

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

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



Natálie Novotná

Význam lipidového složení membrán pro rozvoj Alzheimerovy choroby
The importance of lipid composition of membranes for the development of
Alzheimer's disease

Bakalářská práce

Školitel: RNDr. Vladimír Rudajev, PhD

Praha, 2021

Poděkování

Mé poděkování patří RNDr. Vladimíru Rudajevovi za odborné vedení, trpělivost a ochotu, kterou mi v průběhu zpracovávání bakalářské práce věnoval.

Čestné prohlášení

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

V Praze, 6. května 2021

Podpis studenta

Abstrakt:

Lipidy jsou základní složkou buněčných membrán a jejich homeostáza hraje významnou roli v rozvoji Alzheimerovy choroby. Agregace a neurotoxické působení amyloidu β , především $A\beta_{42}$, na membránu neuronálních buněk, se jeví jako stěžejní pro patologické změny mozkové tkáně vedoucí k její degeneraci a ztrátě kognitivních funkcí. Komplexním vztah mezi amyloidem β a lipidy potvrzuje také skutečnost, že membránové lipidy se nepodílí pouze na navázání peptidu na membránu, ale rovněž regulují sestřih amyloidového prekursorového proteinu, tedy samotnou biosyntézu β amyloidu. Mezi nejvýznamnější vazebné partnery $A\beta_{42}$ patří gangliosidy, zejména gangliosid GM1, ale také sfingomyelin a cholesterol. Naproti tomu glycerofosfolipidy ovlivňují především samotný proces tvorby proteinu.

Klíčová slova:

Buněčná membrána, amyloid beta, Alzheimerova choroba, lipidy, gangliosidy, cholesterol, sfingolipidy, sfingomyelin, fosfolipidy, lipidové rafty, membránové domény, neurotoxicita

Abstract:

Lipids are an essential components of cell membranes and their homeostasis plays an important role in the development of Alzheimer's disease. The aggregation and neurotoxic effects of amyloid β , mainly $A\beta_{42}$, on the neural cell membrane are crucial for pathological changes in the brain tissue which leads to its degeneration and loss of cognitive functions. The complex relationship between amyloid β and lipids is also supported by fact that membrane lipids do not only support the amyloid binding to the membrane, but also they regulate the splicing of the amyloid precursor protein, therefore the biosynthesis of β amyloid. The most important binding partners of $A\beta_{42}$ include gangliosides, especially the ganglioside GM1, but also sphingomyelin and cholesterol. In contrast, glycerophospholipids primarily affect the process of the protein production.

Key words:

Cell membrane, amyloid beta, Alzheimer's disease, lipids, gangliosides, cholesterol, sphingolipids, sphingomyelin, phospholipids, lipid rafts, membrane domains, neurotoxicity

Seznam použitých zkratk

A β	-	Amyloid beta
AD	-	Alzheimerova choroba (Alzheimer's disease)
APOE	-	Apolipoprotein E (gen)
ApoE	-	Apolipoprotein E (protein)
APP	-	Amyloidní prekurzorový protein
BBB	-	Hematoencefalická bariéra (Blood brain barrier)
C1	-	Uhlík (Carboneum) v pozici 1
CHOL	-	Cholesterol
CNS	-	Centrální nervová soustava
CSF	-	Mozkomíšní mok (Cerebrospinal fluid)
CTF	-	C – terminální fragment
DHA	-	Kyselina dokosaheptaenová (Docosahexaenoic acid)
EPA	-	Kyselina eikosapentaenová (Icosapentaenoic acid)
ER	-	Endoplazmatické retikulum
GA	-	Golgiho aparát
GA β	-	Amyloid beta navázaný na GM1
GM	-	Monosialotetrahexosylgangliosid
HDL	-	Lipoproteiny s vysokou hustotou (High density lipoproteins)
IL	-	Interleukin
m%	-	Molární procento
MAM	-	Membrány asociované s mitochondriemi
NFTs	-	Neurofibrilární shluky (Neurofibrillary tangles)
NLRP	-	Nucleotide binding oligomerization domain-like receptor protein
PC*	-	Fosfatidylcholin

PE*	-	Fosfatidylethanolamin
PEBP	-	Fosfatidylethanolamin vázající protein (PE-binding protein)
PI*	-	Fosfatidylinozitol
PIP2*	-	Fosfatidylinozitol 4,5-bisfosfát
PL	-	Plasmalogen
PIEtn	-	Plasmenylethanolamin
PS*	-	Fosfatidylserin
PSEN1	-	Presenilin 1 (gen)
PSEN2	-	Presenilin 2 (gen)
PS1	-	Presenilin 1 (protein)
PS2	-	Presenilin 2 (protein)
ROS	-	Reaktivní formy kyslíku (Reactive Oxygen Species)
sAPP	-	Rozpustný APP (Soluble amyloid precursor protein)
SM	-	Sfingomyelin
SMáza	-	Sfingomyelináza
TNF α	-	Faktor nádorové nekrózy alfa (Tumor necrosis factor alfa)

* Zkratka “p“ pro písmenko “f“ z anglického “ph“ (např. phosphat – fosfát)

OBSAH

1	ÚVOD	1
1.1	Alzheimerova choroba.....	1
2	AMYLOID BETA	2
3	LIPIDOVÉ SLOŽENÍ MEMBRÁN V MOZKU	4
3.1	Membrána	4
3.2	Lipidové rafty	5
4	VÝZNAM JEDNOTLIVÝCH LIPIDŮ V MEMBRÁNĚ VZHLEDEM K A β V RÁMCI PATOLOGIE AD	5
4.1	Glycerofosfolipidy	5
4.1.1	Fosfatidylcholin.....	6
4.1.2	Fosfatidylethanolamin	6
4.1.3	Fosfatidylserin	7
4.1.4	Fosfatidylinozitol.....	8
4.1.4.1	Kyselina dokosaehxaenová a kyselina eikosapentaenová...	9
4.1.5	Plasmalogeny.....	9
4.1.5.1	Plasmenylethanolamin.....	10
4.2	Sfingolipidy	11
4.2.1	Sfingomyelin.....	11
4.3	Glykolipidy	12
4.3.1	Monosialotetrahexosylgangliosid	12
4.3.2	Ostatní gangliosidy.....	13
4.4	Cholesterol	14
5	ZÁVĚR.....	16
6	POUŽITÁ LITERATURA.....	17

1 ÚVOD

1.1 Alzheimerova choroba

Alzheimerova choroba (AD) je progresivní neurodegenerativní onemocnění projevující se, ztrátou paměti a kognitivních funkcí (Cummings a Cole, 2002), z důvodu neurodegenerace mozkové tkáně začínající v hipokampu a kortikálních oblastech a postupně se rozšiřující do zbylých oblastí mozku. Jedná se o nejčastější formu demence v populaci, představující téměř 70 % všech případů demence (Gaugler et al., 2016) a podle WHO o 7. nejčastější příčinu úmrtí na světě.

AD se dělí podle vzniku do dvou základních skupin. (1) Familiární forma AD je geneticky podmíněná, způsobená mutací v jednom ze tří genů: APP, PSEN1, PSEN2 nacházející se na 21., 14., a 1. chromozomu. Produkty těchto genů se účastní tvorby amyloidu β , tedy rizikového faktoru AD. Jedná se o autozomálně dominantní onemocnění, často se vyskytující v několika po sobě jdoucích generacích v rámci jedné rodiny (Bertram et al., 2010). U (2) sporadické formy AD není molekulární mechanismus vzniku doposud plně objasněn. S největší pravděpodobností se na jejím vzniku podílí jak genetické faktory, tak faktory prostředí (Corder et al., 1993; Small et al., 1997)

Hlavním rizikovým faktorem pro vznik AD je věk. Pravděpodobnost rozvoje exponenciálně roste s přibývajícím věkem. Incidence pro populaci ve věkovém rozmezí 65 - 84 let je 8 %, ve věkové skupině nad 85 let 30 % (Small et al., 1997) a po dosažení 90. roku života je pravděpodobnost rozvoje AD téměř 50 % (Ritchie a Kildea, 1995). Častěji jsou zasaženy ženy, než muži a to v poměru 3:2 (Seshadri et al., 1997). Význam se příkládá i životnímu stylu, který ovlivňuje především rychlost rozvoje choroby. Vyšší riziko je u lidí s nižším vzděláním (Roe et al., 2007), ale také při nadměrném užívání alkoholových a tabákových výrobků, při obezitě, nadměrném stresu a po úrazu hlavy (Podcasy a Epperson, 2016). Jediný dosud uznaný genetický faktor představuje gen pro apolipoprotein E (APOE), lokalizován na 19. chromozomu. Existují tři alely tohoto genu APOE – ϵ 2, APOE – ϵ 3 a APOE – ϵ 4. Přítomnost alely APOE – ϵ 4 je prokázána u více jak 50 % pacientů trpících AD (Corder et al., 1993), naopak APOE – ϵ 2 se ukázala jako neuroprotektivní (Muñoz et al., 2019). ApoE je multifunkční protein, jehož role spočívá v metabolismu lipidů. Zde se účastní transportu lipidů, především cholesterolu přes mozkomíšní mok (CSF) a plazmatickou membránu. Regulace genové exprese ApoE a jeho sestřih za vzniku neurotoxických forem amyloidu beta ($A\beta$), se jeví jako klíčové pro jeho roli v rámci AD (Yin a Wang, 2018) I přes veškeré snahy však zůstává jeho hlavní význam v rozvoji AD doposud neznámý.

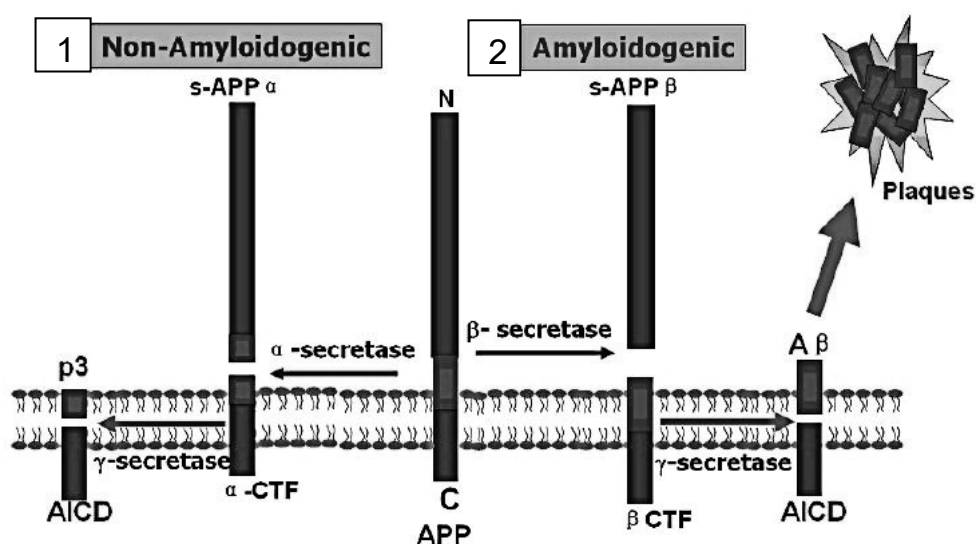
Jsou rozpoznávány tři základní jevy Alzheimerovy choroby v mozku pacientů, které spolu úzce souvisí. (1) Oxidační stres, vede k nadprodukci volných kyslíkových radikálů (ROS), podílejících se na neurodegeneraci (Smith et al., 2000). Pro zbylé dva mechanismy je charakteristická tvorba proteinových agregátů v mozkové tkáni. (2) Intraneurální formování neurofibrilárních shluků (NFTs) je způsobeno hyperfosforylací τ proteinu, který následně vytváří helikální vlákna uvnitř neurálních buněk, což vede k destabilizaci mikrotubulů a degradaci neuronů (Kosik et al., 1986). (3) Třetí patogenezi je tvorba extracelulárních, senilních plaků složených především z amyloidu β .

Tato bakalářská práce je zaměřena na třetí biochemický proces degenerace mozkové tkáně. Stěžejní se pro tuto patologii zdá být lipidické složení membrány a neurotoxické působení amyloidu β , především $A\beta_{42}$, tedy izoformy amyloidu o délce 42 aminokyselin.

2 AMYLOID BETA

Amyloid beta ($A\beta$) je hlavní složkou amyloidních plaků, nacházejících se v mozku pacientů s Alzheimerovou chorobou. Předpokládá se, že akumulace a následná agregace $A\beta$ je primární událostí vedoucí k rozvoji tohoto neurodegenerativního onemocnění (Hardy a Selkoe, 2002).

Vznik $A\beta$ probíhá sestřihem dlouhého, transmembránového proteinu, amyloidního prekurzoru (APP) (Obr.1). APP je syntetizován v lumen endoplazmatického retikula (ER), odkud je přepraven do Golgiho aparátu (GA). V GA dochází k jeho maturaci a posléze k transportu na povrch buňky, kde je pomocí svého sestřihového aparátu zpracován do peptidů dlouhého 36 až 43 aminokyselin (Haass et al., 2012; Zhang et al., 2012). Alternativně může probíhat sestřih v intracelulárních endozomech, z kterých je následně uvolněn do extracelulárního prostoru (Koo a Squazzo, 1994). APP je membránový glykoprotein typu I, který má význam v řadě biologických aktivit, včetně vývoje neuronů, signalizace, transportu, či udržení neurální homeostázy. Prekurzor je tvořen jednou doménou procházející membránou, dlouhého extracelulárního glykosylovaného N-konce a kratšího, cytosolického C-konce (Wilkins a Swerdlow, 2017).



OBRÁZEK 1 Existují dvě alternativní cesty pro zpracování APP: (1) NE-AMYLOIDOGENNÍ CESTA, (2) AMYLOIDOGENNÍ CESTA (Zhang a Saunders 2009): V první případě (1) je prekurzor nejprve štěpen α -sekretázou, za uvolnění rozpustného APP (sAPP α). Přičemž se na membráně generuje C-terminální fragment (CTF α), z kterého je γ sekretázou odštěpena intracelulární, C-koncová část. V membráně tak zůstává zabudovaný peptid P3. Při amyloidogenní cestě (2) nejprve dochází k odštěpení N-konce β -sekretázou, za vzniku sAPP β . Následně γ -sekretáza odštěpí intracelulární C-koncovou část. V závislosti na pozici štěpení β - a γ -sekretázy vznikají peptidy o délce 40, až 42 aminokyselin, $A\beta_{40}$ – $A\beta_{42}$ (Chen et al., 2017).

Sestřižený A β je poté uvolněn do extracelulárního prostoru, kde interaguje s dalšími A β a společně vytváří struktury vyššího řádu. Spojením monomerních A β vznikají globulární či fibrilární oligomery, rozpustné agregáty složené ze dvou či více podjednotek. Skládáním oligomerů A β se vytváří protofibrily, z kterých se v poslední fázi stávají maturované fibrily. Fibrily mohou fragmentovat, za vzniku fibrilárních forem oligomerů, které mohou znovu agregovat a tím celý proces urychlit. Monomerní A β a maturované fibrily se rovněž mohou vázat na membránu a vytvářet zde amyloidní vlákna, která se posléze organizují do amyloidních plaků (Verma et al., 2015). Počáteční studie předpokládaly, že amyloidní fibrily jsou hlavním neurotoxickým agens, způsobující neurodegeneraci mozkové tkáně (Lorenzo a Yankner, 1996). Čím dál častěji se ale objevuje protichůdný názor, a to, že příčinou buněčné smrti neurálních buněk v mozkové tkáni jsou oligomery A β (He et al., 2012).

Cytotoxické oligomery či fibrily poškozují plazmatické membrány buněk, včetně membrán mitochondrií, ER, lysozomů (Sakono a Zako, 2010). A způsobuje tak defekty v buněčném transportu a signalizaci neurony (Demuro et al., 2010), indukují zvýšenou produkci reaktivních forem kyslíku (ROS) (Cardoso et al., 2004). Kromě neurálních buněk v mozkové tkáni A β oligomery ovlivňují také funkci astrocytů a mikroglíí, tedy buněk imunitního systému (Rodríguez et al., 2010; Verkhratsky et al., 2010). Také interferují chaperony a molekulami proteazomového systému, což mimo jiné ovlivňuje produkci samotného A β . Monomerní A β se také může samo interagovat do membrány a narušit tak její kompaktnost, vedou k porušení homeostázy buňky (Yip et al., 2001). Tyto defekty vedou k nefunkčnosti buněčných dějů či k apoptóze. Dochází tak k neurodegeneraci buněčné tkáně, typickému znaku AD.

Vlastnosti A β hrají velkou roli v tvorbě proteinových agregátů a v míře toxického působení. Tyto vlastnosti jsou kromě okolí dány i samotným strukturním složením peptidu (Verma et al., 2015). Primární struktura proteinů je podmíněná sekvencí aminokyselin v proteinovém řetězci. Krátké formy A β nevykazují vysokou známku toxicity oproti delším formám, konkrétně A β 40 a A β 42 (De Felice et al., 2008). A β 40 je protein dlouhý 40 aminokyselin, zakončený valinem. Vytváří agregáty ve formě monomerů, dimerů, trimerů či tetramerů. O dvě aminokyseliny delší formou je A β 42, který má navíc na svém C-konci izoleucin a alanin. A β 40 se vyskytuje v mozku častěji, naproti tomu A β 42 má vyšší tendenci agregace a neurotoxického působení (Marina et al., 2003). Amyloidní protein je všeobecné označení pro proteiny, u kterých dochází k chybnému či neúplnému sbalení do sekundární struktury. Následkem toho protein nemá správnou funkci a v mnoha případech působí toxicky (Verma et al., 2015). Monomerní formy A β většinou zaujímají α helikální strukturu či obsahují směs více forem sekundárních struktur. Naproti tomu v amyloidních agregátech jsou pozorované struktury bohaté na β listy. Pro konformační změnu peptidů se tedy zdá být stěžejní přechod monomerních A β do oligomerních struktur (Choo et al., 1996).

Kromě vlastností samotného proteinu má vliv na jeho agregaci a toxické působení i okolní prostředí. Podstatnými faktory jsou pH, teplota a iontová síla (Terakawa et al., 2015), ale nejpodstatnější se pro iniciaci agregace A β jeví lipidová dvojvrstva. Oligomerizace A β probíhá při vysokých koncentracích spontánně, nicméně v počátečních stádiích AD jsou v mozku pacientů přítomny pouze nanomolární koncentrace A β , nedostatečné pro vlastní shlukování bez pomoci dalších faktorů (Vácha et al., 2014).

3 LIPIDOVÉ SLOŽENÍ MEMBRÁN V MOZKU

3.1 Membrána

Biologické membrány vytváří bariéru, která definuje buňku jako uzavřenou jednotku, oddělenou od okolního prostředí. Kromě vymezení morfologie buněk a organel se buněčné membrány podílí na celé řadě dalších funkcí včetně transportu, regulace přenosu látek přes membránu, signalizace, komunikace, vytváření homeostázy či optimálního prostředí pro stabilitu a správnou enzymatickou aktivitu proteinů (Piomelli et al., 2007). Základní složkou buněčných membrán jsou lipidy, které jsou na základě svých amfipatických vlastností uspořádány do dvojvrstvy (Singer a Nicolson, 1972). Součástí membrán jsou ale také proteiny, které významně přispívají k funkční rozmanitosti buněčných membrán (Tan et al., 2008). Množství zastoupení těchto složek v membráně je rozhodující pro její fyzikální a chemické vlastnosti, včetně tekutosti, tloušťky či hydrofobicity (Drin, 2014).

Lipidové složení vnitřního a vnějšího listu není totožné. Vnitřní list je bohatý na fosfatidylserin (PS), fosfatidylethanolamin (PE) a fosfatidylinozitol (PI), zatímco vnější list obsahuje především sfingomyelin (SM) (Piomelli et al., 2007). Fosfatidylcholin (PC) je rovnoměrně distribuován do obou listů buněčné membrány (Vance, 2015). Stejně tak není totožné zastoupení lipidů v buňkách jednotlivých tkání (Tab.1). Obzvláště membrány neurálních buněk obsahují vysoké zastoupení lipidů, není tedy divů, že suchá váha mozku je z 50 % tvořena lipidy a mozek je po tukové tkáni druhým nejučtější orgánem v lidském těle (Piomelli et al., 2007). Membrány neurálních buněk se skládají z 82 % z lipidů a 17 % z proteinů (Tan et al., 2008). Přibližné zastoupení jednotlivých lipidů je následující: 50 % fosfolipidy, 20 - 30 % glykolipidy a 20 - 30% tvoří cholesterol a jeho estery (Tab.1) (Sastry, 1985). Na jednu molekulu myelinového proteinu připadne 186 lipidových molekul, z nichž 111 jsou polární lipidy a zbylých 75 tvoří cholesterol (O'Brien a Sampson, 1965).

TABULKA 1 Porovnání lipidové složení savčí somatické buňky (Převzato a upraveno z (Vance, 2015)) a lidské neurální buňky (Převzato a upraveno z (Sastry, 1985)).

Typ lipidu	Procentuální zastoupení lipidů [%] v membráně somatické buňky	Procentuální zastoupení lipidů [%] v membráně neurální buňky
Fosfatidylcholin	45–55	15
Fosfatidylethanolamin	15–25	15
Fosfatidylserin	10–15	8
Fosfatidylinozitol	5–10	1,3
Kyselina fosfatidová	1–2	1
Sfingomyelin	5–10	14,8
Kardiolipin	2–5	-
Fosfatidylglycerol	<1	0,1
Glykosfingolipidy	2–5	20–30
Cholesterol	10–20	20–30

Kinetika tvorby amyloidové fibrilace je do velké míry ovlivněna složením membrány. Membrána se zároveň podílí na sbalení, či změně konformace amyloidových agregátů, akumulaci v dané oblasti a jejich orientaci do prostoru (Vácha et al., 2014). Kromě toho může navázaný A β působit toxicky na membránu a ovlivnit tak její tekutost, funkci kanálů a tím koncentraci intracelulárních a extracelulárních iontů (Demuro et al., 2010), funkci enzymů zde vázaných, anebo generovat volné radikály (Cardoso et al., 2004). Stejně tak se membránové lipidy mohou podílet i na samotném sestřihu APP a vzniku A β 42 či A β 40, tedy amyloidů zásadních pro rozvoj AD (Che et al., 2018; Rothhaar et al., 2012)

3.2 Lipidové rafty

Lipidové rafty jsou dynamické struktury o velikosti 30–250 nm obsažené v plazmatické membráně. Jejich velikost je značně limitující pro klasické přístupy optické mikroskopie. Kombinací technik fluorescenční korelační spektroskopie a redukci fluorescence stimulovanou emisí však bylo docíleno lepšího poznání těchto doménových struktur v nanometrickém měřítku (Brown et al., 2009).

Lipidové rafty jsou formovány především bočním propojením sfingolipidů, cholesterolu (CHOL) (Bagnat et al., 2000), gangliosidů a fosfolipidů (Gaamouch et al., 2016). Díky akumulaci lipidů se specifickými vlastnostmi, lipidové rafty mohou sloužit jako platformy pro vzájemnou interakci A β (Hong et al., 2014), ApoE (Yin a Wang, 2018) a tau proteinu (Kosik et al., 1986). Také zde byly nalezeny proteiny významné pro AD, jako je APP, γ – sekretázy, β – sekretázy a neprilysin, což naznačuje, že k amyloidogennímu zpracování APP dochází kromě jiného v lipidových raftech (Gaamouch et al., 2016). To je další důkaz toho, že lipidové rafty hrají důležitou roli v agregaci A β oligomerů (Kawarabayashi et al., 2004), ale i hyperfosforylovaného tau proteinu (Kosik et al., 1986).

4 VÝZNAM JEDNOTLIVÝCH LIPIDŮ V MEMBRÁNĚ VZHLEDEM K A β V RÁMCI PATOLOGIE AD

4.1 Glycerofosfolipidy

Glycerolfosfolipidy, či fosfoglyceridy jsou nejvíce zastoupeným typem lipidů v buněčných membránách. Jejich tělo je tvořeno glycerolem, trojsytným alkoholem, na jehož prvním a druhém uhlíku (C1, C2) jsou navázány dva řetězce mastných kyselin, které zajišťují hydrofobní vlastnosti glycerofosfolipidů. Na C3 glycerolu je přes molekulu fosfátu navázána polární skupina jako je cholin, serin, etanolamin atd., díky které jednotlivé fosfolipidy získávají své specifické vlastnosti (Dawson, 1957). Syntéza fosfolipidů probíhá až na výjimky v ER, odkud jsou jednotlivé fosfolipidy transportovány do cílových membrán pomocí cytosolických přenosných proteinů, vezikulů, difúzí a fúzí membrán (Vance, 2015). Jak už bylo řečeno, mozek je bohatý orgán na obsah lipidů a glycerolfosfolipidy společně s cholesterolem a glykolipidy představují jejich hlavní složku (Piomelli et al., 2007). Rostoucí důkazy naznačují, že změny v počtu, či složení glycerofosfolipidů mohou modulovat nejrůznější patologické procesy spojené s AD (Cunnane et al., 2012; Ellison et al., 1987; Varma et al., 2018)

S přibývajícím věkem obsah glycerofosfolipidů v mozkové tkáni samovolně klesá v závislosti na typu lipidu a jeho lokalizaci v buněčných membránách. Průměrný pokles glycerofosfolipidů: PI, PC, PE je menší než 10 %. Hladiny plasmenylethanolaminu (PIEtn) klesají do věku 70 let až o 18 % a do 100 let tento pokles může být až 29 % (Kosicek a Hecimovic, 2013). Výraznější pokles glycerofosfolipidů je zaznamenán v mozku pacientů s AD (Varma et al., 2018). Dochází k snížení hladiny PI, PS a PE, u PC se jednotlivé názory rozcházejí, existují studie, které dokazují, že došlo k snížení hladiny PC v mozku pacientů (Varma et al., 2018) ale rovněž existují studie, které tvrdí, že ke změně koncentrace nedošlo (Prasad et al., 1998). K nejvýraznějšímu poklesu dochází u plasmalogenu (PL) – PIEtn a to až o 40 % v závislosti na jeho lokalizaci (Han et al., 2001)

4.1.1 Fosfatidylcholin

Fosfatidylcholin (PC) neboli lecithin je nejčastěji se vyskytujícím lipidem buněčných membrán. Jednotlivé PC se liší délkou a stupněm nasycení hydrofobních řetězců, ale všechny mají na glycerolu přes fosfát navázaný aminoalkohol cholin. Cholin je důležitý pro přenos nervového vzruchu a také jako zdroj metylových skupin. PC slouží kromě strukturní jednotky membrány také jako hlavní zásobárna cholinu v těle, rovněž je součástí lipoproteinů, především lipoproteinů s vysokou hustotou (HDL), kde interaguje s ApoE a společně se podílí na transportu cholesterolu (Whiley et al., 2014).

V rámci patologie AD dochází k narušení metabolismu glycerofosfolipidů a dochází k významnému snížení koncentrace PC v membránách (Whiley et al., 2014). Nižší koncentrace PC byly spojeny se závažnějšími projevy amyloidních i neurofibrilárních patologií, což odpovídalo nižší úrovni kognitivních schopností daných jedinců (Varma et al., 2018). Důvodem korelace mezi snížením hladiny PC a kognitivních funkcí je neuroprotektivní chování glycerolipidu. Cholesterol v membránách zprostředkovává vazbu A β na membránu, což zvyšuje toxický efekt A β (viz podkapitola 4.4. Cholesterol). Pokud se zvýší koncentrace PC v membráně vůči cholesterolu, zvýší se inzerce A β do membrány a tím dojde k omezení tvorby A β a jejich neurotoxického působení. Rovněž hydrofilní hlavička PC stabilizuje A β na membráně a zabraňuje tak jeho fibrilaci (Ko et al., 2016).

4.1.2 Fosfatidylethanolamin

Fosfatidylethanolamin (PE) neboli kefalín je druhým nejhojněji zastoupeným glycerofosfolipidem v buněčných membránách. Svými chemickými vlastnostmi je podobný PC, ale liší se od něj tím, že cholin je nahrazen ethanolaminem (Vance, 2015) a rovněž svou lokalizací, jelikož se převážně vyskytuje na vnitřní straně plazmatické membrány (Fullerton et al., 2009).

PE v membránách ovlivňuje stabilitu a funkci mnoha membránových proteinů. Například na sebe váže protein PEBP (fosfatidylethanolamin-vázající protein), multifunkční protein, který může inhibovat aktivitu kinázy Raf či sloužit jako prekurzor pro neautostimulační peptid v hippokampu. Studie dokazují významnou korelaci mezi snížením mRNA tohoto proteinu a naopak zvýšenou akumulací A β (George et al., 2006). PE se také podílí na oxidační fosforylaci, autofágii a fúzi membrán (Area-Gomez et al., 2009) či je součástí metabolických drah PS a PC (Fullerton et al., 2009).

Pokud byla u myši poškozena jedna ze dvou hlavních biosyntetických drah pro produkci PE v buňce savců, nebyla tato změna sluchitelná se životem. Z toho důvodu, že defekty v biosyntéze jsou pro organismus většinou letální, je experimentálně velmi náročné určit roli PE při jeho poškození (Fullerton et al., 2009). Nicméně změna koncentrace PE je pozorována u řady chronických a infekčních onemocnění včetně AD, Parkinsonovy či Huntingtonovy choroby. Je tedy zřejmé, že změna metabolismu lipidů figuruje v patologii AD (Ellison et al., 1987).

V rámci AD dochází k zpracování APP γ -sekretázou, jehož katalytickou složku vytváří proteiny presenilin 1 (PS1) a presenilin 2 (PS2). APP je kromě jiného lokalizovaný i na membránách ER asociovaných s mitochondriemi (MAM) (Area-Gomez et al., 2009). APP sestříhový aparát je zde součástí detergent rezistentních membrán, membránových mikrodoménám složením připomínající lipidové rafty (Nesic et al., 2012). V rámci AD dochází k mutacím v PS1 a PS2, což vede k přiblížení MAM membrán s membráně mitochondrií, tato změna je doprovázena vyšší syntézou PE (Area-Gomez et al., 2009). Vyšší hladina PE zvyšuje aktivitu γ -sekretázy, a tedy generování A β . Pokud je snižena hladina PE v buňkách, je aktivita γ -sekretázy redukována, a naopak dochází k zvýšení katalytické funkce α -sekretázy. V laboratorních podmínkách lze hladinu PE snížit inhibicí PE syntetázy, prostřednictvím siRNA (Nesic et al., 2012). Není známy přesný mechanismus této změny, jedna z možností je, že právě změna v lipidovém složení membrány ovlivňuje dostupnost místa, štěpeného γ -sekretázou. Nebo, že PE ovlivňuje topologii γ -sekretázy. To má za následek, že nedochází k tak velké výrobě A β 40, A β 42, které by mohly spolu agregovat (Area-Gomez et al., 2009; Area-Gomez et al., 2012).

4.1.3 Fosfatidylserin

Fosfatidylserin (PS) je hlavním zástupcem polárních glycerolipidů v membránách. Vyznačuje se záporným nábojem polární skupiny, díky kterému může být rozeznáván celou řadou proteinů včetně proteinkinázy C (PKC) (Demuro et al., 2010), cholinesterázy, tyrosin hydroxylázy, Na⁺/K⁺ ATPázy, či superoxid dismutázy (Zhang et al., 2015). Snižením hladiny PS v neurálních buňkách vůči cholesterolu se sníží tekutost membrány, a to redukuje funkci mnoha enzymů, které vyžadují optimální fluiditu membrán. PS také ovlivňuje metabolismus neurotransmiterů jako je acetylcholin, serotonin, či dopamin a jejich správný přenos přes synaptickou šterbinu, či metabolismus glukózy (Zhang et al., 2015). PS má tak v neurálních buňkách mnoho funkcí a přímo, či nepřímo se podílí na enzymatické aktivitě, funkci receptorů a transportérů v membráně a přenosu akčního potenciálu mezi neurony (Parekh et al., 2000).

Mnohé studie dokazují, že exogenní PS podávaný pacientům s AD po dobu několika týdnů významně zlepšuje jejich kognitivní funkce. Orálně podávaný PS prochází snadno přes hematoencefalickou bariéru a inkorporuje se do buněčné membrány (Zanotta et al., 2014). Vyšší hladina PS v membráně snižuje aktivitu cholinesterázy, enzymu, který hydrolyzuje acetylcholin na cholin a kyselinu octovou. Acetylcholin úzce souvisí s lidským učením a pamětí a zvýšení jeho hladiny v mozku má pozitivní vliv na paměť a kognitivní funkce pacientů. V rámci AD dochází ke generaci velkého množství ROS molekul, které se podílejí na degeneraci nervových buněk a způsobují zánět v CNS. PS díky svými antioxidantním účinkům tento zánět redukuje (Zhang et al., 2015).

Díky svým pozitivním účinkům je PS v dnešní době široce diskutován, jako jeden z možných terapeutických prostředků pro zpomalení, či zastavení biochemických změn odehrávajících se v mozku pacientů trpících AD. Na druhou stranu ale nebylo dokázáno neuroprotektivní chování PS vůči A β v počátečním stádiu toho onemocnění. Možným vysvětlením je, že PS se běžně nachází převážně na vnitřní straně plazmatické membrány a k redistribuci PS do vnějšího listu plazmatické membrány dochází prostřednictvím ATP-dependentních enzymů zvaných flipáz. Stejně tak PS přidaný in vitro je transportován do vnitřní plazmatické membrány, kde jsou pouze omezené možnosti interakce s A β . PS nacházející se na vnější straně plazmatické membrány je s vysokou pravděpodobností signálem pro apoptózu, tedy buněčnou smrt, v tomto případě PS na vnější plazmatické membráně nemá tolik prostoru pro asociaci s A β (Ko et al., 2016).

4.1.4 Fosfatidylinozitol

Fosfatidylinozitol (PI) má na svém třetím uhlíku přes fosfátovou skupinu navázaný cyklický alkohol inositol. Fosfatidylinozitoly jsou známy především díky svým signálním funkcím, kterými regulují buněčný transport, pohyb, růst a dělení buňky (Robinson a Dixon, 2006).

V rámci patologie AD dochází k poklesu hladiny PI v neurálních membránách, nejvýraznější změna byla zaznamenána v temporální oblasti, kde došlo k redukci téměř poloviny lipidů (Stokes a Hawthorne, 1987). Nicméně po smrti dochází k rychlému odumření neurální tkáně a je možné, že změna koncentrace PI v rámci AD nebyl tak razantní (Eichberg a Dawson, 1965). Koncentrace PI v mozku je důležitá pro správnou funkci neurotransmisních receptorů, včetně acetylcholinových, noradrenalinových, adrenalinových a dopaminových. Pokles PI tedy zapříčiní špatnou komunikaci mezi neurony, dochází ke špatnému přenosu signálu mezi jednotlivými buňkami (George et al., 2006). A β je jednou z molekul, která zapříčiní snížení koncentrace PI. Například tak, že A β způsobí aktivaci mGluR5 receptoru, který způsobí odstranění fosfatidylinositolu 4,5-bosfosfátu (PIP2) z membrány (He et al., 2019).

Při neurodegeneraci buněk zprostředkované A β dochází různými cestami k aktivaci fosfatidylinozitol kinázových drah, především fosfatidylinozitol 3-kinázy (PI3K), která podporuje přežití buňky (Kihara et al., 2001). Kinázy fosforylují OH skupinu na C3 inositolu a tím regulují hladinu PI v buněčných membránách (Caraci et al., 2008).

Na druhou stranu PI jako jeden z málo glycerofosfolipidů hraje roli i ve vazbě a změně konformace A β . Byly vytvořeny vezikuly obsahující různé typy PI, lišící se přítomností fosfátových skupin na inositolovém kruhu a byl zkoumán jejich vliv na A β 40 a A β 42. Důležitým faktorem bylo pH, při pH 6 docházelo k vazbě obou A β a změně konformace na β strukturu, sekundární strukturu často se vyskytující v toxických amyloidních agregátech. Při neutrálním pH 7 měnil konformaci pouze A β 42, to může být vysvětleno přítomností tím, že vazba A β na membránu je závislá na hydrofobním účinku a A β 42 oproti A β 40 obsahuje o 2 hydrofobní aminokyseliny více na své C-terminální doméně (McLaurin et al., 1998). To dokazuje, že PI se podílí na iniciaci fibrilární formace, a tedy jeho význam v rámci AD může být jak pozitivní, tak negativní.

4.1.4.1 Kyselina dokosahexaenová a kyselina eikosapentaenová

Neuroprotektivní funkci fosfoglycerolipidů umocňuje přítomnost kyseliny dokosahexaenové (DHA) (Qu et al., 2016) a kyseliny eikosapentaenové (EPA) (Wen et al., 2019) v hydrofobní části lipidu, kde jsou navázány na glycerol. Jsou obsaženy především v PS (Cunnane et al., 2012) a PC (Qu et al., 2016). Obě se vyznačují protizánětlivými účinky, které mohou mít pozitivní vliv na paměť a zmírnit neuroregenerační změny.

DHA je nejčastěji se vyskytující omega 3 mastná kyselina v mozku člověka, kde sehrává zásadní roli pro jeho vývoj a funkci. Nachází se především v šedé kůře mozkové, tady v oblastech důležitých pro učení a paměť. V rámci AD dochází k poklesu DHA (Cunnane et al., 2012). EPA je prekurzorem DHA s podobnými účinky. Obě látky se v přírodě vyskytují především v mořských produktech, včetně rybího oleje a jako doplňky stravy jsou doporučeny pro pacienty s AD i jako prevence proti tomuto onemocnění (Kris-Etherton et al., 2009)

Formy DHA-PC a EPA-PC snižují hladinu mRNA i proteinu APP, také inhibují funkci β -sekretázy a γ -sekretázy, čímž významně redukuje hladiny rozpustného i nerozpustného A β 40 či A β 42 a zabraňují tak jejich neurotoxickému působení na membránu (Che et al., 2018). Dochází tak k zastavení, nebo aspoň k částečnému zpomalení patogeneze AD a ke zlepšení učení a paměti. Tyto poznatky byly pozorovány v mozku potkanů, kterým byl po dobu 30 dnů podáván DHA-PC. Zároveň došlo k snížení exprese fosforylovaného proteinu tau a obnovení neurální morfologie (Qu et al., 2016).

EPA-PC byl podáván potkanům po dobu 20 dnů a rovněž došlo k snížení progresu onemocnění, i když účinek oproti DHA-PC nebyl tak silný. Pokud byl PC nahrazen ethyl esterem (EE), tento efekt pozorován nebyl (Wen et al., 2019). EPA a DHA jsou rozpoznávány buněčným inflamazómem NOD-like receptor protein 3 (NLRP3). NLRP3 lze aktivovat pomocí velkého počtu signálních molekul, včetně agregátů A β . Aktivní NLRP3 mimo jiné produkuje cytokin IL-1 β , který podporuje rozvoj AD. EPA, respektive DHA po navázání na NLRP3 komplex inhibují jeho funkci, což vede k snížení A β depozitů a (Wen et al., 2019). V neposlední řadě EPA-PC a DHA-PC zvyšují aktivitu antioxidantů, které dokáží zachytit ROS a tím snížit riziko oxidačního stresu (Che et al., 2018).

4.1.5 Plasmalogeny

Plasmalogeny (Pls) jsou podtřídou etherových fosfolipidů, běžně se vyskytujících především v plazmatických membránách nervových a svalových buněk. Jedná se o speciální skupinu polárních glycerolfosfolipidů, strukturně podobných PE, které ale na rozdíl od něho mají na uhlíku C1 glycerolu vinyl etherovou vazbou navázán alifatický nasycený řetězec, díky čemuž získávají své specifické vlastnosti. Jejich zastoupení se v jednotlivých tkáních liší, stejně tak jejich funkce je tkáňově specifická. Podílejí se na buněčných procesech jako je vezikulární transport a signální transdukcce (Braverman a Moser, 2012), dále také hrají významnou roli ve fyzikálních vlastnostech membrány, včetně její tekutosti a ochraně membránových lipidů (Katafuchi et al., 2012), v prevenci oxidačního stresu (Broniec et al., 2011) a ve snížení protizánětlivé odpovědi (Katafuchi et al., 2012).

4.1.5.1 Plasmenylethanolamin

Nejčastějším zástupcem plasmalogenů je plasmenylethanolamin (PlsEtn), tvořící 20 % ethanolaminových fosfoglyceridů mozku a až 85 % ethanolaminových fosfoglyceridů v myelinu. Ubytek plasmalogenů v buněčných membránách tedy hraje významnou roli v patogenezi AD a podílí se na neurodegeneraci, ztrátě a disfunkci synapsí (Han et al., 2001).

Již v počátečních stádiích AD dochází k výraznému poklesu PlsEtn, a to o celých 40 % v bílé hmotě čelní, temenní a koncové oblasti mozku. Teprve v pokročilém stádiu AD dochází k poklesu koncentrace PlsEtn o 30 % i v šedé hmotě (Han et al., 2001), snížená hladina PlsEtn je také prokázána i v CSF, krevní plazmě a v membránách erytrocytů (Wood et al., 2015). Změna koncentrace PlsEtn vede kromě jiného k nestabilitě membránové dvojvrstvy a přispívá k rozvoji patogeneze AD. Navíc ke změnám koncentrace PlsEtn v membránách nedochází u jiných neurodegenerativních onemocněních jako je Huntingtonova choroba a Parkinsonova choroba a je tedy specifická pouze pro AD (Ginsberg et al., 1995). Pokles PlsEtn koreluje s deficitem kognitivních a smyslových funkcí, tedy stupeň redukce přímo souvisí se závažností onemocnění (Han et al., 2001). Dodnes není známo, zda snížení hladiny PlsEtn je příčina, nebo důsledek onemocnění, ani jakým způsobem k poklesu dochází. Uvažuje se o peroxizomální disfunkci, místa počátku biosyntézy Pls (Kou et al., 2011), rovněž se může jednat o oxidační stres (Broniec et al., 2011), zánětlivou odpověď, či jiné změně v membránové dvojvrstvě (Katafuchi et al., 2012).

Existují důkazy o pozitivních účincích PlsEtn na AD u hlodavců. U nich byl nejprve vyvolán pomocí lipoproteinů neurální zánět v hippocampu, který aktivoval gliové buňky a ty pak navodily prostředí podobné AD. Pokud byl poté hlodavcům injikován PlsEtn, došlo k zmírnění projevů onemocnění (Katafuchi et al., 2012). Především byl pozorován antiamyloidogenní účinek PlsEtn. PlsEtn přímo snižuje aktivitu γ -sekretázy, enzymu, který se podílí na syntéze A β . V rámci AD je A β jedním z faktorů vyvolávajících snížení koncentrace PlsEtn v membránách, což má za následek zvýšení aktivity γ -sekretázy a tedy ještě vyšší produkci A β (Rothhaar et al., 2012). Studie také ukázaly, že PlsEtn rovněž zabraňuje smrti neurálních buněk. Aktivují receptory spřažené s G proteiny, které aktivují proteinkinázu B, enzym, který je součástí MAP kinázové signální dráhy vedoucí do jádra a podílející se na změně genové exprese. V hippocampu myši inhibuje PlsEtn kaspázu-9 a kaspázu-2, tedy enzymy podílející se na apoptóze, což dokazuje neuroprotektivní účinek PlsEtn (Hossain et al., 2013).

4.2 Sfingolipidy

Existují dvě základní skupiny sfingolipidů, které jsou rozlišeny na základě svých polárních skupin: (1) fosfosfingolipidy a (2) glykosfingolipidy. Mezi fosfosfingolipidy patří sfingomyelin, do glykosfingolipidů se řadí cerebrosidy a gangliosidy (Lee et al., 2004). V mozku sfingolipidy zprostředkovávají širokou škálu biologických funkcí, které jsou relevantní pro rozvoj AD. Ovlivňují metabolismus APP prostřednictvím apoptózy (He et al. 2010), fosforylace tau proteinu, homeostázi vápníku a biosyntézou acetylcholinu (Varma et al., 2018), či regulují excitabilitu neurálního hippocampu. Nejčastějším zástupcem sfingolipidů je sfingomyelin (Norman et al., 2010).

4.2.1 Sfingomyelin

Sfingomyelin (SM) se vyskytuje především jako součást lipidových raftů (Hannun a Obeid, 2008), ve velkém množství jej lze nalézt v nervové tkáni, kde je součástí bílé hmoty mozkové, tedy hlavně v myelinových pochvách nervů. Na rozdíl od glycerofosfolipidů neobsahuje glycerol. Jeho tělo je tvořeno sfingosinem, nenasyceným aminoalkoholem, na který je amidovou vazbou navázaná mastná kyselina. Tato struktura se nazývá ceramid a tvoří nepolární část sfingomyelinu, ale i dalších sfingolipidů. Na koncovou OH skupinu sfingosinu je přes kyselinu fosforečnou navázán cholin (Massey, 2001).

Je prokázána změna koncentrace SM v mozkové tkáni pacientů s AD, ačkoliv jednotlivé studie si navzájem odporují. Častější je tvrzení, že dochází k zvýšení koncentrace SM v buněčných membránách, kdy zvýšená koncentrace koreluje se zhoršením kognitivních funkcí pacienta (Kosicek et al., 2012). Naopak se vyskytují i názory, že v rámci AD dochází k snížení koncentrace SM v membránách (He et al., 2010). Oba názory se však shodují v tom, že v rámci AD dochází k narušení metabolismu sfingolipidů a tento defekt souvisí s klíčovými aspekty patogeneze AD (He et al., 2010; Han et al., 2011; Kosicek et al., 2012)

Abnormální metabolismus SM je velmi často pozorován u AD. Klíčovým enzymem pro regulaci biosyntézy SM je sfingomyelináza, která hydrolyticky štěpí sfingomyelin na fosfocholin a ceramid. Aktivita sfingomyelinázy je závislá na pH, na jehož základě je rozdělena do tří skupin: kyselé, neutrální a alkalické sfingomyelinázy (Goi a Alonso, 2002). V rámci patologie AD se A β 42 váže na membránu. Interakce A β 42 s membránou přímo aktivuje neutrální sfingomyelinázu, která štěpí SM, což má za následek zvýšení ceramidu v buňce. Ceramid je významným apoptickým mediátorem, který kromě jiného indukuje smrt neuroglíí. Naopak pokud dojde k inhibici této sfingomyelinázy, sníží se syntéza ceramidu a zároveň cytotoxického působení A β (Lee et al., 2004). Tento proces je tedy závislý na aktivitě γ -sekretázy, která zpracovává APP. Aktivita γ -sekretázy je ovlivněna jak sfingomyelinázou, tak hydroxymethylglutaryl-CoA reduktázou, enzymem, který se podílí na metabolismu cholesterolu. Oba tyto enzymy snižují hladiny svých lipidů v membráně a tato změna lipidového složení membrán má vliv na aktivitu γ -sekretázy (Grimm et al., 2005). Další studie prokázaly, že A β 42 naopak aktivuje kyselou sfingomyelinázu, rovněž došlo k zvýšení koncentrace ceramidu, což vedlo k buněčné apoptóze. Kromě toho ceramid také dokáže stabilizovat β -sekretázu a tím podpořit produkci A β . Dochází zde tedy k pozitivní zpětné vazbě, která zvýší pravděpodobnost apoptózy buňky (He et al., 2010).

4.3 Glykolipidy

Gangliosidy jsou glykosfingolipidy, polární lipidy tvořené ceramidem, ke kterému je glykosidovou vazbou navázán rozvětvený oligosacharidový řetězec. Kromě běžných monosacharidů obsahují i zbytek kyseliny sialové (Obr. 2) (Ewers et al., 2010). Jsou přítomny v membránách všech buněk obratlovců, přičemž nejvyšší zastoupení dosahují v buňkách nervového systému (NS). Jedním z nejčastějších zástupců gangliosidů v mozku je GM1, který je v dnešní době považován za stěžejní pro vazbu a iniciaci agregace A β (Dai et al., 2020). Na druhou stranu existují i důkazy o neuroprotektivní a neuroregenerační funkci GM1 (Magistretti et al., 2019).

4.3.1 Monosialotetrahexosylgangliosid

Monosialotetrahexosylgangliosidy (GM1) jsou přednostně uspořádávány do lipidových raftů (Aureli et al., 2016). GM1 v lipidových raftech mají tendenci vytvářet klastry spojením svých polárních skupin. Prahová hodnota vzájemného propojení GM1 hlav do sítě byla experimentálně stanovena na 20 mol%. (Shi et al., 2007). Vytváří se tak rigidní platformy oligosacharidových řetězců gangliosidů, které svými vlastnostmi omezují pohyb A β po membráně a zvyšují šanci na jejich vzájemné propojení a tvorbu fibrilárních forem (Dai et al., 2020).

Je dokázáno, že v přítomnosti gangliosidů v membráně dochází k dramatickému zvýšení tvorby fibrilárních forem peptidu, a to s vazebnou afinitou v rozsahu 10^{-6} – 10^{-7} M, v závislosti na oligosacharidové struktuře glykolipidu (Choo-Smith et al., 1997). Vazba A β na gangliosidy představuje základ fibrilogeneze A β a tvorbu senilního plaku (Kakio et al., 2002). Vazba mezi A β a gangliosidem GM1 je primárně založena na elektrostatických interakcích. I velké změny koncentrace iontů nezmění vazebnou afinitu peptidu k membráně (Hong et al., 2014).

Po navázání A β na GM1 dochází k postupné změně konformace vysokého podílu A β z α helikální struktury na β list a k zvýšení hustoty proteinu na membráně. Změna konformace je závislá na poměru koncentrací A β vůči GM1 (Kim et al., 2006). Tato změna se zdá být gangliosid specifická a nebylo dokázáno, že by za působení zanedbatelné iontové síly a neutrálního pH probíhala u kyselých fosfolipidů, cholesterolu či sfingomyelinu. Stejně tak neprobíhala, pokud byly vyizolovány oligosacharidy daných gangliosidů (McLaurin et al., 1998). Existují ale i opačné studie, které naznačují, že oligosacharidový řetězec je významný pro interakci s mikrobiálními viry a toxiny, nikoli s A β . Pro ten se zdá být důležitější vnitřní část klastrů gangliosidů (Yagi-Utsumi et al., 2010).

Po navázání A β na GM1 tedy dochází ke konformační změně proteinu. Zároveň tento amyloid, navázaný na GM1 (GA β) slouží jako tzv. „semeno“ pro vznik agregátu. Na GA β se naváže další rozpustný A β a zaujme podobnou konformaci jako předešlý amyloid, zároveň na sebe váže další A β a současně slouží tedy jako šablona pro jeho konformační přechod. Tento celý proces postupně vede k tvorbě fibrily (Kakio et al., 2002). Druhým navrženým mechanismem je, že nejprve počáteční A β vytváří α helikální strukturu a teprve po zvýšení koncentrace A β dochází ke změně struktury na beta listy. K tomu nejspíše dochází ve chvíli, kdy A β dimerizují na membráně. Proces vede k dalšímu vývoji agregátu do výše uspořádaných struktur (Yagi-Utsumi et al., 2011).

Navázání a konformační změna peptidu A β je ovlivněna plno faktory. Esenciální je přítomnost a koncentrace GM1 v membráně. Podstatnější složkou GM1 se zdá být oligosacharidový řetězec, jehož součástí je kyselina sialová, která prokazatelně přispívá k tvorbě vazeb mezi A β a membránou (McLaurin et al., 1998), ale i uhlovodíková část se zdá být podstatná (Yagi-Utsumi et al., 2010). Důležitou roli zde má i plno dalších faktorů, včetně okolního složení membrány. A β vykazuje vyšší ochotu vazby na membránu, pokud je v okolí zvýšená koncentrace SM či CHOL a naopak menší, pokud je v okolí zvýšená hladina PC (Choo-Smith a Surewicz, 1997; Hong et al., 2014). Rozhodující je rovněž pH, koncentrace A β (Dai et al., 2020) a přítomnost kinetických a termodynamických zesilovačů (McLaurin et al., 1998), proteinu ApoE J či kovových iontů jako je Zn²⁺ či Ca²⁺ (Okada et al., 2007).

Agregáty amyloidů se často nacházejí na lipidových membránách, mohou však interagovat s širokou škálou molekul tvořících extracelulární matrix, či proteinových molekul. Membrána jako celek zprostředkovává interakci monomerních nebo oligomerních A β peptidů a umožňuje tak jejich agregaci (Terakawa et al., 2015). Je známo, že cytotoxicita oligomerních A β vytvářených in vitro je výsledkem jejich vzájemné interakce s lipidovou složkou buněčných membrán. Nynější studie naznačují, že oligomerní A β působí toxicky na povrch buněk, zvyšuje permeabilitu membrány, což má za následek mnoho biochemických modifikací buněk, včetně zvýšené intracelulární koncentraci Ca²⁺, vedoucí k disfunkci a smrti buňky (Gaamouch et al., 2016).

4.3.2 Ostatní gangliosidy

Gangliosidy jiné než GM1: GD1a, GD1b, GT1b, GT1a (odlišná glykanová struktura) rovněž ovlivňují rychlost fibrilace A β v membránách. Nicméně jejich účinek je slabší (Kakio et al., 2002).

4.4 Cholesterol

Cholesterol (CHOL) je steroidní látka s amfipatickými vlastnostmi řadící se mezi isoprenoidy. Většina molekuly představuje hydrofobní část, složenou ze steroidního jádra s navázaným uhlovodíkovým řetězcem. Polární část cholesterolu tvoří pouze hydroxylová skupina v poloze C3. CHOL je široce rozšířen ve všech buňkách organismu, zvláště pak v nervové tkáni, kde zastupuje 25 % celkového množství cholesterolu v lidském těle (Koudinov a Koudinova, 2001). Je významnou strukturní a funkční složkou plazmatických membrán a lipoproteinů krevní plazmy, kromě toho je také důležitým prekurzorem pro jiné steroidy, například pohlavní hormony, či vitamín D. Svými funkcemi významně ovlivňuje chování A β v mnoha aspektech, včetně agregace na membránách (Yip et al., 2001) a metabolismu (Xiong et al., 2008).

Cholesterol díky svým specifickým vlastnostem mění strukturu, dynamiku i chemické vlastnosti lipidové dvojvrstvy. Má vliv na tloušťku, tekutost a hydrofobicitu buněčné membrány (Yu a Zheng, 2012). Elektrostatické interakce jsou podstatné pro počáteční kontakt A β s membránou, kdy záporně nabitými polárními hlavy lipidů vytváří nekovalentní vazby především s kladně nabitými aminokyselinovými zbytky A β (Linse et al., 2007). CHOL zvyšuje hydrofobicitu membrán, kdy hydrofobní interakce vedou ke stabilizaci A β a mohou podpořit inzerci peptidu do membrány (Fernández-Pérez et al., 2018). Jiná studie tvrdí, že vysoký obsah cholesterolu zvyšuje rigiditu membrány, a to má za následek naopak nižší schopnost A β peptidu se inzerovat do membrány, kde tvoří multimerní struktury schopné perforovat membránu. Vytvořením pórů dochází k narušení iontové homeostázy vedoucí k buněčné smrti. (Yip et al., 2001). Rovněž hydrofobní efekt cholesterolu může ovlivnit konformaci samotného peptidu, což umožní vytvářet větší agregáty (Fernández-Pérez et al., 2018). Obě tyto vazby mohou být podpořeny ionty Ca²⁺, které zprostředkovávají solné můstky mezi lipidovými hlavičkami a záporně nabitými zbytky A β (Yu a Zheng, 2012).

Byl prokázán neuroprotektivní efekt CHOL v počátečních stádiích AD. Rozpustné A β se váže na CHOL v membráně a vytváří zde klastry. Nedochozí ke změně konformace A β a tato uskupení nepůsobí toxicky na své okolí (Fernández-Pérez et al., 2018). Naopak v pozdějších stádiích AD, CHOL podporuje neurodegeneraci mozkové tkáně. Studie se rozcházejí ve výsledných hladinách CHOL v rámci AD, ale jak snížená, tak zvýšená koncentrace CHOL v buněčných membránách může mít negativní efekt na buňku. Jak už bylo řečeno, cholesterol podporuje vazbu A β na membránu, pokud se tedy koncentrace zvýší, dochází k častější agregaci A β a tvorbě fibril, plaků a neurotoxických oligomerů A β (Matsuzaki, 2007). Naopak snížením CHOL, se sníží akumulace A β , ale naopak zvýší fluidita membrány a A β se bude s vyšší frekvencí inzerovat do membrány (Fernández-Pérez et al., 2018). CHOL je také významný pro správnou funkci synapsí, pokud je ho v buňkách málo je narušena neurotransmise neurálních buněk (Fantini a Barrantes, 2009). Snížení hladiny CHOL mělo pozitivní efekt u myši, došlo k snížení akumulace A β , ale zároveň k zlepšení paměti (Yao et al., 2012).

CHOL a jeho metabolismus hrají významnou roli v patogenezi AD, stejně jako v mnoha dalších neurodegenerativních onemocněních. CHOL v mozku je syntetizován především de novo. Důvodem je, že lipoproteiny, hlavní transportéry CHOL, mají pouze omezenou prostupnost přes hematoencefalickou bariéru mozku (BBB), která tedy reguluje hladinu cholesterolu (Koudinov a Koudinova, 2001). Vyšší propustnost BBB byla pozorována u myši s hypercholesterolémií, při které dochází k dysfunkci v LDL (low density lipoproteins), cholesterolového transportéru, což se projevuje zvýšením cholesterolu v plazmatických membránách. Tyto myši vykazovaly nižší paměťové schopnosti a pokud bylo do myši pomocí intracerebroventrikulární injekce vpraveno 400 *pmol* A β , docházelo k snadnějšímu vzniku neurálního zánětu a degradace neurálních buněk v hippocampu (De Oliveira et al., 2014).

V rané fázi AD je pozorována vyšší koncentrace CHOL v buněčných membránách neurálních buněk mozku. Zvýšená hladina CHOL zvyšuje aktivitu β a γ -sekretázy. Dochází tedy k nadměrnému zpracování APP a produkci A β , typického peptidu pro rozvoj AD (Xiong et al., 2008). Není jasné, zda zvýšená hladina CHOL přímo ovlivňuje aktivitu β -sekretázy. Jiné studie navrhují, že více CHOL v membránách způsobí zvýšenou akumulaci APP do lipidových raftů, kde se nachází kromě jiných proteinů zodpovědných za sestřih APP, právě β -sekretáza. Poté dochází k internalizaci do endozomů a sestřihu APP (Marquer et al., 2011). Zvýšená hladina CHOL ovlivňuje nejspíš všechny typy sekretáz podílející se na sestřihu APP ApoE (Howland et al., 1998).

V rámci sestřihu APP, vznikají kromě samotného A β , také N a C-terminální fragmenty. C-terminální fragment neboli AICD, je intracelulární fragment, který snižuje transkripci genu pro proteinový receptor LRP1 (low-density lipoprotein receptor-related protein 1). LRP1 je receptor na povrchu buněčných membrán, který rozpoznává a váže ApoE, tedy protein, který je zodpovědný za transport CHOL do buňky. Při snížení hladiny LRP1 na membránách, dochází k zachycení CHOL na membráně, ale již ne k jeho importu do buňky. To by mohlo vysvětlovat preferovanější verzi a to, že v rámci AD dochází k snížení hladiny CHOL (Liu et al., 2007).

Byl proveden pokus na králících, kteří byli krmeni vysoko cholesterolovou stravou po dobu 4–8 týdnů. Poté byl pozorován vyšší výskyt CHOL v mozковém séru králíků a naměřeny vyšší hladiny A β a ApoE v temporálním a frontálním kortexu, v místech, kde dochází k amyloidovým patologiím v rámci AD (Sparks et al., 1994). Podobný postup byl aplikován i u transgenních myšiček, avšak výsledky nebyly totožné. Zvýšením hladiny CHOL v séru byla sekrece derivátů APP, včetně A β 40 a A β 42 redukována a stejně tak hladina ApoE (Howland et al., 1998). Neexistuje jednotný názor na vliv hladiny CHOL na membránu, APP a produkci A β . Je však jisté, že homeostáza CHOL v mozku je přísně regulována a jak vysoká, tak nízká koncentrace je vysoce riziková pro vznik a rozvoj AD (Howland et al., 1998; Sparks et al., 1994).

5 ZÁVĚR

Tato práce shrnuje současné znalosti o vztahu mezi jednotlivými membránovými lipidy a amyloidovým proteinem. Existuje mnoho druhů a forem lipidů a jejich kompletní výčet společně s funkcí by zdaleka přesahoval rozsah bakalářské práce. Proto je tato práce omezená pouze na nejčastěji se vyskytující lipidy buněčných membrán.

Lipidy, především cholesterol, sfingomyelin a GM1 prokazatelně hrají významnou roli v abnormální agregaci a depozici A β na membránách neurálních buněk. Dochází k tvorbě oligomerů, fibril a senilních plaků v mozku pacienta spojených s neurodegenerací mozkové tkáně. V dnešní době je preferováno tvrzení, že neurotoxické působení na membránu zprostředkovávají především A β oligomery a méně fibrily či senilní plaky.

Fosfolipidy naopak hrají důležitou roli v regulaci proteolýzy APP, a tedy generování samotného A β . Většinou dochází v rámci defektu v metabolismu lipidů k snížení či zvýšení jejich hladiny v membráně. Tato změna pak může mít vliv na sestříhový aparát APP, především na aktivitu γ -sekretázy.

Je velmi obtížné rozhodnout o jednoznačném významu lipidů v rámci AD. Jednotlivé lipidy mohou mít jak neuroprotektivní, tak neurodegenerativní vliv na membránu v závislosti na různých podmínkách, jako je okolní prostředí. Především cholesterol se mi v tomto ohledu nepodařilo zcela charakterizovat. Studií je nepřehledné množství a informace jsou většinou protichůdné. Tento problém je do jisté míry zapříčiněn i tím, že není znám přesný molekulární mechanismus Alzheimerovy choroby. Je tedy velmi složité určit, co je příčina a co důsledek nejrůznějších patologií souvisejících s Alzheimerovou chorobou.

Ačkoli je Alzheimerova choroba známá více jak 100 let a na jejím výzkumu se podílí tisíce lidí po celém světě, do dnešního dne se nepodařilo objevit příčinu vzniku tohoto onemocnění. Rovněž ani nalézt lék, který by zabraňoval, či aspoň výrazně zpomaloval progresy toho onemocnění. V dnešní době čítá počet lidí s Alzheimerovou chorobou téměř 50 miliónů obyvatel a je odhadováno, že do roku 2030 se toto číslo přiblíží k hodnotě 80 miliónům. Což dělá z Alzheimerovy choroby nejenom zdravotní problém, ale rovněž výrazně socioekonomický problém.

6 POUŽITÁ LITERATURA

AREA-GOMEZ, Estela, Ad J.C. DE GROOF, Istvan BOLDOGH, Thomas D. BIRD, Gary E. GIBSON, Carla M. KOEHLER, Wai Haung YU, Karen E. DUFF, Michael P. YAFFE, Liza A. PON a Eric A. SCHON, 2009. Presenilins are enriched in endoplasmic reticulum membranes associated with mitochondria. *American Journal of Pathology*. **175**(5), 1810–1816.

AREA-GOMEZ, Estela, Maria DEL CARMEN LARA CASTILLO, Marc D TAMBINI, Cristina GUARDIA-LAGUARTA, Ad J C DE GROOF, Moneek MADRA, Junichi IKENOUCI, Masato UMEDA, Thomas D BIRD, Stephen L STURLEY a Eric A SCHON, 2012. Upregulated function of mitochondria-associated ER membranes in Alzheimer disease. *The EMBO Journal*. **31**(21), 4106–4123.

AURELI, Massimo, Laura MAURI, Maria Grazia CIAMPA, Alessandro PRINETTI, Gino TOFFANO, Cynthia SECCHIERI a Sandro SONNINO, 2016. GM1 ganglioside: past studies and future potential. *Humana Press Inc.* **53**, 1824-1842.

BAGNAT, Michel, Sirkka KERÄ NEN, Anna SHEVCHENKO, Andrej SHEVCHENKO a Kai SIMONS, 2000. Lipid rafts function in biosynthetic delivery of proteins to the cell surface in yeast. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. **97**(7), 3254-3259

BERTRAM, Lars, Christina M. LILL a Rudolph E. TANZI, 2010. The genetics of alzheimer disease: Back to the future. *Cell Press*. **68**(2), 270 -281.

BRAVERMAN, Nancy E. a Ann B. MOSER, 2012. Functions of plasmalogen lipids in health and disease. *Elsevier*. **1822**(9), 1442-1452.

BRONIEC, Agnieszka, Radoslaw KLOSINSKI, Anna PAWLAK, Marta WRONA-KROL, David THOMPSON a Tadeusz SARNA, 2011. Interactions of plasmalogens and their diacyl analogs with singlet oxygen in selected model systems. *Free Radical Biology and Medicine*. **50**(7), 892–898.

BROWN, Andre EX, Florian REHFELDT, Allison L ZAJAC, Dennis E DISCHER, 2009. Stem cell biophysics: pre-differentiation dynamics od stress fiber polarization on Elastic Matrices.

CARACI, Filippo, Giuseppe BATTAGLIA, Carla BUSCETI, Francesca BIAGIONI, Federica MASTROIACOVO, Paolo BOSCO, Filippo DRAGO, Ferdinando NICOLETTI, Maria Angela SORTINO a Agata COPANI, 2008. TGF- β 1 protects against A β -neurotoxicity via the phosphatidylinositol-3-kinase pathway. *Neurobiology of Disease*. **30**(2), 234–242.

CARDOSO, Sandra M., Isabel SANTANA, Russell H. SWERDLOW a Catarina R. OLIVEIRA, 2004. Mitochondria dysfunction of Alzheimer's disease cybrids enhances A β toxicity. *Journal of Neurochemistry*. **89**(6), 1417–1426.

CHE, Hongxia, Miaomiao ZHOU, Tiantian ZHANG, Lingyu ZHANG, Lin DING, Teruyoshi YANAGITA, Jie XU, Changhu XUE a Yuming WANG, 2018. Comparative study of the effects of phosphatidylcholine rich in DHA and EPA on Alzheimer's disease

and the possible mechanisms in CHO-APP/PS1 cells and SAMP8 mice. In: Food and Function. *Royal Society of Chemistry*. **9**(1), 643–654.

CHEN, Guo Fang, Ting Hai XU, Yan YAN, Yu Ren ZHOU, Yi JIANG, Karsten MELCHER a H. Eric XU, 2017. Amyloid beta: Structure, biology and structure-based therapeutic development. *Nature Publishing Group*. **38**(9), 1215-1235.

CHOO-SMITH, ing a Witold K SUREWICZ, 1997. The interaction between Alzheimer amyloid β (1-40) peptide and ganglio side GMI-containing membranes. *FEBS Letters*. **402**(2-3), 95-98.

CHOO-SMITH, Lin P.ing, William GARZON-RODRIGUEZ, Charles G. GLABE a Witold K. SUREWICZ, 1997. Acceleration of amyloid fibril formation by specific binding of A β -(1- 40) peptide to ganglioside-containing membrane vesicles. *Journal of Biological Chemistry*. **272**(37), 22987–22990.

CHOO, Lin P.ing, David L. WETZEL, William C. HALLIDAY, Michael JACKSON, Steven M. LEVINE a Henry H. MANTSCH, 1996. In situ characterization of β -amyloid in Alzheimer's diseased tissue by synchrotron Fourier transform infrared microspectroscopy. *Biophysical Journal*. **71**(4), 1672–1679.

CORDER, E. H., A. M. SAUNDERS, W. J. STRITTMATTER, D. E. SCHMECHEL, P. C. GASKELL, G. W. SMALL, A. D. ROSES, J. L. HAINES a M. A. PERICAK-VANCE, 1993. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science*. **261**(5123), 921–923.

CUMMINGS, Jeffrey L. a Greg COLE, 2002. Alzheimer disease. *American Medical Association*. **287**(18), 2335-2338.

CUNNANE, Stephen C., Julie A. SCHNEIDER, Christine TANGNEY, Jennifer TREMBLAY-MERCIER, Mélanie FORTIER, David A. BENNETT a Martha Clare MORRIS, 2012. Plasma and brain fatty acid profiles in mild cognitive impairment and alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*. **29**(3), 691–697.

DAI, Yanping, Mingxi ZHANG, Xiulei SHI, Kang WANG, Guanbin GAO, Lei SHEN a Taolei SUN, 2020. Kinetic study of A β (1-42) amyloidosis in the presence of ganglioside-containing vesicles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. **185**, 110615.

DAWSON, R. M.C., 1957. The animal phospholipids: their structure, metabolism and biological significance. *Biological Reviews*. **32**(2), 188–229.

DE FELICE, Fernanda G., Diana WU, Mary P. LAMBERT, Sara J. FERNANDEZ, Pauline T. VELASCO, Pascale N. LACOR, Eileen H. BIGIO, Jasna JERECIC, Paul J. ACTON, Paul J. SHUGHRUE, Elizabeth CHEN-DODSON, Gene G. KINNEY a William L. KLEIN, 2008. Alzheimer's disease-type neuronal tau hyperphosphorylation induced by A β oligomers. *Neurobiology of Aging*. **29**(9), 1334–1347.

DE OLIVEIRA, Jade, Eduardo Luiz Gasnhar MOREIRA, Danúbia Bonfanti DOS SANTOS, Tetsadê Camboim PIERMARTIRI, Rafael Cypriano DUTRA, Simone PINTON, Carla Inês TASCA, Marcelo FARINA, Rui Daniel Schröder PREDIGER a Andreza Fabro DE BEM, 2014. Increased susceptibility to amyloid- β -induced neurotoxicity in mice lacking the low-density lipoprotein receptor. *Journal of Alzheimer's*

Disease. **41**(1), 43–60.

DEMURO, Angelo, Ian PARKER a Grace E. STUTZMANN, 2010. Calcium signaling and amyloid toxicity in Alzheimer disease. *Elsevier*. **285**(17), 12463-12468.

*DRIN, Guillaume, 2014. Topological Regulation of Lipid Balance in Cells. *Annual Review of Biochemistry*. **83**(1), 51–77.

EICHBERG, J. a R. M. DAWSON, 1965. Polyphosphoinositides in myelin. *The Biochemical journal*. **96**(3), 644–650.

ELLISON, David W., M. Flint BEAL a Joseph B. MARTIN, 1987. Phosphoethanolamine and ethanolamine are decreased in Alzheimer's disease and Huntington's disease. *Brain Research*. **417**(2), 389–392.

EWERS, Helge, Winfried RÖMER, Alicia E SMITH, Kirsten BACIA, Serge DMITRIEFF, Wengang CHAI, Roberta MANCINI, Jürgen KARTENBECK, Valérie CHAMBON, Ludwig BERLAND, Ariella OPPENHEIM, Günter SCHWARZMANN, Ten FEIZI, Petra SCHWILLE, Pierre SENS, Ari HELENIUS a Ludger JOHANNES, 2010. Articles GM1 structure determines SV40-induced membrane invagination and infection. *nature cell biology*. **12**(1), 11-18.

FANTINI, Jacques a Francisco J. BARRANTES, 2009. Sphingolipid/cholesterol regulation of neurotransmitter receptor conformation and function. *Elsevier*. **1788**(11), 2345-2361.

FERNÁNDEZ-PÉREZ, Eduardo J., Fernando J. SEPÚLVEDA, Christian PETERS, Denisse BASCUÑÁN, Nicolás O. RIFFO-LEPE, Juliana GONZÁLEZ-SANMIGUEL, Susana A. SÁNCHEZ, Robert W. PEOPLES, Benjamín VICENTE a Luis G. AGUAYO, 2018. Effect of Cholesterol on Membrane Fluidity and Association of A β Oligomers and Subsequent Neuronal Damage: A Double-Edged Sword. *Frontiers in Aging Neuroscience*. **10**(1), 226.

FULLERTON, Morgan D., Fatima HAKIMUDDIN, Arend BONEN a Marica BAKOVIC, 2009. The development of a metabolic disease phenotype in CTP: Phosphoethanolamine cytidyltransferase-deficient mice. *Journal of Biological Chemistry*. **284**(38), 25704–25713.

GAAMOUCHE, Farida El, Ping JING, Jiahong XIA, Dongming CAI a James J PETERS, 2016. Alzheimer's Disease Risk Genes and Lipid Regulators. *Journal of Alzheimer's Disease*. **53**(1), 15–29.

GAUGLER, Joseph, Bryan JAMES, Tricia JOHNSON, Ken SCHOLZ a Jennifer WEUVE, 2016. 2016 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's and Dementia*. **12**(4), 459–509.

GEORGE, Ameer J., R. M. Damian HOLSINGER, Catriona A. MCLEAN, Seong Seng TAN, Hamish S. SCOTT, Tina CARDAMONE, Roberto CAPPALÀ, Colin L. MASTERS a Qiao Xin LI, 2006. Decreased phosphatidylethanolamine binding protein expression correlates with A β accumulation in the Tg2576 mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*. **27**(4), 614–623.

GINSBERG, Lionel, Samina RAFIQUE, John H. XUERE, Stanley I. RAPOPORT a Norman L. GERSHFELD, 1995. Disease and anatomic specificity of ethanolamine plasmalogen deficiency in Alzheimer's disease brain. *Brain Research*. **698**(1–2), 223–226.

GOI, Félix M. a Alicia ALONSO, 2002. Sphingomyelinases: Enzymology and membrane activity. *Elsevier*. **531**(1), 38–46.

GRIMM, Marcus O.W., Heike S. GRIMM, Andreas J. PÄTZOLD, Eva G. ZINSER, Riikka HALONEN, Marco DUERING, Jakob A. TSCHÄPE, Bart DE STROOPER, Ulrike MÜLLER, Jie SHEN a Tobias HARTMANN, 2005. Regulation of cholesterol and sphingomyelin metabolism by amyloid- β and presenilin. *Nature Cell Biology*. **7**(11), 1118–1123.

HAASS, Christian, Christoph KAETHER, Gopal THINAKARAN a Sangram SISODIA, 2012. Trafficking and proteolytic processing of APP. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. **2**(5), 627.

HAN, Xianlin, David M. HOLTZMAN a Daniel W. MCKEEL, 2001. Plasmalogen deficiency in early Alzheimer's disease subjects and in animal models: molecular characterization using electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Neurochemistry*. **77**(4), 1168–1180.

HAN, Xianlin, Steve ROZEN, Stephen H. BOYLE, Caroline HELLEGERS, Hua CHENG, James R. BURKE, Kathleen A. WELSH-BOHMER, P. Murali DORAISWAMY a Rima KADDURAH-DAOUK, 2011. Metabolomics in Early Alzheimer's Disease: Identification of Altered Plasma Sphingolipidome Using Shotgun Lipidomics. *PLoS ONE*. **6**(7), e21643.

HANNUN, Yusuf A. a Lina M. OBEID, 2008. Principles of bioactive lipid signalling: Lessons from sphingolipids. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. **9**(2), 139–150.

HARDY, John a Dennis J. SELKOE, 2002. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: Progress and problems on the road to therapeutics. *American Association for the Advancement of Science*. **297**(5580), 353–356.

HE, Xingxuan, Yu HUANG, Bin LI, Cheng Xin GONG a Edward H. SCHUCHMAN, 2010. Deregulation of sphingolipid metabolism in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*. **31**(3), 398–408.

HE, Yan, Mei Mei ZHENG, Yan MA, Xiao Juan HAN, Xue Qiang MA, Chuan Qiang QU a Yi Feng DU, 2012. Soluble oligomers and fibrillar species of amyloid β -peptide differentially affect cognitive functions and hippocampal inflammatory response. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. **429**(3–4), 125–130.

HE, Yang, Mengdi WEI, Yan WU, Huaping QIN, Weinan LI, Xiaolin MA, Jingjing CHENG, Jinshuai REN, Ye SHEN, Zhong CHEN, Binggui SUN, Fu De HUANG, Yi SHEN a Yu Dong ZHOU, 2019. Amyloid β oligomers suppress excitatory transmitter release via presynaptic depletion of phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate. *Nature Communications*. **10**(1), 1–18.

HONG, Soyon, Beth L. OSTASZEWSKI, Ting YANG, Tiernan T. O'MALLEY, Ming JIN, Katsuhiko YANAGISAWA, Shaomin LI, Tim BARTELS a Dennis J. SELKOE, 2014. Soluble A β oligomers are rapidly sequestered from brain ISF in vivo and bind GM1

ganglioside on cellular membranes. *Neuron*. **82**(2), 308–319.

HOSSAIN, Md. Shamim, Masataka IFUKU, Sachiko TAKE, Jun KAWAMURA, Kiyotaka MIAKE a Toshihiko KATAFUCHI, 2013. Plasmalogens Rescue Neuronal Cell Death through an Activation of AKT and ERK Survival Signaling. *PLoS ONE*. **8**(12), e83508.

HOWLAND, D. S., S. P. TRUSKO, M. J. SAVAGE, A. G. REAUME, D. M. LANG, J. D. HIRSCH, N. MAEDAS, R. SIMAN, B. D. GREENBERG, R. W. SCOTT a D. G. FLOOD, 1998. Modulation of secreted β -amyloid β -peptide in brain by cholesterol. *Journal of Biological Chemistry*. **273**(26), 16576–16582.

KAKIO, Atsuko, Sei ichi NISHIMOTO, Katsuhiko YANAGISAWA, Yasunori KOZUTSUMI a Katsumi MATSUZAKI, 2002. Interactions of amyloid β -protein with various gangliosides in raft-like membranes: Importance of GM1 ganglioside-bound form as an endogenous seed for Alzheimer amyloid. *Biochemistry*. **41**(23), 7385–7390

KATAFUCHI, Toshihiko, Masataka IFUKU, Shiro MAWATARI, Mami NODA, Kiyotaka MIAKE, Masaaki SUGIYAMA a Takehiko FUJINO, 2012. Effects of plasmalogens on systemic lipopolysaccharide-induced glial activation and β -amyloid accumulation in adult mice. *Annals of the New York Academy of Sciences*. **1262**(1), 85–92

KAWARABAYASHI, Takeshi, Mikio SHOJI, Linda H YOUNKIN, Lin WEN-LANG, Dennis W DICKSON, Tetsuro MURAKAMI, Etsuro MATSUBARA, Koji ABE, Karen Hsiao ASHE a Steven G YOUNKIN, 2004. Neurobiology of Disease Dimeric Amyloid Protein Rapidly Accumulates in Lipid Rafts followed by Apolipoprotein E and Phosphorylated Tau Accumulation in the Tg2576 Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Journal of Neuroscience*. **24**(15), 3801-3809.

KIHARA, Takeshi, Shun SHIMOHAMA, Hideyuki SAWADA, Kazuhiro HONDA, Tomoki NAKAMIZO, Hiroshi SHIBASAKI, Toshiaki KUME a Akinori AKAIKE, 2001. $\alpha 7$ Nicotinic Receptor Transduces Signals to Phosphatidylinositol 3-Kinase to Block A β -Amyloid-induced Neurotoxicity. *Journal of Biological Chemistry*. **276**(17), 13541–13546.

KIM, Sang-Il, Jae-Sung YI a Young-Gyu KO, 2006. Amyloid β oligomerization is induced by brain lipid rafts. *Journal of Cellular Biochemistry*. **99**(3), 878–889.

KO, Mihee, Toshihide HATTORI, Mohammad ABDULLAH, Jian Sheng GONG, Tsuneo YAMANE a Makoto MICHIKAWA, 2016. Phosphatidylcholine protects neurons from toxic effects of amyloid β -protein in culture. *Brain Research*. **1642**, 376–383.

KOO, Edward H. a Sharon L. SQUAZZO, 1994. Evidence that production and release of amyloid β -protein involves the endocytic pathway. *Journal of Biological Chemistry*. **269**(26), 17386–17389.

KOSICEK, M., H. ZETTERBERG, N. ANDREASEN, J. PETER-KATALINIC a S. HECIMOVIC, 2012. Elevated cerebrospinal fluid sphingomyelin levels in prodromal Alzheimer's disease. *Neuroscience Letters*. **516**(2), 302–305.

KOSICEK, Marko a Silva HECIMOVIC, 2013. Phospholipids and Alzheimer's Disease: Alterations, Mechanisms and Potential Biomarkers. *International Journal of Molecular Sciences*. **14**(1), 1310–1322.

KOSIK, Kenneth S, Catharine L JOACHIM a Dennis J SELKOE, 1986. Microtubule-associated protein tau (T) is a major antigenic component of paired helical filaments in Alzheimer disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. **83**(11), 4044-4048.

KOU, Jianqiu, GABOR, G KOVACS, Romana HÖFTBERGER, Willem KULIK, Alexander BRODDE, Sonja FORSS-PETTER, Selma HÖNIGSCHNABL, Andreas GLEISS, Britta BRÜ, RONALD, Wilhelm JUST, Herbert BUDKA, Susanne JUNGWIRTH, Peter FISCHER a Johannes BERGER, 2011. Peroxisomal alterations in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol.* **122**(3), 271-283.

KOUDINOV, Alexei R. a Natalia V. KOUDINOVA, 2001. Essential role for cholesterol in synaptic plasticity and neuronal degeneration. *The FASEB Journal*. **15**(10), 1858–1860.

KRIS-ETHERTON, Penny M., Jessica A. GRIEGER a Terry D. ETHERTON, 2009. Dietary reference intakes for DHA and EPA. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. **81**(2–3), 99–104.

LEE, Jiunn Tay, Jan XU, Jin Moo LEE, Grace KU, Xianlin HAN, Ding I. YANG, Shawei CHEN a Chung Y. HSU, 2004. Amyloid- β peptide induces oligodendrocyte death by activating the neutral sphingomyelinase-ceramide pathway. *Journal of Cell Biology*. **164**(1), 123–131.

LINSE, Sara, Celia CABALEIRO-LAGO, Wei Feng XUE, Iseult LYNCH, Stina LINDMAN, Eva THULIN, Sheena E. RADFORD a Kenneth A. DAWSON, 2007. Nucleation of protein fibrillation by nanoparticles. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. **104**(21), 8691–8696.

LIU, Qiang, Celina V. ZERBINATTI, Juan ZHANG, Hyang Sook HOE, Baiping WANG, Sarah L. COLE, Joachim HERZ, Louis MUGLIA a Guojun BU, 2007. Amyloid Precursor Protein Regulates Brain Apolipoprotein E and Cholesterol Metabolism through Lipoprotein Receptor LRP1. *Neuron*. **56**(1), 66–78.

LORENZO, A. a B. A. YANKNER, 1996. Amyloid fibril toxicity in Alzheimer's disease and diabetes. *Annals of the New York Academy of Sciences*. **777**(1), 89–95.

MAGISTRETTI, Pierre J., Fred H. GEISLER, Jay S. SCHNEIDER, P. ANDY LI, Hubert FIUMELLI a Simonetta SIPIONE, 2019. Gangliosides: Treatment avenues in neurodegenerative disease. *Frontiers in Neurology*. **10**(1), 859.

MARINA, Gal Bitan, D. KIRKITADZE, Aleksey LOMAKIN, Sabrina S. VOLLERS, George B. BENEDEK a David B. TEPLow, 2003. Amyloid β -protein (A β) assembly: A β 40 and A β 42 oligomerize through distinct pathways. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. **100**(1), 330–335.

MARQUER, Catherine, Viviane DEVAUGES, Jack-Christophe COSSEC, Géraldine LIOT, Sandrine LÉCART, Frédéric SAUDOU, Charles DUYCKAERTS, Sandrine LÉVEQUE-FORT a Marie-Claude POTIER, 2011. Local cholesterol increase triggers amyloid precursor protein-Bacel clustering in lipid rafts and rapid endocytosis. *The FASEB Journal*. **25**(4), 1295–1305.

- MASSEY, John B., 2001. Interaction of ceramides with phosphatidylcholine, sphingomyelin and sphingomyelin/cholesterol bilayers. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*. **1510**(1–2), 167–184.
- MATSUZAKI, Katsumi, 2007. Physicochemical interactions of amyloid β -peptide with lipid bilayers. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*. **1768**(8), 1935–1942.
- MCLAURIN, J., T. FRANKLIN, A. CHAKRABARTTY a P. E. FRASER, 1998. Phosphatidylinositol and inositol involvement in Alzheimer amyloid- β fibril growth and arrest. *Journal of Molecular Biology*. **278**(1), 183–194.
- MUÑOZ, Sonia Sanz, Brett GARNER a Lezanne OOI, 2019. Understanding the role of ApoE fragments in Alzheimer's Disease. *Neurochemical Research*. **44**(6), 1297–1305.
- NESIC, Iva, Francesc X. GUIX, Krist'1 VENNEKENS, Vasiliki MICHAKEI, Paul P. VAN VELDHOVEN, Fabian FEIGUIN, Bart DE STROOPER, Carlos G. DOTTI a Tina WAHLE, 2012. Alterations in phosphatidylethanolamine levels affect the generation of A β . *Aging Cell*. **11**(1), 63–72.
- NORMAN, Eric, Roy G. CUTLER, Richard FLANNERY, Yue WANG a Mark P. MATTSON, 2010. Plasma membrane sphingomyelin hydrolysis increases hippocampal neuron excitability by sphingosine-1-phosphate mediated mechanisms. *Journal of Neurochemistry*. **114**(2), 430–439.
- O'BRIEN, J. S. a E. L. SAMPSON, 1965. Lipid composition of the normal human brain: gray matter, white matter, and myelin. *Journal of Lipid Research*. **6**(4), 537–544.
- OKADA, Takuma, Masaki WAKABAYASHI, Keisuke IKEDA a Katsumi MATSUZAKI, 2007. Formation of toxic fibrils of Alzheimer's amyloid β -protein-(1-40) by monosialoganglioside GM1, a neuronal membrane component. *Journal of Molecular Biology*. **371**(2), 481–489.
- PAREKH, Davey B., Wolfgang ZIEGLER a Peter J. PARKER, 2000. Multiple pathways control protein kinase C phosphorylation. *Oxford University Press*. **19**(4), 496–503.
- PIOMELLI, Daniele, Giuseppe ASTARITA a Rao RAPAKA, 2007. A neuroscientist's guide to lipidomics. *Nature Reviews Neuroscience*. **8**(10), 743–754.
- PODCASY, Jessica L. a C. Neill EPPERSON, 2016. Considering sex and gender in Alzheimer disease and other dementias. *Dialogues in Clinical Neuroscience*. **18**(4), 437–446.
- PRASAD, M. Renuka, Mark A. LOVELL, Mustafa YATIN, Harbhajan DHILLON a William R. MARKESBERY, 1998. Regional membrane phospholipid alterations in Alzheimer's disease. *Neurochemical Research*. **23**(1), 81–88.
- QU, Mei-Hua, Xiaoyun YANG, Yuming WANG, Qingjuan TANG, Hailin HAN, Jia WANG, Guo- Du WANG, Changhu XUE a Zhiqin GAO, 2016. Docosahexaenoic acid-phosphatidylcholine improves cognitive deficits in an A β 23-35-induced Alzheimer's disease rat model. *Current Topics in Medicinal Chemistry*. **16**(5), 558–564.

RITCHIE, K. a D. KILDEA, 1995. Is senile dementia „age-related" or „ageing-related"? - evidence from meta-analysis of dementia prevalence in the oldest old. *The Lancet*. **346**(8980), 931–934.

ROBINSON, Fred L. a Jack E. DIXON, 2006. Myotubularin phosphatases: policing 3-phosphoinositides. *Trends in Cell Biology*. **16**(8), 403–412.

RODRÍGUEZ, J. J., J. WITTON, M. OLABARRIA, H. N. NORISTANI a A. VERKHRATSKY, 2010. Increase in the density of resting microglia precedes neuritic plaque formation and microglial activation in a transgenic model of Alzheimer's disease. *Cell Death and Disease*. **1**(1), 1.

ROE, Catherine M., Chengjie XIONG, J. Phillip MILLER a John C. MORRIS, 2007. Education and Alzheimer disease without dementia: Support for the cognitive reserve hypothesis. *Neurology*. **68**(3), 223–228.

ROTHHAAR, Tatjana L., Sven GRÖSGEN, Viola J. HAUPENTHAL, Verena K. BURG, Benjamin HUNSDÖRFER, Janine METT, Matthias RIEMENSCHNEIDER, Heike S. GRIMM, Tobias HARTMANN a Marcus O. W. GRIMM, 2012. Plasmalogens inhibit APP processing by directly affecting γ -secretase activity in Alzheimer's disease. *The Scientific World Journal*. 1–15.

SAKONO, Masafumi a Tamotsu ZAKO, 2010. Amyloid oligomers: formation and toxicity of A β oligomers. *FEBS Journal*. **277**(6), 1348–1358.

SASTRY, P. S., 1985. Lipids of nervous tissue: Composition and metabolism. **24**(2), 69–176.

SESHADRI, S., Philip A. WOLF, A. BEISER, R. AU, K. MCNULTY, R. WHITE a R. B. D'AGOSTINO, 1997. Lifetime risk of dementia and Alzheimer's disease: The impact of mortality on risk estimates in the Framingham Study. *Neurology*. **49**(6), 1498–1504.

SHI, Jinjun, Tinglu YANG, Sho KATAOKA, Yanjie ZHANG, Arnaldo J. DIAZ a Paul S. CREMER, 2007. GM1 clustering inhibits cholera toxin binding in supported phospholipid membranes. *Journal of the American Chemical Society*. **129**(18), 5954–5961.

SINGER, S. J. a Garth L. NICOLSON, 1972. The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science*. **175**(4023), 720–731.

SMALL, Gary W ;, Peter V RABINS, Patricia P BARRY, Neil S BUCKHOLTZ, Steven T DEKOSKY, Steven H FERRIS, Sanford I FINKEL, Lisa P GWYOTHER, Zaven S KHACHATURIAN, Barry D LEBOWITZ, Thomas D MCRAE, John C MORRIS, Frances OAKLEY, Lon S SCHNEIDER, Joel E STREIM, Trey SUNDERLAND, Linda A TERI a Larry E TUNE, 1997. Diagnosis and treatment of Alzheimer disease and related disorders: consensus statement of the American Association for Geriatric Psychiatry, the Alzheimer's Association, and the American Geriatrics Society. *JAMA*. **278**(16), 1363.

SMITH, Marion Edmonds a Lawrence F. ENG, 1965. The turnover of the lipid components of myelin. *Journal of the American Oil Chemists Society*. **42**(12), 1013–1018.

SMITH, Mark A., Catherine A. ROTTKAMP, Akihiko NUNOMURA, Arun K. RAINA a George PERRY, 2000. Oxidative stress in Alzheimer's disease. *Biochimica et Biophysica Acta*. **1502**(1), 139-144.

SPARKS, D. Larry, Stephen W. SCHEFF, John C. HUNSAKER, Huiaohen LIU, Teresa LANDERS a David R. GROSS, 1994. Induction of Alzheimer-like β -amyloid immunoreactivity in the brains of rabbits with dietary cholesterol. *Experimental Neurology*. **126**(1), 88–94.

STOKES, Cathryn E. a John N. HAWTHORNE, 1987. Reduced Phosphoinositide Concentrations in Anterior Temporal Cortex of Alzheimer-Diseased Brains. *Journal of Neurochemistry*. **48**(4), 1018–1021.

TAN, Sandra, Tong Tan HWEE a Maxey C.M. CHUNG, 2008. Membrane proteins and membrane proteomics. *Proteomics*. **8**(19), 3924-3932.

TERAKAWA, Mayu S., Hisashi YAGI, Masayuki ADACHI, Young Ho LEE a Yuji GOTO, 2015. Small liposomes accelerate the fibrillation of amyloid β (1- 40). *Journal of Biological Chemistry*. **290**(2), 815–826.

VÁCHA, Robert, Sara LINSE a Mikael LUND, 2014. Surface effects on aggregation kinetics of amyloidogenic peptides. *Journal of the American Chemical Society*. **136**(33), 11776–11782 .

VANCE, Jean E., 2015. Phospholipid Synthesis and Transport in Mammalian Cells. *Traffic*. **16**(1), 1–18.

VARMA, Vijay R., Anup M. OOMMEN, Sudhir VARMA, Ramon CASANOVA, Yang AN, Ryan M. ANDREWS, Richard O'BRIEN, Olga PLETNIKOVA, Juan C. TRONCOSO, Jon TOLEDO, Rebecca BAILLIE, Matthias ARNOLD, Gabi KASTENMUELLER, Kwangsik NHO, P. Murali DORAISWAMY, Andrew J. SAYKIN, Rima KADDURAH-DAOUK, Cristina LEGIDO-QUIGLEY a Madhav THAMBISETTY, 2018. Brain and blood metabolite signatures of pathology and progression in Alzheimer disease: A targeted metabolomics study. *PLOS Medicine*. **15**(1), e1002482.

VERKHRATSKY, Alexei, Markel OLABARRIA, Harun N. NORISTANI, Chia Yu YEH a Jose Julio RODRIGUEZ, 2010. Astrocytes in Alzheimer's Disease. *Neurotherapeutics*. **7**(4), 399–412.

VERMA, Meenakshi, Abhishek VATS a Vibha TANEJA, 2015. Toxic species in amyloid disorders: Oligomers or mature fibrils. *Annals of Indian Academy of Neurolog*. **18**(2), 138-145.

WEN, Min, Lin DING, Lingyu ZHANG, Tiantian ZHANG, Yanagita TERUYOSHI, Yuming WANG a Changhu XUE, 2019. Eicosapentaenoic acid-enriched phosphatidylcholine mitigated A β 1-42-induced neurotoxicity via autophagy-inflammasome pathway. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **67**(49), 13767–13774.

WHILEY, Luke, Arundhuti SEN, James HEATON, Petroula PROITSI, Diego GARCÍA-GÓMEZ, Rufina LEUNG, Norman SMITH, Madhav THAMBISETTY, Iwona KLOSZEWSKA, Patrizia MECOCCI, Hilikka SOININEN, Magda TSOLAKI, Bruno

- VELLAS, Simon LOVESTONE a Cristina LEGIDO-QUIGLEY, 2014. Evidence of altered phosphatidylcholine metabolism in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*. **35**(2), 271–278.
- WILKINS, Heather M. a Russell H. SWERDLOW, 2017. Amyloid precursor protein processing and bioenergetics. *Brain Research Bulletin*. **133**, 71-79.
- WOOD, Paul L., Brooke L. BARNETTE, Jeffrey A. KAYE, Joseph F. QUINN a Randall L. WOLTJER, 2015. Non-targeted lipidomics of CSF and frontal cortex grey and white matter in control, mild cognitive impairment, and Alzheimer's disease subjects. *Acta Neuropsychiatrica*. **27**(5), 270–278.
- XIONG, Huaqi, Debbie CALLAGHAN, Aimee JONES, Douglas G. WALKER, Lih Fen LUE, Thomas G. BEACH, Lucia I. SUE, John WOULFE, Huaxi XU, Danica B. STANIMIROVIC a Wandong ZHANG, 2008. Cholesterol retention in Alzheimer's brain is responsible for high β - and γ -secretase activities and A β production. *Neurobiology of Disease*. **29**(3), 422–437.
- YAGI-UTSUMI, Maho, Tomoshi KAMEDA, Yoshiki YAMAGUCHI a Koichi KATO, 2010. NMR characterization of the interactions between lyso-GM1 aqueous micelles and amyloid β . *FEBS Letters*. **584**(4), 831–836.
- YAGI-UTSUMI, Maho, Koichi MATSUO, Katsuhiko YANAGISAWA, Kunihiko GEKKO a Koichi KATO, 2011. Spectroscopic Characterization of Intermolecular Interaction of Amyloid β Promoted on GM1 Micelles. *International Journal of Alzheimer's Disease*. **2011**, 1–8.
- YAO, Jiaqi, Daniel HO, Noel Y. CALINGASAN, Nina H. PIPALIA, Michael T. LIN a Flint F. BEAL, 2012. Neuroprotection by cyclodextrin in cell and mouse models of Alzheimer disease. *Journal of Experimental Medicine*. **209**(13), 2501–2513.
- YIN, Yuemiao a Zhao WANG, 2018. ApoE and neurodegenerative diseases in aging. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. **11086**, 77–92.
- YIP, C. M., E. A. ELTON, A. A. DARABIE, M. R. MORRISON a J. MCLAURIN, 2001. Cholesterol, a modulator of membrane-associated A β -fibrillogenesis and neurotoxicity. *Journal of Molecular Biology*. **311**(4), 723–734.
- YU, Xiang a Jie ZHENG, 2012. Cholesterol promotes the interaction of alzheimer β -amyloid monomer with lipid bilayer. *Journal of Molecular Biology*. **421**(4–5), 561–571.
- ZANOTTA, Danilo, Silvana PURICELLI a Guido BONOLDI, 2014. Cognitive effects of a dietary supplement made from extract of Bacopa monnieri, astaxanthin, phosphatidylserine, and vitamin E in subjects with mild cognitive impairment: A noncomparative, exploratory clinical study. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*. **10**, 225–230.
- ZHANG, Can a Aleister J SAUNDERS, 2009. Therapeutic Targeting of the Alpha-Secretase Pathway to Treat Alzheimer's Disease. *Discovery Medicine*. **7**(39), 113–117.
- ZHANG, Yi Jiong, Jing Ming SHI, Cai Juan BAI, Han WANG, Hai Yun LI, Yi WU a Shang Rong JI, 2012. Intra-membrane oligomerization and extra-membrane

oligomerization of amyloid- β peptide are competing processes as a result of distinct patterns of motif interplay. *Journal of Biological Chemistry*. **287**(1), 748–756.

ZHANG, YY, LQ YANG a LM GUO, 2015. Effect of phosphatidylserine on memory in patients and rats with Alzheimer's disease. *Genetics and Molecular Research*. **14**(3), 9325–9333.