

**Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Biologie
Studijní obor: Biologie



Anna Šuláková

Role oxidativního stresu v etiologii Alzheimerovy choroby
The role of oxidative stress in etiology of Alzheimer's disease

Bakalářská práce

Vedoucí závěrečné práce: doc. RNDr. Jiří Novotný, DSc.

Praha, 2019

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 23.4.2019

Anna Šuláková

Poděkování:

Chtěla bych poděkovat doc. RNDr. Jířímu Novotnému, DSc. za jeho trpělivé vedení a připomínky. Dále bych chtěla vyjádřit dík své rodině a Martinovi za podporu.

Abstrakt

Oxidativní stres je výsledkem nerovnováhy mezi tvorbou reaktivních molekul kyslíku a schopností těla tyto volné radikály odbourávat. V důsledku této disbalance se v těle začnou hromadit škodlivé látky, především peroxidy a volné radikály a následně dochází k poškození proteinů, lipidů i DNA, které vede k celkové destrukci buněk a jejich zániku. Z tohoto důvodu se oxidativní stres podílí na vzniku mnoha závažných onemocnění mezi které patří ateroskleróza, mnoho typů rakoviny, srdeční selhání či neurodegenerativní onemocnění jako Parkinsonova choroba, roztroušená skleróza a Alzheimerova choroba.

Alzheimerova choroba je chronickým neurodegenerativním onemocněním jehož riziko vzniku se zvyšuje s věkem. Jedná se o zatím nevyléčitelné onemocnění, kterým trpí stále větší procento populace. Mezi časné projevy Alzheimerovy choroby patří dezorientace, ztráta krátkodobé paměti, výkyvy nálad a problémy s vyjádřením myšlenky. Příčiny vzniku ACH nebyly dosud zcela objasněny, spekuluje se však o významné roli tau-proteinů a β -amyloidních plaků, které se při progresi ACH vytváří. Významnou roli by též mohl hrát právě oxidativní stres, který by se mohl podílet na vzniku tohoto onemocnění. Tato práce se zaměřuje zejména na roli oxidativního stresu v patofyziologii a progresi ACH.

Klíčová slova: neurodegenerace, oxidativní stres, Alzheimerova choroba, volné radikály, tau-proteiny, β -amyloidy, centrální nervový systém

Abstract

Oxidative stress is the result of an imbalance between the formation of reactive oxygen species and the ability of the body to detoxify these free radicals. As a result of this disbalance, harmful substances, especially peroxides and free radicals, accumulate in the body, resulting in damage of proteins, lipids and DNA leading to total cell destruction and necrosis. For this reason, oxidative stress contributes to the development of many serious diseases including atherosclerosis, many types of cancer, heart failure or neurodegenerative diseases such as Parkinson's disease, multiple sclerosis and Alzheimer's disease.

Alzheimer's disease is a chronic neurodegenerative disease whose risk increases with age. It is an incurable disease affecting an ever increasing number of patient. Early AD symptoms include disorientation, loss of short-term memory, mood swings and problems with expression of thoughts. The causes of AD have not yet been fully clarified but there are speculations about importance of the role of tau-proteins and β -amyloid plaques that form in AD progression. Oxidative stress can also play an important role, and may participate in the development of this disease. This work focuses mainly on the role of oxidative stress in pathophysiology and progression of AD.

Key words: neurodegeneration, oxidative stress, Alzheimer's disease, free radicals, tau proteins, β -amyloids, central nervous system

Obsah

1	Seznam zkratk.....	1
2	Úvod.....	3
3	Oxidativní stres.....	4
3.1	Vznik a biochemické mechanismy vzniku oxidativního stresu	4
3.1.1	Volné radikály	4
3.2	Antioxidanty	6
3.2.1	Obranné mechanismy antioxidantů	6
3.3	Rozdělení antioxidantů.....	6
3.3.1	Enzymatické antioxidanty	7
3.3.2	Neenzymatické antioxidanty.....	7
3.4	Vliv oxidativního stresu na organismus	8
3.4.1	Citlivost nervových buněk na oxidativní stres	9
3.4.2	Role oxidativního stresu v neurodegenerativních onemocněních.....	9
4	Alzheimerova choroba.....	10
4.1	Historie Alzheimerovy choroby	10
4.2	Diagnostika, symptomy	11
4.2.1	Epidemiologie.....	12
4.3	Etiologie a rizikové faktory vzniku	13
4.3.1	β -Amyloidy	13
4.3.2	Neurofibrilární smotky	13
4.3.3	Genetické faktory	14
5	Oxidativní stres a Alzheimerova choroba.....	15
5.1	Důkazy oxidativního stresu u Alzheimerovy choroby	15
5.1.1	Mitochondrie a jejich dysfunkce	15
5.1.2	Glykoxidace	16
5.1.3	Oxidace proteinů.....	17
5.1.4	Oxidace lipidů	19
5.1.5	Oxidace DNA a RNA.....	20
5.1.6	Oxidace iontů přechodných kovů.....	20
5.2	Terapie ACH cílené na oxidativní stres	21
6	Závěr.....	23
7	Seznam použité literatury	24
7.1	Online zdroje:.....	35

1 Seznam zkratek

- (-COO•-) - peroxylový radikál
- AGEs - koncové produkty glykace (Advanced Glycation End-products)
- ACH - Alzheimerova choroba
- APOE - apolipoprotein E
- APP - amyloidní prekursorový protein
- ATP - adenosintrifosfát
- A β - amyloid beta
- Ca²⁺ - vápníkový ion
- Cu - měď
- CuZnSOD- zinečnato-měďnatá superoxid dismutáza
- Cys - cystein
- DNA - deoxyribonukleová kyselina
- EC-SOD – extracelulární superoxid dismutáza
- Fe – železo
- Fe²⁺ - železnatý kation
- FeS - sulfid železnatý
- GSH-Px – glutathion peroxidaáza
- GTPx - glutathion peroxidáza
- H₂O₂ - peroxid vodíku
- His - histidin
- HNE -4-hydroxyl-2-nonenal
- IchE - cholinesterázové inhibitory
- Lys - lysin
- MAPT - fosforylované tau proteiny
- MCI - mírný kognitivní deficit (Mild cognitive impairment)
- MDA - malondialdehyd
- mDNA - messenger DNA
- MnSOD - manganová superoxid dismutáza
- mRNA - messenger RNA
- mtDNA - mitochondriální DNA
- Na/K-ATPáza - sodnodraselná pumpa, aktivní přenašeč

NADPH - nikotinamidadeninukleotidfosfát
NFTs - neurofibrilární smotky (neurofibrillary tangles)
NO - oxid dusnatý
O₂•- - kyslíkový radikál
•OH - hydroxylový radikál
ONOO⁻ - peroxynitrit
OS - oxidační stres
PCH - Parkinsonova choroba
PSEN1 - preselin 1
PSEN2 - preselin 2
RNA - ribonukleová kyselina
RNS - reactive nitrogen species - reaktivní formy dusíku
ROO• - peroxylový radikál
ROS - reactive oxygen species - reaktivní formy kyslíku
RS - roztoušená skleróza
SODs - superoxid dismutázy
tRNA - transferová RNA
Zn - zinek
MMSE - test kognitivních funkcí (Mini-Mental State Examination)

2 Úvod

Oxidativní stres hraje důležitou roli v mnoha funkcích lidského těla. Vzniká důsledkem nerovnováhy mezi tvorbou reaktivních molekul a schopností těla tyto odpadní látky odbourávat. Z tohoto důvodu zastává většinou negativní funkci a je často považován za spouštěč mnoha závažných onemocnění. Přes své zpravidla negativní postavení ve vnitřní rovnováze organismu může mít i pozitivní roli a to především ve spojení s imunitním systémem, kdy volné radikály mohou pomáhat zneškodnit patogeny vnikající do těla a bránit tak organismus před infekcí.

Alzheimerova choroba je závažné neurodegenerativní onemocnění postihující zejména starší část populace a způsobující ztrátu paměti, dezorientaci, výkyvy nálad a především ztrátu schopnosti vykonávání obyčejných lidských funkcí, což vede k nesamostatnosti a neschopnosti se sám o sebe postarat a právě tato skutečnost činí z Alzheimerovy choroby onemocnění s vážným dopadem na společnost a kvalitu života. S rostoucí populací a prodlužováním délky života počet případů postižení ACH s každým rokem roste a věková hranice propuknutí tohoto onemocnění klesá, což dělá z Alzheimerovy choroby stále důležitější předmět pro výzkum.

Většina vědeckých studií se doposud soustředila na studium histopatologických změn, zejména pak interneurálních filament a na tvorbu senilních plaků. Z tohoto důvodu se jiné studie odehrávaly spíše v pozadí a dosud nebyla objasněna přesná příčina vzniku Alzheimerovy choroby. Až teprve v posledním desetiletí výzkum ukázal určitou spojitost mezi oxidativním stresem a vznikem a progresí tohoto onemocnění.

Tato práce byla napsána s cílem shrnout a zhodnotit poznatky o roli oxidativního stresu ve vzniku neurodegenerativních onemocnění a především pak ACH. První část je zaměřena na oxidativní stres, jeho úlohu v lidském těle a jiných onemocněních. Druhá část se věnuje samotné Alzheimerově chorobě a teoriím jejího vzniku. Závěrečná část klade důraz na roli oxidativního stresu právě při vzniku a progresi Alzheimerovy choroby a možnostem, jak se rozvinutí tohoto onemocnění bránit.

3 Oxidativní stres

3.1 Vznik a biochemické mechanismy vzniku oxidativního stresu

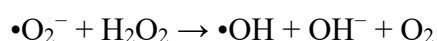
Oxidativní stres se během biochemických změn objevuje v každé buňce, která se podílí na metabolismu a byl definován Siesem a Jonesem jako výsledek nesouladu mezi nadměrnou tvorbou reaktivních forem kyslíku nebo dusíku (ROS, RNS) a omezené schopnosti antioxidantů tyto molekuly odbourat (Sies & Jones, 1985). Reaktivní sloučeniny mohou vznikat různými způsoby, ať už přirozeným fyziologickým procesem, nebo za působení nějakého externího zdroje (ozařování, vystavení ozonu, cigaretový kouř) (Bagchi et al., 1998). Hlavním vnitřním zdrojem oxidativního stresu jsou především mitochondrie, ve kterých vznikají reaktivní sloučeniny jako vedlejší produkt dýchacího řetězce a tvorby ATP.

3.1.1 Volné radikály

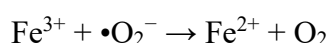
Volné radikály jsou atomy nebo molekuly disponující jedním nepárovým elektronem ve svém orbitalu. Přítomnost právě tohoto nepárového elektronu vede k určitým vlastnostem, které sdílí všechny volné radikály. Jedná se například o jejich vysokou reaktivitu, která je způsobena snahou o dosažení stabilnější elektronové konfigurace přijetím dalšího elektronu nebo vodíkového atomu (Cheeseman et al., 1993). Za nejznámější a nejvýznamnější skupinu mezi volnými radikály jsou považovány reaktivní formy kyslíku, označované také jako ROS, které vznikají v důsledku aktivity respiračního řetězce v mitochondriích. Mezi ROS patří superoxidový radikál ($\bullet\text{O}_2^-$), který je produktem redukce oxidu kyslíku při průběhu respiračního řetězce a při mnoha auto oxidačních reakcích. Tento radikál je schopen uvolňovat Fe^{2+} z FeS reakce a ferritinu. Při dismutáze vytváří molekuly peroxidu vodíku (H_2O_2), které sice nejsou přímo radikálem (nemají nepárový elektron), ale mezi reaktivní sloučeniny jsou řazeny (Sies et al., 1989). Peroxid vodíku je schopen projít přes buněčné membrány a v přítomnosti přechodných kovů z něj vzniká Fentonovou reakcí vysoce aktivní a toxický hydroxylový radikál ($\bullet\text{OH}$), který poté může napadat fosfolipidy, karbohydráty, metaloproteiny i DNA a způsobit tak závažné škody (Samoni et al., 1981).

Superoxidový radikál ($\bullet\text{O}_2^-$) můžeme chápat jako primární reaktivní sloučeninu schopnou velmi rychlé interakce s okolními molekulami a tvorby sekundárních reaktivních sloučenin. Oxidační poškození není primárně způsobeno superoxidovým radikálem, ale je

spíše výsledkem následné kaskády reakcí, které $\bullet\text{O}_2^-$ spouští. Jednou z těchto reakcí je tzv. Haber-Weissova reakce:



při které vzniká vysoce reaktivní hydroxylový radikál ($\bullet\text{OH}$). Jak bylo uvedeno výše, hydroxylový radikál je díky své vysoké reaktivitě schopen přímé oxidace lipidů, DNA, proteinů i uhlovodíkových řetězců (Sies, 1985). Superoxidový radikál dále zapříčiňuje redukci metaloproteinů, kterými je například ferritin:



Redukce železem vázaných proteinů je důležitou reakcí v biologických materiálech, dochází při ní totiž k Fentonově reakci, která též dává vzniknout hydroxylovému radikálu (Fenton, 1894).



Dalším z radikálů je oxid dusnatý (NO), který sice je volným radikálem, nepatří však mezi příliš reaktivní sloučeniny a s většinou molekul tak nereaguje. Oxid dusnatý je syntetizován z reakce L-argininu v mnoha buňkách, je schopen procházet skrz buněčné membrány a je důležitým mediátorem řady fyziologických procesů (Ignarro et al., 1987). Difúze skrz membrány je limitována kvůli rychlé reakci s oxyhemoglobinem. Z tohoto důvodu NO ovlivňuje převážně tkáň ve své bezprostřední blízkosti (Marletta, 1994).

Oxid dusnatý však velmi ochotně reaguje s molekulárním kyslíkem, superoxidem nebo přechodnými kovy. V reakci se superoxidem pak vzniká peroxyinitrit (ONOO^-), který hraje důležitou roli při oxidaci biomembrán, lipoproteinů a při hydrofobní biosyntéze. Dává též vzniknout dalším řetězovým reakcím včetně vzniku radikálů odvozených od lipidů (Bartesaghi et al., 2017). Bylo též prokázáno, že peroxyinitrit vystupuje jako nitrační činidlo, čímž podporuje adici nitroskupiny do aromatického nebo indolového cyklu v proteinech obsahujících tyrosin, tryptofan či fenylalanin (Ischiropoulos et al., 1992). Při zvýšené produkci volných radikálů a jejich následnému hromadění v těle dochází k napadení všech typů makromolekul: cukrů, lipidů, proteinů i DNA, což může vést k poškození buněk a tkání. Tvorba reaktivních sloučenin je však výsledkem oxidačního metabolismu, který probíhá ve všech

aerobních organismech. Právě z tohoto důvodu disponují tyto organismy zároveň velmi efektivním a komplexním systémem antioxidační ochrany (Halliwell et al., 1989).

3.2 Antioxidanty

Antioxidant byl Halliwellem definován jako: „jakákoliv látka která za přítomnosti v nízkých koncentracích v oxidovaném substrátu má za následek výrazné zpomalení nebo zastavení oxidace tohoto substrátu,” (Halliwell et al., 1995). Primární funkcí antioxidantů je tedy zabránit poškození buněk a tkání, ke kterému dochází při chemických reakcích obsahující volné radikály. Některé antioxidanty jsou produktem normálního fungování metabolismu a patří mezi ně glutathion, ubichinol nebo kyselina močová (Shi et al., 1999). Jiné antioxidanty je potřeba získat z potravy, jelikož si je tělo není schopné vytvořit. Jedná se především o vitamin E (α -tocopherol), C (kyselina askorbová) a B (betakaroten) (Levine et al., 1991).

3.2.1 Obranné mechanismy antioxidantů

Antioxidanty vyhledávají radikály, mohou být dárce elektronu, vodíku nebo mohou rozkládat peroxid vodíku. Fungují též jako inhibitory enzymů a jako kovová chelatační činidla. Vyskytují se jak uvnitř tak vně buňky, kde pomáhají detoxikovat ROS (Frie et al., 1988). Existují dva způsoby kterými antioxidanty mohou ničit volné radikály. Prvním z nich je přerušení oxidativního řetězce, kdy je antioxidant donorem elektronu a volný radikál jeho akceptorem. Jiným způsobem je inhibice enzymu RNA-polymerázy a tím zabránění iniciace genové exprese v případě napadení volnými radikály aby nedocházelo ke vzniku dalších ROS nebo RNS (Krinski, 1992).

3.3 Rozdělení antioxidantů

Antioxidanty můžeme rozdělit na dvě skupiny. Na enzymatické, které naše tělo dokáže vytvořit samo a neenzymatické, které musí přijímat z potravy.

3.3.1 Enzymatické antioxidanty

Hlavním enzymatickým antioxidantem je superoxid dismutáza (SODs). Jedná se o třídu dismutáz, které katalyzují rozpad superoxidového aniontu na kyslík a peroxid vodíku, který je dále rozkládán katalázou (Banniste et al., 1987). Enzymy SOD jsou přítomny ve všech aerobních buňkách a extracelulárních tekutinách.

Existují tři druhy superoxid dismutázy, které můžeme najít v lidském těle. SOD1 kam patří CuZnSOD (zinečnato-měďnatá superoxid dismutáza), kterou můžeme najít především v cytoplasmě a všech živočišných organelech (Liou et al., 1993). Dále SOD2 MnSOD (manganová superoxid dismutáza) je v mitochondriích, peroxizomech a většině ostatních buněk (Weisiger et al., 1973). Třetí typ, SOD3 je EC-SOD (extracelulární superoxid dismutáza), která obsahuje jak měďnaté, tak zinečnaté ionty a vyskytuje se především v extracelulární matrix. SOD2 A SOD3 se skládají ze čtyř podjednotek a jsou tedy tetramerem, zatímco SOD1 je dimer (Cao et al., 2008).

Kataláza je enzym, které je možno najít v každém živém organismu, který je vystavován působení kyslíku, velmi koncentrovaná je především v játrech a erythrocytech, dále pak v peroxizomech, které obsahují enzymy schopné generovat peroxid vodíku (Gaetani et al., 1996). Hlavním úkolem katalázy je rozkládat škodlivý peroxid vodíku na vodu a kyslík. Kataláza je tetramer složený ze čtyř identických monomerů z nichž každý obsahuje hemovou skupinu v aktivní formě a molekulu NADPH (Kirkman et al., 1999).

Glutathion peroxidáza (GTPx) je enzym obsahující čtyři seleniové kofaktory katalyzující rozklad peroxidu vodíku a organických hyperoxidů. Můžeme rozlišit čtyři různé GTPx v lidském těle (Brigelius-Flohe et al., 1999). Nejčastější je glutathionperoxidáza 1 figurující převážně jako likvidátor peroxidu vodíku, zatímco glutathionperoxidáza 4 je nejaktivnější s hydroperoxydy lipidů. Glutathion-S-transferázy vykazují vysokou aktivitu ve vztahu k lipidovým peroxidům. Tyto enzymy se hojně vyskytují v játrech a také mají svou funkci v detoxifikačním metabolismu (Hayes et al., 2005).

3.3.2 Neenzymatické antioxidanty

Vitamin C nebo též kyselina askorbová, je jedním z nejdůležitějších antioxidantů běžně rozpustných ve vodě. V lidském těle se chová jako esenciální kofaktor pro několik enzymů katalyzujících hydroxylové reakce. Nejčastěji poskytuje elektrony enzymům vyžadujícím

proestetické železnaté ionty v redukované formě, aby dosáhly plné enzymatické aktivity (Young et al., 2001). Kyselina askorbová je redukující agens a může proto redukovat a neutralizovat ROS jako je peroxid vodíku, superoxid, hydroxylový radikál nebo singletový kyslík (Pietri et al., 1994). S věkem se jeho přítomnost vitamínu C v plazmě snižuje (Bunker, 1992), což může zvyšovat riziko vzniku různých s věkem souvisejících onemocnění.

Vitamin E je souborný název pro osm různých tokoferolů a tokotrienolů, které se výrazně liší ve své biologické aktivitě. Jedná se o vitamíny rozpustné v tucích. Mezi nejdůležitější z nich patří především α -tocopherol, který je zároveň i nejvíce prostudovaným vitamínem z řady tokoferolů (Horwitt, 1991). Jelikož tokoferoly reagují rychleji s peroxily ($\text{ROO}\cdot$), než rozpustitelné mastné kyseliny, rozkládají řetězovou reakci lipidové peroxidace a chrání membrány před oxidační reakcí s lipidovými zbytky. Vitamin E může také mít strukturní funkci ve stabilizaci membrán (Urano et al., 1991). Ačkoliv není deficeience vitamínu E častá, jeho nedostatek může přispívat ke vzniku periferní neuropatie a jiných neurodegenerativních onemocnění (Sokol et al, 1988).

Betakaroten je dalším z vitamínů rozpustných v tucích. Jedná se o velmi efektivní antioxidant odstraňující singletový kyslík a účastnící se odstranění peroxylových radikálů. Jako takový hraje důležitou roli v zabraňování in vivo lipidové peroxidace (Chaudiere et al., 1999). Karotenoidy jsou schopné regulace transkripčních faktorů a ovlivňují apoptózu buněk (Niles, 2004).

Glutathion je peptid obsahující cysteinovou skupinu a vyskytuje se u většiny aerobních živočichů. Cysteinová skupina v sobě obsahuje thiolovou skupinu, která propůjčuje glutathionu jeho antioxidační schopnosti. Je syntetizován v buňkách z aminokyselin (Guoyao et al., 2004). Glutathion detoxifikuje peroxid vodíku a lipidové peroxidy přes glutathion peroxidázu (GSH-Px) a redukovaný glutathion je též donorem elektronu do membrány lipidů, čímž poskytuje ochranu před oxidativními útoky (Sastre et al., 1996).

3.4 Vliv oxidativního stresu na organismus

Oxidativní stres je výsledkem dysbalance mezi oxidanty a antioxidanty ve prospěch oxidantů potencionálně vedoucí k poškození buněk a tkání (Sies, 2000). Jako takový má vliv na zdravotní stav a je doprovodnou součástí mnoha chorob. Mezi ty patří například ateroskleróza, zánětlivé procesy, několik druhů rakoviny. Zvýšené oxidativní poškození je též

pozorováno v průběhu stárnutí (Ashok et al., 1999), které samo o sobě zvyšuje riziko projevu neurodegenerativních chorob jako je např. Alzheimerova choroba.

Jelikož byl v mnoha případech neurodegenerativních onemocnění pozorován zvýšený výskyt produktů lipidové peroxidace v plazmě, je možné se domnívat, že se oxidativní stres podílí na vzniku těchto onemocnění. Je nutno mít na paměti, že lipidová peroxidace je nevyhnutelnou součástí buněčné smrti a to za jakýchkoliv podmínek. V mnoha případech se tak u peroxidace jedná o sekundární fenomén a nemusí tedy nutně poukazovat na účast oxidativního stresu ve vzniku příslušného onemocnění (Young et al., 2001).

Mezi onemocnění u kterých můžeme s jistotou říct, že se na jeho propuknutí oxidační stres podílí, je ateroskleróza. Právě oxidované LDL partikule totiž hrají rozhodující roli při vzniku aterosklerotických plaků (Witztum et al., 1991).

3.4.1 Citlivost nervových buněk na oxidativní stres

Mozková tkáň je náchylnější k oxidativnímu poškození víc, než ostatní tkáně. Příčinou je zejména to, že mozková tkáň využívá jako svůj výhradní zdroj energii získanou z ATP, které je produkováno oxidací fosforylací a mozková tkáň spotřebovává asi 20% z celkové bazální spotřeby kyslíku (Moreira et al., 2010). Dalšími důvody náchylnosti k poškození jsou: využívání glukózy jako energetického substrátu, membrány nervových buněk bohaté na nenasycené mastné kyseliny snadno podléhající oxidaci, mozková tkáň obsahující vysoké množství kovových iontů vystupující jako katalyzátory a v neposlední řadě se v mozku nachází nižší množství antioxidantních enzymů než ve tkáních ostatních (Skoumalová et al., 2012). Všechny výše uvedené důvody jsou ještě podpořeny faktem, že neurony jsou postmitotické buňky, ve kterých se poškození hromadí po celý zbytek života. Právě tento fakt může vysvětlovat pozvolna progredující způsob onemocnění ACH a pravděpodobnost jejího propuknutí zvyšující se s věkem (Coyle, 1993).

3.4.2 Role oxidativního stresu v neurodegenerativních onemocněních

Neurodegenerativní onemocnění mají různé druhy symptomů, avšak všechny mají společnou změnu mitochondriální aktivity společně se zvýšeným výskytem oxidativního poškození. Dalšími společnými příznaky jsou přítomnost abnormálního uskupení proteinů,

zvýšený metabolismus železa a excitotoxicita. Všechny tyto změny mohou zapříčinit buněčnou smrt, nebo patofyziologické změny dalších buněk (Lin et al., 2006).

Role oxidativního stresu ve vzniku neurodegenerativních onemocnění zatím nebyla přímo potvrzena. Existuje však mnoho indikátorů toho, že by se na jejich vzniku a průběhu mohl podílet. Mezi nejzávažnější a nejmíc zkoumaná neurodegenerativní onemocnění patří Parkinsonova choroba, roztroušená skleróza nebo Alzheimerova choroba.

Parkinsonova choroba je progresivní neurodegenerativní onemocnění charakterizované ztrátou striatálních dopanergních neuronů a projevující se změnou v motorických i nemotorických funkcích (DeMaagd et al., 2015). Vznik a rozvoj Parkinsonovy choroby ještě stále není jasný. Mnoho studií však přineslo důkaz o tom, že se oxidativní stres účastní procesů při vzniku PCH, zatím však nebylo potvrzeno, zda jsou ROS primárním iniciátorem vzniku nebo jen následkem patologických změn (Berg, 2004).

Roztroušená skleróza je chronické autoimunitní onemocnění CNS projevující se demyelinizací axonů a jejich poškozením (Weinshenker, 1996).

4 Alzheimerova choroba

Alzheimerova choroba je s věkem související nevléčitelné neurodegenerativní onemocnění. ACH je zároveň nejčastějším typem demence. Demence je termín, který popisuje mnoho onemocnění a stav, který se vyvine pokud nervové buňky v mozku zemřou, nebo ztratí svou původní funkci. To má za následek změny v chování, paměti a ve schopnosti vyjádřit myšlenku. V konečném stádiu jsou ovlivněny i základní funkce lidského těla, jako je chození a přijímání potravy. Člověk postižený ACH není schopen vykonávat běžné denní úkoly a právě z tohoto důvodu má ACH nezměrný dopad na lidskou společnost (Alzheimer's Association, 2014).

4.1 Historie Alzheimerovy choroby

Ačkoliv se o existenci demence vědělo už mnohem dřív, Alzheimerova choroba byla poprvé popsána Aloisem Alzheimerem v roce 1907 na případu 51 leté ženy trpící rozsáhlou demencí, která vykazovala symptomy ztráty krátkodobé paměti a netypické chování. Po její

smrti došlo při pitvě k objevu senilních plaků a neurofibrilárních smotků, charakteristických pro ACH (Alzheimer et al., 1995).

4.2 Diagnostika, symptomy

Alzheimerova choroba je provázena řadou symptomů. K diagnostice tohoto onemocnění jsou používána standardizovaná kritéria vytvořená v roce 1984 (NINCDS-ADRDA)¹ a poupravená v roce 2011, společně s kritérii pro stanovení mentálních poruch (DSM-IV)². Zatímco v roce 1984 mohli být diagnostikováni pouze pacienti se závažnými problémy s učením, přemýšlením, či pamětí a prokazatelnými projevy demence, od roku 2011 byla ACH rozdělena na tři části a to na stádium preklinické, stádium mírného kognitivního deficitu (MCI) a fázi Alzheimerovy demence (Visser. et al., 2012). Díky tomuto rozdělení je možné stanovit diagnózu i pacientům v klinických studiích, kteří vykazují změny mozku, předcházející nástupu příznaků demence. Pokud pacienti vykazují příznaky nastupujícího MCI, který je považován za přechodnou fázi mezi stárnutím a ACH, je též možné je diagnostikovat. Ke stanovení závažnosti MCI se používá test kognitivních funkcí (MMSE). Z fyziologického hlediska při MCI není pozorován signifikantní nárůst senilních plaků a neurofibrilárních smotků (NFTs) (Price et al., 2009). Pod mírné kognitivní poškození spadají též problémy s učením, pamětí nebo přemýšlením. Výzkumy prováděné v posledních letech dokládají, že patologické procesy ACH začínají již roky před projevem prvních symptomů a nástupem demence (Alzheimer's disease facts and figures, 2018)³.

Alzheimerovu chorobu je možné hodnotit z několika hledisek. Můžeme ji rozdělit dle dědičnosti, na familiární ACH, která se vyskytuje zhruba ve 25% případů a je většinou zapříčiněna mutací v genech (Gatz et al., 2006) a sporadickou, která se vyskytuje u zbylých 75% případů. Vzhledem k tomu, že oba dva druhy mají stejné fenotypy i klinické projevy,

¹ Kritéria NINCDS-ADRDA byla navržena v roce 1984 Národním ústavem neurologických a komunikačních poruch a mozkových příhod a Alzheimerovskou asociací. Patří mezi nejpoužívanější kritéria v diagnostice Alzheimerovy choroby.

² Kritéria DSM-IV jsou součástí diagnostického a statistického manuálu duševních poruch a jedná se o čtvrtou revizi tohoto textu, který obsahuje všechny v současné době známé duševní poruchy a je používán odborníky k posouzení a popisu určité duševní poruchy a jejímu odlišení od poruch podobných.

³ Výroční zpráva vydaná Alzheimerovskou asociací (<https://www.alz.org/media/Documents/alzheimers-facts-and-figures-2019-r.pdf>).

jediný způsob jak zjistit o který typ se jedná, je znát rodinnou anamnézu nebo provést molekulárně genetické testy.

Další kritérium podle kterého můžeme dělit Alzheimerovu chorobu je podle jejího nástupu. Dělí se na ACH s časným nástupem (před 65 rokem života) a pozdním nástupem (po 65 roce) (Gao et al., 1998).

Symptomy Alzheimerovy choroby se mění s časem a progresí ACH a reflektují stupeň poškození neuronů v různých částech mozku. Mezi společné příznaky ACH patří: ztráta paměti, změny v plánování, potíže s plněním úkolů v práci nebo doma, zmatenost, potíže s porozuměním textu, potíže s vyjadřováním a další (Blennow et al., 2006). Můžeme rozlišit několik stádií. V raném stádiu je většina postižených schopna normálně fungovat, účastnit se různých aktivit, řídit nebo chodit do práce. Ve středním stádiu, které je povětšinou nejdelším stádiem, mají postižení problémy s vykonáváním rutinních úkolů, jsou zmatení ohledně toho kde jsou, začíná se u nich projevovat změny v chování a osobnosti. V pozdním stádiu postižení vyžadují asistenci při základních aktivitách jako je hygiena, oblékání, přijímání potravy a jejich schopnost komunikovat je velmi omezená. Kvůli poškození částí mozku zodpovědných za pohyb jsou pacienti často nuceni zůstat na lůžku, což vede k dalším problémům a vzniku přidružených onemocnění, jako jsou infekce kůže, tvorba krevních sraženin a zánětů, které mohou vyústit až v orgánové selhání (Alzheimer's disease facts and figures, 2018).

4.2.1 Epidemiologie

Jelikož jedním z rizikových faktorů vzniku ACH je věk, se vzrůstajícím věkem populace vzrůstá i počet případů ACH. Podle World Alzheimer Report 2015 (Prince et al., 2015), žilo s diagnostikovanou ACH v roce 2015 na celém světě 46.8 milionů lidí a tento počet se každých dvacet let zdvojnásobí. Za rok 2015 se objevilo 9.9 milionu nových případů ACH, což znamená, že každé 3.2 sekundy se vyskytne nový případ (Prince et al., 2015). To však není konečný počet, jelikož existuje množství jedinců s kognitivním deficitem, kteří nesplňují kritéria pro diagnostikování ACH avšak prokazatelně trpí poklesem kognitivních funkcí a mají problémy s učením a pamětí. Existují studie dokládající fakt, že u 40 % těchto jedinců dojde k vývoji ACH do tří let. Alzheimerova choroba je čtvrtou nejčastější příčinou úmrtí a též je příčinou 60-80% všech demencí (Jellinger, 2007).

4.3 Etiologie a rizikové faktory vzniku

Za hlavní znaky ACH se považují senilní plaky a neurofibrilární smotky (Selkoe, 1994). Senilní plaky se nejprve vytvářejí v oblastech mozku spojených s poznáváním a pamětí (hipokampus) a odtud se šíří dál do kortikálních částí, jak nemoc pokračuje. Senilní plaky jsou tvořeny amyloidními β -peptidy ($A\beta$), převážně pak β -amyloidy.

4.3.1 β -Amyloidy

β -Amyloidní plaky vznikají štěpením prekurzorového proteinu (APP), který se vyskytuje po celém těle a ve vyšších koncentracích je možné ho najít v neuronálních synapsích. Hlavní funkce APP zatím nebyla zcela objasněna, jednou z teorií však je, že se podílí na synaptické plasticitě (Barber, 2012). β a gama (γ) sekretázy štěpí APP a vzniklé fragmenty se shlukují dohromady a vytváří tak β -amyloidní plaky (Vassar et al., 1999). Stále ještě není jasné, zda jsou senilní plaky příčinou nebo vedlejším produktem ACH. V poslední době se však stále častěji vyskytují názory, že dysfunkce APP a následné zvýšení koncentrace nerozpustných $A\beta$ v mozkové tkáni je příčinou vzniku ACH. Existují dva způsoby, kterými $A\beta$ protein ovlivňuje neurony. Může buď působit svou toxicitou přímo na neuron, nebo může podpořit vznik zánětu či zvýšenou produkci volných radikálů následně vedoucí k poškození (Schachter & Davis, 2000). Široce zastávanou teorií patogeneze ACH je tzv. teorie amyloidní kaskády, která říká, že ukládání β -amyloidů v mozkové tkáni je iniciační událostí v patologii onemocnění (Karran et al., 2011). Tato hypotéza se opírá o názor, že onemocnění je důsledkem nerovnováhy mezi produkcí a degradací β -amyloidu, který je za normálních podmínek degradován peptidázami (Tanzi et al., 2005).

4.3.2 Neurofibrilární smotky

Dalším charakteristickým projevem ACH je akumulace neurofibrilárních smotků (NFTs), které jsou většinou tvořeny abnormálně složenými nebo fosforylovanými tau proteiny (MAPT). Tau proteiny jsou bílkoviny podílející se na tvorbě mikrotubulů a hrají důležitou roli v obraně proti jejich depolymerizaci (Drubin & Kirschner, 1986). Tau proteiny se vyskytují v různých iso formách, všechny jsou však schopny tvořit fibrilární smotky. Hyperfosforylace tau

proteinu vede k rozpadu mikrotubulů, což je příčinou poruchy axonálního transportu a též má za následek poškození synaptických spojů a neuronální funkce. Hyperfosforylované tau agregáty se dostávají do vláken, což způsobuje neschopnost vázat a stabilizovat mikrotubuly a dochází k tvorbě NFTs (Cook et al., 2012). Tau proteiny se v mozkové tkáni ukládají, tím pádem platí, že čím pokročilejší stádium ACH je, tím víc tau proteinů lze v mozkové tkáni nalézt.

4.3.3 Genetické faktory

Familiární Alzheimerova choroba nebo též raná forma ACH je autozomálně dominantní genetická porucha děděná mendelovským způsobem (Bateman et al., 2011). Tento druh byl asociován s mutacemi v APP, preselin 1 (PSEN1) a preselin 2 (PSEN2) genu (Tanzi, 2012). Forma s časným nástupem ACH spadá pod amyloid kaskádovou hypotézu kde mutace APP, PSEN1 a PSEN2 zvyšují produkci β -amyloidních plaků (Borchelt et al., 1996). ACH s pozdním nástupem je výsledkem součtu různých genetických i negenetických faktorů. Nejsilnějším známým genetickým rizikem je přenesení epsilon (ϵ 4) alely na apolipoprotein E (APOE) locus. Ve spojení s lipidy dává za vznik lipoproteinovým molekulám, které se podílejí na přenosu cholesterolu a jiných tuků a následný transport do krve (Barber, 2012). V patologii ACH hraje APOE důležitou roli při odstraňování β -amyloidu (Tanzi et al., 2005). Existují tři různé alely APOE a to ϵ 2, ϵ 3 a ϵ 4, tyto tři formy kódují různé iso formy proteinu lišící se aminokyselinovými zbytky. Genetické riziko rozvinutí ACH způsobené mutací v genu APOE-4 je odhadováno na 45% až 60%. APOE-4 sice nezpůsobuje zvyšováním produkce $A\beta$, ale značně podporuje kumulaci a usazování $A\beta$ proteinů a zároveň snižuje schopnost je odbourávat (Mooser et al., 2000). Jedinci s genem nacházejícím se na alele ϵ 2 mají naopak snížené riziko pro rozvoj onemocnění (Barber, 2012). Prozatím jedinými známými rizikovými faktory pro vznik ACH je věk a mutace v genu APOE-4. Některé poslední studie však poukazují na vliv oxidativního stresu, jako rizikového faktoru pro rozvinutí ACH.

5 Oxidativní stres a Alzheimerova choroba

5.1 Důkazy oxidativního stresu u Alzheimerovy choroby

Za normálních podmínek je hladina ROS relativně nízká díky rovnováze mezi jejich tvorbou a odbouráváním. ROS jsou většinou velmi reaktivní, nestabilní a vyznačují se krátkou dobou životnosti, kvůli které je nejde řádně změřit. Na druhou stranu oxidované produkty biomolekul tvořené ROS jsou stabilnější a jsou používány jako jejich markery. Přítomnost ROS mohou být také naměřeny nepřímo za pomoci měření hladiny antioxidantů a jejich enzymatické aktivity (Wang et al., 2013). U Alzheimerovy choroby je hned několik zdrojů o nichž se předpokládá, že by mohly hrát důležitou roli ve vzniku volných radikálů a mnoho studií dokazuje, že oxidativní stres zastává klíčovou roli ve vzniku ACH (Butterfield et al., 2010). Zvýšený oxidativní stres se objevuje již ze začátku ACH, což jenom podporuje teorii o jeho roli v patogenezi ACH (Wang et al., 2013). Zvýšený OS se často objevuje v kombinaci s přítomností A β plaků, které jsou spojovány se zvýšenou hladinou oxidačních produktů z proteinů, lipidů a nukleových kyselin u pacientů s ACH v hipokampu a kortexu (Butterfield et al., 2002). Mozkové oblasti s nižším výskytem A β plaků neobsahují tak vysoké koncentrace markerů oxidativního stresu (Hensley et al., 1995). U pacientů s rozvinutým MCI, byla též naměřena signifikantní oxidační nerovnováha především pak proteinová peroxidace a oxidační modifikace specifických proteinů v hipokampu, ve kterém se prvně objevují patologické změny ACH (Butterfield et al., 2006). Vzhledem k tomu, že u pacientů s MCI je velké riziko rozvinutí ACH a již tito pacienti prokazují oxidativní poškození, vše poukazuje na to, že oxidační nerovnováha se objevuje již v rané fázi ACH a je pravděpodobně jedním z hlavních spouštěčů patogeneze a progresu tohoto onemocnění.

5.1.1 Mitochondrie a jejich dysfunkce

Ačkoliv mozek zabírá pouze 2% tělesné hmotnosti, využívá něco okolo 20% celkové spotřeby kyslíku. Potřeba takového množství energie je dána především neurony které potřebují energii k pohonu iontového gradientu přes plazmatickou membránu. I krátká kyslíková nebo glukózová deprivace vede k buněčné smrti (Moreira et al., 2010). Právě mitochondrie jsou jedinečné orgány klíčové v mnoha buněčných funkcích, jako je například tvorba ATP a vychytávání a udržování homeostázy vápníku. Mitochondrie též rozhoduje o

přežití buňky nebo její programované smrti. Přes všechny tyto důležité funkce, je mitochondriální dýchací řetězec hlavním zdrojem ROS a mitochondrie samotné jsou náchylné vůči oxidativnímu stresu (Tan et al., 1998), např. při nadměrné absorpci Ca^{2+} (Hengartner et al., 2000). Několik nedávných studií ukázalo, že se mitochondriální dysfunkce podílí na patogenezi ACH, skrz tvorbu ROS (Zhao & Zhao, 2013). V porovnání s kontrolami stejného stáří byl u neuronů v oblasti hipokampu pacientů s ACH zjištěn zvýšený výskyt mitochondriálních a metabolických abnormalit. Stejně tak analýza biopsií z ACH mozku ukázala snížený počet mitochondrií v tkáni a zároveň zvýšenou přítomnost mtDNA a proteinů v cytoplazmě indikující autofágní mitochondriální degradaci. Všechny tyto mitochondriální abnormality byly doprovázeny oxidačním poškozením označeným 8-hydroxyguanosinem a nitrotyrosinem, což naznačuje, že mitochondrie byly poškozeny v rámci progresu ACH (Hirai et al., 2001). Společně s mitochondriálním poškozením bylo zaznamenáno významné snížení aktivity mitochondriální cytochrom oxidázy (komplex IV). Nedostatek tohoto elektron-transportního enzymu může mít za následek zvýšenou produkci ROS a přispívat tak k neurodegenerativním procesům (Mutisya et al., 1994). Dysfunkční mitochondrie jsou méně účinnými producenty ATP, zato však mnohonásobně výkonnější producenti ROS (Castellani et al., 2002). Dalším rizikovým faktorem je zvýšení sporadických mutací v mtDNA, mezi tyto mutace patří i delece 5kb mezi nukleotidy 8470 a 13447, které byly prokázány v mozku pacientů s ACH (Hirai et al., 2001). Několik mutací bylo dokonce v porovnání s kontrolami označeno za jedinečné pro ACH (Coskun et al., 2004). Analýza oxidovaných nukleosidů odhalila trojnásobné zvýšení oxidačního poškození v mtDNA u ACH pacientů, které může být příčinou zvýšených mutací a neschopnosti mitochondrie DNA opravovat (Coskun et al., 2010).

5.1.2 Glykoxidace

Monosacharidy mohou být oxidovány katalýzou přechodnými kovy za vzniku volných radikálů, peroxidu vodíku a reaktivních dekarbonylových sloučenin, které následně reagují s proteiny vytvořením kovalentních vazeb za vzniku koncových produktů glykace, tzv. AGEs, které se mohou projevovat jako neurotoxiny a molekuly podporující vznik zánětu (Gella & Durany, 2009). Glykace je neenzymatická reakce mezi redukujícími cukry jako je glukóza a mezi proteiny, lipidy nebo nukleovými kyselinami (Ahmed et al., 2005). Tvorba AGEs je komplikovaný molekulární proces zahrnující vícestupňové reakce. Během klasické Maillardovy reakce reagují elektrofilní karbonylové skupiny glukózy nebo jiných reaktivních

cukrů s volnými aminoskupinami aminokyselin (zejména zbytků alkalického lysinu nebo argininu), čímž vzniká nestálá Schiffova báze, která pak reaguje dále (Paul et al., 1996). Kaskáda reakcí má za následek tvorbu AGEs, které jsou složeny z ireverzibilně zesíťovaných heterogenních proteinových agregátů. Stále více důkazů ukazuje na to, že nerozpustnost A β plaků je způsobena právě rozsáhlým zesíťováním kovalentních proteinů (Smith et al., 1996). Kyslík, ROS a redoxně aktivní přechodné kovy urychlují tvorbu AGEs (Ahmed et al. 2005). Oxidativní poškození cukrů je úzce spojené s následným poškozením proteinů. AGEs mohou být nalezeny v patologických formacích, jako jsou amyloidní plaky a neurofibrilární smotky a tak AGEs zároveň vedou k neuropatologickým a biochemickým projevům ACH, jako je indukce gliálního oxidativního stresu a odumírání neurálních buněk. Ve spojení s oxidativním stresem zahajují pozitivní zpětnovazebnou smyčku, při které se normální změny mozku spojené s věkem přemění v patofyziologickou kaskádu (Srikhanth et al., 2011). Ačkoliv AGEs nejsou primární příčinou vzniku ACH, představují důležitou roli v nadměrné tvorbě a kumulaci amyloidu a následné tvorbě senilních plaků.

5.1.3 Oxidace proteinů

Vzhledem ke svému četnému zastoupení v organismu, jsou proteiny nejčastějším terčem oxidativního poškození a mohou být napadány na jakékoliv strukturní úrovni (Davies, 2016). Poškození proteinů může být následkem reakcí s reaktivními produkty primárního poškození nebo přímo s reaktivními sloučeninami. Tyto reakce poté vedou ke změně peptidových řetězců, jejich rozštěpení nebo zesíťování, kteréžto změny přispívají k tvorbě patofyziologických funkcí. Oxidace proteinů má za následek zavedení hydroxylových skupin nebo generování karbonylu na bázi proteinu. Ke karbonylaci vede hned několik oxidačních cest a karbonylové skupiny mohou být dále zavedeny do proteinů přímou oxidací lysinu, argininu nebo zbytků prolinu a threoninu. Karbonylové deriváty vznikají též oxidací lipidů nebo DNA, což vede k tvorbě protein vázaných karbonylů. Měřením karbonylace proteinu je považováno za dobrý způsob jak měřit rozsah oxidativního poškození (Korolainen et al., 2007). Některé oxidační změny činí proteiny špatně degradovatelnými a dochází tak k jejich následnému ukládání v buňkách nebo extracelulárním prostoru, které může vést až k buněčné smrti (Castro et al., 2019).

Alzheimerova choroba je charakterizována přítomností senilních plaků tvořených z A β a NFTs. Přestože akumulace A β proteinů je považována za stěžejní součást vzniku ACH, je

stále nejasné, zda je oxidativní stres spouštěčem produkce A β nebo následkem jeho ukládání v mozku. Jsou však zvažovány obě hypotézy. Stále častěji je probírána hypotéza podporující teorii, že OS je příčinou, nikoliv důsledkem vzniku A β . Některé z posledních studií dokládají, že se OS objevuje již v rané fázi vzniku ACH a dochází k jeho poklesu v momentě, kdy se A β začnou akumulovat (Nunomura et al., 2001) Další ze studií dokládají, že oxidativní stres indukuje nadměrnou expresi APP, který podporuje produkci A β . Nedávno byla vyslovena teorie, že vznik A β by mohl dokonce mít antioxidační účinek, především ve spojení s ionty kovů a zformoval se názor, že akumulace A β by mohla představovat buněčnou obranu proti OS a též hrát roli v udržování homeostázy iontů kovů. To vše i přesto, že akumulované A β vykazují znaky toxicity (Sinha et al., 2013). Teorií bylo vysloveno mnoho, zatím však stále není zřejmé, která z nich je správná. Nepopiratelnou skutečností však je, že oboje, jak vznik A β tak oxidativní stres, hraje důležitou roli ve vývoji ACH.

Stejně tak stále není jasné, zda formace NFTs hrají primární nebo okrajovou roli ve vzniku ACH. Množství NFTs však souvisí s odumíráním neuronů a progresí demence. Mnoho různých studií ukázalo, že odumírání neurálních buněk není zapříčiněno NFTs, ale je sprostředkováno oxidativním stresem, který aktivuje některé kinázy, což má za následek fosforylaci tau proteinu, která je spojována právě s NFTs (Lee et al., 2004). O tvorbě NFTs se též uvažuje jako o kompenzační odpovědi na oxidativní stres. Antioxidační role NFTs by mohla být způsobena schopností tvořit komplexy s volnými kovy. Zejména pak zinek a měď se váží na fosforylovaný tau protein, zatímco ionty železa interagují s NFTs (Liu et al., 2015).

Proteinů modifikovaných v rámci oxidačního poškození je mnoho. Může se jednat například o modifikace proteinových enzymů, jako jsou enolázy, triózafosfátizomerázy, akonitázy, ATP-syntázy a další, které se účastní energetického metabolismu v buňce a jejich modifikace vede k poruchám metabolismu cukrů. Vzhledem k tomu, že glukóza je hlavním zdrojem energie pro mozkové buňky, vedou tyto modifikace k nedostatečné tvorbě ATP, porušení buněčné homeostázy, zániku funkčních synapsí a poškození mozkových funkcí (Castegna et al., 2002).

Dalším z ovlivněných proteinů jsou cytoskeletální proteiny nezbytné pro uspořádání mozkových buněk. Oxidativní poškození těchto proteinů významně přispívá ke zkrácení dendritických výběžků, ztrátě synaptických spojení a degradaci strukturní integrity tkáně u pacientů s ACH (Spires et al., 2005). Jedním z modifikovaných proteinů, který se objevuje ve všech fázích ACH je enoláza. Enoláza se podílí na glykolýze a též hraje důležitou roli v aktivaci plasminogenu, který je přetvořen na plasmin, který cílí na destrukci A β . Mimo jiné enoláza

prostřednictvím genu c-myc aktivuje dráhy pro přežití a oxidativně dysfunkční enoláza by tedy mohla vést k tvorbě neurotoxických A β a ztrátě schopnosti přežití (Butterfield & Lange, 2009).

5.1.4 Oxidace lipidů

Vzhledem k tomu, že nasycené mastné kyseliny obsahují dvojně vazby a jsou hlavní složkou fosfolipidové dvojvrstvy nervových buněk, jsou právě lipidy dalším z potencionálních terčů oxidativního poškození. Velké množství výzkumů ukázalo, že peroxidace lipidů se vyskytuje ve zvýšené míře u pacientů s ACH (Wang et al., 2013). Peroxidace je proces, při kterém jsou lipidy napadány ROS skrz řetězovou reakci volných radikálů a generují peroxidované lipidické produkty. Lipoxidace nebo lipoperoxidace je radikálová řetězová reakce probíhající ve třech krocích, kterými jsou: iniciace, propagace a terminace. Ve fázi iniciace volný radikál extrahuje alylický vodík z methylové skupiny v acylovém řetězci, kde následně dojde k přeskupení dvojných vazeb do dienové formy a vzniku uhlíkového volného radikálu který reaguje s kyslíkem a dává za vznik peroxylovému radikálu (COO \cdot). Ve fázi propagace peroxylový radikál disponuje schopností odejmout další vodíkový radikál z jiné mastné kyseliny a tím přispět k propagaci řetězové reakce, která tvoří HNE nebo MDA (Sultana et al., 2012). Tyto sloučeniny mohou způsobit nevratné změny ve fosfolipidech, lipidech i DNA (Esterbauer et al., 1990). Terminace vede k reakci různých volných radikálů za vzniku stabilních produktů.

Nejvíce studovanými produkty lipidické peroxidace jsou reaktivní aldehydy jako je třeba malondialdehyd (MDA), 2-propenal, též zvaný akrolein a 4-hydroxynonenal (HNE). Zvýšené hladiny HNE, byly u ACH pacientů naměřeny v oblasti hipokampu (Lovell et al., 1995). Všechny tyto sloučeniny mohou figurovat jako druhý posel oxidativního poškození daleko od místa svého vzniku a to zejména díky své stabilitě.

MDA může v malém množství vznikat i jako vedlejší produkt během rozkladu nenasycených lipidů kyselinou arachidonovou. Při poškození tkáně však vzniká nadbytek MDA, který je nebezpečný zejména ve schopnosti reagovat s volnými aminokyselinovými konci proteinů, což vede k jejich modifikaci a změně funkcí (Sultana et al., 2012).

HNE je vysoce toxický reaktivní produkt peroxidace lipidů a je považován za sekundární mediátor radikálového poškození. Jedná se o α,β -nenasycený aldehyd vznikající z peroxidace ω -6 polynasycených mastných kyselin např. kyseliny linolové a arachidonové. Reaguje s lipidy i fosfolipidy a tvoří tzv. koncové produkty lipoxidace. HNE je vysoce

reaktivní a může se snadno navázat za pomoci Michaelovy adice na proteiny, především pak na zbytky Cys, His a Lys (Subramaniam et al., 1997). Působení HNE vede k mnoha patologickým reakcím a může též působit jako molekula indukující oxidativní stres. Ve své zvýšené míře může být příčinou narušení homeostázy iontů jako je Ca^{2+} , poškození Na/K ATPázy, může mít vliv na snížení transportu glukózy do buněk a taky vést k rozvoji patologických stavů (Butterfield et al., 2010). HNE je též prokazatelně toxický pro neurony a astrocyty a má podpůrnou funkci v zesíťování tau-proteinů (Montine et al., 1996). U pacientů s ACH byla detekována zvýšená míra lipoperoxidace oproti kontrolám zdravých lidí, což vede k závěru, že oxidační poškození lipidů je patologickým procesem, nikoliv důsledkem normálního fyziologického stárnutí.

5.1.5 Oxidace DNA a RNA

Jak DNA tak i RNA podléhají oxidačnímu poškození a mnoho studií dokázalo, že u pacientů s ACH se oxidativní poškození DNA/RNA objevuje ve zvýšené míře. Poškození je způsobeno především hydroxylovými radikály, může k němu dojít i kvůli jiným reaktivním sloučeninám, jako jsou kyslíkové nebo dusíkové radikály. Nejčastějším poškozením DNA jsou dvouvláknové zlomy DNA, nebo její zesíťování. Především právě zlomy v DNA byly u pacientů s ACH nalezeny v hipokampu a mozkové kůře (Anderson et al., 1996). RNA je jednovláknová ribonukleová kyselina, která postrádá vodíkové vazby a histony, které je možné nalézt u DNA. Z tohoto důvodu je ještě náchylnější k oxidačnímu poškození. U ACH byla hlášena spíše převažující oxidace cytoplazmatické RNA než nukleární DNA (Nonomura et al., 1999). Signifikantně vyšší hladiny oxidované rRNA nebo mRNA byly též popsány u pacientů s ACH (Shan et al., 2003). Nejčastěji používané oxidační markery DNA u ACH jsou 8-hydroxydeoxyguanosin a 8-hydroxyguanosin, který je produktem oxidace guaninu a ve zvýšené míře je možné je nalézt v temporálním, parietálním i frontálním laloku u pacientů s ACH (Gabbita et al., 1998).

5.1.6 Oxidace iontů přechodných kovů

Jako každá jiná tkáň i mozek obsahuje ionty kovů. Ve spojitosti s ACH se mluví především o vlivu Zn, Cu a Fe. Ionty železa, mědi a zinku se primárně vážou na proteiny ve

snaze kontrolovat jejich reaktivitu. Nejčasteji zastávají úlohu v metaloproteinech katalytického centra v místě přenosu elektronů. Zinek se ve vyšších koncentracích vyskytuje i v neproteinových vazebných formách, kde hraje roli posla (Cheignon et al., 2017). Stabilní hladina kovových iontů je důležitá pro správné fyziologické fungování mozku. Pokud je tato rovnováha porušena, vede k patologickým procesům. To je případ např. Wilsony nemoci, u které dochází k nadměrnému hromadění mědi v mozkové tkáni (Bandmann et al., 2015). U Alzheimerovy choroby bylo poskytnuto velké množství důkazů poukazující na nesprávnou regulaci kovových iontů. Velmi dobře zdokumentovanou skutečností je akumulace Cu, Zn a Fe v amyloidních placích (Ayton et al., 2014). Všechny tyto ionty přechodných kovů se váží na A β a urychlují jeho agregaci do nerozpustných sraženin, čímž je podpořen vznik senilních plaků. Zinek, navázaný na A β může bránit proteolitičkému štěpení a tím přispívat k degradaci matrixu mitochondrií. Cu i Fe indukují hyperfosforylaci tau proteinu a Zn modifikuje jeho konformaci čímž se podílí na jeho agregaci (Cristóvão et al., 2016). Ionty kovů hrají hlavní roli ve vzniku a zároveň i obraně proti oxidativnímu stresu. Cu a Fe jsou velmi účinnými katalyzátory tvorby ROS a mohou být za pomoci glutathionu redukovány na Cu (I) nebo Fe (II), kdy mohou reagovat s peroxidem za vzniku superoxidových a hydroxylových radikálů. Na druhou stranu stejné ionty kovů jsou součástí katalytického centra antioxidačních enzymů např. v SOD1 a přispívají tak k destabilizaci a destrukci volných radikálů (Halliwell, 2006). Poruchy metabolismu iontů kovů vedou k negativním efektům jako je porušení buněčného cyklu neuronů a následný zánětlivý proces vedoucí k buněčné apoptóze. Během zánětlivé imunologické odpovědi na přítomnost amyloidu dochází k porušení rovnovážných koncentrací zinečnatých iontů, což vede k prohloubení oxidativního stresu.

5.2 Terapie ACH cílené na oxidativní stres

Vzhledem k tomu, že ještě stále nebyla objasněna příčina Alzheimerovy choroby, je těžké vytvořit cílena terapeutika, která by vedla k pozitivním výsledkům její léčby. V dnešní době se proto používají léky, které pouze zmírňují symptomy a projevy nemoci. Mezi tyto léky patří tři cholinesterázové inhibitory (IChE), kterými jsou donepezil, rivastigmin a galantamin (Schneider et al., 2009). Na druhou stranu právě díky složitosti patofyziologie ACH a velkému množství faktorů podílejících se na jejím vzniku, je možné z těchto faktorů udělat potencionální cíle a v posledních letech se proto začaly vyvíjet víceúčelové terapie. Většinou se jedná o kombinaci cholinesterázových inhibitorů a terapií cílených na konkrétní problém,

např. A β , ionty kovů nebo oxidativní stres (Wang et al., 2006). Dosavadní terapeutické studie cílené především na zamezení vzniku a odbourání A β spíše selhávají (Cummins et al., 2016).

Jak už bylo zmíněno výše, společně s vytvořením teorie o podílu oxidativního stresu na vzniku a progresi ACH, se začaly provádět studie zaměřené na antioxidační terapie. Žádná z těchto studií však zatím nebyla schválena Úřadem pro kontrolu léčiv. Ačkoliv při pokusech na zvířatech vykazovala antioxidační terapie slibné výsledky, např. při vytvoření hybridu tacrinu a melatoninu (Rodríguez-Franco et al., 2006) nebo IChE v kombinaci s vitamínem C a E (Galasco et al., 2012), v případě klinických studií ve většině případů buďto selhala, nebo přinesla výsledky rozporuplné (Zhou et al., 2016). Například užívání vitamínu E přineslo pozitivní výsledky pouze u pacientů se střední až těžkou ACH (Sano et al., 1997), u pacientů s MCI (Petersen et al., 2005) nebo u pacientů nad 65 let (Kang, 2006) k žádné prokazatelné změně kognitivních funkcí nedošlo. U užívání vitamínu E ve vysokých dávkách se navíc prokázala jeho toxicita a zvýšená úmrtnost pacientů (Miller et al., 2005).

S přihlédnutím k tomu, že etiologie vzniku ACH ještě stále nebyla objasněna, je těžké vytvářet cílená terapeutika. Terapie zaměřující se na odbourání oxidativního stresu nejsou spolehlivé především proto, že způsobů, jakými oxidativní stres vzniká, je mnoho a dokud nebudou tyto způsoby a jejich širší souvislosti lépe objasněny, není patrně možné v použití antioxidačních terapií očekávat zásadní pokrok.

6 Závěr

Z mnoha dosud získaných vědeckých poznatků je zřejmé, že vliv oxidativního stresu na organismus je obrovský. Oxidativní stres může významně poškodit různé typy makromolekul a tím rozvrátit rovnováhu fyziologických funkcí všech typů buněk. Jako takový je velmi významným rizikovým faktorem vzniku neurodegenerativních onemocnění.

Alzheimerova choroba je fatální neurodegenerativní onemocnění se závažným dopadem na společnost. Se zvyšujícím se procentem stárnoucí populace můžeme předpokládat, že i procento lidí s Alzheimerovou chorobou bude v budoucnu stoupat a proto je důležité se ve výzkumu na toto onemocnění zaměřit. Patologické procesy probíhající při ACH jsou nepopíratelně provázeny oxidačním stresem. Ještě stále však není jasné, zda je oxidativní stres příčinou nebo pouhou reakcí na patologické změny, které se v mozku při ACH odehrávají. Samotná Alzheimerova choroba je nejvíce spojována s oxidativním poškozením lipidů a proteinů a oxidativní stres by mohl hrát důležitou roli především v časném stádiu ACH a to zejména proto, že už u pacientů s MCI byly ve zvýšené míře zjištěny markery oxidativního stresu. Ačkoliv vznik ACH nemá stále zřejmý původ, všechny studie se však shodují na faktu, že nadprodukce ROS je patologickým procesem, a že oxidativní stres se na vzniku a pozdější progresi ACH podílí.

7 Seznam použité literatury

- Ahmed, N. 2005. “Advanced Glycation Endproducts—Role in Pathology of Diabetic Complications.” *Diabetes Research and Clinical Practice* 67 (1): 3–21. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2004.09.004>.
- Anderson, Aj, Su, Jh, and Cotman, Cw. 1996. “DNA Damage and Apoptosis in Alzheimer’s Disease: Colocalization with c- Jun Immunoreactivity, Relationship to Brain Area, and Effect of Postmortem Delay.” *The Journal of Neuroscience* 16 (5): 1710–19. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.16-05-01710.1996>.
- Ashok, B. T, and Rashid, A. 1999. “The Aging Paradox: Free Radical Theory of Aging.” *Experimental Gerontology* 34 (3): 293–303. [https://doi.org/10.1016/S0531-5565\(99\)00005-4](https://doi.org/10.1016/S0531-5565(99)00005-4).
- Ayton, S., Lei, P., and Bush, A.I. 2015. “Biometals and Their Therapeutic Implications in Alzheimer’s Disease.” *Neurotherapeutics* 12 (1): 109–20. <https://doi.org/10.1007/s13311-014-0312-z>.
- Bandmann, O., Weiss, K.H. and Kaler, S.G. 2015. “Wilson’s Disease and Other Neurological Copper Disorders.” *The Lancet Neurology* 14 (1): 103–13. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(14\)70190-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70190-5).
- Bannister, J. V., Bannister, W. H. and Rotilio, G. 1987. “Aspects of the Structure, Function, and Applications of Superoxide Dismutase.” *CRC Critical Reviews in Biochemistry* 22 (2): 111–80.
- Barber, R. C. 2012. “The Genetics of Alzheimer’s Disease.” *Scientifica* 2012: 1–14. <https://doi.org/10.6064/2012/246210>.
- Bartesaghi, S., Herrera, D., Martinez, D.M, Petruk, A., Demicheli, V., Trujillo, M., Martí, M.A., Estrín, D.A. and Radi, R. 2017. “Tyrosine Oxidation and Nitration in Transmembrane Peptides Is Connected to Lipid Peroxidation.” *Archives of Biochemistry and Biophysics* 622 (May): 9–25. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2017.04.006>.
- Bateman, R. J., Aisen, P.S. Strooper, D.B., Fox C.N., Lemere C.A., Ringman, J.M., Salloway, S., Sperling, R.A., Windisch, M. and Xiong, CH. 2010. “Autosomal-Dominant Alzheimer’s Disease: A Review and Proposal for the Prevention of Alzheimer’s Disease.” *Alzheimer’s Research & Therapy* 3 (1): 1. <https://doi.org/10.1186/alzrt59>.
- Bitanhirwe, B. K. Y., and Tsung-Ung W. Woo. 2011. “Oxidative Stress in Schizophrenia: An Integrated Approach.” *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 35 (3): 878–93. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2010.10.008>.

- Blennow, K., Leon, M.J., and Zetterberg, H. 2006. "Alzheimer's Disease." *The Lancet* 368 (9533): 387–403. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)69113-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)69113-7).
- Borchelt, D. R., Thinakaran, G., Eckman, C. B., Lee, M. K., Davenport, F., Ratovitsky, T., Prada, C. M. et al. 1996. "Familial Alzheimer's Disease-Linked Presenilin 1 Variants Elevate Abeta1-42/1-40 Ratio in Vitro and in Vivo." *Neuron* 17 (5): 1005–13.
- Brigelius-Flohé, R. 1999. "Tissue-Specific Functions of Individual Glutathione Peroxidases." *Free Radical Biology and Medicine* 27 (9–10): 951–65. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(99\)00173-2](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(99)00173-2).
- Brigelius-Flohé, R., and Traber, M. G. 1999. "Vitamin E: Function and Metabolism." *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 13 (10): 1145–55.
- Bunker, V. W. 1992. "Free Radicals, Antioxidants and Ageing." *Medical Laboratory Sciences* 49 (4): 299–312.
- Butterfield, D. A., and Bader Lange, M.L. 2009. "Multifunctional Roles of Enolase in Alzheimer's Disease Brain: Beyond Altered Glucose Metabolism." *Journal of Neurochemistry* 111 (4): 915–33. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2009.06397.x>.
- Butterfield, D. A., and Lauderback, CH.M. 2002. "Lipid Peroxidation and Protein Oxidation in Alzheimer's Disease Brain: Potential Causes and Consequences Involving Amyloid Beta-Peptide-Associated Free Radical Oxidative Stress." *Free Radical Biology & Medicine* 32 (11): 1050–60.
- Butterfield, D. A., Bader Lange, M.L. and Sultana, R. 2010. "Involvements of the Lipid Peroxidation Product, HNE, in the Pathogenesis and Progression of Alzheimer's Disease☆." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids* 1801 (8): 924–29. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2010.02.005>.
- Butterfield, D. A., Fai Poon, H., St. Clair, D., Keller, J.N., Pierce, W.M., Klein, J.B. and Markesbery, W.R. 2006. "Redox Proteomics Identification of Oxidatively Modified Hippocampal Proteins in Mild Cognitive Impairment: Insights into the Development of Alzheimer's Disease." *Neurobiology of Disease* 22 (2): 223–32. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2005.11.002>.
- Cao, X., Antonyuk S.V., Seetharaman, S.V., Whitson, L.J., Taylor, A.B., Holloway, S.P., Strange, R.W. et al. 2008. "Structures of the G85R Variant of SOD1 in Familial Amyotrophic Lateral Sclerosis." *Journal of Biological Chemistry* 283 (23): 16169–77. <https://doi.org/10.1074/jbc.M801522200>.

- Castegna, A., Aksenov, M., Aksenova, M., Thongboonkerd, V., Klein, J.B., Pierce, W.M., Booze, R., Markesbery, W.R. and Butterfield, D.A. 2002. "Proteomic Identification of Oxidatively Modified Proteins in Alzheimer's Disease Brain. Part I: Creatine Kinase BB, Glutamine Synthase, and Ubiquitin Carboxy-Terminal Hydrolase L-1." *Free Radical Biology and Medicine* 33 (4): 562–71. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(02\)00914-0](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(02)00914-0).
- Castellani, R., Hirai, K., Aliev, G., Drew, K.L., Nunomura, A., Takeda, A., Cash, A.D., Obrenovich, M.E., Perry, G. and Smith, M.A. 2002. "Role of Mitochondrial Dysfunction in Alzheimer's Disease." *Journal of Neuroscience Research* 70 (3): 357–60. <https://doi.org/10.1002/jnr.10389>.
- Castro, J.P., Fernando, R., Reeg, S., Meinl, W., Almeida, H. and Grune, T. 2019. "Non-Enzymatic Cleavage of Hsp90 by Oxidative Stress Leads to Actin Aggregate Formation: A Novel Gain-of-Function Mechanism." *Redox Biology* 21 (February): 101108. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2019.101108>.
- Celik, V. K., Eken, I.E., Yildiz, G., Yilmaz, M.B., Gurlek, A. and Aydin, H. 2013. "Vitamin E and Antioxidant Activity; Its Role in Slow Coronary Flow." *Cardiovascular Journal Of Africa* 24 (9): 360–63. <https://doi.org/10.5830/CVJA-2013-076>.
- Cook, C., Gendron, T.F., Scheffel, K., Carlomagno, Y., Dunmore, J., DeTure, M. and Petrucelli, L. 2012. "Loss of HDAC6, a Novel CHIP Substrate, Alleviates Abnormal Tau Accumulation." *Human Molecular Genetics* 21 (13): 2936–45. <https://doi.org/10.1093/hmg/dds125>.
- Coskun, P. E., Beal, M. F. and Wallace, D. C. 2004. "Alzheimer's Brains Harbor Somatic MtDNA Control-Region Mutations That Suppress Mitochondrial Transcription and Replication." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 101 (29): 10726–31. <https://doi.org/10.1073/pnas.0403649101>.
- Coskun, P. E., Wyrembak, J., Derbereva, O., Melkonian, G., Doran, E., Lott, T.I., Head, E., Cotman, C.W. and Wallace, D.C. 2010. "Systemic Mitochondrial Dysfunction and the Etiology of Alzheimer's Disease and Down Syndrome Dementia." Edited by Xiongwei Zhu, M. Flint Beal, Xinglong Wang, George Perry, and Mark A. Smith. *Journal of Alzheimer's Disease* 20 (s2): S293–310. <https://doi.org/10.3233/JAD-2010-100351>.
- Coyle, J. T., and Puttfarcken, P. 1993. "Oxidative Stress, Glutamate, and Neurodegenerative Disorders." *Science (New York, N.Y.)* 262 (5134): 689–95.
- Cristóvão, J. S., Santos, R. and Gomes, C.M. 2016. "Metals and Neuronal Metal Binding Proteins Implicated in Alzheimer's Disease." *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2016: 1–13. <https://doi.org/10.1155/2016/9812178>.

- Cummings, J., Aisen, P.S., DuBois, B., Frölich, L., Jack, C.R., Jones, R.W., Morris, J.C., Raskin, J., Dowsett, S.A. and Scheltens, P. 2016. “Drug Development in Alzheimer’s Disease: The Path to 2025.” *Alzheimer’s Research & Therapy* 8 (1). <https://doi.org/10.1186/s13195-016-0207-9>.
- Davies, M. J. 2016. “Protein Oxidation and Peroxidation.” *Biochemical Journal* 473 (7): 805–25. <https://doi.org/10.1042/BJ20151227>.
- DeMaagd, G., and Philip, A. 2015. “Parkinson’s Disease and Its Management: Part 1: Disease Entity, Risk Factors, Pathophysiology, Clinical Presentation, and Diagnosis.” *P & T: A Peer-Reviewed Journal for Formulary Management* 40 (8): 504–32.
- Drubin, D. G., and Kirschner, M. W.. 1986. “Tau Protein Function in Living Cells.” *The Journal of Cell Biology* 103 (6 Pt 2): 2739–46.
- Esterbauer, H., and Cheeseman, K.H. 1990. “Determination of Aldehydic Lipid Peroxidation Products: Malonaldehyde and 4-Hydroxynonenal.” In *Methods in Enzymology*, 186:407–21. Elsevier. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(90\)86134-H](https://doi.org/10.1016/0076-6879(90)86134-H).
- Fenton, H. J. H. 1894. “LXXIII.—Oxidation of Tartaric Acid in Presence of Iron.” *J. Chem. Soc., Trans.* 65 (0): 899–910. <https://doi.org/10.1039/CT8946500899>.
- Frei, B., Stocker, R. and Ames, B. N. 1988. “Antioxidant Defenses and Lipid Peroxidation in Human Blood Plasma.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 85 (24): 9748–52.
- Gabbita, S. P., Lovell, M.A. and Markesbery, W.R. 2002. “Increased Nuclear DNA Oxidation in the Brain in Alzheimer’s Disease.” *Journal of Neurochemistry* 71 (5): 2034–40. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1998.71052034.x>.
- Gaetani, G. F., Ferraris, A. M., Rolfo, M., Mangerini, R., Arena, S. and Kirkman, H. N. 1996. “Predominant Role of Catalase in the Disposal of Hydrogen Peroxide within Human Erythrocytes.” *Blood* 87 (4): 1595–99.
- Galasko, D.R., Peskind, E., Clark, C.M., Quinn, J.F., Ringman, J.M., Jicha, G.A., Cotman, C., Cottrell, B., Montine, T.J., Thomas, R.G., Aisen, P. 2012. “Alzheimer’s Disease Cooperative Study, Antioxidants for Alzheimer disease: A randomized clinical trial with cerebrospinal fluid biomarker measures.” *Arch Neurol* 69, 836–841.
- Gao, S., H. C. Hendrie, K. S. Hall, and S. Hui. 1998. “The Relationships between Age, Sex, and the Incidence of Dementia and Alzheimer Disease: A Meta-Analysis.” *Archives of General Psychiatry* 55 (9): 809–15.

- Gatz, M., Reynolds, C.H., Fratiglioni, L., Johansson, B., Mortimer, J.A., Berg, S., Fiske, A. and Pedersen, N.L. 2006. "Role of Genes and Environments for Explaining Alzheimer Disease." *Archives of General Psychiatry* 63 (2): 168. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.63.2.168>.
- Halliwell, B. 2006a. "Oxidative Stress and Neurodegeneration: Where Are We Now?" *Journal of Neurochemistry* 97 (6): 1634–58. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2006.03907.x>.
- Halliwell, B. 2006b. "Reactive Species and Antioxidants. Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic Life." *Plant Physiology* 141 (2): 312–22. <https://doi.org/10.1104/pp.106.077073>.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J. M.. 1995. "The Definition and Measurement of Antioxidants in Biological Systems." *Free Radical Biology & Medicine* 18 (1): 125–26.
- Hayes, J. D., Flanagan, J. U. and Jowsey, I.R. 2005. "GLUTATHIONE TRANSFERASES." *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 45 (1): 51–88. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.45.120403.095857>.
- Hebert, L. E., Weuve, J., Scherr, P. A. and Evans, D. A. 2013. "Alzheimer Disease in the United States (2010-2050) Estimated Using the 2010 Census." *Neurology* 80 (19): 1778–83. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e31828726f5>.
- Hengartner, M. O. 2000. "The Biochemistry of Apoptosis." *Nature* 407 (6805): 770–76. <https://doi.org/10.1038/35037710>.
- Hensley, K., Hall, N., Subramaniam, R., Cole, P., Harris, M., Aksenov, M., Aksenova, M., Gabbita, S. P., Wu, J. F. and Carney, J. M. 1995. "Brain Regional Correspondence between Alzheimer's Disease Histopathology and Biomarkers of Protein Oxidation." *Journal of Neurochemistry* 65 (5): 2146–56.
- Hirai, K., Aliev, G., Nunomura, A., Fujioka, H., Russell, R. L., Atwood, C. S., Johnson, A. B., et al. 2001. "Mitochondrial Abnormalities in Alzheimer's Disease." *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 21 (9): 3017–23.
- Chaudière, J., and Ferrari-Iliou, R. 1999. "Intracellular Antioxidants: From Chemical to Biochemical Mechanisms." *Food and Chemical Toxicology* 37 (9–10): 949–62. [https://doi.org/10.1016/S0278-6915\(99\)00090-3](https://doi.org/10.1016/S0278-6915(99)00090-3).
- Cheeseman, K. H., and Slater, T. F. 1993. "An Introduction to Free Radical Biochemistry." *British Medical Bulletin* 49 (3): 481–93.
- Ignarro, L. J., Buga, G. M., Wood, K. S., Byrns, R. E. and Chaudhuri, G. 1987. "Endothelium-Derived Relaxing Factor Produced and Released from Artery and Vein Is Nitric Oxide." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 84 (24): 9265–69.

- Ischiropoulos, H., Zhu, L., Chen, J., Tsai, M., Martin, J.C., Smith, C.D. and Beckman, J.S. 1992. "Peroxynitrite-Mediated Tyrosine Nitration Catalyzed by Superoxide Dismutase." *Archives of Biochemistry and Biophysics* 298 (2): 431–37. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(92\)90431-U](https://doi.org/10.1016/0003-9861(92)90431-U).
- Jellinger, K. A. 2007. "The Enigma of Mixed Dementia." *Alzheimer's & Dementia* 3 (1): 40–53. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2006.09.002>.
- Kang, J.H.. 2006. "A Randomized Trial of Vitamin E Supplementation and Cognitive Function in Women." *Archives of Internal Medicine* 166 (22): 2462. <https://doi.org/10.1001/archinte.166.22.2462>.
- Karran, E., Mercken, M. and De Strooper, B. 2011. "The Amyloid Cascade Hypothesis for Alzheimer's Disease: An Appraisal for the Development of Therapeutics." *Nature Reviews Drug Discovery* 10 (9): 698–712. <https://doi.org/10.1038/nrd3505>.
- Kirkman, H. N., Rolfo, M., Ferraris, A. M. and Gaetani, G. F. 1999. "Mechanisms of Protection of Catalase by NADPH. Kinetics and Stoichiometry." *The Journal of Biological Chemistry* 274 (20): 13908–14.
- Korolainen, M. A., Nyman, T. A., Nyssonen, P., Hartikainen, E. S. and Pirttila, T. 2007. "Multiplexed Proteomic Analysis of Oxidation and Concentrations of Cerebrospinal Fluid Proteins in Alzheimer Disease." *Clinical Chemistry* 53 (4): 657–65. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2006.078014>.
- Krinsky, N. I. 1992. "Mechanism of Action of Biological Antioxidants." *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine (New York, N.Y.)* 200 (2): 248–54.
- Lee, G. 2004. "Phosphorylation of Tau by Fyn: Implications for Alzheimer's Disease." *Journal of Neuroscience* 24 (9): 2304–12. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4162-03.2004>.
- Levine, M. 1999. "Criteria and Recommendations for Vitamin C Intake." *JAMA* 281 (15): 1415. <https://doi.org/10.1001/jama.281.15.1415>.
- Lin, M. T., and Beal, M.F. 2006. "Mitochondrial Dysfunction and Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases." *Nature* 443 (7113): 787–95. <https://doi.org/10.1038/nature05292>.
- Liu, Z., Li, T., Li, P., Wei, N. Zhao, Z., Liang, H., Ji, X., Chen, W., Xue, M. and Wei, J. 2015. "The Ambiguous Relationship of Oxidative Stress, Tau Hyperphosphorylation, and Autophagy Dysfunction in Alzheimer's Disease." *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2015: 1–12. <https://doi.org/10.1155/2015/352723>.

- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A. and Chandra, N. 2010. "Free Radicals, Antioxidants and Functional Foods: Impact on Human Health." *Pharmacognosy Reviews* 4 (8): 118.
<https://doi.org/10.4103/0973-7847.70902>.
- Lovell, M. A., Ehmann, W. D., Butler, S. M. and Markesbery, W. R.. 1995. "Elevated Thiobarbituric Acid-Reactive Substances and Antioxidant Enzyme Activity in the Brain in Alzheimer's Disease." *Neurology* 45 (8): 1594–1601.
- Markesbery, W. R., and. Carney, J. M. 2006. "Oxidative Alterations in Alzheimer's Disease." *Brain Pathology* 9 (1): 133–46. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.1999.tb00215.x>.
- Marletta, M. A. 1994. "Nitric Oxide Synthase: Aspects Concerning Structure and Catalysis." *Cell* 78 (6): 927–30. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(94\)90268-2](https://doi.org/10.1016/0092-8674(94)90268-2).
- Mezzetti, A., Lapenna, D., Romano, F., Costantini, F., Pierdomenico, S.D., De Cesare, D., Cuccurullo, F. et al. 1996. "Systemic Oxidative Stress and Its Relationship with Age and Illness." *Journal of the American Geriatrics Society* 44 (7): 823–27.
<https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.1996.tb03741.x>.
- Miller, E.R., Pastor-Barriuso, R., Dalal, D., Riemersma, R.A., Appel, L.J. 2005. "Guallar E. Meta-Analysis: High-Dosage Vitamin E Supplementation May Increase All-Cause Mortality." *Ann Intern Med.* 142:37–46. doi: 10.7326/0003-4819-142-1-200501040-00110
- Montine, T. J., Amarnath, V., Martin, M. E., Strittmatter, W. J. and Graham, D. G. 1996. "E-4-Hydroxy-2-Nonenal Is Cytotoxic and Cross-Links Cytoskeletal Proteins in P19 Neuroglial Cultures." *The American Journal of Pathology* 148 (1): 89–93.
- Moreira, P. I., Cardoso, S. M., Santos, M. S. and Oliveira, C. R.. 2006. "The Key Role of Mitochondria in Alzheimer's Disease." *Journal of Alzheimer's Disease: JAD* 9 (2): 101–10.
- Moreira, P. I., Carvalho, C., Zhu, X., Smith, M.A. and Perry, G. 2010. "Mitochondrial Dysfunction Is a Trigger of Alzheimer's Disease Pathophysiology." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* 1802 (1): 2–10.
<https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2009.10.006>.
- Mutisya, E. M., Bowling, A. C. and Beal, M. F. 1994. "Cortical Cytochrome Oxidase Activity Is Reduced in Alzheimer's Disease." *Journal of Neurochemistry* 63 (6): 2179–84.
- Niles, R. M. 2004. "Signaling Pathways in Retinoid Chemoprevention and Treatment of Cancer." *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 555 (1–2): 97–105. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2004.05.020>.

- Nunomura, A., Perry, G., Aliev, G., Hirai, K., Takeda, A., Balraj, E.K., Jones, P.K. et al. 2001. "Oxidative Damage Is the Earliest Event in Alzheimer Disease." *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology* 60 (8): 759–67. <https://doi.org/10.1093/jnen/60.8.759>.
- Nunomura, A., Perry, G., Pappolla, M.A., Wade, R., Hirai, K., Chiba, S. and Smith, M.A. 1999. "RNA Oxidation Is a Prominent Feature of Vulnerable Neurons in Alzheimer's Disease." *The Journal of Neuroscience* 19 (6): 1959–64. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.19-06-01959.1999>.
- Paul, R. G. and Bailey, A. J.. 1996. "Glycation of Collagen: The Basis of Its Central Role in the Late Complications of Ageing and Diabetes." *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 28 (12): 1297–1310.
- Petersen, R. C., Thomas, R.G., Grundman, M., Bennett, D., Doody, R., Ferris, S., Galasko, D. et al. 2005. "Vitamin E and Donepezil for the Treatment of Mild Cognitive Impairment." *New England Journal of Medicine* 352 (23): 2379–88. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa050151>.
- Pham-Huy, L. A., He, H. and Pham-Huy, CH. 2008. "Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health." *International Journal of Biomedical Science: IJBS* 4 (2): 89–96.
- Pietri, S., Séguin, J.R., D'Arbigny, P. and Culcasi, M. 1994. "Ascorbyl Free Radical: A Noninvasive Marker of Oxidative Stress in Human Open-Heart Surgery." *Free Radical Biology and Medicine* 16 (4): 523–28. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(94\)90131-7](https://doi.org/10.1016/0891-5849(94)90131-7).
- Price, J. L., McKeel, D.W., Buckles, V.D., Roe, C.M., Xiong, CH., Grundman, M., Hansen, L.A. et al. 2009. "Neuropathology of Nondemented Aging: Presumptive Evidence for Preclinical Alzheimer Disease." *Neurobiology of Aging* 30 (7): 1026–36. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2009.04.002>.
- Prince, M., Ali, G.C., Guerchet, M., Prina, A.M., Albanese, E. and Wu, Y.T. 2016. "Recent Global Trends in the Prevalence and Incidence of Dementia, and Survival with Dementia." *Alzheimer's Research & Therapy* 8 (1): 23. <https://doi.org/10.1186/s13195-016-0188-8>.
- Rivas-Arancibia, S., Gallegos-Rios, C., Gomez-Crisostomo, N., Ferreira-Garciduenas, E., Flores, D., Navarro, L. and Rodriguez-Martinez, E. 2011. "Oxidative Stress and Neurodegenerative Disease." In *Neurodegenerative Diseases - Processes, Prevention, Protection and Monitoring*, edited by Raymond Chuen-Chung Chang. InTech. <https://doi.org/10.5772/28857>.
- Rodríguez-Franco, M.I., Fernández-Bachiller, M.I., Pérez, C., Hernández-Ledesma, B., Bartolomé, B. 2006. "Novel tacrine-melatonin hybrids as dual-acting drugs for Alzheimer disease, with improved acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant properties." *J. Med. Chem.* 49(2):459–462. doi: 10.1021/jm050746d.

- Samuni, A., Chevion, M., Czapski, G. 1981. Unusual copper induced sensitisation of the biological damage due to superoxide radicals. *JBio i Chem.*1; 256:12632-5
- Sano, M., Ernesto, CH., Thomas, R.G., Klauber, M.R., Schafer, K., Grundman, M., Woodbury, P. et al. 1997. "A Controlled Trial of Selegiline, Alpha-Tocopherol, or Both as Treatment for Alzheimer's Disease." *New England Journal of Medicine* 336 (17): 1216–22. <https://doi.org/10.1056/NEJM199704243361704>.
- Sastre, J. 2003. "The Role of Mitochondrial Oxidative Stress in Aging." *Free Radical Biology and Medicine* 35 (1): 1–8. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(03\)00184-9](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(03)00184-9).
- Selkoe, D. J. 1994. "Alzheimer's Disease: A Central Role for Amyloid." *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology* 53 (5): 438–47. <https://doi.org/10.1097/00005072-199409000-00003>.
- Shan, X., Tashiro, H. and Lin, CH.G. 2003. "The Identification and Characterization of Oxidized RNAs in Alzheimer's Disease." *The Journal of Neuroscience* 23 (12): 4913–21. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-12-04913.2003>.
- Shi, H., Noguchi, N. and Niki, E. 1999. "Comparative Study on Dynamics of Antioxidative Action of α -Tocopheryl Hydroquinone, Ubiquinol, and α -Tocopherol against Lipid Peroxidation." *Free Radical Biology and Medicine* 27 (3–4): 334–46. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(99\)00053-2](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(99)00053-2).
- Schachter, A. S., and Davis, K. L. 2000. "Alzheimer's Disease." *Dialogues in Clinical Neuroscience* 2 (2): 91–100.
- Schneider, L. S. and Sano, M. 2009. "Current Alzheimer's Disease Clinical Trials: Methods and Placebo Outcomes." *Alzheimer's & Dementia* 5 (5): 388–97. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2009.07.038>.
- Sies, H. 2000. "What Is Oxidative Stress?" In *Oxidative Stress and Vascular Disease*, edited by John F. Keane, 224:1–8. Boston, MA: Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-4649-8_1.
- Sies, H. 2014. *Oxidative Stress*. London: Elsevier Science. <http://qut.eblib.com.au/patron/FullRecord.aspx?p=1838103>.
- Sinha, M., Bhowmick, P., Banerjee, A. and Chakrabarti, S. 2013. "Antioxidant Role of Amyloid β Protein in Cell-Free and Biological Systems: Implication for the Pathogenesis of Alzheimer Disease." *Free Radical Biology & Medicine* 56 (March): 184–92. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2012.09.036>.

- Skoumalová, A. and Hort, J. 2012. “Blood Markers of Oxidative Stress in Alzheimer’s Disease.” *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 16 (10): 2291–2300. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2012.01585.x>.
- Smith, M. A., Perry, G., Richey, P. L., Sayrec, L. M., Anderson, V. E., Beal, M. F. and Kowall, N. 1996. “Oxidative Damage in Alzheimer’s.” *Nature* 382 (6587): 120–21. <https://doi.org/10.1038/382120b0>.
- Sokol, R. J. 1988. “Vitamin E Deficiency and Neurologic Disease.” *Annual Review of Nutrition* 8 (1): 351–73. <https://doi.org/10.1146/annurev.nu.08.070188.002031>.
- Solfrizzi, V., Panza, F., D’Introno, A., Colacicco, A. M., Capurso, C., Basile, A. M. and Capurso, A. 2002. “Lipoprotein(a), Apolipoprotein E Genotype, and Risk of Alzheimer’s Disease.” *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 72 (6): 732–36.
- Spires, T. L. 2005. “Dendritic Spine Abnormalities in Amyloid Precursor Protein Transgenic Mice Demonstrated by Gene Transfer and Intravital Multiphoton Microscopy.” *Journal of Neuroscience* 25 (31): 7278–87. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1879-05.2005>.
- Srikanth, V., Maczurek, A., Phan, T., Steele, M., Westcott, B., Juskiw, D. and Münch, G. 2011. “Advanced Glycation Endproducts and Their Receptor RAGE in Alzheimer’s Disease.” *Neurobiology of Aging* 32 (5): 763–77. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2009.04.016>.
- Stelzmann, R. A., Schnitzlein, H.N. and Murtagh, F.R. 1995. “An English Translation of Alzheimer’s 1907 Paper, Uber Eine Eigenartige Erkankung Der Hirnrinde?” *Clinical Anatomy* 8 (6): 429–31. <https://doi.org/10.1002/ca.980080612>.
- Subramaniam, R., Roediger, F., Jordan, B., Mattson, M.P., Keller, J.N., Waeg, G. and Butterfield, A.D. 2002. “The Lipid Peroxidation Product, 4-Hydroxy-2-Trans-Nonenal, Alters the Conformation of Cortical Synaptosomal Membrane Proteins.” *Journal of Neurochemistry* 69 (3): 1161–69. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1997.69031161.x>.
- Sultana, R., Perluigi, M. and Butterfield, A.D. 2013. “Lipid Peroxidation Triggers Neurodegeneration: A Redox Proteomics View into the Alzheimer Disease Brain.” *Free Radical Biology and Medicine* 62 (September): 157–69. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2012.09.027>.
- Tan, S., Sagara, Y., Liu, Y., Maher, P. and Schubert, D. 1998. “The Regulation of Reactive Oxygen Species Production during Programmed Cell Death.” *The Journal of Cell Biology* 141 (6): 1423–32.
- Tanzi, R. E. 2012. “The Genetics of Alzheimer Disease.” *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* 2 (10): a006296–a006296. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a006296>.

- Tanzi, R. E., and Bertram, L. 2005. "Twenty Years of the Alzheimer's Disease Amyloid Hypothesis: A Genetic Perspective." *Cell* 120 (4): 545–55.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.02.008>.
- Urano, S., Inomori, Y., Sugawara, T., Kato, Y., Kitahara, M., Hasegawa, Y., Matsuo, M. and Mukai, K.. 1992. "Vitamin E: Inhibition of Retinol-Induced Hemolysis and Membrane-Stabilizing Behavior." *The Journal of Biological Chemistry* 267 (26): 18365–70.
- Vassar, R. 1999. "Beta-Secretase Cleavage of Alzheimer's Amyloid Precursor Protein by the Transmembrane Aspartic Protease BACE." *Science* 286 (5440): 735–41.
<https://doi.org/10.1126/science.286.5440.735>.
- Visser, P.J., Vos, S., Rossum van, I. and Scheltens, P. 2012. "Comparison of International Working Group Criteria and National Institute on Aging–Alzheimer's Association Criteria for Alzheimer's Disease." *Alzheimer's & Dementia* 8 (6): 560–63.
<https://doi.org/10.1016/j.jalz.2011.10.008>.
- Wang, X., Wang, W., Li, L., Perry, G., Lee, H. and Zhu, X. 2014a. "Oxidative Stress and Mitochondrial Dysfunction in Alzheimer's Disease." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* 1842 (8): 1240–47. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2013.10.015>.
- Wang, X., Wang, W., Li, L., Perry, G., Lee, H. G., & Zhu, X. 2013. „Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease." *Biochimica et biophysica acta*, 1842(8), 1240-7.
- Wang, Y., Wang, H., & Chen, H. Z. 2016. "AChE Inhibition-based Multi-target-directed Ligands, a Novel Pharmacological Approach for the Symptomatic and Disease-modifying Therapy of Alzheimer's Disease." *Current neuropharmacology*, 14(4), 364–375.
 doi:10.2174/1570159X14666160119094820
- Weisiger, R. A. and Fridovich, I. 1973. "Mitochondrial Superoxide Simutase. Site of Synthesis and Intramitochondrial Localization." *The Journal of Biological Chemistry* 248 (13): 4793–96.
- Witztum, J. L. and Steinberg, D. 1991. "Role of Oxidized Low Density Lipoprotein in Atherogenesis." *The Journal of Clinical Investigation* 88 (6): 1785–92.
<https://doi.org/10.1172/JCI115499>.
- Wu, G., Fang, Y., Yang, S., Lupton, J.R. and Turner, N.D. 2004. "Glutathione Metabolism and Its Implications for Health." *The Journal of Nutrition* 134 (3): 489–92.
<https://doi.org/10.1093/jn/134.3.489>.
- Young, I. S. 2001. "Antioxidants in Health and Disease." *Journal of Clinical Pathology* 54 (3): 176–86. <https://doi.org/10.1136/jcp.54.3.176>.

Zhao, Y. and Zhao, B. 2013. "Oxidative Stress and the Pathogenesis of Alzheimer's Disease." *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2013: 1–10.
<https://doi.org/10.1155/2013/316523>.

Zhou, X., Li, Y., Shi, X. and Ma, CH. 2016. "An Overview on Therapeutics Attenuating Amyloid β Level in Alzheimer's Disease: Targeting Neurotransmission, Inflammation, Oxidative Stress and Enhanced Cholesterol Levels." *American Journal of Translational Research* 8 (2): 246–69.

7.1 Online zdroje:

Alzheimer's Disease Facts and Figures [online]. Washington: Alzheimer's Association, 2019 [cit. 2019-04-23]. Dostupné z: <https://www.alz.org/media/Documents/alzheimers-facts-and-figures-2019-r.pdf>