

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Obor: Biologie



Anna Popelíková

Animální modely sporadické formy Alzheimerovy choroby

Animal models of sporadic form of Alzheimer's disease

Bakalářská práce

Titulitel: Doc. RNDr. Aleš Stuchlík, PhD.

Konzultant: RNDr. Karel Valeš, PhD.

Praha, 2015

Podkování:

Ráda bych podkovala svému koliteli Ale-i Stuchlíkovi a konzultantovi Karlu Vale-ovi za ochotu a trp livost a mnoho cenných rad a dále v-em, kdo mi p i psaní práce pomáhali a podporovali m .

Prohlá-ení:

Prohla-uji, že jsem záv re nou práci zpracovala samostatn a že jsem uvedla v-echny poufité informa ní zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná ást nebyla p edlofena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 13. 5. 2015

Podpis

ABSTRAKT:

Alzheimerova choroba je závažným neurodegenerativním onemocněním postihujícím osoby ve vyšším věku, jehož incidence v populaci rok od roku rapidně narůstá. Dosud však neexistuje žádná účinná léčba a přesný mechanismus patogeneze rovněž zůstává neobjasněn (vyjma identifikace genetických příčin malého procenta případů). Zároveň zatím není ve výzkumu k dispozici vhodný animální model této choroby. Tato práce poskytuje shrnutí doposud používaných i teprve nedávno představených netransgenických modelů, jejich charakteristiku a příklady praktického uplatnění. Jsou zde zahrnuty jak hlodavčí modely generované především vnějšími zásahy do homeostázy mozkové tkáně pokusných zvířat, tak i druhy obratlovců, u nichž byl zdokumentován spontánní vznik Alzheimerových podobných patologií: tzv. špirozené modely. Tento pohled by tak mohl umožnit lepší orientaci v dosavadním vývoji výzkumu této nemoci.

ABSTRACT:

Alzheimer's disease is a severe illness affecting the elderly and its incidence increases markedly every year. To date, there is no effective treatment for this condition available, and the precise mechanism of the pathogenesis remains elusive (apart from the identification of certain genetic mutations as causes in a small percentage of cases). Also, no suitable animal model of this disease has been found so far. This paper provides a summary of non-transgenic models currently in use as well as newly introduced models, their characteristics and examples of their use in practice. It covers both rodent models mostly generated by external interventions to the brain tissue homeostasis of the experimental animals, and vertebrate species that have been reported to spontaneously develop Alzheimer's disease-like pathology: the so-called "natural models". Thus, this review might provide better orientation in the up-to-date progress of research of this disease.

Klíčová slova: animální model, AD, potkan, myš, osmák degu, králik, primát, morčička

Key words: animal model, AD, rat, mouse, primate, octon degus, rabbit, primate, guinea pig

SEZNAM ZKRATEK

- 3xTg-AD (my \rightarrow) ó my-í model exprimující 3 lidské geny s mutacemi zp sobujícími familiální Alzheimerovu chorobu
- A ó amyloid beta
- AAV1 ó adeno-asociovaný virus 1, adeno-associated virus 1
- AChE ó acetylcholin esteráza, acetylcholine esterase
- AD ó Alzheimerova choroba, Alzheimer's disease
- AICD ó intracelulární doména amyloidu, amyloid intracellular domain
- AMD ó v kem podmín ná makulární degenerace, age-related macular degeneration
- AMPA ó -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxaolepropionic acid
- ApoE ó apolipoprotein E
- APP ó amyloidní prekursorový protein, amyloid precursor protein
- BACE ó beta-sekretáza, beta-site amyloid precursor cleaving protein
- BDNF ó brain derived neruotrophic factor
- CA ó calyculin
- CAA ó cerebrální amyloidní angiopatie, cerebral amyloid angiopathy
- CAMKII ó kalcium/kalmodulin-dependentní protein kináza II, calcium/calmodulin-dependent protein kinase II
- cdk5 ó cyklin dependentní kináza 5, cycline dependent kinase 5
- ChAT ó cholin acetyl transferáza, cholin acetyl transferase
- CNS ó centrální nervový systém, central nervous system
- CREB ó cyclic adenosin-monophosphate response element binding enzyme
- EHT ó eicosanoyl-5-hydroxytryptamid
- EOAD ó š asnáð Alzheimerova choroba, early-onset Alzheimer's disease
- EPC ó endoteliální progenitorové bu ky, endothelial progenitor cells
- FAB ó ferrous amyloid buthionine
- fAD ó familiální Alzheimerova choroba, familial Alzheimer's disease
- FTDP-17 ó frontotemporální demence s parkinsonizmem vázaná na chromozóm 17, frontotemporal dementia with Parkinsonism linked to chromosome-17
- GLUT3 ó glukózový transportér 3, glucose transporter 3
- GSK3 ó glykogen syntáza kináza 3 beta, glycogen synthase kinase 3 beta
- HCHWA-D ó hereditární mozkové krvácení s amyloidózou ó holandský typ, hereditary cerebral hemorrhage with amyloidosis of Dutch origin
- I₂^{PP2A} ó inhibitor protein fosfatázy 2A, protein phosphatase 2A inhibitor
- i.c.v.* ó intracerebroventrikulární, intracerebroventricular
- IDE ó inzulin degradující enzym, insulin degrading enzyme
- IGF ó inzulinu podobný r stový faktor, insulin-like growth factor

IL-1 ó interleukin 1

i.p. ó intraperitoneální, intraperitoneal

i.v. ó intravenózní, intravenous

i.v.t. ó intraventrikulární, intraventricular

LOAD ó špozdníø Alzheimerova choroba, late-onset Alzheimerø disease

LPS ó lipopolysacharid, lipopolysaccharide

LTD ó dlouhodobá deprese, long-term depression

LTP ó dlouhodobá potenciace, long-term potentiation

MWM ó Morissovo vodní bludi-t , Moriss water maze

NFT(s) ó neurofibrilární klubka, neurofibrillary tangles

NGF ó nervový r stový faktor, neuron growth factor

NMDA ó N-methyl-D-aspartát, N-methyl-D-aspartate

NO ó oxid dusnatý, nitric oxide

OA ó kyselina okadaová, okadaic acid

OBX ó (model) po olfaktorické bulbektomii, olfactory-bulbectomized

PER ó periodický gen, periodic gene

PKC ó protein kináza C, protein kinase C

PolyI:C ó polyriboinosin-polyribocytidyl(ová kyselina)

PP1 ó protein fosfatáza 1, protein phosphatase 1

PP2A ó protein fosfatáza 2A, protein phosphatase 2A

PSEN-1,2 ó presenilin 1, 2

RAWM ó -esti-ramenné vodní bludi-t , radial arm water maze

ROS ó volné kyslíkové radikály, reactive oxygen species

S100B ó S100 kalcium vázající protein B, S100 calcium-binding protein B

sAD ó sporadická Alzheimerova choroba, sporadic Alzheimerø disease

SAMP ó senescence accelerated prone (mouse)

SAMR ó senescence accelerated resistant (mouse)

sAPP ó solubilní amyloidový prekurzorový protein, soluble amyloid precursor protein

SCAA ó sporadická mozková amyloidová angiopatie, sporadic cerebral amyloid angiopathy

stz ó streptozotocin

T1,2,3DM ó diabetes mellitus 1., 2., 3. typu, type 1,2,3 diabetes mellitus

WT ó wild-type

OBSAH

1	ÚVOD.....	1
2	ALZHEIMEROVSKÉ DEMENCE	2
2.1	Rozdělení Alzheimerovy choroby.....	2
2.2	Molekulární a histologické nálezy a jejich úloha v etiologii.....	3
2.2.1	Beta-amyloid a hypotéza amyloidní kaskády.....	3
2.2.2	Tau protein a neurofibrilární klubka.....	5
2.2.3	Poruchy centrálního cholinergního systému	5
2.2.4	Diabetes mellitus 3. typu	6
2.2.5	Warburgův efekt.....	6
2.2.6	Imunitní hypotéza a vliv faktorů prostředí.....	7
2.3	Symptomatická podobnost Alzheimerovy nemoci s jinými chorobami mozku.....	8
2.4	Transgenové modely	9
3	ANIMÁLNÍ MODELY.....	9
3.1	Potkan laboratorní (<i>Rattus norvegicus var. alba</i>).....	10
3.1.1	Metody založené na přenosu amyloidu	10
3.1.2	Hyperfosforylace tau proteinu inhibicí protein fosfatázy 2A (PP2A).....	12
3.1.3	Cholinergní modely	13
3.1.4	Diabetes mellitus 3. typu.....	15
3.1.5	Indukovaný zánět nervové tkáně	16
3.1.6	Stresové modely	16
3.1.7	D-galaktózou zprostředkované zrychlené stárnutí.....	17
3.1.8	Model bilaterální olfaktorické bulbektomie (OBX).....	18
3.1.9	Spontánní model zrychleného stárnutí.....	19
3.1.10	Indukce neurodegenerace kolchicinem	19
3.2	Myš laboratorní (<i>Mus musculus var. alba</i>).....	20
3.2.1	Metody společné s potkaními modely	20
3.2.2	Polyribonukleotid-polyribocytidylový (PolyI:C) model	23
3.2.3	Model zrychleného stárnutí: Senescence accelerated mouse prone 8 (SAMP8).....	23
3.3	Další modelová zvířata	24
3.3.1	Pes domácí (<i>Canis lupus familiaris</i>).....	24
3.3.2	Primáty (<i>Macaca mulatta</i> , <i>Macaca fascicularis</i> , <i>Saimiri sciureus</i> , <i>Papio sp.</i> , <i>Microcebus murinus</i>)	25
3.3.3	Králík domácí (<i>Oryctolagus cuniculus f. domesticus</i>).....	26
3.3.4	Morčeka domácí (<i>Cavia aperea f. porcellus</i>)	27

3.3.5	Osmák degu (<i>Octodon degus</i>).....	28
3.3.6	Příklady dalších obratlovců vykazujících spontánní vznik amyloidózy i tauopatií.....	28
4	ZÁVĚR.....	29
5	BIBLIOGRAFIE.....	30

1 ÚVOD

Alzheimerova choroba (AD) je závažným neurodegenerativním onemocněním postihujícím především osoby ve vyšším věku. Jejím základním klinickým symptomem je postupný úpadek kognitivních schopností, zejména paměti a učení. Histologicky se projevuje buněčnými ztrátami zejména v oblasti hippocampu a mozkové kůře, intra- i extracelulárním hromaděním β -amyloidních peptidů a tvorbou tzv. neurofibrilárních klubek (NFTs), vnitrobuněčných struktur tvořených primárně hyperfosforylovaným tau proteinem. Malé procento případů této nemoci (1-5 %) je způsobeno genovými mutacemi. Většina pacientů s AD však trpí tzv. sporadickou formou, jejíž genetické pozadí je nejasné a její vznik je pravděpodobně podmíněn kombinací mnoha různých faktorů. Přesný mechanismus patogeneze však dosud nebyl objasněn. Incidence této choroby roste od roku k roku a finanční náklady spojené s léčbou a péčí o pacienty dosahují nezanedbatelných částek. Navzdory mnohaletému výzkumu dosud stále není plně objasněn mechanismus patogeneze sporadické AD a neexistuje žádná efektivní terapie. Ačkoliv výsledky testování mnoha látek na pokusných zvířatech se zdály veskrze pozitivní, v klinických testech na lidských subjektech většina selhala; schváleno pro humánní použití bylo zatím jen několik málo léčiv.

Animální modely hrají ve studiu mechanismů patogeneze a na to navazujícím vývoji terapeutik zcela zásadní roli. Aby mohl být výsledek výzkumu dostatečně vypovídající hodnotou a byly aplikovatelné i v humánní medicíně, je nezbytné, aby zvolený model co nejvíce imitoval charakteristické rysy dané patologie; ideálně aby se u něj přirozeně vyskytovalo analogické onemocnění. Zároveň by však měl splňovat podmínky vhodného modelového organismu ve smyslu dobré dostupnosti, nenáročnosti na chov, snadného množení a co nejlépe prozkoumaného genetického pozadí. Mnohdy je zapotřebí i snadné genetické manipulovatelnosti a možnosti precizního zhodnocení mentálních procesů a jejich změn v behaviorálních testech. Najít ideální model disponující všemi zmíněnými charakteristikami je tedy velice obtížné, mnohdy nemožné. Ve výzkumu AD v současnosti jako modely dominují transgenní myši exprimující lidské geny způsobující AD. Jejich validita pro použití ve studiu sporadické formy je však diskutabilní a pro neúspěch ve vývoji léčiv bývá často zpochybňována. Existuje tak rovněž řada netransgenních modelů, nicméně jejich relevance se výrazně liší; stále tedy pokračuje hledání nových a lepších způsobů modelování AD. Mimo již delší dobu známých, hlavně chemických, postupů stimulace procesů vedoucích k rozvoji AD podobné patologie u potkanů a myší, se v nedávné době začaly do centra pozornosti dostávat i tzv. přirozené modely neurodegenerativních onemocnění spojených se stárnutím, v jejichž mozkové tkáni spontánně dochází k patologickým změnám asociovaným s AD.

Tato práce se věnuje animálnímu modelům sporadické formy AD, a je tak zaměřena právě na netransgenní modely. Cílem této práce je shrnutí již zavedených i nově navržených modelů, jejich stručné charakterizace a přehledy využití. Přehled a srovnání různých principů, na nichž jsou jednotlivé modely založeny, by zároveň mohl umožnit osvětlení vzájemné interakce jednotlivých faktorů zahrnutých v patogenezi AD, a tak i posloužit poznání mechanismu vzniku této choroby. Mimoto

modely reprezentující kromě AD i jiné choroby poskytují zajímavou perspektivu pro studium souvislostí, vzájemného vlivu a ev. komorbidit těchto patologií.

2 ALZHEIMEROVSKÉ DEMENCE

Pod pojmem Alzheimerova choroba (AD) se skrývají dva, podle některých autorů více (Cheng, Zhou, & Zhang, 2014; Mrazek & Griffin, 2005) typů neurodegenerativních onemocnění s víceméně stejnými neuropsychiatrickými i histopatologickými projevy, lišící se však ve své etiologii a v načasování nástupu v rámci života pacienta. Obecně lze Alzheimerovu demenci popsat jako multifaktoriální chorobu, při níž v mozkové tkáni dochází ke shlukování β -amyloidních peptidů v amyloidní plaky, hyperfosforylaci tau proteinu, který pak vytváří NFTs, dále ke ztrátě (zejména cholinergních) neuronů a synaptické plasticity (Iqbal Lu, & Gong, 2014), glióze a zánětu (Iqbal et al., 2014; Lecanu & Papadopoulos, 2013; Reitz & Mayeux, 2014). Tyto změny zasahují zpočátku selektivně jen určité části mozku: entorhinální kortex, hippocampus a mozkovou kůru, resp. hlavně její parietální oblasti (Demetrius, Magistretti, & Pellerin, 2015; Schliebs & Arendt, 2011). Vznikají projevy choroby se objevují po několika desítkách let trvající preklinické fázi a zahrnují poruchy paměti a kognitivních schopností, které posléze znemožňují vykonávání běžných denních aktivit. Často se vyskytují v kombinaci s depresemi, psychózou i agresivitou (Lecanu & Papadopoulos, 2013; Park, 2011).

2.1 Rozdělení Alzheimerovy choroby

Rozlišují se dva hlavní typy AD: tzv. **(1) familiální (fAD)**, také nazývaná jako šasná (early-onset, EOAD), jejíž projevy nastávají před 65. rokem života (Reitz & Mayeux, 2014), a která představuje cca 1-5 % (Iqbal et al., 2014; Lecanu & Papadopoulos, 2013) všech případů AD¹. Jde o mendelovskou dědičnou chorobu způsobenou bodovými mutacemi v genech pro amyloidní prekurzorový protein (APP) a proteinové podjednotky β -sekretázy (beta site amyloid precursor cleaving enzyme, BACE): presenilin-1 (PSEN-1) a presenilin-2 (PSEN-2). Tyto mutace mají za následek ovlivnění činnosti enzymů účastnících se buněčné signalizace, a to zejména protein fosfatázy-2A (PP2A) a glykogen syntázy kinázy 3 (GSK-3 β) (Iqbal et al., 2014), a vedou k zvýšené produkci β -amyloidu (A β) prostřednictvím zvýšené exprese APP i posílením jeho štěpení pomocí BACE, tedy tzv. šamyloidní cestou (Teich & Arancio, 2012). Další mutace genu pro tau protein způsobující AD nebyly dosud nalezeny. U takto postižených jedinců obvykle vzniká frontotemporální demence, u níž není přítomna amyloidóza (Selkoe, 2011).

Ve většině případů onemocnění AD se však jedná o formu s nejasným genetickým pozadím, tzv. **(2) sporadickou (sAD)**, též označovanou jako špozdň (late-onset, LOAD²) jejíž symptomaticky

¹ Procentuální podíl fAD v rámci sporadické formy AD se postupem času snižuje, nicméně tento pokles je dán narůstající incidencí sporadické AD; počet pacientů s fAD zůstává stejný (Valeči, 2015).

² Kategorizace AD se u různých autorů liší: nejčastěji se sice vyskytují označení šfamiliální a šsporadická forma, jak jsou popsány v hlavním textu, ovšem některé autoři u sAD striktně vyloučují genetické faktory (Cheng et al., 2014). Jiní autoři však spíše užívají termíny šearly-onset AD, kde se uplatňuje mendelovská dědičnost, a šlate-onset AD, pro kterou je typická nemendelovská dědičnost (Reitz & Mayeux, 2014).

za jiná projevat po 65. roce života (Reitz & Mayeux, 2014), a její přesné příčiny a mechanismus vzniku dosud zůstávají neobjasněné. Patrně by mohlo jít o kombinaci stárnutí, environmentálních faktorů (jako je například sobění toxických látek či virové infekce), stresu, stravy a životního stylu (Lee & Han, 2013).

Vznik AD může být výrazně podpořen (3) přítomností 4 pro apolipoprotein ApoE, což někdy bývá vyloveno jako samostatná kategorie. Názory se rozcházejí, někdy i auto i tento případ zahrnují pod sAD (Iqbal et al., 2013; Teich & Arancio, 2012), jiní spíše pod familiální pod názvem špozdní familiální AD (late-onset fAD) (Lee & Han, 2013) a někdy ho oznaují jako sporadickou formu s multifaktoriální příčinou a zbylé dva typy nazývají familiální a špozdní AD, je-li nemá žádnou souvislost s genetickým pozadím pacienta (Cheng et al., 2014). Rovněž není dosud znám přesný mechanismus, jímž exprese této alely vyvolává AD, spekuluje se však o možné souvislosti s cerebrální amyloidní angiopatií (Takeda, Sato, & Morishita, 2014). Faktem nicméně zůstává, že přítomnost jedné alely ApoE-4 zvyšuje pravděpodobnost projevu AD 3,5krát, přítomnost dvou alel pak 10krát. Zároveň také dochází ke snížení věku nástupu onemocnění (Iqbal et al., 2014).

Mimo to někdy auto i rozlišují tzv. šchromozomální AD. Jde o jiné označení Downova syndromu, který je typický postupným rozvojem patologií vyskytujících se v AD s následným nástupem klinických projevů (Mrak & Griffin, 2005).

2.2 Molekulární a histologické nálezy a jejich úloha v etiologii

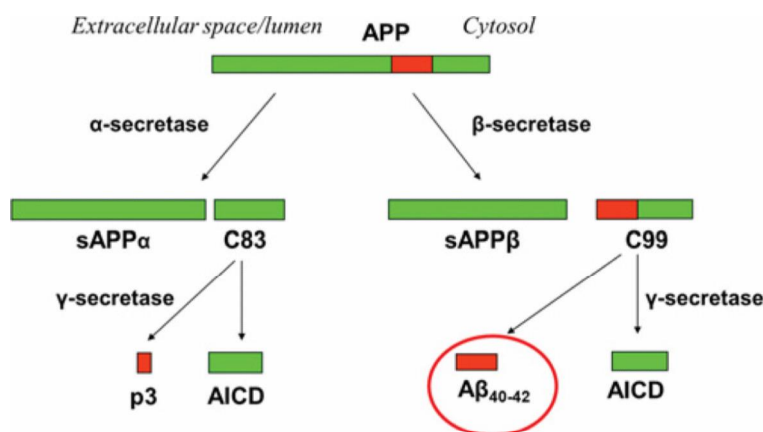
Tato kapitola se zabývá patologickými změnami v centrální nervové soustavě (CNS) charakteristickými pro AD a rovněž základními hypotézami možných mechanismů vzniku této choroby. Tyto teorie se mnohdy navzájem plně nevyplývají, často se spíše doplňují.

2.2.1 Beta-amyloid a hypotéza amyloidní kaskády

Extracelulární amyloidní plaky, spolu s tauopatií nejčastěji zmiňovaný znak vědecký typ AD, jsou složeny primárně z β -amyloidních peptidů o délce 40 a 42 aminokyselin. Jedná se o produkty štěpení transmembránového amyloidního prekurzorového proteinu (APP). Ten může být metabolizován dvěma cestami: (1) β -sekretázou a γ -sekretázou za vzniku solubilního APP (sAPP), 37 peptidu a tzv. amyloidní intracelulární domény (amyloid intracellular domain, AICD), nebo (2) α -sekretázou a γ -sekretázou produkujících solubilní APP (sAPP), AICD a β -amyloid (A β) o různé délce (viz Obr. 1) (Teich & Arancio, 2012). K produkci A β prostřednictvím BACE a jeho odbourávání pomocí neprilysinu a insulin degradujícího enzymu (IDE) v organismu dochází za fyziologických podmínek běžně; patogenním se stane až ve chvíli, kdy se začne hromadit z důvodu porušení rovnováhy mezi jeho výrobou a eliminací. Až kolik za nejškodlivější formu byl dlouho považován A β usazený v placích, v současnosti se zdá, že toxičtější je solubilní A β (Iqbal et al., 2014). Toxický účinek A β spočívá především v narušení a inhibici signálních drah směřujících k regulaci genové exprese prostřednictvím CREB proteinu (cAMP response element-binding protein), což v důsledku vede k defektům na synapsích a posléze i k jejich odumírání (Teich & Arancio, 2012), a rovněž k deregulaci činnosti dalších buněčných komponent, jako například enzymů podílejících se na fosforylaci tau proteinu (Iqbal et

al., 2014). Krom toho se zdá, že A rovněž negativně ovlivňuje cholinergní transmisí (Terry Jr & Buccafusco, 2003).

Na negativním působení A je založena tzv. amyloidní hypotéza poprvé navržená v roce 1991 Johnem Hardym a Davidem Allsopem (J. Hardy & Allsop, 1991), podle níž amyloid ležící v centru patogeneze AD. Za vznikem této hypotézy stojí objev neurotoxicity A a identifikace mutací v genech pro APP, PSEN-1 a PSEN-2 jako kauzálních pro vznik fAD, a vzhledem k její popularitě byl dosavadní výzkum mechanismů a možných terapií AD zaměřen právě tímto směrem. Avšak kvůli nepřetrvávající neúspěšnosti terapeutických strategií zacílených na A a ve světle objevů dalších molekul a mechanismů účastnících se AD se tento přístup v poslední době stává terčem kritiky (Teich & Arancio, 2012). Některí autoři vidí primární příčiny spíše v patologii spojené s tau proteinem (Iqbal et al., 2014), jiní kladou důraz na zánětlivé procesy (Krstic & Knuesel, 2013; Krstic et al., 2012). Jedním z ustávaných argumentů proti amyloidní hypotéze je například existence pacientů ve věku veku bez jakýchkoli symptomů demence, v jejichž mozku jsou však přítomny amyloidní plaky (Krstic & Knuesel, 2013).



Obr. 1: Na schématu jsou znázorněny možnosti štěpení APP: produkty metabolizace α -sekreázou jsou N-terminální solubilní APP a C-terminální C83, který je dále štěpen na peptid p3 a AICD. Naproti tomu β -sekreáza (BACE) produkuje N-koncový solubilní APP a C-koncový C99, jenž rovněž dává vznik AICD a dále také plaky tvořícímu amyloidnímu peptidu o 40-42 aminokyselinách (Teich & Arancio, 2012). V současné době se zvažuje i patogenní vliv AICD v podobě deregulace buněčných biologických hodin (Blake et al., 2015). Převzato z (Teich & Arancio, 2012).

V současné době se výzkum začíná zaměřovat i na další molekuly kaskády amyloidního štěpení: nedávná studie ukázala, že intracelulární doména amyloidu (AICD) vznikající v obou možných cestách metabolizace APP vykazuje významný vliv na regulaci biorytmů. AICD může být translokována do buněčného jádra, kde zastává funkci regulátoru transkripce například ve spouštění apoptózy. Zdá se, že zejména v centrálních hodinových neuronech by také mohla narušovat expresi cirkadiálních periodických genů (PER) a tak deregulovat nastavení cirkadiálních biorytmů. Vnější projevem narušení hodinového systému je pak zejména fragmentace spánku, často přítomná u pacientů s AD (Blake et al., 2015).

2.2.2 Tau protein a neurofibrilární klubka

Druhým neopomenutelným znakem AD je tauopatie v podobě intracelulárních NFTs složených především z molekul hyperfosforylovaného tau proteinu. Za normálních okolností je tau dobře rozpustným proteinem stabilizujícím mikrotubuly. Jeho vazba na tato vlákna je určena množstvím molekul fosfátu: čím více fosfátu je na tau připojeno, tím nižší je jeho afinita k mikrotubulám. Míra fosforylace tau je regulována různými buněčnými kinázami, jako například GSK-3, cyklin dependentní kináza 5 (cdk5) (Cuadrado-Tejedor et al., 2011) a Ca^{2+} /kaldmodulin-dependentní protein kinázou II (CaMKII), majoritní úlohu zde však hraje protein fosfatáza 2A (PP2A), která kromě odjímání fosfátu ze samotného tau řídí i přítomnost některých jeho kináz (Iqbal et al., 2014). Dojde-li k hyperfosforylaci, tau disociuje z cytoskeletárních vláken, vstoupí se do helikálních struktur a stává nerozpustným. V nich často bývají kromě tau oligomerů přítomny i molekuly ubiquitinu, což by mohl být důsledek neúspěšné snahy o degradaci vadného tau (Selkoe, 2011). Dále se tu obvykle nachází i další s mikrotubuly asociované proteiny, což má vcelku za následek narušení stability mikrotubulů a jejich rozpad (Iqbal et al., 2014). U pacientů s AD se NFTs v hojně míře nalézají zejména v hippocampu, amygdale, enterorhinálním kortexu a neokortikálních asociativních oblastech (Selkoe, 2011).

Obecně se soudí, že patologické změny týkající se tau proteinu se dostávají až následkem rozvoje amyloidózy a hrají tak spíše sekundární úlohu v patogenezi AD (John Hardy, 2006), nicméně se začínají objevovat i práce zdávající úlohu defektního tau proteinu na úkor A β , jak například Khalid Iqbal ve svém článku *Alzheimer disease therapeutics: Focus on the disease and not just the plaques and tangles* (Iqbal et al., 2014).

2.2.3 Poruchy centrálního cholinergního systému

Již starším, nicméně stále relevantním, vysvětlením vzniku kognitivních poruch v AD je tzv. cholinergní hypotéza. Podle ní hraje cholinergní systém mozku klíčovou roli v procesech spojených s kognitivními schopnostmi, jako například udržení pozornosti a paměť, a právě funkční nedostatky tohoto systému, zejména v oblasti bazálních ganglií, vedou k typickým příznakům demence. Toto bylo prokázáno v mnoha studiích navozením symptomů kognitivních poruch i u mladých jedinců prostřednictvím indukce lézí bazálních ganglií i pomocí anticholinergních agens (například skopolaminem), jejichž účinek se ukázal být reversibilní podáním pozitivně cholinergicky působících látek (viz review (Schliebs & Arendt, 2011; Terry Jr & Buccafusco, 2003)). V současné době se soudí, že za patologii objevující se v důsledku dysfunkce cholinergního systému, spíše než ztráty neuronů nalézané post mortem u pacientů v pokročilých stádiích AD, stojí primárně funkční poruchy v podobě zhoršeného axonálního transportu a s ním související nedostatečná signalizace přes neurotrofin (neuron growth factor, NGF) a snížený transport cholinu do buňky, a dále také omezená aktivita cholin acetyltransferázy (ChAT). Jistá míra cholinergní degenerace je v rámci stárnutí obvyklá, nicméně v AD je výrazně zřetelnější, mj. patrní i kvůli zvýšenému množství A β , který různými mechanismy negativně působí na cholinergní přenos. Za zmínku stojí, že jediná v současnosti schválená a užívaná terapeutika pro pacienty s AD představují mimo memantinu (antagonisty N-methyl-D-aspartátových receptorů)

lé iva zalofená práv na cholinergní hypotéze, a sice inhibitory acetylcholin esterázy (AChE) donepezil, rivastigmin a galantamin (Schliebs & Arendt, 2011; Terry Jr & Buccafusco, 2003).

2.2.4 Diabetes mellitus 3. typu

Post mortem prováděné biochemické testování mozkové tkáně pacientů s AD ukázalo poruchy v metabolismu glukózy, inzulínové signalizaci a v drahách s ní spojených. A koli se zprvu soudilo, že by mohlo jít o dle sledků diabetes mellitus 2. (i ev. 1.) typu (T2DM, T1DM), epidemiologické studie a výzkum na animálních modelech těchto chorob ukázaly, že T2DM (resp. T1DM) sám o sobě nestačí k indukci (a také není podmínkou) pro vznik AD, by k němu patrně může pomoci významný spouštěč. Tato zjištění vedla k formulování hypotézy, že AD je ve své podstatě neuroendokrinní chorobou, a sice tzv. 3. typu (T3DM). Také, že v postiženém mozku dochází ke vzniku inzulínové rezistence. Defekty v signalizaci prostřednictvím inzulínu a také IGF (insulin growth factor), zejména ztrátou neuronů, se objevují v různých fázích rozvoje onemocnění a způsobují procesy typické pro AD, jako například oxidativní stres, poruchy energetického metabolismu a mitochondriální dysfunkce. Vzhledem k propojení jejich signálních drah také vedou k hyperfosforylaci tau proteinu a zvýšení produkci APP. Mimo to mají inzulínové a IGF dráhy vliv i na imunitní odpověď: jejich narušení indukce zánětu. V tomto ohledu se hypotéza T3DM doplňuje se zánětlivou teorií vzniku AD. Oblíbeným způsobem modelování AD podobných patologií založený právě na navození inzulínové rezistence je intracerebrální i intracerebroventrikulární (*i.c.v.*) injekce streptozotocinu, agens jinak běžně užívaného pro modelování T1DM i T2DM. Blíže o tomto modelu viz oddíl 3.1.4.1 (de la Monte & Wands, 2008).

2.2.5 Warburg v efekt

Tato poměrně nová hypotéza se soustřeďuje na sporadickou formu AD, jejíž vznik popisuje mitochondriální dysfunkci a s ní související metabolické deregulaci v souvislosti s postupujícím věkem. Její autoři srovnávají s dlouho považovanou amyloidní hypotézou, kterou kritizují pro aplikování mechanismů patogeneze fAD na sAD, by se tyto formy zjevně etiologicky liší. Jako alternativu navrhuje neuroenergetický model zohledňující interakce mezi neurony a astrocyty, charakterizovaný třemi základními prvky: v rámci stárnutí dochází k (1) poklesu mitochondriální aktivity, a tedy i ke snížení efektivity energetického metabolismu v neuronech, které v reakci na níž množství vyrobené energie (2) zvyšují proces oxidativní fosforylace, tzv. šinverzní Warburg v efekt³. K poklesu výkonnosti enzymů dochází i v astrocytech, je-li reagují posílením glykolýzy. Mimo to dochází mezi neurony ke (3) kompetici o energetické zdroje v podobě laktátu, jehož množství je limitováno vlivem jeho snížené produkce stárnoucími astrocyty. V této soutěži zpravidla vítězí pokleslé neurony s vyšší aktivitou oxidativní fosforylace nad zdravými neurony, a tak postupně dochází k jejich prevalenci. Významným faktorem způsobujícím změnu normálního stárnutí v patologické je pak oxidativní stres. V souvislosti s popsánými mechanismy autoři navrhuje nové terapeutické strategie

³ Tento název odkazuje na známý Warburg v efekt popisovaný u nádorových buněk, které vzhledem ke zvýšeným energetickým nárokům vykazují vyšší míru anaerobní glykolýzy.

zaměřující se zejména na kompenzaci nedostatku energetického substrátu (laktátu), posílení glykolýzy v asrtoocytech a antioxidační léčbu (Demetrius et al., 2015).

2.2.6 Imunitní hypotéza a vliv faktorů vnějšího prostředí

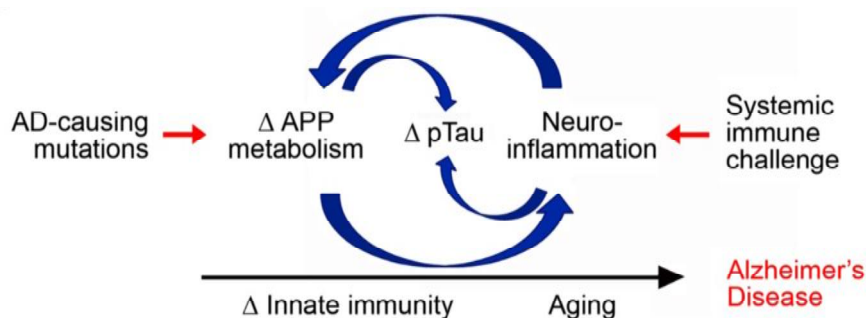
Zánětlivé procesy v centrálním nervovém systému v podobě aktivace mikroglie a astrocytů s abnormálně zvýšenou expresí některých cytokinů (mj. interleukinu 1 a S100 Ca²⁺-binding proteinu B) se řadí k typickým znakům AD. Obvykle je jejich úloha v rámci patogeneze uváděna až jako sekundární, spíše přispívající k toxicitě amyloidu a NFTs. Mrak a Griffin však ve svém review z roku 2005 navrhuje chronický zánět v CNS jako jeden z primárních spouštěčů vzniku AD. Aktivace mikroglie a astrocytů totiž předchází emergenci amyloidních depozit a plaků a jejich přítomnost významně ovlivňuje mnoho buněčných elementů včetně aktivity AChE, vzniku NFTs a Aβ a jeho transformace v plaky. Postupná aktivace gliových buněk je v rámci stárnutí přirozená, nicméně s narůstajícím věkem se zároveň zvyšuje riziko, že za určitých podmínek (např. úraz hlavy) změní v abnormální a spustí AD. Molekulou za to zodpovědnou je pak podle autorů interleukin 1, resp. jeho nadprodukce (Mrak & Griffin, 2005). Návrh zánětu jako dominantního iniciátora v patogenezi AD je podpořen mj. i absencí gliózy u lidí vykazujících výrazné amyloidní plaky, avšak fládné příznaky kognitivní poruchy (Krstic et al., 2012).

Tuto imunitní hypotézu lze však rozšířit i na systémový zánět. Jeho role v rámci AD je dosud poněkud nejistá, nicméně byla nalezena pozitivní korelace mezi probíhající infekcí či traumatem a nástupem nekognitivních symptomů (např. psychózy, agresivity, deprese, atd.). Konkrétní mechanismus vysvětlující tento jev však doposud není znám. Takeda et al. (2014) navrhuje možné ovlivnění patologických procesů v centrálním nervovém systému (CNS) periferním imunitním systémem prostřednictvím hematoencefalické bariéry, její celistvost je u mozku postiženého AD narušena (Takeda et al., 2014). Vlivem stimulace periferního imunitního systému v prenatálním vývoji na pozdější rozvoj neurodegenerace se zabývali také Krstic et al. (viz 3.2.2 PolyI:C model), jejichž výsledky hypotézu klíčové úlohy zánětu a imunitní odpovědi v etiologii AD podporují (Krstic et al., 2012).

V nedávné době bylo publikováno review, které shrnuje dosavadní poznatky podporující hypotézu centrální role zánětlivé imunitní odpovědi v patogenezi AD a dává je do souvislosti s charakterem onemocnění s astým komorbidním výskytem s AD, viz (Cunningham, 2015).

V souvislosti s imunitními procesy se rovněž objevila hypotéza zpochybňující dosud obecně přijímanou úlohu APP a Aβ v patogenezi AD: hromadění amyloidu by mohlo primárně představovat snahu zmírnit probíhající zánět či oxidativní stres, které byly způsobeny traumatem či infekcí. Aβ peptidy ve fyziologických koncentracích vykazují na mozkovou tkáň pozitivní vliv – snižují oxidativní stres, chrání před excitotoxicitou, lipoperoxidací, zvyšují synaptickou plasticitu a mají i neurogenní i protizánětlivé účinky. Shlukování amyloidu v oblastech vysokého oxidativního poškození či probíhajícího zánětu by tak mohlo být důsledkem pokusu o jejich zastavení, a neurotoxický efekt Aβ by

byl následkem jeho abnormálního nahromadění, tj. až sekundární příčinou poškození (Krstic & Knuesel, 2013).



Obr. 2: Schéma ilustruje návrh možných způsobů spuštění patogeneze vedoucí k AD, a sice ve formě mutací u fAD, nebo nabuzení imunitního systému v případě sAD. Obojí pak vede ke vzniku bludného kruhu zahrnujícího vzájemné působení zánětu a defektu metabolismu APP a tau proteinu. S narůstajícím věkem se odolivé úinky kumulují a postupně pak nastupují projevy AD. Pevzato z (Krstic et al., 2012).

Dleflitý kofaktor působí uvařování imunitní odpovědi v etiologii AD představuje také vnější prostředí. Jde jak o životní styl zahrnující stravovací návyky, kouření, atp., ale i o míru chronického stresu, během něhož dochází k vyčerpání glukokortikoidů vykazujících v dlouhodobém měřítku negativní kumulativní efekt. V AD je jejich hladina zvýšená a odpovídá závažnosti symptomů (Sotiropoulos et al., 2011). Mimo to i vystavení působení těžkým kovům (například v podobě prostředí kontaminovaného olovnatými ionty) v raném věku může jedince predisponovat k rozvoji AD v pozdějším věku (Bihaqi & Zawia, 2013).

2.3 Symptomatická podobnost Alzheimerovy nemoci s jinými chorobami mozku

Vyskytuje se řada chorob, jejichž symptomy zahrnují stejné prvky jako AD, což v důsledku komplikuje hledání vhodných biomarkerů pro diagnostiku této choroby. Většina znaků typických pro AD je přítomna u osob s Downovým syndromem, jenž je proto některými autory označován jako přirozený model AD a je k němu dokonce přiznán (Mrak & Griffin, 2005). U některých onemocnění lze nalézt amyloidní plaky, avšak nikoli NFTs, například různé formy amyloidních angiopatií, jako třeba sporadická mozková amyloidová angiopatie (SCAA), a dále také hereditární mozkové krvácení s amyloidózou a holandský typ (HCHWA-D) (Iqbal et al., 2014). Rovněž existuje celá řada nemocí s poruchami tau proteinu, tzv. tauopatií. Ty zahrnují například Creutzfeldt-Jakobovu chorobu (Teich & Arancio, 2012), Pickovu nemoc, různé formy Parkinsonovy choroby - progresivní supranukleární paralýzu, frontotemporální demenci s parkinsonismem vázanou na chromozóm 17 (FTDP-17), Guamský Parkinsonský komplex, atp. (Iqbal et al., 2014). Poškození a ztráty cholinergních neuronů byly popsány například u Korsakoffova syndromu, Parkinsonovy nemoci, Creutzfeldt-Jakobovy choroby a Downova syndromu (Schliebs & Arendt, 2011). V kombinaci s dokumentací případů výskytu amyloidních plaků u pacientů bez projevů demence, podnětují tato fakta k výzkumu specifických způsobů, vzájemných interakcí a kazuistik jednotlivých příznaků (Krstic & Knuesel, 2013).

Symptomatický překryv AD s jinými nemocemi CNS je patrný i z obecného využívaní animálních modelů těchto chorob pro výzkum mechanismů uplatňujících se v nástupu demence. Příkladem může být studie Jasminey Mackic et al. (2002) srovnávající rychlost metabolismu a transportu A β u makaka, typického modelu cerebrální amyloidózy, a kotula veverovitého, s oblibou používaného pro výzkum cerebrální amyloidní angiopatie (Mackic et al., 2002). Nežidka se lze setkat i s modely deprese, zahrnující různé formy stresu (Cuadrado-Tejedor et al., 2011; Lecanu, Greeson, & Papadopoulos, 2006; Tran, Srivareerat, Alhaider, & Alkadhi, 2011) nebo například parciální olfaktorickou bulbektomií (Borre et al., 2012; Slotkin & Seidler, 2006).

2.4 Transgenní modely

V současné době na poli výzkumu AD dominují transgenní, především myšičí modely. Bylo vyvinuto obrovské množství transgenních linií různých způsobem napodobujících znaky AD, zejména na úrovni A β a tau patologií. Na toto téma byla sepsána již řada review, viz například *Transgenic Mouse Models of Alzheimer's Disease* (Elder, Gama Sosa, & De Gasperi, 2009), *Animal models of amyloid-beta-related pathologies in Alzheimer's disease* (Philipson et al., 2010), *Animal systems in the development of treatments for Alzheimer's disease: challenges, methods, and implications* (Sabbagh, Kinney, & Cummings, 2013).

U potkanů je genová manipulace obtížnější, a proto výrazně méně úspěšná. Tzv. *McGill-R-Thy1-APP* představuje dosud jedinou transgenní linii potkanů, jež spolehlivě exprimuje mutovaný lidský gen pro APP a zároveň vykazuje intracelulární akumulaci A β a kognitivní poruchy (Leon et al., 2010).

Mimo myšičí se pro výzkum AD prostřednictvím metod genové manipulace používají také octomilky obecné (*Drosophila melanogaster*), viz (Iijima-Ando & Iijima, 2011). Postupně se rovněž rozvíjejí studie prováděné na zebřích káčkách pruhovaných (*Danio rerio*), které se ukazují jako dobrý model genové podstaty a mechanismů uplatňujících se v neurodegenerativních procesech. Pro bližší detaily o dosavadním výzkumu na tomto modelu viz (Newman, Ebrahimie, & Lardelli, 2014).

Nicméně vzhledem k časné expresi pořádaných parametrů a zaměření na genetické pozadí se ve většině případech jedná spíše o modely vhodné ke studiu neurobiologie familiální formy AD, a proto lze diskutovat o validitě pro výzkum sporadické AD, která se od první zmíněné liší svou etiologií: geny vyvolávající idiopatickou formu v tomto případě nemají kauzální význam (Demetrius et al., 2015). Jelikož se tato práce zaměřuje na modelování sAD, pozornost bude věnována netransgenním modelům.

3 ANIMÁLNÍ MODEL Y

Animální model by měl co nejlépe reprodukovat základní charakteristiky dané choroby. V případě AD by tedy pokusné zvíře mělo vykazovat známky kognitivní poruchy, zejména ve schopnosti učení a paměti, poškození cholinergního systému, například v podobě snížené aktivity ChAT, znaky neurodegenerativních změn, oxidativní stres, aktivaci gliových buněk, hyperfosforylaci tau (nejlépe i NFTs) a agregaci A β (A. Kumar, Seghal, Naidu, Padi, & Goyal, 2007; Lee & Han, 2013;

Neha, Sodhi, Jaggi, & Singh, 2014). Byla vyvinuta jifl ada model , v t-ina z nich v-ak v sob nezahrnuje plnou -kálu patologií pozorovaných v AD (Neha et al., 2014; R. Wang, Zhang, & Tang, 2001). Hlodavci jsou po primátech fylogeneticky lov ku nejbliží skupinou, a mj. i proto jsou ve výzkumu poufívání nej ast ji. Nicmén u v t-iny z nich nedochází ke spontánnímu vzniku amyloidních plak a NFTs (vyjma osmáka degu (Inestrosa et al., 2005)), a je tedy u nich zapot ebí bu indukce exprese lidských gen pro APP a/nebo tau, nebo zp sobení traumatu vedoucího ke vzniku kýfiené patologie (Philipson et al., 2010). Dal-í alternativou je selekce rychle stárnoucích kmen (Morley et al., 2000; Stefanova, Kozhevnikova, Vitovtov, Maksimova, & Logvinov, 2014). Existuje mnoho r zných metod indukce neurodegenerativních zm n, které se leckdy navzájem nevyly ují, ba naopak se mohou dopl ovat. Bardgett et al. (2008) v této souvislosti navrhují vyuffití metod zalofiených na r zných principech⁴, cofl m fle napomoci v objasn ní funk ních mechanism uplat ujících se v dané situaci, nap . p i testování potenciálních terapeutik (Bardgett et al., 2008). Mimo potkan a my-í lze pro výzkum vyuffit i jiná pokusná zví ata: n které druhy obratlovc s postupujícím v kem vykazují p irozený vznik neuropatologických znak pozorovaných u pacient s AD, jako nap . osmáci degu, psi, primáti, králíci, ovce, atd., které tak mohou být velmi vhodnými modely (Sarasa & Pesini, 2009).

3.1 Potkan laboratorní (*Rattus norvegicus var. alba*)

Potkani mezi netransgenními modely výrazn dominují a spolu s my-mi obecn p edstavují nej ast j-í volbu p i modelování AD. Oproti my-ím je u nich genetická manipulace výrazn náro n j-í a mén úsp -ná; transgenní kmen exprimující geny charakteristické pro fAD byl dosud vytvo en jen jeden. N kte í auto i v této souvislosti navrhli alternativní postupy indukce exprese lidských gen v potkanech, nap . pomocí transdukce p íslu-ného genu virovým vektorem (Parsi et al., 2015). Jelikofl se u my-í mutagenese provádí mnohem snáze, jsou zde poufívány p edev-ím ony. Potkani skýtají oproti murinním model m adu výhod, jako nap . vy-í genovou podobnost s lov kem a rozvinut j-í kognitivní schopnosti, cofl poskytuje lep-í moffnost evaluace v behaviorálních testech, atp. Proto jsou potkani velice oblíbenými modelovými organismy pro netransgenní p ístupy (Lecanu & Papadopoulos, 2013; Parsi et al., 2015).

3.1.1 Metody zalofiené na p sobení -amyloid

3.1.1.1 P ímá injek ní aplikace fragment -amyloidu

Po áte ní studie vyuffívaly pro vyvolání patologických zm n jádra amyloidních plak izolovaných post mortem z pacient s AD. Tento postup jako první navrhli Frautschy et al. (1992) za ú elem objasn ní mechanismu distribuce a ukládání A v mozkové a cévní tkáni. Amyloid, unilateráln podaný do oblasti hippocampu a kortexu, se p emístil do neuropilu, kde setrval po dobu jednoho m síce. Rovn fl se ukázalo, fle fagocyty v mozkové tkáni patrn internalizují amyloidové ástice a

⁴ V p ípad této studie se jednalo o testování potenciálního lé iva jak na modelu s funk n (tj. pomocí aplikace antagonisty glutamátových receptor) indukovaným hypoglutamátergním stavem, tak na modelu, u n hofl bylo tohoto stavu dosafleno anatomickým po-kozením (tj. zní ením glutamátové receptory exprimujících bun k). (Bardgett et al., 2008). Blíffe viz 3.1.3.2.

transportují je do cév, což naznačuje, že post mortem pozorovaná lokalizace depozit A β nemusí zároveň být místem jeho primární produkce (Frautschy, Cole, & Baird, 1992). Později se tento postup začal používat pro modelování AD; amyloidní izoláty z pacientů s AD byly postupně nahrazeny uměle vyráběnými, přesně definovanými, fragmenty A β . Byly také navrženy různé variace konkrétního provedení, například použití několika mikroinjekcí nižších dávek A β_{1-40} do různých oblastí hippocampu namísto jediné injekce s vysokým množstvím tohoto peptidu. Patologické změny v podobě kognitivních poruch, buněčných ztrát, gliózy a zánětu u takto ošetřených potkanů přetrvávaly celkem asi 14 dní po zákroku (Malin et al., 2001).

Jako příklad studie evaluujících příznivé účinky potenciálních terapeutik lze uvést práci Wanga et al. (2001), v níž demonstrovali anti-apoptotické působení huperzinu A, alkaloidu izolovaného z rostliny *Huperzia serrata*, u potkanů s neurodegenerativním poškozením vyvolaným intraventrikulární (*i.v.t.*) injekcí A β_{1-40} (R. Wang et al., 2001). Obdobný efekt byl pozorován také u asaronu, látky nacházející se v rostlině *Acorus tatarinowii* Schott. Autoři této studie pro indukci mozkového poškození použili bilaterální *i.v.t.* injekci fragmentu A β_{1-42} (Geng et al., 2010). Obě zmíněné práce se shodují na tom, že patologický účinek podání A β fragmentu je zprostředkován především indukcí apoptózy (Geng et al., 2010; R. Wang et al., 2001). Naproti tomu Limón et al. (2012), kteří ve své studii dokumentující příznivé účinky aminoestrogenů použili intrahippokampální aplikaci A β_{25-35} , přikládají škodlivé působení zejména oxidativnímu poškození, způsobeného především zvýšením aktivity NO syntázy (Limón et al., 2012).

Lze se také setkat s kombinací infuzního podávání A β fragmentu s dalšími postupy vyvolávajícími traumata, například vystavení chronickému stresu (Alkadhi, Srivareerat, & Tran, 2010; Sotiropoulos et al., 2011; Tran et al., 2011), viz oddíl 3.1.6.

3.1.1.2 Příčná aplikace kombinace síranu železnatého, amyloidového fragmentu a buthioninu sulfoximinu (FAB) model

Tento model, pojmenovaný svými autory jako železnatý amyloid buthioninový model, je založen na společném působení tří látek: síranu železnatého, vyvolávajícího oxidativní stres, amyloidového zbytku A β_{1-42} a buthioninu sulfoximinu, vykazujícího negativní účinky na syntézu glutathionu. Roztok těchto tří látek je potkanům kmene Long-Evans podáván po dobu 4 týdnů prostřednictvím *i.c.v.* infuze. Takto ošetřené zvířata pak vykazují poruchy kognice a histopatologické rysy typické pro AD. Autoři modelu uvádějí, že přítomnost všech tří látek je zásadní pro rozvoj znaků AD: při podání pouze jedné či dvou z komponent se žádné změny neprojeví, což podle autorů podtrhuje význam oxidativního stresu při vzniku této choroby.

Pro tento model byl dle dostupných informací dosud používán pouze kmen Long-Evans, jehož výběr autoři zdůvodňují jeho vysokou náchylností k neurodegenerativním onemocněním, a také snazší interpretací výsledků behaviorálních testů, v nichž by v případě albinotických kmenů mohl hrát roli zhoršený zrak (Lecanu & Papadopoulos, 2013).

3.1.1.3 Virová transdukcce mutovaného lidského genu pro amyloidní prekurzorový protein

V nedávné publikaci byl navržen nový typ modelu, který je generován pomocí transdukcce lidského genu pro APP, který nese mutace způsobující FAD. Výsledek navrženého postupu by v-ak podle autorů mohl být dostatečně validní i pro výzkum sAD. Jedná se o využití lentivirového vektoru pro transdukcce lidského mutovaného genu pro APP do hippocampu dospělých potkanů. Takto ošetření jedinci již 1-2 měsíce po zákroku vykazovali intracelulární hromadění A β , aktivaci astrocytů a přítomnost zánětlivých procesů. Jejich výsledky z testování v Morrissově vodním bludišti a pasivním vyhýbání indikovaly pokoení paměťových schopností. Autoři tento model doporučují jako vhodnou alternativu pro výzkum molekulárních mechanismů patogeneze AD (Parsi et al., 2015).

3.1.2 Hyperfosforylace tau proteinu inhibicí protein fosfatázy 2A (PP2A)

3.1.2.1 Kyselina okadaová (OA), calyculin (CA)

Studie, které se specificky zaměřují na změny spojené s hyperfosforylací tau proteinu, obvykle využívají kyselinu okadaovou (J. He, Yamada, Zou, & Nabeshima, 2001; Jue He, Yang, Xu, Zhang, & Li, 2005; Zhang & Simpkins, 2010) i calyculin, inhibitory protein fosfatázy 1 a 2A (PP1, PP2A), z nichž PP2A hraje klíčovou úlohu v udržování fyziologické míry fosforylace tau proteinu (Sun et al., 2003).

Sun et al. (2003) ukázali, že bilaterální injekce calyculinu do hippocampu má za následek hyperfosforylací tau, na níž se podílí jak PP2A, tak PP1. Se zpožděním min. 5 dnů po aplikaci CA pokusná zvířata pouze p echodně vykazovala zhoršenou výkonnost v kognitivních testech (Sun et al., 2003).

Pro inhibici obou fosfatáz je v případě kyseliny okadaové zapotřebí vyšší dávka této látky, v nižších koncentracích preferenčně inhibuje PP2A (Sun et al., 2003; Zhang & Simpkins, 2010). Obvykle bývá injekce aplikována do hippocampu pouze unilaterálně; neurodegenerativní změny se v-ak postupně rozšíří dosud ne zcela jasným mechanismem i na kontralaterální stranu, jak ukázali He et al. (2001). Ti ve své práci zaznamenali u pokusných zvířat také poruchy pracovní a prostorové paměti, které se dostavily jeden den po injekčním zákroku a během následujících čtyřadvaceti hodin opřt vymizely, na rozdíl od buněčných ztrát, jež se i nadále postupně šířily (J. He et al., 2001). Model využívající kyselinu okadaovou nachází uplatnění i ve farmakologických studiích: příkladem může být experiment s olanzapinem, lékem a priori předepisovaným při psychotických stavech, u něhož bylo v této studii nalezeno preventivní a léčebné působení na kognitivní i tkáňové pokoení vyvolané pomocí OA (Jue He et al., 2005).

Zhang & Simpkins (2010) přišli s návrhem nového modelu kombinujícího chronické podávání OA s ovariektomií. Jelikož estrogenu vykazují neuroprotektivní účinky a vyšší podíl pacientů s AD představují ženy ve vyšším věku, odebrání vaječníků simuluje v potkaních samicích postmenopauzální stav těchto pacientek. Takto ošetřená pokusná zvířata projevovala zhoršené schopnosti prostorového učení a paměti, v jejich mozkové tkáni pak byly zaznamenány příznaky oxidativního stresu, odumírání buněk a v neposlední řadě také abnormálně hyperfosforylovaný tau protein shlukující se do struktur

podobných neurofibrilárním klubk m. Nadměrná fosforylace tau patrně byla zprostředkována cdk5, její aktivita byla zvýšena dle sledkem inhibice fosfatáz. Je otázkou, jak velký vliv má na pozorované patologické změny ovariektomie. A kolik tento model nenapodobuje všechny příznaky nalézané u pacientů s AD, auto i jeho doporučení jako vhodný pro výzkum tau zprostředkovaných patologií a potenciálních léčivů inkujících na této úrovni (Zhang & Simpkins, 2010).

3.1.2.2 Vnesení inhibitoru virovým vektorem

Tato metoda je založena na zvýšené expresi N-koncového a C-koncového fragmentu inhibitoru proteinu fosfatázy 2A (I_2^{PP2A}), která je zprostředkována transdukcí pomocí adeno-asociovaného viru 1 (AAV1) do hippocampu potkaních mláďat. Během jednoho roku se u těchto zvířat postupně v dle sledku inhibice PP2A objevují intracelulární depozita A β , hyperfosforylace tau proteinu a jeho shlukování, ztráty neuronů a synapsí, jakož i kognitivní poruchy odpovídající AD. Jednou z výhod této metody ve srovnání s transgenními modely je absence zásahu do genetického pozadí pokusných jedinců, což tento postup v relaci k SAD má větší relevanci (Bolognin et al., 2012).

Výzkum na tomto modelu zahrnuje i testování látek s potenciálním terapeutickým účinkem. Příkladem může být studie Bolognin et al. (2012), v níž ukázali, že časně započaté a následně chronické podávání neurotrofického faktoru (zde tzv. peptidu 6, sekvenčně odpovídajícího úseku ciliárního neurotrofického faktoru) v potkanech podrobených transdukcii inhibitoru účinně zabraňuje patologickým změnám (Bolognin et al., 2012). Jiná publikace se zabývá prospěšným působením eicosanoyl-5-hydroxytryptamidu (EHT), látky obsažené v kávě, jehož příjem ve stravě pokusných zvířat zvrátil neurodegenerativní změny. Mechanismus jeho účinku se patrně zakládá na anti-inhibičním působení na PP2A prostřednictvím demethylace její katalytické podjednotky (Basurto-Islas et al., 2014).

3.1.3 Cholinergní modely

Cholinergního poškození s dopadem na kognitivní schopnosti lze u pokusných zvířat docílit různými způsoby: buď prostřednictvím zablokování signalizace přes cholinergní receptory pomocí jejich antagonistů, například skopolaminu (Abeelen, Lagro, Beek, & Claassen, 2014; Hritcu, Cioanca, & Hancianu, 2012; Raut, Rege, Malve, & Marathe, 2014; Safar, Arab, Rizk, & El-Maraghy, 2014; Soodi, Naghdi, Hajimehdipour, Choopani, & Sahraei, 2014), nebo snížením signalizace přes glutamátové receptory prostřednictvím jejich antagonistů (Bardgett et al., 2008) i přímým poškozením tkáně (Bardgett et al., 2008; Dolga et al., 2009; Marei et al., 2014).

3.1.3.1 Skopolamin

Chronické intraperitoneální (*i.p.*) podávání skopolaminu, neselektivního antagonisty muskarinových cholinergních receptorů, představuje rozšířenou metodu modelování behaviorálních poruch spojených s pamětí a učním. Mimo to také otevírá zvěsta vykazují také akumulaci A β , hyperfosforylací tau proteinu, jakož i porušení synaptické plasticity a oxidativní poškození (Safar et al., 2014). Často se využívá mj. pro testování potenciálně terapeutických substancí a zásahů (Soodi et al., 2014). V nedávné době byly v této oblasti publikovány různé studie popisující pozitivní působení

látek rostlinného původu na zlepšení kognitivního poškození vyvolaného skopolaminem. Jednalo se například o inhalaci levandulového oleje (Hriteu et al., 2012), i.p. injekce výtažků meduňky lékařské (*Melissa officinalis*) vykazující inhibiční působení na acetylcholin esterázu (Soodi et al., 2014) i podávání výtažků *Phyllanthus emblica*, *Tinospora cordifolia* a *Ocimum sanctum*, léčivých rostlin ajurvédské medicíny (Raut et al., 2014).

Jinou terapeutickou strategií testovanou na tomto modelu představuje transplantací metoda v podobě jednorázové intravenózní (i.v.) injekce epitheliálních progenitorových buněk (EPC) z kostní dřeně. Tento přístup byl navržen v souvislosti s dokumentovaným vazokonstrikčním poškozením cévních endothelií v mozku způsobeným nadměrným ukládáním A β . Vnější dodání EPC v této studii se ukázalo mít velice působivý efekt na všechny patologické změny způsobené skopolaminem, včetně snížení množství A β a hyperfosforylovaného tau, znovustavení fyziologických hladin neurotransmitterů, potlačení zápalu a oxidativního stresu. Tohoto účinku bylo patrně dosaženo prostřednictvím protizánětlivých cytokinů a neurotrofických faktorů vyvolaných EPC. Vzhledem k snadné izolaci a snadné manipulovatelnosti těchto multipotentních buněk autoi doporučují jejich využití jako potenciálního kandidáta pro terapii AD (Safar et al., 2014).

Yu et al. (2014) si zvolili skopolaminový model pro testování neinvazivní léčebné metody: transkraniální stimulace stejnosměrným proudem, která umožňuje vnější kontrolu synaptické aktivity v mozkové kůře. U takto ošetřených pokusných zvířat bylo zaznamenáno zlepšení kognitivního poškození a pohybové aktivity a navýšení hladiny acetylcholinu. Autoi proto tuto metodu navrhují jako novou potenciální terapii pro pacienty s AD (Yu, Park, & Sim, 2014).

3.1.3.2 *Hypofunkce glutamátové signalizace: antagonismus a excitotoxicita*

Hypoglutamátergního stavu a s ním souvisejících poruch cholinergního systému lze docílit dvěma způsoby: (1) funkčním poškozením pomocí podání antagonisty N-methyl-D-aspartátových (NMDA) receptorů (například fenycyklidinu či dizolcipinu, též známého pod názvem MK-801) vedoucí ke snížené signalizaci (Bardgett et al., 2008), nebo (2) tkáňovým poškozením prostřednictvím injekce látky vyvolávající excitotoxicitu (například kyseliny ibotenové (Marei et al., 2014) či NMDA) do hippokampu (Bardgett et al., 2006, 2008) či do nucleus basalis magnocellularis (Dolga et al., 2009). Tento zákrok v dané oblasti způsobí excitotoxické odumírání buněk exprimujících NMDA receptory. Jak první, tak druhý postup vede u pokusných zvířat k projevu poruch učení a paměti (Bardgett et al., 2008).

Příkladem využití obou zmíněných strategií může být studie zkoumající mechanismus působení klonidinu, nescifického agonisty α_2 -adrenergních receptorů. Ukázalo se, že aplikace klonidinu před vyvoláním hypoglutamátergního stavu zabrání poškození způsobené hypofunkcí signalizace prostředkováné MK-801, avšak je neúčinný v případě tkáňové léze vyvolané aplikací excitotoxického množství NMDA (Bardgett et al., 2008).

Kyselina ibotenová rovněž nachází využití v testování potenciálních terapeutických strategií: jako příklad lze uvést nedávnou publikaci, jejíž autoi na tomto modelu zkoumali účinek transplantace lidských neurálních kmenových buněk z ichového laloku, geneticky upravených pro produkci

nervového rostového faktoru (neural growth factor, NGF), do hippocampu pokusných zvířat dříve podrobených excitotoxické indukci léze v této oblasti. Tento zákrok měl velice příznivý účinek na kognitivní poškození způsobené kyselinou ibotenovou, patrně v důsledku nahrazení odumřelých buněk a produkce NGF (Marei et al., 2014).

3.1.4 Diabetes mellitus 3. typu

3.1.4.1 Streptozotocinový model (stz)

Streptozotocin, toxická látka přidávaná se chemicky k nitrosoureám, je v klinické praxi využíván jako chemoterapeutikum v protinádorové léčbě. Ve výzkumu pak slouží k modelování diabetes mellitus; jednorázové parenterální podání vysoké dávky vyvolá u pokusného zvířete T1DM (znížením pankreatických β-buněk). Naproti tomu (parenterální) aplikace několika nižších dávek poškoďuje signalizaci na inzulínovém receptoru a vede tak k diabetu II. typu. *I.c.v.* injekce subdiabetogenního množství této látky působí u potkanů velmi podobné změny u pacientů s AD: poruchy kognice, cholinergního přenosu a metabolismu glukózy, jakož i oxidativní stres, gliózu, hyperfosforylaci tau proteinu, tvorbu amyloidních depozit a inzulínovou rezistenci. Mechanismus účinku streptozotocinu je založen na indukci tvorby oxidu dusnatého, a tak zároveň přímo vyvolává oxidativní stres prostřednictvím oxidu dusnatého (Salkovic-Petrisic & Knezovic, 2013).

V současné době se na poli výzkumu AD s netrasmgenými modely začíná nejvíce uplatňovat zejména ve farmakologických studiích testujících potenciální terapeutika. Příkladem publikace v této oblasti může být práce Salkovic-Petrisice et al. (2014): ve svém experimentu se pokusili pomocí kompenzovat nedostatek energetických zdrojů v mozku, způsobený poškozením transportéru pro glukózu (GLUT4), pomocí chronického orálního podávání D-galaktózy, její transport je zprostředkován jiným enzymem (glukózovým transportérem 3, GLUT3). D-galaktóza v tomto kontextu jeví se jako příznivě účinkující a zabránila vzniku kognitivního poškození. V této souvislosti je zajímavé, že chronické parenterální i subkutánní podávání D-galaktózy naopak způsobuje u zdravých jedinců neurodegenerativní změny a bývá proto používána pro modelování těchto chorob (C. F. Chen et al., 2006; Salkovic-Petrisic et al., 2014). Další příklady testovaných látek zahrnují agens ovlivňující aktivitu GSK3 β , jako například xanthin (Xu et al., 2014) a lithné ionty, fenserin, pioglitazon a memantin (Ponce-Lopez, Liy-Salmeron, Hong, & Meneses, 2011). Popsány byly také pozitivní účinky rostlinných substancí, mezi nimi například kofeinu, antagonisty adenosinových receptorů (Espinosa et al., 2013), a rostlinných polyfenolických látek obsažených v ovoci, jako například se silnými antioxidačními vlastnostmi (Islam et al., 2013; Mansouri et al., 2013). Mimo to byl na stz-potkanech zkoumán i význam adrenálních hormonů: Seyedreza et al. (2012) ve své studii zaznamenali výrazné zvýšení paměti u jedinců, jimž byla mimo injekce streptozotocinu provedena zároveň také testektomie. Injekcí nahrazování testosteronu u těchto jedinců plně vykompenzovalo kastrací vyvolané kognitivní poškození (Seyedreza, Alireza, & Seyedbrahim, 2012). Patologickým procesem v tomto modelu lze patrně rovněž zamezit pravidelnou lehkou fyzickou aktivitou (Rodrigues et al., 2010).

Podrobný byl dosavadní výzkum na tomto modelu popsán v nedávném review, viz (Salkovic-Petrisic & Knezovic, 2013).

3.1.5 Indukovaný zánět nervové tkáně

Tato strategie je založena na stimulaci imunitního systému při setkání s typickým antigenem obecně se vyskytujícím na povrchu patogenních částic: v tomto případě lipopolysacharidu (LPS), složky buněčné stěny gramnegativních bakterií. Jednorázová *i.p.* injekce této látky tak vyvolá akutní zánětlivou odpověď na periferii (François et al., 2014; Zhan et al., 2015), zatímco dlouhodobé podávání *i.p.* (François et al., 2014) i *i.v.t.* (Brothers et al., 2013; Hauss-Wegrzyniak, Dobrzanski, Stoehr, & Wenk, 1998) způsobí chronický zánět. První zmíněný postup byl uplatněn například v práci Zhana et al. (2015), v níž byla tato metoda zkombinována s indukcí lokální ischemie a hypoxie, což mělo za následek mj. narušení bílé mozkové hmoty a agregaci poškozeného myelinu do plaků podobných struktur, často doprovázených akumulací A β (Zhan et al., 2015).

Chronická *i.v.t.* infuze LPS byla využita v jedné z prvních studií zabývajících se charakteristikou změn vyvolaných tímto zákrokem. Autoři zde zaznamenali aktivaci astrocytů a mikroglie, zvýšenou expresi prozánětlivých cytokinů, ale i APP. Mimo to došlo k odumírání neuronů v hippocampu a poruchám paměti a učení (Hauss-Wegrzyniak et al., 1998). Brothers et al. (2013) využili stejný postup pro studium kompenzačních mechanismů při chronickému zánětu v mozkové tkáni mladých jedinců. Možlivý vliv zánětu se zdá být postupně utlumen zejména pomocí úpravy aktivity glutamatergního systému (a sice zvýšením clearance glutamátu z extracelulárních prostor), a tak oddaluje neurodegenerativní procesy. Je možné, že tyto mechanismy s postupujícím věkem ztrácejí na efektivitě, což má za následek vyšší citlivost mozkové tkáně starších jedinců při zánětu (Brothers et al., 2013).

3.1.6 Stresové modely

3.1.6.1 Chronický stres

Chronický stres vykazuje negativní působení v oblasti psychiatrických onemocnění, mj. i v AD. Mechanismus, jakým stres a jeho mediátory glukokortikoidy indukují kognitivní poruchy, zkoumali na potkanech kmene Wistar Sotiropoulos et al. (2011). Pokusná zvířata byla po dobu jednoho měsíce vystavena každodennímu nepředvídatelnému stresu prostřednictvím náhodně stídaných faktorů v podobě úplného prostoru, vibrující podlahy a injekce fyziologického roztoku. Výsledky behaviorálního testování (pomocí Morrisova vodního bludiště) a imunohistochemických analýz ukázaly zhoršení kognitivních schopností stresovaných potkanů, patrně zprostředkovaným hyperfosforylací tau proteinu. To koresponduje s výsledky jiných stresových studií, například (Cuadrado-Tejedor et al., 2011) viz oddíl 3.2.1.5. Vnější aplikace glukokortikoidů zvířatům, je-li předtím podstoupila infuze A β , způsobila obdobný efekt, tj. potencovala schopnost A β vyvolat zvýšenou fosforylací tau. Výraznější patologické změny byly nalezeny u zvířat (s infuzí A β), je-li dříve vystavena stresu. Autoři ze získaných poznatků vyvozují, že účinky chronického stresu se v organismu kumulují a kromě zhoršení již patologického stavu také jedince predisponují k jeho vzniku (Sotiropoulos et al., 2011).

Zmi ovaná studie v mnohém navazuje na experiment s obdobným designem, který uskutečnili o dva roky dříve Jiří Catani et al. (2009). Autoři této práce zde zjistili, že stres a glukokortikoidy zejména v hipokampální oblasti stimulují amyloidogenní způsob metabolisme APP a to i *ex post*. Stejný efekt na kognitivní schopnosti APP vykazuje i Aβ a úinky těchto dvou faktorů se sčítají. Výsledkem jsou pak poruchy kognitivních schopností (Catani et al., 2009).

3.1.6.2 Psychosociální stres

Tran et al. ve své práci z roku 2011 zkoumali úinky chronického psychosociálního stresu na model, který má predispozice pro rozvoj AD. Pomocí každodenní náhodné výměny dvou potkanů mezi jednotlivými kletkami simulovali dennodenní stresové situace v sociálních interakcích. Tato procedura trvala deset týdnů; během posledních dvou z nich byly u části pokusných zvířat prostřednictvím chronické infuze subpatogenního množství Aβ navozeny predispozice ke vzniku AD podobné patologie. Následné elektrofyziologické a imunohistochemické analýzy ukázaly výrazné oslabení asociovaných synapsí v oblasti hipokampu, zejména podobně zapříčiněnými změnami v hladinách neurotrofinu (brain derived neurotrophic factor, BDNF), BACE a působením glukokortikoidů. Autoři v této studii sice nezaznamenali zvýšené množství APP v žádné z pokusných skupin, což překládá charakteru použité metody vyvolání stresu a také využití šrizikového modelu AD, nicméně vzhledem k výraznému navýšení hladiny BACE u stresovaných jedinců, jimž byla infuzně podána subpatogenní dávka Aβ, předpokládají zvýšenou produkci Aβ. Zajímavým poznatkem bylo, že výrazné změny v množství BACE a BDNF byly pozorovány pouze při společném působení chronického psychosociálního stresu a Aβ predispozice, nikoli však při aplikaci jen jednoho z těchto faktorů. Autoři ze získaných výsledků usuzují, že chronický stres by mohl vykazovat negativní vliv na kognitivní schopnosti u jedinců náchylných ke vzniku AD patologií (Tran et al., 2011).

Obdobný postup použili také Alkadhi et al. (2010) při zkoumání úinků chronického podávání nikotinu na potkany vystavené chronickému psychosociálnímu stresu, infuzi patogenního množství Aβ, nebo jejich kombinaci. Ukázalo se, že současně působení chronického stresu a Aβ výrazně poškodilo dlouhodobou a prostorovou paměť, testovanou pomocí platformy vodního bludiště. Nikotin naproti tomu zlepšil výkon těchto jedinců na úrovni kontrolní skupiny (Alkadhi et al., 2010).

3.1.7 D-galaktózou zprostředkované zrychlené stárnutí

Ačkoli v nízkých koncentracích může D-galaktóza sloužit jako zdroj energie, v nadměrném množství však její metabolity vznikající v rámci alternativní metabolické dráhy (aldehydy, peroxid vodíku) způsobí oxidativní poškození. Chronické *i.p.* (Hua et al., 2007; Lei et al., 2008) i subkutánní (C. F. Chen et al., 2006) injekce tohoto sacharidu tak u pokusných zvířat vyvolávají zejména zvýšené hladiny volných radikálů (ROS) také degeneraci cholinergních neuronů a poruchy paměti a učení, a proto bývá tento model využíván pro výzkum patologických změn spojených se stárnutím (Lei et al., 2008). Poškození paměti by zde mohlo být alespoň částečně zprostředkováno apoptotickými změnami zprostředkovanými mitochondriální dysfunkcí vycházející z úbytku benzodiazepinových receptorů periferního typu na vnější membráně těchto organel (C. F. Chen et al., 2006). Mimo to se ukázalo, že

v prostředí chronického stresu dochází rovněž k poškození astrocytů, které tak ztrácejí nejen svou homeostatickou aktivitu, ale zároveň pak zvýšenou produkcí NO je také přispívají ke generování ROS. Astrocytární dysfunkce také vede k degeneraci polysynaptických tripartitních synapsí (Lei et al., 2008).

Hua et al. (2007) vytvořili model kombinující chronické podávání D-galaktózy s ovariectomií, sloužící k napodobení postmenopauzálního stavu organismu. Neurodegenerativní a kognitivní změny pozorované u takto ovariectomizovaných zvířat se ukázaly být podstatně výraznější než při vyfuřování jen jednoho z uvedených zákroků. Mimo to byla v hippocampu těchto potkanů nalezena intracelulární depozice A β a NFTs, k jejichž vzniku v důsledku samotné ovariectomie i D-galaktózy nedochází. Vliv a úloha estrogenů v pozorovaných procesech byly podpořeny zjištěním pozitivního vlivu dlouhodobého vnějšího doplnění 17 β -estradiolu (Barron, Cake, Verdile, & Martins, 2009).

3.1.8 Model bilaterální olfaktorické bulbektomie (OBX)

Vytvoření tohoto modelu spočívá v operativním odstranění olfaktorického laloku, což kromě ztráty olfaktického společenství i odumírání neuronů v místech, kam z této oblasti vedou aferentní dráhy, například v hippocampu, amygdale a mozkové kůře. Následkem toho takto operovaná zvířata vykazují abnormální chování, například zvýšenou pohybovou aktivitu, agresivitu, muricidní chování, poruchy spánkového cyklu, ale i poruchy prostorového učení a paměti, sníženou dlouhodobou potenciaci (long-term potentiation, LTP) a dokonce také akumulaci A β (Aleksandrova et al., 2004; Hozumi et al., 2003; Yamamoto, Jin, & Watanabe, 1997). Tato metoda bývá kromě potkanů používána i u myší, kde generuje stejná poškození a změny v chování (viz 3.2.6). U tohoto modelu je však třeba zdůraznit opatrnost při interpretaci výsledků s ohledem k traumatu způsobenému operací samotnou se mohou výsledky analýz výrazně lišit v závislosti na tom, srovnávají-li se zvířata po bulbektomii s neoperovanými, nebo s jedinci operovanými, avšak bez provedené bulbektomie (Slotkin & Seidler, 2006).

Nutno podotknout, že se primárně jedná o model pro výzkum deprese, resp. především testování potenciálních antidepresiv. Nicméně jelikož vykazuje i charakteristiky obdobné AD (poruchy paměti a učení, atp.), byl doporučen jako vhodný i pro studium tohoto onemocnění (Hozumi et al., 2003; Yamamoto et al., 1997). Ukázalo se, že poruchy prostorové paměti a učení jsou v tomto modelu patrně zapříčiněny degenerací cholinergního systému a excitotoxicitou způsobovanou NMDA receptory (Borre et al., 2012; Hozumi et al., 2003). Příkladem studie na OBX potkanech může být práce zabývající se vlivem memantinu, antagonisty NMDA receptorů, který se předepisuje pacientům s AD a občas také jako antidepresivum. Borre et al. (2012) pomocí tří behaviorálních testů (open field, passive avoidance a holeboard) ukázali, že chronické podávání memantinu zlepšilo kognitivní schopnosti (jak prostorovou paměť a učení, tak strachové podmínění), antidepresivní účinek však nebyl zaznamenán. Zmíněný pozitivní efekt se zároveň dostavil pouze, pokud podávání memantinu začalo ještě před operací (kdy jeho působení přetrvávalo i 3 týdny po ukončení terapie), nikoli však při první aplikaci až 2 týdny po operaci. To poukazuje na důležitost brzkého započetí terapie tímto lékem u pacientů s AD (Borre et al., 2012).

3.1.9 Spontánní model zrychleného stárnutí

Prostřednictvím selekce potkaní kmene Wistar kombinované s vlivem bohatou na galaktózu vznikla inbrední linie potkaní vykazujících časný nástup neurodegenerativních změn spojených se stárnutím, jež byla posléze nazvána šOXYS δ . Lze zde nalézt příznaky v kem podmíněné makulární degenerace (AMD), Parkinsonovy choroby, a dále také AD. Mezi nimi jsou mitochondriální dysfunkce, oxidativní stres, dysbalance v imunitním systému, ale i ztráty neuronů, tvorba NFTs a akumulace A β v oblastech hippocampu a cerebrálního kortexu, jakof i poruchy kognitivní, zejména v ukládání paměťových stop. Nižší výkonnost v behaviorálních testech (oproti kontrolním jedincům kmene Wistar) ve vyšetřování v ku patří souvisí i se zhoršující se retinopatií, o potkani mají s postupující slepotou potíže s pohybem a prozkoumáváním prostoru a je tak pro ně těžší získat a zapamatovat si nové informace.

Výzkum molekulárních, biochemických a strukturálních změn v mozcích těchto zvířat sice dosud neodhalil prvotní příčinu vzniku zmínovaných patologií, nicméně ukázal, že vznik amyloidních plaků nastává až po manifestaci ostatních symptomů, včetně těchto behaviorálních. Autoptické studie usuzují, že základem AD podobné patologie by u tohoto modelu mohla být dysfunkce mitochondrií a nerovnováha v imunitním systému, a navrhuji tento model jako vhodný pro další výzkum v této oblasti (Stefanova et al., 2014).

3.1.10 Indukce neurodegenerace kolchicinem

Tato metoda je založena na *i.c.v.* podání kolchicinu, tzv. švédského jedu, které u pokusných zvířat způsobí podobné patologické změny podobné některým znakům AD. Kofolivý účinek této látky je založen na destrukci buněčného cytoskeletu: kolchicin se váže na molekuly tubulinu a brání tak jejich polymeraci. Důsledkem je rozsáhlá neurodegenerace spojená s poklesem hladiny ChAT a AChE, kognitivními poruchami a oxidativním stresem. Zde se nabízí zajímavé srovnání mechanismu působení se streptozotocinem, o zatímco ten indukuje oxidativní poškození narušením metabolismu glukózy, v případě kolchicinu se tak patrně jedná o prostřednictvím zvýšení hladiny glutamátu a NO. Mimo zmínovaných účinků se u potkaní po *i.c.v.* aplikaci kolchicinu objevují i další změny, jako například podrážděnost, agresivita, zvýšená ležavost, nechutenství, atd. A kolí je tento model poměrně náročný na čas a množství pokusných zvířat, byl doporučen jako vhodný pro výzkum patogeneze AD a testování potenciálních terapeutik (A. Kumar et al., 2007; Veerendra Kumar & Gupta, 2002).

Příkladem studie využíající této metody může být práce Mohameda et al. (2014), v níž byly popsány příznivé účinky podávání aktivní formy vitamínu D₃. Ukázalo se, že tato látka, mimo všeobecně známého vlivu na homeostázu vápníku, vykazuje neuroprotektivní vlastnosti spojené se zvýšením množství neurotrofinů, efektivnější eliminací A β a snížením oxidativního stresu, což se navenek projevilo lepšími výsledky těchto potkaní v kognitivních testech (Mohamed, Soliman, Ismail, & Mannaa, 2014). Pozitivní terapeutické působení na tomto modelu bylo rovněž popsáno i u rivastigminu, inhibitoru AChE (A. Kumar et al., 2007).

3.2 Myš-laboartorní (*Mus musculus var. alba*)

Myš-domácí bezesporu patří mezi nejastji používané modelové organismy a výzkum AD není v tomto směru výjimkou. A kolik zde s absolutní převahou dominují transgenní kmeny vykazující abnormální expresi proteinů zahrnutých v patogenezi AD, řada studií využívá i netransgenní způsob modelování. Většina z těchto postupů je analogických s aplikováním na potkany.

Vyšší frekvence používání potkanů pro netransgenní modelování patrně spočívá ve vyšší efektivitě použití behaviorálních testů, zatímco hlavní výhodou myš-laboartorního modelování organismů spočívá zejména ve snadné genetické manipulaci (Lecanu & Papadopoulos, 2013).

3.2.1 Metody společné s potkaními modely

3.2.1.1 Intraperitoneální aplikace fragmentů amyloidu

Metoda intraperitoneálního podání A β do hippocampu nachází uplatnění i u myš-laboartorního modelu. Jako příklad lze uvést studii Huha et al. (2014), v níž byl popsán neuroprotektivní účinek toulňáka srdčitého (*Houttuynia cordata*), rostliny užívané v tradiční čínské medicíně (Huh et al., 2014).

3.2.1.2 Poškození cholinergního systému

Model založený na poškození cholinergního systému prostřednictvím skopolaminu, neselektivního antagonisty muskarinových receptorů, se kromě potkanů často používá i u myš-laboartorního modelu. Příkladem nedávné publikace uplatňující tuto metodu může být studie Huha et al. (2014) popisující neuroprotektivní a pozitivní cholinergní působení toulňáka srdčitého (*Houttuynia cordata*), která v nejvyšší podané koncentraci zlepšila výsledky v kognitivních testech skopolaminem ošetřených myš-laboartorních zvířat (Huh et al., 2014).

U myš-laboartorního modelu lze použít i metodu vytvoření léze pomocí intraperitoneálního podání excitotoxického množství NMDA do příslušně zvolené oblasti v mozku. Poprvé tento postup na myš-laboartorním modelu aplikovali Dolga et al. (2009) ve své práci zkoumající účinky lovastatinu, látky ze skupiny léků obvykle předepisovaných za účelem snížení hladiny cholesterolu, jenž se zde ukázal jako efektivní neuroprotektant před excitotoxickým poškozením v oblasti nucleus basalis magnocellularis (Dolga et al., 2009).

3.2.1.3 Streptozotocinový model

In vivo podání streptozotocinu bylo se stejným výsledným účinkem jako u potkanů aplikováno i na myš-laboartorního model. Pinton et al. (2011) takto pomocí vyvíjeného křížového bludiště a diskriminačního testu svislostí demonstrovali anxiogenní účinek tohoto agens (Pinton, da Rocha, Gai, & Nogueira, 2011). Objevily se také studie porovnávající tento model s často používaným transgenním, tzv. 3xTg-AD myš-laboartorním, která exprimuje mutantní varianty lidských genů pro APP, PSEN-1 a tau. Srovnávány byly jak na základě genové exprese proteinů s úlohou v AD (Y. Chen et al., 2012), tak dle histologických nálezů a dosahovaných výsledků v behaviorálních testech (Y. Chen et al., 2013). Zatímco míra kognitivního poškození se ukázala být u obou modelů obdobná, zkoumané patologické události v mozkové tkáni se lišily. V obou případech byly nalezeny změny v synaptických proteinech a v inzulinové a IGF signalizaci, a dále také zánět nervové tkáně a zvýšené množství hyperfosforylovaného tau. V posledních dvou polovkách se však objevily rozdíly: u 3xTg-AD byl nejmarkantněji nárůst hyperfosforylovaného

tau (cofi je patrn d sledkem nadprodukce tau jako takového vlivem mutantního genu, jelikofi pom r hyperfosforylovaného a normálního tau byl stejný jako u kontrolních my-í), kdefto u stz-my-í dominovaly zán tlivé procesy v etn aktivace astrocyt a mikroglíí. A koli nár st v hyperfosforylovaném tau nebyl oproti 3xTg-AD modelu tak výrazný, do-lo zde v-ak k posunu pom ru sm rem hyperfosforylované form (Y. Chen et al., 2013).

3.2.1.4 Indukce zán tu nervové tkán

P íkladem studie uplat ující indukci akutního i chronického zán tu pomocí *i.p.* injekce LPS pro modelování kognitivního po-kození m fle být práce zkoumající vzájemný vliv mezi zán tem, resp. p edev-ím IL-1 , a autofágií. Zatímco vysoké hladiny IL-1 p i akutním zán tu p sobily na autofág ní procesy inhibi n , tento ú inek nebyl tak markantní p i nífl-ím mnofstvím IL-1 p ítomném p i chronickém zán tu, kdy naopak dokonce bylo pozorováno zvý-ení jednoho z marker autofág níh proces (Franois et al., 2014).

3.2.1.5 Model mírného chronického stresu

V t-ina experiment zkoumajících moflné ú inky mírného chronického stresu na patogenezi AD, obvykle uplat ovaného pro modelování deprese, byla dosud provád na na transgenních my-ích modelech AD. Nedávno se v-ak objevila studie, jejífi auto i vyuffili samice st edního v ku wild-type (WT) my-í (kmen C57BL/6). Dva m síce trvající kařdodenní stres (nap . ve form naru-ování režimu sv tlo-tma, zvukových stimul , zm n prost edí uvnit í vn klece, zabrán ní p ístupu k potrav a vod , atd.) zp sobil poruchy pam tí a orientace, hodnocené v Morrisov vodním bludi-ti. Následné imunohistochemické analýzy ukázaly moflnou p í inu této zm ny v podob hyperfosforylovaného tau proteinu prost edictvím cdk5. Mimo to bylo u stresovaných my-í zvý-eno také ne-amyloidogenní -t pení APP, které bylo navrženo jako dal-í z moflných p í in p íspívajících k poruchám kognitivních schopností. Auto i této studie vyvozují, fle mírný kařdodenní chronický stres by mohl p edstavovat jeden z rizikových faktor pro vznik sAD a navrhují tento zp sob modelování jako vhodný pro výzkum této choroby (Cuadrado-Tejedor et al., 2011).

3.2.1.6 D-galaktózou zprost edkované zrychlené stárnutí

Subkutánní podání roztoku D-galaktózy je pom rn ásto uffiváným zp sobem vyvolání p íznak spojených se stárnutím. Nadm rné mnofství tohoto redukujícího cukru a jeho metabolit zp sobuje oxidativní stres a jeho prost ednictvím také poruchy prostorového u ení a pam tí. Tento model bývá ásto pouffiván pro farmakologické studie: p íkladem m fle být práce Kumara et al. (2010) zabývající se moflnými terapeutickými ú inky naringinu, flavonoidu obsařeného v citrusových plodech, jenfi vykazuje dobré antioxida ní ú inky a pomáhá vychytávat volné radikály. Zatímco D-galaktóza u pokusných zví at zp sobila poruchy v prostorové pam tí a u ení, sníffila jejich pohybovou aktivitu⁵ a na molekulární úrovni zvý-ila oxidativní stres (projevující se redukcí mnofství glutathionu, katalázy,

⁵ Práv zejména v dopadu na lokomotorickou aktivitu se tento model li-í nap . od streptozotocinového, kde pohybové schopnosti nejsou ovlivn ny; pokusná zví ata vykazují spí-e vy-í (exploratorní) aktivitu v testech zam ených na úzkost (Y. Chen et al., 2013).

superoxid dismutázy a také výraznou peroxidací lipid), chronické –estitýdenní orální podávání naringinu tyto úinky úspěšně zvrátilo (A. Kumar, Prakash, & Dogra, 2010).

Úinky D-galaktózy se podrobněji zabývali například Wang et al. (2009), kteří ve své studii ukázali rozdílné ovlivnění prostorových a neprostorových kognitivních schopností. Poškození prostorové paměti a učení se zde potvrdilo, avšak v kognitivních funkcích nesouvisejících s prostorem se neprojevila žádná změna. Tyto výsledky autoři atribuuje vyšší citlivosti hippocampu v důležitých ztrátám a zvýšenému oxidativnímu stresu (W. Wang, Li, Dong, Lv, & Tang, 2009). Další práce s úelem bližší specifikace tohoto modelu byla například studie zkoumající závislost úinky na dávce D-galaktózy. Z výsledků testů paměti a pohybové aktivity vyplývá, že podání této látky vykazuje závislost na podané dávce v intervalu od 50 do 100 mg/kg, jakékoli vyšší množství již patologický efekt nepodporuje (Wei et al., 2005).

Zajímavé je srovnání tohoto modelu s prací Salkovic-Petrisice et al. (2014), v níž dlouhodobé orální podávání D-galaktózy vykazovalo naopak pozitivní efekt na AD podobné patologické změny vyvolané *i.c.v.* aplikací streptozotocinu (Salkovic-Petrisic et al., 2014).

3.2.1.7 Model bilaterální olfaktorické bulbektomie (OBX)

Pro výzkum kognitivních i nekognitivních poruch metodou odsátí v určité části olfaktorického bulbu jsou kromě potkanů používány i myši. Jelikož behaviorální změny, které tento model vykazuje (jako například poškození paměti a učení, agresivní a muricidní chování, deprese, atd.) nejsou závislé na věku a jejich nástup je postupný (asi 1-2 týdny po operaci), patří tato změna k poměrně lehkým v porušení nervových spojení olfaktorického laloku s příslušnými oblastmi mozku (Han, Shioda, Moriguchi, Qin, & Fukunaga, 2008; Hozumi et al., 2003; Nakagawasai et al., 2003).

Ukázalo se, že poškození paměťových schopností je zapříčineno narušením cholinergního systému v hippocampu, mozkové kůře a amygdale, což je dočasně skutečné, že podání látek s pozitivním cholinergním účinkem (například fyzostigminu, inhibitoru acetylcholin esterázy, i oxotremorinu, agonisty M1 muskarinových receptorů) patologický stav zlepšilo (Hozumi et al., 2003). Pozitivní působení vykazuje také například somatostatin, stimulující dlouhodobou potenciaci (LTP) (Nakagawasai et al., 2003), nebo některé sloučeniny vanadu, napodobující inzulin (Han et al., 2008). Mimo to by v poškození LTP v OBX myši mohla prostřednictvím snížení aktivity protein kinázy C (PKC) a Kalcium/kalmodulin-dependentní protein kinázy II (CaMKII) hrát roli i hypofunkce NMDA receptorů (Moriguchi, Han, Nakagawasai, Tadano, & Fukunaga, 2006).

Relevance OBX myši jako modelu pro AD je také významně podpořena nálezem abnormálního množství A β 6 týdnů po operaci, a to zejména v oblasti hippocampu a kortexu. Hladiny A β zde dosahovaly hodnot pozorovaných u transgenních myši v pozdní fázi tvorby amyloidních plaků. Zvýšená produkce A β pravděpodobně byla vyvolána traumatem mozkové tkáně, rezultující z odstranění olfaktorického bulbu (Aleksandrova et al., 2004). Pro všechny tyto vlastnosti tak bývá tento model hodnocen jako velmi vhodný pro výzkum AD (Hozumi et al., 2003; Nakagawasai et al., 2003).

3.2.2 Polyribonoinosin-polyribocytidylový (PolyI:C) model

Takzvaný PolyI:C myš model představuje unikátní způsob generování AD podobných patologií založený na hypotéze vlivu vnějšího prostředí a zánětlivých procesů na vznik této choroby. Spočívá v *i.v.* injekčním podání virus imitujícího agens: polyribonoinosin-polyribocytidylové kyseliny (PolyI:C), WT myším matkám v pozdním stadiu gravidity. PolyI:C spustí imunitní odpověď, jež posléze u potomků vede k zvýšení náchylnosti k neurodegenerativním procesům. Ukázalo se, že opožděná aktivace imunitního systému stejnou látkou v dospělosti patologické změny výrazně zhoršuje. Prenatální injekce PolyI:C 3xTg-AD myším pak způsobilo znaky neurodegenerace téměř identické těm pozorovaným v mozcích lidských AD-pacientů.

Tento model významně podporuje návrh, že by za spuštění prvních událostí v rozvoji AD mohl stát stav chronického zánětu a systémové infekce vedoucí k deregulaci imunitních procesů v mozku a následně k poškození neuronů, akumulaci amyloidu a hyperfosforylaci tau (Krstic et al., 2012).

3.2.3 Model zrychleného stárnutí: Senescence accelerated mouse prone 8 (SAMP8)

V 70. letech minulého století byla selektivním inbreedingem z kmene AKR/J získány 2 linie myši: obvyklým způsobem stárnoucí, tzv. senescence-accelerated resistant (SAMR), a zrychleně stárnoucí linie, tzv. senescence-accelerated prone, u níž se začínají objevovat změny spojené se stárnutím již od raného věku; přeměnou se tyto myši dožívají jen 9-10 měsíců. SAMP se dále dělí na 12 sublinií, z nichž každá je typická jinými příznaky stárnutí (Butterfield & Poon, 2005). Jedna z těchto sublinií, označovaná zkratkou SAMP8, vykazuje mj. mnohé charakteristiky přítomné u AD, včetně hromadění A β , hyperfosforylace tau, zvýšeného oxidačního stresu, gliózy a odumírání neuronů a v neposlední řadě také poruchy prostorového učení a paměti (Cheng et al., 2014).

U tohoto modelu byl mj. podrobně zkoumán možný kauzální vztah mezi množstvím APP a A β a zhoršením kognitivních schopností a v této práci se zdá být v souladu s amyloidní hypotézou. Morley et al. (2000) pozorovali nárůst množství APP a A β s postupujícím věkem, jenž pozitivně koreloval se zhoršeným výkonem v behaviorálních testech zaměřených na prostorovou paměť a učení. Příinná souvislost mezi těmito jevy byla potvrzena pokusem, v němž podání protilátky proti A β paměťové schopnosti opět zlepšilo. β -amyloidní plaky se však začaly objevovat až po kognitivním poškození. Autoi tedy dospěli k závěru, že plaky jsou až sekundárním důsledkem nadprodukce A β a škodlivé působení na paměť a učení je zprostředkováno rozpustným A β (Morley et al., 2000). Kumar et al. (2000) potvrdili tuto zjištěnou a přičinili s další možnou příčinou zlepšení kognitivního poškození jež nastává v rané fázi amyloidní patogeneze, a sice prostřednictvím *i.c.v.* podání antisense oligonukleotidu proti A β úseku. Tím bylo dosaženo snížení množství amyloidu v mozku a tedy snížení jeho negativních účinků na učení a paměť (V. B. Kumar et al., 2000). Tento postup byl později použit v mnoha dalších studiích na tomto modelu, například (Poon et al., 2004, 2005).

Další možnou příčinou poruch prostorové paměti a učení u SAMP8 by mohla představovat ztráta cholinergních neuronů zejména oblasti hippocampu, jak ukázali Cheng et al. (2013), by charakter

pozorovaného úbytku buněk nebyl analogický tomu nalézanému u pacientů s AD (Li et al., 2013). Zajímavou práci poukazující na důležitost volby behaviorálního testu pro posuzování kognitivních schopností publikovali Chen et al. (2004), v níž srovnávali výsledky získané v Morrissově vodním bludišti (MWM) a v Y-mazovém vodním bludišti (RAWM). Ukázalo se, že zatímco první známky poruchy u myši jsou u SAMP8 myši v MWM sledovatelné ve 4 měsících věku, v RAWM naproti tomu vykazují ve stáří 3 měsíců. Autoři ze získaných dat usoudili, že MWM a RAWM každé měří jiný aspekt prostorové paměti a u myši a že RAWM by v tomto případě mohlo být efektivnějším nástrojem (G. H. Chen, Wang, Wang, & Zhou, 2004).

SAMP8 myš je obecně považována za velice dobrý komplexní model pro sAD (někdy dokonce označována jako nejlepší murinní model), vhodný jak pro výzkum mechanismů vzniku tohoto onemocnění, tak možných terapeutik (Cheng et al., 2014). Specifické vlastnosti a dosavadní výzkum na tomto myši je detailně sepsán v Chengově review z loňského roku: (Cheng et al., 2014).

3.3 Další modelová zvířata

3.3.1 Pes domácí (*Canis lupus familiaris*)

Psi patří mezi tzv. přirozené modely neurodegenerativních onemocnění: s postupujícím věkem u nich dochází vyjma behaviorálních změn rovněž ke spontánní akumulaci A β (avšak pouze do difúzních shluků, dále nepřecházejících do podoby senilních plaků), jehož aminokyselinová sekvence je totožná s lidskou. Dále se také objevuje hyperfosforylace tau proteinu, NFTs ale nevznikají. Mimo to byla také popsána synaptická a oxidativní poškození a ztráty neuronů (Cotman & Head, 2008). Ve veterinární medicíně je dokonce znám syndrom kognitivní dysfunkce, jehož vnější projevy se podobají AD (např. poruchy pozornosti, orientace, spánkového cyklu, atd.). Obecně tak stačí psi představit vhodné modely různých stádií AD (Cotman & Head, 2008; B. J. Cummings, Head, Ruehl, Milgram, & Cotman, 1996). V experimentální praxi se lze setkat jak s použitím laboratorně vyšlechtěného plemene beagle (Araujo, Nobrega, Raymond, & Milgram, 2011; B. J. Cummings, Head, Afagh, Milgram, & Cotman, 1996), tak i jiných ras a také kříženců (B. J. Cummings, Head, Afagh, et al., 1996; Neus Bosch et al., 2014). Podrobnou charakteristiku psi jako model chorob spojených se stárnutím lze nalézt např. v review Cotmana a Heada z roku 2008 (Cotman & Head, 2008).

Zejména v minulém století se mnoho výzkumu na psech soustředilo hlavně na β -amyloidy: poprvé zde byla demonstrována možná souvislost shlukování A β s kognitivními poruchami v podobě pozitivní korelace mezi množstvím agregovaných amyloidů a závažností behaviorálních příznaků za soustředěné absence NFTs (B. J. Cummings, Head, Afagh, et al., 1996). Jiná práce ukázala, že hlavní složkou difúzních plaků v mozkové tkáni starších psů je A $_{42}$, zatímco A $_{40}$ se zde nenachází, což se ukládá spíše v okolí cév a neuritických výběžků (B. Cummings, 1996). Z novějších publikací na toto téma lze uvést např. studii Bosche et al. (2014), v níž testovali mechanismus účinku své nové vakcíny proti A β , která v předchozích pokusech vykazovala pozitivní vliv na zhoršené kognitivní kapacity starších psů. Pomocí imunohistochemických metod se ukázalo, že navržená imunoterapie působí

zmenění difúzních amyloidních plaků, jež se zároveň stávají kompaktnějšími. Mimo to došlo ke snížení astrocytární nadprodukce prozánčlivého cytokinu S100B (Neus Bosch et al., 2014).

V posledních letech se výzkum na psím modelu zaměřil i na poruchy cholinergního systému. Araujo et al. (2011) popsali u starších psů zvýšenou citlivost vůči skopolaminu (antagonistovi muskarinových receptorů), projevující se výrazně zhoršeným výkonem v behaviorálním testu pracovní paměti. Analýza mozkové tkáně starých psů ukázala snížený počet muskarinových cholinergních receptorů. Je tedy možné, že poškození cholinergního systému by mohlo u psů alespoň částečně napomáhat ke kognitivním poruchám spojeným s postupujícím věkem (Araujo et al., 2011). Píší model se tak zdá být vhodný pro výzkum vzájemných kauzálních souvislostí mezi amyloidním a cholinergním poškozením. Lze zde také nalézt podporu pro cholinergní hypotézu vzniku AD (Araujo, Studzinski, & Milgram, 2005).

3.3.2 Primáti (*Macaca mulatta*, *Macaca fascicularis*, *Saimiri sciureus*, *Papio sp.*, *Microcebus murinus*)

U primátů coby modelových organismů se vyzdvihuje zejména jejich oproti jiným živočichům relativně blízká příbuznost člověku. To v tomto případě zahrnuje absolutní homologii v sekvenci A a spontánní vznik Alzheimerových chorob podobným patologiím u starých jedinců (Bons, Rieger, Prudhomme, Fisher, & Krause, 2006; Podlisny, Tolan, & Selkoe, 1991).

Na primátním modelu lze mj. studovat vliv složené vnější prostředí na pozdní vývoj neurodegenerativních změn, jak ukázala práce Bihaqiho et al. (2013) zabývající se dlouhodobými následky vystavení olovu v raném věku, jehož kontaminace v prostředí vzhledem k jeho neurotoxicitě představuje významné nebezpečí. Při samicím makaka jávského (*Macaca fascicularis*) byl po prvních 400 dnech života denně podáván acetát olovnatý per os v kojenecké dávce, 4 samice sloužící jako kontroly dostávaly pouze kojeneckou stravu. Po 23 letech byly opice usmrceny a jejich orgány byly posléze vyuffity pro výzkum. V rámci biochemických analýz bylo zjištěno výrazně zvýšené množství tau proteinu. V kombinaci s výsledky z předcházející studie, jež ukázaly na přítomnost amyloidózy (Wu et al., 2008), autoi označují tento model za první, který ilustruje environmentální vliv způsobující zásadní epigenetické změny v raném věku, jež se později manifestují ve stáří jako patologie obdobná AD (Bihaqi & Zawia, 2013).

Spíše jako doplňující model by mohli sloužit staří jedinci kotula veverovitého (*Saimiri sciureus*), drobné opice původem z Jižní Ameriky. Obvykle se používá pro výzkum cerebrální amyloidní angiopatie (CAA), která se u nich ve vyšším věku objevuje zcela přirozeně, avšak studie na něm provedené mohou být relevantní i k AD (Mackic et al., 2002).

Jako vhodný model pro výzkum zejména mikrovaskulárních patologií v rámci AD byli navrženi také staří pavíani (*Papio hamadryas*, *P. cynocephalus* a *P. anubis*). Ve vzorcích jejich mozkové tkáně byly nalezeny shluky A₄₀ i A₄₂ (s mírnou prevalencí 42aminokyselinového fragmentu) korelující s obdobnými změnami nalezenými u ostatních zkoumaných druhů primátů. Naopak na rozdíl od nich se

v-ak u pavíán objevily také NFTs. Rovněž se také ukázalo, že jejich genová sekvence pro APP vykazuje homologii s lidskou (Ndungu et al., 2012).

Dalším druhem z řádu primátů, u něhož se se stoupajícím věkem objevují patologické změny velmi blízké připomínající AD je makraka trpasličí (*Microcebus murinus*). Tento lemur, pocházející z Madagaskaru a dožívající se v zajetí 8-14 let (tj. dvakrát více než v přírodě; známky stárnutí jsou tak pozorovatelné již od cca 5 let věku), je charakteristický výraznou fotoperiodicitou, která má na jeho stárnutí silný vliv nejen skutečně uplynulé roky: zkrácení světelného režimu v laboratorních podmínkách tedy urychlí stárnutí těchto zvířat. Zatímco v přírodě jedinci s příbývajícím věkem vykazují pouze fyziologické známky stárnutí, asi u 20 % se objevují patologické změny velice podobné AD u člověka, a to jak na úrovni histologické (v podobě tvorby β -amyloidních plaků, shlukování tau proteinu do klubek, atp.), tak behaviorální, kde jsou typickými projevy poruchy paměti a učení, ale také sociální izolace, agresivity, narušené jsou i cirkadiální rytmy (Bons et al., 2006). Makraki byli například prvními modelovými primáty, na nichž byla demonstrována indukce poruchy prostorové paměti prostřednictvím spánkové deprivace. Negativně bylo ovlivněno však jen vyvolání paměťové stopy, nikoli učení samotné (Rahman et al., 2013). Dalším příkladem může být nedávná studie, v níž byly analyzovány rozdíly v množství plasmatického A β , jednoho z biomarkerů AD, u různých věkových kategorií těchto zvířat. Ačkoli vysoké i nízké hladiny byly nalezeny jak u mladých, tak u starších jedinců, počet starších makraki se zvýšeným množstvím A β v cerebrospinální tekutině byl proporcionalitativně vyšší. Zároveň se podíl A β v plasmě ukázal být nepřímo úměrný výšce hladiny intracelulárně uloženého A β (Roy et al., 2015).

3.3.3 Králík domácí (*Oryctolagus cuniculus f. domesticus*)

V souvislosti s vlivem hladiny cholesterolu na patogenezi AD byl navržen model králíků podrobených vysokocholesterové (2%) dietě. Mozky těchto zvířat vykazují po 12 týdnech akumulaci A β tvořícího plaky, zvýšenou hladinu fosforylovaného tau proteinu a také známky oxidativního stresu. Právě na tomto modelu byl poprvé objeven první náznak vzájemné souvislosti mezi vysokou hladinou cholesterolu a tvorbou A β plaků (Jaya Prasanthi et al., 2008; Sparks et al., 1994). Králíci jsou fylogeneticky blízcí člověku než hlodavci; jejich sekvence A β je podobná té lidské a na rozdíl od myší je tento polypeptid schopen vytvářet plaky obdobné těm u pacientů s AD (Marwarha, Dasari, Prasanthi, Schommer, & Ghribi, 2010).

Výzkumy na tomto modelu zahrnovaly studium pozitivního vlivu na typické příznaky AD u různých agens, například leptinu (Marwarha et al., 2010) i kofeinu (Prasanthi et al., 2010). Marwarha et al. (2010) svou studii postavili na organotypických křížích mozkové tkáně králíků krměných (1) obvyklou stravou a (2) stravou s vysokým obsahem cholesterolu. Mozkové křížky pak byly inkubovány s 27-OHC a/nebo leptinem, jejichž vzájemný vliv pak byl testován biochemicky. Jak autoři sami připouštějí, při tomto postupu se narozdíl od *in vivo* metod anulují nutnost překonání hematoencefalické bariéry, nicméně hlavním úkolem studie bylo otestovat interakce zmíněných látek v mozkové tkáni. Autoři dále mj. navrhuji možný způsob ovlivnění hladiny cholesterolu v mozku

prostřednictvím oxysterolů (tj. oxidovaných metabolitů cholesterolu), které rozdíl od svého prekurzoru mohou přestupovat přes hematoencefalickou bariéru v mozku (Marwarha et al., 2010). Studie Prasanthi et al. (2010) o kofeinu zase ukazuje, že tato substance reguluje fosforylaci tau proteinu (Prasanthi et al., 2010). V obou výzkumech autoři použili dospělé samce novozélandského bílého králíka ve věku 1,5-2 roky. Hypercholesterémie a oxidativní stres jsou spolu navzájem velmi úzce provázané a jelikož se objevil návrh, že oxidativní stres by mohl představovat marker stádia mírného kognitivního poškození u AD, nabízí se tento model jako vhodný pro studium této fáze onemocnění (Bermejo et al., 2008).

Další možný způsob vyvolání patologických změn v mozku podobných AD testovali Ramesh et al. (2011), kteří již starší králíky (ve věku 4 let) podrobili chronické intracisternální infuzi A₁₋₄₂, jež vyvolala v mozcích pokusných zvířat strukturní změny velmi obdobné těm nalézaným u pacientů s AD, jako například rozšíření mozkových komor, ztráty neuronů v oblastech hippocampu a frontálního laloku, atd. (Ramesh, Raichurkar, Shamasundar, Rao, & Rao, 2011).

Roher et al. (2000) na králíkům modelu testovali, zda by vznik vaskulárních shluků amyloidu mohl být způsoben mj. cholinergní denervací. Ta byla vyvolána u šesti měsíců starých novozélandských bílých králíků prostřednictvím unilaterální intracerebroventrikulární aplikace IgG-saporinu, tedy molekuly vzniklé připojením toxického saporinu na monoklonální protilátku proti neurotrofickému receptoru p75 (Roher et al., 2000). Tuto metodu poprvé navrhl Wiley ve své práci „Immunolesioning: selective destruction of neurons using immunotoxin to rat NGF receptor“ v roce 1991 na potkaních (Sabbagh et al., 2013). Roher et al. ve své studii s tímto modelem poprvé prokázali, že odstranění cholinergních neuronů z nucleus basalis magnocellularis (které odpovídá nucleus basalis Meynerti v lidském mozku) způsobuje vznik amyloidních plaků kolem cév a v oblasti pia limitans. (Mozky testovaných králíků obsahovaly až 8x více A₄₂.) Autoři diskutují, že produkce v takovém množství A₄₂ a jeho ukládání v oblasti cév by mohla být vyvolána jednak zhoršenou vasomotorikou, a rovněž změnou aktivitou muskarinových receptorů. Mimoto zde také dochází k porušení integrity hematoencefalické bariéry. Roher et al. navrhuje tento model jako vhodný k testování terapeutických protilátek proti A₄₂ (Roher et al., 2000).

3.3.4 Mor e domácí (*Cavia aperea f. porcellus*)

Mor e vykazující typické znaky AD jako důsledek vysokocholesterolové výživy bylo navrženo jako alternativní varianta potkana či myši. Jeho výhodou oproti těmto běžnějším druhům spoívá především v sekvenci A₄₂ peptidu, která je shodná s lidskou a přirozeně tedy (na rozdíl od myšičí varianty) dokáže vytvářet plaky obdobné těm nalézaným u pacientů s AD. Dále se rovněž ukazuje, že PS2V, isoforma PSEN2 donedávna pokládána výhradně za lidskou, se ve zvýšené míře vytváří i v mozcích morčat vystavených hypoxii a dietám s vysokým obsahem cholesterolu. Morčí gen pro tau protein navíc na rozdíl od potkaních a myšičích kóduje jak isoformu s 4 kópiemi, tak i tu se čtyřmi vazebnými místy pro mikrotubuly, jejichž poměr je ovlivněn hladinou cholesterolu. Nicméně přítomnost NFTs nebyla dosud zaznamenána (Sharman et al., 2013).

Zdá se, že mor e by mohlo p edstavovat pom rn vhodný model pro výzkum zam ůjící se na vliv cholesterolu v AD. Toto podporuje i skute nost, že jde o jediné modelové drobné zví e, jehož metabolismus cholesterolu a lipoprotein ů blízce p ipomíná ten lidský (Sharman et al., 2013).

3.3.5 Osmák degu (*Octodon degus*)

Osmák degu, diurnální sociáln ůijící hlodavec p vodem z Chile, se v sou asné dob ůkazuje díky velké podobnosti ůady fyziologických proces ů s lov kem jako velmi vhodný model pro výzkum v ad ů od v tví, nap . v chronobiologii, sociálních neurov dách, metabolismu, oftalmologických studiích, T2DM a v neposlední ad i v neurodegenerativních onemocn ěních, zejména AD (Tarragon et al., 2013). Aů donedávna se m lo za to, že u hlodavc ů se -amyloidní plaky a neurofibrilární klubka spontánn ů neobjevují, a proto je pro výzkum v této oblasti nutná genetická manipulace i operativní indukce jejich vzniku. Inestrosa et al. (2005) ov- em našli v mozkové tkáni stárnoucích jedinc ů osmáka degu jak agregovaný A β , tak klubka ubiquitinylovaného hyperfosforylovaného tau proteinu a dokonce také gliózu. Rovn ůl byly v kortikální oblasti objeveny cholinergní neurony podobné lidským, které bývají v AD ůsto výrazn ů postifeny, není v- ak dosud jasné, zda k n ěmu obdobnému dochází i u osmák ů. Pravd podobný d vod, pro ů u tohoto zví ete narozdíl od ostatních hlodavc ů dochází k tvorb ů senilních plak ů, spo ívá v sekvenci A β : od lidského A β se odli- uje jen v jedné aminokyselin ě, zatímco my- i a potkani se od ůlov ka li- í ve t ech aminokyselinách. Osmáci se v zjetí doůívají pr m rn 10 let, známky neurodegenerace lze v- ak pozorovat jůl po 3. roce ůivota (Inestrosa et al., 2005).

Ardiles et al. (2012) pak na tomto modelu ukázali po- kození synapsí prost ednictvím A β , a to zejména vlivem inhibice transportu AMPA receptor ů na povrch postsynaptické membrány. Mimo to auto i provedli i behaviorální testování prostorové pam ěti v podob ě T-bludi- t a pam ěti v testu rozpoznávání objektu (object recognition test). Oproti mladým jedinc ů m vykazovali osmáci ve vy- ím v ku zhor- ený výkon, korelující s depozity rozpustného A β a mnoůstvím hyperfosforylovaného tau. Nutno podotknout, že u potkan ů se obdobné zm ny s nar stajícím v kem spontánn ů nevyskytují (Ardiles et al., 2012).

Nález y obou uvedených studií jsou v souhlasu s amyloidní hypotézou vzniku AD (Ardiles et al., 2012; Inestrosa et al., 2005). Vzhledem k spontánnímu vzniku ůiroké -kály patologií podobných lidským (mimo typické znaky AD nap . i hyperglykémie, katarakty, úzkost) p edstavuje tento hlodavec potenciáln ů velmi vhodný p irozený model pro výzkum lidských, zejména neurodegenerativních, chorob (Tarragon et al., 2013).

3.3.6 P íklady dal-ích obratlovc ů vykazujících spontánní vznik amyloidó z i tauopatií

Jako potenciální p irozený model pro výzkum exprese a metabolismu APP a A β bylo navrženo také ku ecí embryo, v jehož mozkové tkáni rov n ůl dochází k expresi APP (Carrodegua s et al., 2005). Neurodegenerativní zm ny p ipomínající AD u lidí a které zahrnují A β a/nebo tau protein, byly popsány i u ovcí (Barron et al., 2009; Nelson & Saper, 1995), koz (Braak, Braak, Strothjohann, Goethe, & Kai, 1994), ko ek (Head et al., 2005), medv d ů (Cork et al., 1988), rosomák ů (Roertgen et al., 1996) a delfín ů (Sarasa & Pesini, 2009).

4 ZÁVĚR

Animální modely představují velmi důležitý prvek ve výzkumu nejen neurodegenerativních onemocnění. Co nejvíce charakteristické napodobení dané choroby je zcela zásadní pro přesnost poznání patogenetických mechanismů a dostatečnou validitu preklinického testování léků.

Tato práce mapuje různé postupy modelování patologií typických pro Alzheimerovu chorobu na pokusných zvířatech bez použití transgenních linií. Nejčastěji jsou za tímto účelem využíváni potkani a myši, mezi jejich hlavní výhody patří snadná dostupnost, nenáročný chov a dobře prostudované genetické pozadí, v případě potkanů pak také vyšší kognitivní schopnosti umožňující hodnocení v behaviorálních testech. Vzhledem k odlišnostem v sekvenci hlodavčího a lidského APP a tau proteinu nedochází u potkanů (s výjimkou osmáka degu a morčete domácího) ke spontánní tvorbě amyloidních plaků a NFTs. Proto je nutné vznik těchto parametrů indukovat vnějšími zásahy. Ty mohou spočívat v aplikaci jaké toxické nebo jiné látky, operativním zákroku například v podobě ovariektomie či testektomie, vystavení stresu či stimulaci předehnané imunitní odpovědi. Mimo šklasických metod, v nichž se uplatňuje zejména aplikace fragmentů A β a vyvolání hyperfosforylace tau, je v současnosti častou volbou streptozotocinový model založený na nálezů inzulinové rezistence mozku u pacientů s AD. Jako velmi perspektivní se jeví nové postupy stavící na imunitní reakci v organismu (například polyI:C model) či uplatňující modely tradičně používané u jiných chorob (například OBX model deprese). Velice přínosná se zdá být také současná aplikace různých postupů umožňující studium vzájemného vlivu jednotlivých faktorů (například podání OA potkaním samicím po prodlané ovariektomii). Ve vývoji terapeutik by mohlo být vhodné využití modelů založených na různých principech (například podání ovčím poškození vs. reverzibilní utlumení signalizace přes glutamátové receptory prostřednictvím aplikace jejich antagonistů), což může pomoci objasnit fyziologické mechanismy uplatňující se v dané situaci.

Jako vhodné modely rovněž mohou sloužit některé druhy obratlovců, u nichž byl popsán spontánní vznik AD podobných patologií: tzv. špičkové modely. V této kategorii se velice slibně jeví například osmáček degu a morčete domácí, jediní zástupci hlodavců s těmito vlastnostmi. Vhodným kandidátem by mohl být i králík domácí, spojující v sobě náchylnost k AD podobným patologiím a obezitě. Mnoho studií bylo provedeno i na psech a primátech, u nichž však zpravidla nedochází k vývoji plně vyvinutých znaků AD (výjimku zde představuje makak trpasličí) a jejich vyšší dostupnost, vyšší délka života a etické problémy spojené s experimenty na vyšších savcích komplikují jejich praktické použití.

Vzhledem k neúspěchu dosavadního vývoje účinných terapií pro AD se pozornost výzkumu sAD v poslední době začíná odvracet od amyloidních plaků a NFTs a zaměřovat se více na jiné potenciální příčiny vzniku této choroby, jako například role imunitního systému, oxidativního stresu, hormonální deplece, diety, atd. a jejich možných kombinací. Pro jejich studium je zapotřebí netransgenních modelů, co nejvíce napodobujících znaky sAD. Tato práce poskytuje přehled dosud známých způsobů jejich generace.

5 BIBLIOGRAFIE

- Abeelen, A., Lagro, J., Beek, A., & Claassen, J. (2014). Impaired Cerebral Autoregulation and Vasomotor Reactivity in Sporadic Alzheimer's Disease. *Current Alzheimer Research*, *11*(1), 11617. doi:10.2174/1567205010666131119234845
- Aleksandrova, I. Y., Kuvichkin, V. V., Kashparov, I. a., Medvinskaya, N. I., Nesterova, I. V., Lunin, S. M., & Bobkova, N. V. (2004). Increased level of β -amyloid in the brain of bulbeotomized mice. *Biochemistry (Moscow)*, *69*(2), 1766180. doi:10.1023/B:BIRY.0000018948.04559.ab
- Alkadhi, K. a, Srivareerat, M., & Tran, T. T. (2010). Intensification of long-term memory deficit by chronic stress and prevention by nicotine in a rat model of Alzheimer's disease. *Molecular and Cellular Neurosciences*, *45*(3), 289696. doi:10.1016/j.mcn.2010.06.018
- Araujo, J. a., Nobrega, J. N., Raymond, R., & Milgram, N. W. (2011). Aged dogs demonstrate both increased sensitivity to scopolamine impairment and decreased muscarinic receptor density. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *98*(2), 2036209. doi:10.1016/j.pbb.2011.01.005
- Araujo, J. a., Studzinski, C. M., & Milgram, N. W. (2005). Further evidence for the cholinergic hypothesis of aging and dementia from the canine model of aging. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, *29*(3), 4116422. doi:10.1016/j.pnpbp.2004.12.008
- Ardiles, a. O., Tapia-Rojas, C. C., Mandal, M., Alexandre, F., Kirkwood, a., Inestrosa, N. C., & Palacios, a. G. (2012). Postsynaptic dysfunction is associated with spatial and object recognition memory loss in a natural model of Alzheimer's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *109*(34), 13835613840. doi:10.1073/pnas.1201209109
- Bardgett, M. E., Griffith, M. S., Foltz, R. F., Hopkins, J. a., Massie, C. M., & O'Connell, S. M. (2006). The effects of clozapine on delayed spatial alternation deficits in rats with hippocampal damage. *Neurobiology of Learning and Memory*, *85*(1), 86694. doi:10.1016/j.nlm.2005.08.010
- Bardgett, M. E., Points, M., Ramsey-Faulkner, C., Topmiller, J., Roflow, J., McDaniel, T., & Griffith, M. S. (2008). The effects of clonidine on discrete-trial delayed spatial alternation in two rat models of memory loss. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, *33*(8), 198061991. doi:10.1038/sj.npp.1301580
- Barron, A. M., Cake, M., Verdile, G., & Martins, R. N. (2009). Ovariectomy and 17beta-estradiol replacement do not alter beta-amyloid levels in sheep brain. *Endocrinology*, *150*(7), 3228636. doi:10.1210/en.2008-1252
- Basurto-Islas, G., Blanchard, J., Tung, Y. C., Fernandez, J. R., Voronkov, M., Stock, M., & Iqbal, K. (2014). Therapeutic benefits of a component of coffee in a rat model of Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 1612. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2014.06.012
- Bermejo, P., Martín-Aragón, S., Benedí, J., Susín, C., Felici, E., Gil, P., & Villar, A. M. (2008). Peripheral levels of glutathione and protein oxidation as markers in the development of Alzheimer's disease from Mild Cognitive Impairment. *Free Radical Research*, *42*(2), 1626170. doi:10.1080/10715760701861373
- Bihaqi, S. W., & Zawia, N. H. (2013). Enhanced tauopathy and AD-like pathology in aged primate brains decades after infantile exposure to lead (Pb). *Neurotoxicology*, *39*, 956101. doi:10.1016/j.neuro.2013.07.010
- Blake, M. R., Holbrook, S. D., Kotwica-Rolinska, J., Chow, E. S., Kretzschmar, D., & Giebultowicz, J. M. (2015). Manipulations of amyloid precursor protein cleavage disrupt the circadian clock in aging Drosophila. *Neurobiology of Disease*, *77*, 1176126. doi:10.1016/j.nbd.2015.02.012
- Bolognin, S., Blanchard, J., Wang, X., Basurto-Islas, G., Tung, Y. C., Kohlbrenner, E., & Iqbal, K. (2012). An experimental rat model of sporadic Alzheimer's disease and rescue of cognitive impairment with a neurotrophic peptide. *Acta Neuropathologica*, *123*(1), 1336151. doi:10.1007/s00401-011-0908-x
- Bons, N., Rieger, F., Prudhomme, D., Fisher, a., & Krause, K. H. (2006). Microcebus murinus: A useful primate model for human cerebral aging and Alzheimer's disease? *Genes, Brain and Behavior*, *5*(2), 1206130. doi:10.1111/j.1601-183X.2005.00149.x
- Borre, Y., Bosman, E., Lemstra, S., Westphal, K. G., Olivier, B., & Oosting, R. S. (2012). Memantine partly rescues behavioral and cognitive deficits in an animal model of neurodegeneration. *Neuropharmacology*, *62*(5-6), 201062017. doi:10.1016/j.neuropharm.2011.12.034

- Braak, H., Braak, E., Strothjohann, M., Goethe, J. W., & Kai, T. S. (1994). Abnormally phosphorylated tau protein related to the formation of and goat. *Neuroscience Letters*, *171*, 8611.
- Brothers, H. M., Bardou, I., Hopp, S. C., Marchalant, Y., Kaercher, R. M., Turner, S. M., & Wenk, G. L. (2013). Time-Dependent Compensatory Responses to Chronic Neuroinflammation in Hippocampus and Brainstem: The Potential Role of Glutamate Neurotransmission. *Journal of Alzheimer's Disease & Parkinsonism*, *3*, 110. doi:10.4172/2161-0460.1000110
- Butterfield, D. A., & Poon, H. F. (2005). The senescence-accelerated prone mouse (SAMP8): a model of age-related cognitive decline with relevance to alterations of the gene expression and protein abnormalities in Alzheimer's disease. *Experimental Gerontology*, *40*(10), 774683. doi:10.1016/j.exger.2005.05.007
- Carrodegua, J. a., Rodolosse, a., Garza, M. V., Sanz-Clemente, a., Pérez-Pé, R., Lacosta, a. M., & Sarasa, M. (2005). The chick embryo appears as a natural model for research in beta-amyloid precursor protein processing. *Neuroscience*, *134*(4), 128561300. doi:10.1016/j.neuroscience.2005.05.020
- Catania, C., Sotiropoulos, I., Silva, R., Onofri, C., Breen, K. C., Sousa, N., & Almeida, O. F. X. (2009). The amyloidogenic potential and behavioral correlates of stress. *Molecular Psychiatry*, *14*(1), 956105. doi:10.1038/sj.mp.4002101
- Cork, L. C., Powers, R. E., Selkoe, D. J., Davies, P., Geyer, J. J., & Price, D. L. (1988). Neurofibrillary Tangles and Senile Plaques in Aged Bears. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, *47*(6), 6296641.
- Cotman, C. W., & Head, E. (2008). The canine (dog) model of human aging and disease: dietary, environmental and immunotherapy approaches. *Journal of Alzheimer's Disease : JAD*, *15*(4), 6856707. doi:10.3233/978-1-60750-733-8-15
- Cuadrado-Tejedor, M., Ricobaraza, A., Del Río, J., Frechilla, D., Franco, R., Pérez-Mediavilla, A., & Garcia-Osta, A. (2011). Chronic mild stress in mice promotes cognitive impairment and CDK5-dependent tau hyperphosphorylation. *Behavioural Brain Research*, *220*(2), 338643. doi:10.1016/j.bbr.2011.01.005
- Cummings, B. (1996). Diffuse Plaques Contain C-terminal A 42 and not A 40: Evidence From Cats and Dogs. *Neurobiology of Aging*, *17*(4), 6536659. doi:10.1016/S0197-4580(96)00062-0
- Cummings, B. J., Head, E., Afagh, A. J., Milgram, N. W., & Cotman, C. W. (1996). b -Amyloid Accumulation Correlates with Cognitive Dysfunction in the Aged Canine. *Neurobiology of Learning and Memory*, *23*(66), 11623.
- Cummings, B. J., Head, E., Ruehl, W., Milgram, N. W., & Cotman, C. W. (1996). The Canine as an Animal Model of Human Aging and Dementia. *Neurobiology of Aging*, *17*(2), 2596268.
- Cunningham, C. (2015). Co-morbidity and systemic inflammation as drivers of cognitive decline : new experimental models adopting a broader paradigm in dementia. *Alzheimer's Research & Therapy*, 1613. doi:10.1186/s13195-015-0117-2
- De la Monte, S. M., & Wands, J. R. (2008). Alzheimer's disease is type 3 diabetes-evidence reviewed. *J Diabetes Sci Technol*, *2*(6), 110161113. doi:10.1177/193229680800200619
- Demetrius, L. a., Magistretti, P. J., & Pellerin, L. (2015). Alzheimer's disease: the amyloid hypothesis and the Inverse Warburg effect. *Frontiers in Physiology*, *5*(January), 1620. doi:10.3389/fphys.2014.00522
- Dolga, A. M., Granic, I., Nijholt, I. M., Nyakas, C., Van Der Zee, E. a., Luiten, P. G. M., & Eisel, U. L. M. (2009). Pretreatment with lovastatin prevents n-methyl-d-aspartate-induced neurodegeneration in the magnocellular nucleus basalis and behavioral dysfunction. *Journal of Alzheimer's Disease*, *17*(2), 3276336. doi:10.3233/JAD-2009-1052
- Elder, G. A., Gama Sosa, M. A., & De Gasperi, R. (2009). Transgenic Mouse Models of Alzheimer's Disease. *The Mount Sinai Journal of Medicine, New York*, *76*(2), 1736181. doi:10.1002/MSJ
- Espinosa, J., Rocha, A., Nunes, F., Costa, M. S., Schein, V., Kazlauckas, V., & Porciúncula, L. O. (2013). Caffeine consumption prevents memory impairment, neuronal damage, and adenosine A2A receptors upregulation in the hippocampus of a rat model of sporadic dementia. *Journal of Alzheimer's Disease : JAD*, *34*(2), 509618. doi:10.3233/JAD-111982
- François, A., Terro, F., Quellard, N., Fernandez, B., Chassaing, D., Janet, T., & Page, G. (2014). Impairment of autophagy in the central nervous system during lipopolysaccharide-induced inflammatory stress in mice. *Molecular Brain*, *7*(1), 56. doi:10.1186/s13041-014-0056-z

- Frautschy, S. a, Cole, G. M., & Baird, a. (1992). Phagocytosis and deposition of vascular beta-amyloid in rat brains injected with Alzheimer beta-amyloid. *The American Journal of Pathology*, *140*(6), 138961399.
- Geng, Y., Li, C., Liu, J., Xing, G., Zhou, L., Dong, M., í Niu, Y. (2010). Beta-asarone improves cognitive function by suppressing neuronal apoptosis in the beta-amyloid hippocampus injection rats. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, *33*(5), 8366843. doi:10.1248/bpb.33.836
- Han, F., Shioda, N., Moriguchi, S., Qin, Z. H., & Fukunaga, K. (2008). The vanadium (IV) compound rescues septo-hippocampal cholinergic neurons from neurodegeneration in olfactory bulbectomized mice. *Neuroscience*, *151*(3), 6716679. doi:10.1016/j.neuroscience.2007.11.011
- Hardy, J. (2006). Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis: an update and reappraisal. *Journal of Alzheimer's Disease : JAD*, *9*(3 Suppl), 1516153.
- Hardy, J., & Allsop, D. (1991). Amyloid deposition as the central event in the aetiology of Alzheimer's disease. *Trends in Pharmacological Sciences*. doi:10.1016/0165-6147(91)90609-V
- Haus-Wegrzyniak, B., Dobrzanski, P., Stoehr, J. D., & Wenk, G. L. (1998). Chronic neuroinflammation in rats reproduces components of the neurobiology of Alzheimer's disease. *Brain Research*, *780*(2), 2946303. doi:10.1016/S0006-8993(97)01215-8
- He, J., Yamada, K., Zou, L. B., & Nabeshima, T. (2001). Spatial memory deficit and neurodegeneration induced by the direct injection of okadaic acid into the hippocampus in rats. *Journal of Neural Transmission*, *108*(12), 143561443. doi:10.1007/s007020100018
- He, J., Yang, Y., Xu, H., Zhang, X., & Li, X.-M. (2005). Olanzapine attenuates the okadaic acid-induced spatial memory impairment and hippocampal cell death in rats. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, *30*(8), 151161520. doi:10.1038/sj.npp.1300757
- Head, E., Moffat, K., Das, P., Sarsoza, F., Poon, W. W., Landsberg, G., í Murphy, M. P. (2005). β -Amyloid deposition and tau phosphorylation in clinically characterized aged cats. *Neurobiology of Aging*, *26*(5), 7496763. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2004.06.015
- Hozumi, S., Nakagawasai, O., Tan-No, K., Nijjima, F., Yamadera, F., Murata, A., í Tadano, T. (2003). Characteristics of changes in cholinergic function and impairment of learning and memory-related behavior induced by olfactory bulbectomy. *Behavioural Brain Research*, *138*, 9615. doi:10.1016/S0166-4328(02)00183-3
- Hritcu, L., Cioanca, O., & Hancianu, M. (2012). Effects of lavender oil inhalation on improving scopolamine-induced spatial memory impairment in laboratory rats. *Phytomedicine*, *19*(6), 5296534. doi:10.1016/j.phymed.2012.02.002
- Hua, X., Lei, M., Zhang, Y., Ding, J., Han, Q., Hu, G., & Xiao, M. (2007). Long-term d-galactose injection combined with ovariectomy serves as a new rodent model for Alzheimer's disease. *Life Sciences*, *80*(20), 189761905. doi:10.1016/j.lfs.2007.02.030
- Huh, E., Kim, H. G., Park, H., Kang, M. S., Lee, B., & Oh, M. S. (2014). *Houttuynia cordata* Improves Cognitive Deficits in Cholinergic Dysfunction Alzheimer's Disease-Like Models. *Biomolecules & Therapeutics*, *22*(3), 1766183.
- Chen, C. F., Lang, S. Y., Zuo, P. P., Yang, N., Wang, X. Q., & Xia, C. (2006). Effects of d-galactose on the expression of hippocampal peripheral-type benzodiazepine receptor and spatial memory performances in rats. *Psychoneuroendocrinology*, *31*(7), 8056811. doi:10.1016/j.psyneuen.2006.03.004
- Chen, G. H., Wang, Y. J., Wang, X. M., & Zhou, J. N. (2004). Accelerated senescence prone mouse-8 shows early onset of deficits in spatial learning and memory in the radial six-arm water maze. *Physiology and Behavior*, *82*(5), 8836890. doi:10.1016/j.physbeh.2004.07.008
- Chen, Y., Liang, Z., Blanchard, J., Dai, C.-L., Sun, S., Lee, M. H., í Gong, C.-X. (2013). A non-transgenic mouse model (icv-STZ mouse) of Alzheimer's disease: similarities to and differences from the transgenic model (3xTg-AD mouse). *Molecular Neurobiology*, *47*(2), 711625. doi:10.1007/s12035-012-8375-5
- Chen, Y., Tian, Z., Liang, Z., Sun, S., Dai, C.-L., Lee, M. H., í Gong, C.-X. (2012). Brain gene expression of a sporadic (icv-STZ Mouse) and a familial mouse model (3xTg-AD mouse) of Alzheimer's disease. *PloS One*, *7*(12), e51432. doi:10.1371/journal.pone.0051432
- Cheng, X., Zhou, W., & Zhang, Y. (2014). The behavioral, pathological and therapeutic features of the senescence-accelerated mouse prone 8 strain as an Alzheimer's disease animal model. *Ageing Research Reviews*, *13*, 13637. doi:10.1016/j.arr.2013.10.002

- Iijima-Ando, K., & Iijima, K. (2011). Transgenic *Drosophila* models of Alzheimer's disease and tauopathies. *Brain Structure and Function*, *214*, 2456262. doi:10.1007/s00429-009-0234-4.
- Inestrosa, N. C., Reyes, A. E., Chacón, M. a., Cerpa, W., Villalón, A., Montiel, J., & Aboitiz, F. (2005). Human-like rodent amyloid- β -peptide determines Alzheimer pathology in aged wild-type *Octodon degu*. *Neurobiology of Aging*, *26*(7), 102361028. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2004.09.016
- Iqbal, K., Bolognin, S., Wang, X., Basurto-Islas, G., Blanchard, J., & Tung, Y. C. (2013). Animal models of the sporadic form of Alzheimer's disease: Focus on the disease and not just the lesions. *Journal of Alzheimer's Disease*, *37*(3), 4696474. doi:10.3233/JAD-130827
- Iqbal, K., Liu, F., & Gong, C. X. (2014). Alzheimer disease therapeutics: Focus on the disease and not just plaques and tangles. *Biochemical Pharmacology*, *88*(4), 6316639. doi:10.1016/j.bcp.2014.01.002
- Islam, F., Ejaz Ahmed, M., Khan, M. M., Javed, H., Vaibhav, K., Khan, A., & Safhi, M. M. (2013). Amelioration of cognitive impairment and neurodegeneration by catechin hydrate in rat model of streptozotocin-induced experimental dementia of Alzheimer's type. *Neurochemistry International*, *62*(4), 4926501. doi:10.1016/j.neuint.2013.02.006
- Jaya Prasanthi, R. P., Schommer, E., Thomasson, S., Thompson, A., Feist, G., & Ghribi, O. (2008). Regulation of beta-amyloid levels in the brain of cholesterol-fed rabbit, a model system for sporadic Alzheimer's disease. *Mechanisms of Ageing and Development*, *129*(11), 649655. doi:10.1016/j.mad.2008.09.002
- Krstic, D., & Knuesel, I. (2013). The airbag problem-a potential culprit for bench-to bedside translational efforts: relevance for Alzheimer's disease. *Acta Neuropathologica Communications*, *1*(1), 62. doi:10.1186/2051-5960-1-62
- Krstic, D., Madhusudan, A., Doehner, J., Vogel, P., Notter, T., Imhof, C., & Knuesel, I. (2012). Systemic immune challenges trigger and drive Alzheimer-like neuropathology in mice. *Journal of Neuroinflammation*, *9*(1), 151. doi:10.1186/1742-2094-9-151
- Kumar, A., Prakash, A., & Dogra, S. (2010). Naringin alleviates cognitive impairment, mitochondrial dysfunction and oxidative stress induced by D-galactose in mice. *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, *48*(2), 626632. doi:10.1016/j.fct.2009.11.043
- Kumar, A., Seghal, N., Naidu, P. S., Padi, S. S. V, & Goyal, R. (2007). Colchicines-induced neurotoxicity as an animal model of sporadic dementia of Alzheimer's type. *Pharmacological Reports*, *59*(3), 2746283.
- Kumar, V. B., Farr, S. a., Flood, J. F., Kamlesh, V., Franko, M., Banks, W. a., & Morley, J. E. (2000). Site-directed antisense oligonucleotide decreases the expression of amyloid precursor protein and reverses deficits in learning and memory in aged SAMP8 mice. *Peptides*, *21*(12), 176961775. doi:10.1016/S0196-9781(00)00339-9
- Lecanu, L., Greeson, J., & Papadopoulos, V. (2006). Beta-amyloid and oxidative stress jointly induce neuronal death, amyloid deposits, gliosis, and memory impairment in the rat brain. *Pharmacology*, *76*(1), 19633. doi:10.1159/000088929
- Lecanu, L., & Papadopoulos, V. (2013). Modeling Alzheimer's disease with non-transgenic rat models. *Alzheimer's Research & Therapy*, *169*. Retrieved from <http://www.biomedcentral.com/content/pdf/alzrt171.pdf>
- Lee, J.-E., & Han, P.-L. (2013). An update of animal models of Alzheimer disease with a reevaluation of plaque depositions. *Experimental Neurobiology*, *22*(2), 84695. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3699678&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Lei, M., Hua, X., Xiao, M., Ding, J., Han, Q., & Hu, G. (2008). Impairments of astrocytes are involved in the d-galactose-induced brain aging. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *369*(4), 108261087. doi:10.1016/j.bbrc.2008.02.151
- Leon, W. C., Canneva, F., Partridge, V., Allard, S., Ferretti, M. T., DeWilde, A., & Cuervo, A. C. (2010). A novel transgenic rat model with a full Alzheimer's-like amyloid pathology displays pre-plaque intracellular amyloid-beta-associated cognitive impairment. *Journal of Alzheimer's Disease: JAD*, *20*(1), 1136126. doi:10.3233/JAD-2010-1349

- Li, G., Cheng, H., Zhang, X., Shang, X., Xie, H., Zhang, X., & Han, J. (2013). Hippocampal neuron loss is correlated with cognitive deficits in SAMP8 mice. *Neurological Sciences*, *34*(6), 9636-969. doi:10.1007/s10072-012-1173-z
- Limón, D., Díaz, A., Hernandez, M., Fernandez-G, J. M., Torres-Martínez, A. C., Pérez-Severiano, F., & Guevara, J. (2012). Neuroprotective effect of the aminoestrogen prolame against impairment of learning and memory skills in rats injected with amyloid- β 25-35 into the hippocampus. *European Journal of Pharmacology*, *685*(1-3), 74680. doi:10.1016/j.ejphar.2012.04.020
- Mackic, J. B., Bading, J., Ghiso, J., Walker, L., Wisniewski, T., Frangione, B., & Zlokovic, B. V. (2002). Circulating amyloid- β peptide crosses the blood-brain barrier in aged monkeys and contributes to Alzheimer's disease lesions. *Vascular Pharmacology*, *38*(6), 3036313. doi:10.1016/S1537-1891(02)00198-2
- Malin, D. H., Crothers, M. K., Lake, J. R., Goyarzu, P., Plotner, R. E., Garcia, S. a, & Kowall, N. W. (2001). Hippocampal injections of amyloid beta-peptide 1-40 impair subsequent one-trial/day reward learning. *Neurobiology of Learning and Memory*, *76*(2), 1256137. doi:10.1006/nlme.2000.3991
- Mansouri, M. T., Naghizadeh, B., Ghorbanzadeh, B., Farbood, Y., Sarkaki, A., & Bavarsad, K. (2013). Gallic acid prevents memory deficits and oxidative stress induced by intracerebroventricular injection of streptozotocin in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *111*, 90696. doi:10.1016/j.pbb.2013.09.002
- Marei, H. E. S., Farag, A., Althani, A., Afifi, N., a, A.-E., Lashen, S., & Cenciarelli, C. (2014). Human Olfactory Bulb Neural Stem Cells expressing hNGF Restore Cognitive Deficit in Alzheimer's Disease Rat Model. *Journal of Cellular Physiology*, (May 2014), 1166130. doi:10.1002/jcp.24688
- Marwarha, G., Dasari, B., Prasanthi, J. R. P., Schommer, J., & Ghribi, O. (2010). Leptin reduces the accumulation of Abeta and phosphorylated tau induced by 27-hydroxycholesterol in rabbit organotypic slices. *Journal of Alzheimer's Disease : JAD*, *19*(3), 1007619. doi:10.3233/JAD-2010-1298
- Mohamed, A. R., Soliman, G. Y., Ismail, C. a., & Mannaa, H. F. (2014). Neuroprotective role of vitamin D3 in colchicine-induced Alzheimer's disease in rats. *Alexandria Journal of Medicine*. doi:10.1016/j.ajme.2014.05.005
- Moriguchi, S., Han, F., Nakagawasai, O., Tadano, T., & Fukunaga, K. (2006). Decreased calcium/calmodulin-dependent protein kinase II and protein kinase C activities mediate impairment of hippocampal long-term potentiation in the olfactory bulbectomized mice. *Journal of Neurochemistry*, *97*(1), 22629. doi:10.1111/j.1471-4159.2006.03710.x
- Morley, J. E., Kumar, V. B., Bernardo, A. E., Farr, S. a., Uezu, K., Tumosa, N., & Flood, J. F. (2000). -Amyloid precursor polypeptide in SAMP8 mice affects learning and memory. *Peptides*, *21*(12), 176161767. doi:10.1016/S0196-9781(00)00342-9
- Mrak, R. E., & Griffin, W. S. T. (2005). Glia and their cytokines in progression of neurodegeneration. *Neurobiology of Aging*, *26*(3), 3496354. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2004.05.010
- Nakagawasai, O., Hozumi, S., Tan-No, K., Nijijima, F., Arai, Y., Yasuhara, H., & Tadano, T. (2003). Immunohistochemical fluorescence intensity reduction of brain somatostatin in the impairment of learning and memory-related behaviour induced by olfactory bulbectomy. *Behavioural Brain Research*, *142*(1-2), 63667. doi:10.1016/S0166-4328(02)00383-2
- Ndung'u, M., Härtig, W., Wegner, F., Mwenda, J. M., Low, R. W. C., Akinyemi, R. O., & Kalaria, R. N. (2012). Cerebral amyloid β (42) deposits and microvascular pathology in ageing baboons. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, *38*(5), 487699. doi:10.1111/j.1365-2990.2011.01246.x
- Neha, Sodhi, R. K., Jaggi, A. S., & Singh, N. (2014). Animal models of dementia and cognitive dysfunction. *Life Sciences*, *109*(2), 73686. doi:10.1016/j.lfs.2014.05.017
- Nelson, P. T., & Saper, C. B. (1995). Ultrastructure of neurofibrillary tangles in the cerebral cortex of sheep. *Neurobiology of Aging*, *16*(3), 3156323. doi:10.1016/0197-4580(94)00175-Z
- Neus Bosch, M., Pugliese, M., Andrade, C., Gimeno-Bayón, J., Mahy, N., & Rodriguez, M. J. (2014). Amyloid- β Immunotherapy Reduces Amyloid Plaques and Astroglial Reaction in Aged Domestic Dogs. *Neurodegenerative Diseases*, *15*(1), 24637. doi:10.1159/000368672
- Newman, M., Ebrahimie, E., & Lardelli, M. (2014). Using the zebrafish model for Alzheimer's disease research. *Frontiers in Genetics*, *5*(June), 1610. doi:10.3389/fgene.2014.00189

- Park, S. A. (2011). A Common Pathogenic Mechanism Linking Type-2 Diabetes and Alzheimer's Disease: Evidence from Animal Models. *Journal of Clinical Neurology*, 10618.
- Parsi, S., Pandamooz, S., Heidari, S., Naji, M., Morfini, G., Ahmadiani, a., & Dargahi, L. (2015). A novel rat model of Alzheimer's disease based on lentiviral-mediated expression of mutant APP. *Neuroscience*, 284, 996106. doi:10.1016/j.neuroscience.2014.09.045
- Philipson, O., Lord, A., Gumucio, A., O'Callaghan, P., Lannfelt, L., & Nilsson, L. N. G. (2010). Animal models of amyloid-beta-related pathologies in Alzheimer's disease. *The FEBS Journal*, 277(6), 138961409. doi:10.1111/j.1742-4658.2010.07564.x
- Pinton, S., da Rocha, J. T., Gai, B. M., & Nogueira, C. W. (2011). Sporadic dementia of Alzheimer's type induced by streptozotocin promotes anxiogenic behavior in mice. *Behavioural Brain Research*, 223(1), 166. doi:10.1016/j.bbr.2011.04.014
- Podlisny, M. B., Tolan, D. R., & Selkoe, D. J. (1991). Homology of the amyloid beta protein precursor in monkey and human supports a primate model for beta amyloidosis in Alzheimer's disease. *The American Journal of Pathology*, 138(6), 142361435.
- Ponce-Lopez, T., Liy-Salmeron, G., Hong, E., & Meneses, A. (2011). Lithium, phenserine, memantine and pioglitazone reverse memory deficit and restore phospho-GSK3 decreased in hippocampus in intracerebroventricular streptozotocin induced memory deficit model. *Brain Research*, 1426, 73685. doi:10.1016/j.brainres.2011.09.056
- Poon, H. F., Farr, S. a., Banks, W. a., Pierce, W. M., Klein, J. B., Morley, J. E., & Butterfield, D. A. (2005). Proteomic identification of less oxidized brain proteins in aged senescence-accelerated mice following administration of antisense oligonucleotide directed at the A region of amyloid precursor protein. *Molecular Brain Research*, 138(1), 8616. doi:10.1016/j.molbrainres.2005.02.020
- Poon, H. F., Joshi, G., Sultana, R., Farr, S. a., Banks, W. a., Morley, J. E., & Butterfield, D. A. (2004). Antisense directed at the A region of APP decreases brain oxidative markers in aged senescence accelerated mice. *Brain Research*, 1018(1), 86696. doi:10.1016/j.brainres.2004.05.048
- Prasanthi, J. R. P., Dasari, B., Marwarha, G., Larson, T., Chen, X., Geiger, J. D., & Ghribi, O. (2010). Caffeine protects against oxidative stress and Alzheimer's disease-like pathology in rabbit hippocampus induced by cholesterol-enriched diet. *Free Radical Biology & Medicine*, 49(7), 1212620. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2010.07.007
- Rahman, A., Languille, S., Lamberty, Y., Babiloni, C., Perret, M., Bordet, R., & Aujard, F. (2013). Sleep Deprivation Impairs Spatial Retrieval but Not Spatial Learning in the Non-Human Primate Grey Mouse Lemur. *PLoS ONE*, 8(5), 169. doi:10.1371/journal.pone.0064493
- Ramesh, B. N., Raichurkar, K. P., Shamasundar, N. M., Rao, T. S. S., & Rao, K. S. J. (2011). A (42) induced MRI changes in aged rabbit brain resembles AD brain. *Neurochemistry International*, 59(5), 637642. doi:10.1016/j.neuint.2011.06.003
- Raut, S., Rege, N., Malve, H., & Marathe, P. (2014). Effect of combination of Phyllanthus emblica, Tinospora cordifolia, and Ocimum sanctum on spatial learning and memory in rats. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*, 5(4), 209. doi:10.4103/0975-9476.146564
- Reitz, C., & Mayeux, R. (2014). Alzheimer disease: epidemiology, diagnostic criteria, risk factors and biomarkers. *Biochemical Pharmacology*, 88(4), 640651. doi:10.1016/j.bcp.2013.12.024
- Rodrigues, L., Dutra, M. F., Ilha, J., Biasibetti, R., Quincozes-Santos, A., Leite, M. C., & Gonçalves, C. A. (2010). Treadmill training restores spatial cognitive deficits and neurochemical alterations in the hippocampus of rats submitted to an intracerebroventricular administration of streptozotocin. *Journal of Neural Transmission*, 117(11), 129561305. doi:10.1007/s00702-010-0501-9
- Roertgen, K. E., Parisi, J. E., Clark, H. B., Barnes, D. L., O'Brien, T. D., & Johnson, K. H. (1996). A β -Associated cerebral angiopathy and senile plaques with neurofibrillary tangles and cerebral hemorrhage in an aged wolverine (*Gulo gulo*). *Neurobiology of Aging*, 17(2), 2436247. doi:10.1016/0197-4580(95)02069-1
- Roher, A. E., Kuo, Y., Potter, P. E., Sue, L. I., Honer, W. G., & Beach, T. G. (2000). Cortical Cholinergic Denervation Elicits Vascular A β Deposition. *Annals New York Academy of Sciences*, (602), 3666373.
- Roy, M., Cardoso, C., Dorieux, O., Malgorn, C., Epelbaum, S., Petit, F., & Dhenain, M. (2015). Age-associated evolution of plasmatic amyloid in mouse lemur primates: relationship with

- intracellular amyloid deposition. *Neurobiology of Aging*, 36(1), 1496156. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2014.07.017
- Sabbagh, J. J., Kinney, J. W., & Cummings, J. L. (2013). Animal systems in the development of treatments for Alzheimer's disease: challenges, methods, and implications. *Neurobiology of Aging*, 34(1), 169683. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2012.02.027
- Safar, M. M., Arab, H. H., Rizk, S. M., & El-Maraghy, S. a. (2014). Bone Marrow-Derived Endothelial Progenitor Cells Protect Against Scopolamine-Induced Alzheimer-Like Pathological Aberrations. *Molecular Neurobiology*. doi:10.1007/s12035-014-9051-8
- Salkovic-Petrisic, M., & Knezovic, A. (2013). What have we learned from the streptozotocin-induced animal model of sporadic Alzheimer's disease, about the therapeutic strategies in Alzheimer's research. *Journal of Neural* , 120(1), 2336252. doi:10.1007/s00702-012-0877-9
- Salkovic-Petrisic, M., Osmanovic-Barilar, J., Knezovic, A., Hoyer, S., Mosetter, K., & Reutter, W. (2014). Long-term oral galactose treatment prevents cognitive deficits in male Wistar rats treated intracerebroventricularly with streptozotocin. *Neuropharmacology*, 77, 68680. doi:10.1016/j.neuropharm.2013.09.002
- Sarasa, M., & Pesini, P. (2009). Natural Non-Transgenic Animal Models for Research in Alzheimer's Disease. *Current Alzheimer Research*, 6(2), 1716178. doi:10.2174/156720509787602834
- Selkoe, D. J. (2011). Alzheimer's Disease. *Cold Spring Harbor Laboratory Press*, 1616.
- Seyedreza, P., Alireza, M. N., & Seyedbrahim, H. (2012). Role of testosterone in memory impairment of Alzheimer disease induced by Streptozotocin in male rats. *Daru: Journal of Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences*, 20(1), 98. doi:10.1186/2008-2231-20-98
- Sharman, M. J., Moussavi Nik, S. H., Chen, M. M., Ong, D., Wijaya, L., Laws, S. M., & Verdile, G. (2013). The Guinea Pig as a Model for Sporadic Alzheimer's Disease (AD): The Impact of Cholesterol Intake on Expression of AD-Related Genes. *PloS One*, 8(6), e66235. doi:10.1371/journal.pone.0066235
- Schliebs, R., & Arendt, T. (2011). The cholinergic system in aging and neuronal degeneration. *Behavioural Brain Research*, 221(2), 5556563. doi:10.1016/j.bbr.2010.11.058
- Slotkin, T. a., & Seidler, F. J. (2006). Cholinergic receptor subtypes in the olfactory bulbectomy model of depression. *Brain Research Bulletin*, 68, 3416345. doi:10.1016/j.brainresbull.2005.09.005
- Soodi, M., Naghdi, N., Hajimehdipoor, H., Choopani, S., & Sahraei, E. (2014). Memory-improving activity of Melissa officinalis extract in naïve and scopolamine-treated rats. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 9(2), 107614. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4311288&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Sotiropoulos, I., Catania, C., Pinto, L. G., Silva, R., Pollerberg, G. E., Takashima, A., & Almeida, O. F. X. (2011). Stress acts cumulatively to precipitate Alzheimer's disease-like tau pathology and cognitive deficits. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 31(21), 784067847. doi:10.1523/JNEUROSCI.0730-11.2011
- Sparks, D. L., Scheff, S. W., Hunsaker, J. C., Liu, H., Landers, T., & Gross, D. R. (1994). Induction of Alzheimer-like beta-amyloid immunoreactivity in the brains of rabbits with dietary cholesterol. *Experimental Neurology*, 126(1), 88694. doi:10.1006/exnr.1994.1044
- Stefanova, N. A., Kozhevnikova, O. S., Vitovtov, A. O., Maksimova, K. Y., & Logvinov, S. V. (2014). A model of age-related cognitive decline with relevance to abnormalities in Alzheimer disease Senescence-accelerated OXYS rats, 13(6), 8986909.
- Sun, L., Liu, S. Y., Zhou, X. W., Wang, X. C., Liu, R., Wang, Q., & Wang, J. Z. (2003). Inhibition of protein phosphatase 2A- and protein phosphatase 1-induced tau hyperphosphorylation and impairment of spatial memory retention in rats. *Neuroscience*, 118(4), 117561182. doi:10.1016/S0306-4522(02)00697-8
- Takeda, S., Sato, N., & Morishita, R. (2014). Systemic inflammation, blood-brain barrier vulnerability and cognitive/non-cognitive symptoms in Alzheimer disease: relevance to pathogenesis and therapy. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 6(July), 171. doi:10.3389/fnagi.2014.00171
- Tarragon, E., Lopez, D., Estrada, C., Ana, G.-C., Schenker, E., Pifferi, F., & Herrero, M. T. (2013). Octodon degus: a model for the cognitive impairment associated with Alzheimer's disease. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 19(9), 64368. doi:10.1111/cns.12125
- Teich, A. F., & Arancio, O. (2012). Is the Amyloid Hypothesis of Alzheimer's disease therapeutically relevant? *Changes*, 29(6), 99761003. doi:10.1016/j.biotechadv.2011.08.021.

- Terry Jr, a. V., & Buccafusco, J. J. (2003). The Cholinergic Hypothesis of Age and Alzheimer's Disease- Related Cognitive Deficits : Recent Challenges and Their Implications for Novel Drug Development. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 306(3), 821-827. doi:10.1124/jpet.102.041616.
- Tran, T. T., Srivareerat, M., Alhaider, I. a., & Alkadhi, K. a. (2011). Chronic psychosocial stress enhances long-term depression in a subthreshold amyloid-beta rat model of Alzheimer's disease. *Journal of Neurochemistry*, 119(2), 408-416. doi:10.1111/j.1471-4159.2011.07437.x
- Valeř, Karel. (8. 4. 2015). Osobní rozhovor. Praha.
- Veerendra Kumar, M. H., & Gupta, Y. K. (2002). Intracerebroventricular administration of colchicine produces cognitive impairment associated with oxidative stress in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 73(3), 565-571. doi:10.1016/S0091-3057(02)00838-9
- Wang, R., Zhang, H. Y., & Tang, X. C. (2001). Huperzine A attenuates cognitive dysfunction and neuronal degeneration caused by b-amyloid protein-(1-40) in rat. *European Journal of Pharmacology*, 149-156.
- Wang, W., Li, S., Dong, H. P., Lv, S., & Tang, Y. Y. (2009). Differential impairment of spatial and nonspatial cognition in a mouse model of brain aging. *Life Sciences*, 85(3-4), 127-135. doi:10.1016/j.lfs.2009.05.003
- Wei, H., Li, L., Song, Q., Ai, H., Chu, J., & Li, W. (2005). Behavioural study of the D-galactose induced aging model in C57BL/6J mice. *Behavioural Brain Research*, 157(2), 245-251. doi:10.1016/j.bbr.2004.07.003
- Xu, Z.-P., Li, L., Bao, J., Wang, Z.-H., Zeng, J., Liu, E.-J., & Wang, J.-Z. (2014). Magnesium protects cognitive functions and synaptic plasticity in streptozotocin-induced sporadic Alzheimer's model. *PLoS One*, 9(9), e108645. doi:10.1371/journal.pone.0108645
- Yamamoto, T., Jin, J., & Watanabe, S. (1997). Characteristics of memory dysfunction in olfactory bulbectomized rats and the effects of cholinergic drugs. *Behavioural Brain Research*, 83(1-2), 57-62. doi:10.1016/S0166-4328(97)86046-9
- Yu, S. H., Park, S. D., & Sim, K. C. (2014). The Effect of tDCS on Cognition and Neurologic Recovery of Rats with Alzheimer's Disease. *Journal of Physical Therapy Science*, 24-29.
- Zhan, X., Cox, C., Ander, B. P., Liu, D., Stamova, B., Jin, L.-W., & Sharp, F. R. (2015). Inflammation Combined with Ischemia Produces Injury and Plaque-Like Aggregates of Myelin, Amyloid- and A β in Adult Rat Brain. *Journal of Alzheimer's Disease*, 1, 1-10. doi:10.3233/JAD-2011-110692
- Zhang, Z., & Simpkins, J. W. (2010). An okadaic acid-induced model of tauopathy and cognitive deficiency. *Brain Research*, 1359, 233-246. doi:10.1016/j.brainres.2010.08.077