

Dysfunkcia mitochondrií pri Alzheimerovej chorobe

Prof. RNDr. Anna Gvozdjaková, DrSc., RNDr. Zuzana Rausová, PhD., PharmDr. Jarmila Kucharská, PhD., RNDr. Zuzana Sumbalová, PhD.

Univerzita Komenského v Bratislave, Lekárska Fakulta, Farmakobiochemické laboratórium III. Internej kliniky, Bratislava

Stručný prehľad sa zaoberá súčasnými poznatkami o význame mitochondrií pri Alzheimerovej chorobe (AD), novou možnosťou analýzy bioenergetiky mitochondrií v izolovaných trombocytoch. Neinvazívny postup respirometrickej analýzy mitochondrií by mohol byť použitý ako diagnostický test bioenergetiky mitochondrií v periférii, ktoré môžu indikovať zmeny funkcií mitochondrií mozgu u pacientov s AD. Nová diagnostická metóda je vhodná na monitorovanie terapie pacientov s AD. Pri AD sa používa podporná terapia s vitamínmi a antioxidantmi, avšak nie sú jednoznačné závery o ich účinku z hľadiska spomalenia progresie AD. V závere autori poukazujú na perspektívnu stratégiu cielej terapie AD, ku ktorej patrí génová terapia a mitochondriálna transplantácia.

Kľúčové slová: Alzheimerova choroba, mitochondrie, antioxidanty, diagnóza, terapia

Mitochondria dysfunction in Alzheimer's disease

A brief review deals with current knowledge of the importance of mitochondria in Alzheimer's disease (AD), a new possibility of mitochondrial bioenergy analysis in isolated platelets. A non-invasive procedure of mitochondrial respirometric analysis could be used as a diagnostic test for peripheral mitochondrial bioenergy that may indicate changes in brain mitochondrial function in AD patients. The new diagnostic method is suitable for monitoring therapy of AD patients. In AD, supportive therapy with vitamins and antioxidants is used, but there are no clear conclusions about their effect in slowing the progression of AD. In conclusion, the authors showed a prospective strategy for targeted therapy of AD, which includes gene therapy and mitochondrial transplantation.

Key words: Alzheimer's disease, mitochondria, antioxidants, diagnosis, therapy

Prakt. lekár., 2019;9(4):148-151

Mitochondrie sú hlavným zdrojom energie pre organizmus, pre funkcie neurónov. Ich množstvo v bunke závisí od energetických požiadaviek orgánov. Dysfunkcia mitochondrií mozgu je jedným z hlavných faktorov, ktoré sa podieľajú na mitochondriálnych chorobách nervového systému. Príčiny mitochondriálnych chorôb mozgu sú spôsobené poruchami jadrovej DNA (nDNA) alebo mutáciami mitochondriálnej DNA (mtDNA). Poškodenie funkcií mitochondrií mozgu a oxidačný stres sú zahrnuté v patogeneze neurodegeneratívnych chorôb, ako sú Alzheimerova choroba, Parkinsonova choroba, Huntingtonova choroba a amyotrofická laterálna skleróza.

Alzheimerova choroba (AD) bola popísaná prvýkrát v roku 1906 nemeckým lekárom Aloisom Alzheimerom. Príznaky ochorenia u 51-ročnej pacientky sa prejavili skorým nástupom demencie, stratou pamäti, halucináciami a bludmi. AD je progresívne neurodegeneratívne ochorenie, charakterizované poruchou pamäti a kognitívnych funkcií. Na etiológii ochorenia sa podieľajú hlavne genetické faktory, ďalej oxidačný stres a mitochondriálna dysfunkcia.

Predpokladá sa, že príčina, ale aj dôsledok dysfunkcie mitochondrií mozgu pri AD je agregácia extraneuronálnych proteínov („plaques“) a intraneuronálnych proteínov („tangles“). Plaky obsahujú beta amyloidový proteín (A β) a tangles tvoria agregáty tau proteínu (1). Akumulácia A β zvyšuje tvorbu ROS (reactive oxygen species), špeciálne peroxid vodíka, indukuje peroxidáciu lipidov a poškodzuje funkciu respiračného reťazca mitochondrií, s následnou depolarizáciou membrány mitochondrií a zvýšenou priepustnosťou pórov (mitochondrial permeability transition pore - MPTP). Otvorenie týchto pórov prispieva k uvoľneniu vápenatých iónov (Ca²⁺) a cytochrómu c z mitochondrií, ktorý môže indukovať apoptózu buniek. Okrem tvorby adenosín trifosfátu v mitochondriách cestou oxidačnej fosforylácie, mitochondrie sú jedným z hlavných zdrojov voľných radikálov kyslíka. So zvyšujúcim sa vekom sú mitochondrie menej aktívne a vzniká oxidačný stres, ktorý sa podieľa na poškodení mtDNA (2), (obrázok 1).

Alzheimerova choroba môže byť familiárna alebo sporadická. Familiárna AD (early onset AD) tvorí 2 % prípadov,

pri ktorých dochádza k mutáciám génov beta-amyloidového prekursorového proteínu (β APP), ktorý urýchľuje proces choroby, prípadne vznikajú mutácie génov preselininu 1 (PS1) alebo preselininu 2 (PS2). Väčšina prípadov je sporadická AD (late onset AD), ktorá sa vyskytuje prevažne vo vyššom veku.

Význam mitochondrií a hypotéza mitochondriálnej kaskády u pacientov s AD

Mitochondrie patria k najdôležitejším štruktúram neurónov, ktoré zabezpečujú prevažnú časť energie pre činnosť mozgu. Mitochondrie sú dynamické štruktúry, ktoré sa adaptujú na fyziologické požiadavky jednotlivých orgánov a tkanív. Dynamika mitochondrií je riadená procesmi, ktoré regulujú morfológiu mitochondrií. Patrí sem biogenéza mitochondrií (vznik nových mitochondrií delením); fission (štiepenie - odstránenie starých alebo poškodených mitochondrií); fusion (fúzia - tvorba malého počtu veľkých a predĺžených mitochondrií); mitophagy (mitofágia - selektívna degradácia poškodených mitochondrií) (4).

Poruchy mitochondriálnej dynamiky vedú k dysfunkcii neurónov (5). Keď sú mitochondrie mierne poškodené, pohybujú sa pozdĺž zdravých mitochondrií a tak zmierňujú poškodenie. Akumulácia A β -proteínu a tau proteínu sa podieľa na oxidačnom strese, poškodzuje dynamiku a bioenergetiku mitochondrií, dochádza k blokovaniu transportu mitochondrií pozdĺž neurónov, výsledkom je znížená a spomalená autofágia (proces, pri ktorom bunka odstraňuje vlastné komponenty), čo podporuje neurodegeneráciu (6). Ak sú mitochondrie vážne poškodené, sú transportované do lyzozómov, ktoré rozkladajú bunkové zložky účinkom hydrolytických enzýmov.

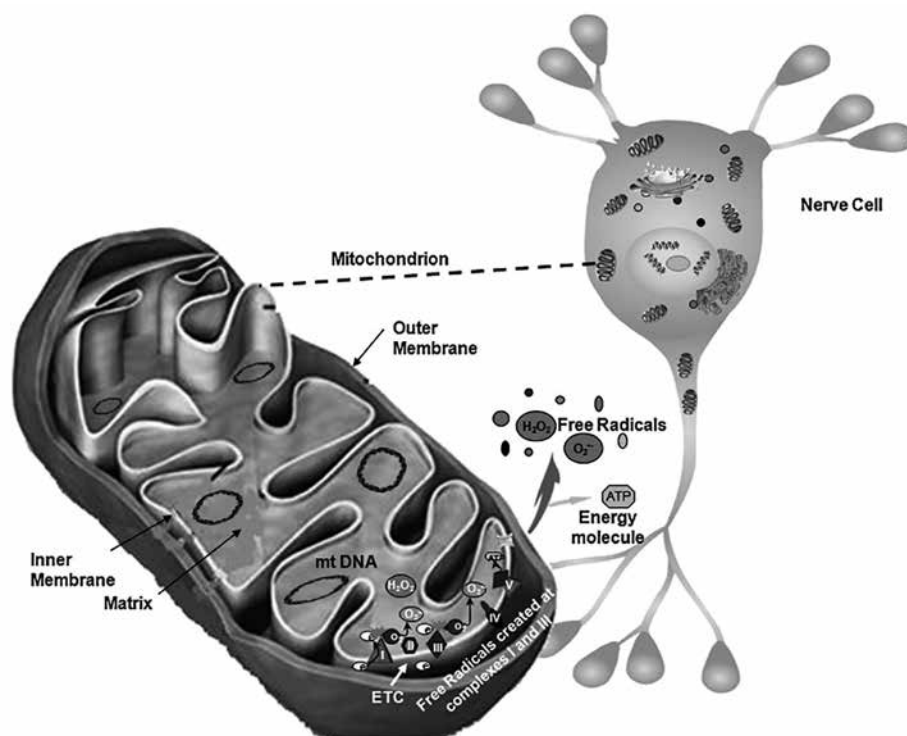
Mitochondrie udržiavajú rovnováhu medzi ich počtom, štruktúrou a funkciou = mitochondriálna homeostáza (7). Poškodenie mitochondriálnej homeostázy bolo pozorované pri neurologických chorobách, pri neurodegeneratívnych chorobách, pri ischemii a hypoxii mozgu.

Na základe dysfunkcií mitochondrií mozgu, pre sporadickú Alzheimerovu chorobu Swerdlow a Khan prvýkrát vyslovili hypotézu mitochondriálnej kaskády v roku 2004 (8). Podľa tejto hypotézy sa vyskytuje dysfunkcia mitochondrií pred vznikom A β plakov v mozgu, poškodené mitochondrie spúšťajú patogenetické zmeny a zvyšuje sa toxicita tau proteínu s následnou neurodegeneráciou. Autori zhrnuli hypotézu mitochondriálnej kaskády do 3 častí:

1. Základnú funkciu mitochondrií jednotlivca určuje génová dedičnosť (po matke a otcovi).
2. S vyšším vekom sa spája rýchlejšie starnutie mozgu a zníženie funkcií mitochondrií. Táto rýchlosť zmien mitochondrií je určená genetickými a environmentálnymi faktormi.
3. Príznaky sporadickej AD sú spojené s rýchlymi funkčnými a histologickými zmenami mitochondrií.

V roku 2018 Swerdlow rozdelil hypotézu mitochondriálnej kaskády na primárnu a sekundárnu. *Primárna mitochondriálna kaskáda* v AD je charakterizovaná akumuláciou A β proteínov, zmenami A β homeostázy a poškodením bioenergetiky mito-

Obrázok 1. Lokalizácia mitochondrií v neuróne (2)



Legenda: Mitochondrion – mitochondria; Outer membrane – vonkajšia membrána; Inner membrane – vnútorná membrána; mtDNA – mitochondriálna DNA; Free Radicals – voľné radikály; ETC – elektrón transportný reťazec; ATP – adenosín trifosfát; H₂O₂ – peroxid vodíka I, II, III, IV, V – komplexy respiračného reťazca; Q – koenzým Q; O₂⁻ – superoxidový radikál; Free Radicals created at complexes I and III – voľné radikály, vytvorené na komplexoch I a III; Nerve Cell – nervová bunka

chondrií, znížením funkcie respiračného reťazca mitochondrií a tvorby ATP v nich. *Sekundárna mitochondriálna kaskáda* v AD je charakterizovaná toxicitou A β proteínov, ktoré iniciujú neurodegeneráciu, redukciou aktivity enzýmov respiračného reťazca mitochondrií na úrovni komplexu I, II a IV (cytochrómoxidázy), redukciou tvorby ATP v mitochondriách a inhibíciou oxidačnej fosforylácie (9).

Nová diagnostická metóda - respirometrická analýza mitochondrií u pacientov s AD

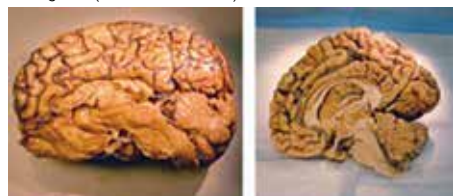
Na zistenie funkcií komplexov respiračného reťazca a tvorby ATP v mitochondriách u pacientov je potrebné väčšie množstvo tkaniva, prípadne izolovaných mitochondrií. Klasická diagnostická metóda zistenia funkcie mitochondrií v tkanive u pacientov používa biopsiu kostrového svalu. V posledných rokoch bola vyvinutá nová neinvazívna respirometrická analýza funkcie mitochondrií u ľudí v mitochondriách izolovaných trombocytov, prípadne lymfocytov (10,11). V izolovaných trombocytoch pacientov s AD použitím vysoko-rozli-

šovacej respirometrickej analýzy bola dokázaná redukcia bazálnej respirácie mitochondrií a maximálnej elektrón transportnej kapacity, ktorá poukazuje na zmeny mitochondrií v periférii s predpokladom iniciácie zmien funkcií mitochondrií mozgu. Znížená respirácia a elektrón transportná kapacita mitochondrií v izolovaných trombocytoch u pacientov s AD sa považuje za primárny faktor, ktorý prispieva k vývoju AD (12). Vysoko rozlišovacou respirometrickou analýzou je možné detegovať aj malé zmeny funkcií mitochondrií v izolovaných trombocytoch. Uvedená metodika by mohla byť použitá ako diagnostický test bioenergetiky mitochondrií v periférii, ktoré môžu indikovať zmeny funkcií mitochondrií v mozgu u pacientov s AD. Neinvazívna metóda by mohla byť použitá pre diagnózu a monitorovanie terapie u pacientov (13).

Prevenencia a terapeutické stratégie AD

Z hľadiska prevencie AD sa odporúča kalorická reštrikcia, zvýšenie pohybovej aktivity, redukcia oxidačného stresu a antioxidačná podporná terapia.

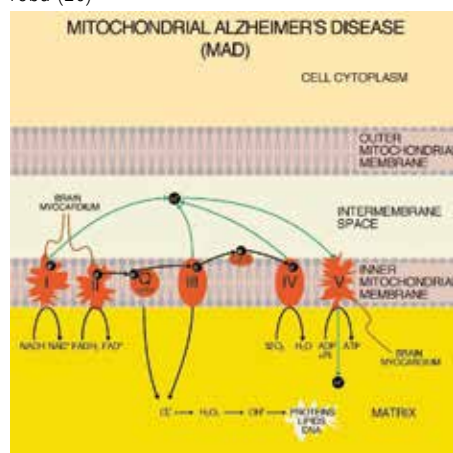
Obrázok 2. Rozdiely medzi zdravým a AD mozgom (v modifikácii 3)



Zdravý mozog

AD mozog

Obrázok 3. Mitochondriálna Alzheimerova choroba (26)



Legenda: MAD – mitochondriálna Alzheimerova choroba; Respiratory chain complexes - I, II, III, IV, V – komplexy respiračného reťazca mitochondrií; Q-cycle – cyklus koenzýmu Q; cyt c – cytochróm c; e- – elektrón; H+ – protón; NADH – reduced nicotinic adenine dinucleotide – redukovaný nikotín adenín dinukleotid; NAD+ – nicotinic adenine dinucleotide – nikotín adenín dinukleotid; FADH₂ – reduced flavine adenine dinucleotide – redukovaný flavín adenín dinukleotid; FAD – flavine adenine dinucleotide – flavín adenín dinukleotid; O₂ – oxygen – kyslík; H₂O – water – voda; ADP – adenosine diphosphate – adenosín difosfát; Pi – inorganic phosphate – anorganický fosfor; ATP – adenosine triphosphate – adenosín trifosfát; O₂⁻ – superoxide radical – superoxidový radikál; H₂O₂ – hydrogen peroxide – peroxid vodíka; OH· – hydroxyl radical – hydroxylový radikál

Cieľom nových terapeutických prístupov AD v experimentálnej aj klinickej medicíne je zabrániť vzniku, prípadne spomaliť progres choroby. K cielenej antioxidantnej terapii mitochondrií pri AD sa používajú rôzne doplnky výživy, ku ktorým patrí koenzým Q₁₀ (CoQ₁₀), vitamín E, vitamín C. Vitamín E pôsobí ako antioxidant. Autori (14) zistili, že vitamín E v denných dávkach 1800 mg počas dvoch rokov spomalil progres AD. Vitamín C pôsobí ako inhibitor peroxidácie lipidov. To sú exogénne antioxidanty, ktoré znižujú toxické poškodenie neurónov voľnými radikálmi a pomáhajú redukovať patogenézu demencie. Nie je však jednoznačné, či táto terapia je efektívna u AD (15).

K ďalším prípravkom patrí β -karotén, ktorý môže redukovať peroxidáciu lipidov, zlepšiť antioxidantný stav – a kurkumin, ktorý má antioxidantný a protizápalový účinok. Gingko biloba patrí k prírodným antioxidantom, s obsahom flavonoidov a terpenoidov, ktoré inhibujú agregáciu A β in vitro. Vitamín B₁₂ prispieva k zlepšeniu poznávacích funkcií u pacientov s AD (16).

Na zníženie tvorby ROS, na zlepšenie funkcie respiračného reťazca mitochondrií a zvýšenie tvorby ATP, na zlepšenie dynamiky mitochondrií, na zlepšenie kognitívnych funkcií sa používa CoQ₁₀. CoQ₁₀ je kľúčová zložka respiračného reťazca mitochondrií vnútornej membrány mitochondrií, s antioxidantnými vlastnosťami, ktorá chráni neuróny pred nadmernou tvorbou A β proteínov. V experimentálnych štúdiách bolo zistené, že exogénny ubiquinol (redukovaný koenzým Q₁₀) sa dostáva do jednotlivých štruktúr mozgu (17), čo sa prejavilo zlepšením funkcií mitochondrií mozgu v experimentálnom modeli mitochondriálnej AD (18). Cielená terapia poškodených mitochondrií u pacientov s AD pomocou denných vyšších dávok CoQ₁₀ môže byť prospešná pre pacientov s AD, najmä v počiatočnom štádiu choroby (19).

V poslednom desaťročí sa používa molekulárny vodík (H₂) ako terapeutický a preventívny antioxidant s viacerými funkciami (20), ktoré zahŕňajú protizápalový, protialergický účinok, antioxidantný účinok (21), stimuláciu mitochondriálneho energetického metabolizmu (22) a je predpoklad jeho použitia v prevencii AD (23).

Na spomalenie progresu AD sa vyvíjajú nové terapeutické stratégie, ku ktorým patrí génová terapia mutácií mtDNA (24), prípadne mitochondriálna transplantácia, pri ktorej zdravé mitochondrie z nepoškodenej časti orgánu sa injikujú do poškodenej oblasti orgánu, s cieľom nahradiť poškodené mitochondrie (25). Pozitívne výsledky uvedených terapeutických stratégií sú získané najmä v experimentálnej medicíne. Aplikácia týchto metód v klinickej medicíne je perspektívna cieľená stratégia mitochondriálnych porúch, prípadne mitochondriálnych chorôb u pacientov.

Záver a perspektíva

Dysfunkcia mitochondrií mozgu a oxidačný stres patria ku kľúčovým faktorom, ktoré sa podieľajú na patobiochemických zmenách mozgu pri Alzheimerovej chorobe. Neinvasívny prístup respirometrickej analýzy mitochondrií v izolovaných trombocytoch by mohol byť použitý ako diagnostický test bioenergetiky mitochondrií v periférii, ktoré môžu indikovať zmeny funkcií mitochondrií mozgu u pacientov s Alzheimerovou chorobou. Nová diagnostická metóda je vhodná na monitorovanie terapie pacientov s AD.

Literatúra

1. Alzheimer's Association: 2019 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's & Dementia*. 2019; 15: 321-387.
2. Moreira PI, Carvalho C, Zhu X, Mark A, et al. Mitochondrial dysfunction is a trigger of Alzheimer's disease pathophysiology. *Biochim Biophys Acta*. 2010; 1802: 2-10.
3. Oliver DMA, Reddy H: Small molecules as therapeutic drugs for Alzheimer's diseases. *Mol Cell Neurosci*. 2019; 96:47-62.
4. Cheng Y, Bai F. The association of tau with mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease. *Front Neurosci* 12:163. doi:10.1038/fnins.2018.00163.
5. Chen H, Chan DC. Mitochondrial dynamics – fusion, fission, movement, and mitophagy – in neurodegenerative diseases. *Hum Mol Genet*. 2009; 18/ R2: R169-R176.
6. Zhao XY, Lu MH, Xu DE, Yao PP, et al. Mitochondrial dysfunction in neural injury. *Frontiers in Neuroscience* 2019; 13/30, doi:10.3389/fnins.2019.00030
7. Ludwig PE, Thankam FG, Patil AA, et al. Brain injury and neural stem cells. *Neural Regen Res*. 2018; 13: 7-18. doi:10.4103/1973-5347.224361.
8. Swerdlow RH, Khan SM. A mitochondrial cascade hypothesis for sporadic Alzheimer's disease. *Med Hypotheses*. 2004; 63:8-20.
9. Swerdlow RH. Mitochondria and mitochondrial cascades in Alzheimer's disease. *J Alzheimer's Diseases*. 2018; 62/3: 1403-1416.
10. Sumbalova Z, Droscher S, Hiller E, Chang SC, et al. 02k-Protocols: Isolation of peripheral blood mononuclear cells and platelets from human blood for HRR. *Mitochondr Physiol Network*. 2018; 21:17(03):1-16.
11. Gvozdiaková A, Kucharská J, Sumbalová Z, Nemec M, et al. Platelet mitochondrial function depends on CoQ10 concentration in winter, not in spring season. *General Physiol Biophys*. 2019a; 38: 325-334. doi:10.4119/gpbp_2012012.
12. Fišar Z, Hroudová J, Hansíková H, Spáčilová J, et al. Mitochondrial respiration in the platelets of patients with Alzheimer's disease. *Current Alzheimer Res* 2016; 13: 930-941.
13. Gvozdiaková A, Sumbalova Z, Kucharska J, Chladekova A, Rausova Z, Vancova O, Komlosi M, Ulicna O, Mojto V: Platelet mitochondrial bioenergetic analysis in patients with nephropathies and non-communicable diseases: a new method. *Bratisl Med J*. 2019b; 120 (9): 630-635. DOI: 10.4149/BLL_2019_104.
14. Pavlik VN, Doody RS, Rountree SD, Darby EJ: Vitamin E use is associated with improved survival in an Alzheimer's disease cohort. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2009; 28(6): 536-40. doi: 10.1159/000255105.
15. Feng Y, Wang X. Antioxidant therapies for Alzheimer's disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, Volume 2012, Article ID 472932, 17 pages.

16. Eckert GP, Renner K, Eckert SH, Eckmann J, et al. Mitochondrial dysfunction – A pharmacological target in Alzheimer’s diseases. *Mol Neurobiol* 2012; 46:136-150.
17. Hernández-Camacho JD, Bernier M, López-Lluch G, Navas P. Coenzyme Q10 supplementation in ageing and disease. *Front Physiol*. 2018; 9:44. doi: 10.3389/fphys.2018.00044.
18. Horecký J, Vančová O, Kucharská J, Gvozdjaková A: Coenzyme Q10 supplementation in mitochondrial Alzheimer’s disease (experimental model). In: Gvozdjaková A (ed). *Mitochondrial Medicine*, Springer, Netherlands. 2008;335-339.
19. Gvozdjaková A, Mravec B, Kucharská J, Lackovičová Ľ, Ondičová K, Tkačov M, Singh RB. Increased ubiquinone concentration after intracerebrovascularely-administered ubiquinol to selected brain regions. *Gen Physiol Biophys*. 2012; 31/4: 469-472.
20. Ortiz JMP, Swerdlow RH. Mitochondrial dysfunction in Alzheimer’s disease: Role in pathogenesis and novel therapeutic opportunities. *Br J Pharmacol* 2019; 1-19. <https://doi.org/10.1111/bph.14585>.
21. Slezák J, Kura B, Frimmel K, Zálešák M, Ravingerová T, Vincenczová C, et al. Preventive and therapeutic application of molecular hydrogen with excessive production of free radicals. *Physiol Res*. 2016; 65 (Suppl 1): S11-S28.
22. Gvozdjaková A, Kucharská J, Kura B, Vančová O, Rausová Z, Sumbalová Z, Uličná O, Slezák J. A new insight into the molecular hydrogen effect on coenzyme Q and mitochondrial function in rats. *Can J Physiol Pharmacol*. 2019c; doi: 10.1139/cjpp-2019-0281.
23. Ohta S, Asada T: Molecular Hydrogen as an Emerging Candidate for Preventing Alzheimer’s Disease. *Int J Alzheimers & Neuro Disorder*. 2018; 1: 003.
24. Onyango IG: Modulation of mitochondrial bioenergetics as a therapeutic strategy in Alzheimer’s disease. *Neural Regen Res*. 2018; 13/1: 19-25. doi: 10.4103/1673-5374.224362.
25. Gvozdjaková A, Singh RB: Mitochondrial transplantation. In: Recent advances in mitochondrial medicine and coenzyme Q10. Eds. A. Gvozdjaková, G. Cornélissen, RB Singh, NOVA Science Publishers, New York. 2018; 325-334.
26. Gvozdjaková A. Mitochondrial function in Down syndrome. In: *Handbook of Down Syndrome Research*, eds. Jelínek D, Dvorák G, NOVA Science. 2009; 207-229.

Prof. RNDr. Anna Gvozdjaková, DrSc.

Univerzita Komenského v Bratislave, Lekárska Fakulta, Farmakobiochemické laboratórium III. Internej kliniky, Sasinkova 4, 811 08 Bratislava
anna.gvozdjakova@fmed.uniba.sk