

Suvišna oksidacija proteina mozga i disfunkcija enzima kod Alzheimerove bolesti

Louč, Sanela

Undergraduate thesis / Završni rad

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of biology / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za biologiju**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:181:809857>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-18**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Department of biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek](#)



Sveučilište J.J. Strossmayera u Osijeku

Odjel za biologiju

Preddiplomski studij biologije

Sanela Louč

Suvišna oksidacija proteina mozga i disfunkcija enzima kod Alzheimerove bolesti

Završni rad

Mentorica: doc. dr. sc. Valentina Pavić

Osijek, 2016. godina

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA
Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Odjel za biologiju
Završni rad
Preddiplomski studij biologije

Završni rad

Znanstveno područje: Prirodne znanosti
Znanstveno polje: Biologija

Suvišna oksidacija proteina mozga i disfunkcija enzima kod Alzheimerove bolesti

Sanela Louč

Mentor: doc. dr.sc. Valentina Pavić

Kratak sadržaj:

Alzheimerova bolest je oblik progresivne demencije koju prate simptomi moždane atrofije. Suvišnom oksidacijom proteina koja je uzrokovana slobodnim radikalima dolazi do patoloških promjena na mozgu. Alzheimerovu bolest karakteriziraju senilni plakovi i neurofibrilarni čvorovi na mozgu. Uslijed oksidacije proteina i nitriranja tirozina aktivnost enzima koji sudjeluju u važnim metaboličkim procesima se smanjuje, što dovodi do neurodegeneracije koja je karakteristična za Alzheimerovu bolest.

Broj stranica: 15

Broj slika: 5

Broj literaturnih navoda: 18

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: Alzheimerova bolest, oksidacija proteina, oksidacijski stres, nitriranje, neurodegeneracija

Datum ocjene:

Rad je pohranjen u: knjižnici Odjela za biologiju Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku i u Nacionalnoj sveučilišnoj knjižnici u Zagrebu, u elektroničkom obliku, te je objavljen na web stranici Odjela za biologiju.

BASIC DOCUMENTATION CARD**BSc thesis**

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek
Department of Biology
Bachelor's thesis
Undergraduate Study of Biology

Scientific Area: Natural Sciences
Scientific Field: Biology

Excessive brain protein oxidation and enzyme dysfunction in Alzheimer's disease
Sanela Louč

Supervisor: Valentina Pavić, Associate Professor

Abstract:

Alzheimer's disease is a form of progressive dementia with symptoms of brain atrophy. Excessive protein oxidation caused by free radicals leads to pathological changes in the brain. Alzheimer's disease is characterized by senile plaques and neurofibrillary tangles in the brain. Due to protein oxidation and nitration of tyrosine, activity of enzymes involved in important metabolic processes is reduced, which leads to neurodegeneration characteristic for Alzheimer's disease.

Number of pages: 15
Number of figures: 5
Number of references: 18
Original in: Croatian

Key words: Alzheimer's disease, protein oxidation, oxidative stress, nitration, neurodegeneration

Date of grading:

Thesis deposited in: Library of Department of Biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek and in National university library in Zagreb in electronic form. It is also available on the web site of Department of Biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek.

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. ALZHEIMEROVA BOLEST.....	2
2.1 Otkriće Alzheimerove bolesti.....	2
2.2 Klinička obilježja.....	2
2.3 Stadiji Alzheimerove bolesti.....	3
2.3.1. Prvi stadij.....	4
2.3.2. Drugi stadij.....	4
2.3.3. Treći stadij.....	4
3. OKSIDACIJA PROTEINA.....	5
3.1 Mehanizam oksidacije proteina.....	5
3.2 Oksidativna modifikacija neuronskih proteina kod Alzheimerove bolesti; uloga $A\beta$	7
3.3 Oksidativna modifikacija proteina uzrokovana nitriranjem tirozinskog ostatka proteina.....	11
4. ZAKLJUČAK.....	13
5. LITERATURA.....	14

1. UVOD

Alzheimerova bolest je oblik progresivne demencije ili gubitka pamćenja kod koje se javlja propadanje živčanih stanica koje je praćeno simptomima moždane atrofije (Hyman i sur., 1984, Whitehouse i sur., 1982). Alzheimerova bolest je najučestaliji oblik demencije, a najveći rizični čimbenik za nastanak ove bolesti je starost. Od Alzheimerove bolesti najčešće obolijevaju osobe starije od 65 godina. Prvenstveno ju možemo svrstati u bolest u kojoj je primarno naglašeno propadanje sinapsi. Bolest ne uzrokuje samo prekid komunikacije među neuronima, već oštećuje neurone koji više ne funkcioniraju normalno i na kraju umiru. Simptomi bolesti se pojavljuju postupno i s vremenom postaju sve teži, a na kraju dolazi do smrti. Osobama kojima se dijagnosticira Alzheimerova bolest, od trenutka postavljanja dijagnoze žive u prosjeku još 5 do 10 godina.

Središnje mjesto u patogenezi Alzheimerove bolesti ima amiloid β - peptid ($A\beta$ -peptid). Suvišnom oksidacijom proteina koja je uzrokovana slobodnim radikalima dolazi do patoloških promjena na mozgu. $A\beta$ - peptid, glavna je komponenta senilnih plakova na mozgu. Alzheimerovu bolest također karakteriziraju neurofibrilarni čvorovi čija je glavna komponenta modificirani protein *tau*. Kod Alzheimerove bolesti, zbog oksidacije proteina uzrokovane slobodnim radikalima dolazi do smanjene aktivnosti enzima koji sudjeluju u važnim metaboličkim procesima. Također, važan oksidativni proces s dubokim funkcionalnim i strukturalnim posljedicama uključuje ireverzibilno nitriranje tirozina djelovanjem peroksinitrita čiji je rezultat također smanjena aktivnost proteina što dovodi do neurodegeneracije karakteristične za Alzheimerovu bolest.

Alzheimerova bolest je još uvijek neizlječiva, što predstavlja velik izazov za znanstvenike. Unatoč već brojnim istraživanjima o Alzheimerovoj bolesti, nužna su nova istraživanja, koja bi trebala otkriti metode sprječavanja-nastajanja bolesti ili smanjenja njene progresije.

2. ALZHEIMEROVA BOLEST (AB)

2.1. Otkriće Alzheimerove bolesti

Njemački psihijatar i neuropatolog Alois Alzheimer zaslužan je za prvi opis presenilne demencije. Godine 1901. dok je radio u psihijatrijskoj bolnici u Frankfurtu primio je pacijenticu Augustu Denter, koja je sljedećih pet godina bila središte njegovog zanimanja. Pacijentica u dobi od 51 godine patila je od neuobičajenih simptoma koji su uključivali gubitak kratkotrajnog pamćenja. Nakon njene smrti 1906. godine, na uzorcima njenog mozga posebnim je tehnikama bojanja u neuronima opazio nakupine amiloida u plakovima te neurofibrilarne snopiće. Prvi put su se klinički simptomi presenilne demencije povezali s patološkim promjenama na mozgu. Kako je u to vrijeme njemački jezik bio vodeći u psihijatriji, Alzheimerov kolega, Emil Krepelin zaslužan je što se ovaj naziv bolesti uvriježio u znanstvenoj literaturi. Danas znamo da je Alzheimerova bolest oblik progresivne demencije, odnosno propadanja kognitivnih funkcija živčanih stanica praćena simptomima moždane atrofije. 2/3 svih demencija otpada na Alzheimerovu bolest, što predstavlja veliki javnozdravstveni problem. To je bolest starije populacije, te se obično javlja nakon 65 godine života (Lyras i sur. 1997). Najnovije znanstvene procjene govore da bi u svijetu do 2020. moglo biti 43 milijuna oboljelih, do 2040. čak 81 milijun oboljelih, a do polovice ovog stoljeća više od 115 milijuna oboljelih od demencije. Procjenjuje se da u Hrvatskoj ima oko 80 tisuća oboljelih od demencije i da će ta brojka rasti. Svaki dvanaesti čovjek, stariji od 65 godina oboli od Alzheimerove bolesti, a 24% starijih od 75 godina ima neki oblik ove bolesti. U razvijenim zemljama svijeta, odnosno svim zemljama "starog stanovništva" (u koje se ubraja i Hrvatska), oko 50% starijih od 85 godina boluje od Alzheimerove bolesti (Puljak i sur., 2005).

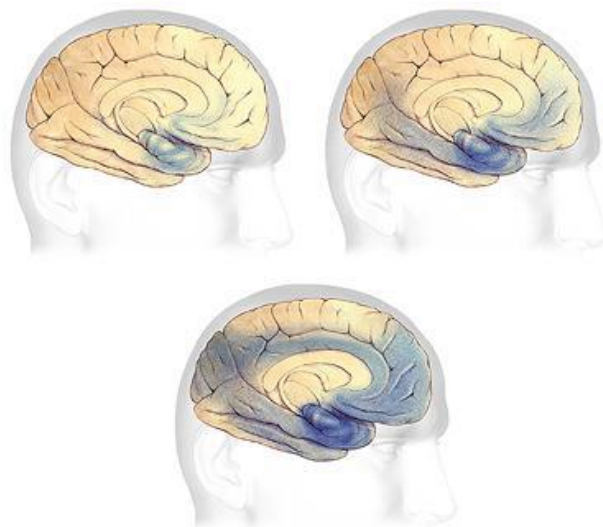
2.2. Klinička obilježja

Alzheimerova bolest je progresivna bolest mozga koja je karakterizirana demencijom odnosno gubitkom pamćenja, smanjenom sposobnosti rasuđivanja te promjenama osobnosti. Kako bolest počinje utjecati na pamćenje i mentalne sposobnosti, dolazi i do promjena u emocionalnom stanju i ponašanju pacijenta. Pacijenti imaju problem sa nesanicom, dezorijentirani su, postaju agresivni i ljutiti, razdražljivi i depresivni, a bolest može dovesti do halucinacija i

deluzija (Jenner i Miller, 1996). Simptomi AB se javljaju postepeno, razvijaju se u periodu od nekoliko godina, te variraju od osobe do osobe. Prvi simptom koji se pojavljuje obično je zaboravljivost za nedavne događaje, uz relativnu očuvanost dugoročne memorije što se vrlo često pripisuje staračkoj zaboravnosti, a to je velika greška. Naime, AB je progresivan poremećaj u okviru kojeg se tijekom vremena javljaju kognitivne smetnje i psihičke promjene, što znatno utječe na samostalnost bolesnika. Kognitivni simptomi koji se pojavljuju su smetnje kratkoročne memorije i otežano donošenje odluka te se oni javljaju kao rani simptomi, dok se tijekom vremena javlja dezorijentacija u vremenu i prostoru. U kasnijim fazama bolesti javljaju se simptomi poput neprepoznavanja bliskih osoba i otežanog, nerazumljivog govora. Psihijatrijske promjene uključuju poremećaje u ponašanju, kao i psihičke poremećaje. Javljaju se simptomi socijalno neadekvatnog ponašanja poput uznemirenosti, agresije, depresije i poremećaji sna odnosno promijene ciklusa spavanja (Jenner i Miller, 1996, McCurry i sur., 1999).

2.3. Stadiji Alzheimerove bolesti

Kao posljedica kognitivnih smetnji i psihijatrijskih promjena javlja se čitav niz poremećaja u obavljanju svakodnevnih aktivnosti zbog kojih bolesnik postaje sve ovisniji o tuđoj pomoći. Ovisno o funkcionalnosti bolesnika napredovanje AB se može pratiti kroz 3 stadija: blaga, umjerena i uznapredovala AB (Slika 1.)



Slika 1. Razvoj Alzheimerove bolesti od njenog blagog do naprednog stadija (web 1)

2.3.1. Prvi stadij

U prvom, ranom stadiju bolesti gubitak pamćenja može proći gotovo neopaženo što se najčešće pripisuje staračkoj zaboravljivosti. Za ovu fazu je karakterističan gubitak epizodičnog deklarativnog pamćenja- naročito usvajanja novih sadržaja, što je praćeno i progresivnim propadanjem mogućnosti prisjećanja već usvojenih epizodičkih sadržaja (Perry i sur., 2000). Javljaju se poteškoće prilikom spontanog govora te bolesnici teško pronalaze prave riječi zbog čega zaobilaznim putem nastoje reći što su naumili. Kod bolesnika se mogu javiti problemi u izvođenju svakodnevnih aktivnosti, primjerice zaboravljaju put do kuće, imaju problema sa oblačenjem, pronalaženjem stvari i slično. Osim toga pojavljuju se varijacije u emocionalnom raspoloženju odnosno ponašanju (Lopez i sur., 2003).

2.3.2 Drugi stadij

U ovoj fazi bolest se proširuje na područja moždane kore koji kontroliraju govor, rasuđivanje i svjesno razmišljanje. Simptomi postaju sve teži te se bolest sve više širi. Simptomi poput gubitka pamćenja, težeg prepoznavanja okoline i bliskih osoba, otežanog govora i pisanja sve su izraženiji. Bolesnici također ponavljaju iste pokrete ili izjave te se mogu pojaviti paranoja, halucinacije i slično. Na emocionalnoj razini osjećaju tjeskobu i nemir (Lopez i sur., 2003).

2.3.3 Treći stadij

U posljednjoj fazi bolesti, većina moždanog tkiva je uništena a plakovi i neurofibrilarni snopići su rasprostranjeni po cijelom mozgu . Počinje se gubiti proceduralno pamćenje dok su deklarativno,epizodičko i semantičko pamćenje u potpunosti izgubljeni. Bolesnik je potpuno ovisan o njezi drugih te je prikovan za krevet jer nije više u mogućnosti hodati, jesti, komunicirati a ni kontrolirati sfinktere. Krajnja posljedica je smrt čiji je uzrok ulazak tekućine i hrane u pluća umjesto zraka (aspiracijska pneumonija) zbog nemogućnosti gutanja i žvakanja (Wada i sur., 2001).

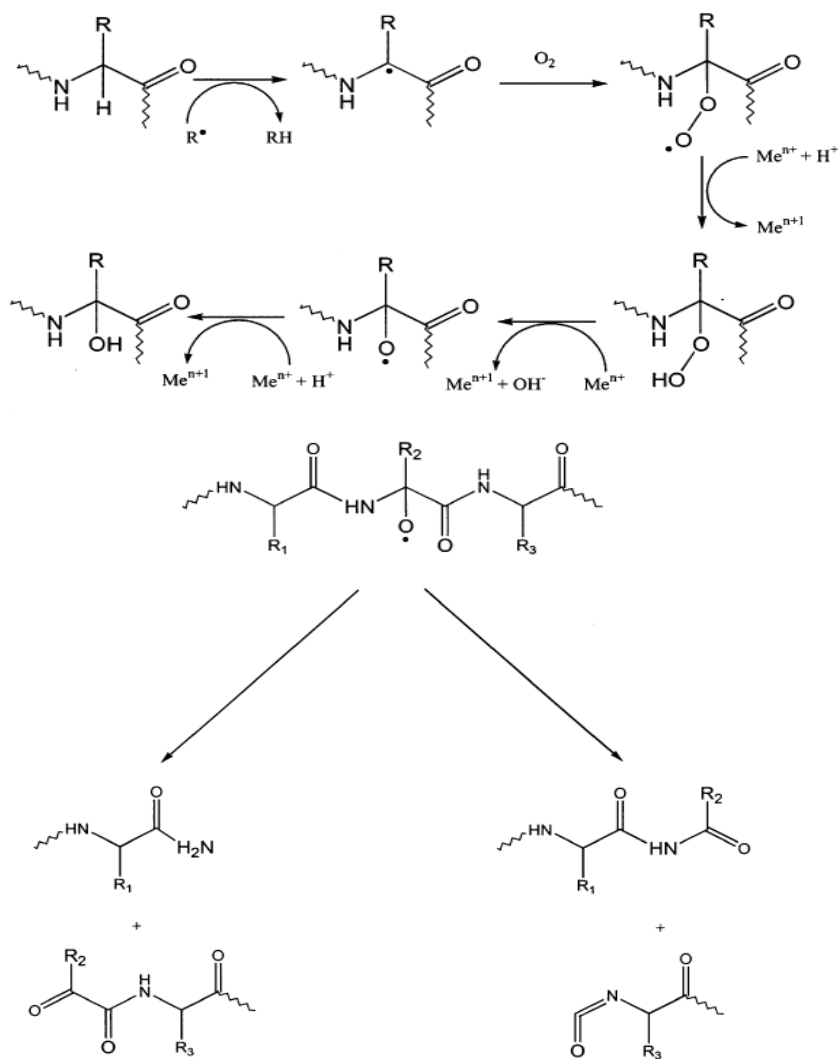
3. OKSIDACIJA PROTEINA

3.1. Mehanizam oksidacije proteina

Oksidacija proteina je obično uzrokovana slobodnim radikalima, a taj proces je termodinamički gledano egzoterman proces. Oksidativne promjene peptida su posredovane uglavnom hidroksilnim radikalom ($\text{OH}\bullet$) koji se može proizvesti razgradnjom vodikovog peroksida u prisutnosti redoks metala (Cu^+ i Fe^{2+}). Postoje dva moguća oksidacijska puta koji se mogu pojaviti: (a) oksidacija kraja okosnice proteina i (b) oksidacija bočnog lanca (Shema 1).

Oksidaciju kraja okosnice proteina započinje razdvajanje α -C atoma i vodikovog iona djelovanjem slobodnog radikala što vodi do formiranja ugljik-centriranog radikala. U prisutnosti atoma kisika, taj radikal prelazi u peroksidni radikal. To može dovesti do stvaranja alkoksidnog radikala i daljnje hidroksilacije kraja peptida. Te reakcije mogu biti posredovane ionima Cu^+ , Fe^{2+} ili hidroperoksidnim radikalom ($\text{HOO}\bullet$). Važno je naglasiti da oksidacija proteina također može dovesti do unakrsnog vezanja proteina i/ili cijepanja kraja peptida preko diamid ili α -amidacijskih putova. Cijepanje okosnice peptida odnosno peptidnog kraja rezultirati će stvaranjem karbonilnih grupa koje se često koriste kao markeri za oksidaciju proteina. Dodatno, formirani peptidni radikal može razdvojiti vodikov atom od ugljikovog atoma istog ili drugog peptida radi formiranja drugog ugljik-centriranog radikala, čime se propagira oksidacija, preko i između proteina, koja je inicirana slobodnim radikalima.

Oksidacija aminokiselinskih bočnih lanaca u velikoj mjeri ovisi o njihovoj strukturi. Iako je većina aminokiselinskih bočnih lanaca osjetljiva na oksidaciju, oksidacijski produkti samo nekih aminokiselina su u potpunosti karakterizirani. Oni uključuju lizin, metionin, cistein, histidin, tirozin, fenilalanin, triptofan, treonin, arginin, prolin i glutaminsku kiselinu. Primjerice, aminokiseline koje sadrže sumpor (Cis, Met) su lako i reverzibilno oksidirane pod relativno blagim uvjetima, što dovodi do nastajanja disulfida i metioninsulfoksida. Na temelju eksperimentalnih dokaza, predloženo je da oksidacija metionina može biti zaštitni mehanizam koji služi kao „puffer“ od ozbiljnijeg oksidativnog oštećenja. To nadalje podržava postojanje enzima metioninsulfoksidreduktaze.

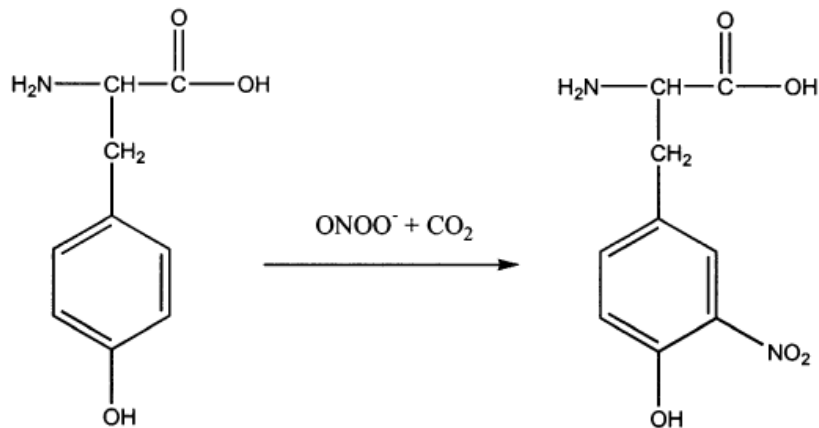


Shema 1. Formiranje karbonilne grupe proteina zbog napada slobodnog radikala
(Butterfield i Kanski, 2001)

Važan oksidativni proces s dubokim funkcionalnim i strukturalnim posljedicama uključuje ireverzibilno nitiranje tirozina djelovanjem peroksinitrita (ONOO^-) (Shema 2). Dobiveni 3-nitrotirozin (3-NT) može blokirati proteinsku aktivaciju/deaktivaciju putem fosforilacije/defosforilacije što uključuje 4-OH skupinu tirozina, dakle potencijalno, ugrožavajući različite mehanizme stanične aktivnosti.

Drugi mehanizam modifikacije bočnog lanca aminokiseline praćen oksidativnim stresom povezan je s produktima peroksidacije lipida i uključuje Michaelovu adiciju na cisteinske, histidinske ili lizinske ostatke bogate elektronima pomoću reaktivnih aldehida (primjerice 4-hidroksinonenala [HNE]). Ti reaktivni alkeni će reagirati s nukleofilnim bočnim

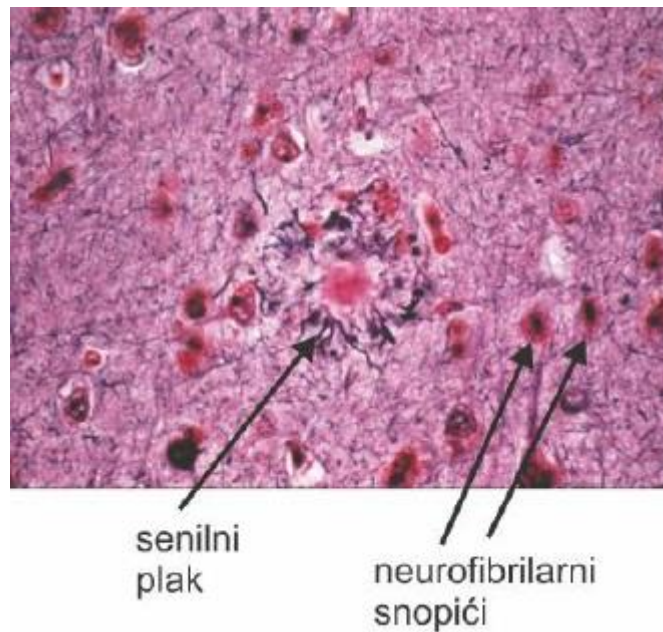
lancima Cis, His i Lys ostataka , što rezultira kovalentnom adicijom aldehida na karbonilnu skupinu peptidnog lanca, i promjenom konformacije te funkcije membranskih proteina. U nekim slučajevima, unakrsno povezivanje proteina može uzrokovati stvaranje Schiffove baze između karbonilne skupine alkena i amino skupine na susjednom proteinu (Butterfield i Kanski, 2001).



Shema 2. Nitiranje položaja-3 tirozina pomoću peroksinitrita (Butterfield i Kanski, 2001)

3.2. Oksidativna modifikacija neuronskih proteina kod Alzheimerove bolesti; uloga A β

Alzheimerova bolest je patološki karakterizirana kortikalnom atrofijom, gubitkom neurona, proliferacijom glija stanica, suvišnim formiranjem neurofibrilarnih snopića/čvorova i depozitom β -amiloida u neuralnim plakovima (Lyras i sur., 1997). Senilni plakovi su izvanstanične kuglaste nakupine koje se sastoje od gustog, uglavnom netopljivog proteinskog materijala. Glavna komponenta plakova je A β peptid. Neurofibrilarni snopići su nakupine u neuronima čija je glavna komponenta hiperfosforilirani oblik proteina *tau* (Slika 2.) (Malnar i sur., 2009). Također kod AB, dolazi do nakupljanja peptida A β , hiperfosforilacije proteina *tau*, neurovaskularne disfunkcije i upalnih procesa. Mehanizmi odgovorni za gubitak neurona kod AB ostaju nepoznati. Jedna hipoteza je da stanični događaji koji uključuju oksidacijski stres mogu dovesti do neurodegeneracije (Lyras i sur., 1997).



Slika 2. Prikaz patoloških lezija karakterističnih za Alzheimerovu bolest (Malnar i sur., 2009)

Postoje značajni dokazi u skladu s važnošću oksidacijskog stresa u patologiji AB. Brojni su dokazi koji potvrđuju oksidativni stres u mozgu uzrokovan slobodnim radikalima kod Alzheimerove bolesti, a neki od njih su povećana oksidacija proteina, smanjena aktivnost enzima koji su skloni oksidaciji poput glutamin sintaze (GS) i kreatinkinaze (CK) te najvažniji da amiloid β - peptidi ($A\beta$) uzrokuju oksidativni stres i neurotoksičnost u živčanom sustavu. Ostali faktori kao što su genotip apolipoproteina E i mutirani presenilin proteini također mogu odigrati ulogu u oksidativnom stresu kod Alzheimerove bolesti.

U brojnim istraživanjima primijećen je značajan porast karbonilnih skupina proteina u frontalnom režnju mozga oboljelom od AB u usporedbi sa kontrolama iste dobi. Razine oksidacije proteina u hipokampusu i donjem parijetalnom režnju su značajno povišene u usporedbi sa tim regijama kod kontrolnih moždanih tkiva i u odnosu na mali mozak kod AB. Hipokampus i donji parijetalni režanj su bogati $A\beta$ plakovima, dok je mali mozak relativno patološki pošteđen kod AB. Oksidacija proteina mozga kod AB je povezana sa drugim biomarkerima oksidacijskog stresa, primjerice gubitkom aktivnosti enzima osjetljivih na oksidativni stres kao što su GS i CK.

Specifično povećana oksidacija proteina mozga kod AB je pronađena kod CK i β -kinaze. Oksidacija CK, sa njenom ključnom -SH skupinom u aktivnom mjestu, može objasniti njenu smanjenu aktivnost u mozgu s AB. Nastala smanjena aktivnost CK može imati posljedice za poznati smanjeni metabolizam energije u mozgu kod AB. Oksidacija β - tubulina

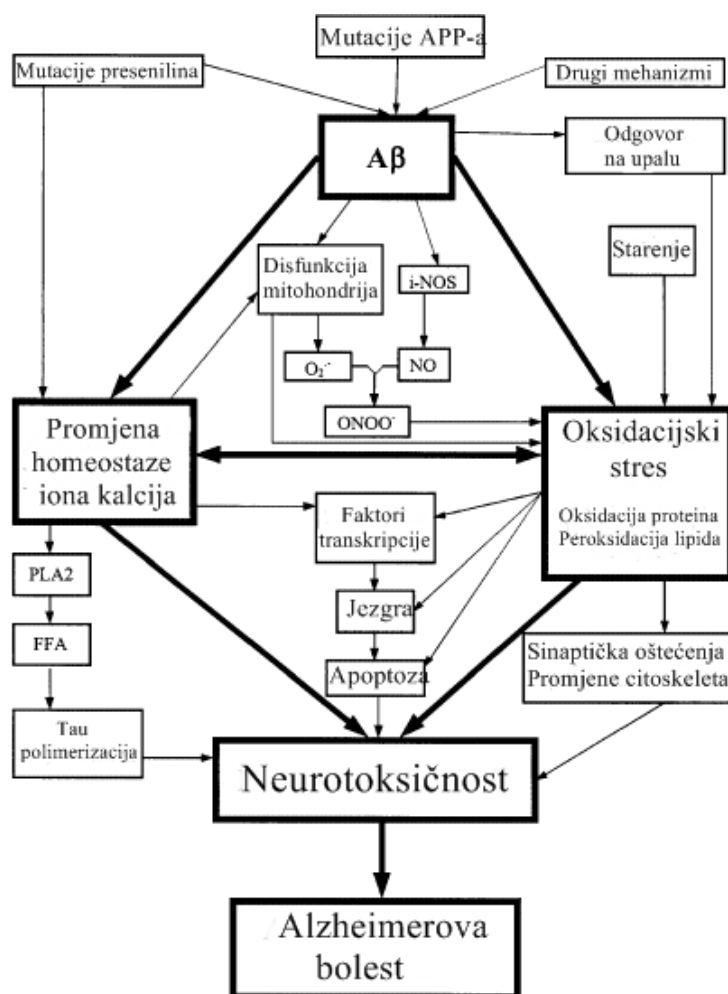
kao posljedicu može imati promijenjeno nakupljanje citoskeletnih proteina u neuronima kod AB. Aktivnost GS u mozgu je također smanjena kod AB. A β peptidi inaktiviraju GS u izvanstaničnoj tekućini. Oksidacija GS uz popratni gubitak aktivnosti, ima posljedice za ekscitotoksične mehanizme za neurone kod AB, uključujući nakupljanje Ca²⁺ i apoptozu. Apolipoprotein E4 je rizični faktor za AB, i taj alel je navodno osjetljiviji na oksidaciju proteina te ima manji antioksidacijski kapacitet od E3 i E2 alela. Sinaptosomi iz apolipoproteina E4 su podložniji oksidativnom stresu koji je induciran A β peptidom.

Smatra se da je A β (1-42) središnje mjesto u patogenezi AB. A β (1-42) se proizvodi metabolizmom prekursora proteina amiloid- β (APP). Slobodne masne kiseline proizvedene dodatkom A- β u sinaptosome su u povećanoj količini u mozgu kod AB i pretpostavlja se da uzrokuju povećanu polimerizaciju *tau* proteina. Prema tome, to bi mogla biti poveznica između A β -induciranog oksidativnog stresa i *tau* polimerizacije sa štetnim posljedicama za neurone (Butterfield i Kanski, 2001). Protein *tau* je normalni aksonalni protein koji se veže na mikrotubule putem svojih domena potičući time sklapanje i stabilnost mikrotubula (Blennow i sur., 2006, Malnar i sur., 2009). Zdrave neurone dijelom podupiru mikrotubuli koji pomažu u transportu hranjivih tvari i drugih staničnih komponenti, kao što su npr. neurotransmiteri. Hiperfosforilacija proteina *tau* počinje unutarstanično i uzrokuje razgradnju mikrotubula te nakupljanje hiperfosforiliranog oblika proteina unutar stanice zajedno s drugim proteinima vezanim za mikrotubule. Ove promjene dovode do poremećenog transporta unutar aksona što na kraju dovodi do oslabljene funkcije i aktivnosti sinapsa tj. smetnji u sinaptičkoj funkciji neurona (Blennow i sur., 2006, Malnar i sur., 2009) što utječe na sposobnost pamćenja.

Smatralo se da je formiranje fibrila A β (1-42) esencijalno za neurotoksičnost tog peptida, ali to više nije uvjet za toksičnost. To se temelji na opažanju da nekoliko proteina, uključujući apolipoprotein J i GS, kada su u interakciji s A β , toksičniji su nego A β zasebno, a vlakna nisu formirana. Nedavna istraživanja su pokazala da nakupljeni, topljivi A β (1-42) formira male strukture, nazvane protofibrile, koje su vrlo toksične za neurone. Takve male nakupine se mogu umetnuti u membranski dvosloj neurona za izazivanje peroksidacije lipida, oksidacije proteina, i modifikacije proteina. Poznato je da se inhibicija Na⁺/K⁺-ATP-aze i Ca²⁺-ATP-aze odvija sa A β ili HNE i može promijeniti potencijal membrane neurona, odnosno otvoriti kanale za Ca²⁺, što rezultira influsom Ca²⁺ te može izazvati niz štetnih događaja (Butterfield i Kanski, 2001). Dakle, oksidativni stres utječe na povećanje membranske propusnosti za ione kalcija kao i ostale ione te inhibira prijenos glukoze uzrokujući neravnotežu energije u stanicama. A β formira o naponu neovisne kationske kanale u lipidnim membranama, rezultirajući unosom kalcija i propadanjem neurona. A β može

izazvati mitohondrijsko bubrenje odnosno djeluje poput otrova jer inhibira ključne mitohondrijske enzime u mozgu što posebno utječe na sinapse i citokrom c oksidazu. Kao posljedica, prijenos elektrona, proizvodnja ATP-a i mitohondrijski membranski potencijal su inhibirani što dovodi do oksidativnog stresa, otpuštanja citokroma c i apoptoze stanica (Querfurth i LaFerla, 2010). Drugi štetni učinci mogu biti još i degradacija citoskeleta te aktivacija fosfolipaze sa poticanjem upalnih procesa da se stimuliraju endonukleaze a svi ti štetni događaji mogu uzrokovati smrt neurona.

Ovi rezultati su u skladu sa povezivanjem središnjeg mjesta A β u patogenezi Alzheimerove bolesti sa oksidativnim stresom koji je uzrokovan slobodnim radikalima po kojem je poznat mozak kod AB, što dovodi do neurodegeneracije u mozgu kod AB (Slika 3). Prema tome, iako nakupljanje A β (1-42) peptida može biti nužno za njegova neurotoksična svojstva, formiranje vlakana ne mora biti (Butterfield i Kanski, 2001).



Slika 3. Shematski dijagram pokazuje povezanost A β peptida sa oksidacijskim stresom i neurotoksičnošću kod Alzheimerove bolesti. Model je u skladu sa središnjom ulogom A β u patogenezi Alzheimerove bolesti i opsežnim oksidativnim stresom (Butterfield i Kanski, 2001).

3.3. Oksidativna modifikacija proteina uzrokovana nitriranjem tirozinskog ostatka proteina

Veliki broj istraživanja prikazuje važnost metabolizma energije u doprinosu za otkrivanje patogeneze AB. Metabolizam glukoze se smanjuje u mozgu kod AB, posebice u temporo-parijetalnim i frontalnim područjima. Slične abnormalnosti otkrivene su u trombocitima i fibroblastima kod AB. Osim toga, pacijenti s AB pokazuju povećanu otpornost na inzulin i intoleranciju glukoze. Ovi podaci ukazuju na metaboličke poremećaje u AB što dodatno podupiru rezultati predstavljeni na glikolitičkim enzimima.

Alfa i gama enolaze su dvije podjedinice koje tvore enzim enolazu, koji pretvara 2-fosfogliceratu fosfoenolpiruvat u glikolitičkom putu. $\alpha\gamma$ i $\gamma\gamma$ izoforme su dominantni dimeri u mozgu, što predstavlja neuron-specifične enolaze, dok su ostale izoforme uglavnom prisutne u srcu i skeletnim mišićima. Ovaj enzim je opsežno istraživao u mozgu kod AB. Razina α -podjedinice povećana je u usporedbi s kontrolnim uzorkom mozga. α -enolaza je specifično oksidirana u mozgu kod AB, što pruža dokaze o abnormalnoj aktivnosti tog enzima, što može doprinijeti poremećenom metabolizmu glukoze kod AB (Castegna i sur., 2002b).

Abnormalno nitriranje tirozinskih ostataka enolaze, zajedno s povećanim nitriranjem tirozina u triozafosfatizomerazama, može rezultirati smanjenom aktivnosti enzima, što pak, može dovesti do smanjenja glikolize i hipometabolizma. Sinapsa, pod oksidativnim stresom i stresom uzrokovanim nitriranjem u mozgu kod AB, će zahtijevati ATP, da osigura energiju za pravilno funkcioniranje ATPaze pobuđene ionima kako bi se održao gradijent potencijala rada pumpi i održala asimetrija membrane lipidnog dvosloja. Ti podaci daju potencijalno važnu poveznicu između modifikacije proteina povezane s oksidacijskim stresom i metaboličkih oštećenja u mozgu kod AB.

Nitriranje tirozina je selektivni događaj, što znači da su blizina mete i proteinska struktura važne u modifikaciji proteina. Pod normalnim uvjetima, koncentracija NO je zanemariva u usporedbi sa superoksid dismutazom, koja učinkovito uklanja O_2^- . Lokalna okolina tirozina ključna je za nitriranje, jer negativno nabijene aminokiseline koje okružuju tirozin bi možda poboljšale osjetljivost na nitrirajuća sredstva. Naravno, sterička smetnja može igrati ulogu, posebno za tirozinske ostatke, koji su često ugrađeni u hidrofobnu jezgru proteina. Sva ova zapažanja zajedno podržavaju podaci, koji pokazuju da je samo 6 proteina modificirano nitracijom (Castegna i sur., 2003).

Energetski metabolizam koji koristi laktat je važan put za proizvodnju energije u neuronima. Pod produljenom stimulacijom, laktat se natječe s glukozom, a pod postishemičnim/ hipoksičnim uvjetima vjerojatno je da je samo laktat, oksidirani energijski supstrat, na raspolaganju za oporavak neurona. Nitracijska modifikacija laktatdehidrogenaze može rezultirati smanjenom enzimskom aktivnosti, što pak možda neće uspjeti osigurati dodatnu oksidacijsku snagu za proizvodnju energije. U mozgu kod AB, gdje neurodegeneracija zauzima mjesto zajedno sa smanjenim metabolizmom energije, nedostatak energetske podrške laktatu uzrokuje smanjenu aktivnost laktatdehidrogenaze što dodatno slabi već nesigurnu ravnotežu između proizvodnje i korištenja energije.

Modificiranje citoskeletnih proteina i njihovih učinaka u stanicama su intenzivno istraživani. Aktin je identificiran kao potencijalna meta nitriranja, jer sadrži mnogo tirozina. Učinak nitriranih citoskeletnih proteina u remećenju citoskeleta i aktivaciji staničnih odgovora koji dovode do apoptoze je važan u AB, te je β -aktin identificiran kao specifična meta oksidacije proteina. Međutim, aktin je i meta nitriranja proteina što potvrđuje osjetljivost ovog enzima na nitriranje i potvrđuje ulogu oksidativnog stresa u modifikaciji proteina. U određenim slučajevima nitriranje tirozina čini proteine sklonijima proteosomalnoj degradaciji. Nitriranje tirozina tada vrši signalnu ulogu, obilježavanjem proteina za degradaciju. Osim toga, modifikacija proteina ovisna o peroksinitritu može modulirati signalne događaje, mijenjajući ravnotežu između fosforilacije i defosforilacije. Dokaz da je koncentracija slobodnog nitrotirozina povećana u mozgu kod AB je u skladu s činjenicom da se proteosomalna razgradnja proteina odvija modifikacijama na tirozinu.

Dakle, u uvjetima oksidativnog stresa, koji se pojavljuju u mozgu kod AB, specifični proteini su modificirani agensima za nitriranje. Njihov rezultat je smanjena aktivnost što vjerojatno doprinosi neurodegeneraciji koja je karakteristična za AB (Castegna i sur., 2003).

4. ZAKLJUČAK

Alzheimerovu bolest karakteriziraju nenormalni depoziti proteina u mozgu, kao što su ekstracelularni amiloidni plakovi i intracelularni neurofibrilarni snopovi, kao i kolinergički deficit, ali etiologija bolesti još uvijek nije u potpunosti razjašnjena. Amiloid- β -peptid glavna je komponenta senilnih plakova mozga, te on dovodi do povećanog stvaranja slobodnih radikala kisika time i citotoksičnog oksidativnog stresa u stanicama. Glavna komponenta neurofibrilarnih snopića je *tau* protein koji je modificiran fosforilacijom i agregacijom što dovodi do degeneracije neurona. Unatoč brojnim istraživanjima Alzheimerove bolesti ona je i dalje neizlječiva. Kako se broj oboljelih s godinama sve više povećava, istraživanja Alzheimerove bolesti još uvijek predstavljaju veliki izazov znanstvenicima te su ona itekako važna jer im je cilj sprečavanje nastanka bolesti, smanjenje njezine progresije te razvoj novih oblika liječenja.

5. LITERATURA

Aksenov MY, Aksenova MV, Butterfield DA, Geddes JW, Markesbery WR. 2001. Protein oxidation in the brain in Alzheimer's Disease. *Neuroscience* 103: 373-383.

Blennow K, De Leon MJ, Zetterberg H. 2006. Alzheimer's disease. *Lancet* 368: 387-403.

Butterfield DA, Kanski J. 2001. Brain protein oxidation in age-related neurodegenerative disorders that are associated with aggregated proteins. *Mech Ageing Dev* 122: 945-962.

Castegna A, Aksenov M, Aksenova M, Thongboonkerd V, Klein JB, Pierce WM, Booze R, Markesbery WR, Butterfield DA. 2002. Proteomic identification of Oxidatively modified proteins in Alzheimer's disease brain. Part I: creatine kinase BB, glutamine synthase, and ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L-1. *Free Radical Bio Med* 33: 562-571.

Castegna A, Aksenov M, Aksenova M, Thongboonkerd V, Klein JB, Pierce WM, Booze R, Markesbery WR, Butterfield DA. 2002. Proteomic identification of oxidatively modified proteins in Alzheimer's disease brain. Part II: dihydropyrimidinase-related protein 2, a-enolase and heat shock cognate 71. *J neurochem* 82: 1524-1532.

Castegna A, Thongboonkerd V, Klein J.B, Lynn B, Markesbery WR, Butterfield DA. 2003. Proteomic identification of nitrated proteins in Alzheimer's disease brain. *J neurochem* 85: 1394-1401.

Hyman BT, Van Hoesen GW, Damasio AR, Barnes CL. 1984. Alzheimer's disease: cell-specific pathology isolates the hippocampal formation. *Science* 225: 1168-1170.

Jenner G, Miller B. 1996. Relationship of aggressive behavior to other neuropsychiatric symptoms in patients with Alzheimer's disease, *Am J Psychiat* 153: 243-247

Lopez OL, Becker JT, Sweet RA, Klunk W, Kaufer DI, Saxton J, Habeych M, DeKosky ST. 2003. Psychiatric Symptoms Vary With the Severity of Dementia in Probable Alzheimer's Disease. *J Neuropsych Clin N* 15: 346-353

Lyras L, Cairns NJ, Jenner A, Jenner P, Halliwell B. 1997. An assessment of oxidative damage to proteins, lipids and DNA in brain from patients with Alzheimer's disease. *J neurochem* 68: 2061-2069.

Malnar M, Kosicek M, Hecimovic S. 2009. Alzheimerova bolest: od molekularnog mehanizma do rane dijagnoze. *Medicina* 45: 234-243.

McCurry SM, Logsdon RG, Teri L, Gibbons LE, Kukull WA, Bowen JD, McCormick WC, Larson EB. 1999. Characteristics of sleep disturbance in community-dwelling Alzheimer's disease patients. *J Geriatr Psychiatry Neurol* 12: 53-9.

Perry R, Watson P, Hodges JR. 2000. The nature and staging of attention dysfunction in early (minimal and mild) Alzheimer's disease: relationship to episodic and semantic memory impairment. *Neuropsychologia* 38: 252-271

Puljak A, Perko G, Mihok D, Radašević H, Tomek-Roksandić S. 2005. Alzheimerova bolest kao gerontološki javnozdravstveni problem. *Medicus* 14: 229-235.

Querfurth WH, LaFerla MF. 2010. Alzheimer's disease. *New Engl J Med* 362: 329-344.

Wada H, Nakajoh K, Satoh-Nakagawa T, Suzuki T, Ohru T, Arai H, Sasaki H. 2001. Risk Factors of Aspiration Pneumonia in Alzheimer's Disease Patients. *Gerontology* 47: 271-276

Whitehouse PJ, Price DL, Struble RG, Clark AW, Coyle JT, Delon MR. 1982. Alzheimer's disease and senile dementia: loss of neurons in the basal forebrain. *Science* 215: 1237-1239

Web 1: www.alz.org/braintour/progression.asp