

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory
Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



Karolína Daňková

Signalizace řízená trimerními G proteiny v neurodegenerativních procesech
Trimeric G protein-regulated signaling in neurodegenerative processes

Bakalářská práce

Školitel: doc. RNDr. Jiří Novotný, DSc.

Praha, 2020

Poděkování a prohlášení

Ráda bych podělovala svému školiteli doc. RNDr. Jiřímu Novotnému, DSc. za konzultace a cenné rady, které mi při psaní této práce trpělivě poskytoval. Dále děkuji své rodině a přátelům za podporu dodávanou po celou dobu bakalářského studia.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem tuto závěrečnou bakalářskou 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 dne 10.8.2020

Podpis:

Abstrakt

Zástupci patřící do rozsáhlé rodiny G proteinů jsou, spolu s receptory s nimi spřaženými, zapojeni do mnoha transdukčních procesů, které buňka využívá k reakci na přijatý signál, a v závislosti na jejich přesné stavbě a funkci ovlivňují široké spektrum efektorových molekul. Bylo mnohokrát prokázáno, že četné neurodegenerativní choroby, které v současnosti představují díky stárnutí populace riziko pro čím dál větší skupinu obyvatelstva, negativně ovlivňují průběh G proteiny řízených signálních drah. Mezi pozorované důsledky patologického rozvoje těchto chorob patří zejména změny v zastoupení membránových receptorů či odpražení receptoru od G proteinu, které znemožňuje aktivaci G podjednotek. Nežádoucí inhibice či naopak nadměrná stimulace G proteinů vede k nárůstu nebo poklesu aktivity efektorů, což dále ovlivňuje produkci druhých posílů a činnost následných členů signální kaskády. Tyto alterace často v konečném důsledku vedou ke zvýšení intracelulární koncentrace Ca^{2+} iontů, které následně ovlivňují mj. receptory zodpovědné za excitotoxicitu a celkově přispívají k apoptóze a odumírání neuronální populace. Tato práce souhrnně pojednává o defektech signálních drah řízených trimerními G proteiny ve spojitosti s nejběžnějšími neurodegenerativními chorobami.

Klíčová slova:

GPCRs, G protein, signalizace, neurodegenerace, Alzheimerova choroba, Parkinsonova choroba, Huntingtonova choroba, amyotrofická laterální skleróza

Abstract

Members of the large family of G proteins and their coupled receptors are involved in a variety of transduction processes the cell uses to respond to a received signal. Depending on their specific structure and function, they influence a wide range of effector molecules. A large body of research has shown that many neurodegenerative diseases have a negative impact on the signal pathways controlled by G proteins. Due to ageing population, neurodegenerative diseases are currently imposing a risk for growing numbers of people. The sequelae observed in the pathological development of such diseases include especially changes in membrane receptors representation or receptor uncoupling from G protein, which inhibits G subunits activation. The undesirable inhibition or over-stimulation of G proteins results in the increase or decrease in effector activity, which subsequently impacts the production of second messengers and the activity of subsequent members of the signal cascade. As a result, these alterations lead to an increase in intracellular concentration of Ca²⁺ ions, which then influence receptors responsible for excitotoxicity, and contribute to apoptosis and necrosis of neuronal population. The thesis summarizes the defects of signalling pathways controlled by trimeric G proteins in association with the most common neurodegenerative diseases.

Key words:

GPCRs, G proteins, signalization, neurodegeneration, Alzheimer's disease, Parkinson's disease, Huntington's disease, amyotrophic lateral sclerosis

Seznam zkratek:

5-HT	5-hydroxytryptamin
AC	adenylátcykláza
AD	Alzheimerova choroba
ALS	amyotrofická laterální skleróza
APP	amyloidový prekurzorový protein
BDNF	mozkový neurotrofický faktor (brain-derived neurotrophic factor)
bvFTLD	behaviorální varianta frontotemporální demence
cAMP	cyklický adenosinmonofosfát
CM	cytoplazmatická membrána
CNS	centrální nervová soustava
CREB	cAMP vázající protein (cAMP response element binding protein)
DAG	1,2-diacylglycerol
ER	endoplazmatické retikulum
GAPs	GTPázu aktivující proteiny
GEFs	výměnné faktory guaninových nukleotidů (guanine nucleotide exchange factors)
GM	genetický modifikovaný
GPCRs	receptory spřažené s G proteiny (G protein-coupled receptors)
HAP1A	s HTT asociovaný protein 1A
HD	Huntingtonova choroba
HR	histidinový receptor
HTT	huntingtin
ChAT	cholinacetyltransferáza
IP ₃	inositoltrifosfát
InsP ₃ R	inositoltrifosfátový receptor
LTP	dlouhodobá potenciace (long-term potentiation)
MGlurS	metabotropní glutamátové receptory
MSN	středně velké ostnité neurony (medium spiny neurons)

PD	Parkinsonova choroba
PET	pozitronová emisní tomografie
PIP ₂	fosfatidylinositol
PKA	proteinkináza A
PKC	proteinkináza C
PLA	fosfolipáza A
PLC	fosfolipáza C
PS1	presenilin 1
WT	divoký typ (wild type)

Obsah

1 Úvod.....	1
2 Signalizace regulovaná GPCRs.....	2
2.1 Základní charakteristika GPCRs	2
2.1.1 Struktura GPCRs a systémy klasifikace	2
2.2 Základní charakteristika G proteinů	4
2.2.1 Heterotrimerní G proteiny – struktura a funkce.....	4
2.2.2 Cyklus aktivace a deaktivace heterotrimerních G proteinů	5
2.2.3 Příklady významných efektorů heterotrimerních G proteinů	7
2.3 Hlavní mediátorové systémy CNS	8
3 Neurodegenerace.....	11
3.1 Příklady nejběžnějších neurodegenerativních onemocnění.....	12
3.1.1 Alzheimerova choroba	12
3.1.2 Parkinsonova choroba.....	12
3.1.3 Huntingtonova choroba.....	13
3.1.4 Amyotrofická laterální skleróza	14
4 Signální dráhy GPCRs v kontextu nejznámějších neurodegenerativních chorob.....	16
4.1 Změny v signalizaci u pacientů s AD.....	16
4.1.1 Muskarinové acetylcholinové receptory a cholinergní dráha	16
4.1.2 Glutamátové receptory a glutamátergní dráha	17
4.1.3 Role dalších receptorů a jejich signálních drah	19
4.2 Změny v signalizaci u pacientů s PD.....	20
4.2.1 Dopaminové receptory a dopaminergní dráha.....	20
4.2.2 Serotoninové receptory a serotonergní dráha.....	21
4.2.3 Role dalších faktorů a signálních drah.....	21
4.3 Změny v signalizaci u pacientů s HD.....	23
4.3.1 Glutamátové receptory a glutamátergní dráha.....	23

4.3.2 Role dalších receptorů a signálních drah	24
4.4 Změny v signalizaci u pacientů s ALS	25
4.4.1 Glutamátové receptory a glutamátergní dráha	25
4.4.2 Role dalších receptorů a jejich signálních drah	26
5 Závěr.....	27
6 Seznam literatury.....	28

1 Úvod

Schopnost vysílání a přijímání signálu je základním předpokladem pro existenci mezibuněčné komunikace, která je, obzvláště u mnohobuněčných organismů, klíčová. Existují různé typy signálních drah, které mohou být pro přenos informace využity, přičemž G proteiny zprostředkovaná signalizace patří mezi ty nejrozšířenější. V rámci centrální nervové soustavy jsou skrze aktivaci metabotropního receptoru a přidruženého G proteinu zprostředkovávány reakce na výlev většiny hlavních neurotransmiterů.

G proteiny regulované systémy mohou, podobně jako jiné (např. metabolické) dráhy probíhající uvnitř buňky, podléhat rozličným negativně působícím změnám, jež moduluji jejich funkci. Příčinu těchto změn mohou představovat patologické děje, které doprovázejí vznik a vývoj neurodegenerativních chorob (ukládání defektních forem proteinu u tautopatií a synukleinopatií, pokles v produkci neurotransmiterů, apod.). Zasažené signální dráhy následně samy přispívají k rozvíjení neurodegeneračních procesů a, skrze stimulaci faktorů indukujících buněčnou smrt, způsobují mimo jiné odumírání neuronů, které je pro četné choroby CNS typické.

Detailní pochopení molekulárních mechanismů takto navozených odchylek je důležité zejména z pohledu terapeutického, jelikož umožňuje nasazení lépe cílené léčby pro pacienty trpící neurodegenerativními chorobami – v případě snížené funkce receptorů lze například progresi onemocnění zvrátit či zpomalit aplikací agonisty a naopak. Přesněji zaměřená farmaka navíc nabízejí, kromě vyšší míry účinnosti, menší riziko v podobě vyvolání nežádoucích vedlejších účinků.

První část mé práce je zaměřena na popis struktury a funkce metabotropních GPCRs receptorů a G proteinů, shrnuje také obecné principy jimi řízené signalizace. Druhá část stručně představuje nejrozšířenější neurodegenerativní choroby dnešní doby, jmenovitě Alzheimerovu chorobu, Parkinsonovu chorobu, Huntingtonovu chorobu a amyotrofickou laterální sklerózu. V posledním oddílu práce jsou pak prezentovány poznatky týkající se souvislosti mezi neurodegeneračními procesy a konkrétními změnami, které zasahují jednotlivé mediátorové systémy CNS.

2 Signalizace regulovaná GPCRs

2.1 Základní charakteristika GPCRs

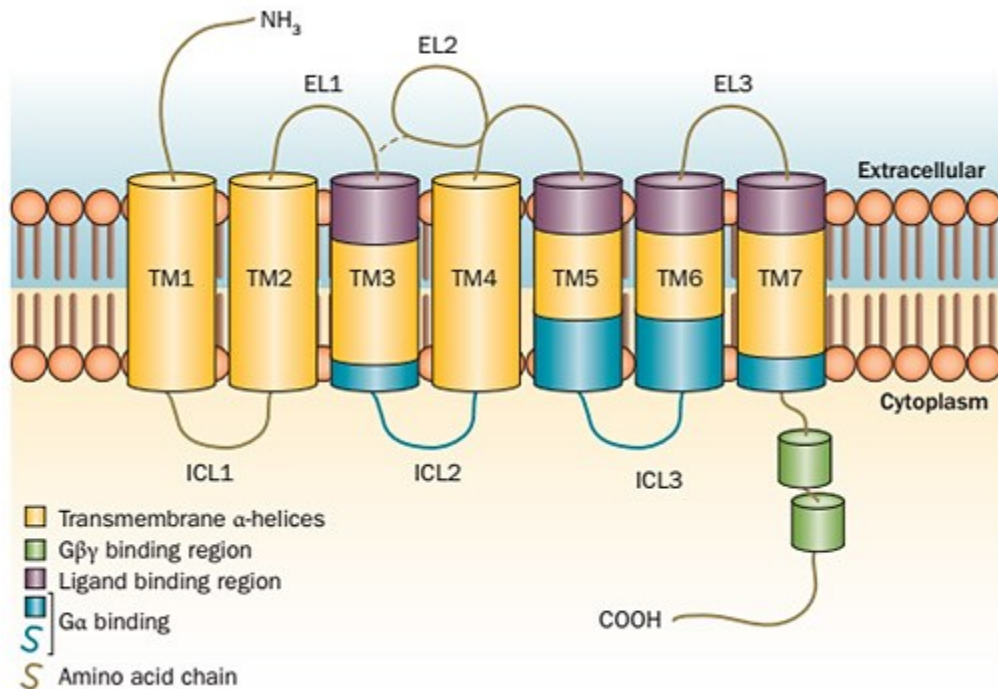
Receptory spřažené s G proteiny (zkráceně GPCRs), představují rodinu membránových proteinů, jejichž hlavním úkolem je příjem extracelulárních signálů, které jsou dále převáděny skrze aktivaci heterotrimerních G proteinů. V lidském genomu bylo identifikováno více než 800 sekvencí kódujících GPCRs a obecně se udává, že se jedná o na membránách nejčastěji zastoupený typ receptorů (Fredriksson *et al.*, 2003).

Signální molekulou rozpoznávanou receptorem mohou být neurotransmitery, peptidické hormony, proteiny, lipidové molekuly, ionty, odoranty i fotony (van Neuren *et al.*, 1999; Fredriksson *et al.*, 2005). Dalo by se tedy tvrdit, že se jedná o poměrně univerzální skupinu membránových receptorů, vezmeme-li v potaz, že její zástupci interagují s velkým množstvím strukturně odlišných signálních molekul (což ostatně pozitivně koreluje i s genovým zastoupením a četností výskytu). Signalizace vedená skrze GPCRs hraje významnou roli v mnoha fyziologických procesech, velké procento těchto receptorů tvoří klíčovou komponentu například v procesech recepce smyslových vjemů. I z tohoto důvodu se na potencionální léčebné využití GPCRs zaměřují četné farmakologické výzkumy (Chou, 2005). Jednotlivé GPCRs se mezi sebou vzájemně liší druhem ligandu, na který jsou schopny reagovat, což zajišťuje jejich specifitu.

2.1.1 Struktura GPCRs a systémy klasifikace

Rodinu GPCRs spojuje, navzdory své početnosti, podobný strukturní motiv, který se vyskytuje u všech receptorů spadajících do této skupiny. Hlavní doménu tvoří 7 transmembránových alfa helixů (značeny zkratkou TM a číslem 1-7), od kterých je odvozeno také jejich další užívané pojmenování 7TM receptory (angl. 7-transmembrane receptors). Helixy jsou propojeny šesti smyčkami (loops), jejichž délka a primární struktura se liší napříč konkrétními receptory. Pro značení těchto úseků platí následovné: tři smyčky směřující na extracelulární stranu nesou označení E1 až E3 (extracellular loops), tři smyčky na intracelulární straně se označují jako C1 až C3 (cytoplasmic loops). Cytoplazmatické smyčky zároveň tvoří G protein vazebnou doménu, prostřednictvím které receptor interaguje s trimerickými G proteiny. Celý

polypeptidový řetězec je svým N-koncem orientován ven z buňky, C-konec směřuje do cytoplazmy - viz grafické znázornění na obrázku 1 (Sakmar, 2002).



Obrázek 1: Struktura GPCR zakotveného v lipidové dvojvrstvě
Sedm transmembránových helixů TM1 – TM7, tři extracelulární EL smyčky, tři intracelulární ICL smyčky a N konec orientovaný ven z buňky. Modře jsou znázorněna místa tvořící vazebnou doménu pro interagující G α podjednotku, zeleně místa pro G $\beta\gamma$ a fialové je vazebné místo pro ligand.

Převzato z (Neumann *et al.*, 2014)

Co se týká klasifikace GPCRs, jeden z prvních široce užívaných systému představuje studie publikovaná v roce 1994 (Kolakowski, 1994), která receptory rozděluje na základě sekvenční podobnosti do šesti rodin označovaných písmeny A až F. Do rodiny A jsou řazeny receptory rodopsinového typu, zároveň se jedná o skupinu nejpočetnější. Do rodiny B spadají receptory sekretinového a kalcitoninového typu a do rodiny C metabotropní glutamátové receptory. Receptory z rodin D a E nebyly u savců popsány. Poslední rodina s označením F zahrnuje archebakteriální opsiny (Kolakowski, 1994, Fredriksson & Schiöth, 2006).

Novější systém klasifikace, publikovaný v roce 2003 a známý pod zkratkou GRAFS, je zaměřen pouze na ty GPCRs, které lze najít a zkoumat u lidí. Receptory byly na základě rozsáhlé fylogenetické analýzy rozřazeny do pěti hlavních rodin (Glutamate, Rhodopsine, Adhesion, Frizzled/taste2 a Secretin) dále dělených na menší podskupiny - například pod rhodopsinovou rodinu, jakožto pod rodinu největší, spadají 4 menší, dále se větvící oddíly

(Fredriksson *et al.*, 2003). Některé kategorie korelují s kategoriemi vymezenými ve studii z roku 1994.

2.2 Základní charakteristika G proteinů

G proteiny, v anglickém originále označovány souslovím „guanine nucleotide-binding proteins“, tedy proteiny vázající guaninové nukleotidy, patří do skupiny GTP hydroláz. V buňce je lze nalézt ve dvou stavech – ve stavu aktivovaném s navázaným GTP a inaktivovaném, který váže GDP. Přechody mezi těmito formami jsou umožněny jednak jejich vlastní GTPázovou aktivitou, jednak činností GPCRs a dalších pomocných faktorů, viz následující kapitola zabývající se cykly aktivace a deaktivace.

G proteiny se rozdělují na velké a malé, které se liší jak strukturní stavbou, tak mechanismy působení. Zástupci obou však tvoří významné komponenty signálních drah. První rodina, tak zvané heterotrimerní G proteiny, přejímá signál od aktivovaných GPCRs a šíří ho skrze interakce s dalšími členy signální kaskády. Druhou rodinu tvoří monomerní G proteiny, které, na rozdíl od skupiny předchozí, přímo neinteragují s GPCRs. Patří mezi ně například proteiny rodiny Ras a Rho, které spolupracují s tyrosin kinázovými receptory.

2.2.1 Heterotrimerní G proteiny – struktura a funkce

Molekula heterotrimerních proteinů se, jak lze odvodit z jejich názvu, skládá ze tří odlišných podjednotek, k jejichž značení se užívají řecká písmena α , β a γ . Každá podjednotka je v lidském genomu kódována skupinou genů pro ni charakteristických. Do současné doby bylo popsáno 16 genů kódujících různé podjednotky α , 5 genů pro podjednotky β a 12 genů pro podjednotky γ .

Hlavní katalytické centrum G proteinu, tedy místo, kde dochází k hydrolýze GTP, je součástí podjednotky α (tzv. G doména). $G\alpha$ jsou, dle jejich funkce a primární struktury, tříděny do čtyř hlavních rodin, jejichž podskupiny se navzájem navíc liší i místy nejčastějšího výskytu:

$G\alpha_s$ – stimulační podjednotky, zahrnují mimo jiné například podskupinu $G\alpha_{olf}$ řídící vnímání čichových vjemů

$G\alpha_i$ – inhibiční podjednotky, nejrozsáhlejší rodina, patří sem jak široce rozšířené typy podjednotek, tak více specifické podjednotky charakteristické pro nervovou tkáň ($G\alpha_z$, $G\alpha_o$)

$G\alpha_q$ – rodina obsahující podjednotky univerzální i podjednotky vyskytující se především ve vnitřních orgánech jako jsou plíce, játra a ledviny

$G\alpha_{12}$ – rodina obsahující široce rozšířené podjednotky exprimované ve většině tkání

Přehledné informace týkající se klasifikace a vlastností heterotrimerních G proteinů jsou shrnuty v práci (Syrovatkina et al., 2016).

Podjednotky β a γ tvoří, na rozdíl od $G\alpha$, společně pracující komplex $G\beta\gamma$, v jehož rámci není disociace jednotlivých podjednotek bez působení denaturačních činidel možná. Podjednotka γ nese prenylovou kotvu, která zprostředkovává vazbu celého komplexu na vnitřní stranu CM. Díky existenci různých typů β a γ podjednotek lze jejich kombinováním získat množství rozličných $G\beta\gamma$, které se částečně mohou lišit interakcí s efektory. Komplexu $G\beta\gamma$ byla v minulosti přisuzována hlavně role podpůrná, tedy regulace katalytické podjednotky α a její ukotvení v inaktivovaných G proteinech. Dnes je však známo množství signálních drah, kterých se $G\beta\gamma$ přímo účastní. Podílí se na řízení propustnosti draslíkových a vápníkových kanálů, aktivaci fosfolipázy C a adenylátcyklázy, desenzitizaci receptorů či na regulaci MAP kinázové dráhy (shrnuto v Clapham & Neer, 1997).

V případě, že se G protein nachází ve formě inaktivní (což je výchozí stav před stimulací skrze aktivované GPCRs), $G\alpha$ váže GDP a zůstává připojena ke komplexu $G\beta\gamma$. Při aktivaci zprostředkované zaktivovaným membránovým receptorem dochází k výměně GDP za GTP, díky čemuž zároveň klesá afinita $G\alpha$ k $G\beta\gamma$, což vede k disociaci $G\alpha$ od $G\beta\gamma$. Po skončení signalizace dochází k opětovnému spojení všech tří podjednotek a vazbě na receptor, čímž je klidový stav G proteinu obnoven a G protein připraven reagovat na nový impuls (Van Eps *et al.*, 2006).

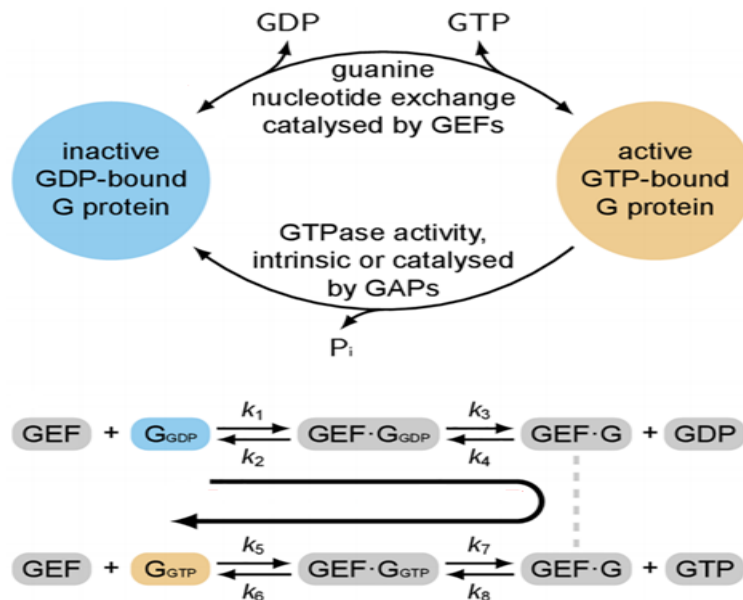
2.2.2 Cyklus aktivace a deaktivace heterotrimerních G proteinů

K aktivaci G proteinů, potažmo k výměně GDP za GTP, dochází za asistence výměnných faktorů guaninových nukleotidů (GEFs) (obr. 2). Díky nim je, skrze několika-krokovou reakci zahrnující tvorbu přechodných komplexů (viz schéma dále), GDP z $G\alpha\beta\gamma$ vyvázáno a nahrazenou GTP. V případě heterotrimerních G proteinů roli GEF zastává GPCR (Stanley and Thomas, 2016), u něhož je tato funkce podmíněna konformačními změnami, ke kterým v molekule receptoru dochází po navázání příslušného ligandu (ten indukuje vzájemné posuny transmembránových helixů doprovázeny přeskupením iontových interakcí). Specifitu vazby

mezi konkrétním GPCR a $G\alpha\beta\gamma$ determinuje C- koncová oblast řetězce $G\alpha$ (především pět posledních aminokyselinových zbytků), dále pak sekvence v transmembránových helixech TM6 a TM3 a primární struktura intracelulárních smyček C2 a C3 (Bourne, 1997).

Aktivovaný G protein prochází disociací, $G\alpha$ putuje cytolem ke svým efektorovým molekulám a indukuje tvorbu druhých posílů (viz další podkapitola). Komplex $G\beta\gamma$ rovněž interaguje se svými cílovými proteiny. Díky GTPázové aktivitě, kterou $G\alpha$ disponuje, prochází navázané GTP spontánní hydrolyzou na GDP a P_i . V důsledku toho je navozen přechod do inaktivního stavu následovaný reasociací všech tří podjednotek, což představuje samovolný mechanismus ukončení signalizace. Tento proces může být navíc urychlen činností regulačních proteinů, tzv. GTPase-activating proteins (GAPs), které stimuluji hydrolytickou doménu $G\alpha$ podjednotky, čímž dochází ke zkrácení doby, po kterou je aktivovaný G protein schopen interagovat s efekty (shrnutí v Dohlman & Thorner, 1997).

S ukončením signalační kaskády souvisí i samotné GPCRs, jejichž funkce bývá ke konci signalačního procesu zpravidla tlumena tak, aby nedocházelo k přehlcení a nadměrným reakcím na podnět. Jedním z možných mechanismů, které k této regulaci slouží, je internalizace receptorů. Té se účastní adaptorové proteiny β -arrestiny, které se mohou vázat na intracelulární část receptoru a zprostředkovat klatrin-dependentní endocytózu, jejíž výsledkem je snížení zastoupení GPCRs na CM (Retamal *et al.*, 2019).



Obrázek 2: Schéma znázorňující roli GEF při aktivaci G proteinu.

Inaktivní G protein vázající GDP v procesu aktivace tvoří s GEF přechodný komplex, GDP je následně vyvázáno a nahrazeno GTP. Reakce probíhá skrze několik mezikroků.

Převzato a upraveno (Stanley and Thomas, 2016)

Kromě internalizace lze míru odpovědi snížit i desenzitizací neboli snížením citlivosti, čehož bývá nejčastěji dosaženo skrze fosforylaci receptoru, jejíž výsledkem je inhibice interakce mezi GPCRs a $G\alpha\beta\gamma$ (tedy nemožnost aktivace G proteinu). Fosforylaci mohou provádět efektorové kinázy G proteinů (PKA a PKC, nebo GPCR kinázy což představuje mechanismus negativní zpětné vazby). Desenzitizované a internalizované receptory mohou procházet recyklací, po které jsou znovu schopny přijímat signál (Tománková and Mysliveček, 2012).

2.2.3 Příklady významných efektorů heterotrimerních G proteinů

Adenylátcykláza

Jako adenylátcyklázy jsou označovány enzymy katalyzující přeměnu ATP na cyklické AMP, zkráceně cAMP. To může například, jakožto druhý posel, aktivovat cAMP dependentní proteinkinázu A, která skrze fosforylace následně reguluje široké spektrum cílových proteinů. V závislosti na tom, jaký typ $G\alpha$ s adenylátcyklázou interaguje, dochází buď ke stimulaci (v případě, že se jedná o $G\alpha_s$), nebo naopak k inhibici ($G\alpha_i$) funkce adenylátcyklázy. Oba procesy jsou koordinovány komplexními mechanismy zpětnovazebné regulace, v rámci kterých dochází ke snižování či zvyšování hladiny genové exprese odpovídajících $G\alpha$ (Hadcocks *et al.*, 1990).

Fosfolipáza C β (PLC β)

Enzymy spadající do rodiny fosfolipáz C jsou obecně dle sekvenční shody a aktivačních mechanismů tříděny do tří hlavních skupin značených písmeny β , γ a δ , přičemž právě aktivace PLC β je spřažena s činností heterotrimerních G proteinů. Jednotlivé izoenzymy se dále vzájemně liší tím, zda jsou aktivovány za využití $G\alpha$ podjednotek či $G\beta\gamma$ komplexů (viz práce Park *et al.*, 1993; Wu *et al.*, 1993), společná je ovšem jejich činnost spočívající ve štěpení membránově vázaného fosfatidylinositol-4,5-bisfosfátu (PIP $_2$) na dvě menší molekuly - inositol-1,4,5-trifosfát (IP $_3$) a 1,2 diacylglycerol (DAG). IP $_3$ putuje cytosolem směrem k endoplazmatickému retikulu, kde otevírá vápníkové kanály, čímž zprostředkovává zvýšení cytoplazmatické hladiny Ca^{2+} , zatímco DAG zůstává ve spojení s membránou a spolu s vápenatými ionty uvolněnými z ER mimo jiné aktivuje proteinkinázu C (Berridge, 1986).

Iontové kanály

Aktivované G proteiny mohou přímo ovlivňovat i membránové iontové kanály, přičemž jejich otevírání a zavírání může být řízeno jak $G\alpha$, tak $G\beta\gamma$ podjednotkou. Příkladem je trimerním G proteinem ovládaný draslíkový kanál, který se v CNS vyskytuje v několika strukturně odlišných formách v závislosti na typu podjednotek, které ho tvoří. Jeho aktivace je spojena se stimulací $GABA_B$ receptorů, s kanálem interaguje $G\beta\gamma$ komplex (Koyrakh *et al.*, 2005). Efektory mohou být i vápníkové kanály, jež interagují s oběma podjednotkami G proteinů (to, zda bude výsledkem inhibice či aktivace kanálu, záleží na konkrétním typu – například $G\alpha_o$ působí inhibičně (Kleuss *et al.*, 1991)).

2.3 Hlavní mediátorové systémy CNS

Glutamátergní systém

Glutamátová signální dráha představuje u člověka hlavní excitační dráhu CNS. Metabotropní glutamátové receptory lze, dle jejich efektorových molekul a míry vzájemné sekvenční homologie, rozdělit do tří hlavních skupin, viz tabulka:

Tabulka 1: Klasifikace a funkce glutamátových receptorů

Č. skupiny	Zástupci	Hl. mechanismus působení	Převážná lokalizace
Skupina I.	mGluR ₁ , mGluR ₅	Stimulace PLC	Postsynaptická membrána
Skupina II.	mGluR ₂ , mGluR ₃	Inhibice adenylátcyklázy	Presynaptická membrána
Skupina III.	mGluR ₄ , GluR ₆ , mGluR ₇ , mGluR ₈	Inhibice adenylátcyklázy	Presynaptická membrána

Mimo receptory metabotropní jsou v CNS hojně zastoupeny i receptory ionotropní, AMPA a NMDA receptory, které se účastní procesu dlouhodobé potenciace (LTP, angl. long-term potentiation) důležitého pro tvorbu a ukládání paměťových stop, a které jsou rovněž spojeny s procesy neurodegenerace vzhledem k jejich klíčové roli při indukci excitotoxicity (Pin and Bockaert, 1995; Shigemoto *et al.*, 1997).

Dopaminergní systém

S dopaminergními signálními dráhami je asociován katecholaminový neuropřenašeč dopamin. Všechny známé dopaminové receptory jsou metabotropní, v současnosti je jich popsáno pět a jsou tříděny do dvou skupin: D1-like receptory stimulující adenylátcyklázu, kam se řadí D1 a D5 receptory, a D2-like receptory inhibující adenylátcyklázu, kam patří D2, D3 a D4 receptory.

Nigrostriatální dráha (hlavní mozková dopaminergní dráha) je nejvíce postihovanou signální dráhou u pacientů trpících Parkinsonovou chorobou. Syntéza a umělé dodávání agonistů dopaminových receptorů může představovat významnou alternativu současně nepoužívanější léčebné metody PD využívající prekurzor dopaminu L-DOPA, jehož nevýhoda spočívá v nemožnosti dlouhodobého užívání díky četným vedlejším účinkům (shrnutí v Mishra *et al.*, 2018).

Serotonergní systém

Serotonin (neboli 5-hydroxytryptamin, 5-HT) působí v rámci serotonergní signální dráhy na širokou škálu serotoninových receptorů, které jsou v rámci klasifikace tříděny do sedmi hlavních skupin s názvy 5-HT₁ až 5-HT₇. Celkem bylo objeveno 14 serotoninových receptorů, z nichž 13 interaguje s trimerickými G proteiny a pouze jeden (5-HT₃) je receptorem ionotropním. Mechanismy působení jednotlivých metabotropních 5-HT receptorů jsou značně variabilní - zahrnují jak stimulaci či inhibici adenylátcyklázy, tak stimulaci PLC (shrnutí v Cowen, 1991).

Cholinergní systém

Acetylcholin, hlavní neurotransmitter cholinergní signální dráhy, je významným mediátorem jak v periferní nervové soustavě, tak v CNS (kde zároveň působí jako neuromodulátor). Metabotropní acetylcholinové receptory jsou označovány jako muskarinové (muskarin na ně působí jako silný agonista). Rozlišujeme pět subtypů muskarinových receptorů označovaných zkratkami M1, M2, M3, M4 a M5. M1, M3 a M5 receptory skrze přidružené G proteiny pozitivně stimulují PLC, zatímco M2 a M4 receptory inhibují adenylátcyklázu. Zastoupení jednotlivých subtypů se v rámci CNS liší, s patologickými procesy doprovázejícími neurodegenerativní choroby jsou však asociovány především M1 receptory. Ionotropní acetylcholinové receptory se nazývají nikotinové (shrnutí v Picciotto *et al.*, 2012).

GABAergní systém

GABA, neboli kyselina gama-aminomáselná, představuje u savců hlavní inhibiční neurotransmitter CNS. Známe dvě třídy GABA receptorů – receptory GABA_A jsou ionotropní, v rámci této práce tedy nebudou zmiňovány. Metabotropní jsou pouze receptory GABA_B, jejichž aktivace vede v konečném kroku mj. k ovládní vápníkových a draslíkových kanálů (shrnutí v Bormann, 2000).

Purinergní systém

Purinergní receptory dělíme do dvou hlavních tříd dle toho, jakým typem ligandu jsou aktivovány. Třída P1 reaguje na výlev adrenalinu, zatímco receptory ze třídy P2 interagují s ATP. Do třídy P1 patří metabotropní receptory značené zkratkami A₁, A_{2A}, A_{2B} a A₃, které dále aktivují G proteiny ovlivňující aktivitu adenylátcyklázy. Třída P2 se dále dělí na skupinu P2Y, jejíž zástupci jsou také metabotropní, a P2X, kam patří ligandem ovládané iontové kanály (shrnutí v Palmer *et al.*, 1995).

3 Neurodegenerace

Pojem neurodegenerace obecně označuje procesy, v rámci kterých dochází k poškození neuronů a změnám či ztrátám jejich fyziologických funkcí. Na základě rozličných klinických příznaků těchto patologií jsou rozlišovány stovky neurodegenerativních onemocnění, v jejichž průběhu jsou zasaženy specifické subpopulace nervových buněk (viz schéma nejčastěji postižených oblastí mozku na konci kapitoly, obr. 3). Mezi projevy těchto chorob vesměs patří pomalý progresivní postup, který může být doprovázen poruchami motorických, paměťových nebo rozpoznávacích funkcí či nástupem demence (Gao and Hong, 2008). Specifický typ projevu závisí, díky funkčnímu členění mozkové kůry na oblasti lišící se svou úlohou, na konkrétní lokalizaci poškození. Důsledky plynoucí ze ztrát a změn neuronální aktivity jsou zpravidla trvalé a nevratné (Cannon and Greenamyre, 2011).

Pozornost veřejnosti je všeobecně soustředěna zejména na následující příklady poruch – Alzheimerovu chorobu, Parkinsonovu chorobu a Huntingtonovu chorobu, což jsou také v současnosti nejlépe prozkoumaná neurodegenerativní onemocnění (Bushati and Cohen, 2008). Existuje však mnoho dalších, ač méně známých a častých chorob spadajících do této kategorie – například amyotrofická laterální skleróza, demence s Lewyho tělísky či prionová onemocnění. Každé z těchto onemocnění se více či méně liší svým fenotypovým projevem a rozmanité jsou i molekulární mechanismy a příčiny stojící za jejich vznikem.

Mezi nejvýznamnější rizikové faktory přispívající ke vzniku nejrozšířenějších neurodegenerativních onemocnění patří vysoký věk. Průměrná délka života se vzhledem k intenzivnímu rozvoji medicíny a výzkumu prodlužuje a jedinců patřících do nejrizikovějších skupin stále přibývá, díky čemuž stoupá v zemích vyspělého světa i prevalence těchto chorob (Cannon and Greenamyre, 2011). Předpokládá se, že počty zasažených budou i nadále stoupat, což dělá z této skupiny onemocnění jednu z prioritních oblastí pro další výzkum (Przedborski *et al.*, 2003). Léčba většiny neurodegenerativních onemocnění je v současnosti pouze symptomatická.

3.1 Příklady nejběžnějších neurodegenerativních onemocnění

3.1.1 Alzheimerova choroba

Alzheimerova choroba (AD) je považována za nejčastější příčinu vzniku demence, jejíž různé závažné formy obecně postihují až 15% populace starší 60 let (odhaduje se, že až za dvěma třetinami těchto případů stojí právě AD) (Ashford, 2004). Pacienti trpící Alzheimerovou chorobou se setkávají s postupnou ztrátou paměťových schopností a s celkovým poklesem kognitivních funkcí.

Kompletní molekulární mechanismy stojící za vznikem a rozvojem tohoto onemocnění nebyly zatím, i přes vysokou četnost výskytu AD, zcela objasněny. Hlavní pozornost je však již léta soustředěna na skupinu amyloidových β peptidů ($A\beta$), jejichž patologická forma se v postižené tkáni koncového mozku extracelulárně hromadí a samovolně formuje tzv. amyloidní plaky (běžně se vyskytující amyloid β vznikající štěpením amyloidového prekursorového proteinu (APP) pomocí enzymu α -sekretázy obsahuje obvykle 40 aminokyselinových zbytků, zatímco jeho rizikový protějšek, jehož produkci řídí β či γ -sekretáza, dosahuje délky až 43 aminokyselin, což patrně způsobuje odlišnou rozpustnost peptidu a ukládání ve tkáni). K majoritnímu vzniku plaků dochází zejména v oblasti čelního a spánkového laloku koncového mozku (oblast hipokampu), kde dochází k progresivní ztrátě synapsí a odumírání neuronů.

S neurodegenerativními procesy provázejícími rozvoj AD souvisí i depozice hyperfosforylované formy tau proteinu, který je za fyziologických okolností asociován s mikrotubuly jakožto významný faktor modulující stabilitu cytoskeletu. Modifikované tau proteiny se shlukují v tzv. neurofibrilární smotky (angl. „tangles“), a ztrácí schopnost regulace formace mikrotubulární sítě. Mezi další rizikové faktory a možné příčiny vzniku AD patří například zvýšený oxidativního stres, významnou roli hrají také dědičné aspekty (především pak mutace v genu pro apolipoprotein E, které mohou působit jak protektivně, tak rizikově, či mutace v genu pro presenilin interagující s γ -sekretázou (shrnhuto v Masters *et al.*, 2006).

3.1.2 Parkinsonova choroba

Parkinsonova choroba (PD) představuje druhé nejčastěji se vyskytující onemocnění spojené s neuronální degenerací, u kterého lze, stejně jako u AD, sledovat pozitivní korelaci prevalence se stoupajícím věkem. Mezi charakteristické klinické projevy PD patří třes, bradykineze a svalová ztuhlost (v rámci patologických změn dochází mimo jiné i k zasažení motorických drah

a basálních ganglií řídících svalový pohyb), mimo motorické symptomy mohou však také pacienti vykazovat příznaky depresí, únavu či poruchy spánku (Shulman *et al.*, 2002).

Mozková tkáň postiženého subjektu vykazuje přítomnost tzv. Lewyho inkluzí, jež se skládají především z abnormálně modifikovaného fibrilárního proteinu α -synukleinu (od kterého je také odvozen pojem synucleinopatie, který PD a podobné choroby zastřešuje) a ubikvitinu (Spillantini *et al.*, 1998). Tyto inkluze zároveň plní roli markeru uplatňujícího se při diagnóze PD.

Některé oblasti mozkové kůry prokazují větší náchylnost k poškození než jiné. Za nejvíce postižená místa je považována oblast substantia nigra, jež představuje významné centrum neuronů tvořících neuropřenašeč dopamin, a nigrostriatální dráha dopravující dopamin do corpus striatum. Dopaminergní signalizační systém je tedy zpravidla ovlivněn nejvíce, ačkoliv není jediný. K buněčné smrti dochází i v oblastech limbického systému, negativně ovlivněny jsou i dráhy glutamatergní, cholinergní, adrenergní a jiné (Braak and Braak, 2000).

I přes to, že ve většině případů není výskyt PD podmíněn geneticky (jedná se tedy o formu sporadickou), byly také identifikovány geny, jejichž mutované formy mohou riziko PD zvýšit (např. mutace v genu LLRK2) (Nichols *et al.*, 2005). Zároveň je zkoumán i vliv oxidativního stresu a mitochondriálních dysfunkcí (např. studie Dexter *et al.*, 1989; Schon and Manfredi, 2003).

3.1.3 Huntingtonova choroba

Huntingtonova choroba (HD) patří mezi autosomálně dominantně dědičná onemocnění a její výskyt je v evropské populaci odhadován v průměru na 7,5 případů na 100 000 obyvatel (Warby *et al.*, 2011). K manifestaci prvních příznaků obvykle dochází mezi 40. a 50. rokem života, juvenilní forma HD není příliš častá. K časným projevům nemoci je řazen výskyt mimovolních pohybů a lehkých změn osobnosti, po čemž následují vážnější poruchy kontroly volní motoriky a psychické změny (změny chování, deprese, paranoia), které se postupně rozvíjejí v potíže s pamětí a demenci, problémy s chůzí a řečí a v celkovou ztrátu soběstačnosti. Doba dožití se po nástupu HD nejčastěji pohybuje mezi 10-20 lety (Kirkwood *et al.*, 2001).

V rámci studie z roku 1993 byl blíže zkoumán gen s označením IT15 (také HTT nebo HD gen) ležící na krátkém raménku čtvrtého chromozomu a kódující protein huntingtin, na jehož N-konci byl u pacientů s HD pozorován zvýšený výskyt CAG trinukleotidové repetice

pro aminokyselinu glutamin. Během buněčné meiózy může v této nestabilní oblasti docházet k další expanzi, čímž ve výsledku roste i počet CAG repetit (spolu s ním se zvyšuje i míra penetrance a časnost nástupu choroby) (MacDonald *et al.*, 1993).

Běžný počet CAG repetit se u zdravých jedinců pohybuje mezi 11–35 kopiemi. V případě 36-39 kopií je míra penetrance variabilní – u některých pacientů k rozvoji HD dojde, zatímco jiní jsou fenotypově zdraví (lze u nich ovšem předpokládat zvýšené riziko přenosu predispozice do další generace). Za hraniční počet repetit, od kterého je již pravděpodobnost výskytu HD téměř 100 %, je považováno 40 opakování (Rubinsztein *et al.*, 1996).

Studium patogeneze HD odhaluje, že k nejrozsáhlejšímu poškození dochází v oblasti striata, kde jsou zasaženy GABAergní signální dráhy vedoucí vstupem z kůry. To, jakou roli hraje v procesech buněčné smrti přímo protein huntingtin, není doposud detailně známo. Je možné, že abnormálně dlouhá forma HTT v buňce podstupuje rozmanité posttranslační modifikace a konformační změny, což může vést k toxicitě a hromadění patologické formy uvnitř neuronů a k inhibici funkce proteasomu a heat shock proteinů. Výsledkem může být i snížení produkce mozkového neurotrofického faktoru, diskutovány jsou i teorie pracující s volnými radikály, excitotoxicitou či poškozením mitochondrií (shrnutí v Ross and Tabrizi, 2011).

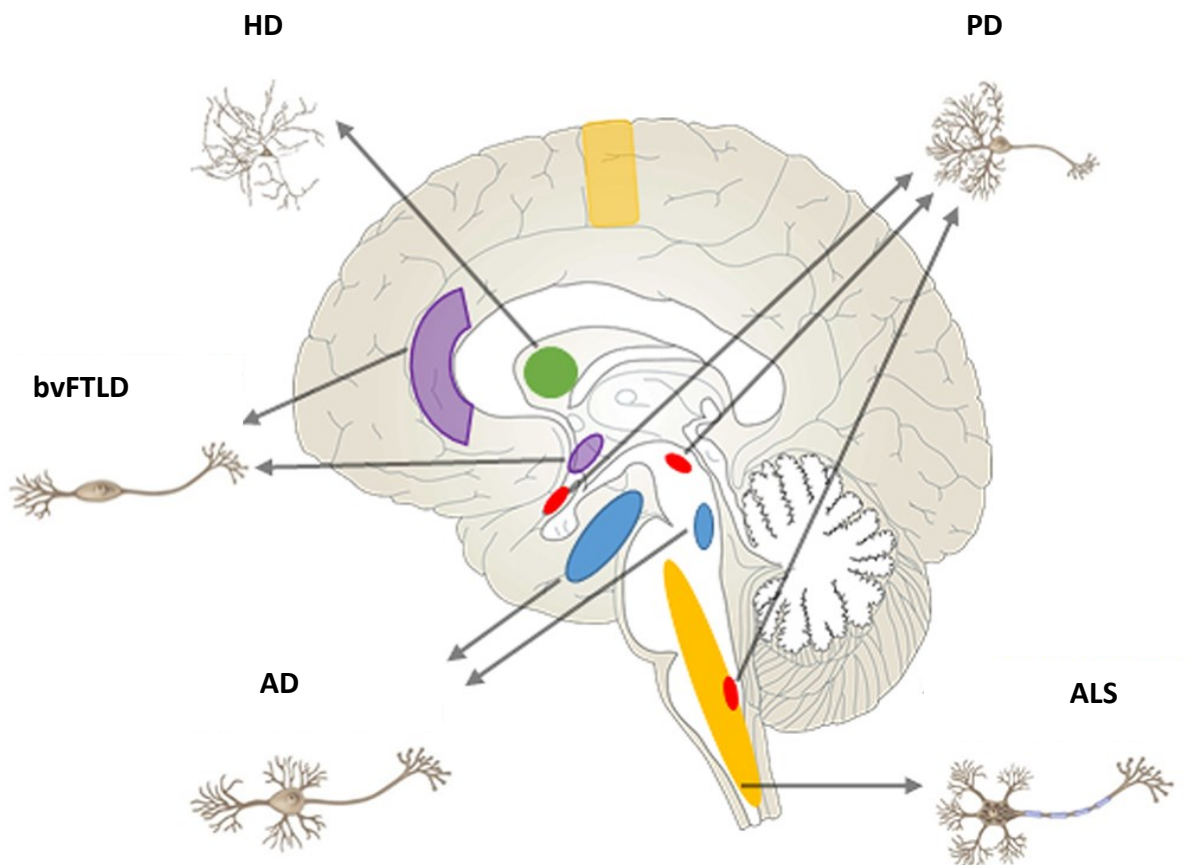
3.1.4 Amyotrofická laterální skleróza

Poslední neurodegenerativní chorobou, kterou se ve své práci budu zabývat, je amyotrofická laterální skleróza (ALS). Jedná se o nemoc postihující primárně mozkové a spinální motoneurony, počet nových případů za rok se v evropské populaci pohybuje mezi 1 až 4 případy na 100 000 obyvatel a je známa jak sporadická forma, tak familiální forma podmíněná geneticky (zhruba 10 % případů).

ALS se zprvu projevuje zejména obtížemi spojenými s kontrolou svalů končetin, následují problémy s řečí, polykáním a chůzí. Novější výzkumy také se věnují spojitosti mezi ALS a frontotemporální demencí, která se u některých pacientů rozvíjí také. V posledním stádiu je postižená osoba odkázána na invalidní vozík a pomoc druhých, nejčastější příčinou úmrtí je respirační selhání. Progresivní postup onemocnění je poměrně rychlý, pacienti následkům ALS obvykle podléhají do tří let od nástupu příznaků (záleží ale na mnoha faktorech – na přítomných mutacích v rizikových genech, na konkrétní formě onemocnění, na věku pacienta apod.).

Molekulární mechanismy stojící za odumíráním neuronů jsou, podobně jako u předchozích neurodegenerativních chorob, stále nejasné. V nervových buňkách pacientů

trpících ALS byla prokázána přítomnost inkluzí, které obsahují agregované defektní formy proteinů a které mohou na neurony působit toxicky (u pacientů trpících zároveň i frontotemporální demencí se inkluze vyskytovaly i v oblastech čelního a spánkového laloku, tedy mimo primárně zasahované motoneurony). Další studie operují s vlivy oxidativního stresu, poruchami mitochondrií či s defekty v procesu zpracování RNA (shrnuje Gordon, 2013).



Obrázek 3: Schéma znázorňující vybrané oblasti mozku vykazující největší náchylnost k neurodegeneraci spolu s nemocemi, s jejichž patogenezi souvisí.

HD – MSN (medium spiny neurons) striata; PD – dopaminergní neurony v oblastech substantia nigra, čichového bulbu a dorsálních motoneuronů; ALS – motoneurony neokortexu, spinální motoneurony a motoneurony mozku; AD – pyramidální neurony v oblasti locus coeruleus, entorhinální oblasti a hipokampu; bvFTLD (behaviorální varianta frontotemporální demence) – von Economovy neurony v oblasti insuly a anteriorního kortexu

Převzato a upraveno z (Fu et al., 2018)

4 Signální dráhy GPCRs v kontextu nejznámějších neurodegenerativních chorob

4.1 Změny v signalizaci u pacientů s AD

4.1.1 Muskarinové acetylcholinové receptory a cholinergní dráha

Cholinergní signální systém je, v souvislosti s pátráním po molekulárních principech AD, jednou z nejčastěji (a nejdéle) zkoumaných oblastí. Vliv ztráty či dysfunkce cholinergních synapsí na tvorbu a konsolidaci paměťových stop byl mnohokrát popsán jak v rámci starších studií (viz jedny z původních prací popisujících cholinergní hypotézu, Drachman and Leavitt, 1974; Bartus *et al.*, 1982), tak v rámci studií vydaných v průběhu posledních let (Watanabe *et al.*, 2009; Nemy *et al.*, 2020). Neustálé odhalování a popisování nových mechanismů však dokazuje, že je stále co objevovat.

K odchylkám od fyziologického průběhu cholinergní signalizace dochází v presynaptických (popisuje např. Wang *et al.*, 2007) i postsynaptických oblastech. Pohledy na změny v početním zastoupení M1 receptorů na postsynaptických membránách se napříč studii liší, některé práce prezentují jejich snížení (např. Hyun Yi *et al.*, 2020), jiné naopak nárůst v jejich koncentraci (např. Overk *et al.*, 2010) – měření může komplikovat například užití subjektů nacházejících se v jiných stádiích onemocnění. Aktivita jejich efektorových systému u pacientů s AD dle četných výzkumů klesá. Nabízí se tedy bližší zaměření na pokles či změnu interakcí mezi postsynaptickými M1 a s nimi sdruženými G proteiny, které přijímaný signál předávají dále do buňky.

Tímto se také zabývala studie z roku 2011 (Potter *et al.*, 2011), jež pro sběr dat využila řezy mozkové tkáně získané od lidských subjektů rozdělených do skupin dle přítomnosti, popřípadě četnosti výskytu amyloidních plaků. Studie byla primárně zaměřena na zkoumání preklinického stádia AD, v rámci čehož byly definovány tři skupiny sestávající se ze subjektů v rizikovém věku, ale bez projevů demence – skupina, jejíž vzorky byly zcela bez známek amyloidních plaků, skupina vykazující řídké zastoupení plaků a skupina s hustě detekovanými plaky, plus navíc kontrolní skupina mladších subjektů nevykazujících známky demence a skupina subjektů vykazujících známky demence s diagnostikovanou AD (celkem bylo do studie zařazeno 87 subjektů a zkoumány byly primárně vzorky z oblasti frontálního a parietálního kortexu). Interakce byly zkoumány za využití značených antagonistů a agonistů, na základě čehož bylo mimo jiné zjištěno i to, že početní zastoupení M1 receptorů na postsynaptických membránách se napříč skupinami nelišilo, což je v souladu s výše zmíněnou teorií o stálosti

kvantitativního výskytu receptorů. Presentované výsledky dále naznačují, že u subjektů vykazujících přítomnost amyloidních plaků dochází k rozpražení M1 receptoru s jeho efektorovým G proteinem, přičemž míra tohoto jevu stoupá se zvyšující se koncentrací detekovaných plaků (Tsang *et al.*, 2006, se na fenomén přerušení M1/ $G_{\alpha q/11}$ interakcí soustředil také, následně pak na základě podobných výsledků dospěl k totožným závěrům). U těchto subjektů byl zároveň pozorován zvýšený přechod M1 receptorů z vysokoafinitního stavu do stavu o nižší afinitě. V obou případech pravděpodobně dochází k patologickým interakcím mezi M1 a A β , které však zatím nejsou blíže popsány.

V rámci stejné studie bylo rovněž sledováno i zastoupení cholinacetyltransferázy (ChAT, enzym syntetizující acetylcholin z cholinu a acetylkoenzymu A) jakožto faktoru, jehož aktivita koresponduje s mírou presynaptické aktivity. I zde naměřená data naznačují signifikantní snížení aktivity ChAT u skupin subjektů vykazujících přítomnost amyloidních plaků, a to jak v oblasti frontální, tak v oblasti parietální kůry (Potter *et al.*, 2011).

Pokud tedy u zasažených neuronů z nějakého důvodu nedochází k tak silné aktivaci G proteinů, jako v případě fyziologického průběhu signální dráhy, měla by se tato změna promítnout i v aktivitě a koncentraci následných členů kaskády, jako jsou druzí poslové a jejich efektorové molekuly. Po navázání agonisty M1 aktivuje $G_{\alpha q/11}$ podjednotku, která běžně skrze vápenaté kationty dále aktivuje například PKC. PKC může následně přímo či nepřímo pomocí ERK1/2 kinázy stimulovat aktivitu α -secretázy, enzymu účastnícího se správného sestříhu APP na nedefektní formu amyloidu. Pokles správné funkce PKC, jež může být navozen právě skrze inhibici interakce mezi M1 a G proteinem, se projevuje nárůstem koncentrace toxických A β oligomerů, zároveň dochází i ke zvýšenému hromadění hyperfosforylovaného tau proteinu, což opět přispívá k rozvoji patologie skrze vznik neurofibrilárních smotků (Alkon *et al.*, 2007; Hongpaisan *et al.*, 2011).

4.1.2 Glutamátové receptory a glutamátergní dráha

Cholinergní signalizace není jedinou signální dráhou, která pod vlivem patologických procesů doprovázejících rozvoj AD vykazuje změny. Pozornost se v průběhu posledních let obrací i ke studiu dráhy glutamátergní, především k roli metabotropního mGluR5 receptoru.

V rámci studie publikované v roce 2010 byla pomocí metod fluorescenční mikroskopie zkoumána interakce A β s glutamátovým receptorem mGluR5, která vede ke snížení míry laterální difuze receptoru. Sledovaný pokles mobility v extrasynaptických oblastech byl

výraznější než v synaptických, což indikovalo místní hromadění receptorů a snížení úniku ze synapse. Výsledkem byla redistribuce mGluR5 na plazmatické membráně směrem ke zvýšenému zastoupení na synapsích (dle dat uvedených ve studii byla 60 minut po aplikaci A β míra výměny receptorů v synaptické oblasti snížena z původních 70–75 % na 40–45 %). Aktivace nadměrného počtu mGluR5 pak skrze interakci s odpovídající G α a stimulaci PLC mobilizuje zásoby intracelulárních Ca²⁺ iontů a přispívá ke ztrátě ionotropních NMDA receptorů nezbytných pro utváření paměťových stop. Mohlo by se tedy jednat o jeden z mechanismů, skrze který A β způsobuje charakteristické klinické projevy AD spojené s disfunkcí paměti. Součástí studie byla i práce s receptorovým antagonistou SIB, jehož přidání vyrušilo účinky vazby A β , stejně jako užití myšího modelu s knock-outovaným genem pro mGluR5 (Renner *et al.*, 2010).

Jiná studie z roku 2013 se věnovala propojení A β a prionové bílkoviny PrP^c. Vziklý komplex A β -PrP^c následně v oblasti postsynaptické denzity využívá mGluR5 k interakci s cytoplazmatickou Fyn kinázou z rodiny Src kináz. Výsledný komplex pak, podobně jako ve výše zmíněném příkladu, zvyšuje propustnost vápníkových kanálů a uvolňuje Ca²⁺ (účinnost mobilizace vápenatých iontů ovšem není tak velká jako v případě stimulace mGluR5 přímo glutamátem) (Um *et al.*, 2013).

V souvislosti s rozvojem AD pravděpodobně dochází i k místním odchýlkám od fyziologické míry zastoupení glutamátových receptorů. Na základě dat získaných pomocí pozitronové emisní tomografie byla v lednu 2020 publikována práce, v rámci které byl srovnáván počet aktivních mGluR5 na membránách neuronů koncového mozku u pacientů v ranném stádiu AD a u kontrolní skupiny osob nevykazujících přítomnost A β oligomerů (studie se celkem zúčastnilo 31 dobrovolníků, 16 pacientů s diagnostikovanou AD a 15 kontrolních jedinců). Vizualizace bylo dosaženo pomocí radiofarmaka (18)F-FPEB. Výsledky studie prezentovaly prokazatelné snížení zastoupení mGluR5 v oblasti hippocampu u skupiny pacientů s AD, a to o 43 %. Naopak v oblasti asociační kůry nebyl naměřený rozdíl v četnosti receptorů signifikantní (Mecca *et al.*, 2020). Zajímavé je, že jiná práce publikovaná v únoru 2020 nahradila lidský model transgenní APP/PS1 myši (myš exprimující lidský amyloid prekursorový protein a mutantní formu presenilinu 1) a za využití PET a stejného radiofarmaka (18)F-FPEB pozorovala přesný opak, tedy zvýšení hustoty mGluR5 u transgenních myši v porovnání s wild-type skupinou (Varlow *et al.*, 2020).

4.1.3 Role dalších receptorů a jejich signálních drah

Dalším ovlivněným mediátorovým systémem je dráha serotonergní. Vidal *et al.* ve své práci z roku 2016 popisuje změny v distribuci 5-HT_{1A} receptorů, které interagují s G_{i/o} proteiny inhibujícími adenylátcyklázu. Za pomoci pozitronové emisní tomografie bylo na tkáňových řezech hippocampu zkoumáno nejen jejich celkové zastoupení, ale i množství funkčních receptorů (tedy receptorů, které aktivně váží G proteiny). Největší rozdíly mezi řezy subjektů s AD a kontrolní skupinou byly zaznamenány v hipokampální oblasti CA1, kde došlo u AD skupiny k výraznému snížení celkového zastoupení 5-HT_{1A} receptorů (zhruba o 33% vůči kontrole), tato ztráta byla ale pozorována až v pozdějších stádiích nemoci. V rámci druhého experimentu zacíleného pouze na funkční receptory byl ovšem tento pokles pozorován napříč všemi stádii, včetně těch nejranějších, což naznačuje, že k případným odchylkám od běžného průběhu signalizace dochází na rozhraní receptor/G protein dříve, než je pozorován snížený celkový výskyt receptorů (Vidal *et al.*, 2016). Jedno z možných vysvětlení tohoto jevu nabízí starší studie z roku 2002, jež prezentuje možné snížení GTPázové aktivity G proteinu (založeno na demonstraci snížených stimulačních vlastností GTP na G proteiny). Samotné hladiny G proteinů a G_α podjednotek zůstávají dle měření v průběhu rozvoje AD vcelku stabilní (García-Jimnez *et al.*, 2002).

Jiný článek publikovaný v roce 2015 hovoří o adenosinových metabotropních receptorech A_{2A}, které skrze G_{αs} stimuluje AC. Relativní výskyt A_{2A} byl zkoumán na astrocytech v oblasti hippocampu, kde byl dle této studie u pacientů s AD až třikrát vyšší, než u kontrolní skupiny. Zvýšené množství aktivních A_{2A} receptorů vedlo k nárůstu detekovaného cAMP. Následná práce s myším modelem AD potvrdila, že zvýšený výskyt A_{2A} pozitivně koreluje se snížením paměťových schopností subjektu, a že umělé utlumení aktivity těchto receptorů paměť naopak stimuluje (Orr *et al.*, 2015). Tuto teorii potvrzuje i novější podobně zaměřená práce, která rovněž zkoumala pozitivní vliv aplikace A_{2A} antagonistů na zmírnění paměťového deficitu a zvýšení synaptické plasticity u subjektů v rané fázi AD (Silva *et al.*, 2018).

4.2 Změny v signalizaci u pacientů s PD

4.2.1 Dopaminové receptory a dopaminergní dráha

Dopaminergní signální dráhou se, coby dráhou, jejíž funkce je dle všeho u pacientů s PD zasažena nejvíce, zabývaly již práce staré desítky let (například Van Praag *et al.*, 1975; Kish *et al.*, 1988). Dnešní poznatky naznačují, že (kromě již dříve popsaného poklesu hladiny samotného neurotransmiteru dopaminu, za nímž stojí odumírání dopaminergních neuronů), dochází v zasažených oblastech mj. i k alteracím v zastoupení membránových dopaminových receptorů a v jejich senzitivitě a k dalším změnám v následném přenosu signálu do buňky.

Pozornost je soustředěna zejména na D3 receptory, které se vyznačují nejvyšším stupněm afinity k dopaminu, a jejichž aktivace zpravidla vede k inhibici adenylátcyklázy. Při práci s myším GM modelem byla u PD skupiny pozorována nadměrná D3 aktivita, jejíž pozitivní vliv na rozvoj patogeneze PD byl zkoumán za pomoci aplikace jeho antagonisty PG01037. Dlouhodobá aplikace D3 antagonisty způsobila u myších pokusných subjektů zlepšení koordinace a celkové utlumení motorických příznaků PD, PG01037 zároveň vykazoval protektivní vliv na zachování funkce nigrostriální dráhy a dopaminergních neuronů (Elgueta *et al.*, 2017). S těmito poznatky pozitivně koreluje i výsledek jiné práce popisující fakt, že D3-deficientní myši vykazovaly po umělém vyvolání PD pouze malé až nulové zhoršení v motorických testech ve srovnání s WT subjekty s funkčními D3 receptory (Chen *et al.*, 2013). Jiné studie dále poukázaly na propojení disfunkce dopaminergní signalizace s imunitním systémem a diferenciací lymfocytů – zvýšený výskyt D3 receptorů se totiž týká i CD4⁺ T-lymfocytů, které jsou ve vzorcích mozkových tkání subjektů s PD výrazně zmnoženy, což vede k zánětlivým procesům. Umělé snížení exprese D3 receptoru naopak vede k utlumení neurodegenerace (Brochard *et al.*, 2009; Contreras *et al.*, 2016).

Patologické změny se zřejmě týkají i dopaminových D1 receptorů. Ty tvoří v oblasti striata funkční heteromery s glutamátovými mGlu5 receptory, které běžně interagují s G podjednotkou stimulující PLC. Hojnost těchto heteromerů u pacientů s poškozenou nigrostriální dráhou stoupá, přičemž přítomný D1 zřejmě zvyšuje aktivitu mGlu5 a tím i míru IP₃ a Ca²⁺. Jejich inhibice vede ke zmírnění dyskineze při léčbě pomocí L-DOPA (Sebastianutto *et al.*, 2020). Heteromery tvoří i jiné dopaminové receptory, D2 například může interagovat jak s mGlu5 receptorem, tak s adenosinovým A_{2A} receptorem. V tomto případě vede aplikace agonistů mGlu5 a A_{2A} receptorů k utlumení D2 indukované signalizace, což má u pacientů s PD

stimulační vliv na GABAergní signalizační dráhu způsobující motorické příznaky PD (Beggiato *et al.*, 2016).

4.2.2 Serotoninové receptory a serotonergní dráha

Role serotonergní signální dráhy je, vzhledem k jejímu komplexnímu propojení s dopaminergní dráhou, poměrně těžko popsitelnou záležitostí. Je ale jisté, že rozvoj PD doprovází jak změny v zastoupení 5-HT receptorů, tak výkyvy hladiny samotného neurotransmiteru. Li *et al.*, se, ve své práci využívající myší model, zabýval právě otázkou výskytu metabotropních serotoninových 5-HT_{2A} receptorů. Ty byly imunohistochemicky detekovány tři týdny po aplikaci neurotoxinu 6-hydroxydopaminu (navozuje příznaky PD) a data byla posléze porovnávána s kontrolní skupinou, která toxinu vystavena nebyla. V oblasti striata bylo u subjektů s PD pozorováno výrazně snížení denzity funkčních, tedy ligand vázajících 5-HT_{2A}, což u subjektů korespondovalo se zhoršením psychických projevů onemocnění (to, zda byl tento jev způsoben nadměrnou desenzitizací, degradací nebo jinou blokadou receptoru, ale nebylo specifikováno). Dle prezentovaných výsledků je pozorovaný pokles funkce receptorů důsledkem degradace nigrostriální dráhy a odumírání dopaminergních neuronů, což opět poukazuje na provázání obou signálních systémů (Li *et al.*, 2010).

V rámci studie z roku 2010 byl ale také u PD subjektů detekován zvýšený výskyt 5-HT_{2A} v temporální oblasti, což by mohlo představovat kompenzační mechanismus vyrovnávající výše zmíněný pokles funkčních receptorů a hladiny serotoninu. (Huot *et al.*, 2010). Dle četných studií jsou patologické změny serotonergní signalizace zodpovědné mimo jiné i za vznik vizuálních halucinací, které postihují zhruba polovinu pacientů s PD (Williams and Lees, 2005; Kometer *et al.*, 2011).

4.2.3 Role dalších faktorů a signálních drah

Detailní principy, skrze které přispívá u pacientů s PD samotná přítomnost patologicky agregovaného α -synukleinu k buněčné smrti neuronů, stále nejsou zcela objasněny. Pro možnou souvislost s G proteiny zprostředkovanou signalizací ovšem hovoří četné studie popisující přímé interakce mezi α -synukleinem a PLC (například (Narayanan *et al.*, 2005)), což naznačuje možné ovlivnění a downregulaci dráhy, jež za běžných podmínek vede k produkci druhých posílů a zvýšení intracelulární hladiny Ca²⁺.

K bližšímu zkoumání těchto interakcí byly v rámci studie publikované v roce 2017 použity ovariální buňky křečka (které běžně α -synuclein v žádné formě neexprimují), do kterých byly pomocí vektorových plazmidů zaneseny geny pro dvě mutované formy α -synukleinu (A53T a A30P) a gen pro nemodifikovaný WT α -synuklein. Následně byly u buněk nesoucích mutantní geny úspěšně vizualizovány interakce mezi PLC β ₁ a α -synukleinem, zatímco kontrolní vzorek s nemodifikovaným α -synukleinem přítomnost signálu dokazujícího vzájemné interakce nevykazoval. Následně byl u A53T a A30P vzorků po stimulaci příslušného GPCR pozorován signifikantní pokles produkce IP₃ a následně i pokles v množství mobilizovaných Ca²⁺ iontů ve srovnání s WT vzorkem (zde rozdíl činil cca 50 %), což koreluje s původní hypotézou hovořící o α -synukleinem zprostředkovaném utlumení signálu. Pokusy byly provedeny i na vzorcích tkání lidského neuroblastomu, u kterých vizualizace opět potvrdila přítomnost interakcí mezi PLC β ₁ a α -synukleinem. Po následném přidání serotoninu a histaminu u vzorků s mutovanou formou α -synukleinu odpověď v podobě zvýšení koncentrace Ca²⁺ iontů zcela vymizela.

U vzorků neuroblastomu byl navíc zkoumán přímý vliv defektního α -synukleinu na celkovou hladinu PLC β ₁. U buněk exprimujících mutantní α -synuklein bylo pozorováno zvýšení koncentrace PLC β ₁, ačkoliv míra transkripce mezi tímto a kontrolním WT vzorkem nevykazovala signifikantní rozdíl (Volta *et al.*, 2017). Nadměrný výskyt PLC β ₁ tedy zřejmě souvisí s inhibicí degradační dráhy, což naznačovaly i výsledky starší práce publikované v roce 2012, v rámci které byly rovněž zkoumány tkáně neuroblastomu, a která opět prezentovala zvýšení hladiny PLC β ₁ po přidání patologické formy α -synukleinu za konstantní hladiny transkripce. Možný mechanismus ochrany před degradací zřejmě nesouvisí s ubikvitinací, ale spíše s ochranou před kalpainovými proteázami (Guo *et al.*, 2012).

Zdá se, že přítomnost PLC β také přímo ovlivňuje míru agregace defektního α -synukleinu - pokud je vnitrobuněčná koncentrace PLC β vysoká, trend shlukování α -synukleinu je nižší, jelikož se jednotlivé řetězce mohou na PLC β navázat a nedochází k vzájemným interakcím a oligomerizaci (stejného výsledku bylo v rámci experimentálního ověření dosaženo i po aplikaci uměle vytvořeného peptidu vykazujícího částečnou sekvenční homologii s úsekem PLC β , jež při interakci s aktivním místem α -synukleinu mimikoval roli lipázy). Navíc zde došlo i k propojení neurodegenerace způsobené hromaděním oligomerů α -synukleinu s teorií oxidativního stresu – dle experimentů (prováděných opět za využití tkáně lidského neuroblastomu) vykazoval PLC β poměrně vysokou náchylnost k radikálovému poškození, což vedlo k snížení její intracelulární koncentrace. Množství α -synukleinu se naopak

vlivem radikálů nezdá být výrazně ovlivněno a snížená dostupnost PLC β opět vedlo ke zvýšené tvorbě toxických α -synukleinových oligomerů (Guo and Scarlata, 2013).

4.3 Změny v signalizaci u pacientů s HD

4.3.1 Glutamátové receptory a glutamátergní dráha

Nejvíce ovlivněným glutamátovým receptorem se v případě HD zdá být, stejně jako v případě AD, s $G_{\alpha q}$ asociovaný metabotropní receptor mGluR₅. U GM myši nesoucích gen pro abnormálně dlouhý huntingtin lze totiž pozorovat signifikantní útlum IP dráhy, k čemuž zřejmě dochází na základě negativní zpětnovazebné regulace za pomoci PKC. Tento efekt je ale pozorován jen u mladých subjektů, které zatím nevykazují viditelné příznaky HD, proto je možné, že se jedná spíše o mechanismus protektivní, a že preventivní desenzitizace mGluR₅ může u brzkých stádií HD chránit neurony před odumíráním způsobeným nadměrnou aktivací glutamátových receptorů – hladiny uvolňování Ca^{2+} iontů jsou totiž u myši exprimujících defektní huntingtin i přes útlum tvorby IP₃ stále vyšší, než je fyziologická norma u non GM subjektů. Je nasnadě se domnívat, že pozdější nefunkčnost této regulace může, díky postupně se zvyšující hyperaktivaci mGluR₅ receptorů, souviset s pozdním nástupem nemoci (Ribeiro *et al.*, 2010).

Zajímavé je, že starší studie prokázaly interakce mezi HTT a první třídou glutamátových receptorů via HTT asociovaný protein optineurin (jehož afinita k mGluRs v přítomnosti mutované formy HTT stoupá), které vedly rovněž k odpřažení receptoru od jeho efektorového G proteinu a tudíž i k inhibici PLC a IP₃ dráhy (což tedy mírně odporuje výsledkům zmiňovaným výše, které naznačují, že zvýšení hladiny Ca^{2+} naopak patří mezi mechanismy indukující neurodegeneraci) (Anborgh *et al.*, 2005).

Po několikadenní aplikaci pozitivního alosterického modulátoru mGluR₅ bylo ale také při práci s myším modelem HD zpozorováno znatelné zvýšení zastoupení mGluR₅ na presynaptických membránách v oblasti hipokampu a striata. Stimulace měla navíc, skrze aktivaci podřízených drah zahrnujících mj. adenylátcyklázu či PKC, i pozitivní vliv na mechanismy rozvoje synaptické plasticity, jelikož vedla ke zvýšené expresi několika genů zásadních pro tvorbu paměťových stop (např. CREB, BDNF) (Doria *et al.*, 2018). Obdobně cílená byla i starší studie využívající jiný typ alosterického modulátoru, jež ovšem také dospěla k podobným závěrům (podrobnosti v Doria *et al.*, 2015). Je tedy zřejmé, že přesná role

metabotropních glutamátových receptorů je zdaleka komplikovanější, než se zprvu může zdát, a že zahrnuje jak mechanismy patologické, tak neuroprotektivní.

4.3.2 Role dalších receptorů a signálních drah

V rámci snahy o odhalení přesnějších příčin stojících za výrazným odumíráním buněk striata u pacientů s HD bylo zkoumáno i vzájemné působení dopaminergní a glutamatergní dráhy a jejich vliv na G proteiny regulovanou Ca^{2+} signalizaci, která je u poškozených neuronů jedním z mechanismů indukce apoptózy a degenerace (touto problematikou se také detailně zabývá například Bellocchio *et al.*, (2016), jež v rámci své práce více cílí na různé G_{α} podjednotky a jimi zprostředkované odezvy). K výzkumu byl využity tkáně transgenního myšího kmene YAC128 exprimujícího lidský huntingtin kódován genem se 128 CAG repeticemi. Vzorky byly vystavovány současnému působení glutamátu i dopaminu, což vyvolalo u tkání GM organismu mnohonásobně vyšší odezvu v podobě mobilizace Ca^{2+} iontů, než v případě WT tkání. Dále bylo pozorováno, že GM tkáně inkubované pouze s glutamátem nevykazovaly ve srovnání s WT skupinou zvýšenou míru apoptózy, zatímco u vzorků tkání inkubovaných jak s glutamátem, tak s dopaminem, byl pozorován signifikantní nárůst výskytu apoptotických buněk (zajímavé je, že přidání inhibitorů NMDA a IP_3 receptorů zřejmě apoptotickou dráhu zastavuje – u buněk s nimi inkubovaných totiž zvýšená tendence apoptózy zaznamenána nebyla). Prostřednictvím specifických agonistů dopaminových receptorů bylo dále pozorováno, že za touto patologicky zvýšenou aktivací stojí receptory třídy D_1 (stimulace receptorů D_2 třídy nevyvolala dostatečně významnou odpověď ve srovnání s WT), což z nich dělá zajímavý objekt pro potencionální farmakologické zacílení při léčbě HD (Tang *et al.*, 2007).

Podobným směrem se ubírala i studie publikovaná v červnu 2020, jež, opět na myším modelu, zkoumala zastoupení a aktivitu heteromerů tvořených dopaminovým D_1 a histidinovým H_3R receptorem (který je, stejně jako D_1 , metabotropní). Výsledky poukázaly na pozitivní vliv H_3R antagonisty na nadměrnou D_1 signalizaci – u subjektů léčených aplikací antagonisty byl ve srovnání s neléčenou skupinou pozorován významný pokles v odumírání obvykle poškozených neuronů, navíc byl v rámci následných testů odhalen další pozitivní vliv spočívající v prevenci ztrát dlouhodobé paměti a motorických schopností. U myší v pozdějším stádiu nemoci došlo k téměř úplným ztrátám funkce těchto heteromerů, což omezuje potenciální terapeutické využití D_1 - H_3R komplexu na ranná stádia HD (Moreno-Delgado *et al.*, 2020).

Patologickým změnám podléhají nejen membránové receptory vázající neurotransmiter, ale i další stupně signalizační kaskády, například InsP₃R (inositoltrifosfátový receptor), který, jakožto membránový kanál propustný pro Ca²⁺, zprostředkovává uvolnění vápenatých iontů z ER. Starší studie z roku 2003 popisuje interakce mezi mutantní formou HTT a InsP₃R jež vedou za přispění proteinu HAP1A ke vzniku ternárního proteinového komplexu, který zvyšuje citlivost InsP₃R k jeho ligandu, IP₃. Navozená hypersenzitivita receptoru může být vysvětlením pro výše zmíněný nárůst hladiny Ca²⁺ pozorovaný navzdory faktu, že aktivita PLC (a tudíž i tvorba IP₃) je v ranných stádiích HD spíše utlumena (viz kapitola o glutamátergí dráze a HD). Inhibice InsP₃R vedla ke snížení míry apoptózy MSN neuronů, což tento receptor řadí, spolu s například dříve zmíněnými mGluR₅, mezi potenciální léčebné cíle (Tang *et al.*, 2003, 2004; Wu *et al.*, 2016).

4.4 Změny v signalizaci u pacientů s ALS

4.4.1 Glutamátové receptory a glutamátergí dráha

Stejně jako u ostatních zmiňovaných neurodegenerativních chorob hraje i u patogeneze ALS významnou roli glutamátergí mediátorový systém, k jehož výzkumu se opět nejčastěji využívá myší transgenní model (tzv. SOD1/G93A myš). Nadměrná stimulace glutamátových receptorů, jež může následně mimo jiné dále zvyšovat množství vylučovaného glutamátu, může být jedním z principů vedoucích ke glutamátové excitotoxicitě. Pozornost je opět soustředěna především na glutamátové receptory I. třídy (mGluR₁ a mGluR₅).

Giribaldi *et al.*, t al ve své studii z roku 2013 mj. měřil a porovnával relativní densitu mGluR₁ a mGluR₅ receptorů u WT a SOD1/G93A myší, přičemž dospěl k závěru, že zastoupení mGluR₅ bylo u ALS myší až o polovinu zvýšeno (naměřená četnost mGluR₁ receptorů byla také vyšší, rozdíl se ovšem nedal považovat za signifikantní). Receptory SOD1/G93A myší také vykazovaly mnohem vyšší míru senzitivity vůči agonistům (to se promítlo na zvýšené stimulaci IP₃ za nižších koncentrací agonisty), než receptory kontrolní skupiny, což poukazuje na existenci nějaké modifikace, díky které se receptory u ALS pacientů liší od těch přítomných u zdravých jedinců (Giribaldi *et al.*, 2013).

S výše zmíněným korelují i výsledky studií zkoumajících vliv knockoutu genu pro mGluR₁ (Bonifacino *et al.*, 2017) a mGluR₅ (Milanese *et al.*, 2014) na fenotypové projevy u SOD1/G93A myší. V obou případech byl pozorován pozitivní vliv spočívající v pozdějším

nástupu příznaků, zpomalení progresu onemocnění a delší době dožití ve srovnání se subjekty s funkčními geny pro receptory a ve zvýšeném procentu zachovaných funkčních motoneuronů, jež jsou v případě ALS postihovány nejvíce.

4.4.2 Role dalších receptorů a jejich signálních drah

Dalším významným faktorem hrajícím roli v rozvoji ALS mohou být interakce mezi dopaminovým D₂ receptorem a adenosinovým A_{2A} receptorem. Oba metabotropní receptory se vyskytují v oblasti motoneuronů, kde tvoří funkčně propojené dimery. Zdá se, že zvýšená aktivace A_{2A} receptoru stimulujícího PKA zpomaluje proces odumírání motoneuronů (Liu *et al.*, 2015), přičemž interakce s D₂ vedou, skrze zatím neodhalené mechanismy, k útlumu tohoto protektivního účinku. D₂ receptor, který patří do rodiny receptorů inhibujících adenylátcyklázu, tedy působí proti adenosinovému receptoru, čímž může také přispívat k patogenezi ALS (Lai *et al.*, 2018).

Progresivní postup ALS je doprovázen i alteracemi v dráze serotonergní. Dle studií může být například neustálá nadměrná aktivace 5-HT_{2B/2C} receptorů, ke které zřejmě dochází z důvodů odumírání serotoninových neuronů, příčinou spasticity (El Oussini *et al.*, 2017). Úplné vyřazení genů pro 5-HT_{2B} ale vede ke snížení životaschopnosti testovaných subjektů a urychlen je i samotný nástup onemocnění (El Oussini *et al.*, 2016). Na vzorcích tkání pacientů s ALS bylo také ve srovnání s kontrolní bezpříznakovou skupinou pozorováno snížení zastoupení ligand vázajících 5-HT_{1A} receptorů, přičemž rozdíly byly nejpatrnější v oblasti pyramidální dráhy (Turner *et al.*, 2005).

5 Závěr

Bylo mnohokrát dokázáno, že G proteiny, jejich receptory a celkově vzato signální dráhy, ve kterých figurují, bezesporu patří mezi faktory, které často v rámci neurodegenerativních procesů zasahujících CNS podléhají patologickým změnám.

Jejich studium ovšem značně komplikuje fakt, že se cesty jednotlivých signálních kaskád mnohdy prolínají – mediátorové systémy jsou komplexně propojeny a jejich vzájemné působení může být jak stimulačního tak inhibičního charakteru, membránové receptory navíc často fungují jako navzájem se ovlivňující heteromery. Není také snadné zjistit, jaké změny představují příčiny rozvoje neurodegenerativních procesů, a které jsou naopak jejich důsledkem. Průběh chorob, které jsou v rámci této rešerše zmíněny, je navíc poměrně dynamickou záležitostí, je tedy známo široké spektrum procesů charakteristických jak pro ranná, tak pro pozdní stádia nemoci. I přes četné obtíže se však stále daří objevovat a popisovat nové buněčné mechanismy, které rozvoj těchto chorob doprovázejí, a na jejichž stručné shrnutí se zaměřila i tato práce.

Ukazuje se, že některé dráhy jsou ovlivněny na mnoha úrovních (patologie se projevují na širokém spektru receptorů s pozměněnou funkcí, jako např. serotonergní systém). U jiných, například u dráhy glutamatergní, většina výzkumů konkrétněji cílí na jeden či dva nejvíce zasažené receptory (mGluR₅). Glutamatergní signální dráha se také jeví jako nejčastěji postihovaný mediátorový systém, jelikož podléhá různě rozsáhlým poruchám napříč všemi zmíněnými neurodegenerativními chorobami. Starší studie se v souvislosti s konkrétní chorobou zaměřovaly primárně na jeden mediátorový systém, jehož poškození bylo u zkoumaných subjektů nejvíce patrné (např. cholinergní systém u pacientů s Alzheimerovou chorobou, dopaminergní u pacientů s Parkinsonovou chorobou atd.). Díky vědeckému pokroku v podobě nových metod a postupů je dnes ale možné zkoumat tyto děje detailněji, což odhaluje nové role dalších signálních systémů, jež byly dříve v pozadí.

Další výzkumy zaměřené na tuto problematiku mohou vést k významným objevům klíčovými pro účinnější léčbu v současnosti nejrozšířenějších neurodegenerativních chorob, jelikož například GPCRs představují slibné cíle pro vývoj nových, velice přesně cílených farmak.

6 Seznam literatury

Alkon, DL, Sun, MK, and Nelson, TJ (2007). PKC signaling deficits: a mechanistic hypothesis for the origins of Alzheimer's disease. *Trends Pharmacol Sci* 28, 51–60.

Anborgh, PH, Godin, C, Pampillo, M, Dhimi, GK, Dale, LB, Cregan, SP, Truant, R, and Ferguson, SSG (2005). Inhibition of metabotropic glutamate receptor signaling by the huntingtin-binding protein optineurin. *J Biol Chem* 280, 34840–34848.*

Ashford, JW (2004). APOE genotype effects on Alzheimer's disease onset and epidemiology. *J Mol Neurosci* 23, 157–165.

Bartus, RT, Dean, RL, Beer, B, and Lippa, AS (1982). The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science* 217, 408–417.

Beggiato, S, Tomasini, MC, Borelli, AC, Borroto-Escuela, DO, Fuxe, K, Antonelli, T, Tanganelli, S, and Ferraro, L (2016). Functional role of striatal A2A, D2, and mGlu5 receptor interactions in regulating striatopallidal GABA neuronal transmission. *J Neurochem* 138, 254–264.

Bellocchio, L, Ruiz-Calvo, A, Chiarlone, A, Cabanas, M, Resel, E, Cazalets, JR, Blázquez, C, Cho, YH, Galve-Roperh, X, and Guzmán, M (2016). Sustained Gq-protein signaling disrupts striatal circuits via JNK. *J Neurosci* 36, 10611–10624.

Berridge, MJ (1986). Regulation of ion channels by inositol trishosphate and diacylglycerol. *J Exp Biol* 124, 323–335.

Bonifacino, T, Cattaneo, L, Gallia, E, Puliti, A, Melone, M, Provenzano, F, Bossi, S, Musante, I, Usai, C, Conti, F, Bonanno, G, and Milanese, M (2017). In-vivo effects of knocking-down metabotropic glutamate receptor 5 in the SOD1G93A mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Neuropharmacology* 123, 433–445.

Bormann, J (2000). The “ABC” of GABA receptors. *Trends Pharmacol Sci* 21, 16–19.*

Bourne, HR (1997). How receptors talk to trimeric G proteins. *Curr Opin Cell Biol* 9, 134–142.

Braak, H, and Braak, E (2000). Pathoanatomy of Parkinson's disease. *J Neurol Suppl* 247, 3–10.

Brochard, V, Combadière, B, Prigent, A, Laouar, Y, Perrin, A, Beray-Berthet, V, Bonduelle, O, Alvarez-Fischer, D, Callebert, J, Launay, JM, Duyckaerts, C, Flavell, RA, Hirsch, EC, and Hunot, S (2009). Infiltration of CD4+ lymphocytes into the brain contributes to

neurodegeneration in a mouse model of Parkinson disease. *J Clin Invest* 119, 182–192.

Bushati, N, and Cohen, SM (2008). microRNAs in neurodegeneration. *Curr Opin Neurobiol* 18, 292–296.

Cannon, JR, and Greenamyre, JT (2011). The Role of Environmental Exposures in Neurodegeneration and Neurodegenerative Diseases. *Toxicol Sci* 124, 225–250.

Chen, Y, Ni, YY, Liu, J, Lu, JW, Wang, F, Wu, XL, Gu, MM, Lu, ZY, Wang, ZG, and Ren, ZH (2013). Dopamine receptor 3 might be an essential molecule in 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced neurotoxicity. *BMC Neurosci* 14, 1–8.

Chou, KC (2005). Prediction of G-protein-coupled receptor classes. *J Proteome Res* 4, 1413–1418.

Clapham, DE, and Neer, EJ (1997). G protein $\beta\gamma$ subunits. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 37, 167–203.*

Contreras, F, Prado, C, González, H, Franz, D, Osorio-Barrios, F, Osorio, F, Ugalde, V, Lopez, E, Elgueta, D, Figueroa, A, Lladser, A, and Pacheco, R (2016). Dopamine Receptor D3 Signaling on CD4 + T Cells Favors Th1- and Th17-Mediated Immunity. *J Immunol* 196, 4143–4149.

Cowen, PJ (1991). Serotonin receptor subtypes: Implications for Psychopharmacology. *Br J Psychiatry* 159, 7–14.*

Dexter, DT, Carter, CJ, Wells, FR, Javoy-Agid, F, Agid, Y, Lees, A, Jenner, P, and Marsden, CD (1989). Basal Lipid Peroxidation in Substantia Nigra Is Increased in Parkinson's Disease. *J Neurochem* 52, 381–389.

Dohlman, HG, and Thorner, J (1997). RGS proteins and signaling by heterotrimeric G proteins. *J Biol Chem* 272, 3871–3874.*

Doria, JG, de Souza, JM, Silva, FR, Olmo, IG, Carvalho, TG, Alves-Silva, J, Ferreira-Vieira, TH, Santos, JT, Xavier, CQS, Silva, NC, Maciel, EMA, Conn, PJ, and Ribeiro, FM (2018). The mGluR5 positive allosteric modulator VU0409551 improves synaptic plasticity and memory of a mouse model of Huntington's disease. *J Neurochem* 147, 222–239.

Doria, JG, de Souza, JM, Andrade, JN, Rodrigues, HA, Guimaraes, IM, Carvalho, TG, Guatimosim, C, Dobransky, T, and Ribeiro, FM (2015). The mGluR5 positive allosteric modulator, CDPPB, ameliorates pathology and phenotypic signs of a mouse model of Huntington's disease. *Neurobiol Dis* 73, 163–173.

Drachman, DA, and Leavitt, J (1974). Human Memory and the Cholinergic System: A Relationship to Aging? *Arch Neurol* 30, 113–121.

Elgueta, D, Aymerich, MS, Contreras, F, Montoya, A, Celorrio, M, Rojo-Bustamante, E, Riquelme, E, González, H, Vásquez, M, Franco, R, and Pacheco, R (2017). Pharmacologic antagonism of dopamine receptor D3 attenuates neurodegeneration and motor impairment in a mouse model of Parkinson's disease. *Neuropharmacology* 113, 110–123.

Van Eps, N, Oldham, WM, Hamm, HE, and Hubbell, WL (2006). Structural and dynamical changes in an α -subunit of a heterotrimeric G protein along the activation pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103, 16194–16199.

Fredriksson, R, Lagerström, MC, Lundin, LG, and Schiöth, HB (2003). The G-protein-coupled receptors in the human genome form five main families. Phylogenetic analysis, paralogon groups, and fingerprints. *Mol Pharmacol* 63, 1256–1272.

Fredriksson, R, Lagerström, MC, and Schiöth, HB (2005). Expansion of the superfamily of G-protein-coupled receptors in chordates. *Ann N Y Acad Sci* 1040, 89–94.

Fredriksson, R, and Schiöth, HB (2006). G Protein-coupled Receptors in the Human Genome. In: *Ligand Design for G Protein-Coupled Receptors*, Wiley-VCH, 1–2.*

Fu, H, Hardy, J, and Duff, KE (2018). Selective vulnerability in neurodegenerative diseases. *Nat Neurosci* 21, 1350–1358.*

Gao, HM, and Hong, JS (2008). Why neurodegenerative diseases are progressive: uncontrolled inflammation drives disease progression. *Trends Immunol* 29, 357–365.

Garca-Jimnez, A, Cowburn, RF, Ohm, TG, Lasn, H, Winblad, B, Bogdanovic, N, and Fastbom, J (2002). Loss of stimulatory effect of guanosine triphosphate on [35S]GTP γ S binding correlates with Alzheimer's disease neurofibrillary pathology in entorhinal cortex and CA1 hippocampal subfield. *J Neurosci Res* 67, 388–398.

Giribaldi, F, Milanese, M, Bonifacino, T, Anna Rossi, PI, Di Prisco, S, Pittaluga, A, Tacchetti, C, Puliti, A, Usai, C, and Bonanno, G (2013). Group i metabotropic glutamate autoreceptors induce abnormal glutamate exocytosis in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Neuropharmacology* 66, 253–263.

Gordon, PH (2013). Amyotrophic lateral sclerosis: An update for 2013 clinical features, pathophysiology, management and therapeutic trials. *Aging Dis* 4, 295–310.*

Guo, Y, Rosati, B, and Scarlata, S (2012). α -synuclein increases the cellular level of

phospholipase C β 1. *Cell Signal* 24, 1109–1114.

Guo, Y, and Scarlata, S (2013). A loss in cellular protein partners promotes α -synuclein aggregation in cells resulting from oxidative stress. *Biochemistry* 52, 3913–3920.

Hadcocks, JR, Ross, M, Watkins, DC, and Malbon, CC (1990). Cross-regulation between G-protein-mediated Pathways . *J Biol Chem* 265, 147–148.

Hongpaisan, J, Sun, MK, and Alkon, DL (2011). PKC ϵ activation prevents synaptic loss, A β elevation, and cognitive deficits in alzheimer's disease transgenic mice. *J Neurosci* 31, 630–643.

Huot, P, Johnston, TH, Darr, T, Hazrati, LN, Visanji, NP, Pires, D, Brotchie, JM, and Fox, SH (2010). Increased 5-HT_{2A} receptors in the temporal cortex of Parkinsonian patients with visual hallucinations. *Mov Disord* 25, 1399–1408.

Kirkwood, SC, Su, JL, Conneally, PM, and Foroud, T (2001). Progression of symptoms in the early and middle stages of Huntington disease. *Arch Neurol* 58, 273–278.

Kish, SJ, Shannak, K, and Hornykiewicz, O (1988). Uneven Pattern of Dopamine Loss in the Striatum of Patients with Idiopathic Parkinson's Disease. *N Engl J Med* 318, 876–880.

Kleuss, C, Hescheler, J, Ewel, C, Rosenthal, W, Schultz, G, and Wittig, B (1991). Assignment of G-protein subtypes to specific receptors inducing inhibition of calcium currents. *Nature* 353, 43–48.

Kolakowski, LF (1994). GCRDb: A G-protein-coupled receptor database. *Recept Channels* 2, 1–7.

Kometer, M, Cahn, BR, Andel, D, Carter, OL, and Vollenweider, FX (2011). The 5-HT_{2A/1A} Agonist Psilocybin Disrupts Modal Object Completion Associated with Visual Hallucinations. *Biol Psychiatry* 69, 399–406.

Koyrakh, L, Luján, R, Colón, J, Karschin, C, Kurachi, Y, Karschin, A, and Wickman, K (2005). Molecular and cellular diversity of neuronal G-protein-gated potassium channels. *J Neurosci* 25, 11468–11478.

Lai, C-Y, Liu, Y-J, Lai, H-L, Chen, H-M, Kuo, H-C, Liao, Y-P, and Chern, Y (2018). The D₂ Dopamine Receptor Interferes With the Protective Effect of the A_{2A} Adenosine Receptor on TDP-43 Mislocalization in Experimental Models of Motor Neuron Degeneration. *Front Neurosci* 12, 187–201.

Li, Y, Huang, XF, Deng, C, Meyer, B, Wu, A, Yu, Y, Ying, W, Yang, GY, Yenari, MA, and

Wang, Q (2010). Alterations in 5-HT_{2A} receptor binding in various brain regions among 6-hydroxydopamine-induced Parkinsonian rats. *Synapse* 64, 224–230.

Liu, YJ, Lee, LM, Lai, HL, and Chern, Y (2015). Aberrant activation of AMP-activated protein kinase contributes to the abnormal distribution of HuR in amyotrophic lateral sclerosis. *FEBS Lett* 589, 432–439.

MacDonald, ME, Ambrose, CM, Duyao, MP, Myers, RH, Lin, C, Srinidhi, L, Barnes, G, Taylor, SA, James, M, Groot, N, MacFarlane, H, Jenkins, B, Anderson, MA, Wexler, NS, Gusella, JF, Bates, GP, Baxendale, S, and Hummerich, H (1993). A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. *Cell* 72, 971–983.

Masters, CL, Cappai, R, Barnham, KJ, and Villemagne, VL (2006). Molecular mechanisms for Alzheimer's disease: implications for neuroimaging and therapeutics. *J Neurochem* 97, 1700–1725.*

Mecca, AP, McDonald, JW, Michalak, HR, Godek, TA, Harris, JE, Pugh, EA, Kemp, EC, Chen, MK, Salardini, A, Nabulsi, NB, Lim, K, Huang, Y, Carson, RE, Strittmatter, SM, and Van Dyck, CH (2020). PET imaging of mGluR5 in Alzheimer's disease. *Alzheimer's Res Ther* 12, 15–26.

Milanese, M, Giribaldi, F, Melone, M, Bonifacino, T, Musante, I, Carminati, E, Rossi, PIA, Vergani, L, Voci, A, Conti, F, Puliti, A, and Bonanno, G (2014). Knocking down metabotropic glutamate receptor 1 improves survival and disease progression in the SOD1G93A mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiol Dis* 64, 48–59.

Mishra, A, Singh, S, and Shukla, S (2018). Physiological and Functional Basis of Dopamine Receptors and Their Role in Neurogenesis: Possible Implication for Parkinson's disease. *J Exp Neurosci* 12, 529–540.*

Moreno-Delgado, D, Puigdemívol, M, Moreno, E, Rodríguez-Ruiz, M, Botta, J, Gasperini, P, Chiarlone, A, Howell, LA, Scarselli, M, Casadó, V, Cortés, A, Ferré, S, Guzmán, M, Lluís, C, Alberch, J, Canela, EI, Ginés, S, and McCormick, PJ (2020). Modulation of dopamine d1 receptors via histamine h3 receptors is a novel therapeutic target for huntington's disease. *Elife* 9, 1–31.

Narayanan, V, Guo, Y, and Scarlata, S (2005). Fluorescence studies suggest a role for α -synuclein in the phosphatidylinositol lipid signaling pathway. *Biochemistry* 44, 462–470.

Nemy, M, Cedres, N, Grothe, MJ, Muehlboeck, JS, Lindberg, O, Nedelska, Z, Stepankova, O, Vyslouzilova, L, Eriksdotter, M, Barroso, J, Teipel, S, Westman, E, and Ferreira, D (2020). Cholinergic white matter pathways make a stronger contribution to attention and memory in normal aging than cerebrovascular health and nucleus basalis of Meynert. *Neuroimage* 211, 116–128.

Neumann, E, Khawaja, K, and Müller-Ladner, U (2014). G protein-coupled receptors in rheumatology. *Nat Rev Rheumatol* 10, 429–436.

van Neuren, A, Muller, G, and Klebe, G (1999). Molecular modelling studies on G protein-coupled receptors: From sequence to structure? *J Recept Signal Transduct Res* 19, 341–353.

Nichols, WC, Pankratz, N, Hernandez, D, Paisán-Ruiz, C, Jain, S, Halter, CA, Michaels, VE, Reed, T, Rudolph, A, Shults, CW, Singleton, A, and Foroud, T (2005). Genetic screening for a single common LRRK2 mutation in familial Parkinson’s disease. *Lancet* 365, 410–412.

Orr, AG, Hsiao, EC, Wang, MM, Ho, K, Kim, DH, Wang, X, Guo, W, Kang, J, Yu, GQ, Adame, A, Devidze, N, Dubal, DB, Masliah, E, Conklin, BR, and Mucke, L (2015). Astrocytic adenosine receptor A2A and Gs-coupled signaling regulate memory. *Nat Neurosci* 18, 423–439.

El Oussini, H, Bayer, H, Scekcic-Zahirovic, J, Vercruysee, P, Sinniger, J, Dirrig-Grosch, S, Dieterlé, S, Echaniz-Laguna, A, Larmet, Y, Müller, K, Weishaupt, JH, Thal, DR, van Rheenen, W, van Eijk, K, Lawson, R, Monassier, L, Maroteaux, L, and Roumier, A (2016). Serotonin 2B receptor slows disease progression and prevents degeneration of spinal cord mononuclear phagocytes in amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neuropathol* 131, 465–480.

El Oussini, H, Scekcic-Zahirovic, J, Vercruysee, P, Marques, C, Dirrig-Grosch, S, Dieterlé, S, Picchiarelli, G, Sinniger, J, Rouaux, C, and Dupuis, L (2017). Degeneration of serotonin neurons triggers spasticity in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol* 82, 444–456.

Overk, CR, Felder, CC, Tu, Y, Schober, DA, Bales, KR, Wu, J, and Mufson, EJ (2010). Cortical M1 receptor concentration increases without a concomitant change in function in Alzheimer’s disease. *J Chem Neuroanat* 40, 63–70.

Palmer, TM, and Stiles, GL (1995). Adenosine receptors. *Neuropharmacology* 34, 683–694.*

Park, D, JhonS, D-Y, Lees, C-W, Leell, K-H, Goo Rheell, S, and Biochem, EJ (1993). Activation of Phospholipase C Isozymes by G Protein $\beta\gamma$ Subunits. *J Biol Chem* 268, 23069–23075.

Picciotto, MR, Higley, MJ, and Mineur, YS (2012). Acetylcholine as a Neuromodulator: Cholinergic Signaling Shapes Nervous System Function and Behavior. *Neuron* 76, 116–129.*

Pin, JP, and Bockaert, J (1995). Get receptive to metabotropic glutamate receptors. *Curr Opin Neurobiol* 5, 342–349.

Potter, PE, Rauschkolb, PK, Pandya, Y, Sue, LI, Sabbagh, MN, Walker, DG, and Beach, TG (2011). Pre- and post-synaptic cortical cholinergic deficits are proportional to amyloid plaque presence and density at preclinical stages of Alzheimer’s disease. *Acta Neuropathol* 122, 49–60.

Van Praag, HM, Korf, J, Lakke, JPWF, and Schut, T (1975). Dopamine metabolism in depressions, psychoses, and Parkinson’s disease: The problem of the specificity of biological variables in behaviour disorders. *Psychol Med* 5, 138–146.

Przedborski, S, Vila, M, and Jackson-Lewis, V (2003). Neurodegeneration: What is it and where are we? *J Clin Invest* 111, 3–10.

Renner, M, Lacor, PN, Velasco, PT, Xu, J, Contractor, A, Klein, WL, and Triller, A (2010). Deleterious Effects of Amyloid β Oligomers Acting as an Extracellular Scaffold for mGluR5. *Neuron* 66, 739–754.

Retamal, JS, Ramírez-García, PD, Shenoy, PA, Poole, DP, and Veldhuis, NA (2019). Internalized GPCRs as Potential Therapeutic Targets for the Management of Pain. *Front Mol Neurosci* 12, 273–283.

Ribeiro, FM, Paquet, M, Ferreira, LT, Cregan, T, Swan, P, Cregan, SP, and Ferguson, SSG (2010). Metabotropic glutamate receptor-mediated cell signaling pathways are altered in a mouse model of Huntington’s disease. *J Neurosci* 30, 316–324.

Ross, CA, and Tabrizi, SJ (2011). Huntington’s disease: From molecular pathogenesis to clinical treatment. *Lancet Neurol* 10, 83–98.*

Rubinsztein, DC, Leggo, J, Coles, R, Almqvist, E, Biancalana, V V., Cassiman, JJ, Chotai, K, Connarty, M, Craufurd, D, Curtis, A, Curtis, D, Davidson, MJ, Differ, AM, Dode, C, Dodge, A, Frontali, M, Ranen, NG, and Stine, OC (1996). Phenotypic characterization of individuals with 30-40 CAG repeats in the Huntington disease (HD) gene reveals HD cases with 36 repeats and apparently normal elderly individuals with 36-39 repeats. *Am J Hum Genet* 59, 16–22.

Sakmar, TP (2002). Structure of rhodopsin and the superfamily of seven-helical receptors: The same and not the same. *Curr Opin Cell Biol* 14, 189–195.

- Schon, EA, and Manfredi, G (2003). Neuronal degeneration and mitochondrial dysfunction. *J Clin Invest* 111, 303–312.
- Sebastianutto, I, Goyet, E, Andreoli, L, Font-Ingles, J, Moreno-Delgado, D, Bouquier, N, Jahannault-Talignani, C, Moutin, E, Di Menna, L, Maslava, N, Pin, JP, Fagni, L, Nicoletti, F, Ango, F, Cenci, MA, and Perroy, J (2020). D1-mGlu5 heteromers mediate noncanonical dopamine signaling in Parkinson's disease. *J Clin Invest* 130, 1168–1184.
- Shigemoto, R, Kinoshita, A, Wada, E, Nomura, S, Ohishi, H, Takada, M, Flor, PJ, Neki, A, Abe, T, Nakanishi, S, and Mizuno, N (1997). Differential presynaptic localization of metabotropic glutamate receptor subtypes in the rat hippocampus. *J Neurosci* 17, 7503–7522.
- Shulman, LM, Taback, RL, Rabinstein, AA, and Weiner, WJ (2002). Non-recognition of depression and other non-motor symptoms in Parkinson's disease. *Park Relat Disord* 8, 193–197.
- Silva, AC, Lemos, C, Gonçalves, FQ, Pliássova, A V., Machado, NJ, Silva, HB, Canas, PM, Cunha, RA, Lopes, JP, and Agostinho, P (2018). Blockade of adenosine A2A receptors recovers early deficits of memory and plasticity in the triple transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Dis* 117, 72–81.
- Spillantini, MG, Crowther, RA, Jakes, R, Hasegawa, M, and Goedert, M (1998). Synuclein in filamentous inclusions of Lewy bodies from Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies (ubiquitinsarkosyl-insoluble filamentsimmunoelectron microscopy). *Neurobiol Commun* by Max F Perutz, *Med Res Counc* 95, 6469–6473.
- Stanley, RJ, and Thomas, GMH (2016). Activation of G proteins by guanine nucleotide exchange factors relies on GTPase activity. *PLoS One* 11, 322–334.
- Syrovatkina, V, Alegre, KO, Dey, R, and Huang, XY (2016). Regulation, Signaling, and Physiological Functions of G-Proteins. *J Mol Biol* 428, 3850–3868.*
- Tang, TS, Chen, X, Liu, J, and Bezprozvanny, I (2007). Dopaminergic signaling and striatal neurodegeneration in Huntington's disease. *J Neurosci* 27, 7899–7910.
- Tang, TS, Tu, H, Chan, EYW, Maximov, A, Wang, Z, Wellington, CL, Hayden, MR, and Bezprozvanny, I (2003). Huntingtin and huntingtin-associated protein 1 influence neuronal calcium signaling mediated by inositol-(1,4,5) triphosphate receptor type 1. *Neuron* 39, 227–239.
- Tang, TS, Tu, H, Orban, PC, Chan, EYW, Hayden, MR, and Bezprozvanny, I (2004). HAP1

facilitates effects of mutant huntingtin on inositol 1,4,5-trisphosphate-induced Ca²⁺ release in primary culture of striatal medium spiny neurons. *Eur J Neurosci* 20, 1779–1787.

Tománková, H, and Mysliveček, J (2012). Regulace receptorů spřažených s G proteiny. *Československá Fyziologie*, 15–23.

Tsang, SWY, Lai, MKP, Kirvell, S, Francis, PT, Esiri, MM, Hope, T, Chen, CPLH, and Wong, PTH (2006). Impaired coupling of muscarinic M1 receptors to G-proteins in the neocortex is associated with severity of dementia in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 27, 1216–1223.

Turner, MR, Rabiner, EA, Hammers, A, Al-Chalabi, A, Grasby, PM, Shaw, CE, Brooks, DJ, and Leigh, PN (2005). [11C]-WAY100635 PET demonstrates marked 5-HT1A receptor changes in sporadic ALS. *Brain* 128, 896–905.

Um, JW, Kaufman, AC, Kostylev, M, Heiss, JK, Stagi, M, Takahashi, H, Kerrisk, ME, Vortmeyer, A, Wisniewski, T, Koleske, AJ, Gunther, EC, Nygaard, HB, and Strittmatter, SM (2013). Metabotropic Glutamate Receptor 5 Is a Coreceptor for Alzheimer A β Oligomer Bound to Cellular Prion Protein. *Neuron* 79, 887–902.

Varlow, C, Murrell, E, Holland, JP, Kassenbrock, A, Shannon, W, Liang, SH, Vasdev, N, and Stephenson, NA (2020). Revisiting the Radiosynthesis of [18F]FPEB and Preliminary PET Imaging in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Molecules* 25, 982–991.

Vidal, B, Sebti, J, Verdurand, M, Fieux, S, Billard, T, Streichenberger, N, Troakes, C, Newman-Tancredi, A, and Zimmer, L (2016). Agonist and antagonist bind differently to 5-HT1A receptors during Alzheimer's disease: A post-mortem study with PET radiopharmaceuticals. *Neuropharmacology* 109, 88–95.

Volta, M, Lavdas, AA, Obergasteiger, J, Überbacher, C, Picard, A, Pramstaller, PP, Hicks, AA, and Corti, C (2017). Elevated levels of alpha-synuclein blunt cellular signal transduction downstream of Gq protein-coupled receptors. *Cell Signal* 30, 82–91.

Wang, B, Yang, L, Wang, Z, and Zheng, H (2007). Amyloid precursor protein mediates presynaptic localization and activity of the high-affinity choline transporter. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104, 14140–14145.

Warby, SC, Visscher, H, Collins, JA, Doty, CN, Carter, C, Butland, SL, Hayden, AR, Kanazawa, I, Ross, CJ, and Hayden, MR (2011). HTT haplotypes contribute to differences in Huntington disease prevalence between Europe and East Asia. *Eur J Hum Genet* 19, 561–566.

Watanabe, T, Yamagata, N, Takasaki, K, Sano, K, Hayakawa, K, Katsurabayashi, S, Egashira,

N, Mishima, K, Iwasaki, K, and Fujiwara, M (2009). Decreased acetylcholine release is correlated to memory impairment in the Tg2576 transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Brain Res* 1249, 222–228.

Williams, DR, and Lees, AJ (2005). Visual hallucinations in the diagnosis of idiopathic Parkinson's disease: A retrospective autopsy study. *Lancet Neurol* 4, 605–610.

Wu, D, Katz, A, and Simon, MI (1993). Activation of phospholipase C β 2 by the α and $\beta\gamma$ subunits of trimeric GTP-binding protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 90, 5297–5301.

Wu, J, Ryskamp, DA, Liang, X, Egorova, P, Zakharova, O, Hung, G, and Bezprozvanny, I (2016). Enhanced store-operated calcium entry leads to striatal synaptic loss in a huntington's disease mouse model. *J Neurosci* 36, 125–141.

Yi, JH, Whitcomb, DJ, Park, SJ, Martinez-Perez, C, Barbati, SA, Mitchell, SJ, and Cho, K (2020). M1 muscarinic acetylcholine receptor dysfunction in moderate Alzheimer's disease pathology. *Brain Commun* 2, 113–126.

* Review