



VEŠKERÉ INFORMACE postupně degradují, stejně jako třeba pyramidy nebo další stavby, které byly postaveny, aby přetrvaly navěky. Zapomínat je nutné nejen pro zachování duševního zdraví, ani knihovny nejsou neomezené, bez ohledu na typ nosiče. Navíc podstatou hezkých příběhů je vypuštění nepodstatných detailů. A je jedno, jde-li o vědeckou teorii, historii nebo o individuální skazky, které si vyprávíme. Patologickým formám zapomínání však musíme čelit, jakkoli to není snadné.

Snímek Zdeněk Macháček, Unsplash

Potkání pomáhají při studiu Alzheimerovy nemoci

Co je původcem Alzheimerovy nemoci, je zatím stále nejasné. „Alzheimer“ tak zůstává jedním z největších strašáků lidstva. Odhaduje se, že globálně touto nemocí trpí 55 milionů lidí a že počet nemocných prudce stoupne.¹ Přestože se jejím výzkumem zabývají vědci mnoho desítek let, stále toho o ní nevíme dost a nedokážeme ji léčit. Vědci to však nevzdávají a výzkumu i nadále věnují obrovské úsilí, ať už etiologii nemoci, nebo její léčbě.

text **IVETA VOJTĚCHOVÁ**

Potkání pomáhají při studiu Alzheimerovy nemoci

„Alzheimer“ zůstává jedním z největších strašáků lidstva **624**

Aberantní sdružování proteinů

Nadějný cíl pro vývoj léků proti Alzheimerově chorobě **628**

Jak si pamatovat 10 000 fotek

Jak funguje naše paměť a jak ji zkoumáme **631**

Proč je špatná paměť dobrá

K čemu je dobré zapomínání a jakým způsobem probíhá **634**

Zapomenutá posvátná místa v české krajině

Domy mrtvých pod Řípem: nejstarší pohřební mohyly v Čechách **636**

ALZHEIMEROVA NEMOC se klinicky projevuje především nápadným zapomínáním (zejména osobních vzpomínek a zážitků, obr. 1) a neschopností zapamatovat si nové informace, přičemž toto poškození přesahuje rámec normálního fyziologického stárnutí (viz Vesmír 99, 42, 2020/1 a Vesmír 99, 230, 2020/4). Prudký pokles kognitivních funkcí přechází do demence, která je doprovázena i řadou přidružených symptomů (tab. I). Zároveň dochází k postupné atrofii mozku v důsledku umírání nervových buněk. Předpokládá se, že zásadní úlohu v něm hrají tři klíčoví hráči: peptid amyloid beta (A β) a jeho shluky (oligomery a extracelulární amyloidní plaky), hyperfosforylovaný protein tau a jeho akumulace do intracelulárních neurofibrilárních klubek a také neurozánět.

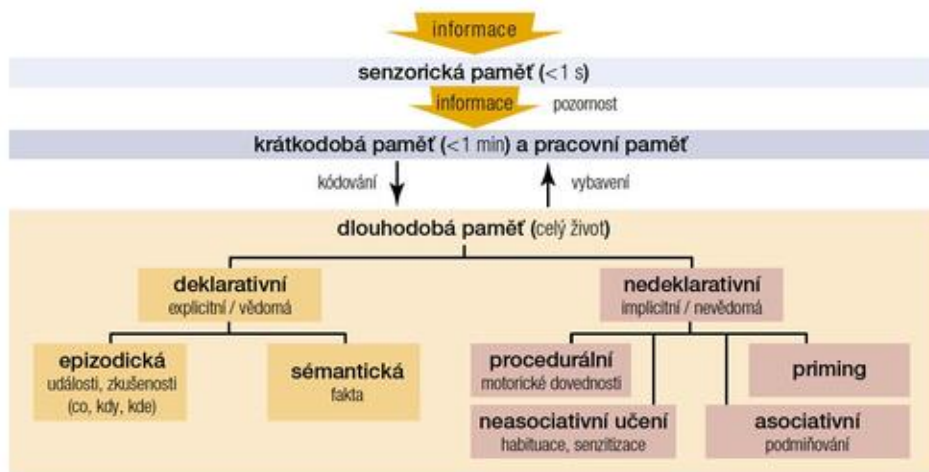
POTKAN MODELEM

Vědci se ve výzkumu (nejen) Alzheimerovy nemoci musí často spoléhat na zvířecí

modely, které nám mohou pomoci pochopit dílčí procesy figurující v rozvoji onemocnění, zejména ty, které nelze zkoumat přímo na pacientech. Nejčastěji jsou využíváni

RNDr. IVETA VOJTĚCHOVÁ, Ph.D., (*1989) vystudovala neurovědy na 1. lékařské fakultě UK. Působí v Národním ústavu duševního zdraví a ve Fyziologickém ústavu AV ČR v oddělení neurofyziologie paměti. Studuje animální modely neuropsychiatrických poruch, u nichž ji zajímají především změny v chování a hledání příčin a možnosti léčby.





1. TYPY PAMĚTI. U pacientů s Alzheimerovou nemocí je zpočátku typicky postižena dlouhodobá epizodická paměť pro osobní zážitky a zkušenosti (vlevo dole). Paměť sémantická, pracovní a nedeklarativní bývá naopak postižena až v pozdějších stádiích onemocnění.

laboratorní potkani a myši, kteří skýtají řadu praktických výhod.

Je ale potkan vhodným zvířetem pro modelování Alzheimerovy nemoci? Je i není. Potkan je zvíře chytré a učenlivé, což je užitečné pro sledování poruch paměti, zhoršené schopnosti učení nebo prostorové orientace. Rozvinuté má i jiné typy chování, včetně emocionálního a sociálního, což

můžeme využít pro hledání změn chování připomínajících přidružené symptomy Alzheimerovy nemoci (tab. I).

U potkana, podobně jako u myši, je sekvenční homologie amyloidního prekurzorového proteinu (APP), z nějž vzniká amyloid beta ($A\beta$), ve srovnání s lidským velmi vysoká. V rámci $A\beta$ sekvence se liší pouze ve třech aminokyselinách, které

ovšem zřejmě hrají zásadní roli v agregaci $A\beta$ a tvorbě plaků. U proteinu tau vytváří potkan, podobně jako člověk, 6 izoform; poměr dvou z nich se však mezi nimi liší. Myš jednu izoformu netvoří vůbec. Potkaní apolipoprotein E (APOE) vykazuje vysokou sekvenční homologii s lidskými proteiny APOE3 a APOE4. Přestože sekvence aminokyselin APOE u potkana více připomíná lidský APOE4, který podporuje agregaci amyloidu $A\beta$, jeho biofyzikální vlastnosti spíše odpovídají APOE3.

Přes relativně vysokou podobnost s lidmi způsobují výše zmíněné rozdíly, že se u těchto hlodavců spontánně nerozvíjejí dysfunkce odpovídající patologii Alzheimerovy nemoci. Musejí jim proto být navozeny uměle.

POMOC GENETICKÉ MANIPULACE

Oblíbenou metodou pro modelování Alzheimerovy nemoci je genetická manipulace. Myších modelů, založených na mutacích genů pro molekuly zapojené do procesu rozvoje Alzheimerovy nemoci, existuje nepřehledné množství [1]. Vyvinout transgenního potkana je ovšem časově i technicky náročnější, a proto je jejich výběr výrazně omezenější. Typicky se do jejich genomu vkládají geny pro lidský APP a presenilin, což je komponenta enzymu γ -sekretáza podílející se na vzniku $A\beta$ rozkladem APP. Tyto geny nesou autozomálně dominantní mutace, jež vedou ve svém důsledku k vyšší produkci $A\beta$.

Aby byl efekt jaksi zaručený, mutace se obvykle kombinují. Takovým příkladem je potkan **TgF344-AD** s kombinací mutací v APP a presenilinu, vzniklý na pozadí zrychleně stárnoucího kmene Fischer 344. Tento model nejenže vykazuje poškození paměti a v mozku má amyloidní shluky a známky neurozánětu, ale byla u něho navíc popsána také neurodegenerace a neurofibrilární klubka, což je u potkaních modelů Alzheimerovy nemoci poměrně vzácné. Urychlené stárnutí tohoto potkana je ovšem spojené také se slábnutím smyslu a nízkou pohyblivostí, což představuje podstatný problém pro testování kognitivních schopností s pomocí behaviorálních úloh, zejména v pokročilejším věku.

Zajímavý model je potkan nazvaný **McGill-RThy1-APP**, nesoucí ve svém genomu transgen lidského amyloidního prekurzorového proteinu APP se švédskou a indianskou² mutací (obr. 2), na jehož charakterizaci jsme se také podíleli [2]. U heterozygotů (nesou pouze jednu transgenní alelu) je kognitivní poškození i patologie amyloidu $A\beta$ obecně mírnější,

symptomy u pacientů	změny v chování u potkaních modelů
kognitivní změny	
zapomínání, narušená epizodická paměť neschopnost zapamatovat si nové informace dezorientace v prostoru a čase, zmatenost	poruchy učení a paměti v prostorových a rozpoznávacích úlohách
zhoršení exekutivních funkcí (plánování, organizace složitějších projevů, kontrola úkonů, flexibilita ap.)	snížená flexibilita (schopnost přeučení – přizpůsobení změně pravidel úlohy), deficit kognitivní koordinace
narušení pracovní paměti	poruchy pracovní paměti v prostorových a rozpoznávacích úlohách
deficit sémantické paměti	–
deficit pozornosti	viz výše (lze těžko odlišit od jiných kognitivních domén)
zhoršená olfaktorická paměť a čich obecně	poškozený čich a čichové rozpoznávání (může se projevit v rámci sociálních interakcí nebo v úlohách založených na rozpoznávání čichem; obecně se obtížně odlišuje od poškození jiných kognitivních domén)
neschopnost rozpoznávat osoby blízké, pečovatele ap.	neschopnost rozlišovat známé a neznámé jedince; méně anogenitálního očichávání při sociální interakci (obtížně odlišitelné od narušeného čichu)
nekognitivní změny	
emocionální změny (úzkost, deprese, apatie, agitace)	projevy podobné úzkosti či depresi; agresivní chování
nespavost, narušení cyklu spánku a bdění	narušení cirkadiálních rytmů
zhoršená komunikace, problematické verbální vyjadřování, snížená mezilidská interakce	nižší sociální kontakt při interakci s jiným jedincem; změny v komunikaci (ultrazvukové vokalizace)
narušená rovnováha a motorická koordinace (chůze, stabilita, jemná motorika, mluvení, polykání)	pomalejší chůze, pády z vyvýšených míst, problémy v úlohách cílených na motorickou koordinaci, příp. změny v ultrazvukové vokalizaci

Tab. I. SYMPTOMY POZOROVANÉ U PACIENTŮ s Alzheimerovou nemocí (vlevo) a analogické behaviorální změny u hlodavců, které se obvykle sledují u modelů tohoto onemocnění (vpravo).

1) Zdroj: <https://www.alzint.org/about/dementia-facts-figures/dementia-statistics>.

2) Podle Indiana University, kde byla objevena.

TRANSGENNÍ

potkan
McGill-RThy1-APP,
vzniklý na
genetickém
pozadí kmene
Nistar, v mozku
vytváří amyloid A β
a amyloidní plaky.
Disponuje jak
deficitem kognice,
tak několika
přidruženými
kognitivními
symptomy, čímž
dobře modeluje
familiální formu
Alzheimerovy
nemoci.



má pozvolnější nástup a plaky se netvoří vůbec. U homozygotů se začíná lidský A β akumulovat již týden po narození a mladá dospělá zvířata mají vyvinuté plaky. Závažné kognitivní postižení se ale objevuje ještě dříve, pouze za přítomnosti oligomerů. Proto je tento model použitelný ke studiu mírnějších i závažnějších forem patologie této nemoci. Slabinou modelu je fakt, že u něj dosud nebyla popsána tau patologie. Zato však, vedle poruch učení a paměti, vykazuje řadu nekognitivních symptomů, jako je úzkost, narušená motorická koordinace a rovnováha, změny v sociálním chování a komunikaci a také v cirkadiálním profilu. Mohl by proto sloužit k hledání terapie i na přidružené symptomy Alzheimerovy nemoci.

Ještě dál jdou tvůrci několika novějších modelů, kteří do mutovaného genu pro APP vkládají specificky lidskou sekvenci kódující A β (tzv. humanizovaný model). Potkani pak produkují stejný amyloid A β jako člověk a jeho exprese podléhá fyziologické regulaci, což znamená, že by měla reagovat na vnější vlivy stejně jako u člověka. Tím se liší od dřívějších modelů, u nichž dochází k nadměrné expresi A β nezávisle na vnějších podmínkách, jelikož je řízena hladavčími promotory. Studium takových modelů je ale teprve v počátcích.

DVĚ FORMY, JEDNA NEMOC

S transgenními myši a potkany je ovšem jedna zásadní potíž. Napodobují pouze dědičnou (familiální) formu Alzheimerovy nemoci, u níž známe příčiny - těmi jsou právě ty mutace genů, na jejichž základě transgenní modely vznikají. Jenže pacienti

s touto formou tvoří jen malé procento celkové populace trpící Alzheimerovou nemocí, zatímco transgenní zvířata naopak představují naprostou většinu dostupných modelů tohoto onemocnění. Drtivá většina (95 %) pacientů trpí sporadickou formou, jež nevykazuje vzorec mendelovské dědičnosti. Nejznámější genetický rizikový faktor u sporadické formy je přítomnost alely APOE4, která zřejmě oproti ostatním alelám (APOE2, APOE3) významně zhoršuje odstranění amyloidu A β a naopak podporuje jeho oligomerizaci. O příčinách sporadické formy se nicméně pouze spekuluje.

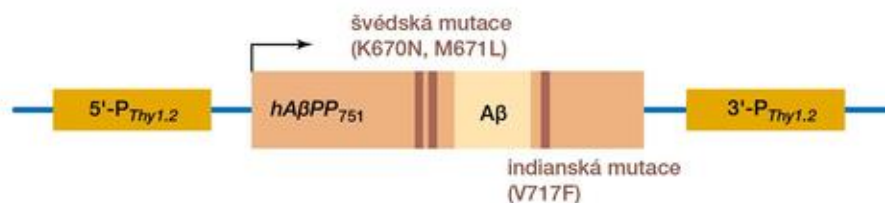
Nepoměr pacientů s jednou nebo druhou formou ale většinou není zohledňován v souvislosti se zvířecími modely. To může být zásadní vadou na kráse celého preklinického výzkumu Alzheimerovy nemoci a jedním z vysvětlení, proč přenos často slibných výsledků léčebných produktů z preklinických animálních studií do klinické praxe drtivě selhává.³

KDYŽ GENY NESTAČÍ

Jak z toho ven? Existují snahy napodobit u zvířat rizikové faktory negenetického původu, které by mohly spouštět sporadickou Alzheimerovu nemoc. To je ovšem běh

na dlouhou trať s nejistým výsledkem - protože o negenetických vlivech na rozvoj této nemoci se toho ví zatím extrémně málo, modely tak stále zůstávají ve stadiu hypotéz.

V poslední době vzrůstá zájem o dříve spíše opomíjenou **infekční hypotézu** vzniku Alzheimerovy nemoci [3]. Podle ní je spouštěčem zánět původně způsobený přítomností patogenů v mozku. Akumulace amyloidu A β nastává až jako důsledek boje s patogenem, a je tedy spíše mechanismem rozvoje nemoci než příčinou. A β je ve skutečnosti pro mozek nepostradatelný (není to tedy pouhý vedlejší produkt rozpadu APP, jak se dříve myslelo) a hraje řadu fyziologických rolí. Mezi nimi je to také antimikrobiální ochrana, kdy produkce, oligomerizace a fibrilizace A β reprezentuje vnitřní imunitní systém mozku zacílený proti patogenům. Alzheimerova nemoc je pak důsledkem jakési přemrštěné reakce organismu, kterou již nelze zastavit. Infekce herpes virem, některými bakteriemi nebo kvasinkami *Candida albicans* skutečně u hlodavců vyvolává akumulaci A β a další změny připomínající Alzheimerovu nemoc. Výzkum na těchto modelech je však spíše v počátcích.



2. TRANSGEN vložený do genomu potkana McGill-RThy1-APP. Pod transkripční kontrolou myšičího promotoru *Thy1.2* se exprimuje lidský amyloid prekurzorový protein (h β APP₇₅₁), který nese dvojitou švédskou a indiánskou mutaci.²

Podle hypotézy cerebrální glukodeprivace dochází u pacientů ke snížené spotřebě glukózy v mozku, která dokonce předchází tvorbu usazenin amyloidu A β a hyperfosforylovaného proteinu tau a objevuje se u obou forem Alzheimerovy nemoci. U laboratorních hlodavců se snížený metabolismus glukózy modeluje pomocí aplikace streptozotocinu do laterálních mozkových komor. Jde o látku pocházející z půdní bakterie *Streptomyces achromogenes*, která se při systémovém podání používá jako model diabetu připomínající diabetes 1. typu [4]. Streptozotocin je totiž selektivně toxický k β -buňkám pankreatu a po navázání na membránový glukózový transportér GLUT2 přivodí jejich smrt, což ve svém důsledku způsobí pokles hladiny inzulínu a následkem toho vzrůst hladiny glukózy v krvi. Transportér GLUT2 se však exprimuje také v nervových buňkách, a proto při aplikaci přímo do mozku (neprochází přes hematoencefalickou bariéru) zabíjí buňky, které jej exprimují. To vede ke snížené absorpci cerebrální glukózy s dalšími dopady, které se podobají projevům Alzheimerovy nemoci, jako je nárůst množství amyloidu A β a hyperfosforylovaného proteinu tau nebo kognitivní deficity.

Velkým tématem je také **hypotéza hromadění iontů kovů v mozku**. Proč kovy? Pozměněné hladiny biokovů, např. v meta-

„Otázka role hliníku v rozvoji Alzheimerovy nemoci stále není dořešená.“

loproteázách, narušují správné fungování enzymů, které jsou zodpovědné za štěpení APP, což následně vede k produkci A β . A β je sám o sobě metaloprotein s vysokou afinitou k iontům mědi (Cu²⁺), zinku (Zn²⁺) a železa (Fe³⁺), které po navázání na A β podpoří jeho agregaci. Komplexy A β s kovovým iontem navíc generují volné kyslíkové radikály způsobující oxidativní poškození neuronů s následnou smrtí.

Jedním z mála netransgenických potkaních modelů Alzheimerovy nemoci zahrnujících působení kovových iontů je Samaritan ratTM [5]. Společné chronické působení infuzí podaného A β , železných iontů a další prooxidativní substance u něj vede k ukládání A β v mozku, hyperfosforylaci tau, tvorbě plaků a neurofibrilárních klubek,

neurodegeneraci, oxidativnímu poškození, neurozánětu a deficitům paměti. Je však nutné poznamenat, že A β podaný samostatně či v kombinaci pouze se železnatými ionty u tohoto modelu nezpůsobuje amyloidní patologii ani deficit kognice. Vzájemné vztahy mezi substancemi jsou tak zřejmě mnohem složitější.

Z lehkých kovů je velká pozornost věnována iontům hliníku (Al³⁺). Hliník sice v organismu nezastává žádné známé fyziologické funkce, může se však projevovat škodlivě. Například potencuje prooxidativní vlastnosti železnatých iontů, čímž nepřímo zprostředkovává oxidativní poškození, a je také imunomodulátorem podporujícím zánětlivé procesy i bez přítomnosti infekčního agens. Hliník se nevyskytuje pouze v Humpolci (jak se tvrdí v jednom známém filmu), nýbrž je všudypřítomný, a organismus je mu proto vystaven ve velké míře. Najdeme ho v jídle, pitné vodě, kosmetice, antiperspirantech, lécích, ve vakcínách jako adjuvant k podpoře aktivace imunitního systému nebo v hliníkovém nádobí. Za normálních okolností však do organismu téměř neprochází, protože je jen minimálně vstřebáván trávicím traktem. Pokud se však dostane do krve, je schopen prostoupit skrze hematoencefalickou bariéru do mozku. Netransgeniční potkani, kteří chronicky požívali hliník nebo kterým byl systémově injikován, měli v mozku

zvýšený obsah A β a APP, hyperfosforylovaného proteinu tau, oxidativní poškození a projevovali narušenou kognici. U myši podobný experiment sice takové patologické projevy nevyvolal, transgeniční myši exprimující mutovaný lidský APP ovšem na hliník v potravě reagovaly zvýšeným množstvím A β a rychlejší tvorbou plaků. Otázka role hliníku v rozvoji Alzheimerovy nemoci stále není dořešená. Zdá se, že hliník asi nebude primární příčinou rozvoje nemoci, ale jeho přítomnost v mozku je spíše důsledkem jiných zdravotních komplikací, které vedou ke zvýšenému prostupu hliníkových iontů skrze stěvni sliznici nebo hematoencefalickou bariéru. Pro tento názor hovoří také nálezy vysokého obsahu hliníku v mozku pacientů s familiální formou, u nichž je primární příčina nemoci genetická.

Role těžkých kovů (olovo, rtuť, kadmium) a polokovů (arzen) v souvislosti s rozvojem Alzheimerovy nemoci je ještě méně jasná. V literatuře se diskutuje především jejich negativní působení zejména v prenatálním nebo časně postnatálním vývoji s latentním projevem ve vyšším věku. Tomu nasvědčují studie, v nichž badatelé podávali těžké kovy

březím a kojícím samicím myši a potkanů, u jejichž potomků se rozvinulo poškození paměti a vzrostlo množství APP, A β a zánětlivých cytokinů v mozku.

Existují ovšem i studie, které důležitost kovových iontů v rozvoji tohoto onemocnění nepotvrzují. Jejich úloha tak nadále zůstává kontroverzní a zanechávají mnoho nezodpovězených otázek.

(NE)POTŘEBA ZVÍŘAT VE STUDIU ALZHEIMEROVY NEMOCI

Alzheimerova nemoc je onemocnění komplexní a nejspíš multifaktoriální, různé hypotézy jeho vzniku se proto nemusejí vzájemně vylučovat. O to obtížnější je odhalení příčin. Počátek chorobného procesu může navíc předcházet klinickému projevu o dlouhé roky, ne-li desetiletí, což snižuje šanci, že jeho „prvotního hybatele“ přistihneme takřkajíc při činu. Zde by právě mohly pomoci zvířecí modely, kde je možné navodit nemoc kontrolovaným způsobem a sledovat její průběh, ačkoli je jasné, že model nikdy nemoc neodrazí úplně přesně. Dřívější studie kandidátních léků provedené na hlodavcích však byly spíše zklamáním, když se velká očekávání nepromítla do praktických úspěchů. A farmaceutické firmy hledající léčbu Alzheimerovy nemoci se začaly od zvířecích experimentů odvracet. Léky, které byly schváleny v posledních několika letech nebo se aktuálně nacházejí v pokročilých fázích klinického testování, se bez využití zvířecích modelů obešly. Trendem je působit již v počáteční fázi onemocnění nebo ve stadiu mírné kognitivní poruchy, kdy je větší šance chorobný proces zvrátit. Žádný z nových léků ale zřejmě necílí na skutečnou příčinu Alzheimerovy nemoci, „jen“ řeší její důsledky a zpomalují její postup. Je ovšem možné, že bez odhalení etiologie se nám skutečně účinný lék najít prostě nepodaří. A k tomu s největší pravděpodobností budeme myši a potkany, i s jejich nedostatky, nadále potřebovat. Nejspíš ale budeme muset změnit paradigma a namísto dosud převažujícího důrazu na genetické modely rozšířit záběr i na ostatní možné spouštěče a jejich roli ve vzniku tohoto stále záhadného onemocnění. ●

K dalšímu čtení...

- [1] E. Drummond, T. Wisniewski: Acta Neuropathologica, 2017, DOI: 10.1007/s00401-016-1662-x.
- [2] T. Petrasek et al.: Frontiers in aging neuroscience, DOI: 10.3389/fnagi.2018.00250.
- [3] I. Vojtechova et al.: PLoS pathogens, 2022, DOI: 10.1371/journal.ppat.1010929.
- [4] P. Grieb: Molecular neurobiology, 2016, DOI: 10.1007/s12035-015-9132-3.
- [5] L. Lecanu et al.: Pharmacology, 2006, DOI: 10.1159/000088929.

3) Familiální forma a sporadická forma Alzheimerovy nemoci se projevují podobnými symptomy, nicméně zásadně se liší ve věku propuknutí onemocnění, rychlosti progresu a především v zmiňovaných příčinách. K zamyšlení proto zůstává, zda by nebylo namístě rozlišení sporadické a familiální formy jako dvou různých onemocnění, která sice vedou k podobným projevům, avšak z odlišných příčin.