

# Biološka uloga presenilina

---

Horvat, Eva

Undergraduate thesis / Završni rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Applied Health Sciences / Zdravstveno veleučilište**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:139:978087>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-23**



Repository / Repozitorij:

[Sveznalica](#)



**ZDRAVSTVENO VELEUČILIŠTE**  
**STUDIJ MEDICINSKO-LABORATORIJSKE DIJAGNOSTIKE**

**EVA HORVAT**  
**BIOLOŠKA ULOGA PRESENILINA**

**ZAVRŠNI RAD**

**ZAGREB, 2024.**

**MEDICINSKO-LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA**

**BIOLOŠKA ULOGA PRESENILINA**

**ZAVRŠNI RAD**

**STUDENT**

**EVA HORVAT**

**MENTOR**

**Dr. sc. LANA FEHER TURKOVIĆ**

**ZAGREB, 2024.**

# SADRŽAJ

## SAŽETAK

<b>1. UVOD</b>	<b>1</b>
<b>2. PRESENILINI</b>	<b>3</b>
<b>2.1. Peptidi amiloida (A<math>\beta</math>)</b>	<b>3</b>
<b>2.2.1. Nikastrin</b>	<b>4</b>
<b>2.3. Genetska pozicija presenilina</b>	<b>4</b>
<b>2.4. Lokalizacija presenilina</b>	<b>6</b>
<b>3. BIOLOŠKA ULOGA PRESENILINA U ALZHEIMEROVOJ BOLEST</b>	<b>6</b>
<b>3.1. Povijest Alzheimerove bolesti</b>	<b>7</b>
<b>3.2. Djelovanje Alzheimerove bolesti na moždano tkivo</b>	<b>7</b>
<b>3.2.1. Neuritički plakovi</b>	<b>8</b>
<b>3.2.2. Neurofibrilarni čvorovi</b>	<b>9</b>
<b>3.3. Znakovi i simptomi Alzheimerove bolesti</b>	<b>9</b>
<b>3.4. Stadiji Alzheimerove bolesti prema težini bolesti</b>	<b>11</b>
<b>3.5. Nastanak Alzheimerove bolesti</b>	<b>11</b>
<b>3.5.1. Genetski faktori</b>	<b>12</b>
<b>3.5.2. Ostali rizični faktori</b>	<b>13</b>
<b>3.6. Dijagnoza Alzheimerove bolesti</b>	<b>13</b>
<b>3.6.1. Biomarkeri</b>	<b>14</b>
<b>3.7. Terapija</b>	<b>15</b>
<b>3.8. Alzheimerova bolest u Republici Hrvatskoj</b>	<b>16</b>
<b>4. ULOGA PRESENILINA U NOTCH I WNT SIGNALIZACIJI</b>	<b>16</b>
<b>5. BIOLOŠKA ULOGA PRESENILINA U REGULACIJI KALCIJA</b>	<b>18</b>
<b>6. PRESENILINI I OKSIDACIJSKI STRES</b>	<b>20</b>
<b>7. REGULACIJA KONCENTRACIJE KOLESTEROLA I METABOLIZMA SFINGOMIJELINA PRESENILINOM</b>	<b>21</b>
<b>8. ULOGA PRESENILINA U PATOGENEZI OSTALIH BOLESTI</b>	<b>22</b>
<b>9. ZAKLJUČAK</b>	<b>23</b>
<b>10. LITERATURA</b>	<b>24</b>

## SAŽETAK

Presenilini su transmembranski proteini. Katalitički su dio proteinskog kompleksa gama sekretaze. Gama sekretaza odgovorna je za unutarmembransko cijepanje transmembranskih proteina i uključena je u produkciju amiloidnih peptida. Mutacije gena za sintezu presenilina odgovorne su za patogenezu autosomno dominantne nasljedne bolesti, *i. e.* Alzheimerove bolesti. Alzheimerovu bolest prvi je opisao njemački znanstvenik Alois Alzheimer 1906. godine. On je prvi primijetio promjene u mozgu koje nastaju uslijed ovog kliničkog stanja – neuritičke plakove i neurofibrilarne čvorove. No, smatra se kako nisu samo genetski čimbenici potrebni za razvoj Alzheimerove bolesti, nego ulogu u razvoju bolesti imaju i okolišni faktori, starosne promjene i životni stil pojedinca. Alzheimerova bolest najčešći je uzrok razvoja demencije. Prema podacima Svjetske zdravstvene organizacije, više od 47,5 milijuna ljudi u svijetu razvilo je neku vrstu demencije. Posljedično, 2012. godine, Alzheimerova je bolest proglašena svjetskim javnozdravstvenim problemom. Simptomi se razlikuju, no najčešći simptomi su problemi s pamćenjem u starosti od 65 godina ili stariji. Rana dijagnoza je bitna kako bi se na vrijeme simptomatskom terapijom ublažili simptomi bolesti te time olakšali životi pacijenata. Dijagnostika se vrši putem dijagnostičkog upitnika ili dijagnostičkim postupcima kao što su magnetna rezonancija, CT ili PET-scan. U dijagnostičku svrhu koriste se i biomarkeri. Omjer p-tau/ A $\beta$ 42 u cerebrospinalnoj tekućini se pokazala kao osjetljiva i specifična metoda. Lijek ne postoji, no zadnjih godina se provode klinička istraživanja potencijalnih lijekova. Biološka uloga presenilina vezana je uz homeostazu kalcija. Oni djeluju na SERCA pumpe i ostale mehanizme koji reguliraju funkcionalno skladištenje unutarstaničnog kalcija. Povezani su i uz neuroprotekciju od oksidacijskog stresa koji je usko povezan uz nastanak patogeneze Alzheimerove bolesti. Utječu i na vrijednosti sfingomijelina i posljedično na vrijednosti kolesterola. Smatra se da sudjeluju i u signalizacijskim putevima Notch i Wnt. Sudjeluju u nastanku Parkinsonove bolesti, nekih kožnih i kardiovaskularnih bolesti te gastrointestinalnih karcinoma.

Ključne riječi: presenilini, Alzheimerova bolest, gama sekretaza, homeostaza kalcija

# 1. UVOD

Presenilini pripadaju skupini transmembranskih proteina. Prvi put su otkriveni u genetskoj analizi u istraživanju Alzheimerove bolesti (AD). Funkcioniraju kao katalitička komponenta gama sekretaze, odnosno proteinskog kompleksa koji je odgovoran za membransko cijepanje transmembranskih proteina. Gama sekretaza je tetramerički kompleks koji se sastoji od četiri komponentne: nikastrina (NCT), APH1, PEN-2 i presenilina (PSEN). Stehiometrijska smjesa je potrebna kako bi proteinski kompleks došao do funkcionalnosti. Nedostatak samo jedne komponente rezultira zadržavanjem ostalih komponentni u endoplazmatskom retikulumu ili njihovom brzom razgradnjom. Homologni geni presenilina strukturno su slični. Presenilini imaju najveću biološku ulogu u patogenezi Alzheimerove bolesti. Alzheimerova bolest je najčešći tip demencije koji se nasljeđuje autosomno dominantno. Najčešće se javlja u kasnijoj životnoj dobi i uzrokuje poremećaje kognitivnih funkcija i gubitak pamćenja. Vrlo je bitna rana dijagnoza kako bi se pacijentu pronašla pravilna terapija i kako bi se simptomatskim liječenjem probala održati kognitivna sposobnost pacijenta. Svjetska zdravstvena organizacija (*World Health Organisation* – WHO) 2012. godine proglasila je AD svjetskim javnozdravstvenim problemom. Prema podacima SZO-a više od 47,5 milijuna ljudi u svijetu ima neku vrstu demencije. (1) Smatra se da će se te brojke u budućnosti drastično povećati, pogotovo u Europi, zbog činjenice da je sve više starog stanovništva i da se prosječna životna dob povećava. Ne postoje određene mjere prevencije za AD jer se sa sigurnošću još ne zna što ju uzrokuje. Smatra se kako se AD javlja zbog različitih faktora – genetskih, okolišnih, starenjem te životnim stilom pojedinca. Važna je edukacija ljudi kako bi znali prepoznati prve simptome AD i prema tome se obratiti obiteljskome liječniku koji potom može uputiti pojedinca ka specijalistu kako bi se ustanovila pravilna dijagnoza. Biološka uloga presenilina očituje se i u homeostazi kalcija gdje djeluje na sve tri glavne komponente uključene u održavanje homeostaze. Isto tako, njihovo je djelovanje povezano s oksidacijskim stresom koji pridonosi razvoju AD, odnosno oni štite neurone od štetnog djelovanja oksidacijskog stresa. Važno je spomenuti i djelovanje presenilina u signalizacijskim Notch i Wnt (*Wingless-related integration*) putevima, odnosno u osnovnim putevima komunikacije animalnih stanica, u svrhu kontroliranja vlastitog identiteta i ponašanja za vrijeme njihovoga razvoja. (2)

Osim Alzheimerove bolesti, presenilini imaju biološku ulogu i u nastanku ili razvoju ostalih bolesti kao što su Parkinsonova bolest, kardiovaskularne bolesti, gastrointestinalni rakovi ili neke kožne bolesti. Njihova biološka funkcija se proteže i na mijenjanje vrijednosti kolesterola i sfingomijelina u organizmu.

## 2. PRESENILINI

Presenilini su najpoznatiji kao jedan od glavnih čimbenika patogeneze nasljednog oblika Alzheimerove bolesti (AD). Oni su transmembranski proteini čija je uloga cijepanje određenih proteina u transmembranskoj domeni. Opća struktura bioloških membrana uključuje lipidni dvosloj na kojem se nalaze proteini koji odrađuju većinu funkcija membrane. Oni, također, daju membrani funkcijske karakteristike, no kako se membrane razlikuju po ulogama, količina i tip proteina varira. Membranski proteini zaslužni su za veći dio masene strukture membrane. Kao i na lipidima, na vanjskoj strani stanice često se mogu naći oligosaharidni lanci vezani na membranske proteine. Poput lipida, proteini su amfipatske molekule što znači da sadrže hidrofilni i hidrofobni kraj. (5) Klinička značajnost presenilina vidljiva je pri njihovom pridonosu u 20-50% rane pojave Alzheimerove bolesti. Mutacije povećavaju produkciju dužih izoformi amiloid beta peptida koji su toksični i skloni agregaciji. Presenilini su skupina proteinskih kompleksa gama sekretaze čija je aktivnost glavna u patogenezi Alzheimerove bolesti. Presenilini su katalitički dio gama sekretaze. Međutim, mehanizam mutacija presenilina u AD patogenezi nije objašnjen. Presenilini se po ulogama dijele na ovisne i neovisne gama sekretaze. Funkcije ovisne o gama sekretazi prikazane su sekvencijalnim cijepanjem u obradi APP i Notch. Uloga neovisne gama sekretaze, između ostalog, je stabilizacija beta katenina u Wnt putu signalizacije, regulirajući tako homeostazu kalcija i ostale interakcije sinaptičke transmisije.

### 2.1. Peptidi amiloida (A $\beta$ )

Peptidi amiloida (A $\beta$ ) se sastoje od 36 do 43 aminokiselina. Nastaju metabolizmom, odnosno proteolizom amiloid prekursorskih proteina (APP). Postoje dva monomera: A $\beta$ 40 i A $\beta$ 42. Češći su monomeri A $\beta$ 40 u odnosu na A $\beta$ 42 peptide. A $\beta$ 42 peptidi su skloni agregaciji. U proteolizi sudjeluju dva enzima,  $\beta$ - i  $\gamma$ -sekretaza.  $\beta$ -sekretaza je kodirana genom BACE1 (beta-amiloid prekursor proteina – razgrađujućeg enzima 1). Kod zdravih pojedinaca A $\beta$  se razgrađuje i uklanja iz moždanih stanica. Mutacije gena koje su zaslužne za razvoj Alzheimerove bolesti se odvijaju na genima za sintezu APP-a, ali i na genima za sintezu enzima koji su uključeni u proces sintetiziranja APP-a. Rezultat spomenutih genetskih mutacija je neravnoteža sinteze i razgradnje peptida što dovodi do njegovog nakupljanja. (14)



## 2.2. Gama sekretaza

$\gamma$  sekretaza je proteinski kompleks odgovoran za membransko cijepanje transmembranskih proteina. Njen katalitički dio čine presenilini.  $\gamma$  sekretaza je posljednja proteaza uključena u produkciju A $\beta$  peptida. To je jedna od ključnih stvari amiloidne hipoteze u istraživanju Alzheimerove bolesti. Upravo iz tog razloga je  $\gamma$  sekretaza glavni objekt istraživanja u liječenju navedene bolesti. Cijepanje beta amiloida  $\gamma$ -sekretazom je ključni korak u kemijskim signalnim putevima organizma. Jedan od tih puteva se naziva Notch. Signal se tim putem šalje iz vanjskog dijela stanice u jezgru. Notch je važan za rast i diferencijaciju kose i stanica kože te ima ključnu ulogu u funkciji imunskog sustava.  $\gamma$  sekretaza ima izrazitu važnost u Notch cijepanju pa je stoga istraživana i kao moguć lijek za rak. Gama sekretaza je esencijalna za cijepanje APPC99 rezultirajući time stvaranjem A $\beta$ . Ona je višejedinični enzimski kompleks koji uključuje presenilin, nikastrin, Aph-1 i Pen-2. Presenilini su prve identificirane molekule za koje je dokazano da su povezane s gama sekretazom *in vivo* i *in vitro*.

(4)

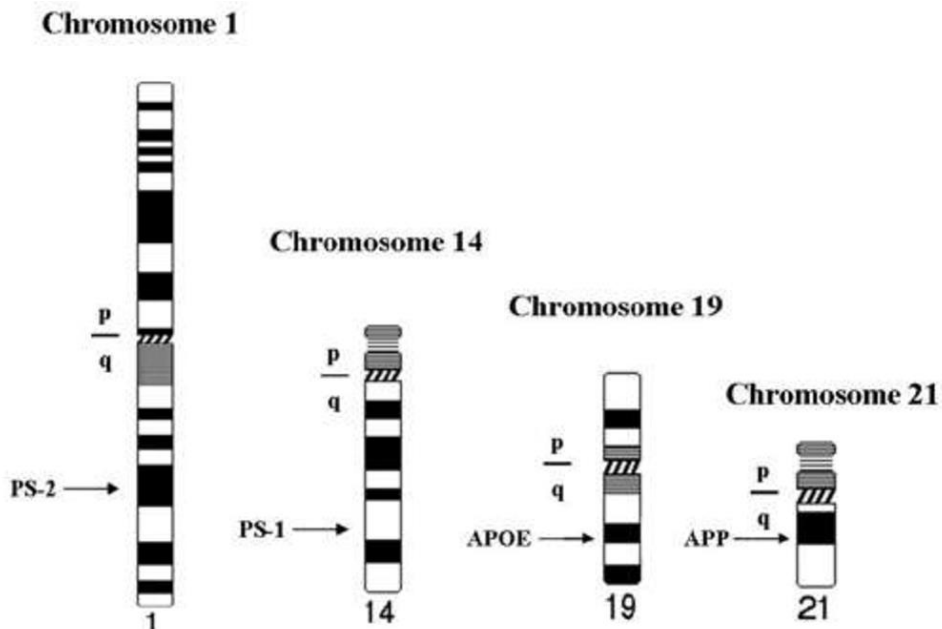
### 2.2.1. Nikastrin

Nikastrin je također dio  $\gamma$  sekretaze. Nikastrin je ključan za strukturnu stabilnost gama sekretaze. Također, uključen je u sintezu amiloidnih beta peptida. Mutacija nikastrin gena (NCSTN) je pronađena u pacijenata s Alzheimerovom bolesti, ali i u zdravih ispitanika. Sama mutacija nije povezana s ranijim ili kasnijim početkom bolesti. Zato se joj ne pridaje značajna uloga u dijagnostici bolesti.

## 2.3. Genetska pozicija presenilina

Postoje dva gena presenilina. Jedan od njih je presenilin 1 (PS1) koji je smješten na kromosomu 14 (14q24.3). Prvotno je otkriven u genetskoj analizi u kojoj je dokazano da je Alzheimerova bolest autosomno dominantna osobina pojedinca. Blisko mu je srodan presenilin 2 gen (PS2) koji je smješten na kromosomu 1 (1q42.2). Zajedno su organizirani na 10 translacijskih eksona koji svojim spajanjem grade specifična tkiva.

Funkcije i biološka važnost spajanja presenilina nisu još u dostatnoj mjeri istraženi, no različitost izoformi koje nastaju mogu ukazivati na različite regulacije procesirajućih prekursorskih beta amiloidnih proteina ( $\beta$ APP). (3)



· Ideograms of Human Chromosomes 1, 14, 19 and 21 showing cytogetic locations of genes r

Slika 1. Smještaj gena presenilina1 i presenili 2 na kromosomima

Izvor: (<https://www.semanticscholar.org/paper/ALZHEIMER%E2%80%99S-DISEASE%3A-FACTS-AND-FINDINGS.-Mishra.-Mandal/e791a398d338694036a9e9ef043334a0e4da6c1f/figure/23>)

Strukture PS1 i PS2 vrlo su slične, kao što je prikazano na slici 1. Svaki gen sadrži 13 eksona s 10 introna koji sadrže niz sekvenci kodiranja (ekson 3-12). U PS1 genu eksoni 1a i 1b se obostrano isključuju i predstavljaju alternativna početna mjesta transkripcije. PS1 promoter sadrži regiju TATA box i CAAT box sekvence; u dodatku, više STAT elementa je promatrano te je otkriveno da su uključeni u transkripcijsku aktivaciju odgovora na signalnu transdukciju. PS2 promoter ne sadrži TATA I CAAT regiju. Ekvivalencijsko pozicioniranje intron-ekson granica u kodiranju sekvence pokazuje da su oba gena virtualno identična i zbog toga se smatra kako su proizašli od istog gena koji je prošao gensku duplikaciju.

Oba presenilin gena prolaze cijepanje; ali, slijed je drugačiji u PS1 i PS2. U PS1 alternativno korištenje mjesta cijepanja za ekson 3 rezultira uključivanjem/isključivanjem kodona 26-29 (VRSQ). Uključivanje VRSQ motiva stvara potencijalna fosforilacijska mjesta za protein kinazu C i kasein kinazu II. U PS2 VRSQ motiv je samo parcijalno očuvan (WRSQ) i nije alternativno spojen.

Drugi način spajanja u PS1 nastaje u prisustvu ili odsustvu eksona 8. Taj je način promatran samo u leukocitima. Važno je naglasiti da ekson 8 ima najveću količinu AD mutacija i da je ekvivalentni ekson alternativno spojen u PS2.

## 2.4. Lokalizacija presenilina

Ekspresija gena PS1 i PS2 u ljudskom tkivu je vrlo prepoznatljiva. PS1 se jednolično nalazi u mozgu, kao i u perifernim tkivima ljudskog organizma. Vrijednosti PS2 su relativno niske u mozgu u usporedbi sa PS1. Iznimka je *corpus callosum* (žuljevito tijelo) gdje ga nalazimo u višim koncentracijama. (3) Žuljevito tijelo je splet živčanih vlakana. Ono povezuje dvije moždane barijere i u njemu se razmjenjuju informacije kada pojedinac koristi složene kognitivne funkcije obju hemisfera. (9) Omjer gena presenilina 1 i presenilina 2 u mozgu objašnjava zašto su mutacije PS2 rjeđe. (3)

## 3. BIOLOŠKA ULOGA PRESENILINA U ALZHEIMEROVOJ BOLESTI

Alzheimerova bolest (*Morbus Alzheimer*) je poremećaj koji zahvaća mozak te sporo i progresivno smanjuje sposobnost pamćenja i razmišljanja. Progresija bolesti rezultira nemogućnošću obavljanja i najjednostavnijih zadataka. Simptomi bolesti se najčešće javljaju u kasnoj životnoj dobi, od 60 do 65 godina. Alzheimerova bolest je najčešći uzrok demencije. Demencija je stanje u kojemu pojedinac gubi kognitivne funkcije, odnosno sposobnost razmišljanja, sjećanja i rasuđivanja. Isto tako, pojedinac često ne može kontrolirati svoje ponašanje, što dovodi do smetnji u osobnom životu i svakodnevnim aktivnostima. Težina kliničkog stanja varira. Lakši oblik se javlja na samom početku bolesti kada pojedinac gubi dio životne funkcionalnosti. Napredovanjem bolesti pojedinac je sve više ovisan o brizi i njezi drugih. Postoji više tipova demencije. Variranje oblika ovisi o opsežnosti i vrsti promjena u moždanom tkivu. Ako je prisutno više promjena koje nisu karakteristične za samo jedan tip, radi se o miješanoj demenciji. Alzheimerova bolest je fizička bolest koja oštećuje mozak pojedinca što kasnije rezultira demencijom.

### **3.1. Povijest Alzheimerove bolesti**

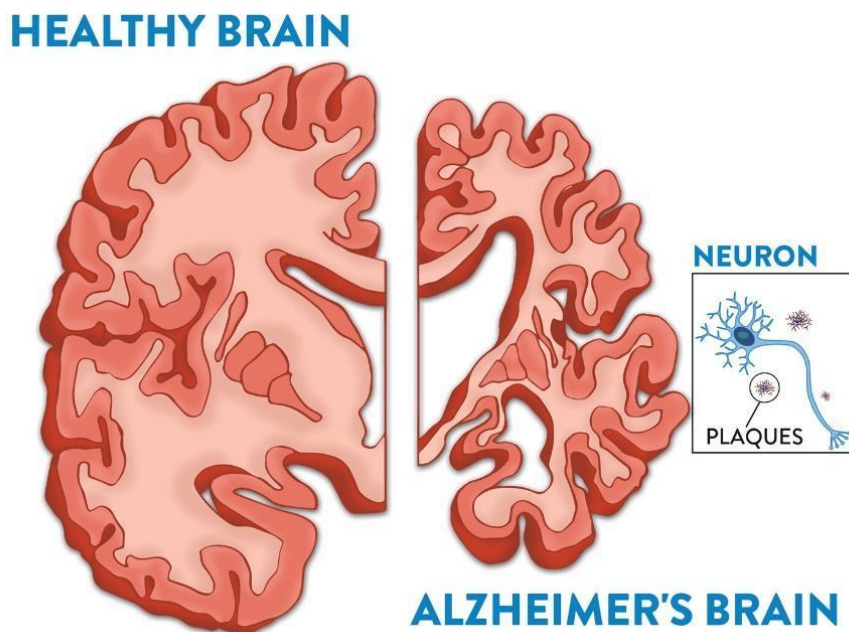
Povećanje životne dobi (koja se sredinom dvadesetog stoljeća u SAD-u povećala s 49 godina na 76 godina) rezultiralo je time da mnogi ljudi dođu u dob u kojoj se najčešće javljaju neurodegenerativni poremećaji. Jedan od njih je Alzheimerova bolest (AD). AD se pojavio kao najzastupljeniji oblik mentalnog oštećenja u ljudi koji se javlja u kasnijoj životnoj dobi. Alois Alzheimer, bavarski psihijatar, prvi je definirao klinički patološki sindrom koji je danas poznat kao Alzheimerova bolest. Svoj pronalazak je prikazao u Münchenu 1906. godine.

Prema dokumentaciji Aloisa Alzheimera, prilikom obdukcije žene imena Auguste D. pronađene su razlike u moždanom tkivu, koje su danas poznate kao glavne karakteristike Alzheimerove bolesti. To su neuritički plakovi i neurofibrilarni čvorovi. Alzheimer u svojem otkriću ilustrira nekoliko kardinalnih značajki poremećaja koje su vidljive kod pacijenata danas: progresivno oštećenje pamćenja; oštećena kognitivna funkcija; promijenjeno ponašanje koje uključuje paranoju, deluzije i izgubljenu socijalnu primjerenost te progresivno opadanje u funkciji govora. U ranim i srednjim fazama navedene bolesti, pacijentova budnost je sačuvana, a motoričke i senzorne funkcije su još i dalje relativno netaknute. Međutim, kako bolest napreduje pacijent gubi temeljnu kognitivnost, usporavaju mu se motoričke funkcije poput hoda i koordinacije. Često izgleda kao ekstrapiramidni motorički poremećaj, primjerice parkinsonizam koji je uzrokovan Parkinsonovom bolesti. U 60-im godinama otkrićem elektronskog mikroskopa omogućeno je Michaelu Kiddu i Robertu Terryu da opišu ultrastrukturalne promjene u podlozi dviju klasičnih lezija koje je Alzheimer opisao: senilne ili neuritičke plakove i neurofibrilarne čvorove. U kasnim 70-im i ranim 80-im, razni deficiti drugih neurotransmitterskih sistema su identificirani u moždanom tkivu pacijenata s AD. Postalo je jasno da kod AD nema degeneracije niti jednog neurotransmitera.

### **3.2. Djelovanje Alzheimerove bolesti na moždano tkivo**

Mehanizam djelovanja AD na moždano tkivo još se istražuje. Danas je poznato da promjene na moždanom tkivu mogu započeti čak desetljeće prije pojave prvih simptoma. Prilikom pojave AD, nastaju promjene u moždanom tkivu koje uključuju nakupljanja proteina u tkivu koje kasnije postaju neuritički plakovi i neurofibrilarni čvorovi.

Prve patološke promjene javljaju se u hipokampusu i entorinalnom korteksu. Oni su esencijalni za stvaranje sjećanja. Zdravi neuroni gube funkcionalnost i međusobne veze posljedično umiru. Kako bolest napreduje, sve više neurona umire i patološki se proces difuzno širi kroz moždano tkivo. Postupno dolazi do promjena kompleksa moždanog tkiva i mozak se počinje smanjivati. U terminalnoj fazi AD, šteta se proširi po čitavom organu i njegovo se tkivo značajno smanjuje. Razlika u veličini mozga u zdravog pojedinca i pojedinca s Alzheimerovom bolesti je prikazana na slici 2.



Slika 2. Razlika zdravog mozga i mozga pacijenta oboljelog od Alzheimerove bolesti

Izvor: <https://www.alzinfo.org/brain/>

### 3.2.1. Neuritički plakovi

Neuritički plakovi, jedni su od dvaju dijagnostički važnih moždanih lezija koje je pratio A. Alzheimer, su mikroskopska žarišta ekstracelularnog amiloidnog taloženja i povezani su s ozljedom aksona i dendrita. U limbičkom i asocijativnom korteksu ih nalazimo u velikim količinama. Takve ploče sadrže ekstracelularan talog amiloid beta proteina ( $A\beta$ ) koji se najčešće javlja u filamentoznom obliku. Distrofični neuriti se javljaju unutar amiloidnog taloga i odmah ga okruže. Ovi neuriti su često široko prošireni i vijugavi te obilježeni ultrastrukturnim abnormalnostima kao što su povećani lizosomi, brojni mitohondriji i uparene

spiralne niti. Kasnije u bolesti se ne razlikuju od onih koje čine neurofibrilarni spojevi. Vrijeme koje je potrebno da se amiloidna pločica stvori je nepoznato, ali te lezije vjerojatno evoluiraju postepeno u određenom periodu, od nekoliko mjeseci do nekoliko godina. Neuriti koji doprinose nastanku amiloidnih ploča mogu nastati iz lokalnih neurona ili različitih neurotransmitera.

Prosječni presjek amiloidnih plakova u mikroskopskim sekcijama mozga varira od 10 do > 120 mikrometara, jednako kao i gustoća. Imunohistokemijska bojanja s određenim antitijelima otkrila su da je puno veći broj taloga A $\beta$  nego očekivano, pri čemu su se koristile klasične metode. Klasične metode su one pri kojima su amiloidne ploče vidljive, također se nazivaju i „*silver staining*“ metode ili metode bojenje srebrom. Mnoge ploče su nađene u limbičkom sustavu. Isto tako, „*silver staining*“ je pokazao da je učinkovit isto kao i imunohistokemijske metode u prepoznavanju distrofičnih neurita.

### **3.2.2. Neurofibrilarni čvorovi**

Mnogi neuroni u području mozga koji su pogođeni u AD (entorinalni korteks, hipokampus, parahipokampalni girus, amigdala, frontalni, temporalni, parijetalni i okcipitalni asocijativni korteks, i određene subkortikalne jezgre koje se projiciraju u te regije) sadrže mnoge nemembranski-vezane snopove abnormalnih vlakana koji okupiraju većinu perinuklearne citoplazme. Elektronski mikroskop otkriva da većina tih vlakana sadrži parove od otprilike 10 nm filamenta namotanih u spirale. Početkom u 1985., imunocitokemijske i biokemijske analize neurofibrilarnih čvorova sugeriraju da su komponirani od mikrotubula asociраних s proteinom tau. To je kasnije i potvrđeno. Dvije klasične lezije AD, neuritičke ploče i neurofibrilarni čvorovi mogu se pojaviti zajedno ili potpuno samostalno. Neurofibrilarni čvorovi su građeni od tau proteina. A $\beta$  taloge nalazimo u mozgovima kognitivno normalnih starih ljudi s nedostatkom čvorova. Isto tako, zabilježeno je da u nekim slučajevima AD nalazimo malo čvorova u neokorteksu, a imamo napretek neuritičkih plakova.

### **3.3. Znakovi i simptomi Alzheimerove bolesti**

Simptomi kod pojedinaca variraju. Znakovi jako ranog stadija bolesti odraz su oštećenja nememorijskog aspekta kognitivnosti, kao što su pronalazak riječi, vizualni problemi, problemi

u snalaženju u prostoru i poremećeno rasuđivanje. Problem prisjećanja je najčešće prvi znak kognitivnog oštećenja koji se povezuje s AD, posebice ako je vezano uz prisjećanja događaja koji su se događali u neposrednoj prošlosti ili uz učenje neke nove informacije. Problemi sa sjećanjem osobi s AD mogu zadati probleme s prisjećanjem razgovora ili događaja, gubljenje u poznatim mjestima ili putovanjima, zaboravljanje dogovora ili značajnih datuma i sve veća dezorganizacija osobe. To se događa zato što prva oštećenja nastaju u hipokampusu koji ima važnu ulogu u stvaranju sjećanja. Neki ljudi koji imaju probleme s memorijom imaju stanje nazvano „*mild cognitive impairment*“ ili MCI. Značajno je da ljudi s tim stanjem imaju više problema sa sjećanjem, negoli je to uobičajeno za njihove godine. Kada ostare, pojedinci s MCI imaju veći rizik oboljenja od Alzheimerove bolesti. Potrebno je naglasiti da jedan od tih pojedinaca ima šanse za povratak u početno kognitivno stanje. (7) Poteškoće s razmišljanjem i rasuđivanjem uključuju poteškoće s koncentracijom, kao što je nemogućnost održavanja razgovora i potrebu za potpunom tišinom i kompletni fokus da razumiju što sugovornik govori. Poteškoće u planiranju i organiziranju mogu se prezentirati kao nemogućnost obavljanja svakodnevnog zadatka u pravilnom slijedu (npr. kuhanje obroka). Pojedinaac može biti vremenski ili lokacijski zbunjen, primjerice može misliti da živi u drugom periodu svoga života. Javljaju se poteškoće s govorom i komunikacijom, uključujući poteškoće pronalaska pravih riječi i nemogućnost koncentracije na ono o čemu se govori. Kao rezultat pacijent može koristiti poštalice ili se trećoj osobi obraća zamjenicama iako tu osobu poznaje, zaostaju u razgovoru kako bi se dosjetili riječi koju žele koristiti, osobito ako žele koristiti riječ koju inače ne koriste često. Promjene u raspoloženju su također jedan od simptoma. U ranijem stadiju osobe s AD mogu biti tjeskobne, razdražljive, tužne i prestrašene. Mnogi ljudi izgube interes za komunikacijom s drugim osobama, za aktivnosti ili hobije u kojima su prije uživali. S vremenom se sve više izoliraju od drugih. Ponekad se teško razlikuju promjene u raspoloženju uzrokovane bolešću ili frustracijom zbog poteškoća u odrađivanju svakodnevnih zadataka. Iako nije tako često, u ranijim stadijima neki pacijenti s AD imaju poteškoće pri procjeni udaljenosti i pri primjećivanju obrisa predmeta. To može otežati kretanje pojedinca i uvelike otežati upravljanje vozilom. Stanje progresira godinama, a simptomi bolesti se pogoršavaju. Oboljeli postaju uznemireni, koračaju po sobi, iznova ispituju ista pitanja, sklone su agresiji ili su u zabludi, čak mogu i halucinirati. Isto tako, u kasnijim stadijima pojedincu s AD je otežan samostalan život. Nemogućnost samostalnog hranjenja i uzimanja tekućine može uzrokovati smanjenje tjelesne mase i probleme s kontinencijom. Bolest mijenja obrasce spavanja, odnosno oboljeli spavaju više nego je uobičajeno. Kao i drugi tipovi demencije, AD skraćuje životni vijek.

### **3.4. Stadiji Alzheimerove bolesti prema težini bolesti**

Prvi stadij je blagi oblik. Progresijom bolesti, ljudi doživljavaju sve veći gubitak memorije i ostale kognitivne poteškoće. Problemi s memorijom uključuju česta lutanja i gubljenje u prostoru izvan poznate okoline, probleme baratanjem novcima i plaćanjem računa, ponavljanje pitanja, promjene osobnosti i ponašanja. Dijagnoza se najčešće postavlja upravo u ovom stadiju.

U umjerenom obliku, nastaje šteta u dijelovima mozga koji su zaslužni za kontrolu govora, rasuđivanja, svjesnog razmišljanja, senzornih obrada u smislu pravilnog primjećivanja zvuka ili mirisa. Gubitak pamćenja i zbunjenost napreduje i pojedinac se pronalazi u stanju gdje ne prepoznaje obitelj i prijatelje. Pacijenti nisu u mogućnosti stjecanja novih znanja i vještina, snalaženja u novim situacijama te ne mogu odrađivati zadatke koji uključuju više koraka. Mogu doživjeti halucinacije, deluzije i paranoju što dovodi do impulzivnog ponašanja.

Konačni stadij je teški stadij Alzheimerove bolesti. Amiloidne pločice i vlakanca se prošire cijelim mozgom i posljedično sam se organ značajno smanji. Pacijent ne može komunicirati i potpuno ovisi o drugima. Pri kraju života, pacijenti s ovom dijagnozom budu često prikovani za krevet. (7)

### **3.5. Nastanak Alzheimerove bolesti**

Danas je još nije poznato što u potpunosti uzrokuje Alzheimerovu bolest. Smatra se kako bolest nastaje kombinacijom starosnih promjena u mozgu, genetskih i okolišnih faktora te životnog stila. Smatra se kako je „amiloidna hipoteza“ najvjerojatniji mehanizam preko kojeg nastaje AD. Ta hipoteza objašnjava kako štetni učinak nakupina A $\beta$  uzrokuju smrt živčanih stanica i neuralnu disfunkciju. (7)

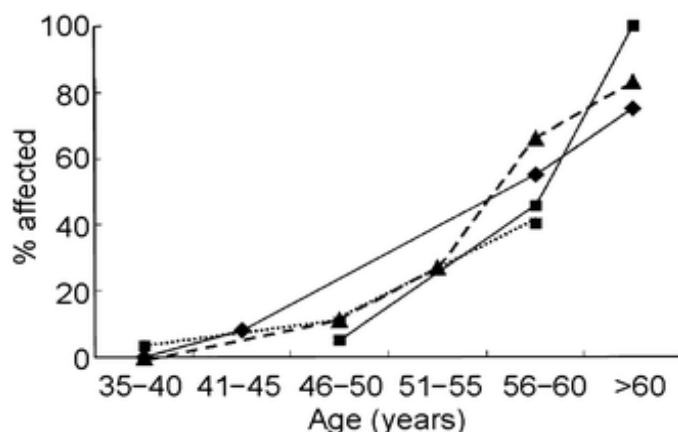
Smatra se da starosne promjene mozga mogu oštetiti neurone i utjecati na ostale vrste moždanih stanica te tako pridonijeti razvitku same bolesti. Starosna oštećenja mogu se javiti u obliku atrofije određenog dijela mozga, upale, oštećenja krvnih žila, disfunkcije mitohondrija i produkcije slobodnih radikala. Starenje je faktor koji najčešće uzrokuje AD. Iznad 65. godine, rizik pojedinca da razviju AD se dvostruko povećava. Postoji i određena spolna predispozicija



za razvoj bolesti. Žene u toj životnoj dobi dva puta češće obole od AD. Smatra se da je razlog dulji prosječni životni vijek žena. Međutim, žene iznad 80 godina starosti imaju malo veći rizik od muškaraca iste dobi. Uzrok nije poznat. (11)

### 3.5.1. Genetski faktori

Alzheimerova bolest nema samo jedan genetski uzrok. Pod utjecajem je više različitih gena u kombinaciji sa životnim navikama i okolišnim faktorima. Varijacije gena mogu smanjiti ili povećati rizik nastanka bolesti. Dosada je poznato 70 genetskih regija koje je povezuju s razvojem AD. Od njih sedamdeset, za troje je poznato da uzrokuju AD. Iako je nasljeđivanje tih gena rijetko, ali ako se to dogodi, velika je vjerojatnost razvoja AD prije 65. godine života. Nasljedni oblik Alzheimerove bolesti nazvan je i rani oblik AD. Geni koji uzrokuju AD su geni za amiloid prekursorski protein (APP), presenilin 1 (PSEN1) i presenilin 2 (PSEN2). S aspekta genetskih predispozicija, pojedinci s Downovim sindromom imaju veći rizik od oboljenja od AD u ranijim godinama života (slika 3). To je rezultat činjenice da je Downov sindrom trisomija kromosoma 21. Kromosom 21 ima APP gen koji kodira amiloid prekursorski protein. Previše APP može dovesti do nagomilavanja amiloidnih plakova u mozgu što je jedan od karakteristika AD. (7) Kao što je prije spomenuto, mutacije presenilin 2 gena rjeđe su uzrok ranog početka AD. Prema tome, može se zaključiti kako su za razvoj AD uzrokovanog presenilin 1 mutacijom, potrebni i vanjski čimbenici.



Slika 3. Korelacija Downova sindroma s ranijim početkom Alzheimerove bolesti (<https://link.springer.com/article/10.1007/s00415-016-8308-8>)

AD je najčešći neurodegenerativni poremećaj koji uzrokuje demenciju te je uzrok dvije trećine demencija u starijoj populaciji. Većina AD slučajeva se javlja sporadično u kasnijoj životnoj dobi bez definiranog uzroka dok manje od 5 % slučajeva su slučajevi u obitelji s ranijim početkom bolesti i uzrokovani su genskom mutacijom.

### 3.5.2. Ostali rizični faktori

Životni stil je važan čimbenik u nastanku AD, no srećom može se kontrolirati. Vrlo je bitno u srednjoj životnoj dobi (40-65 godina) da pojedinac pazi na način života. Manje je vjerojatno da se bolest razvije u ljudi koji u srednjim godinama više vode brigu o svom zdravlju. To uključuje da pojedinac ne puši, ne konzumira previše alkohola i da se hrani zdravo i balansirano. Fizička, mentalna i socijalna aktivnost pojedinca podjednako su bitne. Isto tako, izbjegavanje ozljeda glave može potencijalno smanjiti rizik razvitka AD. Postoje mnoga zdravstvena stanja koja povećavaju rizik za razvoj AD (tablica 1). (11)

Tablica 1. Zdravstvena stanja koja mogu povećati rizik od razvoja AD (<https://www.alzheimers.org.uk/news/2023-07-17/new-drug-donanemab-turning-point-alzheimers>)

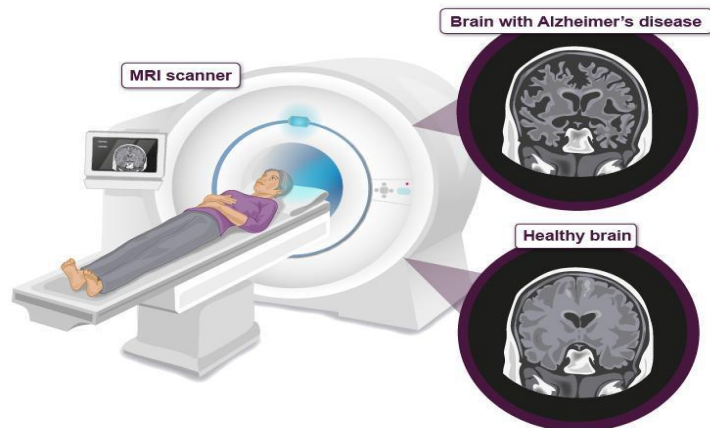
ZDRAVSTVENA STANJA KOJE POVEĆAVAJU RIZIK OD RAZVITKA AD
Dijabetes
Moždani udar
Kardiovaskularne bolesti i poremećaji (hipertenzija, viši kolesterol, pretilost)
Gubitak sluha uzrokovan starenjem
Depresija

### 3.6. Dijagnoza Alzheimerove bolesti

Kliničari koriste različite metode s pomoću kojih postavljaju dijagnozu Alzheimerove bolesti kod pojedinaca koji imaju kognitivnih problema. Prva od metoda je postavljanje pitanja pacijentu u njegovoj obitelji ili prijateljima, o pacijentovu zdravlju, lijekovima koje uzima, prehrani, prošlim oboljenjima, pacijentovoj sposobnosti obavljanja svakodnevnih zadataka te o promjeni ponašanja i osobnosti. Zatim, koriste se testovi memorije, rješavanje problema,

koncentracije, brojanja i govora. Koriste se i testovi za otkrivanje depresije i ostalih mentalnih stanja koja mogu uzrokovati iste ili slične simptome. U identifikaciji biomarkera specifičnih za AD kao uzorak za laboratorijske analize koristi se cerebrospinalna tekućina ili krv. Za potvrdu dijagnoze ili za eliminaciju ostalih mogućih dijagnoza, pacijent se šalje na CT, MRI ili PET.

(7)



Slika 4. MRI sken zdravog mozga i mozga pacijenta s Alzheimerovoj bolesti (<https://www.alzheimersresearchuk.org/blog/all-you-need-to-know-about-brain-scans-and-dementia/>)

Testovi se ponavljaju kako bi se pratila progresija bolesti. Ako je AD dijagnoza potvrđena, liječenje je potrebno početi odmah kako bi se usporilo kognitivno opadanje pojedinca. Isto tako, ako je bolest rano dijagnosticirana, pacijent ima mogućnost da se uključi u klinička istraživanja.

(7)

### 3.6.1. Biomarkeri

Prema definiciji Svjetske zdravstvene organizacije i Ujedinjenih naroda, biomarkeri su tvar, struktura ili proces koja se može mjeriti u tijelu te s pomoću koje se može predvidjeti ishod neke bolesti ili ona sama može utjecati na taj ishod. Biomarkeri su iznimno važan dio dijagnosticiranja bolesti u vrlo ranim fazama. Postoje topografski i patohistološki biomarkeri. U patohistološke markere spada amiloidna patologija i tau patologija. Amiloidna patologija predstavlja amiloidne, odnosno neuritičke plakove dok se Tau patologija očituje stvaranjem neurofibrilarnih vretena koji kasnije postaju čvorovi. Spomenute patološke promjene se mjere u cerebrospinalnoj tekućini koja se najčešće dobiva lumbalnom punkcijom. Isto tako, promjene su vidljive PET skenom amiloida. PET sken se mjeri s pomoću PiB (*Pittsburgh compound B*)

ili ostalih radioliganda. Manje specifične promjene se vide topografskim markerima. Vidljive su promjene temporalnog režnja, odnosno atrofija uzrokovana AD. Isto tako, vidljiv je smanjen metabolizam glukoze u temporalno-parijetalnoj regiji što se prikazuje FDG PET-om. U likvoru se mjeri razina amiloid- $\beta$  peptida (A $\beta$ 42), ukupnog proteina tau (t-tau) i fosforiliranog oblika proteina tau (P181-tau). U pacijenata s AD vrijednost peptida A $\beta$ 42 je smanjena. To je rezultat nakupljanja amiloidnih peptida u mozgu što dovodi do smanjene koncentracije u likvoru. Ukupna razina tau (t-tau) u likvoru je povećana. To je posljedica smrti živčanih stanica, budući da se primarno nalazi unutar stanice i tako dolazi u likvor. Omjer p-tau/ A $\beta$ 42 u likvoru se pokazala kao osjetljiva i specifična metoda. Istraživanja su pokazala kako ima osjetljivost od 86 % i specifičnost od 96 %. (9)

### 3.7. Terapija

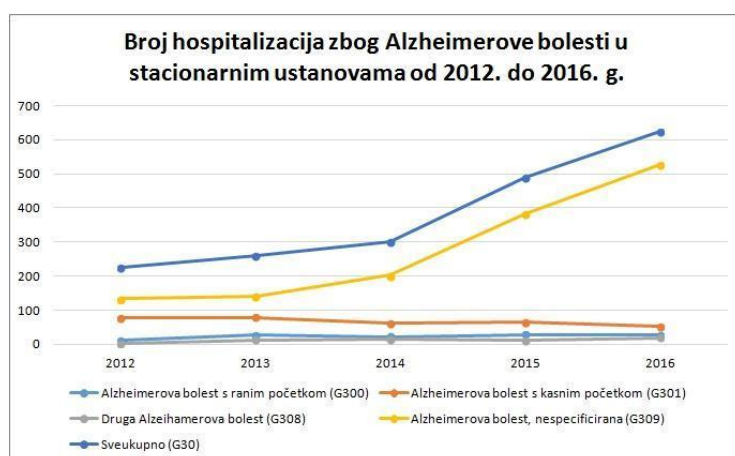
Proteklih godina, mnogo istraživača radi na pronalasku lijeka protiv Alzheimerove bolesti. Do danas nije otkrivena odgovarajuća terapija za izlječenje bolesti. Liječenje AD je isključivo simptomatsko. Međutim, britanska farmaceutska tvrtka je proizvela dva proizvoda - lecanemab i donanemab. Smatra se kako oni mogu usporiti padanje sposobnosti sjećanja i razmišljanja ljudi u početnom stadiju AD. Donanemab ne djeluje samo simptomatsko, nego djeluje na jedan od ključnih uzroka bolesti. On usporava opadanje sposobnosti sjećanja i razmišljanja za 20 %. Istraživanje lijeka je pokazalo da djeluje bolje ako se počne koristiti u što ranijem stadiju, što znači da radi bolje u mozgu koji je manje promijenjen od bolesti. Progresija je usporena za 4.5-7.5 mjeseci tijekom 18 mjeseci primanja terapije. Nakon 12 mjeseci, vidljivo je da pola ispitanika nije imalo nikakvu progresiju bolesti, odnosno sposobnost sjećanja i razmišljanja se nije smanjila. 82.4 % nuspojava je bilo blago ili su one bile detektirane testovima, a bile su asimptomatske. Nažalost, u kliničkom istraživanju bilo je troje smrti (0.4 % pristupnika) uslijed edema mozga, a 1.6 % ispitanika je imalo edem mozga kao simptom. Terapija se provodila intravenozno. Lijek radi na principu imunoterapije te je proizveden u farmaceutskoj kompaniji Eli Lilly. U slučaju lijeka donanemab, stanice imunološkog sustava prepoznaju i odstranjuju amiloidne proteine koji uzrokuju simptome AD. I donanemab i lecanemab ciljaju amiloidne proteine, no u različitim stadijima. Ni jedan od lijekova nije još odobren, no smatra se da bi u nekoliko godina odobrenje njihovog korištenja značilo veliki pomak u pronalasku konačnog lijeka za Alzheimerovu bolest. Bolest ne pogađa samo pacijenta, nego i ljude bliske toj osobi. Iz tog razloga, postoje mnoge ustanove i organizacije koje pružaju

potporu svima kojima je potrebno. Od lijekova se koriste određeni lijekovi koji mogu pomoći pri pamćenju i razmišljanju. Ti lijekovi ne zaustavljaju fizičku progresiju bolesti u mozgu, ali u nekim slučajevima mogu odgoditi progresiju simptoma. Spektar tih lijekova je širok, koriste se lijekovi za depresiju ili tjeskobu, poremećaje spavanja, deluzija ili halucinacija ili fizičkih problema kao što su inkontinencija ili bolovi. Postoje i terapije koje mogu pomoći osobi s AD da zadrže sposobnost obavljanja aktivnosti svakodnevnog života što duže je moguće. Kognitivna stimulacijska terapija pomaže pri mentalnoj aktivnosti. Postoje i terapija govora, kognitivna bihevioralna terapija, glazbena terapija i još mnogo njih kojima je svrha pomoći pojedincu da zadrži sposobnosti. (11)

### 3.8. Alzheimerova bolest u Republici Hrvatskoj

Hrvatski zavod za javno zdravstvo (HZJZ) prati koliko se pacijenata hospitaliziralo u stacionarnim ustanovama u Republici Hrvatskoj. Grafički su prikazani podaci unutar pet godina sakupljanja podataka. (graf 1.) (1)

Graf 1. Broj hospitalizacija zbog Alzheimerove bolesti u stacionarnim ustanovama (<https://www.hzjz.hr/aktualnosti/alzheimerova-bolest/>)



#### 4. ULOGA PRESENILINA U NOTCH I WNT SIGNALIZACIJI

Presenilini su, kao što je i prije spomenuto, dio molekularnog mehanizma zaslužnog za cijepanje proteina kao što je APP i Notch u ravnini membrane. Presenilini su uključeni u regulaciju Wnt/ $\beta$ -katenin signalnog puta. Soriano et al. objavili su rezultate koji zagovaraju koncept kako PS1 radi kao negativni regulator Wnt/beta - katenin signalnog puta.

$\beta$ -katenin, neutralni plakofilin srodni armadino proteinu (NPRAP, isto zvan  $\delta$ -katenin), i p0071 prije su bili znani po tome kako se vežu za domenu velike citoplazmatske petlje PS1.

Ovi proteini su karakterizirani ponavljajućim armadino motivima. To su sekvence 42 aminokiseline koje su uključene u interakcije proteina s drugim proteinima. Međutim, samo  $\beta$ -katenin funkcija je dobro uspostavljena. Jedan je skup  $\beta$ -katenina vezan na staničnoj membrani za molekulu stanične adhezije E-kadherin i osigurava vezu s aktinskim citoskeletom. Drugi skup se nalazi u citoplazmi u kompleksu s aksinom, adenomatoznom polipozom coli (APC) i glikogen-sintaza-kinaza-3  $\beta$  (GSK-3 $\beta$ ).

Fosforilacija  $\beta$ -katenina od GSK-3 $\beta$  pospješuje njegovo vezanje na  $\beta$ -TrCP, F-box protein, i na dio E2/E3 kompleks ubikvitin ligaze. Po ubikvitinaciji,  $\beta$ -katenin ubrzano se raspada proteazom. Vezanjem topljivog liganda Wnt na receptore membrane inhibira GSK-3 $\beta$  preko puta koji uključuje kazein kinaze i razbarušene proteine. Rezultat tome je nakupljanje nefosforiliranog  $\beta$ -katenina u citoplazmi i njegovom naknadnom translokacijom u jezgru stanice. U jezgri,  $\beta$ -katenin se veže na članove LEF/TCF (T stanični specifični transkripcijski faktor 1) obitelji transkripcijskih regulatora i aktivira Wnt ciljane gene kao što su cyclin D1, c-myc, i metaloproteaze. Međutim, kada je funkcionalna važnost interakcije presenilina i  $\beta$ -katenina istraživana, dobiveni su kontradiktorni rezultati. Činilo se da PS1 ili stabilizira ili destabilizira  $\beta$ -katenin. Isto tako, kliničke PS mutacije koji su uzrok Alzheimerove bolesti isto imaju utjecaj na stabilnost  $\beta$ -katenina u pozitivnom ili negativnom smjeru. Kako su rezultati kontradiktorni, još uvijek je nejasno u kojem opsegu ovi podaci pomažu pri objašnjenju i razumijevanju ove bolesti. Važno je kako PS1 utječe na stabilnost molekule  $\beta$ -katenina. Kako PS1 može vezati GSK-3 $\beta$ , nagađa se kako to pruža skele za fosforilaciju  $\beta$ -katenina. Isto tako, mjesto interakcije  $\beta$ -katenina na PS1 sadrži slijed konsenzusa za fosforilaciju od GSK-3 $\beta$ . To sugerira da je ta interakcija regulirana kao i interakcije  $\beta$ -katenina s axin/APC/GSK-3 $\beta$  kompleksom. Međutim, prema podacima Soriano et al. 2001, čini se kako PS1 nije potreban u fosforilaciji beta katenina zbog toga što se fosforilirane beta katenin vrste akumuliraju u stanicama s manjkom PS1. Nadalje, u prisutnosti inhibitora proteosoma MG132, manje

sveprisutnih vrsta  $\beta$ -katenina je vidljivo u stanicama s manjkom PS1, nego u divljem tipu stanica. Ti rezultati sugeriraju da su stanice s manjkom PS1 potrebne za ubikvitinaciju  $\beta$ -katenina.

PS1 je isto tako uključen u Notch 1 signalnom putu. Notch 1 spada u obitelj velikih tip I integralnih membranskih receptora koji su uključeni u odluke o sudbini same stanice. Nakon vezanja liganda, Notch postaje proteolitički obrađen. Njegova se unutarstanična domena translocira u jezgru gdje se veže na transkripcijske regulatore CSL obitelji i inducira ekspresiju Notch ciljanih gena. PS1 funkcionira u proteolitičkom kompleksu potrebnom za stvaranje membranskog cijepanja Notch-a, ne razlikujući se od cijepanja APP-a.

Prethodno se smatralo da se inhibicijski unakrsni razgovor između signalnih putova Notch i Wnt javlja na razini izvanstanične domene Notch koja se veže na Wnt.

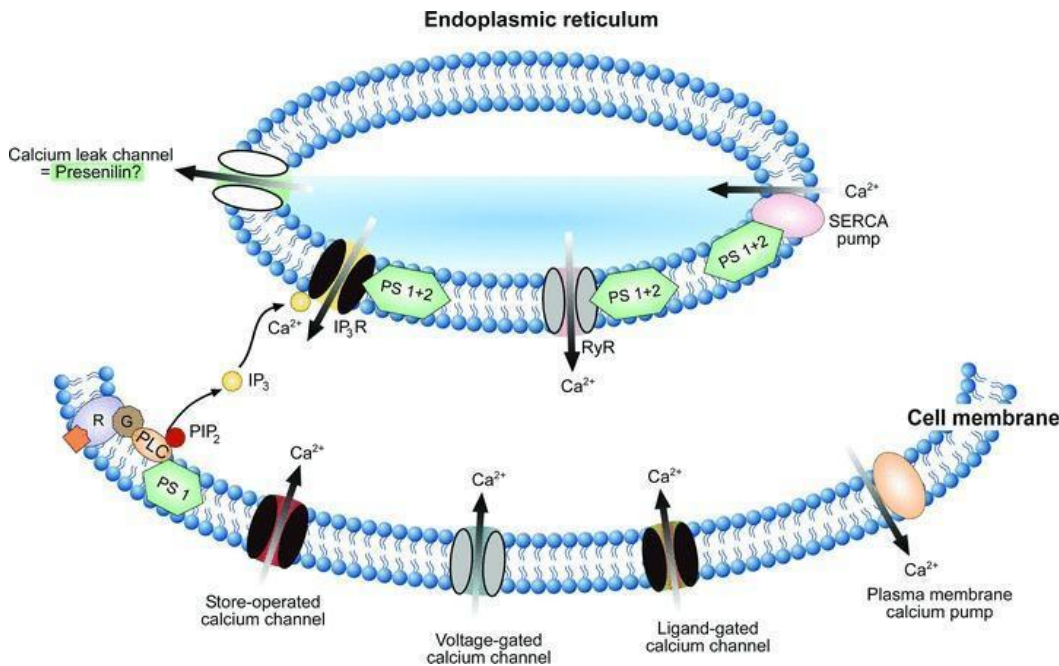
Zaključno, PS1 je uključen u najmanje dva proteolitička mehanizma koji reguliraju transdukciju signalnih kaskada: regulirana membranska proteoliza Notch i APP i regulirana degradacija proteina  $\beta$ -katenina u Wnt signalnom putu. (8)

## 5. BIOLOŠKA ULOGA PRESENILINA U REGULACIJI KALCIJA

Presenilini su dio kompleksa gama sekretaze koji generira amiloid beta proteine kroz cijepanje APP. AD povezane mutacije presenilina pokazale su da podižu koncentraciju  $A\beta_{42}$  na štetu  $A\beta_{40}$ . Posljedično, presenilin posredovan povišenim omjerom  $A\beta_{42}/A\beta_{40}$  aktivira  $A\beta$  ovisan mehanizam nazvan kalcij dishomeostaza. Također, presenilini mogu direktno promijeniti unutarstaničnu homeostazu kalcija. Djeluju direktno na tri glavne komponentne signalne kaskade kalcija:  $IP_3$  receptore, rijanodinske receptore i SERCA pumpe. Već su rana istraživanja fibroblasta u pacijenata s Alzheimerovom bolesti otkrila smanjeno otpuštanje  $IP_3$  kalcija preko  $IP_3$  zbog nedostatka PS1 ili oba presenilina. Naposljedku, povezanost  $IP_3$  posredovanog kalcija i mutacija presenilina bila je dokumentirana kroz različita istraživanja. U njima se smatralo kako je mutacija gena presenilina uzrokovana prekomjernim skladištenjem kalcija u stanici. Cheung et. al. otkrivaju mehanizam koji može objasniti pojačanu signalizaciju kalcija posredovanu  $IP_3$  u odsutnosti povišenog kalcija unutar endoplazmatskog retikuluma. Autori su prikazali da presenilini fizički djeluju s  $IP_3$  receptorom kanala i tako stimuliraju njegovu sposobnost kontroliranja prolaza kroz kanale. Ekspresija dva različita presenilina poznatih mutacija čini  $IP_3$  receptor osjetljivijim do  $IP_3$  i samim time se pojačava otpuštanje skladištenog unutarstaničnog kalcija. Unutarstanični kalcij se otpušta iz endoplazmatskog



retikuluma i pri malim koncentracijama  $IP_3$ -a, što uzrokuje neprekidno  $IP_3$  receptorom posredovano curenje kalcija iz endoplazmatskog retikuluma.



Slika 4. Presenilinom posredovana regulacija homeostaze unutarstaničnog kalcija (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3837603/>)

U istraživanju ljudskih SH-SY5Y stanica neuroblastoma, prikazano je kako presenilini mogu regulirati produkciju  $IP_3$ -a. To se postiže utjecajem na bazalnu aktivnost fosfolipaze C (PLC). PLC je enzim koji generira  $IP_3$ . Poznate mutacije presenilina 1 pojačavaju aktivnost PLC-a. Time se vrijednosti  $IP_3$ -a u stanici povećavaju. Uz interakcije sa signalizacijom posredovanom  $IP_3$  receptorom, PS1 i PS2 su pokazali da djeluju s rijanoidnim receptorima na citoplazmatskoj strani membrane endoplazmatskog retikuluma. Primjer tog djelovanja je ispuštanje veće koncentracije kalcija kroz moždani tip rijanoidnog receptora-kanala inkomponiranog u lipidni dvosloj. Te interakcije su bitne za regulaciju otpuštanja neurotransmitera u hipokampusu. Koristeći genetski pristup za selektivnu inaktivaciju presenilina u presinaptičkim i postsinaptičkim neuronima Schaeffer kolateralnog puta, Zhang et. al. su prikazali da presinaptička inaktivacija presenilina narušava sinaptičko oslobađanje glutamata i LTP-a. Temeljni mehanizam uključuje oslobađanje kalcija izazvano rijanoidnim receptorom iz endoplazmatskog retikuluma. Izgleda da presenilini kontroliraju otpuštanje kalcija tako da moduliraju vjerojatnost otpuštanja neurotransmitera.



Osim kalcij otpuštajućih kanala, kalcij pumpe su ključne za regulaciju kalcija. Kako mnoge mutacije presenilina vode k pojačanom punjenju rezervi, to jest skladištenju kalcija, presenilini mogu regulirati kalcij pumpe.

Doista, koristeći pristupe povećanja funkcije i pristupa gubitka funkcije u kulturi stanica sisavaca i *Xenopus oocyte* modela, Green et al. demonstrirali su kako presenilini fizički surađuju sa SERCA pumpama i nužni su za pravilnu funkciju. Moduliranje aktivnosti SERCA promijenilo je količinu A $\beta$  proizvedenih u CHO stanicama. To sugerira da disregulacija SERCA pumpa (uzrokovano s AD-relevantnom mutacijom presenilina) može doprinijeti patogenezi AD. Presenilini ne moduliraju samo funkciju drugih Ca<sup>2+</sup> regulirajućih proteina, isto tako međusobno formiraju kalcij-propusne kanale. Tu et al. su izjavili kako u plenarnim lipidnim dvoslojevima, divlji tip presenilina tvori nisko vodljive kalcij - propusne kanale, koji su zaslužni za oko 80 % pasivnih Ca<sup>2+</sup> curenja. Ta sposobnost presenilina da tvori kalcij-propusne kanale je promjenjena od dvije presenilin mutacije vezane s AD, PS1-M146V i PS2-n141I. Kasnije istraživanje je potvrdilo da od 6 obiteljski uzrokovanih AD testirano, 5 mutacija je uništilo funkciju curenja Ca<sup>2+</sup>. Posljedično, oštećeno curenje Ca<sup>2+</sup> bi uzrokovalo da se ER opet puni s unutarstaničnim kalcijem i smanjenje u kapacitivnom ulasku kalcija. Mora se spomenuti da endoplazmatski retikulum nije jedino skladište kalcija unutar stanice. Mitohondrij je međuspremnik unutarstaničnog kalcija. Međutim, disfunkcije mitohondrija u Alzheimerovoj bolesti se prije povezuje s A $\beta$ , nego s presenilinima. Zaključno, presenilini kontroliraju funkcionalno stanje skladištenja unutarstaničnog kalcija kroz interakciju s oboje SERCA i mnogo sistema otpuštanja kalcija. Ove kompleksne interakcije mogu objasniti zašto mutacije presenilina imaju više efekata na signalizaciju unutarstaničnog kalcija. Međutim, nije jasno koji opseg tih procesa djeluju *in vivo*, u netaknutom moždanom tkivu. (12)

## 6. PRESENILINI I OKSIDACIJSKI STRES

Oksidacijski stres je kontributorni faktor u patogenezi Alzheimerove bolesti. Mnoge teorije podržavaju da postoji veza između oksidacijskog stresa i akumulacije A $\beta$ . Kako monomerni A $\beta$  olakšava oslobađanje glutaciona iz astrocita, potencijalno pridonosi zaštiti od oksidacijskog stresa, funkciji koja je smanjena s agregacijom A $\beta$ 42 i naknadnim smanjenjem monomernog A $\beta$ 42. Presenilini su uključeni u neuroprotekciju protiv oksidacijskog stresa.

PS1 je važan za neuroprotekciju posredovanu neurotrofnim faktorom protiv ekscitotoksičnosti i oksidacijskog stresa i nije ovisan o njegovoj ulozi u aktivnosti gama sekretaze jer inhibitori gama sekretaze nemaju nikakav učinak na neuroprotekciju izazvanu tripsinom. Ovaj mehanizam omogućuje da pacijenti s mutacijom PS1 koriste tripsin.

Tako, posljedično, spašavaju neurone od ekscitotoksičnosti aktivirajući ekstracelularnim signalom reguliranu kinazu. Pacijenti s mutacijom presenilina inhibiraju neurološku zaštitu od toksičnih inzulta. Izlaganje neurona niskim koncentracijama (0.25 ppm) ozona može značajno povisiti vrijednosti A $\beta$ 42 u dijelovima mitohondrija, smanjenje u A $\beta$ 40, povećanje u ekspresiji PS2 i smanjenje u ekspresiji ADAM10. To sugerira da je A $\beta$ 42 akumulacija uključena u mitohondrijsku disfunkciju i naknadni oksidacijski stres. Smatra se da određeni lijekovi za dijabetes imaju utjecaj na produkciju amiloid beta proteina i na oksidacijski stres. Administracija inzulina senzibilizatora, metformina, povećava ekspresije APP i presenilina. Usporedno, administracija inzulina ima antagonizirajući efekt na metformin, smanjuje vrijednosti A $\beta$  i reducira oksidacijski stres i mitohondrijsku disfunkciju. Zanimljivo, monomerički A $\beta$ 42 je sposoban aktivirati put fosfatidilinozitol-3-kinaze i tako generira neuro zaštitu kroz inzulinu sličan faktor rasta-1.

Veza između funkcije mitohondrija i RyR degradacije u kardiomiocitima i u fibroblastima je bila istraživana u pacijenata sa PS1 mutacijom. Istraživanje je pokazalo da su fibroblasti s mutacijom oboljelih pacijenata s Alzheimerovom bolesti imali povišene vrijednosti A $\beta$ 42, smanjene ATP vrijednosti, smanjenu mitohondrijsku respiraciju i oštećen respiratorni kapacitet mitohondrija. (10)

## **7. REGULACIJA RAZINE KOLESTEROLA I METABOLIZMA SFINGOMIJELINA PRESENILINOM**

Dokazano je kako je procesiranje APP osjetljivo na kolesterol i ostale lipide. Hidroksimetilglutaril-CoA reduktaza i sfingomijelinaza (SMases) su glavni enzimi koji reguliraju biosintezu kolesterola i vrijednosti sfingomijelina. Prikazano je kako kontrola kolesterola i SM metabolizma uključuju APP procese. A $\beta$ 42 utječe na sfingomijelinazu i smanjuje vrijednosti SM-a. Nasuprot tome, A $\beta$ 40 smanjuje vrijednosti kolesterola *de novo* sintezom, inhibirajući HMGR aktivnost. Ovaj proces isključivo ovisi o aktivnosti gama

sekretaze. Posljedično, osobe s patološkom mutacijom presenilina imaju povišen kolesterol i smanjene levele SM-a. (13)

## 8. ULOGA PRESENILINA U PATOGENEZI OSTALIH BOLESTI

Osim već spomenute uloge presenilina u patogenezi Alzheimerove bolesti, presenilini imaju mnoge uloge i u drugim bolestima (tablica 2). Proteaza nalik romboidu povezana s presenilinima (PARL) je serinska proteza. Svaki polimorfizam nukleotida u PARL-u prezentira rijetki uzrok Parkinsonove bolesti. Presenilini su uključeni u razvoj različitih oblika raka. PS1 je povećan u patogenezi raka želuca i korelira s većom smrtnosti i pojačanim metastaziranjem. Taj mehanizam može biti objašnjen E-kadherin cijepanjem i PS1 otpuštanjem beta katenina. To promovira progresiju raka želuca. PS1 je isto tako uključen u razvoj poremećaja kože zvan *hidradenitis suppurativa* ili *acne inversa*. Oštećena Notch signalizacija zbog gubitka funkcionalnih mutacija PS1 i ostalih komponentni gama sekretaze pridonose patogenezi tog poremećaja imajući utjecaj na integralnu membranu proteina. Ti proteini mogu biti Notch, E-kadherin ili CD44. Mutacija PS2 je bila identificirana kao genetički uzrok komedona koji ima kliničke fenotipove slične kao u *hidradenitis suppurativa*. Iako je uloga presenilina jasna u korelaciji Alzheimerove bolesti sa starosti, postoji i veza između funkcije PS i normalnog starenja. Pretklinički model starenja je bio korišten kako bi identificirao promjene ekspresije presenilina u starih miševa koje koreliraju s motoričkom sposobnosti, pamćenjem i učenjem. Identificirale su se uloge mutacije APP i PS1 u unutarnjem živčanom sustavu. Otkrili su da APP/PS1 miševi imaju normalni gastrointestinalni sustav, ali su imali viši luminalni IgA i APP. Presenilini isto tako imaju ulogu u kardiološkoj funkciji organizma. CMA, proces uključen u degradaciji topljivih proteina u citosolu, nastaje razgradnjom membranskog proteina tipa 2A (LAMP-2A) koji je povezan s lizosomom. LAMP2 mutacije mogu prouzročiti Danon bolest, karakteriziranu hipertrofičnom kardiomiopatijom. (10)

Tablica 2. Bolesti i stanja u koja je uključen presenilin (<https://www.mdpi.com/1422-0067/19/6/1621>)

STANJA/BOLESTI	ORGANI/ORGANSKI SUSTAV
Normalna neuronska funkcija (kognitivnost, pamćenje)	Mozak, crijeva
Alzheimerova bolest	Mozak
Parkinsonova bolest	Mozak
Komedoni	Koža
Rak	Gastrointestinalni
Kardiološka disfunkcija (embriološki razvoj)	Srce

## 9. ZAKLJUČAK

Biološka uloga presenilina je usko povezana uz kompleks gama sekretaze. Uloge presenilina i njihova brojnost još se uvijek istražuju. Daleko najveća uloga presenilina koja je dosad nađena je u kognitivno degenerativnoj bolesti, odnosno u Alzheimerovoj bolesti. U početku istraživanja AD, dijagnostičke metode gotovo nisu postojale. Danas, postoje dijagnostički upitnik i dijagnostičke metode kojima se AD može ranije otkriti i tako omogućiti pojedincu ugodniji ostatak života. Isto tako, postoje organizacije kojima je specijalnost rad i briga o pacijentima s istom bolesti. Važno je spomenuti kako AD ne djeluje samo na život pacijenta, nego i na njihove bližnje. Zato je važno da se i njima pruža adekvatna podrška. Iako trenutno nije moguće drugo liječenje osim simptomatskog, medicina kao znanost napreduje te će u budućnosti najvjerojatnije postojati lijek za AD. Presenilini kao kontributorni faktor utječu na patogenezu AD, a uključeni su i u neuroprotekciju u uvjetima oksidacijskog stresa. Također djeluju i na homeostazu unutarstaničnog kalcija. Djeluju na SERCA i ostale mehanizme koji su povezani s funkcionalnim skladištenjem kalcija. Mutacije gena presenilina povezane su i uz povišenja vrijednosti kolesterola i smanjenih vrijednosti SM-a. Djelovanje presenilina je pronađeno i u drugim patogenim stanjima kao što je Parkinsonova bolest, no njegova biološka funkcija nije do kraja istražena.

## 10. LITERATURA

1. Hrvatski zavod za javno zdravstvo, dostupno na: <https://www.hzjz.hr/aktualnosti/alzheimerova-bolest/>
2. Hayward P., Kalmar T., Martinez Arias A., Wnt/Notch signalling and information processing during development, the Company of Biologists, 2008., 135 (3):411-424. Dostupno na: <https://journals.biologists.com/dev/article/135/3/411/64859/Wnt-Notch-signalling-and-information-processing>, pristupljeno: 25.6.2023.
3. Li Y., Bohm C., Dodd, R., Chen F., Qamar S., Schmitt-Ulms G., E Fraser P., H St George-Hyslop P., Structural biology of presenilin 1 complexes, Biomedcentral, 2014. Dostupno na: <https://molecularneurodegeneration.biomedcentral.com/articles/10.1186/1750-1326-9-59>, pristupljeno: 27. lipnja 2023.
4. Wolfe M. S., Yankner B. A., sorting out presenilins in Alzheimer's disease, ScienceDirect, 166: (13-15). Dostupno na: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867416308054>, pristupljeno: 1. srpnja 2023.
5. Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., Walter P., Molecular Biology of Cell, 4. izdanje, New York: Garland Science, 2002.
6. St George-Hyslop P.H., Petit A., Molecular biology and genetics of Alzheimer's disease, ScienceDirect, 2004., 328: (119-130) Dostupno na: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1631069104002604>, pristupljeno: 2. srpnja 2023.
7. National Institute on Aging, dostupno na: <https://www.nia.nih.gov/health/alzheimers-disease-fact-sheet>
8. De Strooper B., Annaert W., Where Notch and Wnr Signaling Meet: the presenilin Hub, Journal of Cell Biology, 2001., 152 (4): F17-F20 Dostupno na: <https://rupress.org/jcb/article/152/4/F17/45800/Where-Notch-and-WNT-Signaling-MeetThe-Presenilin>, pristupljeno: 3. srpnja 2023.
9. Đikić D., FIZIOLOGIJA ČOVJEKA -odabrana poglavlja za kolegij fiziologija čovjeka za studente integriranog preddiplomskog studija Profesor biologije i kemije, Zagreb: Prirodoslovno matematički fakultet, 2017/18.

10. Duncan S. R., Song B., Koulen P., Presenilins as Drug Targets for Alzheimer's Disease-recent insights from cell biology and electrophysiology as novel opportunities in drug development, 2018., 19(6), dostupno na: <https://www.mdpi.com/1422-0067/19/6/1621>, pristupljeno: 10. srpnja 2023.
11. Alzheimer's Society, dostupno na: <https://www.alzheimers.org.uk/news/2023-07-17/new-drug-donanemab-turning-point-alzheimers>
12. Hermes M., Eichhoff G., Garaschuk O., Intracellular calcium signalling in Alzheimer's disease, 2010, 14(1-2): 30-41. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3837603/>, pristupljeno: 10. srpnja 2023.
13. O. W. Grimm M., S. Grimm H., Pätzold A. K., Zinser E. G., Halonen R., Duering M., Tschäpe J.-A., De Strooper B., Müller U., Shen J., Hartmann T., Regulation of cholesterol and sphingomyelin metabolism by amyloid- $\beta$  and presenilin, Nature cell biology, 2005, 7 (1118-1123), dostupno na: <https://www.nature.com/articles/ncb1313>, pristupljeno: 3. srpnja 2023.
14. Wisniewski T., Ghiso J., Frangione B., Biology of A $\beta$  Amyloid in Alzheimer's Disease, 2002., 4(5): 313-328, dostupno na: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0969996197901479>, pristupljeno: 7. srpnja 2023.
15. Tandon A., Fraser P., The Presenilins, National Library of medicine, 2002., 3(11), dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC244923/>, pristupljeno: 5. srpnja 2023.