s pamětí a potíže s řečí, kdy může dojít až k její postupné ztrátě. Pacient také nedokáže udržet moč či stolici a je odkázaný na nepřetržitou pomoc druhých (Lyketsos et al., 2011).

4. DIAGNOSTIKA A LÉČBA ALZHEIMEROVY CHOROBY

4.1 Stádia Alzheimerovy choroby

Nejčastěji se AD dělí do celkem tří stádií. Prvním je rané neboli preklinické, dalším je střední a posledním je stádium pozdní. Snahou je onemocnění rozpoznat co nejdříve, jelikož po jeho rozvinutí jsou možnosti léčby zatím velmi omezené. Proto se klade důraz zejména na včasný záchyt a diagnostiku preklinického stádia, což se nám díky rozvíjejícímu výzkumu daří (Ihara et al., 2018).

4.1.1 Role preklinického stádia při včasném záchytu onemocnění

Během preklinické fáze, která může začít několik let před projevem onemocnění, již vznikají první mozkové léze, ale pacient zatím nejeví žádné známky kognitivního poškození. Zásadní je tedy záchyt onemocnění v této fázi, kdy i když pacienta zatím relativně nic netrápí, již můžeme na toto onemocnění cílit a tím ho zpomalit nebo o pár let odsunout jeho první klinické projevy. Pro včasné zachycení se využívá schématu, kdy se jako první u člověka hodnotí rizikové faktory vzniku AD, se zaměřením na prevenci. Následuje screening umožňující, v případě vzniku onemocnění, jeho včasnou detekci a intervenci. Dalším krokem je podrobná diagnostika a následně léčba (Dubois, 2016).

4.2 První objevy

Před objevem Aloise Alzheimerera na počátku minulého století, byla AD považována za presenilní demenci s velmi malou četností a nebyla od ostatních nijak odlišována. Přítomnost amyloidu v mozkové tkáni byla známá již před objevem AD jako takové, a to pod názvem „kongofilní angiopatie“ v cévách mozku. Až později se zjistilo, že přítomnost amyloidových plaků je pro AD typická.

V roce 1991 profesorka Alison Goate, která se dlouhodobě zabývá AD, zjistila, že u pacientů s dědičnou formou tohoto onemocnění se vyskytuje stejná mutace. Jednalo se o mutaci genu na 21. chromozomu, který, jak se později ukázalo, kóduje vznik APP, z něhož následně vzniká beta-amyloid. V 90. letech minulého století, byla nalezena v souvislosti s AD i jiná mutace, a to na chromozomu 1 a 14, která měnila strukturu proteinu presenilinu a způsobovala dědičnou formu s časným nástupem (Drachman, 2014).

4.3 Dnešní možnosti v diagnostice onemocnění

První volbou při diagnostice AD jsou zobrazovací metody mozku, jejichž účelem je zobrazení patologických struktur tkáně. Patří mezi ně například výpočetní tomografie (CT), magnetická rezonance (MRI) a pozitronová emisní tomografie (PET) (Tuan et al., 2021).

Nově se však objevují i metody, při kterých se detekuje beta-amyloid jako marker v různých tělních tekutinách. Jedná se například o stanovení v plazmě, kdy jeho hladina koreluje s koncentrací nahromaděného beta-amyloidu v mozku (Kim et al., 2022).

Kromě těchto metod se k diagnostice využívá i psychiatrických a neurologických vyšetření, psychologických testů a krevních rozborů. Konečná diagnóza se vždy určuje na základě všech dostupných výsledků (Oltu et al., 2021).

4.3.1 Pozitronová emisní tomografie

Během zobrazování pomocí PET se využívá radiofarmak, nejčastěji pak 18-fluorodeoxyglukózy (FDG). Tato sloučenina má velice podobnou strukturu jako glukóza, hlavní zdroj energie mozku. Díky tomu je velmi dobře absorbována neurony. Měří se míra vychytávání FDG v mozkové tkáni, její snížená hodnota pak ukazuje na ztrátu či funkční poškození neuronů. Touto metodou tedy můžeme zachytit postupující neurodegeneraci mozku (Andersen et al., 2021).

Kromě FDG PET existuje i varianta PET s beta-amyloidem. Při ní se využívá radioaktivních ligandů, které prochází HEB a vážou se na amyloidní plaky v mozkové tkáni. Po měření se vypočítá průměr z rozdílu mezi vychytáváním radioindikátoru v kortikální oblasti a v oblasti bílé hmoty a mozečku, která je považována za referenční oblast, jelikož k vychytávání zde dochází minimálně. Výsledek nad fyziologickou mezí svědčí pro patologicky vysoké hodnoty amyloidních plaků, ukazujících na AD (Andersen et al., 2021; Camacho et al., 2018).

Třetí variantou je tzv. tau PET, kdy se využívá tau radioindikátorů, které se v mozku vážou na určité izoformy tau proteinu. Tato zobrazovací metoda je ale zatím ve fázi výzkumu (Rowley et al., 2020).

4.3.2 Magnetická rezonance

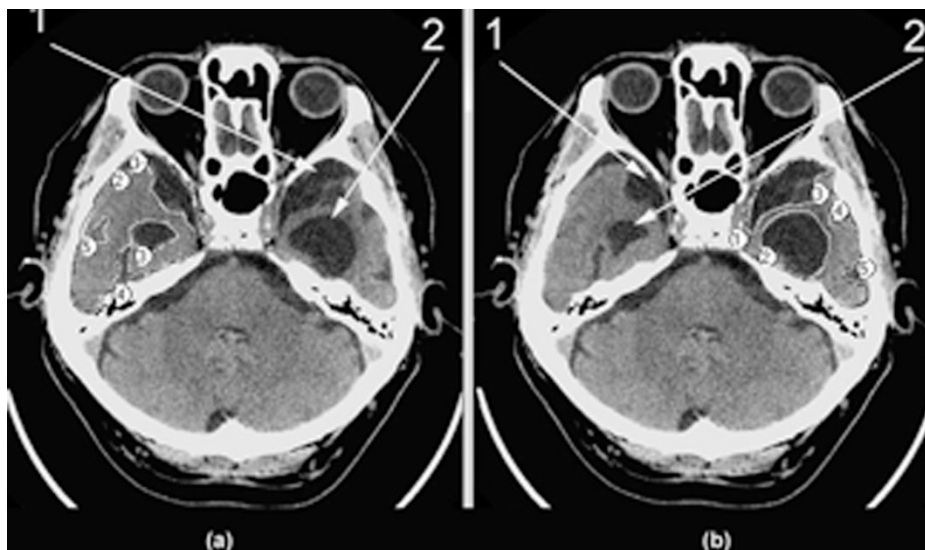
Jedná se o preferovanou metodu k diagnostice AD, sloužící k zobrazení struktury mozku. Pro pacienta je neinvazivní, do těla se mu v tomto případě nemusí vpravit žádná kontrastní látka či indikátor, jako v případě PET. Jedinou podmínkou je absence jakéhokoliv kovového materiálu v těle, jelikož se při diagnostice využívá magnetického pole. MRI dokáže

zobrazit nejen dvojrozměrnou, ale i trojrozměrnou strukturu mozku, a to velmi přesně a ve vysoké kvalitě. Můžeme tak pozorovat míru atrofie tkáně nebo postižení cév v mozku (Marghalani a Arif, 2019).

Tuto diagnostickou metodu můžeme využít jak pro sledování různých klinických fází AD, tak i pro predikci vzniku AD. V tomto případě se sleduje několik faktorů, jako například hustota šedé hmoty, tloušťka kůry a tvar a objem (Bi et al., 2020).

4.3.3 Výpočetní tomografie

Tato metoda se volí zejména pro sledování pokročilé AD, s již rozsáhlejší kognitivní poruchou. Na rozdíl od MRI je velmi rychlá, a tak pacienty s touto pokročilou demencí nijak výrazně neomezuje. Můžeme pomocí ní pozorovat atrofické změny na mozkové tkáni (obr. 6) a případně určit stádium AD (Rusina et al., 2014).



Obr. 6: CT snímek pacienta v pozdním stádiu AD. Šipky znázorňují atrofická ložiska v temporálních lalocích (Maksimovich, 2015).

4.3.4 Elektroencefalografie

Elektroencefalografie (EEG) slouží k zobrazení a sledování mozkové činnosti. Určité změny v záznamech EEG pak mohou ukazovat na neurodegenerativní změny v mozkové tkáni. Zda lze tuto metodu použít k diagnostice AD, se zatím zkoumá. Je ale známo, že na EEG záznamu se toto onemocnění projevuje zpomalenou aktivitou (Oltu et al., 2021).

4.3.5 Biomarkery v tělních tekutinách

Stanovení AD pomocí markerů v tělních tekutinách je vcelku jednoduchá, levná a pohodlná metoda. Cílem do budoucna je vytvořit panel markerů, který by se k diagnostice využíval a tím ji výrazně usnadnil. Základním požadavkem je co nejmenší invazivita, proto

je vhodné ke stanovení využít zejména moč, sliny, sérum nebo plazmu, která se zdá jako nejvhodnější. U pacientu s AD jsou pozorovány určité metabolické změny, například v metabolismu lipidů, aminokyselin nebo amidů. Hodnoty všech těchto složek lze pak jednoduše stanovit v krevní plazmě. V souvislosti s tím již byla provedena studie, ve které se povedlo rozlišit člověka s mírnou kognitivní poruchou od zdravého, a to na základě změn hodnot sedmi metabolitů stanovených z krve. Konkrétně se jednalo o tři aminokyseliny (kyselina glutamová, asparagová a alanin), jednu neesterifikovanou mastnou kyselinu, dále žlučovou kyselinu (kyselina deoxycholová), fosfatidylethanolamin a sfingomyelin (Olazarán et al., 2015; Peña-Bautista, 2019).

Kromě markerů v plazmě je možné vyšetřit markery i v likvoru. Nejčastěji se stanovuje beta-amyloid, celkový tau protein a fosforylovaný tau protein, které jsou vhodné spíše k diagnostice nežli ke sledování progresu onemocnění. Oproti tomu například isoprostan, marker oxidačního stresu, se jeví jako vhodný kandidát pro monitorování stavu AD. Bylo totiž zjištěno, že jeho hladina s časem vzrůstá (Kester et al., 2012).

4.4 Léčba

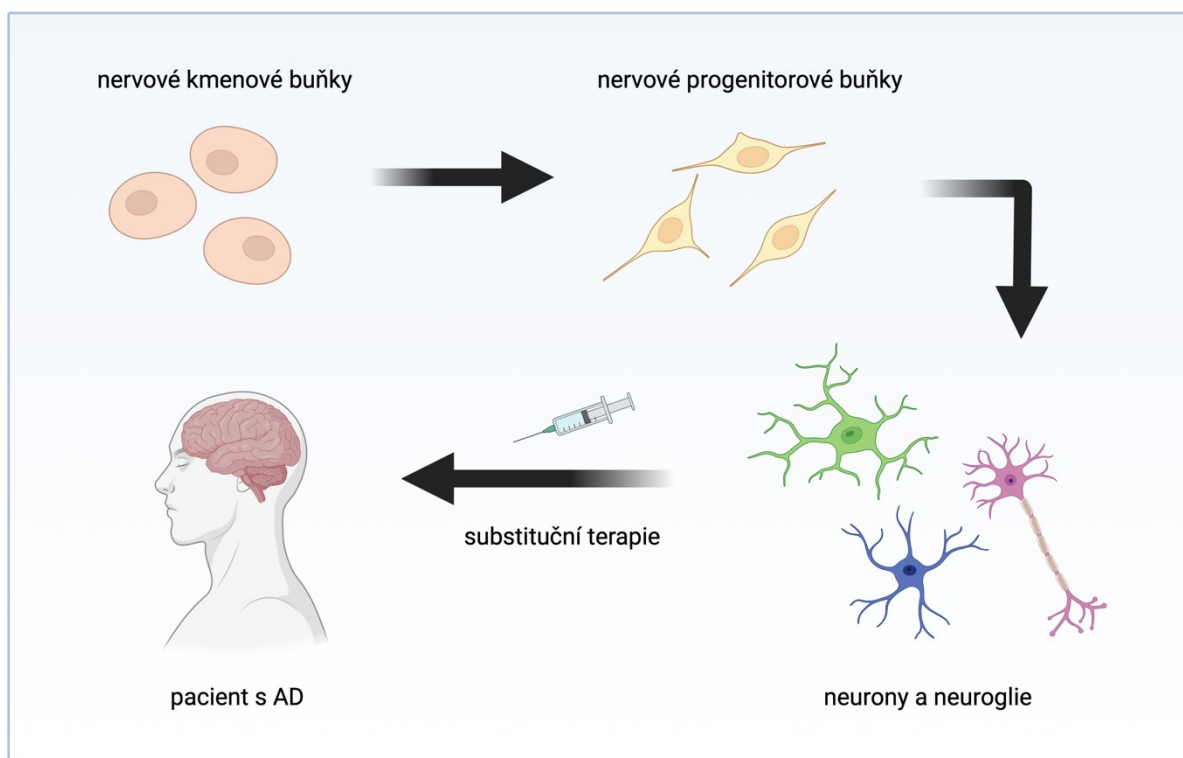
Doposud nebyl nalezen žádný způsob, jak AD vyléčit. Patogeneze onemocnění totiž ještě není zcela odhalena, a tak je nalezení léku, který by na toto onemocnění cílil, v podstatě nemožné. Navíc je potřeba aby byl lék víceúčelový a působil tak na co nejvíce faktorů, které zapříčiňují vznik onemocnění. Pacienti jsou tedy prozatím odkázáni na medikaci, která se zaměřuje pouze na symptomy onemocnění (Marucci et al., 2021).

4.4.1 *Inhibitory acetylcholinesterázy*

Jedná se o nejvíce používanou a zatím i nejvíce doporučovanou možnost. Tyto inhibitory blokuje enzym acetylcholinesterázu, která je zodpovědná za rozklad neurotransmiteru Ach. Tím dojde k opětovnému zvýšení hladiny Ach a ke zmírnění projevů demence. Mezi schválené medikamenty, které jsou založené na inhibici acetylcholinesterázy patří například rivastigmin či donepezil. Tato léčiva však mají značné nežádoucí účinky zejména v gastrointestinálním traktu. Projevují se nevolností, zvracením nebo průjmami. Kromě nich se mohou u pacienta objevit i svalové křeče nebo poruchy srdečního rytmu. Tyto potíže však lze částečně eliminovat, a to postupným zvyšováním dávky léčiva (Marucci et al., 2021; Rusina et al., 2014).

4.4.2 *Terapie kmenovými buňkami*

Cílem této léčby je nahradit odumřelé neurony novými kmenovými buňkami a zamezit tak progresi onemocnění. Využívá se například embryonálních kmenových buněk, indukovaných pluripotentních kmenových buněk, mezenchymálních kmenových buněk nebo nervových kmenových buněk. Všechny pak dávají za vznik nervovým progenitorovým buňkám, ze kterých vznikají nové neurony. Jako nevhodnější z výše vyjmenovaných se k nahrazení degenerovaných neuronů jeví nervové kmenové buňky (obr. 7). Tyto buňky byly zatím zkoumány na zvířecích modelech, kdy došlo ke zlepšení kognice, a to vlivem účinku cholinergních neuronů, které byly odvozeny právě od transplantovaných nervových kmenových buněk. K úbytku amyloidních plaků však nedošlo. Tato možnost léčby AD je zatím ve fázi výzkumu, do budoucna se však jeví jako velice slibná, jelikož cílí na více faktorů způsobujících onemocnění. S rozvojem technologií, se tato terapie posouvá kupředu ještě více, a to například užitím kmenových buněk na čipech (Salwa a Kumar, 2021; Srivastava et al., 2021).



Obr. 7: Využití kmenových buněk při léčbě AD. Nervové kmenové buňky dávají za vznik nervovým progenitorovým buňkám, které jsou následně základem pro nové neurony a neuroglie.

4.4.3 Nanoléčiva

Jejich výhodou je snadné proniknutí do CNS a tím i snadnější zacílení na různá místa a konkrétní proteiny v nervové tkáni. Pro léčbu se nyní testují polymerní nanočástice, a to buď ve formě anorganické nebo na bázi lipidů. Tyto částice lze různě modifikovat a překonat tak omezení, se kterými si běžná léčiva neporadí. Kromě této výhody jsou nanoléčiva fyzikálně i chemicky stabilní, obsahují vysoké množství účinné látky, u které navíc zvyšují její účinek a propustnost, a také vykazují minimální nebo žádné známky toxicity pro organismus. S touto léčbou jsou tedy spojena menší rizika (Zeng et al., 2021; Srivastava et al., 2021).

Závěr

Cílem této bakalářské práce byl popis patologických mechanismů Alzheimerovy choroby, a také popis změn, které se odehrávají v buňkách při tomto onemocnění.

Stěžejním patologickým mechanismem všech neurodegenerativních chorob je patologická tvorba proteinu a jeho následná akumulace v nervové tkáni. U Alzheimerovy choroby dochází k tvorbě beta-amyloidu. Vzniká z amyloidového prekurzorového proteinu, u kterého převažuje jeho štěpení pomocí beta a gama sekretázy, místo fyziologického štěpení alfa sekretázou. Takto vzniklý patologický protein tělo není schopno zpracovat, a tak se začne ve tkáních hromadit. Dochází k jeho ukládání ve formě amyloidních plaků, typických nejen pro Alzheimerovu chorobu. Klíčovou roli v patogenezi onemocnění hraje i hyperfosforylace tau proteinu, která vede ke změně jeho funkce. Tou je za fyziologických podmínek strukturální podpora mikrotubulů, složky cytoskeletu. Hyperfosforylací však tuto důležitou funkci ztrácí, a tak dochází k rozpadu mikrotubulů a k jeho hromadění ve formě neurofibrilárních klubek, které vedou až k zastavení buněčného transportu.

Vlivem těchto mechanismů dochází k poruchám funkcí buňky. Akumulace beta-amyloidu ovlivňuje hematoencefalickou bariéru a zapříčiní její dysfunkci. Změna homeostázy vede ke stresu endoplazmatického retikula a k dysfunkci mitochondrií. Ta se následně projeví nadměrnou tvorbou volných kyslíkových radikálů. Buňky je nestíhají odbourávat, a tak vzniká oxidační stres, vedoucí k oxidaci životně důležitých složek, zejména lipidů a proteinů. Dochází také ke snížení mitochondriálních enzymů, například pyruvátdehydrogenázového komplexu, a snížení cytochrom c oxidázy, posledního článku dýchacího řetězce. To má za následek poruchy metabolismu glukózy a tím i poruchy v tvorbě energie pro buňky. Kombinací všech těchto faktorů dochází k degeneraci neuronů s jejich následnou apoptózou a ztrátou synapsí. Člověk trpící Alzheimerovou chorobou tak postupně ztrácí paměť a dochází u něj také ke zhoršování kognitivních schopností.

Jelikož není přesně známo to, co tento sled patologických reakcí spouští, nelze při léčbě onemocnění na nic konkrétního cílit. Terapie tak zatím spočívá pouze ve zmírnění či potlačení příznaků nemoci. Proto se klade velký důraz zejména na záchyt onemocnění v počátečních stádiích, kdy můžeme vhodně zvoleným postupem oddálit nástup klinických příznaků až o několik let. K léčbě se nejčastěji využívá inhibitorů acetylcholinesterázy. Inhibicí tohoto enzymu dojde ke zvýšení hladiny neurotransmiteru acetylcholinu, a tím i ke zmírnění projevů demence. Jiným, zatím experimentálním způsobem léčby, je terapie kmenovými

buňkami. Cílem je nahradit odumřelé neurony novými kmenovými buňkami, které dají za vznik nervovým progenitorovým buňkám. Z nich následně mohou vzniknout nové neurony.

Do budoucna si lékaři dávají za cíl odhalit přesný mechanismus patogeneze Alzheimerovy choroby. To by mohlo vést k nalezení vhodného léčiva. Počet pacientů s tímto onemocněním totiž roste rok od roku více, což se bez cílené terapie v budoucnu jeví jako velký problém.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. Alzheimer's association. Alzheimer's disease facts and figures [online]. 2020, **16**(3), 391-460. ISSN 1552-5260. DOI: 10.1002/alz.12068.
2. ANDERSEN, E., B. CASTEIGNE, W. D. CHAPMAN, et al. Diagnostic biomarkers in Alzheimer's disease. *Biomarkers in Neuropsychiatry* [online]. 2021, **5**, 1-11. ISSN 26661446. DOI: 10.1016/j.bionps.2021.100041.
3. APOSTOLOVA, L. G. Alzheimer Disease. *CONTINUUM: Lifelong Learning in Neurology* [online]. 2016, **22**(2), 419-434. ISSN 1080-2371. DOI: 10.1212/CON.0000000000000307.
4. BARTELS, A. L. a K. L. LEENDERS. Parkinson's disease: The syndrome, the pathogenesis and pathophysiology. *Cortex*[online]. 2009, **45**(8), 915-921. ISSN 00109452. DOI: 10.1016/j.cortex.2008.11.010.
5. BELL, R. D., E. A. WINKLER, I. SINGH, et al. Apolipoprotein E controls cerebrovascular integrity via cyclophilin A. *Nature* [online]. 2012, **485**(7399), 512-516. ISSN 0028-0836. DOI: 10.1038/nature11087.
6. BERGHOFF, S. A., L. SPIETH, T. SUN, et al. Neuronal cholesterol synthesis is essential for repair of chronically demyelinated lesions in mice. *Cell Reports* [online]. 2021, **37**(4), 1-11. ISSN 22111247. DOI: 10.1016/j.celrep.2021.109889.
7. BI, X., S. LI, B. XIAO, et al. Computer aided Alzheimer's disease diagnosis by an unsupervised deep learning technology. *Neurocomputing* [online]. 2020, **392**, 296-304. ISSN 09252312. DOI: 10.1016/j.neucom.2018.11.111.
8. BJORNEVIK, K., M. A. SCHWARZSCHILD a A. ASCHERIO. Big health data and Parkinson's disease epidemiology: Challenges and opportunities. *Parkinsonism & Related Disorders* [online]. 2020, **71**, 58-59. ISSN 13538020. DOI: 10.1016/j.parkreldis.2020.01.001.
9. BREITNER, J. C. S., B. W. WYSE, J. C. ANTHONY, et al. APOE- 4 count predicts age when prevalence of AD increases, then declines: The Cache County Study. *Neurology* [online]. 1999, **53**(2), 321-321. ISSN 0028-3878. DOI: 10.1212/WNL.53.2.321.
10. CAMACHO, V., A. GÓMEZ-GRANDE, P. SOPENA, et al. Amyloid PET in neurodegenerative diseases with dementia. *Revista Española de Medicina Nuclear e Imagen Molecular (English Edition)* [online]. 2018, **37**(6), 397-406. ISSN 22538089. DOI: 10.1016/j.remnie.2018.04.003.

11. CANAS, L. S., C. H. SUDRE, Enrico DE VITA, et al. Prion disease diagnosis using subject-specific imaging biomarkers within a multi-kernel Gaussian process. *NeuroImage: Clinical* [online]. 2019, **24**, 1-14. ISSN 22131582. DOI: 10.1016/j.nicl.2019.102051.
12. CIPRIANI, G., C. DOLCIOTTI, L. PICCHI, et al. Alzheimer and his disease: a brief history. *Neurological Sciences* [online]. 2011, **32**(2), 275-279. ISSN 1590-1874. DOI: 10.1007/s10072-010-0454-7.
13. CRAIG, L. A., N. S. HONG a R. J. MCDONALD. Revisiting the cholinergic hypothesis in the development of Alzheimer's disease. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* [online]. 2011, **35**(6), 1397-1409. ISSN 01497634. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2011.03.001.
14. DE OLIVEIRA, F. F., F. Ch. MACHADO, G. SAMPAIO, et al. Neuropsychiatric feature profiles of patients with Lewy body dementia. *Clinical Neurology and Neurosurgery* [online]. 2020, **194**, 1-10. ISSN 03038467. DOI: 10.1016/j.clineuro.2020.105832.
15. DONG, Y., J. LAGARDE, L. XICOTA, et al. Neutrophil hyperactivation correlates with Alzheimer's disease progression. *Annals of Neurology* [online]. 2018, **83**(2), 387-405. ISSN 03645134. DOI: 10.1002/ana.25159.
16. DRACHMAN, D. A. The amyloid hypothesis, time to move on: Amyloid is the downstream result, not cause, of Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia* [online]. 2014, **10**(3), 372-380. ISSN 1552-5260. DOI: 10.1016/j.jalz.2013.11.003.
17. DUBOIS, B., H. HAMPEL, H. H. FELDMAN, et al. Preclinical Alzheimer's disease: Definition, natural history, and diagnostic criteria. *Alzheimer's & Dementia* [online]. 2016, **12**(3), 292-323. ISSN 1552-5260. DOI: 10.1016/j.jalz.2016.02.002.
18. DUGGER, B. N. a D. W. DICKSON. Pathology of Neurodegenerative Diseases. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* [online]. 2017, **9**(7). ISSN 1943-0264. DOI: 10.1101/cshperspect.a028035.
19. DUYCKAERTS, Ch., B. DELATOUR a M. POTIER. Classification and basic pathology of Alzheimer disease. *Acta Neuropathologica* [online]. 2009, **118**(1), 5-36. ISSN 0001-6322. DOI: 10.1007/s00401-009-0532-1.
20. GIL, M. J., M. S. MANZANO, M. L. CUADRADO, et al. Frontotemporal lobar degeneration: Study of a clinicopathological cohort. *Journal of Clinical*

- Neuroscience* [online]. 2018, **58**, 172-180. ISSN 09675868. DOI: 10.1016/j.jocn.2018.10.024.
21. GOSWAMI, P., M. A. AFJAL, J. AKHTER, et al. Involvement of endoplasmic reticulum stress in amyloid β (1-42)-induced Alzheimer's like neuropathological process in rat brain. *Brain Research Bulletin* [online]. 2020, **165**, 108-117. ISSN 03619230. DOI: 10.1016/j.brainresbull.2020.09.022.
 22. GUO, Y., Q. WANG, S. CHEN, et al. Functions of amyloid precursor protein in metabolic diseases. *Metabolism* [online]. 2021, **115**, 1-48. ISSN 00260495. DOI: 10.1016/j.metabol.2020.154454.
 23. HARRINGTON, K., Ch. C. ABBOTT a D. QUINN. Psychiatric Presentations of Creutzfeldt-Jakob Disease: A Case Report. *Journal of the Academy of Consultation-Liaison Psychiatry* [online]. 2021, **62(2)**, 248-252. ISSN 26672960. DOI: 10.1016/j.jaclp.2021.01.006.
 24. HROUDOVÁ, J., N. SINGH a Z. FIŠAR. Mitochondrial Dysfunctions in Neurodegenerative Diseases: Relevance to Alzheimer's Disease. *BioMed Research International* [online]. 2014, **2014**, 1-9. ISSN 2314-6133. DOI: 10.1155/2014/175062.
 25. <https://biorender.com> (12.11. 2021)
 26. IADECOLA, C. Dangerous Leaks: Blood-Brain Barrier Woes in the Aging Hippocampus. *Neuron* [online]. 2015, **85(2)**, 231-233. ISSN 08966273. DOI: 10.1016/j.neuron.2014.12.056.
 27. IHARA, R., A. IWATA, K. SUZUKI, et al. Clinical and cognitive characteristics of preclinical Alzheimer's disease in the Japanese Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative cohort. *Alzheimer's & Dementia* [online]. 2018, **4(1)**, 645-651. ISSN 2352-8737. DOI: 10.1016/j.trci.2018.10.004.
 28. KATZ, M. J., C. WANG, C. A. DERBY, et al. [P2-466]: Effect of the apolipoprotein E E2 (apoe2) allele on memory decline and incidence and transition to alzheimer's disease (AD). *Alzheimer's & Dementia*[online]. 2017, **13(7S_Part_16)**, 819. ISSN 1552-5260. DOI: 10.1016/j.jalz.2017.06.1123.
 29. KESTER, M. I., P. G. SCHEFFER, M. J. KOEL-SIMMELINK, et al. Serial CSF sampling in Alzheimer's disease: specific versus non-specific markers. *Neurobiology of Aging* [online]. 2012, **33(8)**, 1591-1598. ISSN 01974580. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2011.05.013.
 30. KIM, H. J., W. CHOI, J. SAN LEE, et al. Clinical application of serological Alzheimer's disease diagnosis using a highly sensitive biosensor with hydrogel-enhanced

- dielectrophoretic force. *Biosensors and Bioelectronics* [online]. 2022, **195**, 1-9. ISSN 09565663. DOI: 10.1016/j.bios.2021.113668.
31. KOLAROVA, M., F. GARCÍA-SIERRA, A. BARTOS, et al. Structure and Pathology of Tau Protein in Alzheimer Disease. *International Journal of Alzheimer's Disease* [online]. 2012, **2012**, 1-13. ISSN 2090-8024. DOI: 10.1155/2012/731526.
 32. KOVACS, G. G. Concepts and classification of neurodegenerative diseases. *Neuropathology* [online]. Elsevier, 2018, **2018**, **145**, 301-307. ISBN 9780128023952. DOI: 10.1016/B978-0-12-802395-2.00021-3 (abstrakt).
 33. KRASEMANN, S., Ch. MADORE, R. CIALIC, et al. The TREM2-APOE Pathway Drives the Transcriptional Phenotype of Dysfunctional Microglia in Neurodegenerative Diseases. *Immunity* [online]. 2017, **47**(3), 566-581. ISSN 10747613. DOI: 10.1016/j.immuni.2017.08.008.
 34. LEE, C. A. a C. BLACKSTONE. ER morphology and endo-lysosomal crosstalk: Functions and disease implications. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids* [online]. 2020, **1865**(1), 1-9. ISSN 13881981. DOI: 10.1016/j.bbalip.2019.158544.
 35. LEE, J., K. CORREIA, J. LOUPE, et al. CAG Repeat Not Polyglutamine Length Determines Timing of Huntington's Disease Onset. *Cell* [online]. 2019, **178**(4), 887-900. ISSN 00928674. DOI: 10.1016/j.cell.2019.06.036.
 36. LEE, K. a Krzysztof KUCZERA. Free energy simulations to understand the effect of Met → Ala mutations at positions 205, 206 and 213 on stability of human prion protein. *Biophysical Chemistry* [online]. 2021, **275**, 1-9. ISSN 03014622. DOI: 10.1016/j.bpc.2021.106620.
 37. LI, X., J. ZHANG, D. LI, et al. Astrocytic ApoE reprograms neuronal cholesterol metabolism and histone-acetylation-mediated memory. *Neuron* [online]. 2021, **109**(6), 957-970. ISSN 08966273. DOI: 10.1016/j.neuron.2021.01.005.
 38. LIN, Y., H. IM, L. T. DIEM, et al. Characterizing the structural and thermodynamic properties of A β 42 and A β 40. *Biochemical and Biophysical Research Communications* [online]. 2019, **510**(3), 442-448. ISSN 0006291X. DOI: 10.1016/j.bbrc.2019.01.124.
 39. LOMBARDO, S. a U. MASKOS. Role of the nicotinic acetylcholine receptor in Alzheimer's disease pathology and treatment. *Neuropharmacology* [online]. 2015, **96**, 255-262. ISSN 00283908. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2014.11.018.

40. LYKETSOS, C. G., M. C. CARRILLO, J. M. RYAN, et al. Neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia* [online]. 2011, **7**(5), 532-539. ISSN 1552-5260. DOI: 10.1016/j.jalz.2011.05.2410.
41. MAKSIMOVICH, I. V. P1-150: Mri and ct criteria for Alzheimer's disease stages diagnostics. *Alzheimer's & Dementia* [online]. 2015, **11**(7S_Part_8), 401. ISSN 1552-5260. DOI: 10.1016/j.jalz.2015.06.348.
42. MARGHALANI, B. F. a M. ARIF. Automatic Classification of Brain Tumor and Alzheimer's Disease in MRI. *Procedia Computer Science* [online]. 2019, **163**, 78-84. ISSN 18770509. DOI: 10.1016/j.procs.2019.12.089.
43. MARUCCI, G., M. BUCCIONI, D. Dal BEN, et al. Efficacy of acetylcholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease. *Neuropharmacology* [online]. 2021, **190**, 1-15. ISSN 00283908. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2020.108352.
44. MRAVEC, B. Nervový systém. I. Morfológický a funkčný podklad signalizácie [online]. Bratislava: Faber, 2013, 89 [cit. 2020-10-29]. ISBN 978-80-89607-10.
- Dostupné z: https://cusp.uniba.sk/fileadmin/lf/sluzby/akademicka_kniznica/PDF/Elektronicke_knihy_LF_UK/Nervovy_system_I.pdf.
45. MURALIDAR, S., S. V. AMBI, S. SEKARAN, et al. Role of tau protein in Alzheimer's disease: The prime pathological player. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2020, **163**, 1599-1617. ISSN 01418130. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.07.327.
46. NIU, H., I. ÁLVAREZ-ÁLVAREZ, F. GUILLÉN-GRIMA, et al. Prevalence and incidence of Alzheimer's disease in Europe: A meta-analysis. *Neurología (English Edition)* [online]. 2017, **32**(8), 523-532. ISSN 21735808. DOI: 10.1016/j.nrleng.2016.02.009.
47. OLAZARÁN, J., L. GIL-DE-GÓMEZ, A. RODRÍGUEZ-MARTÍN, et al. A Blood-Based, 7-Metabolite Signature for the Early Diagnosis of Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease* [online]. 2015, **45**(4), 1157-1173. ISSN 18758908. DOI: 10.3233/JAD-142925.
48. OLTU, B., M. F. AKŞAHIN a S. KIBAROĞLU. A novel electroencephalography based approach for Alzheimer's disease and mild cognitive impairment detection. *Biomedical Signal Processing and Control* [online]. 2021, **63**(1-11), 1-11. ISSN 17468094. DOI: 10.1016/j.bspc.2020.102223.

49. ONO, K. a T. WATANABE-NAKAYAMA. Aggregation and structure of amyloid β -protein. *Neurochemistry International* [online]. 2021, **151**, 1-7. ISSN 01970186. DOI: 10.1016/j.neuint.2021.105208.
50. OOI, K. M., K. VACY a W. Ch. BOON. Fatty acids and beyond: Age and Alzheimer's disease related changes in lipids reveal the neuro-nutraceutical potential of lipids in cognition. *Neurochemistry International* [online]. 2021, **149**, 1-14. ISSN 01970186. DOI: 10.1016/j.neuint.2021.105143.
51. PEÑA-BAUTISTA, C., M. ROCA, D. HERVÁS, et al. Plasma metabolomics in early Alzheimer's disease patients diagnosed with amyloid biomarker. *Journal of Proteomics* [online]. 2019, **200**, 144-152. ISSN 18743919. DOI: 10.1016/j.jprot.2019.04.008.
52. PEREVOZCHIKOVA, T., Ch. B. STANLEY, H. P. MCWILLIAMS-KOEPPEN, et al. Investigating the Structural Impact of the Glutamine Repeat in Huntingtin Assembly. *Biophysical Journal* [online]. 2014, **107**(2), 411-421. ISSN 00063495. DOI: 10.1016/j.bpj.2014.06.002.
53. PHILLIPS, J. R., E. MATAR, K. A. EHGOETZ MARTENS, et al. Evaluating a novel behavioral paradigm for visual hallucinations in Dementia with Lewy bodies. *Aging Brain* [online]. 2021, **1**, 1-8. ISSN 25899589. DOI: 10.1016/j.nbas.2021.100011.
54. PORTER, M. a M. LEEMANS. Creutzfeldt–Jakob disease. *Continuing Education in Anaesthesia Critical Care & Pain* [online]. 2013, **13**(4), 119-124. ISSN 17431816. DOI: 10.1093/bjaceaccp/mkt002.
55. PRCINA, M. a E. KONTSEKOVA. Has prion protein important physiological function? *Medical Hypotheses* [online]. 2011, **76**(4), 567-569. ISSN 03069877. DOI: 10.1016/j.mehy.2011.01.002.
56. REITZ, Ch. a R. MAYEUX. Alzheimer disease: Epidemiology, diagnostic criteria, risk factors and biomarkers. *Biochemical Pharmacology* [online]. 2014, **88**(4), 640-651. ISSN 00062952. DOI: 10.1016/j.bcp.2013.12.024.
57. RIPHAGEN, J. M., I. H.G.M. RAMAKERS, W. M. FREEZE, et al. Linking APOE- ϵ 4, blood-brain barrier dysfunction, and inflammation to Alzheimer's pathology. *Neurobiology of Aging* [online]. 2020, **85**, 96-103. ISSN 01974580. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2019.09.020.
58. ROWLEY, P. A., A. A. SAMSONOV, T. J. BETTHAUSER, et al. Amyloid and Tau PET Imaging of Alzheimer Disease and Other Neurodegenerative Conditions. *Seminars*

- in Ultrasound, CT and MRI* [online]. 2020, **41**(6), 572-583. ISSN 08872171. DOI: 10.1053/j.sult.2020.08.011.
59. RUDENKO, G. a H. TAKAHASHI. Editorial overview: Synapses. *Current Opinion in Structural Biology* [online]. 2019, **54**, 3-7. ISSN 0959440X. DOI: 10.1016/j.sbi.2019.05.020.
60. RUSINA, R., R. MATĚJ, A. BARTOŠ, et. al. *Neurodegenerativní onemocnění*. Praha: Mladá fronta, 2014. Aeskulap, 351. ISBN 978-80-204-3300-8.
61. SALWA a L. KUMAR. Engrafted stem cell therapy for Alzheimer's disease: A promising treatment strategy with clinical outcome. *Journal of Controlled Release* [online]. 2021, **338**, 837-857. ISSN 01683659. DOI: 10.1016/j.jconrel.2021.09.007.
62. SINGULANI, M. P., V. J. R. DE PAULA a O. V. FORLENZA. Mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease: Therapeutic implications of lithium. *Neuroscience Letters* [online]. 2021, **760**, 1-5. ISSN 03043940. DOI: 10.1016/j.neulet.2021.136078.
63. SONUÇ KARABOGA, M. N. a M. K. SEZGINTÜRK. Analysis of Tau-441 protein in clinical samples using rGO/AuNP nanocomposite-supported disposable impedimetric neuro-biosensing platform: Towards Alzheimer's disease detection. *Talanta* [online]. 2020, **219**, 1-11. ISSN 00399140. DOI: 10.1016/j.talanta.2020.121257.
64. SPRENGER, G. P., R. A.C. ROOS, E. VAN ZWET, et al. The prevalence of pain in Huntington's disease in a large worldwide cohort. *Parkinsonism & Related Disorders* [online]. 2021, **89**, 73-78. ISSN 13538020. DOI: 10.1016/j.parkreldis.2021.06.015.
65. SRIVASTAVA, S., R. AHMAD a S. K. KHARE. Alzheimer's disease and its treatment by different approaches: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry* [online]. 2021, **216**, 1-16. ISSN 02235234. DOI: 10.1016/j.ejmech.2021.113320.
66. THOMAS, K. R., E. C. EDMONDS, J. S. EPPIG, et al. MCI-to-normal reversion using neuropsychological criteria in the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. *Alzheimer's & Dementia* [online]. 2019, **15**(10), 1322-1332. ISSN 1552-5260. DOI: 10.1016/j.jalz.2019.06.4948.
67. TROJAN, S., M. LANGMEIER, V. HRACHOVINA, et al. *Lékařská fyziologie*. Vyd. 4., přeprac. a dopl. Praha: Grada, 2003, 772. ISBN 80-247-0512-5.
68. TUAN, P. M., T. PHAN, M. ADEL, et al. AutoEncoder-based feature ranking for Alzheimer Disease classification using PET image. *Machine Learning*

- with Applications* [online]. 2021, **6**, 1-13. ISSN 26668270. DOI: 10.1016/j.mlwa.2021.100184.
69. UDDIN, M. S., W. S. YU a L. W. LIM. Exploring ER stress response in cellular aging and neuroinflammation in Alzheimer's disease. *Ageing Research Reviews* [online]. 2021, **70**, 1-16. ISSN 15681637. DOI: 10.1016/j.arr.2021.101417.
70. WISNIEWSKI, T. a E. DRUMMOND. APOE-amyloid interaction: Therapeutic targets. *Neurobiology of Disease*[online]. 2020, **138**, 1-8. ISSN 09699961. DOI: 10.1016/j.nbd.2020.104784.
71. WU, L. a L. ZHAO. ApoE2 and Alzheimer's disease: time to take a closer look. *Neural Regeneration Research* [online]. 2016, **11**(3), 412-413. ISSN 1673-5374. DOI: 10.4103/1673-5374.179044.
72. XU, X., M. YANG, B. ZHANG, et al. Glucose metabolism: A link between traumatic brain injury and Alzheimer's disease. *Chinese Journal of Traumatology* [online]. 2021, **24**(1), 5-10. ISSN 10081275. DOI: 10.1016/j.cjtee.2020.10.001.
73. YANG, P., D. SHENG, Q. GUO, et al. Neuronal mitochondria-targeted micelles relieving oxidative stress for delayed progression of Alzheimer's disease. *Biomaterials* [online]. 2020, **238**, 1-12. ISSN 01429612. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2020.119844.
74. ZENARO, E., G. PIACENTINO a G. CONSTANTIN. The blood-brain barrier in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Disease* [online]. 2017, **107**, 41-56. ISSN 09699961. DOI: 10.1016/j.nbd.2016.07.007.
75. ZENG, H., Y. QI, Z. ZHANG, et al. Nanomaterials toward the treatment of Alzheimer's disease: Recent advances and future trends. *Chinese Chemical Letters* [online]. 2021, **32**(6), 1857-1868. ISSN 10018417. DOI: 10.1016/j.cclet.2021.01.014.
76. ZHAO, L., A. J. GOTTESDIENER, M. PARMAR, et al. 387. Gene Delivery of APOE2 Reduces Amyloid Pathology in Transgenic Mouse Models of Alzheimer's Disease. *Molecular Therapy* [online]. 2015, **23**, 154. ISSN 15250016. DOI: 10.1016/S1525-0016(16)33996-X.