

Univerzita Karlova

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie



Lenka Štálníková

Role ferroptózy v patogenezi Alzheimerovy choroby

The role of ferroptosis in the pathogenesis of Alzheimer's disease

Bakalářska práce

Vedoucí práce: RNDr. Vladimír Rudajev, Ph.D.

Praha, 2025

Pod'akovanie:

Rada by som poďakovala svojmu najmilšiemu školiteľovi RNDr. Vladimírovi Rudajevovi, Ph.D. za jeho ochotu, trpezlivosť a cenné rady. Ďakujem taktiež svojim kamarátom a maminke za morálnu podporu.

Prohlášení:

Prehlasujem, že som záverečnú prácu spracovala samostatne a že som uviedla všetky použité informačné zdroje a literatúru. Táto práca ani jej podstatná časť nebola predložená k získaniu iného alebo rovnakého akademického titulu. V priebehu písania práce boli použité nástroje umelej inteligencie (AI) na jazykovú úpravu.

V Prahe dňa 28.4.2025

Meno a priezvisko

Lenka Štálniková

ABSTRAKT:

Alzheimerova choroba je progresívne neurodegeneratívne ochorenie charakterizované atrofiou nervového tkaniva a kognitívnym úpadkom vo forme demencie. Regulovaná bunková smrť neurónov je nevyhnutný fyziologický proces, no pri jej dysregulácii môže dôjsť k patologickému poškodeniu neurónov. Cieľ práce je zameraný na ferroptózu – železom závislý typ regulovanej bunkovej smrti spojený s lipidovou peroxidáciou. Zaoberá sa hlavnými mechanizmami ferroptózy vrátane dysregulácie homeostázy železa, úlohu antioxidantného systému (GSH, GPx4), ako aj súvislosťou s akumuláciou amyloidu- β a hyperfosforyláciou tau proteínu v patogenéze Alzheimerovej choroby. Zároveň hodnotí potenciálne terapeutické prístupy zamerané na inhibíciu ferroptózy ako perspektívny farmakologický cieľ.

Kľúčové slová: Alzheimerova choroba; ferroptóza; bunková smrť; amyloid β ; železo; reaktívne kyslíkové radikály

ABSTRACT:

Alzheimer's disease is a progressive neurodegenerative disorder characterized by atrophy of nerve tissue and cognitive decline in the form of dementia. Regulated cell death of neurons is an essential physiological process, but its dysregulation can lead to pathological damage to neurons. The aim of this study is to focus on ferroptosis, an iron-dependent type of regulated cell death associated with lipid peroxidation. It deals with the main mechanisms of ferroptosis, including iron homeostasis dysregulation, the role of the antioxidant system (GSH, GPx4), as well as the connection with amyloid- β accumulation and tau protein hyperphosphorylation in the pathogenesis of Alzheimer's disease. At the same time, it evaluates potential therapeutic approaches aimed at inhibiting ferroptosis as a promising therapeutic and pharmacological target.

Key words: Alzheimer's disease; ferroptosis; cell death; amyloid β ; iron; reactive oxygen radicals

Zoznam skratiek:

AA	Alzheimerova asociácia
AD	Alzheimerova choroba
A β	amyloid beta
AMPK	adenozín 5-monofosfát aktivovaná proteinkináza
APP	amyloidový prekurzorový proteín
ATP	adenozíntrifosfát
BBB	hematoencefalická bariéra
CD36	diferenciačná skupina 36
CNS	centrálne nervová sústava
CSF	mozgomiešny mok
DFO	deferoxamín
Fer-1	ferrostatín
GCL	γ -glutamylcystein syntetáza
GPx4	glutatiónpoxidáza 4
GPx1	glutatiónpoxidáza 1
GSH	glutatión
GSK-3 β	glykogénsyntáza kinázy-3 β
HDAC6	histondeacetyláza 6
LIP	labilný pool železa
MAPK	mitogénom aktivovaná proteinkináza
MAPT	proteín asociovaný s mikrotubulmi
MRI	magnetická rezonancia
NIA	Národný inštitút pre starnutie
NFT	neurofibrilárne kľbká
NOD-like receptor	receptory rozpoznávajúce nukleotidy a oligomerizáciu
PCBP1	poly(rC) viažuci proteín 1
PCD	programovaná bunková smrť
PET	pozitronová emisná tomografia
PHF	párové helikálne filamenty
PINK1	kináza 1 indukovaná fosfatázovým a tenzínovým homológom
Pr-SSG	glutacionované proteíny

PUFA	polyenasýtené mastné kyseliny
pTau	hyperfosforylovaný τ -proteín
QSM	kvantitatívne mapovanie susceptibility
RAS	renin-angitensin-aldosteronový systém
RCD	regulovaná bunková smrť
Tau	τ -proteín
TG	transgénny typ
WT	divoký typ
ThA	thonningianin A
TNF- α	faktor nádorovej nekrózy α
TRF-1	transferínový receptor
VDAC	napät'ovo závislé aniónové kanály
z-VAD-FMK	karbobenzoxy-valyl-alanyl-aspartyl-[O-methyl]-fluoromethylketon

Obsah

Úvod 1

1. Alzheimerova choroba.....	2
1.1. Bunková smrť a jej typy	3
1.1.1. Apoptóza	3
1.1.2. Autofágia.....	3
1.1.3. Nekróza	3
1.1.4. Pyroptóza.....	4
2. Ferroptóza.....	4
2.1. História objavu	4
2.2. Mechanizmus: lipidová peroxidácia a súvisiace dráhy	5
2.2.1. Tvorba ROS.....	5
2.2.2. Úloha železa v bunkách.....	6
2.2.2.1. Redoxná aktivita.....	7
2.2.2.2. Fentonova reakcia	7
2.2.2.3. Homeostáza železa	7
2.2.3. Lipidová peroxidácia.....	8
2.3.1.1. Xc ⁻ systém.....	9
2.3.1.2. Cyklus cysteín/cystín.....	10
2.3.1.3. Glutatión (GSH)	10
2.3.1.4. Glutatiónperoxidáza 4 (GPx4)	11
3. Vzťah ferroptózy, amyloidu-β a τ-proteínu	14
3.1. Amyloid-β	14
3.1.1. Charakteristika amyloidu β	14
3.1.2. Patológia amyloidu-β v Alzheimerovej chorobe	15
3.2. Tau proteín.....	16
3.2.1. Fyziologická funkcia a izoformy tau.....	16
3.2.2. Ferroptóza a patologická agregácia tau v AD	16
4. Ferroptóza ako terapeutický cieľ pri AD	17
4.1.1. Typické prístupy k inhibícii ferroptózy	17
4.2. Inovatívne prístupy inhibície ferroptózy	18
Záver 20	
Zoznam literatúry :	21

Úvod

V roku 2011 Národný inštitút pre starnutie (NIA) a Alzheimerova asociácia (AA) vytvorili výskumnú skupinu, s cieľom zjednotiť pohľad na definujúce biomarkery a ukazovatele Alzheimerovej choroby (AD). Výsledkom bola formulácia diagnostických smerníc pre symptomatické a klinické štádiá AD. Tieto smernice boli navrhnuté za účelom štandardizovať hodnotenie progresie ochorenia medzi jednotlivými štádiami pre potreby klinickej praxe. Vzhľadom na významný posun vo výskume bola v roku 2018 vytvorená nová vedecká skupina, ktorá aktualizovala existujúci výskumný rámec s väčším dôrazom na novoobjavené biomarkery. Pôvodne bolo ochorenie rozdelené na rannú a neskorú fázu, ale nakoniec bolo uznané, že AD je plynulý neurodegeneratívny proces, ktorého štádiá sa prelínajú a nedajú sa jednoznačne oddeliť (Jack et al., 2018).

Jedným z charakteristických znakov AD je výrazná atrofia mozgu. Fyziologické odumieranie patologicky zmenených neurónov je regulované procesom programovanej bunkovej smrti (PCD). Presné mechanizmy spúšťajúce AD zatiaľ nie sú známe, čo je jedným z dôvodov, prečo ochorenie zostáva neliečiteľné. Súčasný výskum sa intenzívne zameriava na identifikáciu primárnych príčin vzniku AD, čo by mohlo viesť k vývoju efektívnych terapeutických stratégií. Najrozšírenejšie hypotézy o patogenéze AD sa sústreďujú na patologickú akumuláciu β -amyloidových plakov ($A\beta$) a hyperfosforylovaného τ -proteínu (pTau) vedúceho k tvorbe tzv. neurofibrilárnych klobiek (NFT). Vzhľadom na obmedzenú schopnosť regenerácie neurónov je významná nevyhnutnosť regulácie tohto fyziologického procesu. Pôvodne bolo identifikovaných len niekoľko typov PCD, čo uľahčovalo ich klasifikáciu. Postupom času a napredovaním výskumu boli odhalené ďalšie.

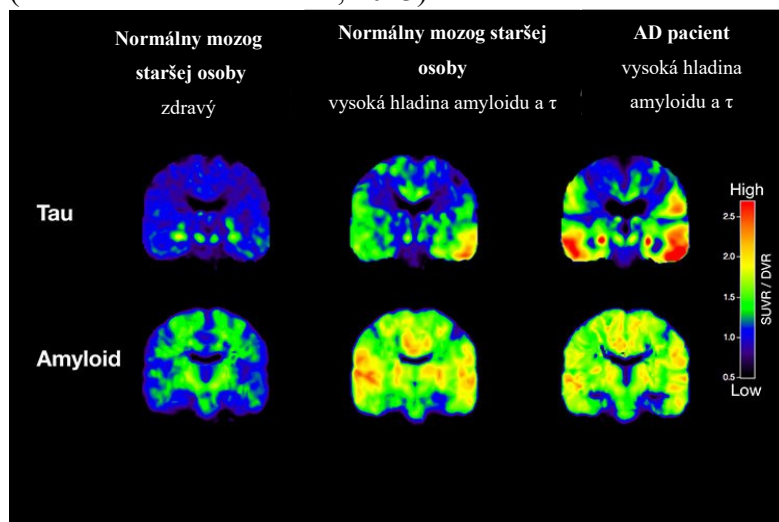
Štúdie preukázali zvýšené hladiny železa v mozgovom tkanive pri viacerých neurodegeneratívnych ochoreniach, vrátane AD. Naznačujú, že železo podporuje agregáciu $A\beta$ (Rottkamp et al., 2001) a aj pTau (Sayre et al., 2000).

1. Alzheimerova choroba

Alois Alzheimer sa v roku 1907 stretol s prípadom 51 ročnej ženy zo sanatória vo Frankfurte nad Mohanom. Pacientka vykazovala progresívne zhoršovanie kognitívnych funkcií, demenciu a s ňou sa viažúce psychiatrické symptómy vrátane halucinácií alebo zmeny osobnosti. Po 4,5 roku pacientka zomrela a posmrtným vyšetrením bola zistená difúzna atrofia mozgovej kôry. Bielschowského technika umožnila identifikáciu patologických zmien v neurofibrilách, ktoré viedli ku vzniku NFT. Tieto patologické zmeny sa líšili od dovtedy známych neuropatologických nálezov, čo viedlo k formulovaniu novej hypotézy popisujúcej klinickú symptomatológiu AD (Alzheimer, 1907 ; citované z Stelzmann et al., 1995).

Ochorenie je charakterizované zhoršením pamäte, je sprevádzané stratou schopnosti porozumieť zložitejším slovám, vykonávať náročnejšie a komplexnejšie úkony, až človek stratí schopnosť plánovať, organizovať a vykonávať jednoduché každodenné činnosti. Bola snaha definovať ochorenie aj po biochemickej stránke. Vedelo sa, že sú vytvárané amyloidové agregáty, ale dlho sa nevedelo prísť na ich zloženie, kvôli nedostačujúcim metódam. V roku 1986 bolo dokázané, že kľbká sú tvorené hyperfosforylovaným τ -proteínom 9. Predpokladá sa, že táto hyperfosforylácia má súvis s AD, vzhľadom na to, že sa nachádza v párových špirálových filamentoch, ktoré sú súčasťou NFT (Grundke-Iqbal et al., 1986).

Podľa údajov z roku 2023 bola prevalencia ochorenia v skupine 65–74 rokov je približne 5 %, v skupine 75–84 rokov 13,1 % a u osôb nad 85 rokov až 33,3 %. Incidencia, teda počet nových prípadov na 1 000 osôb za rok, bola v rovnakých vekových skupinách 4 v mladšej, 32 v staršej skupine a u osôb nad 85 rokov 76. To značí veľký spoločenský a medicínsky problém práve preto, že toto ochorenie zasahuje najmä starších ľudí a tých v populácii celosvetovo pribúda. Očakáva sa, že v roku 2050 bude počet nových prípadov dvojnásobný (Alzheimer's Association, 2023).



Obr. 1: Porovnanie PET snímku zdravého mozgu a mozgu s Alzheimerovou chorobou. (prevzaté a preložené z <https://news.berkeley.edu>)

1.1. Bunková smrť a jej typy

Regulovaná bunková smrť (RCD), známa aj ako programovaná bunková smrť (PCD) je komplexný, bunkami riadený proces. Ide o rozsiahlu sieť signálnych dráh, ktoré vedú k cielenému zániku bunky. RCD môže prebiehať ako súčasť fyziologických procesov alebo ako patologická reakcia pri degeneratívnych ochoreniach.

Štúdia z roku 1998 detailne popísala mechanizmus RCD na modelovom organizme *Caenorhabditis elegans* a identifikovala signálnu dráhu, ktorá je vysoko konzervovaná naprieč evolučne vzdialenými organizmami. Preukázala, že RCD je aktívne regulovaný proces, ktorý vyžaduje špecifické gény zodpovedné nielen za spustenie bunkovej smrti, ale aj za mechanizmy jej inhibície. Zároveň produkty týchto génov navzájom interagujú v rámci signálnych kaskád (Metzstein et al., 1998).

V súvislosti s neurodegeneratívnymi ochoreniami, najmä AD, sú najčastejšie skúmané formy PCD: apoptóza, autofágia, nekróza, pyróptóza a ferroptóza. (Goel et al., 2022).

1.1.1. Apoptóza

Apoptóza, ako jeden z mechanizmov PCD je charakterizovaná zmenšením bunky, tvorbou apoptotických teliesok a kondenzáciou jadra. Môže byť spustená zvonku, naviazaním extracelulárnych ligandov smrti (napr. Fas ligand, TNF- α) na špecifické receptory, alebo zvnútra, depolarizáciou mitochondriálnej membrány v dôsledku poškodenia bunky. Existuje variabilita spúšťacích mechanizmov, ktoré môžu v konečnom dôsledku viesť ku apoptóze (Goel et al., 2022).

1.1.2. Autofágia

Ďalším mechanizmom regulácie bunkovej homeostázy je autofágia, ktorá zabezpečuje odstraňovanie poškodených organel a proteínových agregátov. Počas nej sa tvoria autofagozomy, dvojmembránové štruktúry, ktoré sa spájajú s lyzozómami za vzniku autolyzozómov. V nich dochádza k degradácii obsahu pomocou lyzozomálnych enzýmov (Fricker et al., 2018).

1.1.3. Nekróza

Zatiaľ čo apoptóza a autofágia sú regulované bunkové procesy, nekróza je pasívny typ bunkovej smrti s dôsledkom rozsiahleho bunkového poškodenia. Môže byť spôsobená fyzikálno-chemickým stresom, ako je zmrazenie, popálenie či iné mechanické poškodenie alebo zlyhaním odstránenia apoptotických buniek. Je charakteristická narušením integrity

bunkovej membrány, opuchom bunky a uvoľnením bunkového obsahu do extracelulárneho prostredia, čo vyvoláva sekundárnu zápalovú odpoveď (Goel et al., 2022).

1.1.4. Pyroptóza

Predstavuje formu RCD, ktorá sa odlišuje svojím spojením so zápalovou odpoveďou. Dochádza k tvorbe inflamazómu, proteínového komplexu obsahujúceho prokaspázu-1, NOD-like receptory a ďalšie proteíny, ktoré sa podieľajú na imunitnej odpovedi. Iniciujú ju cytosólické receptory, ktoré rozpoznávajú molekulárnu podobnosť s patogénmi. Môže však prebiehať aj bez vzniku inflamazómu, napríklad pri priamej aktivácii lipopolysacharidom. Tento mechanizmus vedie k aktivácii kaspáz, ktoré následne štiepia gasdermin D. Výskumy ukázali, že pyroptóza zohráva dôležitú úlohu vo vrodenej imunite, zápalovej odpovedi organizmu a tumorovej supresii v niektorých typoch rakoviny (Fricker et al., 2018).

2. Ferroptóza

Predstavuje morfologicky, biochemicky a geneticky odlišný typ RCD od doposiaľ známych foriem. Na rozdiel od nich sa bunka nezmenšuje, nepraská jej membrána, nie je kondenzované jadro, netvorí sa apoptotické telieska ani autofagozómy a cytoskelet zostáva zachovaný. Typickými znakmi sú zmenšené mitochondrie, zmenšenie alebo až vymiznutie mitochondriálnych kríst, zvýšená hustota membrány a na železe závislá akumulácia kyslíkových radikálov (ROS) v dôsledku narušenia Xc⁻ systému (Dixon et al., 2012).

2.1. História objavu

V roku 2003 Dolma a spol. v rámci svojho pokusu na tému genotypovo selektívnych protinádorových látok pripravili cez 23 tisíc chemických zlúčenín, ktoré selektívne zabíjali transformované nádorové bunky bez ovplyvnenia ich nezmenených ekvivalentov. Jednou z nich bol aj erastín. Pozorovania pod fluorescenčným mikroskopom odhalili, že erastín v porovnaní s captothecinom, ktorý bol taktiež medzi testovanými látkami, spôsobuje nevratnú, relatívne rýchlu (12-24 hod.) neapoptickú smrť. Taktiež zistili, že je selektívny na RAS- a ST- syntetizujúce bunky (Dolma et al., 2003). RAS je skupina génov, ktorá kóduje malé GTPázy. Regulujú proliferáciu a diferenciáciu a patria medzi najčastejšie mutované onkogény v nádorových ochoreniach. Malý T-antigén (ST-bunky) je vírusový onkoproteín, ktorý sa vyskytuje v bunkových regulačných dráhach.

Na tento objav nadviazali Yagoda a kol., ktorí zistili, že v bunkách s onkogénnym RAS

liečených erastínom prebieha oxidačná smrť vďaka vzniku ROS. Taktiež znížením expície génu pre dve izoformy napätovo závislých aniónových kanálov (VDAC) bola odhalená zmena permeability vonkajšej mitochondriálnej membrány, čo poukazuje na jej úlohu v mechanizme účinku erastínu. Záver štúdie je, že ligandy interagujúce s VDAC môžu indukovať neapoptotickú bunkovú smrť, ak sú nositeľmi aktivačných mutácií v MAPK signalizačnej dráhe (Yagoda et al., 2007).

V roku 2008 boli pridané ďalšie 2 zlúčeniny, Ras Selective Lethal 3 (RSL3) a Ras Selective Lethal 5 (RSL5), ktoré vykazovali podobné vlastnosti a účinky, ako vtedy už známy erastín v prítomnosti RAS. RSL3 vyvolával podobný typ bunkovej smrti, avšak nezávisle od VDAC. Bunky s onkogénnym RAS vykazovali vyšší obsah železa v porovnaní s ich normálnymi ekvivalentami a dosiahli to pomocou upregulácie transferinového receptora (TRF1) a downregulácie H- a L- reťazca feritínu 1 (Yang & Stockwell, 2008).

Dixon a kol. v roku 2012 pomenovali tento neapoptotický typ RCD závislý od molekuly železa ako ferroptóza. Taktiež objavili aj silný inhibítor v rakovinnych bunkách, ferrostatín-1 a glutamátom indukovanú formu bunkovej smrti, ktorá vedie k oxidačnej, na železe závislej deštrukcii buniek (Dixon et al., 2012).

2.2. Mechanizmus: lipidová peroxidácia a súvisiace dráhy

Dôvodov prečo bunky začnú podliehať ferroptóze je niekoľko. Jednou z hlavných príčin je narušenie homeostázy železa. To môže viesť ku akumulácii lipidových peroxidov, tvorbe ROS a následnému poškodeniu bunky a až jej smrti. Kompletné metabolické procesy a mechanizmy ešte stále nie sú úplne preskúmané.

2.2.1. Tvorba ROS

V roku 1969 vznikla práca o superoxididizmutáze a jej enzymatickej funkcii. McCord a Fridovich objavili enzým, ktorý premieňa škodlivé superoxidové radikály na kyslík a peroxid vodíka (McCord & Fridovich, 1969). Týmto objavom položili základy modernej biológie oxidačného stresu.

ROS sú reaktívne molekuly obsahujúce kyslík, ktoré často vznikajú ako vedľajšie produkty aerobného metabolizmu, najmä v mitochondriách počas oxidatívnej fosforylácie. Jedným z dôsledkov je vytvorenie oxidačného stresu v bunke, ktorý vzniká nerovnováhou medzi voľnými radikálmi a antioxidantmi. Ďalšie miesta kde sa môžu vyskytovať sú peroxizómy,

cytoplazma alebo endoplazmatické retikulum. Oxidačný stres je jedným z hlavných patologických znakov AD (Pryor, 1986).

Medzi hlavné typy ROS patrí superoxidový anión, peroxid vodíka (H_2O_2), hydroxylový radikál a singletový kyslík. Pomocou výskumu v roku 1973 bolo preukázané, že izolované mitochondrie zo srdca holuba a pečene potkana produkujú H_2O_2 za aeróbnych podmienok v metabolickom stave 4, pričom tvorba H_2O_2 predstavovala 1–2 % celkovej spotreby kyslíka (Boveris & Chance, 1973). Metabolický stav 4 je fáza mitochondriálneho dýchania s dostatkom substrátu ale nedostatkom ADP. To vytvára vysoký membránový potenciál, podporuje únik elektrónov a tým aj ROS, čo potvrdili Boveris a Chance.

Odlíšné ROS majú rôznu životnosť a reaktivitu, v rámci prostredia, typu a koncentrácie, v ktorej sa nachádzajú. Jedným z najreaktívnejších voľných radikálov je hydroxylový radikál, ktorý má polčas rozpadu približne 1 ns a pôsobí na mieste svojho vzniku (Pryor, 1976a, 1986b).

2.2.2. Úloha železa v bunkách

Železo je esenciálny prvok takmer všetkých živých organizmov, V centrálnom nervovom systéme (CNS) sa železo podieľa na syntéze myelínu a neurotransmiterov (Yu & Chang, 2019). Vzhľadom na jeho zásadnú úlohu v metabolizme je udržiavanie jeho homeostázy nevyhnutné. Nedostatok aj nadbytok spôsobujú organizmu problémy. Nedostatok vedie k anémii, ďalej môže viesť ku poruchám kognitívneho vývoja a oslabeniu imunitných mechanizmov. Nadbytok môže spôsobiť poškodenie buniek, keďže železo svojou schopnosťou akceptovať a odovzdávať elektróny prispieva k tvorbe voľných radikálov. Najznámejším a hlavným prenášačom je transferín. Je to jednoreťazcový glykoproteín, ktorý má dvojlaločnú štruktúru s vysokou, pH citlivou afinitou ku Fe^{3+} , ktorá je reverzibilná (Baker & Lindley, 1992). Udržiava železo v biologicky dostupnej a menej reaktívnej forme, keďže pH v okolí je na úrovni toho plazmatického (Galy et al., 2024).

Železo, ktoré sa aktívne nezapája do biologických procesov je ukladané vo feritíne. Feritín tvorí 24 bielkovinových podjednotiek typu H a L, ktoré spolu vytvárajú heteropolymérnu štruktúru podobnú škrupine. Táto štruktúra umožňuje skladovať železo v biologicky dostupnej forme, ktorá nie je toxická. Ťažký H-reťazec obsahuje di-iron centrum s 2 atómami železa, ktoré katalyzujú oxidáciu Fe^{2+} . Ľahký L-reťazec na druhú stranu poskytuje nukleačné miesto, čo uľahčuje premenu iónov železa na ich nerozpustnú, bezpečne uloženú formu, ktorá zabraňuje toxicite. Kombinácia pomerov H- a L- reťazcov sa mení v závislosti od typu buniek (Galy et al., 2024).

2.2.2.1. Redoxná aktivita

Zvlášť nebezpečná je interakcia ROS so železom, ktoré môže katalyzovať tvorbu vysoko reaktívneho hydroxylového radikálu prostredníctvom Fentonovej reakcie. Práve táto súvislosť je kľúčová vo ferroptóze.

2.2.2.2. Fentonova reakcia

Už v 1894 autor H. J. H. Fenton pozoroval, že keď vodný roztok kyseliny vínnej reaguje s určitými oxidačnými činidlami v prítomnosti stopového množstva železnej soli, vznikne roztok, ktorý po pridaní silnej zásady získa fialovú farbu (Fenton, 1894). Tento jav predstavuje historický základ pre dnešné chápanie Fentonovej reakcie, kde ióny železa katalyzujú rozklad peroxidu vodíka.



Iniciácia reakcie je jadrom celej Fentonovej reakcie. Železnatý ión (Fe^{2+}) reaguje s peroxidom vodíka (H_2O_2) za vzniku vysoko reaktívneho hydroxylového radikálu ($\text{OH}\bullet$). Ten je hlavnou príčinou oxidačného poškodenia v bunkách. Nasleduje pokračovanie reťazovej reakcie, autokatalýza a jej ukončenie reakciou Fe^{2+} . V roku 1934 Haber a Weiss rozšírili tieto poznatky o tzv. Haber-Weissovu reakciu, v ktorej superoxid ($\text{O}_2\bullet^-$) reaguje s H_2O_2 za vzniku $\text{OH}\bullet$ (Haber & Weiss, 1934). Reakcia sama o sebe prebieha pomaly, pričom jej priebeh je katalyzovaný iónmi železa prostredníctvom Fentonovej reakcie. Moderné chápanie Fentonovej reakcie sa opiera o tieto základy a rozširuje ich o aspekty, ako je poškodenie molekúl a rôzne faktory ovplyvňujúce reaktivitu.

2.2.2.3. Homeostáza železa

Predpokladá sa, že železo sa do mozgu dostáva hlavne v dvoch formách, v železo-transferínovom komplexe a komplexe nezávislom na transferíne, prenášanom transportérom dvojmocných kovov.

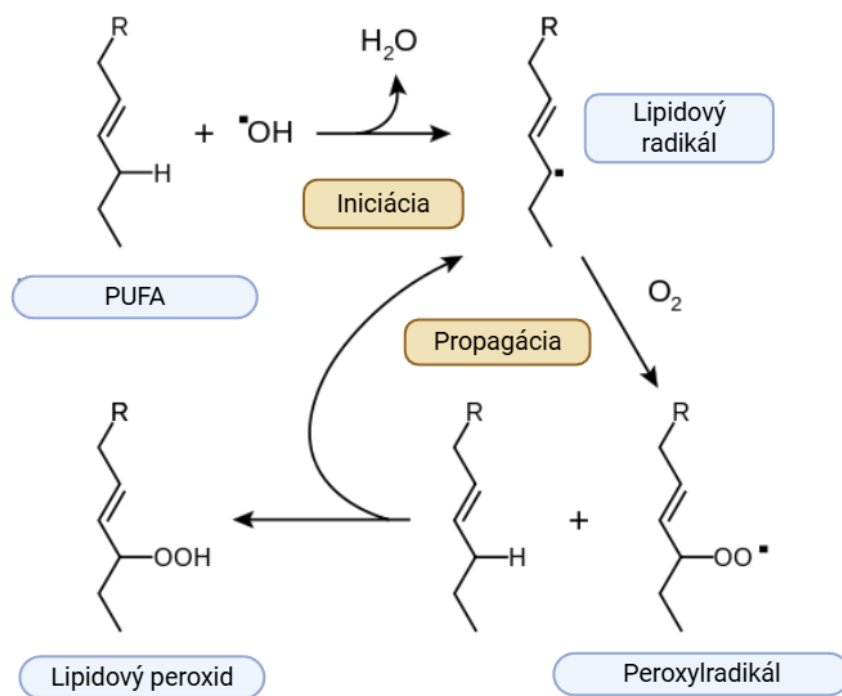
Homeostázu železa v CNS cicavcov reguluje hematoencefalická bariéra (BBB), ktorú tvoria astrocyty, pericyty a mikrovaskulárne endotelové bunky. Železo z krvi najprv vychytávajú mikrovaskulárne endotelové bunky prostredníctvom transferínového receptora 1, čím zabraňujú jeho nekontrolovanému prestupu. Následne sa železo transportuje cez BBB pomocou špecifických proteínov zapojených do metabolizmu železa (Yu & Chang, 2019).

Keď sa železo uvoľní z prenášačov v mozgových cievach, môžu ho prijať koncové výbežky astrocytov, ktoré zabezpečujú homeostázu a výživu neurónov v mozgu. Ako bolo zistené

v roku 2022, astrocyty boli negatívne na farbenie v prítomnosti železa, čo podporuje myšlienku, že ho skôr transportujú do iných buniek, než aby ho hromadili v sebe (Dringen et al., 2007; Cheng et al., 2022).

2.2.3. Lipidová peroxidácia

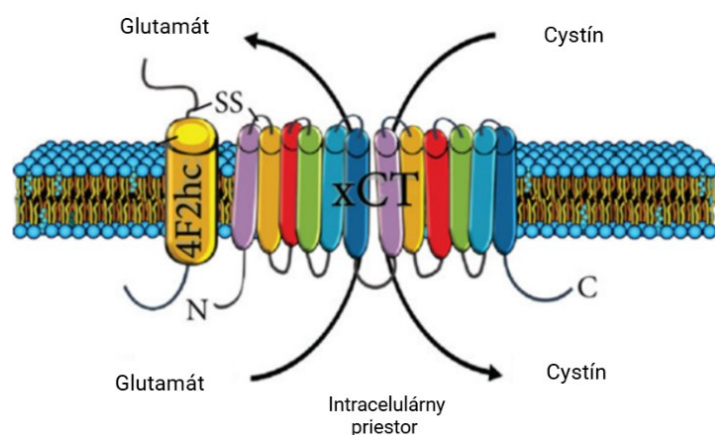
Labilný pool železa (LIP) je malé množstvo voľného, redoxne aktívneho železa, ktoré sa nachádza v cytosóle, mitochondriálnej matrix a lyzozómoch. Je slabo alebo nie je vôbec viazané na transportéry, takže môže reagovať s inými molekulami (napríklad peroxidom vodíka), čo znamená, že je dostupné pre Fentonovu reakciu. Hydroxylový radikál ($\bullet\text{OH}$) z Fentonovej reakcie napáda polynenasýtené mastné kyseliny (PUFA), čo vedie k vzniku lipidového radikálu ($\text{L}\bullet$), ktorý reaguje s kyslíkom ($\text{L}\bullet + \text{O}_2 \rightarrow \text{LOO}\bullet$). Tento vznikutý peroxyradikál potom napáda ďalšiu PUFA ($\text{LOO}\bullet + \text{LH} \rightarrow \text{LOOH} + \text{L}\bullet$), čím sa reakcia šíri, až kým ju nezastaví glutatiónpoxidáza 4 (GPx4) (redukciou LOOH na LOH) alebo iné antioxidanty. Táto kaskáda je jadrom poškodenia pri ferroptóze (Porter et al., 1995).



Obr. 2: Grafická schéma lipidovej peroxidácie, prevzaté z Wikimedia Common, Vickers, T. (2007), upravené v aplikácii Biorender

2.3.1.1. Xc⁻ systém

Xc⁻ systém, tiež známy ako cysteín/glutamát transportér je bunkový transportér nachádzajúci sa najmä v astrocytoch, ktorý sprostredkúva výmenu extracelulárneho cystínu (oxidovaná forma cysteínu) za intracelulárny glutamát v pomere 1:1. Je zložený z dvoch podjednotiek - ľahkého reťazca xCT, ktorý sprostredkúva transport a z ťažkého reťazca 4F2hc (Sato et al., 1999). Ľahký reťazec je kódovaný génom SLC7A11 a je špecifickejší pre Xc⁻ ako ťažký, ktorý je kódovaný SLC3A2 a je skôr vnímaný ako regulátor v rámci Xc⁻ transportného systému. Sú prepojené pomocou disulfidického mostíka. Exprimuje sa najmä v mozgu, ale aj v pankrease a v kultivovaných bunkách (Bassi et al., 2001). Jeho hlavnou úlohou je udržiavať intracelulárnu hladinu glutatiónu (GSH) a rovnováhu cysteínu/cystínu. Fungovanie a dôležitosť tohto systému boli známe *in vitro*, ale nie *in vivo*. Pre lepšie pochopenie bola vyšľachtená myš s nedostatkom xCT. Výsledkom mutácie bol značný posun redoxnej rovnováhy v plazme a pokles GSH v porovnaní s myšou divokého typu. Naznačuje to, že bunky z mutovaných myší v kultivačnom médiu odumierajú v dôsledku oxidačného stresu, ktorý je za bežných podmienok redukovaný antioxidantom ako GSH alebo vitamínom E. *In vivo* boli bunky schopné fungovať aj s nižším množstvom GSH, keďže si ho vedeli kompenzovať z iných zdrojov (rôzne typy buniek sa vedia vysporiadať so stresom inak alebo boli v obohatenom médiu s prekurzormi cysteínu). Pre *in vitro* bunky to neplatí a zásah do tohto systému bol zásadný (Sato et al., 2005). Problémovosť nesprávnej funkčnosti Xc⁻ transportéra (konkrétne v astrocytoch) ďalej potvrdzuje aj výskum z roku 2007, ktorý hovorí o vzniku excitotoxicity vďaka akumulácií extracelulárneho glutamátu, v dôsledku zvýšenej aktivity systému Xc⁻ a zníženej absorpcie glutamátu, ktorý môže prispievať k rozvoju a postupu poškodenia mozgu (Fogal et al., 2007).



Obr.3: Xc⁻ transportér, prebrané z (Martis et al., 2020) a upravené pomocou aplikácie Biorender

2.3.1.2. Cyklus cysteín/cystín

Cysteín je semi-esenciálna aminokyselina, ktorá môže byť získavaná zo stravy alebo syntetizovaná *de novo*. Je syntetizovaná enzýmom cystationín γ -lyázou z cystationínu a cystationín β -lyázou z homocysteínu a serínu. Nedostatok biosyntézy vedie k závislosti na exogénnom prijme. Cystationín γ -lyáza je dynamicky regulovaný enzým, ktorý reaguje na širokú škálu podnetov a jeho deplécia spôsobuje oxidačný stres, vaskulárne deficity a hyperhomocysteinémiu (Paul et al., 2018).

Množstvo cysteínu je jeden z limitujúcich faktorov syntézy GSH. Tvorí strednú časť jeho molekuly a obsahuje reaktívnu tiolovú ($-SH$) skupinu, ktorá je zodpovedná za antioxidačné vlastnosti. Práve cez $-SH$ skupinu cysteínu sa neutralizujú reaktívne molekuly ako peroxidy a radikály. Do astrocytov sa dostáva vo forme cystínu pomocou antiportéra Xc^- výmenou za glutamát (Bannai & Tateishi, 1986). Po vstupe je cystín redukovaný na cysteín, ktorý sa následne účastní syntézy GSH spolu s glycínom a glutamátom. Astrocyty zabezpečujú dostupnosť cysteínu pre neuróny nepriamym spôsobom. Exportujú GSH, ktorý je následne extracelulárne hydrolyzovaný na jeho prekurzory vrátane cysteínu. Tie môžu neuróny využiť na syntézu svojho vlastného GSH (Dringen et al., 1999; Endo & Olsen, 1993).

V jednom z pokusov, bola použitá bunková kultúra s nadmernou expresiou xCT transportéra. Bunky boli vysoko odolné voči oxidačnému stresu aj keď boli deplétované o značné množstvo GSH. To naznačuje, že systém Xc^- chráni bunku pred oxidačným stresom vytváraním redoxného extracelulárneho prostredia prostredníctvom cysteín/cystín cyklu (Banjac et al., 2008).

2.3.1.3. Glutatión (GSH)

GSH predstavuje jeden z najvýznamnejších intracelulárnych antioxidantov, ktorý chráni bunky pred oxidačným stresom. Prvé pozorovania jeho štruktúry sa datujú do 20. rokov 20. storočia. Je to tripeptid zložený z aminokyselín glutamát, cysteín a glycín, syntetizovaný enzýmom γ -glutamylcysteín syntetázou (GCL). Ten zohráva dôležitú úlohu v regulácii množstva vytvoreného GSH. GCL pozostáva z dvoch podjednotiek – veľkej a malej. Veľká podjednotka je enzymaticky aktívna, má väzbové miesta pre L-glutamát, L-cysteín, ATP a je regulovaná priamo GSH (Seelig et al., 1984). Malá podjednotka reguluje aktivitu veľkej. V redukovanej forme dokázal GSH obnoviť enzymatickú aktivitu niektorých enzýmov a ten istý výsledok bol dosiahnutý cysteínom a cystínom. To poukazuje na to, že $-SH$ skupina je pri aktivácii niektorých enzýmov kľúčová zložka a GSH môže aktívne ochraňovať enzymatické

štruktúry (Hopkins & Morgan, 1938). Glutatiónový systém je kľúčový pri regulácii redoxnej rovnováhy.

Ak je GSH vyčerpaný, tak hlavný antioxidačný enzým v nervových bunkách glutatiónperoxidáza 4 (GPx4) stráca svoju antioxidačnú funkciu a výsledkom je akumulácia lipidových ROS a spustenie ferroptózy. Znížená schopnosť bunky neutralizovať ROS v dôsledku nedostatku GSH vedie k poškodeniu. Dixon a kol. tieto dva momenty priamo prepojili aj vo svojej práci záverom, že vzniká medzera v antioxidačnej obrane bunky vďaka vychytávaniu cystínu systémom Xc^- a to v konečnom dôsledku vedie ku RCD závislej od železa (Dixon et al., 2012).

V štúdií z roku 2012 boli zisťované hladiny GSH (v oxidovanej aj redoxnej forme) a glutationovaných proteínov (Pr-SSG) v mozgu a v krvi troch rôzne starých myší (1, 5 a 11 mesiacov). Boli využívané transgénne myši (TG) s AD a myši divokého typu (WT). Taktiež boli skúmané aj tkanivové rozdiely v hladinách GSH v oblastiach hipokampu, mozgovej kôry a mozočku. Výsledky preukázali významné vekom podmienené zníženie pomeru oxidovanej a redukovanej formy GSH a tým aj narušenie samotného GSH vo všetkých meraných oblastiach mozgu u jedenásťmesačných TG myší (v porovnaní s päťmesačnými TG jedincami). Množstvo GSH v mozgovej kôre a mozočku bolo tiež znížené a Pr-SSG hladiny zas zvýšené u jedenásťmesačných TG myší v porovnaní s WT jedincami. To môže byť dôsledok vyššieho oxidatívneho stresu u TG myší.

U jednomesačných WT myší bol Pr-SSG nameraný iba v hipokampe, zatiaľ čo u TG myší boli jeho hladiny zvýšené už v tomto ranom veku. Bazálna hladina Pr-SSG bola vyššia v hipokampe bez ohľadu na genotyp, čo zas naznačuje náchylnosť tejto oblasti na oxidatívny stres. To podporuje prepojenie s AD vzhľadom na to, že jedným z typických znakov je strata kognitívnych funkcií. Mozoček je z pozorovaných tkanív najodolnejší voči AD. Avšak celkovo štúdie, ktoré sa zaoberajú hladinou GSH v rôznych oblastiach mozgu sa nezhodujú na jednom konkrétnom závere. Táto nezhoda môže byť spôsobená rôznymi faktormi, od výberu druhu myši až po podmienky, v ktorých sa nachádzali (Zhang et al., 2012).

2.3.1.4. Glutatiónperoxidáza 4 (GPx4)

Selenoenzým GPx4 je kľúčový enzým zabezpečujúci antioxidačnú ochranu lipidov, priamo redukuje fosfolipidové hydroperoxy a lipoproteíny v membráne s pomocou vitamínu E. Zatiaľ sú známe 4 izoformy: cytosólová, mitochondriálna (Januel et al., 2006), spermotukleárna (Pfeifer et al., 2001) a relatívne novo objavená v myších hipokampálnych HT22 bunkách (Casañas-Sánchez et al., 2014).

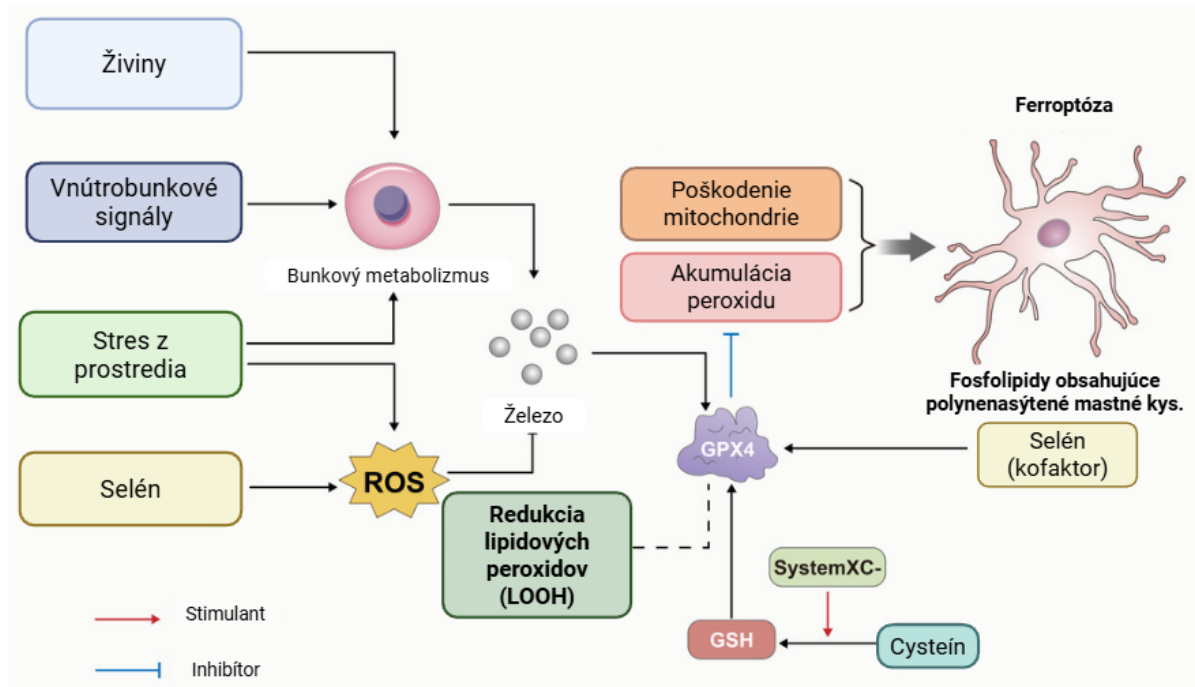
GPx4 je závislá na GSH, ktorý redukuje lipidové hydroperoxydy na lipidové alkoholy. Lipidové hydroperoxydy sú reaktívne molekuly, ktoré vznikajú oxidáciou PUFA v membránach. GPx4 potlačuje lipidovú peroxidáciu indukovanú 12/15-lipoxygenázou, ktorá spúšťa alternatívny typ PCD v nervových bunkách (Seiler et al., 2008).

GPx4 je nevyhnutná pre vývoj, čo potvrdil aj pokus z roku 2003, v ktorom z 284 heterozygotných potomkov myši nebol ani jeden homozygotný knockoutovaný jedinec (Yant et al., 2003). Jej dôležitosť ďalej potvrdili Yoo a kol., ktorí charakterizovali GPx4 pomocou RNA interferencie, kde cielene znížili jej hladinu. Špeciálne NIH 3T3 bunky s inhibovanou GPx4 vykazovali stabilné hodnoty vnútrobunkových ROS, zároveň došlo k zvýšenej tvorbe vedľajších produktov oxidovaných lipidov (napr. malondialdehyd). Čiastočné downregulovanie spôsobilo morfológické zmeny, zatiaľ čo totálna inaktivácia v zásade zastavila rast buniek. Ani enzým glutatión peroxidáza 1 (GPx1) z rovnakej rodiny enzýmov, ktorá ako hlavná odstraňuje peroxid, ju nebol schopný zastúpiť a nezredukovala hladinu lipidových peroxidov (Yoo et al., 2010). GPx4 sa ukázala ako esenciálna pre prežitie neurónov v rôznych častiach CNS, vrátane motoneurónov (L. Chen et al., 2015), čo poukazuje na jej potenciálny význam aj v iných formách neurodegenerácie.

V Brazílii prebehla jedna z prvých štúdií s cieľom ozrejmiť polymorfizmus GPx1 a GPx4 s poruchami pamäte pri AD alebo miernej kognitívnej poruche. Našli isté asociácie pre GPx1, ale pre GPx4 neboli výsledky medzi skupinami štatisticky významné, hoci naznačovali možný trend ochrannej funkcie. Autori sa zhodujú, že danú problematiku treba skúmať dlhšie, vzhľadom na postupné 5-10% zhoršovanie kognitívnych funkcií spojených s rozvojom demencie (Mitchell & Shiri-Feshki, 2009). Zároveň uznali potrebu navýšiť počet jedincov vo výskumnej skupine keďže dôkazy na zvieratách síce sú, ale na ľuďoch chýbajú (Da Rocha et al., 2018).

Hambright a kol. vo svojej práci skúmali neuróny v mozgovej kôre a hipokampe, ktoré sú často zasiahnuté AD a zaoberali sa ich citlivosťou na ferroptózu. Vytvorili myši model GPx4BIKO s indukovaným knockoutom GPx4 v prednom mozgu. Do podania tamoxifénu bola GPx4 exprimovaná normálne, po podaní však došlo k jej špecifickej deaktivácii v cieľovej oblasti mozgu. Po 12 týždňoch podávania začalo byť viditeľné výrazné zhoršenie kognitívnych schopností (priestorové učenie a pamäť boli hodnotené pomocou Morrisovho vodného bludiska) v porovnaní s kontrolnou skupinou. Toto zhoršenie sprevádzala aj neurodegenerácia, hlavne v oblasti CA1 hipokampu. Boli pozorované znaky ferroptózy ako lipidperoxidácia a neurozápal, ale nebolo spozorované aktivovanie kaspázy-3, čo naznačuje absenciu apoptózy. Zrýchlená degenerácia bola pozorovaná pri odstránení vitamínu E

zo stravy – už po 1 týždni od podania tamoxifénu (myši so štandardnou stravou vykazovali poškodenie až po približne 15 týždňoch) (Hambright et al., 2017). Tieto výsledky podporujú hypotézu, že GPx4 chráni neuróny pred ferroptózou a jej stratou vzniká kognitívne poškodenie a podobná neurodegenerácia ako pri AD.



Obr. 4: Schématické zobrazenie mechanizmu ferroptózy a úloha GPx4, upravené v programe Biorender prebrané z PeerJ, (Li et al., 2024)

3. Vzťah ferroptózy, amyloidu- β a τ -proteínu

Ako bolo spomenuté v úvode, jednými z najtypickejších biomarkerov AD sú A β a pTau akumulovaný v NFT. V roku 2019 bola publikovaná štúdia týchto biomarkerov v mozgomiešnom moku (CSF) v súvisi so skorým odhalením rizika vytvorenia a zhoršenia AD. Pomocou špeciálnych diagnostických Elecsys CSF imunochemických testov (používajú sa na meranie biomarkerov v CSF pri AD) boli merané A β (1-42), celkové množstvo pTau (tTau) a pTau. Na základe porovnania ich hladiny a hraničných hodnôt boli pacienti rozdelení do dvoch skupín: Biomarker (BM)-pozitívni a BM-negatívni. BM-pozitívni pacienti vykázali zhoršenie v kognitívnych testoch a pravdepodobnosť vzniku AD bola vyššia ako pri BM-negatívnych pacientoch. Signifikantnejšie výsledky získali keď porovnávali pomery tTau/A β (1-42) a pTau/A β (1-42), ako jednotlivé biomarkery separátne. Pomer pTau/A β (1-42) sa ukázal ako najlepší indikátor klinického zhoršenia pri pacientoch s miernou kognitívnou poruchou počas 24 mesiacov (Blennow et al., 2019). Takže vzťah A β k jednotlivým množstvám pTau môže byť silným ukazovateľom v rámci skorej diagnostiky AD a iných neurodegeneratívnych ochorení. Tieto poznatky zároveň otvárajú otázku, do akej miery sa patologická aktivita A β a pTau proteínu môže podieľať na spúšťaní oxidačne podmienenej bunkovej smrti, ako je ferroptóza, ktorá je čoraz častejšie skúmaná v súvislosti s neurodegeneráciou

3.1. Amyloid- β

3.1.1. Charakteristika amyloidu β

V 80. rokoch 20. storočia bol A β opísaný ako peptid z približne 40 aminokyselín, ktorý je hlavnou zložkou amyloidových plakov vytváraných v mozgu pacientov s AD (Glennner & Wong, 1984; Masters et al., 1985). Súčasná poznatky tieto zistenia rozširujú a spresňujú – A β má 39-43 aminokyselín a vzniká proteolytickým štiepením amyloidového prekursorového proteínu (APP) (Kang et al., 1987). V plakoch pacientov sa vyskytuje najmä A β 42. Táto myšlienka bola potvrdená v roku 1994 *in situ* štúdiou, v ktorej boli A β 40 a A β 42(43) označené monoklonálnymi protilátkami. V mozgovom parenchýme boli difúzne plaky pozitívne na A β 42(43) a negatívne na A β 40 u pacientov s AD a Downovým syndrómom, pri ktorom sa takéto patologické zmeny často vyskytujú. Difúzne plaky boli považované za najskoršie štádium ukladania A β (Iwatsubo et al., 1994). Vzhľadom na kľúčovú úlohu A β pri vzniku AD sa pozornosť výskumu presúva aj k jeho vplyvu na mechanizmy bunkovej smrti.

3.1.2. Patológia amyloidu- β v Alzheimerovej chorobe

V roku 2020 Huang a kol. ako jedni z prvých využili tri omické analýzy (proteomika, transkriptomika a metabolomika) na to, aby lepšie pochopili fenotyp ferroptózy indukovanej A β . Ferroptóza vyvolaná A β v bunkách MC65 bola prepojená s dráhami, ktoré vyvolávajú zápal a rakovinu. Tieto dráhy sa aktivovali napriek tomu, že bunky boli v hypometabolickom stave v reakcii na stres vytvorený A β (Huang et al., 2020). Tieto nálezy naznačujú, že bunky sa snažili adaptovať na nedostatok energie, čo ich zároveň robí zraniteľnejšími voči oxidačnému stresu. Tieto celkové zmeny pozorované na úrovni -omík môžu byť spôsobené špecifickými interakciami A β s konkrétnymi typmi buniek a molekulárnymi dráhami.

Nízka dávka A β 1-40 spôsobuje zvýšenie hladiny železitých iónov a lipidových ROS v pericytoch, čo vedie k zvýšenej miere ferroptózy. Pericyty zohrávajú kľúčovú úlohu pri regulácii BBB a v komunikácii medzi nervovými a cievnyimi bunkami. Receptor CD36 je exprimovaný na mikrogliách a pericytoch v mozgu. Viaže sa na fibrilárny A β a je súčasťou tvorby zápalovej odpovede vrodenej imunity na AD (El Khoury et al., 2003). Naviazanie A β 1-40 na ich povrch vedie ku zvýšenej priepustnosti BBB a tým narušeniu tesných spojov. Dôsledkom môže byť narušená permeabilita a homeostáza mozgového prostredia. Zároveň toto naviazanie aktivuje mitochondriálnu autofágiu v pericytoch prostredníctvom aktivácie CD36/PINK1/Parkin dráhy a táto mitofágia následne prispieva ku ferroptóze. Inhibícia A β by zabránila aktivácii tejto dráhy a následnému začatiu mitochondriálnej autofágie (J. Li et al., 2022). Zápal a mitochondriálny stres, spúšťané interakciou A β s bunkami ako sú pericyty a mikroglie, sú teda kľúčovými procesmi, ktoré môžu viesť k poškodeniu BBB a podporovať ferroptotickú RCD v mozgu.

Majerníková a kol. skúmali prepojenie medzi A β a dráhou ferroptózy pri progresii AD. Bolo skúmané postmortálne tkanivo Brodmanovej oblasti mozgu č.17 osôb s rôznym štádiom AD a kontrolných pacientov. V oblastiach s A β plakom boli pozorované vyššie hladiny feritínu, nižšie hladiny feroportínu, GPx4, NCOA4 (receptor pre feritofágiu), 4-HNE (toxický produkt lipidovej peroxidácie) a cytochrómu c ako v oblastiach bez plakov. Rovnako bola pozorovaná zmena expresie proteínov v bielej a šedej hmote, kde v šedej sa expresia GPx4 znižovala spolu s progresiou AD.

Zároveň boli vytvorené mozgové organoidy a ich kontroly. Organoidy mali mutáciu v géne PSEN1- Δ 9, ktorý zvyšuje produkciu neurotoxickej formy A β – najmä A β 42. Boli zistené zmeny, ktoré by mohli súvisieť s ferroptózou. V organoide boli pozorované nižšie hladiny cytochrómu c, feritínového ťažkého reťazca a vyššia hladina poly(rC) viažuceho proteínu 1 (PCBP1). Podľa autorov nižšie hladiny feritínového ťažkého reťazca indikujú narušené

ukladanie železa a vyššie hladiny PCBP1 naznačujú zvýšenú potrebu viazať železo, čo môže naznačovať nadmernú akumuláciu železa a náchylnosť na ferroptózu. Organoidy neobsahovali astrocyty ani mikroglie, čo mohlo pokus značne limitovať (Majerníková et al., 2024).

3.2. Tau proteín

3.2.1. Fyziologická funkcia a izoformy tau

Tau je s mikrotubulmi-asociovaný proteín špecifický pre nervový systém, kde zohráva dôležitú úlohu pri zostavovaní a stabilizácii mikrotubulov (Cleveland et al., 1977b, 1977a; Weingarten et al., 1975). U človeka je kódovaný génom MAPT (microtubule-associated protein tau), ktorého alternatívny zostrih mRNA vedie k tvorbe viacerých izoform (Goedert et al., 1989; Kosik et al., 1988). V dospelom mozgu sa nachádza šesť izoform tau proteínu a líšia sa od seba v počte tandemových opakovaní v C-terminálnej doméne a prítomnosťou 29 alebo 58 aminokyselín v N-terminálnej oblasti (Himmler et al., 1989).

Za normálnych podmienok je tau mierne fosforylovaný, aby mohol dynamicky regulovať svoju interakciu s mikrotubulmi. Grundke-Iqbal a kol. sa venovali hyperfosforylácii, ktorá sa objavuje pri AD. Zistili, že pri tejto modifikácii sa mení priestorová štruktúra tau, v dôsledku čoho sa niektoré epitopy stávajú neprístupnými pre špecifické protilátky. Abnormálne fosforylovaný epitop tau bol nedostupný pre monoklonálnu protilátku tau-1 (v zdravých neurónoch je tento epitop dostupný). Rovnaký efekt bol pozorovaný aj pri izolovanom pTau z mozgu pacientov s AD a v párových helikálnych filamentoch (PHF), ktoré vznikajú agregáciou pTau v mozgu (Grundke-Iqbal et al., 1986) a tvoria NFT.

3.2.2. Ferroptóza a patologická agregácia tau v AD

Vzťah medzi agregáciou železa a pTau ešte nie je úplne jasný. Štúdia z roku 2020 sa zamerala na ich vzťah *in vivo* a skúmala ho pomocou zobrazovacích metód. Analýzy pomocou kvantitatívneho mapovania susceptibility (QSM) na MRI a tau-PET zistili asociáciu medzi zvýšenou hladinou železa a silnejším signálom tau-PET v oblastiach postihnutých AD. Abnormálne hodnoty železa by mohli spôsobiť toxické prostredie a chybnú konformáciu pTau, čo by následne mohlo viesť ku hromadeniu železa a oxidačnému stresu. Nie je vylúčená ani možnosť, že zvýšená hladina železa spôsobuje nesprávne zloženie pTau (Spotorno et al., 2020), čím by sa pTau a železo vzájomne podporovali v patologickom procese AD. *In vitro* boli tieto hypotézy potvrdené už v roku 2005, kedy oxidatívny stres vyvolaný železitými iontami i peroxidom vodíka zvýšil fosforyláciu pTau (Lovell et al., 2004).

Zatiaľ čo predchádzajúca štúdia poukazovala najmä na asociáciu medzi pTau a akumuláciou železa, *in vitro* experiment Wang a kol. poskytol priame dôkazy o tom, že ferroptóza môže indukovať patologickú agregáciu tau. Na tento účel použili myšie neuroblastové bunky N2a, v ktorých bola vyvolaná ferroptóza pomocou erastínu. Indukoval abnormálnu agregáciu pTau v cytoplazme, čo bolo potvrdené Western blot analýzou. Súčasne sa zaznamenala zvýšená aktivita enzýmu glykogénsyntázy kinázy-3 β (GSK-3 β) – jednej z hlavných kináz zodpovedných za fosforyláciu tau. Podanie inhibítora ferroptózy ferostatínu-1 potlačilo túto aktiváciu, čo naznačuje súvislosť medzi ferroptotickými mechanizmami a GSK-3 β . Bol ovplyvnený aj ubikvitín-proteazómový systém, ktorý degraduje chybné zložené proteíny. Zvýšená ubikvitinácia tau poukazuje na narušenie tohto systému a zníženú efektivitu degradácie pTau. Zo záveru štúdie vyplýva, že ferroptóza indukovaná erastínom vedie k hyperfosforylácii a agregácii pTau v bunkách N2a. Tento proces je spojený s aktiváciou GSK-3 β a inhibíciou proteazómového systému čo môže predstavovať potenciálny terapeutický cieľ (Wang et al., 2022).

Práca od Wang a kol. priamo ukazuje, že ferroptóza aktivuje GSK-3 β , čo vedie k abnormálnej hyperfosforylácii a následnej agregácii tau. Práca od Lovella a kol. nepriamo podporuje túto súvislosť tým, že ukazuje, ako oxidačný stres, ktorý je súčasťou ferroptózy, zvyšuje aktivitu GSK-3 β a pTau.

4. Ferroptóza ako terapeutický cieľ pri AD

4.1.1. Typické prístupy k inhibícii ferroptózy

V súčasnosti je schválených len niekoľko liekov na potlačenie AD. Aktuálne je schválených päť symptomatických liekov, ktoré sú určené pre stredné až pokročilé štádiá. Fungujú ako acetylcholinesterázové inhibítory. Acetylcholín je kľúčový neurotransmitter podieľajúci sa na procesoch učenia a pamäti. V zdravom mozgu je syntetizovaný cholinacetyltransferázou a degradovaný acetylcholinesterázou. U pacientov s AD je syntéza acetylcholínu znížená (Perry et al., 1978) a v terapii sa tento deficit kompenzuje inhibíciou jeho rozkladu. Ďalšie dva schválené lieky v USA sa zameriavajú na A β . V Európe je aktuálne schválený jeden z nich a stal sa tak druhým liekom na AD (Alzheimer's Association, 2023)

Zastavenie progresie AD sa ešte stále nepodarilo a tak sa pozornosť výskumu obracia aj k mechanizmom neurodegenerácie, ako je ferroptóza, ktorá sa javí ako sľubný terapeutický cieľ. Medzi najznámejšie inhibítory ferroptózy patrí ferostatín-1 (Fer-1) a chelátory železa.

Neuroprotektívny účinok a terapeutický potenciál Fer-1 bol dokázaný v štúdiu z roku 2022. Myši s posttraumatickou epilepsiou významne chránili pred akútnymi záchvatmi a zhoršením pamäti. Dokonca zlepšil kognitívne schopnosti a zmiernil poškodenie hipokampu indukované záchvatmi (K.-N. Chen et al., 2022).

Chelátory železa viažu voľné železo čím zabraňujú spusteniu ferroptózy. Jedným z nich je aj prírodný chelátor deferoxamín (DFO), ktorý zmiernil poškodenie neurónov indukované maltolátom hliníka, ktorý je neurotoxický. Potkanom, ktorým bolo podané DFO sa zlepšila pamäť a učiteľnosť, zmiernili morfológické zmeny hipokampu spôsobené ferroptózou a zabránilo sa vzniku oxidačného stresu (Zhu et al., 2022).

V roku 2023 bola realizovaná štúdia, v ktorej boli tieto látky porovnané ešte s pridaním inhibítora pan-kaspáz z-VAD-FMK, ktorý zabránil apoptóze. U potkanov s dishomeostázou železa zistili zvýšený pomer koenzýmu A ligázy 4/GPx4 (markery ferroptózy) v porovnaní s kontrolnou skupinou. DFO a Fer-1 obnovili pomer oboch markerov ferroptózy čím ju potlačili. z-VAD-FMK obnovil iba hladinu koenzýmu A ligázy 4 čím ovplyvnil ferroptózu. DFO aktívne chránil pred stratou pamäti nezávislej od hipokampu prostredníctvom zmiernenia rozpadu BBB, obnovil homeostatickú hladinu železa a zabránil apoptóze aj ferroptóze. Fer-1 a z-VAD-FMK síce nezabránil nahromadeniu železa, no preukázali výraznú ochranu neurónov. Boli schopné úplne obnoviť kognitívne funkcie závislé aj nezávislé od hipokampu, čo naznačuje väčší neuroprotektívny účinok v porovnaní s DFO (Stripetchwande et al., 2023).

4.2. Inovatívne prístupy inhibície ferroptózy

Okrem syntetických zlúčenín sa pozornosť výskumu sústreďuje aj na prírodné látky s potenciálom inhibovať ferroptózu a spomaliť neurodegeneráciu pri AD. Yong a kol. sa zamerali na zlúčeninu thonningianin A (ThA) získanú z rastlín *Thonningia sanguinea* a *Penthorum chinense*. Ukázal sa ako silný inhibitor ferroptózy vďaka niekoľkým vlastnostiam. Je schopný naviazať sa na GPx4 a stimulovať aktivačnú signálnu dráhu AMPK/Nrf2. Aktivácia AMPK prostredníctvom ThA prispela k aktivácii Nrf2 a následnej inhibícii ferroptózy. V bunkových modeloch významne zmiernil mitochondriálne poškodenie a znížil hladiny lipidových peroxidov a ROS. Má aj silnú afinitu ku Fe^{2+} a viaže voľné železo. Tieto účinky boli potvrdené v bunkových modeloch a v modeli AD na *Caenorhabditis elegans*. Zároveň preukázal vysokú biologickú bezpečnosť v nízkych až stredných koncentráciách (Yong et al., 2024). Tieto zistenia poukazujú na terapeutický potenciál ThA pri liečbe AD a zdôrazňujú dôležitosť ďalšieho výskumu jeho účinnosti v predklinických a klinických štúdiách.

Tretím inovatívnym a odlišným prístupom je kombinovaná liečba, ktorá cieľi nielen na ferroptózu, ale zároveň aj na ďalšie patologické procesy spojené s AD. Lu a kol. zvolili inovatívny prístup, ktorý kombinuje inhibíciu pTau a ferroptózy. Skúmali potenciál kombinovanej liečby inhibítora HDAC6 (WY118) a inhibítora GSK-3 β na bunkovej kultúre. HDAC6 je enzým, ktorý odstraňuje acetylové skupiny a v AD býva nadmerne exprimovaný, čo z neho robí vhodný terapeutický cieľ. Liečba tiež inhibuje fosforyláciu pTau sprostredkovanú MAPK signálnou dráhou, čím ovplyvňuje jednu z kľúčových patológií AD. Zároveň zvýšila intracelulárne hladiny GSH a znížila hladiny malondialdehydu, ktoré sú znakom prebiehajúcej ferroptózy. Okrem toho sa znížila akumulácia ROS a zvýšila expresia transportéra SLC7A11 a enzýmu GPx4. Transkriptomickou analýzou sa zistilo, že liečba ovplyvnila expresiu 802 génov, pričom mnohé z nich boli zapojené do MAPK signálnej dráhy a ferroptózy. Tieto zmeny pravdepodobne zohrávajú kľúčovú úlohu v mechanizme účinku liečby. Zlepšenie kognitívnych funkcií sa potvrdilo aj *in vivo* na myšiach, spolu s výraznejšou ochranou neurónov (Lu et al., 2025).

Ferroptóza predstavuje sľubný terapeutický cieľ pri AD. Vzhľadom na schopnosť viacerých testovaných látok ovplyvniť dôležité mechanizmy neurodegenerácie ponúka potenciál pre budúci vývoj účinnejších liečebných stratégií.

Záver

Alzheimerova choroba je progresívne neurodegeneratívne ochorenie. Zasahuje najmä staršiu časť populácie. Vzhľadom na fenomén starnutia populácie sa zvyšuje počet jedincov, ktorých môžeme zaradiť ku staršej vekovej kategórii. Zdôrazňuje to potrebu nájdenia kauzálnej príčiny a následnej vhodnej terapie. S pokrokom výskumu sa objavujú aj nové pohľady na využitie RCD ako sľubného terapeutického cieľa a jedným z nich je aj ferroptóza.

Ferroptóza je špecifická forma regulovanej bunkovej smrti závislá od železa, lipidovej peroxidácie a reaktívnych foriem kyslíka. Kľúčovým regulačným bodom je systém Xc^- , ktorý zabezpečuje výmenu extracelulárneho cystínu za glutamát. Cystín je následne v astrocytoch redukovaný na cysteín – esenciálny pre syntézu glutatiónu, hlavného antioxidantu v mozgu. Enzym GPx4, ktorej aktivita závisí od glutatiónu, je schopná detoxikovať lipidové peroxidy a tým brániť spusteniu ferroptózy. Štúdie preukázali, že strata GPx4 vedie k neuronálnej smrti s morfológickými aj kognitívnymi znakmi AD.

Ďalšie štúdie poukazujú na to, že $A\beta$ môže indukovať ferroptotickú smrť prostredníctvom narušenia Xc^- systému a zvýšenej produkcie reaktívnych foriem kyslíka. Rovnako bol opísaný vplyv ferroptózy na pTau, čo môže podporiť jeho agregáciu. Oba tieto proteíny tak môžu nielen súvisieť s ferroptózou, ale aj byť jej súčasťou ako spúšťače a následky.

Medzi najperspektívnejšie terapeutické látky patria inhibítory lipidovej peroxidácie (napr. ferrostatín-1), chelátory železa (deferoramín) a prírodné látky (napr. thoningianin A), ktoré vykazujú neuroprotektívne účinky v experimentálnych modeloch AD.

Na základe získaných poznatkov je možné konštatovať, že ferroptóza predstavuje potenciálny kľúčový mechanizmus neurodegenerácie pri AD a javí sa ako sľubný terapeutický cieľ.

Vzhľadom na to, že súčasné dôkazy pochádzajú najmä z výskumu na bunkových kultúrach a zvieracích modeloch, je nevyhnutné ďalšie podrobné skúmanie týchto mechanizmov priamo na ľudských pacientoch. Objasnenie vzťahu medzi ferroptotickými dráhami a patológiou $A\beta$ a pTau by mohlo predstavovať významný míľnik vo výskume a viesť k vývoju nových, efektívnejších liečebných stratégií.

Zoznam literatúry :

- Alzheimer's Association. (2023). 2023 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's & Dementia*, 19(4), 1598–1695. <https://doi.org/10.1002/alz.13016>
- Anwar, Y. (2016). [PET scans showing tau and amyloid buildup in the brains of Alzheimer's patients], Berkeley News. <https://news.berkeley.edu/2016/03/02/pet-scans-alzheimers-tau-amyloid/>
- *Ashraf, A., & So, P.-W. (2020). Spotlight on Ferroptosis: Iron-Dependent Cell Death in Alzheimer's Disease. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 12, 196. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2020.00196>
- *Baker, E. N., & Lindley, P. F. (1992). New perspectives on the structure and function of transferrins. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 47(1), 147–160. [https://doi.org/10.1016/0162-0134\(92\)84061-Q](https://doi.org/10.1016/0162-0134(92)84061-Q)
- Banjac, A., Perisic, T., Sato, H., Seiler, A., Bannai, S., Weiss, N., Kölle, P., Tschöep, K., Issels, R. D., Daniel, P. T., Conrad, M., & Bornkamm, G. W. (2008). The cystine/cysteine cycle: A redox cycle regulating susceptibility versus resistance to cell death. *Oncogene*, 27(11), 1618–1628. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1210796>
- Bannai, S., & Tateishi, N. (1986). Role of membrane transport in metabolism and function of glutathione in mammals. *The Journal of Membrane Biology*, 89(1), 1–8. <https://doi.org/10.1007/BF01870891>
- Bassi, M., Gasol, E., Manzoni, M., Pineda, M., Riboni, M., Martín, R., Zorzano, A., Borsani, G., & Palacín, M. (2001). Identification and characterisation of human xCT that co-expresses, with 4F2 heavy chain, the amino acid transport activity system x_c⁻. *Pflügers Archiv European Journal of Physiology*, 442(2), 286–296. <https://doi.org/10.1007/s004240100537>
- *Blennow, K., Shaw, L. M., Stomrud, E., Mattsson, N., Toledo, J. B., Buck, K., Wahl, S., Eichenlaub, U., Lifke, V., Simon, M., Trojanowski, J. Q., & Hansson, O. (2019). Predicting clinical decline and conversion to Alzheimer's disease or dementia using novel Elecsys Aβ(1–42), pTau and tTau CSF immunoassays. *Scientific Reports*, 9(1), 19024. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-54204-z>
- Boveris, A., & Chance, B. (1973). The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen. *Biochemical Journal*, 134(3), 707–716. <https://doi.org/10.1042/bj1340707>
- Casañas-Sánchez, V., Pérez, J. A., Fabelo, N., Herrera-Herrera, A. V., Fernández, C., Marín, R., González-Montelongo, M. C., & Díaz, M. (2014). Addition of docosahexaenoic acid, but not arachidonic acid, activates glutathione and thioredoxin antioxidant systems in murine

- hippocampal HT22 cells: Potential implications in neuroprotection. *Journal of Neurochemistry*, 131(4), 470–483. <https://doi.org/10.1111/jnc.12833>
- *Castellani, R. J., Rolston, R. K., & Smith, M. A. (2010). Alzheimer Disease. *Disease-a-Month*, 56(9), 484–546. <https://doi.org/10.1016/j.disamonth.2010.06.001>
- Cleveland, D. W., Hwo, S.-Y., & Kirschner, M. W. (1977a). Physical and chemical properties of purified tau factor and the role of tau in microtubule assembly. *Journal of Molecular Biology*, 116(2), 227–247. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(77\)90214-5](https://doi.org/10.1016/0022-2836(77)90214-5)
- Cleveland, D. W., Hwo, S.-Y., & Kirschner, M. W. (1977b). Purification of tau, a microtubule-associated protein that induces assembly of microtubules from purified tubulin. *Journal of Molecular Biology*, 116(2), 207–225. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(77\)90213-3](https://doi.org/10.1016/0022-2836(77)90213-3)
- Da Rocha, T. J., Silva Alves, M., Guisso, C. C., De Andrade, F. M., Camozzato, A., De Oliveira, A. A., & Fiegenbaum, M. (2018). Association of GPX1 and GPX4 polymorphisms with episodic memory and Alzheimer's disease. *Neuroscience Letters*, 666, 32–37. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2017.12.026>
- Dixon, S. J., Lemberg, K. M., Lamprecht, M. R., Skouta, R., Zaitsev, E. M., Gleason, C. E., Patel, D. N., Bauer, A. J., Cantley, A. M., Yang, W. S., Morrison, B., & Stockwell, B. R. (2012). Ferroptosis: An Iron-Dependent Form of Nonapoptotic Cell Death. *Cell*, 149(5), 1060–1072. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.03.042>
- Dolma, S., Lessnick, S. L., Hahn, W. C., & Stockwell, B. R. (2003). Identification of genotype-selective antitumor agents using synthetic lethal chemical screening in engineered human tumor cells. *Cancer Cell*, 3(3), 285–296. [https://doi.org/10.1016/S1535-6108\(03\)00050-3](https://doi.org/10.1016/S1535-6108(03)00050-3)
- Dringen, R., Bishop, G. M., Koeppe, M., Dang, T. N., & Robinson, S. R. (2007). The Pivotal Role of Astrocytes in the Metabolism of Iron in the Brain. *Neurochemical Research*, 32(11), 1884–1890. <https://doi.org/10.1007/s11064-007-9375-0>
- Dringen, R., Pfeiffer, B., & Hamprecht, B. (1999). Synthesis of the Antioxidant Glutathione in Neurons: Supply by Astrocytes of CysGly as Precursor for Neuronal Glutathione. *The Journal of Neuroscience*, 19(2), 562–569. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.19-02-00562.1999>
- El Khoury, J. B., Moore, K. J., Means, T. K., Leung, J., Terada, K., Toft, M., Freeman, M. W., & Luster, A. D. (2003). CD36 Mediates the Innate Host Response to β -Amyloid. *The Journal of Experimental Medicine*, 197(12), 1657–1666. <https://doi.org/10.1084/jem.20021546>
- Endo, S., & Olsen, R. W. (1993). Antibodies Specific for α -Subunit Subtypes of GABA_A Receptors Reveal Brain Regional Heterogeneity. *Journal of Neurochemistry*, 60(4), 1388–1398. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1993.tb03300.x>

- 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>
- Fogal, B., Li, J., Lobner, D., McCullough, L. D., & Hewett, S. J. (2007). System xc⁻ Activity and Astrocytes Are Necessary for Interleukin-1 β -Mediated Hypoxic Neuronal Injury. *The Journal of Neuroscience*, 27(38), 10094–10105. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2459-07.2007>
- *Fricker, M., Tolkovsky, A. M., Borutaite, V., Coleman, M., & Brown, G. C. (2018). Neuronal Cell Death. *Physiological Reviews*, 98(2), 813–880. <https://doi.org/10.1152/physrev.00011.2017>
- Fritz Haber & Weiss Joseph. (1934). The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by iron salts. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A - Mathematical and Physical Sciences*, 147(861), 332–351. <https://doi.org/10.1098/rspa.1934.0221>
- *Galy, B., Conrad, M., & Muckenthaler, M. (2024). Mechanisms controlling cellular and systemic iron homeostasis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 25(2), 133–155. <https://doi.org/10.1038/s41580-023-00648-1>
- Glenner, G. G., & Wong, C. W. (1984). Alzheimer's disease: Initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 120(3), 885–890. [https://doi.org/10.1016/S0006-291X\(84\)80190-4](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(84)80190-4)
- Goedert, M., Spillantini, M. G., Jakes, R., Rutherford, D., & Crowther, R. A. (1989). Multiple isoforms of human microtubule-associated protein tau: Sequences and localization in neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease. *Neuron*, 3(4), 519–526. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(89\)90210-9](https://doi.org/10.1016/0896-6273(89)90210-9)
- *Goel, P., Chakrabarti, S., Goel, K., Bhutani, K., Chopra, T., & Bali, S. (2022). Neuronal cell death mechanisms in Alzheimer's disease: An insight. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 15, 937133. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2022.937133>
- Grundke-Iqbal, I., Iqbal, K., Tung, Y. C., Quinlan, M., Wisniewski, H. M., & Binder, L. I. (1986). Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein tau (tau) in Alzheimer cytoskeletal pathology. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 83(13), 4913–4917. <https://doi.org/10.1073/pnas.83.13.4913>
- Hambright, W. S., Fonseca, R. S., Chen, L., Na, R., & Ran, Q. (2017). Ablation of ferroptosis regulator glutathione peroxidase 4 in forebrain neurons promotes cognitive impairment and neurodegeneration. *Redox Biology*, 12, 8–17. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.01.021>
- Himmler, A., Drechsel, D., Kirschner, M. W., & Martin, D. W. (1989). Tau Consists of a Set of Proteins with Repeated C-Terminal Microtubule-Binding Domains and Variable N-

- Terminal Domains. *Molecular and Cellular Biology*, 9(4), 1381–1388.
<https://doi.org/10.1128/mcb.9.4.1381-1388.1989>
- Hopkins, F. G., & Morgan, E. J. (1938). The influence of thiol-groups in the activity of dehydrogenases. *Biochemical Journal*, 32(3), 611–620. <https://doi.org/10.1042/bj0320611>
- Huang, L., McClatchy, D. B., Maher, P., Liang, Z., Diedrich, J. K., Soriano-Castell, D., Goldberg, J., Shokhirev, M., Yates, J. R., Schubert, D., & Currais, A. (2020). Intracellular amyloid toxicity induces oxytosis/ferroptosis regulated cell death. *Cell Death & Disease*, 11(10), 828. <https://doi.org/10.1038/s41419-020-03020-9>
- Chen, K.-N., Guan, Q.-W., Yin, X.-X., Wang, Z.-J., Zhou, H.-H., & Mao, X.-Y. (2022). Ferrostatin-1 obviates seizures and associated cognitive deficits in ferric chloride-induced posttraumatic epilepsy via suppressing ferroptosis. *Free Radical Biology and Medicine*, 179, 109–118. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2021.12.268>
- Chen, L., Hambright, W. S., Na, R., & Ran, Q. (2015). Ablation of the Ferroptosis Inhibitor Glutathione Peroxidase 4 in Neurons Results in Rapid Motor Neuron Degeneration and Paralysis. *Journal of Biological Chemistry*, 290(47), 28097–28106.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M115.680090>
- Cheng, H., Wang, N., Ma, X., Wang, P., Dong, W., Chen, Z., Wu, M., Wang, Z., Wang, L., Guan, D., & Zhao, R. (2022). Spatial-temporal changes of iron deposition and iron metabolism after traumatic brain injury in mice. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 15, 949573.
<https://doi.org/10.3389/fnmol.2022.949573>
- Iwatsubo, T., Odaka, A., Suzuki, N., Mizusawa, H., Nukina, N., & Ihara, Y. (1994). Visualization of A β 42(43) and A β 40 in senile plaques with end-specific A β monoclonals: Evidence that an initially deposited species is A β 42(43). *Neuron*, 13(1), 45–53.
[https://doi.org/10.1016/0896-6273\(94\)90458-8](https://doi.org/10.1016/0896-6273(94)90458-8)
- Jack, C. R., Bennett, D. A., Blennow, K., Carrillo, M. C., Dunn, B., Haeberlein, S. B., Holtzman, D. M., Jagust, W., Jessen, F., Karlawish, J., Liu, E., Molinuevo, J. L., Montine, T., Phelps, C., Rankin, K. P., Rowe, C. C., Scheltens, P., Siemers, E., Snyder, H. M., ... Silverberg, N. (2018). NIA-AA Research Framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*, 14(4), 535–562.
<https://doi.org/10.1016/j.jalz.2018.02.018>
- Januel, C., El Hentati, F.-Z., Carreras, M., Arthur, J. R., Calzada, C., Lagarde, M., & Véricel, E. (2006). Phospholipid-hydroperoxide glutathione peroxidase (GPx-4) localization in resting platelets, and compartmental change during platelet activation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1761(10), 1228–1234.
<https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2006.07.015>

- Kang, J., Lemaire, H.-G., Unterbeck, A., Salbaum, J. M., Masters, C. L., Grzeschik, K.-H., Multhaup, G., Beyreuther, K., & Müller-Hill, B. (1987). The precursor of Alzheimer's disease amyloid A4 protein resembles a cell-surface receptor. *Nature*, 325(6106), 733–736. <https://doi.org/10.1038/325733a0>
- Kosik, K. S., Orecchio, L. D., Binder, L., Trojanowski, J. Q., Lee, V. M.-Y., & Lee, G. (1988). Epitopes that span the tau molecule are shared with paired helical filaments. *Neuron*, 1(9), 817–825. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(88\)90129-8](https://doi.org/10.1016/0896-6273(88)90129-8)
- Li, J., Li, M., Ge, Y., Chen, J., Ma, J., Wang, C., Sun, M., Wang, L., Yao, S., & Yao, C. (2022). β -amyloid protein induces mitophagy-dependent ferroptosis through the CD36/PINK/PARKIN pathway leading to blood–brain barrier destruction in Alzheimer's disease. *Cell & Bioscience*, 12(1), 69. <https://doi.org/10.1186/s13578-022-00807-5>
- *Li, M., Jin, S., Zhu, X., Xu, J., Cao, Y., & Piao, H. (2024). The role of ferroptosis in central nervous system damage diseases. *PeerJ*, 12, e16741. <https://doi.org/10.7717/peerj.16741>
- Lovell, M. A., Xiong, S., Xie, C., Davies, P., & Markesbery, W. R. (2004). Induction of hyperphosphorylated tau in primary rat cortical neuron cultures mediated by oxidative stress and glycogen synthase kinase-3. *Journal of Alzheimer's Disease*, 6(6), 659–671. <https://doi.org/10.3233/JAD-2004-6610>
- Lu, Z., Jiang, Z., Huang, X., Chen, Y., Feng, L., Mai, J., Lao, L., Li, L., Chen, W.-H., & Hu, J. (2025). Anti-Alzheimer effects of an HDAC6 inhibitor, WY118, alone and in combination of lithium chloride: Synergistic suppression of ferroptosis via the modulation of tau phosphorylation and MAPK signaling. *European Journal of Pharmacology*, 997, 177605. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2025.177605>
- Majerníková, N., Marmolejo-Garza, A., Salinas, C. S., Luu, M. D. A., Zhang, Y., Trombetta-Lima, M., Tomin, T., Birner-Gruenberger, R., Lehtonen, Š., Koistinaho, J., Wolters, J. C., Ayton, S., Den Dunnen, W. F. A., & Dolga, A. M. (2024). The link between amyloid β and ferroptosis pathway in Alzheimer's disease progression. *Cell Death & Disease*, 15(10), 782. <https://doi.org/10.1038/s41419-024-07152-0>
- *Martis, R. M., Knight, L. J., Donaldson, P. J., & Lim, J. C. (2020). Identification, Expression, and Roles of the Cystine/Glutamate Antiporter in Ocular Tissues. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2020/4594606>
- Masters, C. L., Simms, G., Weinman, N. A., Multhaup, G., McDonald, B. L., & Beyreuther, K. (1985). Amyloid plaque core protein in Alzheimer disease and Down syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 82(12), 4245–4249. <https://doi.org/10.1073/pnas.82.12.4245>
- McCord, J. M., & Fridovich, I. (1969). Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein). *The Journal of Biological Chemistry*, 244(22), 6049–6055.

- Metzstein, M. M., Stanfield, G. M., & Horvitz, H. R. (1998). Genetics of programmed cell death in *C. elegans*: Past, present and future. *Trends in Genetics*, *14*(10), 410–416.
[https://doi.org/10.1016/S0168-9525\(98\)01573-X](https://doi.org/10.1016/S0168-9525(98)01573-X)
- Mitchell, A. J., & Shiri-Feshki, M. (2009). Rate of progression of mild cognitive impairment to dementia – meta-analysis of 41 robust inception cohort studies. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, *119*(4), 252–265. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0447.2008.01326.x>
- *Paul, B. D., Sbodio, J. I., & Snyder, S. H. (2018). Cysteine Metabolism in Neuronal Redox Homeostasis. *Trends in Pharmacological Sciences*, *39*(5), 513–524.
<https://doi.org/10.1016/j.tips.2018.02.007>
- Pfeifer, H., Conrad, M., Roethlein, D., Kyriakopoulos, A., Brielmeier, M., Bornkamm, G. W., & Behne, D. (2001). Identification of a specific sperm nuclei selenoenzyme necessary for protamine thiol cross-linking during sperm maturation. *The FASEB Journal*, *15*(7), 1236–1238. <https://doi.org/10.1096/fj.00-0655fje>
- Porter, N. A., Caldwell, S. E., & Mills, K. A. (1995). Mechanisms of free radical oxidation of unsaturated lipids. *Lipids*, *30*(4), 277–290. <https://doi.org/10.1007/BF02536034>
- Pryor, W. A. (Ed.). (1976). *Free radicals in biology*. Academic Press.
- Pryor, W. A. (1986). Oxy-Radicals and Related Species: Their Formation, Lifetimes, and Reactions. *Annual Review of Physiology*, *48*(1), 657–667.
<https://doi.org/10.1146/annurev.ph.48.030186.003301>
- Rottkamp, C. A., Raina, A. K., Zhu, X., Gaier, E., Bush, A. I., Atwood, C. S., Chevion, M., Perry, G., & Smith, M. A. (2001). Redox-active iron mediates amyloid- β toxicity. *Free Radical Biology and Medicine*, *30*(4), 447–450. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(00\)00494-9](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(00)00494-9)
- Sato, H., Shiiya, A., Kimata, M., Maebara, K., Tamba, M., Sakakura, Y., Makino, N., Sugiyama, F., Yagami, K., Moriguchi, T., Takahashi, S., & Bannai, S. (2005). Redox Imbalance in Cystine/Glutamate Transporter-deficient Mice. *Journal of Biological Chemistry*, *280*(45), 37423–37429. <https://doi.org/10.1074/jbc.M506439200>
- Sato, H., Tamba, M., Ishii, T., & Bannai, S. (1999). Cloning and Expression of a Plasma Membrane Cystine/Glutamate Exchange Transporter Composed of Two Distinct Proteins. *Journal of Biological Chemistry*, *274*(17), 11455–11458.
<https://doi.org/10.1074/jbc.274.17.11455>
- Sayre, L. M., Perry, G., Harris, P. L. R., Liu, Y., Schubert, K. A., & Smith, M. A. (2000). In Situ Oxidative Catalysis by Neurofibrillary Tangles and Senile Plaques in Alzheimer's Disease: A Central Role for Bound Transition Metals. *Journal of Neurochemistry*, *74*(1), 270–279. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2000.0740270.x>

- Seelig, G. F., Simonsen, R. P., & Meister, A. (1984). Reversible dissociation of gamma-glutamylcysteine synthetase into two subunits. *Journal of Biological Chemistry*, 259(15), 9345–9347. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(17\)42703-7](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(17)42703-7)
- Seiler, A., Schneider, M., Förster, H., Roth, S., Wirth, E. K., Culmsee, C., Plesnila, N., Kremmer, E., Rådmark, O., Wurst, W., Bornkamm, G. W., Schweizer, U., & Conrad, M. (2008). Glutathione Peroxidase 4 Senses and Translates Oxidative Stress into 12/15-Lipoxygenase Dependent- and AIF-Mediated Cell Death. *Cell Metabolism*, 8(3), 237–248. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2008.07.005>
- Sripetchwandee, J., Kongkaew, A., Kumfu, S., Chunchai, T., Chattipakorn, N., & Chattipakorn, S. C. (2023). Ferrostatin-1 and Z-VAD-FMK potentially attenuated Iron-mediated neurotoxicity and rescued cognitive function in Iron-overloaded rats. *Life Sciences*, 313, 121269. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2022.121269>
- Stelzmann, R. A., Norman Schnitzlein, H., & Reed Murtagh, F. (1995). An english translation of alzheimer's 1907 paper, "über eine eigenartige erkankung der hirnrinde". *Clinical Anatomy*, 8(6), 429–431. <https://doi.org/10.1002/ca.980080612>
- Wang, S., Jiang, Y., Liu, Y., Liu, Q., Sun, H., Mei, M., & Liao, X. (2022). Ferroptosis promotes microtubule-associated protein tau aggregation via GSK-3 β activation and proteasome inhibition. *Molecular Neurobiology*, 59(3), 1486–1501. <https://doi.org/10.1007/s12035-022-02731-8>
- Weingarten, M. D., Lockwood, A. H., Hwo, S. Y., & Kirschner, M. W. (1975). A protein factor essential for microtubule assembly. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 72(5), 1858–1862. <https://doi.org/10.1073/pnas.72.5.1858>
- Yagoda, N., Von Rechenberg, M., Zaganjor, E., Bauer, A. J., Yang, W. S., Fridman, D. J., Wolpaw, A. J., Smukste, I., Peltier, J. M., Boniface, J. J., Smith, R., Lessnick, S. L., Sahasrabudhe, S., & Stockwell, B. R. (2007). RAS–RAF–MEK-dependent oxidative cell death involving voltage-dependent anion channels. *Nature*, 447(7146), 865–869. <https://doi.org/10.1038/nature05859>
- Yang, W. S., & Stockwell, B. R. (2008). Synthetic Lethal Screening Identifies Compounds Activating Iron-Dependent, Nonapoptotic Cell Death in Oncogenic-RAS-Harboring Cancer Cells. *Chemistry & Biology*, 15(3), 234–245. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2008.02.010>
- Yant, L. J., Ran, Q., Rao, L., Van Remmen, H., Shibatani, T., Belter, J. G., Motta, L., Richardson, A., & Prolla, T. A. (2003). The selenoprotein GPX4 is essential for mouse development and protects from radiation and oxidative damage insults. *Free Radical Biology and Medicine*, 34(4), 496–502. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(02\)01360-6](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(02)01360-6)

- Yong, Y., Yan, L., Wei, J., Feng, C., Yu, L., Wu, J., Guo, M., Fan, D., Yu, C., Qin, D., Zhou, X., & Wu, A. (2024). A novel ferroptosis inhibitor, Thonningianin A, improves Alzheimer's disease by activating GPX4. *Theranostics*, *14*(16), 6161–6184.
<https://doi.org/10.7150/thno.98172>
- Yoo, M.-H., Gu, X., Xu, X.-M., Kim, J.-Y., Carlson, B. A., Patterson, A. D., Cai, H., Gladyshev, V. N., & Hatfield, D. L. (2010). Delineating the Role of Glutathione Peroxidase 4 in Protecting Cells Against Lipid Hydroperoxide Damage and in Alzheimer's Disease. *Antioxidants & Redox Signaling*, *12*(7), 819–827. <https://doi.org/10.1089/ars.2009.2891>
- *Yu, P., & Chang, Y.-Z. (2019). Brain Iron Metabolism and Regulation. V Y.-Z. Chang (Ed.), *Brain Iron Metabolism and CNS Diseases* (Roč. 1173, s. 33–44). Springer Singapore.
https://doi.org/10.1007/978-981-13-9589-5_3
- Zhang, C., Rodriguez, C., Spaulding, J., Aw, T. Y., & Feng, J. (2012). Age-Dependent and Tissue-Related Glutathione Redox Status in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, *28*(3), 655–666. <https://doi.org/10.3233/JAD-2011-111244>
- Zhu, D., Liang, R., Liu, Y., Li, Z., Cheng, L., Ren, J., Guo, Y., Wang, M., Chai, H., Niu, Q., Yang, S., Bai, J., Yu, H., Zhang, H., & Qin, X. (2022). Deferoxamine ameliorated Al(mal)₃ - induced neuronal ferroptosis in adult rats by chelating brain iron to attenuate oxidative damage. *Toxicology Mechanisms and Methods*, *32*(7), 530–541.
<https://doi.org/10.1080/15376516.2022.2053254>