

Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
katedra biologických a lékařských věd

**Efekt galantaminu na aktivitu acetylcholinesterázy
ve vybraných částech mozku laboratorního potkana**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

HRADEC KRÁLOVÉ, 2008

STANISLAVA FABIÁNOVÁ

Děkuji vedoucímu diplomové práce Doc. MUDr. Josefu Herinkovi, DrSc. za odborné vedení v průběhu diplomové práce a za cenné rady a připomínky, které mi při plnění zadané práce poskytl.

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně pod vedením pana Doc. MUDr. Josefa Herinka, DrSc. za použití literatury uvedené v závěru práce.

V Hradci Králové dne

.....

Stanislava Fabiánová

Seznam zkratek

A β	β -amyloid
Ach	acetylcholin
AChE	acetylcholinesteráza
AMPA	α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolpropionové receptory
ATP	adenozintrifosfát
BuChE	butyrylcholinesteráza
CAT	cholinacetyltransferáza
COX-2	cyklooxygenáza 2
CRH	kortikotropin releasing hormon
DHEA	dehydroepiandrosteron
GABA	kys. gamaaminomáselná
GAD	dekarboxyláza kys. glutamové
GAL	galantamin
GRH	gonadotropin releasing hormon
IChE	inhibitory cholinesteráz
LTD	dlouhodobá deprese
LTP	dlouhodobá potenciace
mAChR	muskarinový acetylcholinový receptor
nAChR	nikotinový acetylcholinový receptor
NMDA	excitační receptor N-methyl-D-aspartátové kyseliny glutamátového typu

NO	oxid dusnatý
NRF	nervový růstový faktor
TRH	tyreotropin releasing hormon
VIP	vazoaktivní intestinální polypeptid

Obsah

1. Úvod.....	7
2. Přehled mediátorů paměti	8
2.1. Hlavní typy neuromediátorů v CNS	9
2.2. Nejběžněji se vyskytující mediátory.....	12
3. Centrální cholinergní systém	17
4. Poruchy učení a paměti.....	22
4.1. Druhy pamětí.....	22
4.2. Poruchy paměti	23
4.2.1. Poruchy paměti při vývoji Alzheimerovy nemoci	24
4.2.2. Chronická globální amnézie	24
4.2.3. Tranzitorní globální amnézie	24
4.2.4. Optická afázie	24
4.2.5. Sémantická demence.....	25
4.2.6. Psychogenní amnézie a syndrom falešné paměti	25
4.2.7. Anatomie anamnestického syndromu	26
5. Přehled moderních kognitiv	29
5.1. Podávání prekurzorů acetylcholinu	32
5.2. Podávání inhibitorů cholinesteráz	32
5.2.1. Karbamátové deriváty	35
5.2.2. Akridinové deriváty	36
5.2.3. Piperidinové deriváty	36
5.2.4. Inhibitory ze skupiny alkaloidů.....	36
5.3. Podávání přímých agonistů muskarinových a nikotinových receptorů	40
5.4. Podávání látek ovlivňujících cholinergní systém pomocí ovlivnění jiných neurotransmiterových systémů	41
5.5. Podávání dalších látek, např. látek zlepšujících vstup cholinu do neuronů, syntézu a uvolnění acetylcholinu	41
5.5.1. Látky zlepšující narušenou glutamatergní transmissi.....	41
5.5.2. Neurotrofické růstové faktory	43
5.5.3. Snížení buněčné reakce na neurodegeneraci.....	44
5.5.4. Léky snižující oxidativní stres.....	44
5.5.5. Látky zlepšující mozkový metabolismus	45
5.5.6. Terapie statiny.....	46
6. Experimentální část.....	47
6.1. Uspořádání pokusu	47
6.2. Stanovení aktivity acetylcholinesterázy Ellmanovou metodou	47
6.2.1. Princip metody	47
6.2.2. Použité chemikálie a roztoky.....	47
6.2.3. Použité přístroje	48
6.2.4. Pracovní postup	48
6.3. Výsledky.....	49
7. Diskuse.....	51

8. Závěr	53
9. Souhrn.....	54
10. Literatura	55

1. Úvod

Demence je heterogenní skupina onemocnění. Se vzrůstajícím věkem stoupá její výskyt. Ve věkové kategorii nad 65 let postihuje až 20 % populace. Demence výrazně postihuje jedince v psychice i v jeho sociálních funkcích. Navíc výrazně ovlivňuje okolí nemocného. Nejčastější formou demence je Alzheimerova choroba. Ta se řadí k nejzávažnějším onemocněním, a také k nejnákladnějším na léčbu. Závažnost spočívá v četnosti, míře postižení kvality života nemocných i v tom, že Alzheimerova choroba představuje jednu z nejčastějších primárních příčin smrti. V mozku pacientů s Alzheimerovou chorobou dochází k postižení všech oddílů cholinergního systému. Ten je porušen i u dalších typů demencí, např. u parkinsonských či ischemicko-vaskulárních. Komplexní etiologie Alzheimerovy choroby v současnosti není přesně známa, proto léčba tohoto onemocnění není kauzální, ale pouze symptomatická. Hlavním cílem současné léčby je tedy oddálení progresu symptomů nemoci. Využívají se postupy, které ovlivňují známé patogenetické procesy. V současné době jsou u alzheimerovských demencí používány dva typy farmakoterapie: inhibitory cholinesteráz (IChE) a parciální nekompetitivní inhibitory NMDA receptorů (excitační receptory N-methyl-D-aspartátové kyseliny) - memantin.

Užití inhibitorů mozkových cholinesteráz je nejužívanější postup v terapii Alzheimerovy choroby, především lehkých až středních forem. Tyto látky patří do skupiny kognitiv (léky ovlivňující příznivě centrální cholinergní transmissi). V klinické praxi jsou používány tři zástupci této skupiny – donepezil, rivastigmin a galantamin (GAL).

GAL vedle inhibice acetylcholinesterázy (AChE) také alostericky moduluje presynaptické i postsynaptické nikotinové receptory pro acetylcholin (Ach). GAL se váže na jiné vazebné místo receptoru než Ach, čímž zesiluje jeho působení. Presynapticky to vede k ovlivnění vyplavování Ach i jiných neurotransmiterů. Postsynaptická modulace potom zvyšuje cholinergní transmissi v příslušných částech mozku.

Cílem diplomové práce bylo zjistit, jaký efekt má GAL na aktivitu AChE ve vybraných částech mozku laboratorního potkana (frontální kůra, hipokampus, septum, bazální ganglia a hypofýza). Po podání GAL byl předpokládán pokles aktivity AChE ve vybraných částech mozku potkana.

2. Přehled mediátorů paměti

Na molekulárním přenosu informací v nervovém systému živočichů se podílí chemické látky, které lze rozdělit na neuromediátory, neuromodulátory a neurohormony. **Neuromediátory** (neuropřenašeče, neurotransmitery, transmittery) jsou látky secernované z neuronu do synaptické štěrby, kde ovlivňují aktivitu (excitabilitu) jedné nebo několika prostorově blízkých buněk, tj. jiného neuronu nebo svalové buňky, prostřednictvím receptorů. Zajišťují tak přenos nervového signálu. Ze synaptické štěrby jsou rychle odstraňovány difúzí, metabolismem a v mnoha případech zpětným vychytáváním do presynaptického neuronu. **Neuromodulátory** jsou chemické látky, které ovlivňují účinek neurotransmiterů tím, že zvyšují nebo snižují jejich efekt. Často se tak děje prostřednictvím sekundárních neuromediátorů na iontových kanálech membrán. Mohou působit jak presynapticky, tak postsynapticky, ne vždy lze odlišit neuromediační efekt od efektu neuromodulačního. **Neurohormony** jsou chemické látky syntetizované a uvolňované nervovým systémem a přenášené krví ke vzdáleným cílovým buňkám, jejichž aktivitu ovlivňují. Některé neuromediátory mohou mít funkci neuromodulátorů i naopak. Řada látek, zejména peptidů, může působit nejen na dálku jako neurohormony, ale i lokálně jako neuromediátory a podobně některé klasické neurotransmitery se mohou uvolňovat do krevního oběhu a působit jako hormony. (Ganong ,1995; Patočka, 2002)

Kritéria pro identifikaci neuromediátorů

- Měly by být přítomny ve vysokých koncentracích v presynaptických nervových zakončeních.
- Musí být syntetizovány v presynaptickém neuronu.
- Musí být skladovány ve vhodné zásobní formě.
- Při depolarizaci membrány musí být uvolňovány z neuronu v dostatečně velkém množství a musí existovat mechanismus pro ukončení jejich účinku.
- I při exogenní aplikaci musí vyvolávat fyziologické účinky, odpovídající normální synaptické transmisi.
- Musí existovat specifické receptory, na které se neurotransmitery vážou a musí vyvolat fyziologickou odezvu.

Jako vzor pro tato „klasická“ kritéria sloužil Ach, jako neurotransmitter cholinergní inervace, ale s objevováním nových neuromediátorů se výše uvedená kritéria mohou modifikovat a měnit. Některé nově objevené signální molekuly totiž nejsou ani skladovány v synaptických váčcích, ani nejsou uvolňovány exocytózou a nepůsobí ani na klasických postsynaptických receptorech.

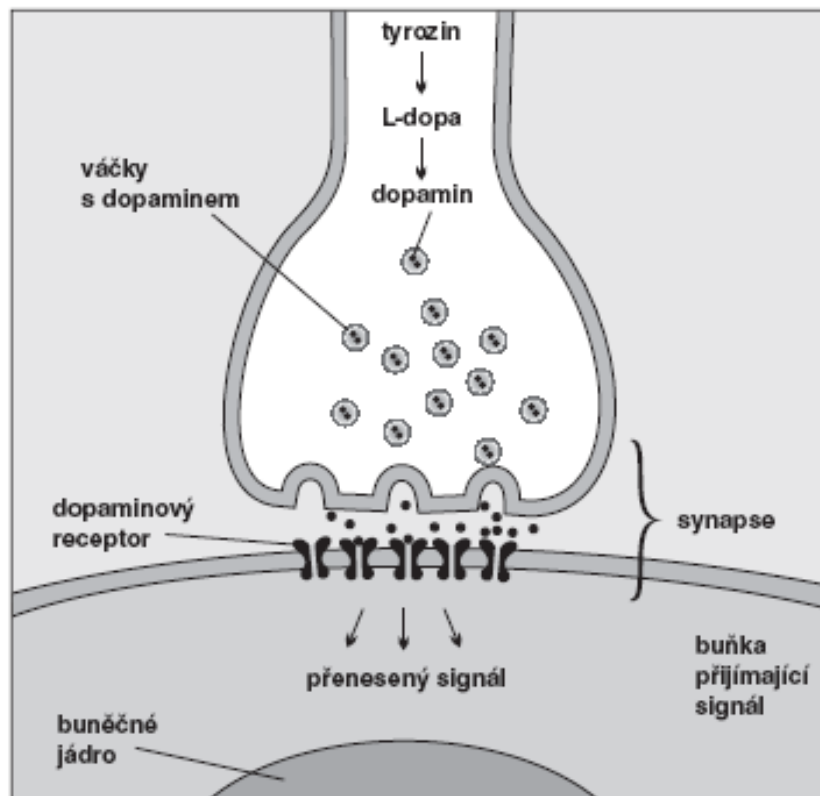
Klasické neurotransmitery jsou enzymaticky syntetizovány z jiných chemických látek, tzv. perkurzorů, které se do neuronů dostávají obvykle ve spolupráci s gliovými buňkami. Nově syntetizované nebo zpětně vychytané neuromediátory jsou skladovány v synaptických váčcích. Většina synaptických váčků vzniká v Golgiho aparátu nebo v hladkém endoplazmatickém retikulu. Část synaptických váčků může vzniknout endocytózou membrány, což je opačný proces k fúzi váčku s presynaptickou membránou při uvolnění mediátoru do synaptické štěrbiny. (Fabiánová, 2006)

2.1. Hlavní typy neuromediátorů v CNS

Neurotransmitery lze rozdělit na základě struktury na aminy a aminokyseliny (případně peptidy, viz také tab.1) . Mezi „klasické“ **neuromediátory** se řadí např. Ach, dopamin, adrenalin a noradrenalin, serotonin, GABA apod., jsou syntetizovány v nervových zakončeních. Enzymy nezbytné pro jejich syntézu jsou tvořeny v buněčném těle. **Peptidové neuromediátory**, např. substance P či ostatní neurokininy, bombesin, cholecystokinin, galanin, VIP a další, jsou syntetizovány v těle neuronu. Jedná se o nejpočetnější skupinu neuromediátorů a stále jsou objevovány další. Neuropeptidy se oproti klasickým transmitterům vyskytují v nižších koncentracích, ale jejich receptory mají mnohem vyšší afinitu. I strukturně podobné neuropeptidy mohou mít výrazně odlišné funkce. Prekurzory neuropeptidů jsou syntetizovány na ribozomech endoplazmatického retikula a upraveny v Golgiho aparátu, kde vznikají velké granulární váčky, které jsou pak transportovány axonem do nervových zakončení. Během axonálního transportu dochází ve váčcích k dalším posttranslačním úpravám neuropeptidů. Neuropeptidy jsou uvolňovány do štěrbiny exocytózou, v odezvě na relativně malé zvýšení koncentrace Ca^{2+} v cytosolu, tzn. obvykle poměrně daleko od místa vstupu Ca^{2+} do buňky. Neuropeptidy nejsou opětovně využívány zpětným vychytáváním a inkorporací do synaptických váčků, jako je tomu u klasických neuromediátorů. Jednotlivé neurony mohou obsahovat

a uvolňovat i více než jeden neuromediátor. Klasický neuromediátor může mít i několik kotransmiterů, tedy dalších látek které se musí na receptor navázat, aby bylo dosaženo biologické odezvy.

Počet známých neuromediátorů není konečný. Stále jsou objevovány nové mediátory nebo jsou objevovány nové funkce již dříve známých neuromodulátorů. (Patočka, 2002)



Obrázek 1: Přenos informace z jedné nervové buňky do druhé prostřednictvím mediátoru dopaminu. (Vyskočil, 2001)

Tabulka 1: Přehled některých mediátorů v nervovém systému savců. (upraveno podle: Ganong, 1995)

Mediátor	Lokalizace
acetylcholin	nervosvalové spojení, pregangliová autonomní zakončení, postgangliová parasympatická zakončení, postgangliová zakončení v potních žlázách a svalových vazodilatačních zakončeních, mnoho částí mozku
<i>aminy</i> dopamin	SIF buňky v gangliích sympatiku, striatum, eminentia mediana a jiné části hypothalamu, limbický systém, části neokortexu, zakonč. některých interneuronů retiny
noradrenalin	většina postgangliových vláken sympatiku, mozková kůra, hypothalamus, mozkový kmen, mozeček, mícha
adrenalin	hypothalamus, thalamus, periaqueduktální šedí, mícha
serotonin	hypothalamus, limbický systém, mozeček, mícha, retina
histamin	hypothalamus
<i>excitační aminokyseliny</i> glutamát	mozková kůra, mozkový kmen
aspartát	mícha, thalamus
<i>inhibiční aminokyseliny</i> glycin	neurony zprostředkující přímou inhibici, retina
kys. gamaaminomáselná (GABA)	mozeček, mozková kůra, neurony zprostředkující presynaptickou inhibici, retina
<i>puriny</i> adenosin	neokortex, čichová kůra, hipokampus, mozeček
ATP	primární aferentace
<i>polypeptidy</i> substance P	zakončení prim. aferentních neuronů zprostředkujících bolest, mnoho částí mozku, retina
vasopresin	zadní lalok hypofýzy, prodloužená mícha, páteřní mícha
oxytocin	zadní lalok hypofýzy, prodloužená mícha, páteřní mícha

Mediátor	Lokalizace
<i>polypeptidy</i>	
CRH (kortikotropin releasing hormon)	eminentia mediana hypothalamu, další části mozku
TRH (tyreotropin releasing hormon)	eminentia mediana hypothalamu, další části mozku, retina
GRH (gonadotropin releasing hormon)	eminentia mediana hypothalamu
somatostatin	eminentia mediana hypothalamu, další části mozku, substantia gelatinosa, retina
endoteliny	zadní lalok hypofýzy, mozkový kmen
enkefaliny	substantia gelatinosa, mnoho dalších částí CNS
beta-endorfin	hypothalamus, thalamus, mozkový kmen, retina
VIP (vazoaktivní intestinální polypeptid)	postgangliové cholinergní neurony, některé senzorické neurony, hypothalamus, mozková kůra, retina
neuropeptidy	noradrenergní, adrenergní a jiné neurony prodloužené míchy, periaqueduktální šedi a hypothalamu, autonom. nervový systém
aktiviny	mozkový kmen
inhibiny	mozkový kmen

2.2. Nejběžněji se vyskytující mediátory

Acetylcholin – jde o acetylestér cholinu. Neurony, které jej uvolňují jsou označovány jako cholinergní. Ach převažuje v oblasti hipokampu, která má důležitou úlohu při tvorbě paměťových stop. Nejdůležitějším zdrojem Ach pro mozkovou kůru je bazální telencephalon (ncl. basalis Meynerti). Dále se vyskytuje v motorické kůře mozku, thalamu a v mozkovém kmeni. Při poškození paměti a dalších kognitivních funkcí (např. u Alzheimerovy choroby) je jeho syntéza snížena. Uvolňuje se v zakončených motorických nervů, což excituje hladké a příčně pruhované svalstvo. Léky, které snižují účinky Ach (parasympatolytika), mohou nepříznivě ovlivnit paměť. (Ganong, 1995; Fabiánová, 2006)



Obrázek 2: Syntéza a odbourávání acetylcholinu. (upraveno podle: Ganong, 1995)

Noradrenalin (norepinefrin) – katecholamin, je produkován především v oblasti mozkového kmene, v mozečku a epifýze, jakákoli látka, která působí na množství noradrenalinu v mozku, ovlivňuje náladu, příkladem mohou být psychostimulancia. Noradrenalin je syntetizován z aminokyseliny tyrozinu:

tyrozin → L-dopa → dopamin → noradrenalin → adrenalin (Fabiánová, 2006)

Kyselina gamaaminomáselná (GABA) – inhibiční neuromediátor, vzniká dekarboxylací kyseliny L-glutamové za působení enzymu GAD (dekarboxyláza kys. glutamové). Nezbytná je přítomnost vitamínu B6 jako kofaktoru. Podílí se na presynaptické i postsynaptické inhibici. Receptory citlivé na GABA způsobují otevření iontového kanálu pro anionty chloru, a tím snižují vzrušivost neuronu. Tento mechanismus brání nadměrné vzrušivosti neuronu, a tím přetížení neuronálních sítí. GABA se vyskytuje téměř výlučně v mozku.

Dopamin – katecholamin, je tvořen především v černém jádře středního mozku, v některých částech bazálních ganglií a také v hypothalamu. Má vliv na paměť a motoriku. Dopamin má rozhodující význam při zpracování informací v čelním laloku mozku. Vzniká z tyrosinu působením Tyr-hydroxylázy. Funguje také jako neurohormon.

Serotonin (5-hydroxytryptamin) – převážně se tvoří v mozkovém kmeni (prodloužená mícha, most a střední mozek) v jádrech raphe, odkud vedou serotogenní dráhy do hypothalamu, limbického systému a šedé kůry mozkové. Serotoninergní inervace těchto oblastí významně ovlivňuje procesy učení a paměti. Patří do skupiny monoaminů, je syntetizován z aminokyseliny tryptofanu. V současnosti je známo celkem sedm základních typů serotoninových receptorů (5-HT₁ – 5HT₇), které se dále dělí na subtypy. (Langmeier a spol., 2004; Fabiánová, 2006)

L-glutamát – nejčastější transmitter v CNS. Je to excitační aminokyselinový mediátor. Vyskytuje se v mozkové kůře a v mozečku. Vzniká z kyseliny alfa-ketoglutarové. L-glutamát aktivuje dvě funkčně rozdílné skupiny receptorů: ligandem řízený iontový kanál propustný pro Na⁺, K⁺ a Ca²⁺, patří sem: AMPA receptory (α-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolpropionové receptory), kainátové receptory a NMDA receptory a metabotropní receptory (membránové receptory spojené s G proteiny). Nejdůležitější jsou **NMDA receptory**, které se hojně vyskytují v celém mozku, zejména pak v hipokampu. Jsou exprimovány na všech neuronech a jsou přítomny nejen na synapsích, ale i v mimosynaptických oblastech. Na rozdíl od většiny receptorů jsou k jeho aktivaci nutné dva po sobě jdoucí signály. Signál od prvního neuronu způsobí senzitivizaci membrány, ve které se nachází NMDA receptor. Druhý signál NMDA receptor aktivuje. NMDA receptory se především uplatňují při dlouhodobé potenciaci (long-term potentiation, LTP). (Petrovič a spol., 2004; Bubeníková, 2005; Fabiánová, 2006)

Glycin – inhibiční neurotransmitter, jeho prekurzorem je serin.

Histamin – v mozku se vyskytují H₁ receptory.

L-aspartát – excitační aminokyselina, spolu s glutamátem je to hlavní excitační mediátor v mozku. Aktivuje stejné receptory jako glutamát. Podílí se na synaptickém přenosu v částech thalamu a míchy.

Oxid dusnatý (NO) – neurotransmitter první třídy, tzv. první posel. Na rozdíl od ostatních mediátorů se uvolňuje ze stimulované buňky nejen na synapsích, ale i v celém průběhu axonu a v těle buňky. Tvoří se podle potřeby a ihned se využívá. Ovlivňuje LTP v hipokampu a dlouhodobou depresi (long-term depression, LTD) v mozečku. LTP má pravděpodobně dvě formy: **NO - dependentní**

a **NO – independentní**. NO je v mozečku uvolňován hlavně z paralelních vláken. LTD je na synapsích mezi paralelními vlákny a Purkyňovými buňkami vyjádřena zejména postsynapticky. V hipokampu je NO považován za retrográdního intracelulárního posla, důležitého pro indukci na aktivitě závislé synaptické plasticity.

Dehydroepiandrosteron (DHEA) – ve formě **sulfátu (DHEAS)** způsobuje zlepšení paměti prostřednictvím modulace GABA_A receptorů. Nekonjugovaný DHEA působí přitom opačně než jeho sulfát. Řadí se mezi neurosteroidy. Výsledky studií zkoumajících ovlivnění paměťových a percepčních schopností pomocí DHEA však nejsou zcela jednoznačné.

D-serin – je syntetizován z L-serinu za působení enzymu serin-racemázy. Na rozdíl od některých jiných neurotransmiterů není produkován neurony, ale je produktem jiných mozkových buněk – astrocytů. Působí jako kotransmitter na NMDA receptorech, kde se váže na vazebné místo pro glycin a moduluje tak účinek hlavního mediátoru NMDA-receptorů – glutamátu. Zvýšení hladiny D-serinu a glutamátu vede k prodloužení aktivace NMDA receptorů, zvýšenému průniku vápníku do neuronu a může dojít až k jeho zničení. Aktivace NMDA receptorů souvisí s mnoha významnými funkcemi mozku včetně procesů učení a paměti. D-serin hraje důležitou roli v patologii některých neurodegenerativních onemocnění, jako je např. Alzheimerova nemoc. Toto onemocnění je s velkou pravděpodobností způsobeno - mimo jiné - právě nadměrnou aktivací NMDA-receptorů a masivním vstupem vápníku do nervových buněk. Skutečný význam D-serinu jako neurotransmiteru však není dosud znám. (Patočka a Höschl, 2004; Fabiánová, 2006)

Neurokininy – tvoří rozsáhlou skupinu peptidů, některé z nich jsou považovány za neuromediátory. Významným zástupcem je **substance P**, který je produktem štěpení preprotachykininu A. Váže se na specifické neurokininové receptory 1 (NK 1) a zasahuje do regulace řady fyziologických reakcí. **Neurokinin A** je malý tachykininový peptid, vázající specifický neurokininový receptor 2 (NK 2). Na neurokininový receptor 3 (NK 3) se váže **neurokinin B**. Tachykininové peptidy jsou významné v mnoha fyziologických a patologických procesech, jako např. zánět, vaskulární permeabilita, bolest, aj. (Patočka, 2002)

Vedle klasických neuromediátorů byly v CNS nalezeny další látky, které splňují kritéria definující neuromediátor či neuromodulátor. Jejich úloha ve fyziologii a patofyziologii je však zatím nejasná. (Fabiánová, 2006)

3. Centrální cholinergní systém

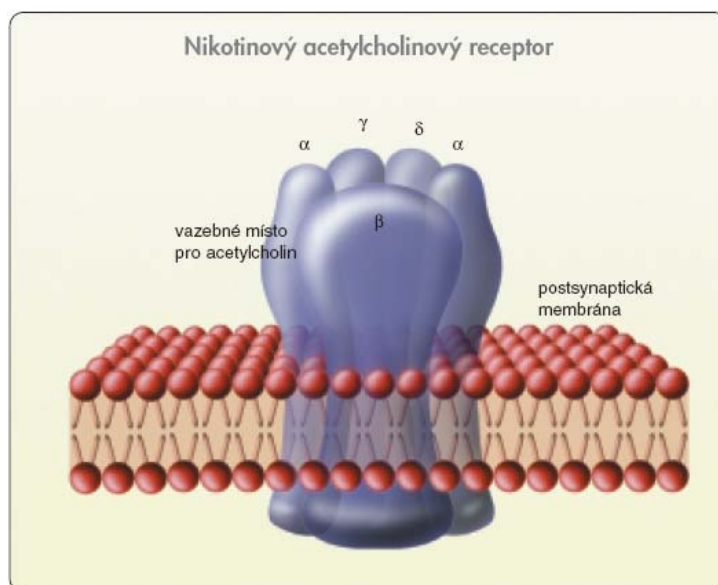
Centrální cholinergní systém je neurotransmiterový systém mozku, který je důležitý zejména pro mechanismy kognitivních funkcí. Výrazně se podílí na procesech učení a paměti. Předpokládá se, že tvoří substrát pro krátkodobou paměť a pro konsolidační fázi paměti zejména tím, že tvoří přechodná spojení, reverberační okruhy, po kterých procházejí vzruchy. Při jeho farmakologické bloádě, např. užitím skopolaminu, dochází k tomu, že osoby nejsou schopny vštípit nové paměťové obsahy, ale dříve vštípené paměťové obsahy zůstávají zachovány. Blokáda centrálního cholinergního systému může vyvolat deliria. Cholinergní neurony nucleus basalis Meynerti vytváří především projekce do kortexu, včetně entorhinální korové oblasti. Významná projekce je i do hipokampu. Další část cholinergních neuronů tvoří tzv. asociativní vlákna, která vzájemně propojují jednotlivé korové oblasti. Významné zastoupení cholinergních vláken je i v oblasti bazálních ganglií, kde vytvářejí tzv. vnitřní cholinergní okruh, cholinergní neurony septa pak projikují do hipokampu. (Jirák, 2001; Jirák, 2006)

Cholinergní hypofunkce, při které je v mozku nedostatek Ach, vede k poklesu kognitivních a intelektuálních funkcí člověka a označuje se jako demence. Nejznámější neurologickou poruchou tohoto charakteru je Alzheimerova choroba. Etiologie tohoto onemocnění není známa, ví se však, že má multifaktoriální charakter a na jejím vzniku se podílí genetické i negenetické faktory. V časných fázích Alzheimerovy nemoci dochází k poruše zejména presynaptické části cholinergních neuronů. Je snížena aktivita enzymu cholinacetyltransferázy (CAT), který syntetizuje Ach z cholinu a acetyl-koenzymu A. Acetyl-koenzym A je tvořen v Krebsově cyklu a kromě tvorby Ach je substrátem pro syntézu adenosintrifosfátu (ATP). Za určitých podmínek, jako je hypoxie, jsou přednostně vytvářeny molekuly ATP na úkor Ach, který je pak deficitní. Cholin není syntetizován v mozku a obtížně přechází přes hematoencefalickou bariéru. K tvorbě Ach je získáván zejména z látek, které jej obsahují, jako např. fosfatidylcholin, fosfatidylinositol a fosfatidylserin. Do neuronů je pak přenášen mechanismem označovaným jako vysokoafinitní cholinový transport (uptake). Tento mechanismus je Na^+ dependentní. V průběhu nervové aktivity se uptake cholinu do nervových buněk zvyšuje. Po uvolnění z presynaptických zakončení se Ach váže na své postsynaptické receptory - muskarinové a nikotinové.

Muskarinové acetylcholinové receptory (mAChR) - patří do rodiny G-proteinových receptorů a vyskytují se v 5 modifikacích jako podjednotky M_1 až M_5 . Jejich rozložení v CNS není rovnoměrné, např. v oblastech významných pro mechanismy paměti, hipokampu a kortexu, je nejvíce zastoupen typ M_1 .

Nikotinové acetylcholinové receptory (nAChR) - jsou ligandem řízené iontové kanály. Jsou tvořeny komplexem pěti podjednotek, které patří podle své odlišné polypeptidové struktury do čtyř skupin, označovaných α , β , γ , δ . Ve skupině α podjednotek bylo identifikováno ještě dalších devět podtypů (α_1 – α_9), ve skupině β čtyři (β_1 – β_4). Tyto údaje naznačují, že nAChR jako pětičlenné kombinace rozličných podjednotek vykazují velkou diverzitu ve své struktuře, a tudíž i ve funkci. Působí nejen na synapsích cholinergních neuronů, ale také – prostřednictvím presynaptické lokalizace na axonech jiných přenašečových systémů – modulují uvolňování dalších neurotransmiterů mechanismem ko-transmise (GABA, dopamin, noradrenalin, serotonin, glutamát). Tato presynaptická modulace excitační a inhibiční neurotransmise hraje klíčovou roli v udržování normálních funkcí mozku. Ve srovnání s mAChR je množství nAChR v lidském mozku nižší. U Alzheimerovy choroby dochází k signifikantnímu úbytku nAChR v kortexu, hipokampu i dalších oblastech, kdežto změny mAChR nejsou výrazné a vyskytují se nepravidelně. Z nikotinových receptorů se v CNS vyskytují typy α_2 – α_9 , které se dále dělí na další podtypy. Jejich stimulace nebo alosterická modulace zlepšuje cholinergní transmissi a zřejmě vede k uvolňování nervových růstových faktorů.

Po uvolnění z vazby na receptory je Ach odbouráván enzymy cholinesterázami na kyselinu octovou a cholin. Cholin je poté opět mechanismem vysokoafinitního transportu přenášen do presynaptického oddílu neuronu. (Patočka, 1998; Jiráček, 2001; Benešová, 2003; Jiráček a Koukolík, 2004; Jiráček, 2006)



Obrázek 3: Nikotinový acetylcholinový receptor. (Piřha, 2004)

Cholinesterázy jsou enzymy odbourávající Ach. Jejich inhibicí dojde k prodloužení životnosti molekul Ach na synapsích, a ke zvýšení jeho vazby na muskarinové a nikotinové Achové receptory. Za normálních okolností se uplatňuje zejména AChE, u Alzheimerovy choroby a u demencí s Lewyho tělísky navíc i butyrylcholinesteráza (BuChE). Molekuly BuChE jsou u těchto onemocnění tvořeny transformovanými gliovými elementy v oblasti plaků a podílí se snad i na odbourávání Ach. U pacientů s těmito onemocněními se cholinesterázy v mozku vyskytují i jinde než cholinergní neurony. Podílejí se na tvorbě nerozpustného β -amyloidu ($A\beta$), proto inhibice cholinesteráz příznivě zasahuje do základních mechanismů neurodegenerace. (Jiráek a Zemková, 2002)

Na molekulární úrovni mají AChE a BuChE z 65% společnou sekvenční homologii aminokyselin, jsou však kódovány různými geny na lidských chromozomech 7 (AChE) a 3 (BuChE). O vzniku odlišných, avšak příbuzných molekulárních forem AChE a také BuChE rozhoduje vždy jediný gen, a to v důsledku alternativního sestřihu kódovací oblasti původního transkriptu. To má za následek vznik AChE a BuChE, které mají podobné katalytické vlastnosti, ale odlišnou buněčnou a mimobuněčnou distribuci a rozdílné nekatalytické aktivity. Strukturální vlastnosti těchto dvou cholinesteráz odpovídají za rozdíly v jejich substrátové specifitě. AChE je vysoce selektivní pro hydrolýzu ACh, zatímco BuChE je schopna metabolizovat několik různých molekul xenobiotik, např. suxametonu. (Brunovský, 2007)

AChE má několik molekulárních forem, které mohou obsahovat jednu, dvě nebo čtyři katalytické podjednotky (monomerní G1, dimerní G2 a tetramerní G4). V mozku zdravého člověka převládá tetramerní forma G4, monomerní forma G1 je naopak minoritní. Jejich poměr se v různých oblastech mozku liší. Z terapeutického hlediska je však nejdůležitější blokáda izoformy G1. Tato izoforma se totiž nachází preferenčně v kortexu, hipokampu a amygdale, tedy většinou v těch oblastech CNS, které jsou pro rozvoj Alzheimerovy choroby nejdůležitější. BuChE se také vyskytuje v molekulárních formách, ale ve zralém mozku převládá izoforma G4. Za normálních okolností je v mozku člověka BuChE zastoupena zcela minoritně. (Pidrman a spol., 2003; Jiráček, 2006; Brunovský, 2007)

Bylo prokázáno, že účinnost inhibice cholinesteráz jednotlivými typy IChE je v různých oblastech mozku významně odlišná, v důsledku rozdílné selektivity vůči molekulárním izoformám. V normálním mozku se AChE vyskytuje v neuronech a axonech a BuChE v oblastech glie a v endotelových buňkách. V hipokampu, thalamu a amygdale se častěji vyskytují BuChE-imunopozitivní neurony. Například více než 90% neuronů v některých jádrech thalamu vykazuje intenzivní zbarvení při BuChE-pozitivním imunobarvení. Jádra v thalamu mají specifickou i nespecifickou projekci do různých kortikálních oblastí. Specifická projekce je obvykle z jader, která vykazují BuChE aktivitu a jejich poškození je spojeno s výskytem poruch pracovní paměti, pozornosti, exekutivních funkcí a poruchami chování. Mediodorzální thalamická jádra, která jsou bohatá na BuChE-pozitivní neurony, vykazují projekci převážně do prefrontální kůry a cingula a mají zásadní význam pro krátkodobou paměť, plánování a sekvenční zpracování komplexního chování. Tyto funkce jsou výrazně narušeny u Alzheimerovy choroby. U této nemoci dochází již v časném stadiu k značnému deficitu Ach v entorhinální kůře, hipokampu a přilehlých oblastech temporální kůry. Postupně dochází k cholinergní denervaci v temporálních lalocích a v přilehlých limbických a paralimbických oblastech. Cholinergní inervace thalamu, striata, a také cholinergní systém mozkového kmene zůstávají relativně neporušené. Cholinergní léze u Alzheimerovy choroby tedy není generalizovaná. V průběhu nemoci však postupně dochází k degeneraci dalších neurotransmiterových systémů a také k vzájemné potenciaci různých neurodegenerativních mechanismů. (Brunovský, 2007)

U Alzheimerovy demence je tedy centrální cholinergní systém postižen primárně, narušeny jsou však i ostatní mediátorové systémy mozku. (Patočka, 1998; Jiráček, 2006)

4. Poruchy učení a paměti

Paměť je schopnost ukládat, uchovávat a vybavovat informace většinou osvojené učením. V současnosti se paměť považuje za modulární systém, jenž má zúžené profily informačního chodu. „Zúžený profil“ označuje anatomicky vymezenou oblast, jejíž léze výrazně poškodí danou funkci. V lidském mozku je několik paměťových systémů, které se liší svým obsahem, časovým rozpětím, jež pokrývají a svým anatomickým podkladem. Vzhledem k tomu, že paměť není jednotná funkce, nejsou jednotné ani její poruchy. Klinický obraz dysfunkcí jednotlivých typů pamětí se tedy liší, vzhledem k různým anatomickým substrátům jednotlivých typů pamětí. (Koukolík, 1997; Rusina, 2004)

4.1. Druhy pamětí

Krátkodobá paměť (short-term memory) uchovává informace řádově v sekundách. Je charakterizována omezenou kapacitou. Krátkodobá paměť je založena na vzájemném propojení tří funkčních okruhů: centrálního exekutivního (asociační kůra dorzolaterální frontální krajiny) a dvou okruhů „unimodálních“ – zahrnující asociační zrakové a sluchové oblasti. Krátkodobá paměť může být zachována i při rozsáhlejší postihnutí mediotemporální oblasti. (Koukolík, 1997; Koukolík, 2000; Rusina, 2004)

Pracovní paměť (working memory) je vědomá paměť pro aktuální události. Trvá déle než krátkodobá paměť, ale méně než dlouhodobá. Vydrží asi 60 sekund. Pracovní paměť má tři složky: fonologickou smyčku (systém, ve kterém se ukládají a vyvolávají zvukové informace řečové i neřečové), vizuospaciální náčrtník (zaznamenává zrakové prostorové informace) a centrální výkonnostní (řídící) složku (kontroluje mechanismy pozornosti). Porucha pracovní paměti je obvykle subjektivně vnímána jako ztížené soustředění. (Koukolík, 1997; Koukolík, 2000; Rusina, 2004)

Dlouhodobá paměť (long-term memory) má velkou kapacitu a informace v ní se uchovávají minuty až desetiletí. Dělí se na *deklarativní* (syn. explicitní) a *nedeklarativní* (syn. implicitní). (Koukolík, 1997)

- Deklarativní paměť představuje vědomé vybavení událostí nebo faktických znalostí. Ta se dále rozděluje na paměť *sémantickou* (paměť pro fakta, pojmy, významy slov a znalost předmětů) a *epizodickou* (paměť pro události a jejich

souvislosti vázané na konkrétní čas a prostor, zachycuje časovou posloupnost – „příběh“). Sémantická paměť nebývá poškozena samostatně, ale její dysfunkce je zpravidla součástí širšího kognitivního postižení (např. v rámci demencí). K poškození sémantické paměti dochází při rozsáhlých lezích kůry temporální, parietální a částečně i okcipitální oblasti. Typickým příkladem je degenerativní demence (Alzheimerova nemoc či frontotemporální demence). Důležitou strukturou pro správné fungování deklarativní epizodické paměti je mediální temporální oblast. Intaktní dlouhodobá paměť je tedy podmíněna neporušením parenchymu a vzájemných propojení hipokampu, kůry entorhinální, perirhinální a parahipokampálního gyru. (Koukolík, 1997; Rusina, 2004)

- Nedeklarativní paměť představuje zdánlivě nevědomé vybavení informací, které však byly předtím naučeny nebo podvědomě uloženy v paměti. Existuje řada druhů nedeklarativní paměti, příkladem může být paměť pro *dovednosti (procedurální)*, po naučení nejsou její obsahy závislé na vědomé pozornosti, dále pak *priming* (doslovně spěšná instrukce, podněcování, instruování předem). Procedurální paměť je v úzké vazbě na subkortikální okruhy, především mozečku a bazálních ganglií, není proto porušena při mediotemporálních afekcích, může být ovlivněna dopaminergními látkami. (Koukolík, 1997; Rusina, 2004)

4.2. Poruchy paměti

Amnézie je porucha deklarativní paměti, která se může týkat sémantické či epizodické paměti společně nebo zvlášť. Kromě toho se může týkat událostí, které proběhly před dobou vzniku amnézie – tj. ***retrogradní amnézie***, ale i událostí, které se odehrají po době vzniku amnézie – tj. ***anterogradní amnézie***. Jiné druhy paměti nebývají při amnézii postiženy. Amnézie má řadu příčin a vzniká při poškození různých částí mozku. Nejznámější je hipokampální amnézie vznikající při oboustranném poškození hipokampu. Jde o anterogradní amnézii, kdy si postižená osoba není schopna zapamatovat nová fakta a poznávat nové lidi. Dříve vytvořené paměťové stopy jsou neporušené, protože jsou uloženy v jiné mozkové struktuře, pravděpodobně v mozkové kůře. Člověk si tedy uchovává ty typy paměti,

které s hipokampem nesouvisí, to je především procedurální paměť. (Koukolík, 2000; Rokyta, 2002; Jirák a Koukolík, 2004)

4.2.1. Poruchy paměti při vývoji Alzheimerovy nemoci

Jedním z prvních příznaků Alzheimerovy nemoci je porucha recentní epizodické paměti. Vzniká v důsledku vyvíjející se dyskonekce hipokampální formace neuronálními klubky (tangles) a senilními plaky postihujícími klíčové oblasti informačního vstupu (entorhinální kůra) a výstupu (subiculum). (Jirák a Koukolík, 2004)

4.2.2. Chronická globální amnézie

Jedná se o klinicky významnou poruchu učení novým informacím slovních i neslovních (př. obrazových) bez ohledu na smyslovou cestu jejich vstupu. Nejčastějšími příčinami chronické globální amnézie jsou poranění hlavy a mozku, anoxie (včetně intoxikace zejména oxidem uhelnatým), encefalitidy, Wernicke-Korsakovův syndrom (je důsledkem nedostatku vitamínu B1, který může doprovázet chronický alkoholismus, ale i další příčiny poruch výživy), oboustranné cévní mozkové příhody postihující hlavně hipokampus, příp. diencefalon nebo bazální telencefalon. Chronická globální amnézie je součástí většiny demencí. (Koukolík, 1997)

4.2.3. Tranzitorní globální amnézie

Projevuje se přechodným stavem, v jehož průběhu si postižený jedinec není schopen zapamatovat nové informace. Postihuje obvykle osoby starší padesáti let. Začátek je náhlý, porucha trvá několik hodin, pacienti jsou v jejím průběhu bdělí, komunikují a neztrácejí osobní identitu. V akutní fázi poruchy byla zjištěna výběrová porucha epizodické paměti, která může být anterogradní i retrogradní. Pracovní ani sémantická paměť postiženy nejsou. Rovněž není poškozena paměť procedurální ani priming. Plně zachována je i krátkodobá paměť. Etiologie není současnosti jednoznačně upřesněna. (Koukolík, 2000; Rusina, 2004)

4.2.4. Optická afázie

Lidé s touto poruchou nedokážou pojmenovat předmět, na který se dívají. Okamžitě jej však dokážou pojmenovat, jakmile jej vezmou do ruky nebo jakmile uslyší jeho slovní definici. (Koukolík, 2000)

4.2.5. Sémantická demence

Je klinicky charakterizována selektivním poškozením sémantické paměti, které se projevuje těžkou anomíí, poškozeným chápáním smyslů jednotlivých mluvených i psaných slov, poškozenou tvorbou příkladů v testech plynulosti sémantických kategorií, sníženou mírou obecných znalostí o lidech, předmětech a smyslu slov. Společným anatomickým znakem sémantické demence je atrofie spánkových laloků, obvykle oboustranná, v některých případech jsou změny jen levostranné. Epizodická paměť je relativně zachovaná. (Koukolík, 2000; Jiráček a Koukolík, 2004)

4.2.6. Psychogenní amnézie a syndrom falešné paměti

- *Disociativní amnézie* – je charakterizována neschopností vybavit si významné, obvykle traumatizující nebo stresující osobní informace. Porucha je natolik rozsáhlá, že ji nelze vysvětlit běžnou zapomnětlivostí.
- *Disociativní fuga* – je charakterizována náhlým a nečekaným opuštěním domova nebo místa, kam postižený obvykle chodí do zaměstnání. Postižená osoba není schopna si vybavit vlastní minulost. Dále se projevuje poruchou pocitu osobní identity, mnohdy i domněle novou identitou. Spouštěcími vlivy bývají např. manželské spory, finanční problémy, deprese.
- *Disociativní poruchy identity* – typická přítomnost dvou nebo většího počtu odlišných identit nebo stavů osobnosti, které opakovaně přebírají kontrolu nad chováním postiženého jedince. Stav je doprovázen neschopností vybavit si osobně významné informace. Tato neschopnost je natolik významná, že ji nelze vysvětlit běžnou zapomnětlivostí.
- *Depersonalizační porucha* – postižení jedinci mají opakovaný pocit, že jsou odloučeni od vlastních duševních procesů nebo od vlastního těla, jejich schopnost ověřovat skutečnost je však nedotčená.
- *Syndrom falešné paměti (false memory syndrome)* - týká se „vybavení“ živých vzpomínek na události, které se nestaly. Jde o medializovaný syndrom, jenž se objevuje u dospělých lidí, kteří obviňují své rodiče z údajného sexuálního zneužívání, které mělo proběhnout v dětství. Na zneužívání tito lidé i celé desítky let „zapomněli“. Údajně si je vybavili v průběhu psychoterapie, kterou začali navštěvovat pro potíže odlišného druhu. Popis syndromu falešné paměti existenci sexuálního zneužívání v dětství nikterak nezpochybuje.

Existuje však důvodné podezření, že v některých případech byl syndrom falešné paměti důsledkem psychoterapie, která vzpomínky na události, jež se nestaly, „implantovala“. Podezření narůstá zejména tam, kde byla v průběhu psychoterapie užitá hypnóza, přičemž k „vybavení“ vzpomínek na údajné sexuální zneužívání v dětství, došlo obvykle až po desítkách let. Skálopevné přesvědčení nositele syndromu o tom, že jeho vzpomínky odpovídají skutečnosti, na věci nic nemění. Možnost „implantace“ vzpomínek na skutečnosti, které se nestaly, dokládají experimenty s dětmi i s dospělými lidmi. (Koukolík, 2000)

4.2.7. Anatomie anamnestického syndromu

Amnézie může být zapříčiněna ohraničeným poškozením mnoha různých oblastí mozku:

- ***Hipokampus, amygdala a spánkové laloky***

Postižení recentní epizodické paměti je jedním z prvních příznaků rozvoje Alzheimerovy nemoci. Mikroskopické poškození neuronů charakterizující toto onemocnění (tzv. neuronální klubka, tangles) „isoluje“ hipokampus od jeho spojů s dalšími částmi mozku. Postihuje totiž subiculum, část hipokampu, která je hlavním zdrojem vláken směřujících do mnoha částí mozku. Podobně poškozují neurony II. a III. vrstvy entorhinální kůry, což je významná část kůry parahipokampálního závitu, kam se dostávají sensorické informace všech smyslových modalit a odkud jsou nervovými vlákny vedeny do hipokampu. Není zcela jasné, zda k poškození paměti vede izolované poškození amygdaly, či izolované poškození spánkových laloků doprovázené poruchou paměti, aniž by byl poškozen hipokampus, nebo i diencefalické struktury, jejichž poškození může vést k amnézii. (Koukolík, 1997)

- ***Diencefalon***

Amnézie může být způsobena poškozením diencefala, a to jak thalamu, tak i hypothalamu. Příčinou amnézie v souvislosti s poškozením diencefala je Wernicke-Korsakovův syndrom, cévní mozkové příhody, příp. nádory. Při Wernicke-Korsakovově syndromu bývají poškozena corpora mamillaria a/nebo dorzomediální jádro thalamu. Při plně rozvinutém onemocnění jsou poškozeny i další struktury: paraventrikulární a periduktální šedá hmota mozkového kmene, spodiny

IV. mozkové komory, mozeček, bazální telencefalon. Za místo kritické pro vznik paměťové poruchy se při Wernicke-Korsakovovu syndromu považuje léze předních thalamických jader a mamillothalamického traktu. Izolovaná poškození diencefala, která vedou k amnézii, bývají nejčastěji důsledkem cévních mozkových příhod. Klinicko-anatomické studie dokládají souvislost amnézie s postižením předních částí thalamu. Poškození může být malé, záleží však na strategickém umístění v průběhu mamillothalamický trakt, případně výstupy z amygdaly. (Koukolík , 1997)

- **Bazální telencefalon**

Bazální telencefalon je rozsáhlá, složitá oblast, která tvoří korové a podkorové struktury podél střední linie mozku, při bázi obou hemisfér, ventrálně od bazálních ganglií. Spadají sem amygdala, nucleus accumbens, ventrální pallium, tuberculum olfactorium, čichová kůra, nucleus basalis Meynerti a Brocův diagonální svazek. Nejčastější příčinou ložiskového poškození této oblasti bývá prasklá výduť přední nebo spojovací mozkové tepny, vzácně pak úraz, zánět či nádory. Typicky je bazální telencefalon, zejména pak cholinerní nucleus basalis Meynerti, postižen při Alzheimerově chorobě. (Koukolík, 1997; Koukolík, 2000)

- **Bílá hmota**

Poškození bílé hmoty vede k amnézii tam, kde jsou poškozeny nebo porušeny „úzké profily“ informačního chodu. Důsledkem je odpojení funkčně významných soustav.

- *Isthmus collateralis* je svazek vláken, jehož zdrojem jsou vnitřní části spánkového laloku. Probíhá pod spodinou postranní mozkové komory v hloubce sulcus collateralis. Propojuje zadní části parahipokampálního gyru s korovými oblastmi mapujícími činnost jednoho smyslového systému i oblastí, které současně mapují činnost jejich většího počtu. Informace jsou v tomto systému vedeny oboustranně. Přerušení tohoto svazku odpojuje hipokampus od informačního vstupu i výstupu. Levostranné porušení může způsobit amnézii pro sémantickou paměť, ta může být přechodná.
- Amnézie v důsledku poškození či porušení *fornixu*. Fornix je svazkem vláken, která propojují corpora mamillaria a hipokampus. To, zda dojde ke vzniku amnézie, závisí na stupni přerušení fornixu (úplný, neúplný), na důvodu

poškození (nádor, cévní příhoda, chirurgický zásah), umístění případné destrukce, dále i poškození z funkčního hlediska blízkých struktur – předního thalamu, hypothalamu, příp. g. cinguli a hipokampu.

- *Corpus callosum* je systém nervových vláken, který zrcadlově propojuje příslušné úseky mozkové kůry obou hemisfér. Jeho protětí se trvalou poruchou recentní paměti neprojevuje, zejména pokud se vyšetření provede několik měsíců po operaci a pokud nedošlo k poškození dalších struktur, např. fornixu. (Koukolík, 1997)

Poškození bílé hmoty při roztroušené mozkomíšní skleróze může být také jednou z příčin paměťových poruch. Poškozena bývá jak deklarativní, tak i procedurální paměť – záleží na počtu, umístění a aktivitě chorobných ložisek. (Koukolík, 1997)

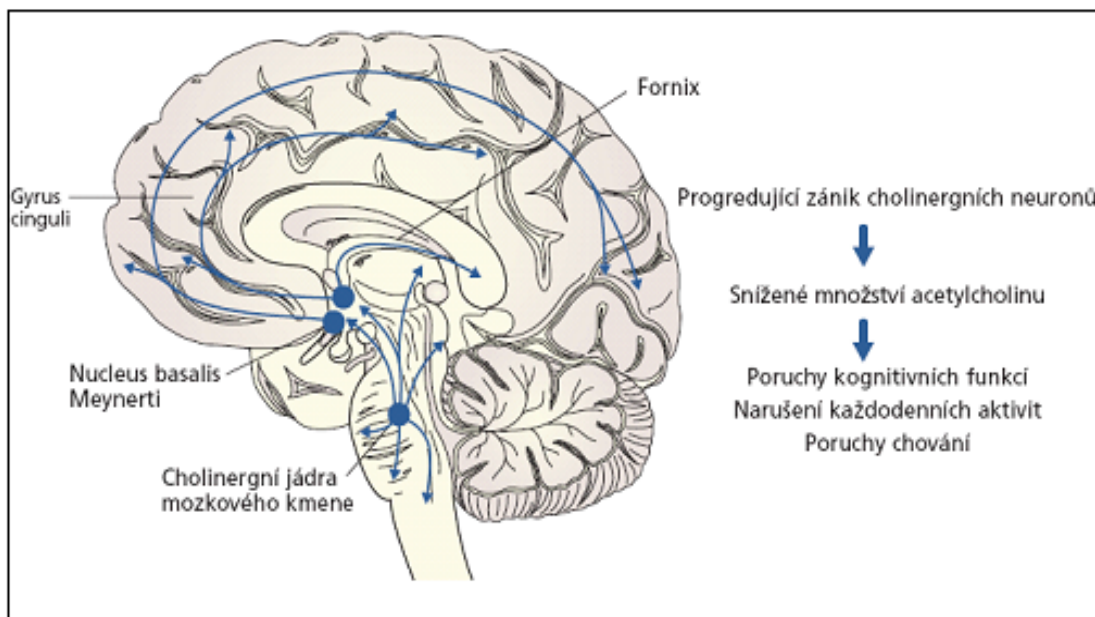
Správné fungování paměti je nezbytnou součástí kognitivních dějů. Účinné terapeutické ovlivnění paměťových poruch však bohužel není stále uspokojivé. (Rusina, 2004)

5. Přehled moderních kognitiv

Kognitiva jsou farmaka, která příznivě ovlivňují centrální cholinergní přenos, obecně tedy působí centrálně cholinomimeticky. Jsou určena k terapii porušených kognitivních (poznávacích) funkcí, mezi které se řadí zejména paměť, intelekt, pozornost, schopnost učení a motivace. (Jirák, 2001; Jirák a Zemková, 2002)

Centrální cholinergní systém je neurotransmiterový systém mozku, který hraje důležitou roli v procesech učení a paměti a jeho porucha vede především k poruše krátkodobé a střednědobé paměti (zejména je porušena konsolidační fáze paměti – vstřípení nových paměťových obsahů). Tento systém je zvláště porušen u Alzheimerovy choroby a dále pak u demence s Lewyho tělísky, u parkinsonských demencí a také u ischemicko-vaskulárních demencí. (Jirák, 2001; Jirák a Zemková, 2002)

Alzheimerova choroba je neurodegenerativní onemocnění, které se klinicky projevuje jako demence. Je charakterizována progresivní ztrátou paměti a kognitivních funkcí. Patogenetickým znakem Alzheimerovy choroby je nahromadění plaků z A β . A β vyvolává řadu neurotoxických projevů, např. tvorbu reaktivních kyslíkových radikálů. U pacientů s tímto onemocněním jsou porušeny všechny oddíly cholinergního systému. Postižena jsou zejména cholinergní vlákna difúzně projikující z nucleus basalis Meynerti do neokortexu, ale i další vlákna, např. kmenová, podílející se na regulaci kvalitativní úrovně vědomí. Je snížena hladina CAT a je snížen také tzv. vysokoafinitní Na⁺ dependentní cholinový uptake, a tedy nabídka substrátu pro syntézu Ach. Důsledkem toho je snížené uvolnění Ach na presynaptických zakončeních. Rovněž je snížen počet nAChR, počet postsynaptických mAChR zůstává – alespoň v počátečních fázích nemoci - relativně nezměněn. (Mayeux R. a Sano M., 1999; Emilien a spol., 2000; Jirák, 2004; Jirák, 2005; Brunovský, 2007)



Obrázek 4: Cholinergní deficit u Alzheimerovy nemoci. (Brunovský, 2006)

Zlepšení centrální cholinergní transmise působí příznivě jak u Alzheimerovy choroby, tak u dalších demencí, např. vaskulárních. (Brunovský, 2007)

Vlastní farmakoterapii demencí, včetně Alzheimerovy nemoci, lze rozdělit na farmakoterapii kognitivních funkcí (paměť, vnímání, pozornost aj.) a na farmakoterapii ostatních funkcí (poruch chování, emocí, spánku, léčbu přidružených delirií apod., často se používá souhrnného označení „behaviorální“ funkce). Kognitivní funkce jsou u demencí postiženy primárně. (Jiráček, 2004)

Současná symptomatická léčba Alzheimerovy demence se zakládá na oddálení progresu jejich symptomů podporováním cholinergní neurotransmise. K posílení cholinergního systému bylo vyvinuto několik léčebných postupů, např. zvýšení tvorby Ach z cholinových prekurzorů (cholin a lecitin); inhibice AChE pomocí IChE (zábrana rozkladu acetylcholinu na synapsích); přímá stimulace postsynaptických muskarinových receptorů receptorovými agonisty. (Emilien a spol., 2000; Brunovský, 2007)

Z léčiv se u Alzheimerovy choroby v současné době nejvíce uplatňují IChE, jejichž účinek byl prokázán klinickými studiemi a spočívá zejména ve zpomalení progresu demence a v prodloužení soběstačnosti pacienta. V současné době je v ČR (podobně jako ve většině států Evropy) používán donepezil, rivastigmin a galantamin (GAL), další látky jsou klinicky zkoušeny. Jsou indikovány u lehkých až středně

těžkých forem onemocnění, pro těžší stadia je pak indikován antagonist glutamátových NMDA receptorů memantin. (Jiráček, 2001; Jiráček a Zemková, 2002; Jiráček, 2004)

Tabulka 2: Inhibitory acetylcholinesterázy (upraveno podle: Rektorová, 2002)¹

léky (u nás dostupné)	Donepezil (Aricept®)	Rivastigmin (Exelon®)	Galantamin (Reminyl®)
na trhu (rok)	1997	1998	2000
selektivita inhibice AChE	vysoká	vysoká (G1 forma)	vysoká
chemická skupina	piperidiny	karbamáty	alkaloidy
inhibované enzymy	AChE	AChE BuChE	AChE
charakter inhibice AChE	reverzibilní	pseudoireverzibilní	reverzibilní
ovlivnění nACh receptorů	ano	?	ano: alosterická modulace
T1/2 (hod)	70-80	12	5-8
hepatální metabolismus	P4502D6+3A4	0, nejsou lékové interakce	P4502D6+3A4
denní dávka (mg)	5-10	6-12	20-40
titrace účinné dávky	ne	ano	ano
schéma dávkování	1 x denně	2 x denně	2 x denně

Centrální cholinergní systém v CNS lze pozitivně ovlivnit několika mechanismy vedoucími ke zvýšení nabídky molekul Ach k vazbě na receptory:

- **Podávání prekurzorů acetylcholinu.**
- **Podávání inhibitorů cholinesteráz.**
- **Podávání přímých agonistů muskarinových a nikotinových receptorů.**
- **Podávání látek ovlivňujících cholinergní systém pomocí ovlivnění jiných neurotransmiterových systémů.**
- **Podávání dalších látek, např. látek zlepšujících vstup cholinu do neuronů, syntézu a uvolnění acetylcholinu.**

¹ V mozku pacientů s Alzheimerovou chorobou dochází k degeneraci cholinergních neuronů v nucleus basalis Meynerti, k poklesu celkového množství Ach, korové AChE a CAT, zvýšení BuChE a ke ztrátě nAChR a mAChR.

5.1. Podávání prekurzorů acetylcholinu

Samotný Ach je po parenterálním podání velmi rychle odbourán, proto ho nelze terapeuticky využít. Cholin neprochází v dostatečném množství hematoencefalickou bariérou, navíc může působit depresogenně. Netvoří se v neuronech, ale vzniká v CNS z látek, které jej obsahují jako je např. fosfatidylcholin. Proto se v terapii využívají látky obsahující fosfatidylcholin, především lecitin. Účinek těchto látek v léčbě Alzheimerovy choroby a dalších demencí je však sporný. Diskutován je zejména dostatečný prostup přes hematoencefalickou bariéru. U nás se používají různé formy *sojového lecitinu* nebo *cholin alfoscerát*. U těchto látek však nebyl prokázán kontrolovanými klinickými studiemi léčebný efekt. Neúčinnost je vysvětlována především jejich malou prostupností přes hematoencefalickou bariéru. Užívají se tedy spíše jako dietetické přípravky nebo pomocná léčiva při základní terapii IChE. (Jirák, 2001; Jirák, 2004; Jirák a Koukolík, 2004)

5.2. Podávání inhibitorů cholinesteráz

Jedná se o prozatím (vedle memantinu) nejúčinnější typ farmakoterapie u Alzheimerovy choroby a u demence s Lewyho tělísky. Zablokováním enzymu AChE dojde k delšímu přežívání molekul Ach, a tím se zvyšuje jejich možnost vázat se na muskarinové a nikotinové receptory. Principem IChE je kompetice s Ach na molekule AChE. (Jirák, 2001)

Léčba IChE probíhá ve dvou fázích:

- Fáze zvyšování dávky až do dosažení klinického účinku nebo maximálně tolerované terapeutické dávky (= fáze titrační).
- Fáze dlouhodobá udržovací. (Brunovský, 2007)

Existují tři typy inhibice AChE:

- *Reverzibilní* – inhibitor nebo jeho aktivní metabolit vytváří s molekulou AChE reverzibilní komplex, který trvá tak dlouho, dokud jsou inhibitor nebo jeho aktivní metabolit přítomny v plazmě.
- *Ireverzibilní* - dochází ke vzniku komplexu AChE - inhibitor, tento komplex je již trvalý, nedochází k uvolnění takto inhibované AChE.

- *Pseudoireverzibilní* - dochází ke kompetitivnímu vytěsnění molekuly Ach z vazebného místa enzymu inhibítorem a ten je pak sám AChE odbouráván. Po jeho odbourání se molekula enzymu funkčně obnoví, působení inhibítoru však trvá déle než vlastní přítomnost v plazmě. (Jiráček, 2001; Jiráček, 2002; Jiráček a Koukolík, 2004)

Požadavky na inhibitory acetylcholinesterázy:

- Musí dobře procházet přes hematoencefalickou bariéru.
- Neměly by ovlivňovat periferní cholinesterázy (hrozí nežádoucí účinky – nauzea a zvracení, křeče v důsledku zvýšení nervosvalového přenosu).
- Měly by být schopny ovlivnit obě izoformy AChE, G2 i G4.

Po podávání terapeutických dávek IChE v klinických studiích došlo ve srovnání s placebem k přechodnému zlepšení kognitivních funkcí. Toto zlepšení je individuální u různých pacientů. Zlepšení trvá asi půl roku až rok, kdy dosáhne výchozí úrovně před zahájením léčby. Poté se kognitivní výkonnost dostává pod tuto úroveň, ale klesá pomaleji než po placebu. IChE pozitivně ovlivňují jak kognitivní funkce, tak i funkce nekognitivní (behaviorální). Dochází ke zlepšení v oblasti chování, mírní se agresivní projevy, může dojít i ke zlepšení spánku apod. Tyto látky nemoc nezastavují, avšak jejich podání prodlužuje aktivní období pacienta, tedy období lehké demence, kdy je nemocný ještě relativně soběstačný a nezatěžuje tolik svoji rodinu a jiné pečovatele.

Nežádoucí vedlejší účinky IChE jsou odvozeny především od toho, že tyto látky do určité míry nespecificky ovlivňují i periferní cholinesterázy. Mezi nejčastější nežádoucí účinky patří např. nechutenství, nauzea, zvracení, úbytek na váze, křeče a bolesti hlavy.

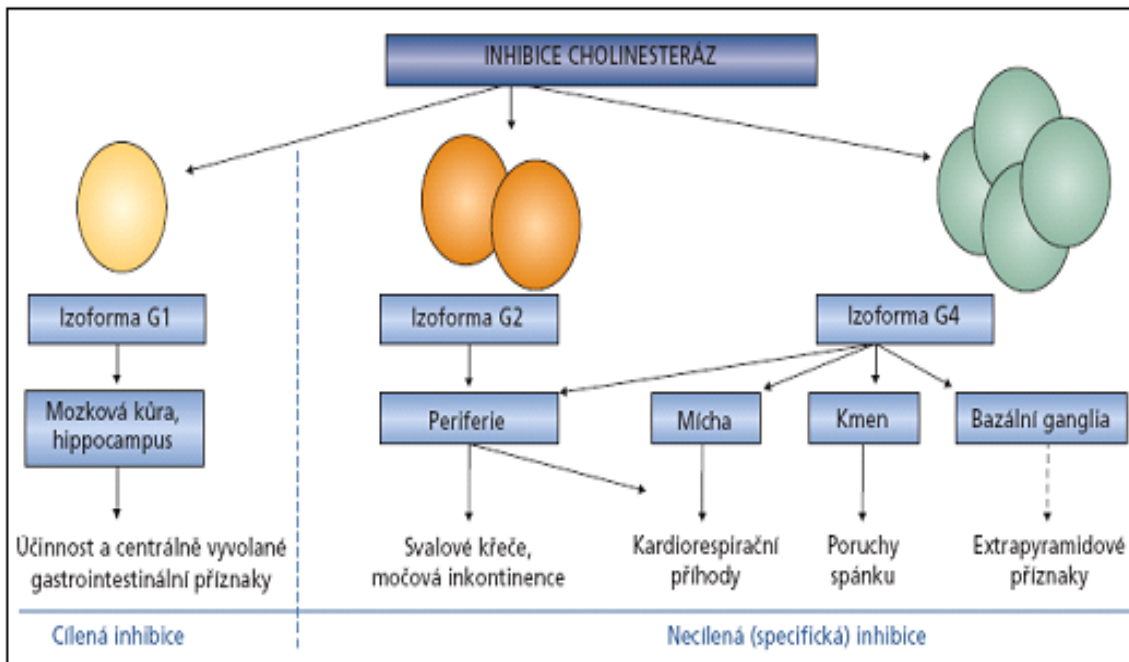
Tabulka 3: Vztah mezi cholinergní aktivitou v centrálních a periferních lokalitách a nežádoucími účinky spojenými s užíváním IChE při léčbě demence. (upraveno podle: Brunovský, 2006) ²

oblast cholinergní aktivity	nežádoucí účinky	Rivastigmin (Exelon®)	Donepezil (Aricept®)	Galantamin (Reminyl®)
centrální				
hypothalamus (area postrema)	gastrointestinální (nevolnost, zvracení)	+++	++	++
nc. caudatus	extrapyramidové symptomy	+/-	++	+/-
mozkový kmen	poruchy spánku	+/-	++	+/-
medulla oblongata (kardiorespirační centra)	kardiovaskulární a respirační	+/-	+	+
frontální/temporální lalok	neklid	+	++	++
periferní				
periferní inhibice	bradykardie a změny EKG	+/-	+	+
periferní nervosvalová ploténka	svalové křeče a slabost	+/-	++	+/-
močový měchýř	močová inkontinence	+/-	+	+/-

Absolutní kontraindikací podání IChE je vředová choroba gastroduodenální a těžší poruchy převodního systému srdečního. (Jirák, 2001; Jirák, 2002)

Výskyt nežádoucích účinků v akutní fázi léčby lze snížit jednak pozvolným zvyšováním (titrací) dávky, dále je lze ovlivnit některými dalšími faktory. Ke snížení vede například podání s jídlem nebo krátce po jídle, rovněž nemocní mužského pohlaví a nemocní s vyšší hmotností mají menší výskyt akutních nežádoucích účinků. (Pidrman a spol., 2003)

² Cholinergní aktivita: +/- malá či žádná; + mírná; ++ střední; +++ silná



Obrázek 5: Účinky spojené s inhibicí rozdílných izoform cholinesteráz v různých oblastech mozku a periferie. (Brunovský, 2006)

Rozdělení inhibitorů cholinesteráz dle chemického složení:

- Karbamátové deriváty
- Akridinové deriváty
- Piperidinové deriváty
- Inhibitory ze skupiny alkaloidů

5.2.1. Karbamátové deriváty

Jsou to látky, které pseudoireverzibilně inhibují AChE. Prvním zkoušeným farmakem z této skupiny byl *physostigmin*. Klinicky se nepoužívá pro jeho krátký biologický poločas eliminace, obtížné hledání terapeutického okna (dávky již účinné, ale bez nežádoucích účinků) a pro množství nežádoucích účinků. *Eptastigmin* je látka klinicky zkoušená. *Rivastigmin (Exelon®)* je látka klinicky používaná. Inhibuje obě mozkové izoformy AChE i BuChE. Není biotransformován v játrech a neinteraguje s cytochromovým systémem, je biotransformován přímo cholinesterázami, má tedy málo lékových interakcí na úrovni biotransformace. Rivastigmin vykazuje vysokou selektivitu vůči G1 izoformě cholinesteráz.

Je indikován u mírných až středně těžkých forem Alzheimerovy choroby a demence s Lewyho tělísky. (Jirák, 2001; Jirák a Zemková, 2002; Pidrman a spol., 2003)

5.2.2. Akridinové deriváty

Jde o látky účinné, avšak s významnými nežádoucími účinky. AChE inhibují reverzibilně. *Tacrin* (*tetrahydroaminoakridin*) byl klinicky účinný, ovšem pro svoji hepatotoxicitu byl stažen z klinického užití. Výrazněji než vlastní AChE inhiboval BuChE. U nás vyvíjený *7-methoxytacrin* vykazoval menší hepatotoxicitu, jeho vývoj však nebyl dokončen. Zkoušejí se další akridinové deriváty. (Jirák, 2001; Jirák a Koukolík, 2004)

5.2.3. Piperidinové deriváty

Reverzibilně inhibují obě mozkové izoformy AChE, podstatně neinhibují BuChE. *Donepezil* (*Aricept*[®]) je ve světě nejužívanějším IChE. Má dlouhý biologický poločas eliminace, což umožňuje dávkování jedenkrát denně. Biologická využitelnost donepezilu se blíží 100% s vrcholem koncentrace v plazmě za 2-4 hodiny po perorálním podání. Váže se na plazmatické bílkoviny (albumin a α_1 -kyselý glykoprotein) a má dva aktivní metabolity. Je biotransformován v játrech cytochromem P-450, izoenzymy CYP 2D6 a 3A4 a poté glukuronidován. Má velmi málo lékových interakcí. Donepezil inhibuje částečně G1, více G2 a G4 izoformy cholinesteráz. Je používán u mírných až středně těžkých forem Alzheimerovy choroby a u demence s Lewyho tělísky. Dalšími účinky donepezilu jsou nepřímá stimulace muskarinových a nikotinových receptorů zvýšenou koncentrací Ach v synapsích CNS, zvýšení extraneuronální koncentrace noradrenalinu a příp. dopaminu, snížení průniku kyslíkových radikálů membránami neuronů a zlepšení metabolismu glukózy v CNS. (Mayeux R. a Sano M., 1999; Švestka, 1999; Emilien a spol., 2000; Jirák, 2001; Jirák a Zemková, 2002; Pidrman a spol., 2003)

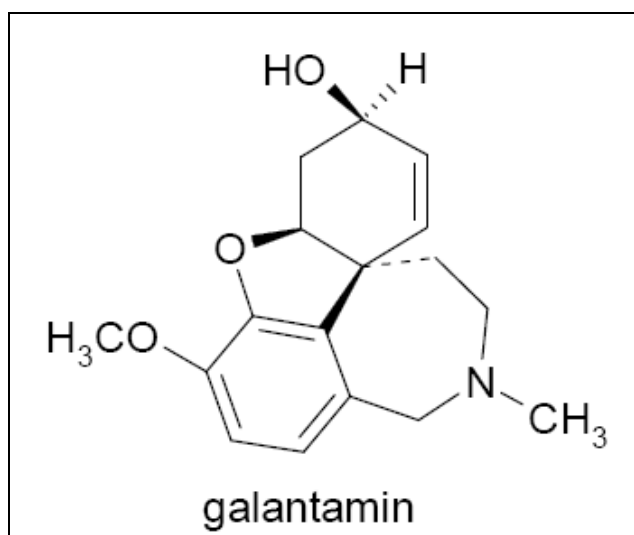
Icopezil, který je v třetím stadiu klinického zkoušení, je ještě specifitější pro molekuly AChE. (Jirák, 2002)

5.2.4. Inhibitory ze skupiny alkaloidů

Reverzibilně inhibují AChE. *Huperzin A* je alkaloid získaný z čínského rašeliníku *Huperzia errata* a tradičně se využívá v čínské medicíně. Bylo s ním provedeno několik klinických studií, které potvrdily, že jde o perspektivní látku.

Galantamin (*Reminyl*[®]) je terciární alkaloid, který byl původně izolován z cibulí sněženky *Galanthus woronowi* a později z dalších rostlin čeledi *Amaryllidaceae* (amarylkovité). Náhodně byl objeven bulharskými farmakology Proskurninou a Jakovlevem při izolaci z divokých sněženek, nyní je vyráběn synteticky. (Jirák, 2001; Švestka, 2001)

GAL inhibuje G2 a G4 izoformy cholinesteráz. Je rezistentní vůči hydrolýze. Pro jeho vazebné schopnosti a tedy biologický účinek jsou v jeho molekule důležitá 4 místa: hydroxylová skupina cyklohexenového kruhu, cyklohexenový kruh, terciární aminoskupina a methoxyskupina. (Jirák, 2001; Pidrman a spol., 2003)



Obrázek 6: Struktura galantaminu. (Krejčová a Ševelová, 2003)

Byly připraveny deriváty GAL, které vykazovaly větší inhibici AChE než samotný GAL. Byly však polárnější než původní molekula, což bránilo jejich průniku do CNS, a tedy výrazně omezilo jejich použití. Nadějným derivátem GAL je jeho ester (acylovaná hydroxylová skupina v poloze 6) n-butyلكarbamát galantaminu, který je méně toxický než GAL, méně polární a lépe tedy proniká do CNS. (Pidrman a spol., 2003)

Farmakodynamika galantaminu

Cílovými místy účinku GAL v organismu jsou: nervosvalové spoje, centrální cholinergní synapse, periferní orgány inervované parasympatickými vegetativními vlákny.

Na cholinergní synapsi působí GAL dvěma mechanismy:

- Inhibuje kompetitivně a reverzibilně AChE, účinnost GAL je tedy závislá na koncentraci Ach. Čím je koncentrace Ach vyšší, tím je nižší inhibice AChE. GAL se váže na acetylové i cholinové vazebné místo. Inhibicí AChE brání GAL biodegradaci Ach, a tím se jeho koncentrace v synaptických štěrbinách zvyšuje. GAL je 50-60krát silnějším inhibitorem AChE než BuChE a 10krát více inhibuje AChE v lidských erytrocytech než v CNS.
- Působí jako alosterický modulátor na presynaptických i postsynaptických nAChR (v CNS, svalech a gangliích), protože v přítomnosti GAL je zvýšená vazebná afinita Ach na nAChR nebo i zvýšená propustnost kanálů odpovídající aktivovaným receptorům. (Švestka, 2001)

Alosterické modulátory nAChR se neúčastní přenosových dějů přímo, nevyvolávají tedy na rozdíl od agonistů či antagonistů změny citlivosti nebo počtu receptorů. *In vitro* se GAL váže na místo nAChR, které je odlišné od vazebného místa pro agonisty Ach. Pokud se na nAChR naváže GAL a Ach zároveň, odpověď těchto receptorů na Ach se zesílí. Alostericky potencující ligandy tedy samy o sobě nevyvolávají signifikantní odezvu, v přítomnosti s přirozeným mediátorem však zvyšují průchodnost iontových kanálů, a tak i potencují submaximální Ach indukované odpovědi. Aktivace presynaptických nikotinových receptorů způsobuje zvýšené uvolňování Ach a dále glutamátu (zlepšení procesu učení a paměti), serotoninu (omezení emočních poruch, jako je úzkost a deprese), GABA (zajišťuje stabilní chování např. odstraněním agresivity). Dlouhodobé podávání GAL zvyšuje počet nAChR v určitých oblastech mozku, které se podílejí na mechanismech učení a paměti. Jde především o oblast hipokampu a prefrontální kůry. (Krejčová a Ševelová, 2003)

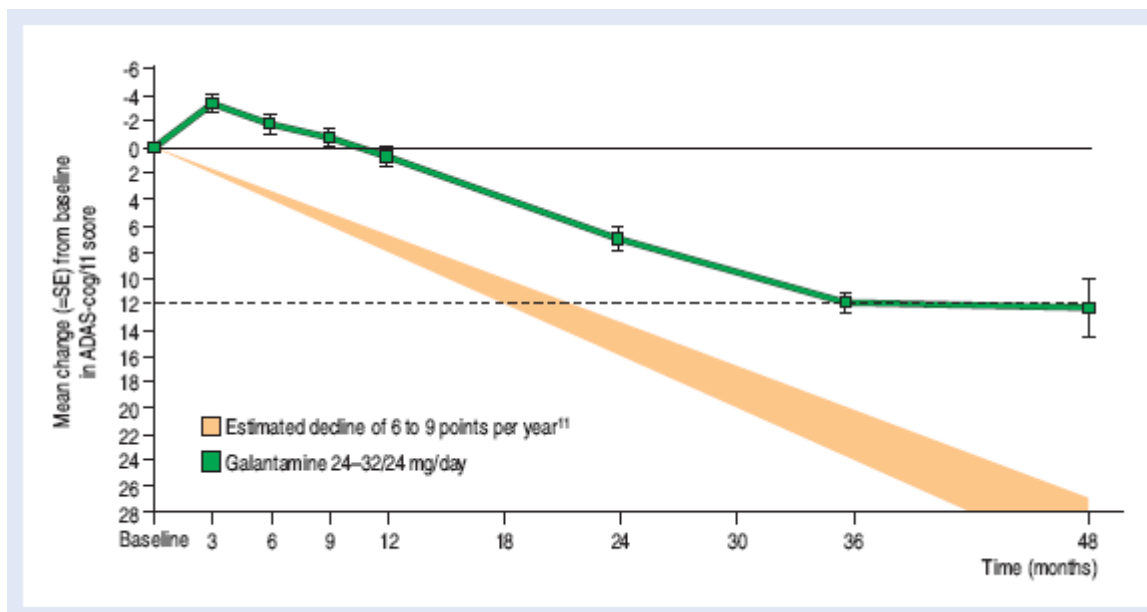
Farmakokinetika galantaminu

Absorpce GAL je rychlá, maximální koncentrace v krvi je dosaženo za 0,5–2 h po požití. GAL se po p. o. podání snadno absorbuje nezávisle na lékové formě. Jídlo neovlivňuje celkovou dostupnost GAL, ale zpomaluje jeho absorpci a snižuje maximální dosaženou hladinu v plazmě (C_{max}). GAL se prakticky neváže na plazmatické proteiny, snadno prochází hematoencefalickou bariérou, jeho hladina v CNS je 3x vyšší než v plazmě. (Švestka, 2001)

Denní terapeutická dávka GAL pro léčbu Alzheimerovy nemoci je obvykle 16 mg. Klinické studie prokázaly, že vyšší dávky kognitivní funkce pacientů již nezlepšují. GAL je jen mírně toxický, LD_{50} pro potkana je po p.o. podání 83,6 mg/kg. Nežádoucí účinky GAL souvisí s jeho cholinergními vlastnostmi. Řadí se mezi ně např. nevolnost, zvracení, závrať, bolest břicha, průjem, lehká bolest hlavy aj. Nežádoucím efektem je ztráta chuti k jídlu a redukce hmotnosti. Tyto účinky mohou být tlumeny antidoty. Po profylaktickém podání periferního antidota N-methylskopolamin hydrobromidu byly nežádoucí účinky zřetelně sníženy. (Krejčová a Ševelová, 2003)

GAL se eliminuje zejména močí, 18–22 % z podané dávky se vylučuje nezměněno. Biologický poločas činí asi 7–8 hodin. Hlavními biotransformačními cestami jsou N-oxidace, N-demetylace, O-demetylace, glukuronidace a epimerizace. Tímto způsobem se vytvářejí metabolity norgalantamin (jediný biologicky aktivní), O-demetylgalantamin, O-demetyl-norgalantamin, epigalantamin a galantaminon (všechny biologicky inaktivní). (Švestka, 2001)

Žádná z dostupných studií neprokázala mutagenní či teratogenní účinek GAL. Po řadě klinických studií byl GAL zaregistrován pro léčbu Alzheimerovy choroby roce 2000 v některých zemích Evropské unie, v roce 2001 v USA a v České republice pod názvem Reminyl[®] firmy Janssen-Cilag. GAL je indikován u mírných až středně těžkých forem Alzheimerovy demence. (Jirák, 2001; Švestka, 2001; Jirák a Zemková, 2002; Krejčová a Ševelová, 2003)



Obrázek 7: Efekt dlouhodobé léčby galantaminem. (Franková, 2004)³

Důležité indikační pole inhibitorů je i u tzv. mild cognitive impairment (mírná porucha kognitivních funkcí); tato porucha je spojena s postižením paměťových funkcí, avšak nejsou postiženy aktivity denního života. Mild cognitive impairment asi ve 12–15 % případů přechází do Alzheimerovy choroby a může tedy představovat preklinické stadium této demence a případné podávání inhibitorů by tak splňovalo kritéria prevence. (Jiráček, 2002)

5.3. Podávání přímých agonistů muskarinových a nikotinových receptorů

Tato léčebná strategie není dosud běžně používána, jde však o velmi perspektivní terapii, kdy jsou zkoumány agonisté obou typů receptorů. U dosud zkoušených muskarinových agonistů brání jejich klinickému použití vysoký výskyt nežádoucích účinků, přestože byla prokázána jejich účinnost na kognitivní funkce. Byly zkoušeny např. *oxotremorin*, *arecolin*, *xanomelin*. V současnosti je vlastně využíván pouze GAL jako agonista nikotinových receptorů. Jak již bylo popsáno kromě inhibice AChE také alostericky moduluje jak presynaptické, tak postsynaptické nikotinové receptory. Postsynaptická modulace v místech, kde se neváže ligand na receptor, vede pravděpodobně k tomu, že se hyposenzitivita receptorů vyvíjí velmi pomalu. (Jiráček, 2001)

³ Zelená křivka znázorňuje kognitivní pokles při léčbě GAL v průběhu čtyřleté léčby, oranžová křivka znázorňuje předpokládaný kognitivní pokles u nemocných bez léčby.

5.4. Podávání látek ovlivňujících cholinergní systém pomocí ovlivnění jiných neurotransmiterových systémů

Tento přístup je zatím ve stadiu klinického zkoušení, je však pravděpodobně perspektivní. Jedná se např. o zkoušení některých β -karbolinů. Tyto látky jsou částečnými blokátory receptoru typu GABA_A. Systém γ -aminomáselné kyseliny je inhibiční a na svých synapsích s cholinergním systémem jej tonicky inhibuje. Některé β -karboliny tuto tonickou inhibici cholinergního systému blokují. Do klinické praxe dosud nebyly zavedeny pro vysoký počet nežádoucích účinků. (Jirák, 2001)

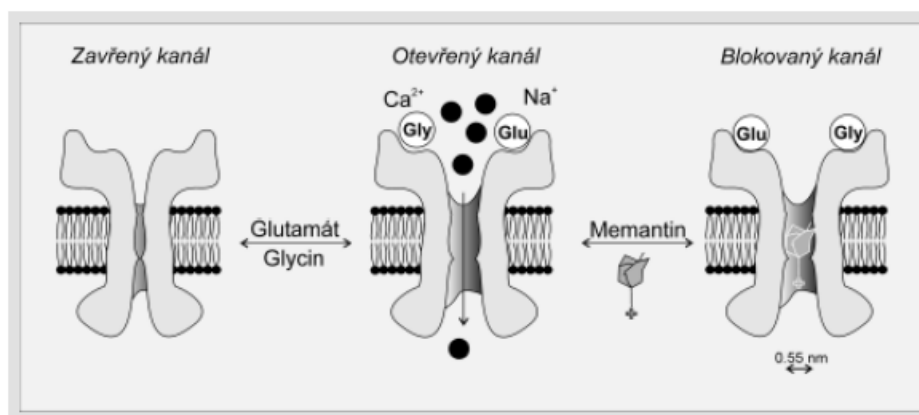
5.5. Podávání dalších látek, např. látek zlepšujících vstup cholinu do neuronů, syntézu a uvolnění acetylcholinu

Jedná se o chemicky a farmakologicky nejednotnou skupinu látek. V terapii Alzheimerovy choroby ani jiných demencí zatím nenašla výraznější uplatnění, výsledky klinického zkoušení jsou nejednoznačné. Patří sem např. *acetyl-L-karnitin*, *propentofyllin*, který sice v preklinickém zkoušení zvyšoval uvolňování Ach, do praxe však zaveden nebyl. (Jirák, 2001)

5.5.1. Látky zlepšující narušenou glutamátergní transmissi

S postupující progresí Alzheimerovy choroby dochází k poškození mozkového systému excitačních aminokyselin (glutamátergního systému). Tento systém je nejrozšířenější neuromediátorový systém mozku, je velmi významný pro mechanismy učení a paměti. Ionotropní receptor typu NMDA zprostředkovává v součinnosti s tzv. AMPA/kainátovým receptorem mechanismus LTP – při opakovaném působení stejného podnětu je každý následný postsynaptický potenciál větší než předchozí. Toto je jeden ze základních mechanismů učení a paměti. Podráždění NMDA receptorů je spojeno s otevřením kalciových kanálů a se zvýšeným vstupem kalcia do neuronů. Pro paměť je tedy nezbytná správná funkce glutamátergního systému. V korových oblastech a v hipokampu byly u řady živočišných druhů nalezeny v závislosti na stáří změny receptorů NMDA. Na základě těchto poznatků bylo vyvinuto několik léčebných strategií ke zlepšení kognitivních funkcí s využitím antagonistů NMDA jako neuroprotektivních faktorů zpomalujících progresi demence. Mezi tyto antagonisty se řadí např. *dextrometorfan hydrobromid*, *memantin (1-amino-3,5-dimetyladamantan)* a *ketamin*. U demencí alzheimerovského

typu i u dalších neurodegenerativních i cerebrovaskulárních onemocnění dochází k nadměrnému uvolňování molekul glutamátu i dalších excitačních kyselin. Na receptorové úrovni pak dochází k výskytu přenosových šumů, které znemožňují fyziologický přenos signálů. Tím je narušen mechanismus LTP. Navíc nadměrným influxem iontů kalcia dochází k aktivaci řady intraneuronálních enzymů (především proteinkináz a fosfatáz), k destabilizaci vnitřního prostředí neuronu, k aktivaci patologických genů včetně genu pro apoptózu – programovanou buněčnou smrt a neurony ve zvýšené míře zanikají. Terapeuticky užitečné jsou proto parciální inhibitory NMDA receptorů, které brání tomuto jevu. V praxi je zatím používána jediná látka této skupiny, *memantin* (*Ebixa*[®]). Léčivo se podává per os a je obecně velmi dobře tolerováno. Může se kombinovat s IChE i dalšími farmaky. Memantin je určen především k léčbě středních až těžších (ne však pokročilých až terminálních) stadií Alzheimerovy choroby a příbuzných demencí. Jeho použití je založeno na důkazech, které poskytly rozsáhlé klinické studie. Další látky užívané ke zlepšení kognitivních funkcí, nemají účinnost již tak přesvědčivě dokázanou jako IChE a memantin. Jejich použití není již jednoznačně založeno na dostatečných důkazech zejména ve formě kontrolovaných klinických studií, někdy je spíše empirické. (Emilien a spol., 2000; Patočka, 2002; Jiráček, 2004; Petrovič a spol., 2004; Jiráček, 2006)



Obrázek 8: Blokáda iontových kanálů NMDA receptorů memantinem. (Petrovič a spol., 2004)⁴

⁴ Iontový kanál NMDA receptoru je v nepřítomnosti agonisty vždy uzavřený. V důsledku vazby agonistů (glutamátu a N-methyl-D-aspartátu) dochází ke konformačním změnám, které mohou vyústit v otevření kanálu. Tím prochází podél elektrochemického gradientu (tj. do nitra buňky) ionty Na^+ a Ca^{2+} . Tento tok iontů vede k depolarizaci a zvýšení intracelulární koncentrace Ca^{2+} . Memantin vstupuje do iontového kanálu podobně jako Na^+ a Ca^{2+} . Vzhledem ke své velikosti, která je větší než pór iontového kanálu (0,55 nm), však nemůže projít a blokuje průchod Na^+ a Ca^{2+} kanálem.

5.5.2. Neurotrofické růstové faktory

Tyto mozkové hormony slouží v dospělosti k reparativním procesům v mozku, dále se podílejí na neuronální plasticitě, na tvorbě dendritických trnů, a tím nových synapsí. U různých demencí bývá zjištěn úbytek nervových růstových hormonů nebo jejich receptorů v důsledku sníženého počtu neuronů. Nervový růstový faktor (NRF) je prototypem neurotrofického růstového faktoru, má proto úzkou vazbu k udržování funkce cholinergního systému bazálních partií předního mozku. Cholinergní neurony předního mozku jsou jediné buňky mozku dospělého člověka, které exprimují velké množství nízkoafinitních receptorů p75 pro NRF. NRF zvyšuje množství hipokampálního Ach a brání ztrátě cholinergních buněk a atrofii po lézích fornixu, což je důkazem prospěšnosti NRF jako neuroprotektiva pro buňky bazálních partií předního mozku a nemocných s Alzheimerovou chorobou. Nervové růstové hormony jsou proteiny, obvyklý způsob podání není často možný mj. pro jejich nedostatečnou průchodnost hematoencefalickou bariérou. Dříve byl používán přípravek *Cerebrolysin*, což je hydrolyzát vepřových mozků, obsahující aminokyseliny a velmi krátké peptidy (jde o prekurzory tvorby nervových růstových faktorů). Tento přípravek však neodpovídal standardům evropské lékové agentury (EMA). Nadějný je vývoj přípravků, působících uvolnění nervových růstových hormonů prostřednictvím tyrosinkinázových (Trk) receptorů. *Selegilin* je inhibitor monoaminoxidázy B s antioxidantním účinkem. Působí rovněž jako uvolňovač NRF nebo sám působí jako růstový faktor v tkáňových kulturách. In vivo však tento efekt zatím dokázán nebyl. (Mayeux R. a Sano M., 1999; Emilien a spol., 2000; Jiráček, 2002; Jiráček a Koukolík, 2004)

Estrogenní hormony působí uvolnění nervových růstových hormonů prostřednictvím svých mozkových receptorů. Kromě toho účinkem na hladké svalstvo cév zlepšují mozkové prokrvení. Studie u postklimakterických žen, trpících Alzheimerovou chorobou nebo jinými demencemi, však nepřinesly uspokojivé výsledky. Spíše je zvažováno preventivní působení estrogenní substituce u žen po klimakteriu proti rozvoji Alzheimerovy choroby, ale dokázáno opakovanými klinickými studiemi to nebylo. Nadějnou cestou vedoucí k zvýšení hladiny NRF a ke zlepšení trofiky mozku je implantace embryonálních kmenových buněk, ale tato metoda je teprve ve stadiu preklinického výzkumu. (Jiráček, 2004)

5.5.3. Snížení buněčné reakce na neurodegeneraci

V mozku nemocných s Alzheimerovou chorobou dochází ke změnám buněk mikroglie, zvyšuje se jejich počet a roste jejich velikost. Tento fakt a přítomnost komplementu v plakách amyloidu vedlo k rozpracování koncepce zánětlivého původu Alzheimerovy nemoci. Bylo publikováno, že osoby užívající protizánětlivé léky skupiny nesteroidních antirevmatik mají menší počet buněk mikroglie a méně často se u nich vyvine Alzheimerova choroba. V klinických studiích bylo však prokázáno pouze slabé zlepšení kognitivních funkcí u nemocných s mírnou formou Alzheimerovy choroby. Mezi nové přípravky s protizánětlivými účinky, klinicky testované pro použití u Alzheimerovy demence, patří *SC-110* a *GR-253035*, inhibitor cyklooxygenázy 2 (*COX-2*). Vazebný protein pro DNA, NF- κ B, má důležitou roli při stimulaci transkripce z genů podílejících se na zánětlivé reakci a v rámci toho i při tvorbě *COX-2*, která se potom uplatňuje ve stresové tkáni, jakou je mozek u Alzheimerovy nemoci. Zásah, který by blokoval toto stádium procesu, by mohl být jedním z možných nových přístupů k léčbě. *Propentofyllin* (*3-metyl-1-[5-oxohexyl]-7-propylxantin*), xantinový derivát a inhibitor zpětného vychytávání adenosinu, inhibuje uvolňování glutamatu, zvyšuje krevní průtok v mozku a působí na astrocyty a mikroglie. Předpokládá se, že oddaluje přechod mírné demence do demence středního stupně a znamená zlepšení symptomů demence. (Emilien a spol., 2000)

5.5.4. Léky snižující oxidativní stres

Mozek nemocného s Alzheimerovou chorobou je pod vlivem těžkého oxidativního stresu. Jedná se o důsledek nadměrné tvorby kyslíkových radikálů (peroxydy, hydroxyskupina, singletový kyslík, NO) vzniklých vlivem $A\beta$, nebo následkem dysbalance vápníku v neuronech a jejich mitochondriích. Dochází k peroxidaci lipidů neuronálních membrán a k inaktivaci některých klíčových enzymů. Proto se látky vychytávající volné kyslíkové radikály, event. snižující možnost jejich vzniku (scavengery volných radikálů) používají jak preventivně, tak léčebně. Výsledky klinických studií však nepřinášejí uspokojivé důkazy efektivity. Léky jako *alfa-tokoferol* (*E-vitamin*), *idebenon* nebo *estrogen* mají silné antioxidační účinky, jejich účinnost se liší. Klinicky je zkoumáno novější antioxidant – „zametač volných radikálů“ *ARL-16556*, jde o derivát -fenyl-t-butylnitronu, který ovlivňuje spin elementárních částic. Kromě těchto látek byly zkoušeny také *C-vitamin*, *pyritinol*,

retinol a *beta-karoten*, *melatonin* aj. Přípravky obsahující selen mají také své odůvodněné použití – selen je součástí přirozeného enzymu glutathionperoxidázy, likvidujícího volné radikály. Inhibitor monoaminoxidázy B-typu selegilin snižuje tvorbu volných radikálů tím, že zabraňuje biodegradaci dopaminu. Je poměrně často používán v léčbě demencí. Toto použití je ale spíše empirické, klinické studie nepřinesly uspokojivé výsledky. (Emilien a spol., 2000; Jiráček, 2004)

5.5.5. Látky zlepšující mozkový metabolismus

U demencí i lehkých poruch poznávacích funkcí bývá zjišťován defekt oxidativního mozkového metabolismu. Toto zjištění vedlo k zavedení tzv. zvyšovačů mozkového metabolismu (cerebral metabolic enhancers), jako jsou dihydrované námelové alkaloidy, ale především nootropní farmaka (zvyšují využití glukózy a kyslíku). Od užití dihydrovaných námelových alkaloidů se pro malou účinnost ustupuje. Rovněž se výrazně ustoupilo od užití vazodilatačních přípravků (např. od *klomethiazolu*) pro malou účinnost a možnost vyvolání tzv. fenomenu okradení („steal“ fenomén) v případě cévních mozkových lézí. V těchto případech jsou cévy v postižené oblasti paralytické, použitím vazodilatací, se však rozšíří zdravé cévy v nepostižené oblasti, čímž paradoxně dojde k ještě většímu ochuzení postižené oblasti. Některé látky s vazodilatačním působením však mají i jiné efekty a jsou proto potenciálně užitečné. Zlepšují především mikrocirkulaci a reologické (průtokové) vlastnosti krve. Mezi tyto látky náleží např. *pentoxifyllin* (*Agapurin*[®], *Trental*[®]) nebo *nartidrofuryl* (*Enelbin*[®]). Jejich místo je především v terapii vaskulárních demencí, avšak použití je opět spíše empirické, nikoli založené na rozsáhlých kontrolovaných klinických studiích. Nootropní farmaka jsou tedy látky, zlepšující mozkový metabolismus. Jsou hojně používané, ale v praxi poddávkováné, a jejich použití není vždy racionální. Rozsáhlé klinické studie neprokázaly výrazné efekty v ovlivnění průběhu Alzheimerovy choroby. Nootropika se proto používají u jiných demencí, postkomočních a postintoxikačních stavů, u Alzheimerovy choroby a příbuzných demencí pouze jako podpůrná terapie. Jednotlivá nootropika mají svá specifika. *Piracetam* kromě pozitivního metabolického působení zlepšuje reologické vlastnosti krve. *Pyritinol* má také slabý protizánětlivý efekt a slabý efekt na vychytávání volných kyslíkových radikálů. *Nicergolin* zlepšuje mozkovou mikrocirkulaci. *Ginkgo bilobae extractum* má rovněž nootropní působení. Kromě toho má také působení vazoaktivní a efekt na vychytávání volných kyslíkových radikálů. Kontrolované klinické studie

s extraktem Ginkgo biloba prokázaly slabý efekt u vaskulárních, smíšených i jiných demencí, včetně Alzheimerovy choroby. (Mayeux R. a Sano M., 1999; Pidrman a Bouček, 2003; Jiráček, 2004)

5.5.6. Terapie statiny

Tato léčebná strategie je ověřována a je uvažováno o tom, že efekt nemusí být vázán na hypocholesterolemizující účinek těchto látek. Tento přístup potřebuje další klinická ověření ve formě kontrolovaných studií. (Jiráček, 2006)

Mezi další potenciální léčivo Alzheimerovy choroby se řadí *kurkumin*. Kurkumin vykazuje antioxidační (interaguje se superoxidovým anionem a hydroxylovým radikálem a funguje jako scavenger volných radikálů) a protizánětlivé účinky (je inhibátorem COX-2), chrání hepatocyty a neurony před účinkem některých látek, má antibakteriální, antimutagenní a antialergenní účinky, zasahuje do procesu dělení buněk a apoptózy, inhibuje některé enzymy apod. Schopnost kurkuminu inhibovat peroxidaci lipidů je větší než u alfa-tokoferolu. Kurkumin má silný anti-amyloidogenní efekt. Inhibuje akumulaci A β a vznik Abeta fibril. Rovněž destabilizuje již vytvořené Abeta fibrily v CNS. (Patočka, 2005)

V klinickém zkoušení jsou i např. některá antidiabetika, působící prostřednictvím receptorů PPAR-gama, snižující u alzheimerovských demencí tvorbu toxického proteinu A β . Velmi nadějná se jevila vakcinace lidským A β , ale ukázalo se, že vznikaly velmi závažné postvakcinační encefalitidy. Větší naděje jsou vkládány do použití monoklonálních protilátek proti A β . Je ověřován i efekt solí lithia na zmírnění neurodegenerace u Alzheimerovy nemoci.

Kognitivní farmakoterapie Alzheimerovy choroby je jen jedna stránka léčby. Velmi důležitá je také nekognitivní farmakoterapie, léčba všech interkurentních somatických onemocnění, aktivace nemocného, reedukace především základních životních návyků a dovedností, ošetrovatelská péče a rehabilitace. (Jiráček, 2004)

6. Experimentální část

6.1. Uspořádání pokusu

K pokusům bylo použito celkem 24 samců laboratorního potkana kmene *Wistar albino*, konvenčního chovu, krměných peletovanou standardní Larsenovou dietou a s přísunem vody *ad libitum*. Hmotnostní rozpětí zvířat se pohybovalo v rozmezí 195-230 gramů. Zvířata byla rozdělena do 1 kontrolní a 3 pokusných skupin pro jednotlivé dávky GAL. V každé skupině bylo po 6 zvířatech.

1. (kontrolní) skupině byl i.m. podán pouze fyziologický roztok.
2. pokusné skupině byl podán GAL v dávce 2,5 mg/kg i.m.
3. pokusné skupině byl podán GAL v dávce 5,0 mg/kg i.m.
4. pokusné skupině byl podán GAL v dávce 10,0 mg/kg i.m.

Odběr vzorků mozku

Zvířata byla usmrcena dekapitací za 30 minut po podání testované látky. Následovalo šetrné vyjmutí mozku a jeho bezprostřední zmrazení při nízké teplotě pro pozdější odběr vzorků (čelní korová oblast, hipokampus, septum, bazální ganglia a hypofýza).

6.2. Stanovení aktivity acetylcholinesterázy Ellmanovou metodou

6.2.1. Princip metody

Jedná se o spektrofotometrickou metodu. AChE štěpí substrát – acetylthiocholin na thiocholin a kyselinu octovou. Stanovuje se SH- skupina thiocholinu, která se naváže na 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoovou kyselinu (DTNB) a jeho zbytek – 5-merkapt-2-nitrobenzoová kyselina, je fotometrován při 412 nm. (Ellman a spol., 1961; Bajgar, 1972)

6.2.2. Použité chemikálie a roztoky

- 0,2 M TRIS-HCl pufr: 24,2 g 1,1,1-tris-(hydroxymethyl)aminomethan se rozpustí v 1000 ml destilované vody. 50 ml tohoto roztoku se smíchá s 38,4 ml 0,2 M HCl, doplní se destilovanou vodou na 200 ml a pH se upraví na 7,6.

- DTNB – činidlo na SH- skupiny: 0,1 g DTNB se rozpustí v 50,0 ml 0,2 M TRIS pufu.
- Substrát: 0,029 g acetylthiocholin-jodidu se rozpustí v 10 ml destilované vody.
- Kalibrační roztok: vodný roztok cystein – HCl v koncentracích od $1 \cdot 10^{-4}$ do $5 \cdot 10^{-6}$ M.
- Vzorek pro měření: homogenát řezů příslušných vzorků tkáně laboratorního potkana - 1 mg mozkové tkáně/1 ml destilované vody.

6.2.3. Použité přístroje

Univerzální spektrofotometr, skleněné kyvety.

6.2.4. Pracovní postup

Z řezů příslušných vzorků tkáně laboratorního potkana (frontální kůra, hipokampus, septum, bazální ganglia a hypofýza) byl připraven homogenát (1 mg mozkové tkáně/1 ml destilované vody). Do kyvety bylo k 1 ml homogenátu přidáno 0,4 ml DTNB a 0,4 ml TRIS pufu. Reakce byla zahájena přidáním 0,2 ml substrátu. Byla fotometrována a registrována změna absorbance při 412 nm. Z hodnot absorbance bylo odečítáno a zaznamenáváno odpovídající množství SH- skupin v reakční směsi. Pro kalibraci se místo homogenátu pipetoval do kyvety roztok různých koncentrací cysteinu.

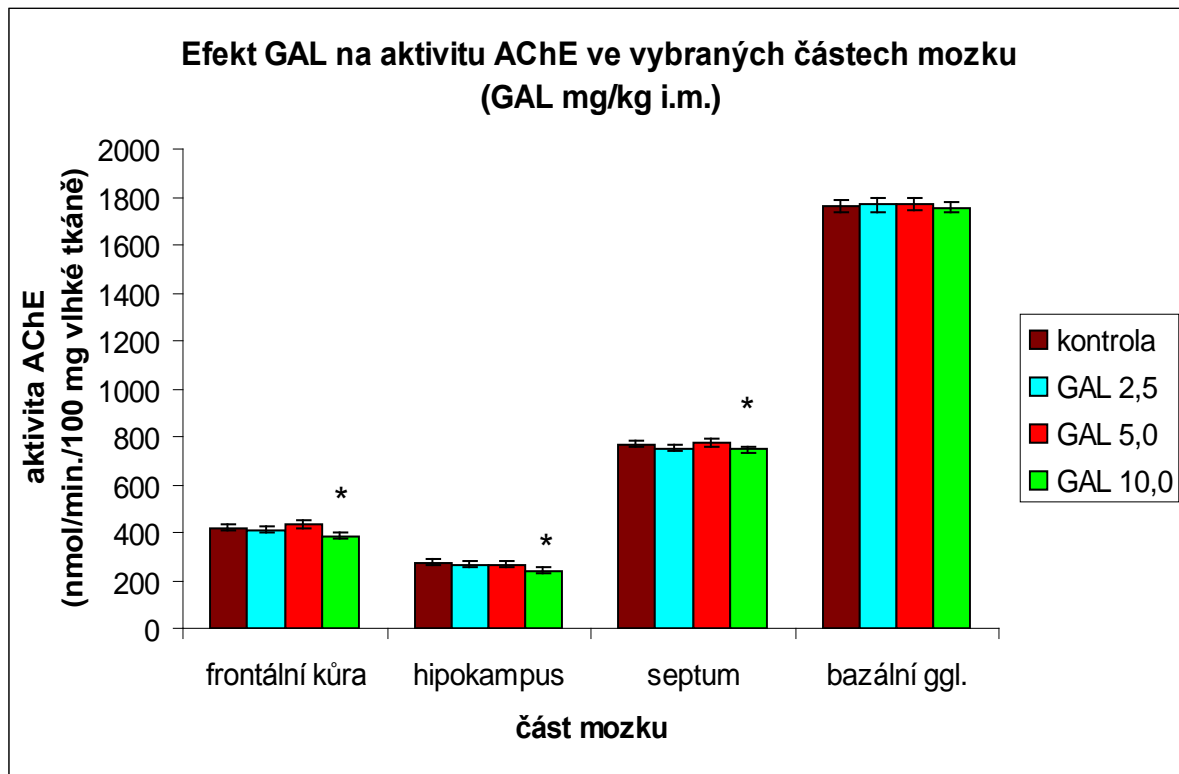
6.3. Výsledky

Po podání GAL v dávce 2,5 mg/kg nedošlo ke statisticky významnému poklesu aktivity AChE v žádné z vybraných částí mozku. V bazálních gangliích byla aktivita AChE dokonce zvýšena o 0,5% oproti kontrolní skupině.

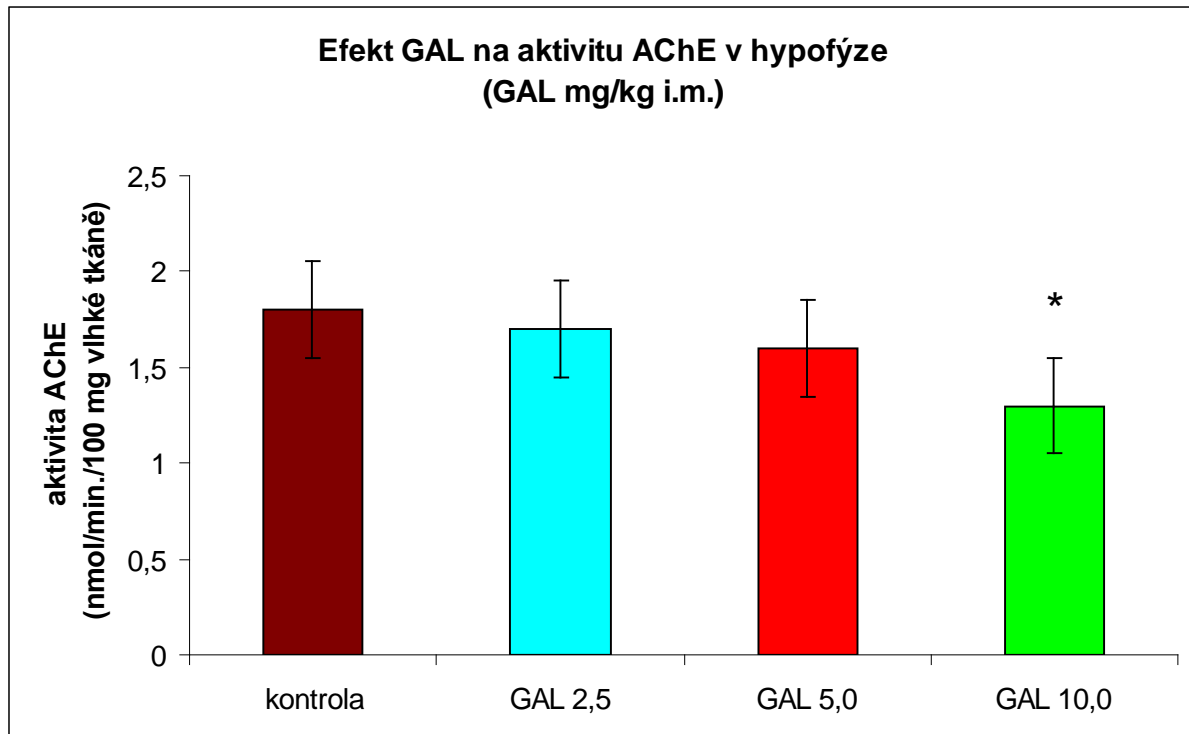
Podáním GAL v dávce 5,0 mg/kg taktéž nedošlo ke statisticky významnému poklesu aktivity AChE v žádné z vybraných částí mozku laboratorních potkanů ve srovnání s kontrolní skupinou. V hipokampu se aktivita AChE snížila pouze nepatrně. Naopak ve frontální kůře, v septu a v bazálních gangliích došlo k mírnému vzestupu aktivity AChE oproti kontrolní skupině. Ve frontální kůře se aktivity zvýšila o 2,9%, v septu o 0,9% a v bazálních gangliích o 0,7%.

Po podání GAL v dávce 10,0 mg/kg došlo ke statisticky významnému poklesu aktivity AChE ve frontální kůře, v hipokampu, v septu a v hypofýze ve srovnání s kontrolní skupinou. Ve frontální kůře klesla aktivita o 8,1% (386 nmol/min/100 mg tkáně) oproti kontrolní skupině (420 nmol/min/100 mg tkáně), v hipokampu o 11,7% (242 nmol/min/100 mg tkáně) proti kontrolní skupině (274 nmol/min/100 mg tkáně), v septu o 3,1% (745 nmol/min/100 mg tkáně) ve srovnání s kontrolou (769 nmol/min/100 mg tkáně) a v hypofýze o 27,8% (1,3 nmol/min/100 mg tkáně) ve srovnání s kontrolní skupinou (1,8 nmol/min/100 mg tkáně). V bazálních gangliích došlo pouze k mírnému, statisticky nevýznamnému poklesu aktivity AChE oproti kontrolní skupině.

Graf 1:



Graf 2:



7. Diskuse

V této diplomové práci byla stanovována aktivita AChE jako ukazatel centrálního účinku GAL. GAL je terciální alkaloid, který se řadí mezi IChE. IChE jsou látky, jejichž účinek vede k oddálení progresu symptomů demence. GAL selektivně inhibuje AChE, tím zpomaluje rozpad synaptického Ach a prodlužuje tak jeho schopnost stimulovat postsynaptické receptory. Výhodou GAL oproti ostatním IChE je jeho schopnost alostericky modulovat nikotinové receptory, což zvyšuje uvolňování Ach v mozku. GAL snadno prochází hematoencefalickou bariérou.

Pro stanovení aktivity AChE existuje několik metod založených na různých principech stanovení. Jde např. o metody radiometrické, elektrometrické, polarografické, fluorimetrické nebo manometrické. (Bajgar, 1972; Krejčová a Ševelová, 2003)

V biologických materiálech může být stanoven i samotný GAL, např. vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií, kapilární zónovou elektroforézou, radioanalýzou aj. (Krejčová a Ševelová, 2003)

Pro stanovení aktivity AChE byla v této diplomové práci použita modifikovaná Ellmanova metoda. Ellmanova metoda je kolorimetrická metoda, která se obecně využívá pro detekci molekul obsahujících síru. Vzhledem k možnosti využití této metody pro stanovení širokého spektra látek obsahujících síru, byla metoda modifikována v řadě analytických pracích.

Výhodou použité modifikované Ellmanovy metody oproti jiným metodám určeným pro stanovení aktivity AChE je specifita reakce, rychlé a jednoduché provedení samotného měření a vysoká citlivost. Právě vysoká citlivost dané metody dovoluje zaznamenat i minimální změny aktivity enzymu, popř. měřit i materiál s velmi nízkou aktivitou AChE. Proto je tato metoda vhodná pro sledování aktivity AChE v různých částech mozku. V nich je totiž aktivita tohoto enzymu výrazně nižší než v jiných biologických materiálech, např. v krvi. Metodu je možno modifikovat i pro stanovení BuChE obměnou substrátu acetylthiocholinu za butyrylthiocholin. Navíc aktivita AChE se v mozku laboratorního potkana pohybuje řádově v desítkách až stovkách nmolů/min/100 mg mozkové tkáně, zatímco u lidí je normální aktivita tohoto enzymu řádově v μmolech/min/100 mg tkáně. (Ellman a spol., 1961; Bajgar, 1972)

Dle dosažených výsledků GAL statisticky významně inhiboval aktivitu AChE ve frontální kůře, v hipokampu, v septu a v hypofýze pouze při podání dávky

10 mg/kg, tedy nejvyšší podané dávky v pokusu. Nejvýrazněji klesla aktivita AChE v hypofýze, a to o 27,8% oproti kontrole, nejméně pak v septu, a to o 3,1%. Získané výsledky tedy dokazují inhibiční efekt GAL na aktivitu AChE, který však není v samotném mozku příliš výrazný. Vyšší stupeň antiacetylcholinesterázové aktivity v hypofýze může být způsoben snadnějším průnikem GAL do této oblasti. Při podání nižších dávek GAL (2,5 a 5,0 mg/kg) nedošlo ke statisticky významnému poklesu aktivity AChE v žádné z vybraných částí mozku laboratorních potkanů (tj. ve frontální kůře, hipokampu, septu, bazálních gangliích a hypofýze). Při podání GAL v dávce 2,5 mg/kg došlo dokonce k mírnému vzestupu aktivity AChE v bazálních gangliích a při podání dávky 5,0 mg/kg GAL došlo k mírnému zvýšení aktivity AChE ve frontální kůře, v septu a v bazálních gangliích. Toto zvýšení aktivity AChE mohlo být způsobeno nepřesným odběrem vzorků, neboť správný odběr vzorků je nezbytným předpokladem správnosti a přesnosti výsledků.

8. Závěr

IChE jsou látky, které vedou k oddálení progresu symptomů demence. Tato léčiva tedy nedokáží chorobu vyléčit, pouze zpomalí její postup.

GAL je látka ze skupiny alkaloidů, která se řadí mezi IChE. GAL je selektivním a reverzibilním inhibitorem AChE s minimální afinitou k BuChE. Na AChE se váže kompetitivně, na rozdíl od ostatních IChE (donepezil a rivastigmin), může být tedy molekulou Ach vytěsněn. Hlavní odlišností GAL od donepezilu a rivastigminu je jeho dualistické působení, spočívající jak v inhibici AChE, tak v alosterické modulaci nikotinových receptorů.

V této diplomové práci jsem se zabývala efektem GAL na aktivitu AChE ve vybraných částech mozku laboratorního potkana. Jako ukazatel centrálního účinku GAL bylo tedy zvoleno měření aktivity AChE. Aktivita AChE byla měřena ve frontální kůře, hipokampu, septu, bazálních gangliích a hypofýze.

V experimentální části byl prokázán inhibiční efekt GAL na aktivitu AChE. Pro stanovení aktivity AChE byla použita modifikovaná spektrofotometrická Ellmanova metoda. Nejvýznamnější pokles aktivity AChE nastal po podání GAL v dávce 10 mg/kg v hypofýze, a to o 27,8% ve srovnání s kontrolní skupinou. Při podání nižších dávek GAL (2,5 a 5,0 mg/kg) došlo pouze k mírnému, statisticky nevýznamnému poklesu aktivity AChE. V některých částech mozku došlo naopak k nepatrnému zvýšení aktivity AChE ve srovnání s kontrolou. Tento fakt mohl být způsoben nepřesným odběrem vzorku, neboť odběr vzorku je klíčovým dějem celého stanovení. Získané výsledky prokazují obecně antiacetylcholinesterázový efekt GAL, který byl – v rámci sledovaných struktur – nejvýraznější v hypofýze.

IChE jsou léky první volby u lehkých a středně těžkých forem Alzheimerovy nemoci. Vzhledem k tomu, že etiologie této nemoci není doposud známa, kauzální léčba není zatím dostupná. Pro její léčbu je tedy třeba další výzkum, vývoj nových diagnostických strategií pro časnou detekci neurodegenerativních procesů a vývoj dalších typů léčiv. Do budoucna by nadějnou léčebnou metodou mohla být implantace kmenových buněk do mozku pacientů.

9. Souhrn

Cílem této práce bylo zjistit, jaký je efekt galantaminu (GAL) ve vybraných částech mozku a hypofýze laboratorního potkana. Jako ukazatel efektu GAL bylo zvoleno stanovení aktivity AChE. Pro stanovení aktivity AChE byla použita kolorimetrická metoda podle Ellmana. Aktivita AChE byla měřena ve frontální kůře, hipokampu, septu, bazálních gangliích a v hypofýze. GAL významně snižoval aktivitu AChE v frontální kůře, v hipokampu, v septu a v hypofýze pouze v nejvyšší testované dávce 10 mg/kg. Získané výsledky tak ukazují selektivní anticholinesterázový efekt GAL.

Summary

The aim of this work was to determine the effect of galanthamine (GAL) in selected brain parts and hypophysis of the rat. As a marker of GAL effect was chosen a determination of activity of AChE. For determination of AChE activity was used colorimetric method according to Ellman. The activity of AChE was measured in the frontal cortex, hippocampus, septum, basal ganglia and hypophysis. GAL significantly decreased the activity of AChE in the frontal cortex, hippocampus, septum and hypophysis in the highest dose used of 10 mg/kg. The results obtained demonstrated a selective anticholinesterase effect of GAL.

10. Literatura

1. Bajgar.J.: Stanovení aktivity cholinesterázy v lidské krvi – možná modifikace pro polní použití. Vojenské zdravotnické listy, roč. XLI, 1972, s. 78-80.
2. Benešová O.: Nikotinové receptory acetylcholinu: struktura, funkce a význam pro terapii v psychiatrii. Psychiatrie, roč. 7, 2003, s. 31-37.
3. Brunovský M.: Inhibitory cholinesteráz v léčbě Alzheimerovy nemoci. Neurologie pro praxi, roč. 8, 2007, s.112-117.
4. Brunovský M.: Účinnost a bezpečnost podávání inhibitorů cholinesteráz. Farmakoterapie, roč. 2, 2006, s. 343-349.
5. Bubeníková V.: Schizofrenie jako porucha glutamátergní neurotransmise. Psychiatrie, roč. 9, 2005, s. 105-110.
6. Ellman G.L., Courtney K.D., Andres V.: A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochem. Pharmacol., roč. 7, 1961, s. 88-95.
7. Emilien G. a spol...: Vyhledky farmakologického ovlivnění Alzheimerovy choroby. JAMA-CS, roč. 8, 2000, s. 565-570.
8. Fabiánová S.: Mechanismy učení a paměti. Bakalářská práce, katedra biologických a lékařských věd, FaF Hradec Králové, 2006.
9. Franková V.: Dlouhodobé podávání kognitiv u Alzheimerovy nemoci. Psychiatrie pro praxi, roč. 5, 2004, s.201-205.
10. Ganong F. W: Přehled lékařské fyziologie. H+H, Jinočany, 1995 s. 76-88.
11. Jiráček R.: Farmakoterapie Alzheimerovy choroby. Klinická farmakologie a farmacie, roč. 18, 2004, s. 212-214.
12. Jiráček R.: Kognitiva. Remedia, roč. 11, 2001, s. 419-422.
13. Jiráček R.: Kognitivní farmakoterapie Alzheimerovy choroby: současný stav a vyhlídka do blízké budoucnosti. Farmakoterapie, roč. 1, 2005, s. 604-609.
14. Jiráček R., Koukolík F.: Demence (Neurobiologie, klinický obraz, terapie). Galén, Praha, 2004, s. 23-159.
15. Jiráček R.: Současné trendy v biologické terapii Alzheimerovy choroby. Psychiatrie pro praxi, roč. 7, 2006, s. 8-11.
16. Jiráček R.: Současné trendy v kognitivní farmakoterapii Alzheimerovy choroby. Neurologie pro praxi, roč. 3, 2002, s. 101-105.

17. Jiráček R, Zemková P.: Psychofarmaka pro pacienty vyššího věku. Remedica, roč. 12, 2002, s. 425–432.
18. Koukolík, F.: Lidský mozek. Portál, Praha 2000, s. 85–117.
19. Koukolík F.: O vztahu lidského mozku a chování. Karolinum, Praha, 1997, s. 48-63.
20. Krejčová G., Ševelová L.: Současné poznatky o galantaminu, reverzibilním inhibitoru acetylcholinesterázy. Vojenské zdravotnické listy LXXII, 2003, s. 37-44.
21. Langmeier M., Marešová D., Mourek J., Pokorný J., Trojan S.: Serotonergní systémy (morfologie, funkce, klinika). Psychiatrie, roč. 8, suppl. 2, 2004, s. 43-46.
22. Mayeux R., Sano M.: Treatment of Alzheimer's disease. NEJM, 31, 1999, s.1670-1679.
23. Patočka J., Höschl C.: D-Serin: bílá vrána mezi aminokyselinami. Psychiatrie, roč. 8, 2004, s. 51-52.
24. Patočka J.: Inhibitory acetylcholinesterázy – od nervových plynů k léčivům Alzheimerovy choroby. Chemické listy, roč. 92, 1998, s.1016-1019.
25. Patočka J.: Kurkumin – koření nebo nové léčivo Alzheimerovy nemoci? Psychiatrie, roč. 9, 2005, s. 129-133.
26. Patočka J.: Memantin a jeho terapeutický potenciál u degenerativních poruch CNS. Psychiatrie, roč. 6, 2002, s. 35-40.
27. Patočka J.: Někteří méně známé neuromediátory. Psychiatrie, roč. 6, suppl. 3, 2002, s. 36-40.
28. Petrovič M., Sedláček M., Horák M., Vyklický L.: Neurofarmakologická podstata působení memantinu v léčbě Alzheimerovy demence. Klinická farmakologie a farmacie, roč. 18, 2004, s. 81-89.
29. Pidrman V., Bouček J.: Alzheimerova demence a zkušenosti s léčbou. Practicus, roč. 2, 2003, s. 25-27.
30. Pidrman V., Horáček J., Látalová K.: Interdisciplinární přístup v léčbě demence inhibitory cholinesteráz. Psychiatrie pro praxi, roč. 4, 2003, s.112-117.
31. Piňha J.: Farmakologické ovlivnění nervosvalového přenosu u myasthenia gravis. Remedica, roč. 14, 2004, s. 495-499.
32. Rektorová I.: Terapie demencí. Neurologie pro praxi, roč. 3, 2002, s.260-263.

33. Rokyta, R.: LTP a LTD - mechanismy učení a paměti. Psychiatrie, roč. 6, suppl. 3, 2002, s. 51-54.
34. Rusina R.: Paměť a její poruchy, Neurologie pro praxi, roč. 5, 2004, s. 205-207
35. Švestka J.: Galantamin - dualistické kognitivum. Psychiatrie, roč.5, 2001, s. 265-274.
36. Švestka J.: Nová psychofarmaka: Kognitivum donepezil. Psychiatrie, roč. 3, 1999, s. 36-44.
37. Vyskočil F.: Pomalý synaptický přenos. Vesmír, roč. 80, 2001, s. 13-15.