

Mehanizmi razvoja Alzheimerove bolesti

Grgurina, Iris

Undergraduate thesis / Završni rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:870451>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-13**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO – MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

**MEHANIZMI RAZVOJA ALZHEIMEROVE
BOLESTI**

(DEVELOPMENTAL MECHANISMS OF ALZHEIMER'S
DISEASE)

SEMINARSKI RAD

Iris Grgurina

Preddiplomski studij molekularne biologije
(Undergraduate Study of Molecular Biology)

Mentor: izv. prof. dr. sc Vesna Benković

Zagreb, 2018.

Sadržaj

1. UVOD	2
2. EPIDEMIOLOGIJA AD	3
3. AMILOID β	4
3.1. Metabolizam i katabolizam amiloida β	4
3.2. Nukleacija i odlaganje amiloida β	6
3.3. Amiloid kaskadna teorija	7
4. TAU PROTEIN	9
4.1. Funkcija i formiranje tau proteina	9
4.2. Tau izoforme u centralnom živčanom sustavu	11
4.3. Mutacije u MAPT genima i povezane Tauopatije	13
4.4. Patologija i širenje tau proteina	14
5. SINERGISTIČKO DJELOVANJE AMILOIDA β I TAU	17
6. TERAPEUTSKE STRATEGIJE AD	19
7. SAŽETAK	21
8. SUMMARY	22
9. LITERATURA	23

1. UVOD

Alzheimerova bolest (AD) je kronična neurodegenerativna bolest i najčešći primarni uzrok demencije (60-70%). Demencija je klinički sindrom (skup simptoma koji se pojavljuju zajedno) koji dovodi do progresivnog pogoršavanja intelektualnih sposobnosti poput pamćenja, zaključivanja i donošenja odluka. Procjenjuje se da u svijetu boluje više od 35 milijuna ljudi, a od toga u Republici Hrvatskoj više od 80 tisuća. Prvi zabilježeni slučaj bolesti datira iz 1907. godine, a okarakterizirao ga je bavarski psihijatar Aloysius (Alois) Alzheimer na slučaju 51-godišnje pacijentice Auguste Deter (Hippius i Neundorfer, 2003). Alzheimer je još 1907-e, promatrajući degenerirane kortikalne neurone oboljelih obojene srebrom, primijetio postojanje neurofibrilarnih filamenata za koje se danas zna da su rezultat abnormalnog taloženja krivo procesiranih i agregiranih proteina. Većinu neurodegenerativnih bolesti karakterizira jedan tip inkluzija, onih građenih od nepravilno smotanog proteina amiloid β , dok AD uz ekstraneuralno taloženje proteina amiloid β u obliku plakova prati i intraneuralna agregacija Tau proteina u formi filamenata (Goedert i Spillantini, 2017).

Amiloid β peptidi se izvode iz amiloidnog prekursorskog proteina (APP) te mogu agregacijom oblikovati fleksibilne topive oligomere koji mogu postojati u više oblika. Danas se vjeruje da određeni oblici oligomera mogu djelovati kao "sjemenke", odnosno inducirati druge amiloid β peptide da agregacijom preuzmu istu, toksičnu oligomernu formu što uzrokuje lančanu reakciju te progresivno širenje slično onome kod prionskih infekcija (Sowade i Jahn, 2017).

Tau protein, esencijalan za pravilno formiranje mikrotubula u stanici, može se fosforilirati na više mjesta djelovanjem različitih proteinskih kinaza. Hiperfosforilacija mijenja njegovu konformaciju te potiče i njegovu sposobnost smatanja i formiranja agregata, od oligomera do fibrila, što s vremenom dovodi do njegovog nakupljanja u obliku neurofibrilarnih snopića kakve nalazimo kod oboljelih od AD (Guerrero-Munoz, 2015).

Suvremena istraživanja AD se fokusiraju na izučavanje interakcije ovih dvaju proteina kako bi došli do saznanja koja forma se javlja uzvodno u patokaskadi te koji oblik je primarni izvor toksičnosti, što je od izuzetne važnosti za efikasniji imunoterapijski tretman AD.

2. EPIDEMIOLOGIJA AD

Kako u razvijenim, tako i u zemljama u razvoju, AD ima ogroman utjecaj na pogođene pojedince, njihove skrbnike i društvo u cijelosti budući da je upravo AD vodeći uzrok funkcionalne ovisnosti, institucionalizacije i smrtnosti među starijim osobama. Procjenjuje se da među osobama starijim od 60 godina demencija uzrokuje 11,2% godina života s invaliditetom u usporedbi s moždanim udarom koji uzrokuje 9,5% ili kardiovaskularnim bolestima koje uzrokuju 5% (Qiu, 2009). Alzheimerova bolest je višefaktorska bolest u kojoj je starija dob najjači faktor rizika, što upućuje na to da se biološki procesi povezani sa starenjem mogu smatrati djelom patogeneze same bolesti. Ranu manifestaciju obiteljski naslijeđene AD uzrokuju autosomne dominantne mutacije, poput one u amiloidnom prekursorskom proteinu (APP), točnije genima za presenilin-1 i 2. No ovim uzrokovanu AD ima samo 2-5% oboljelih. Osim toga, neke studije upućuju na to da se obiteljski naslijeđena AD može djelomično objasniti poznatim genetskim komponentama kao što je apolipoprotein E (APOE) ε4 alel, što ukazuje da se mogu uključiti i drugi geni osjetljivosti, a ne samo oni amiloidnog prekursorskog proteina (Xu, Ferrari i Wang, 2013). Drugi etiološki čimbenici koji pogoduju razvoj AD, uz starost i genetičku predispoziciju, još nisu u potpunosti rasvijetljeni. Dokazi proizišli iz multidisciplinarnih istraživanja (epidemiologija, neuroimaging i neuropatološke studije) podržavaju hipotezu da su čimbenici vaskularnog rizika (poput pušenja, pretilosti i visokog kolesterola) kao i vaskularnog morbiditeta (visoki krvni tlak, dijabetes, slabi moždani udari te lezije bijele tvari) povezani s povišenim rizikom demencije (O'Brien i Markus, 2014). Utvrđeno je također i da psihosocijalni čimbenici (visoko obrazovanje od ranih stadija života, visoka kompleksnost posla u zreloj životnoj dobi te visoka razina društvenog angažmana) zajedno s aktivno integriranim životnim stilom mogu reducirati rizik razvoja AD i demencije u starijoj dobi.

Alzheimerova bolest se karakterizira u pretkliničkoj fazi, koja traje godinama, tijekom kojih se progresivna neurodegeneracija mozga pojavljuje prije nego što se uočavaju tipični klinički simptomi, poput kognitivnih nedostataka. Otkrivanje AD u što ranijoj fazi otvara mogućnost efikasnije intervencije i time odgode napredovanja bolesti u kliničku fazu. Iako su istraživani brojni klinički, neuroimaging i biokemijski markeri i dalje ostaje izazov kako najefikasnije i s najvećom točnošću identificirati oboljele u što ranijoj fazi bolesti

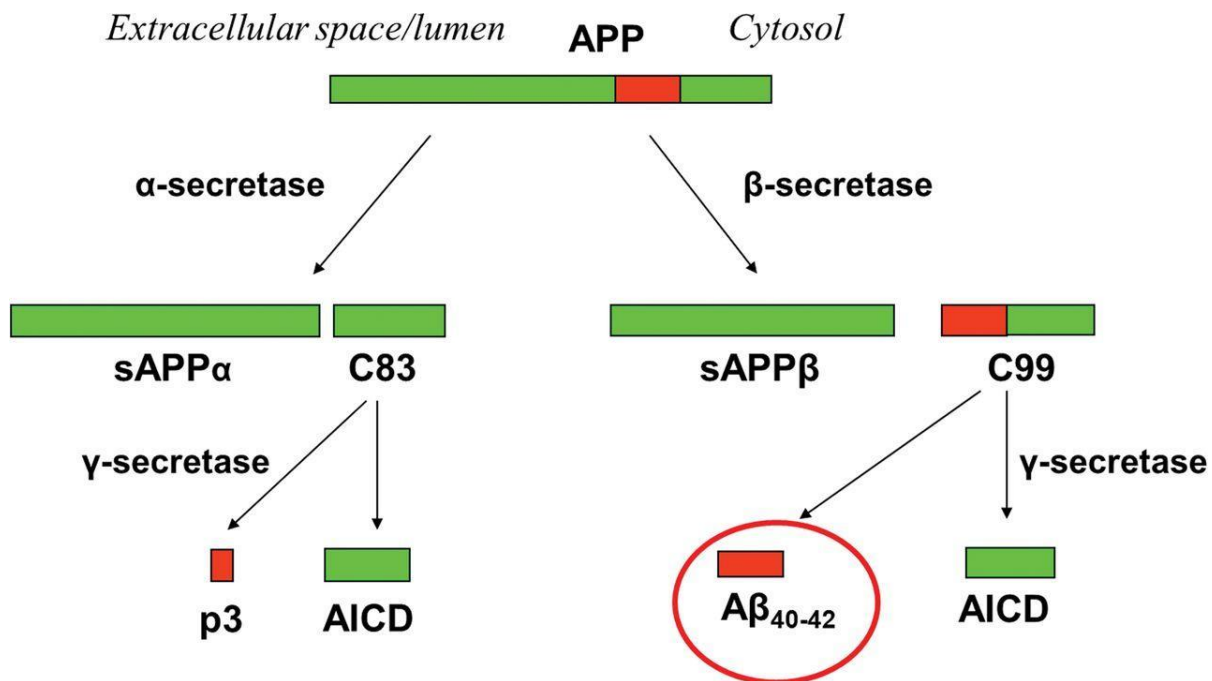
3. AMILOID β

Amiloid β je peptid molekulske mase od ~ 4 kDa, a izveden je iz amiloidnog prekursora proteina (APP) sekvencionalnim cijepanjem. Prvi put je izoliran kao glavna komponenta amiloidnih naslaga u mozgu i cerebrovaskulaturi oboljelih od AD i Downovog sindroma (Head i Lott, 2004). Iako sama funkcija APP-a, a time i amiloida β nije još razjašnjena, brojna istraživanja su unaprijedila znanje o tome kako se amiloid β proizvodi iz APP-a te kako se kasnije degradira u mozgu ili prenosi na periferiju. Konačna koncentracija amiloid β peptida koji se akumulira u obliku amiloidnih naslaga unutar mozga je određena upravo međudjelovanjem tih čimbenika.

3.1. Metabolizam i katabolizam amiloida β

Enzimatski procesi odgovorni za metabolizam APP-a u amiloid β su sada dobro poznati. APP sekvencijalno cijepaju dvije endoproteaze vezane za membranu, β -sekretaza i γ -sekretaza. Prva APP cijepa β -sekretaza te otpušta veliki derivat sAPP β . Fragment od 99 aminokiselina (CTF β , koji započinje s N-terminalnim aspartilnim ostatkom amiloida β) ostaje membranski vezan te se brzo cijepa pomoću γ -sekretaze da se dobije amiloid β . Cijepanje γ -sekretazom nije toliko precizno, što rezultira C-terminalnom heterogenošću peptidne populacije. Upravo iz ovog razloga postoje različite vrste amiloidnog peptida, no one koje završavaju na poziciji 40 (Ap40) su najzastupljenije (~ 80 - 90%), a slijede ih one koje završavaju na poziciji 42 (Ap42, ~ 5 - 10%). Nešto dulji oblici amiloidnog peptida, osobito Ap42, su hidrofobniji i fibrilogenični te su glavna vrsta pohranjena u mozgu. Vjeruje se da je aktivnost β -sekretaze ograničavajući korak u brzini amiloidogenog puta te da ona procesira $\sim 10\%$ ukupnog staničnog APP-a. Preostali APP, blizu 90% , konstitutivno se cijepa pomoću α -sekretaze (skup metaloproteaza), time stvarajući sAPP α i 83 aminokiseline dug CTF α . Naknadna cijepanja CTF α γ -sekretazom proizvode fragment p3 umjesto amiloida β , koji je mnogo benigniji oblik. Zbog njihove bitne uloge u stvaranju amiloida β , i β - i γ -sekretaza se smatraju glavnim ciljevima razvoja anti-AD lijekova (Epis, 2012). γ -sekretaza je holoenzim sastavljen od proteina APH1, PEN2, nikastrina i presenilina (PS1 ili PS2). Ovaj enzimski kompleks sadrži jednu kopiju svake podjedinice i odgovoran je za cijepanje

različitih membranskih proteina uz APP. Iako se točna funkcionalna uloga svake komponente tek treba potpuno razjasniti, vjeruje se da prezenilin tvori aktivno mjesto aspartil proteaze (Wolfe, 1999), a nikicrin vjerojatno služi kao podjedinica za spajanje supstrata (Shah, 2005). Ipak za ispravnu funkciju γ -sekretaze su potrebna sva četiri enzima. Iako se količina aktivnosti γ -sekretaze ne povećava u AD, promjene u njezinoj aktivnosti koje dovode do produkcije duljih oblika amiloida β su glavni genetički uzrok rane manifestacije obiteljski naslijeđene AD (Suzuki, 1994).



Slika 1. Cijepanje APP-a α , β i γ -sekretazom uz odgovarajuće produkte koji pri tom nastaju. Preuzeto iz Teich A., Arancio O., 2012; *Is the Amyloid Hypothesis of Alzheimer's disease therapeutically relevant?*

Iako se naglasak stavlja na dobivanje amiloida β iz APP-a, posljednjih se godina dio pozornosti prenosi i na procese njegove degradacije. Dva su enzima, neprilizin (NEP) i enzim odgovoran za degradaciju inzulina (IDE), većinski odgovorna za degradaciju amiloida β (Iwata, 2000). Neprilizin je metaloproteaza tipa II, vezana uz membranu koja je odgovorna za izvanstaničnu degradaciju različitih peptida, dok IDE, također metaloproteaza, djeluje na izvan i unutarstaničnu degradaciju. IDE ima otprilike dvadeset puta veći afinitet za inzulin u odnosu na amiloid β , no

njega hidrolizira mnogo sporije. Na taj način inzulin djeluje kao inhibitor IDE-ovisnog cijepanja amiloida β što predstavlja osnovu veze dijabetesa tipa II, hiperinzulinemije i AD (Qiu, 2006).

Unatoč značajnoj razini katabolizma amiloida β u mozgu, velika količina ipak ostaje nedegradirana. Kao i kod ostalih metabolita postoji mehanizam njegova transporta preko krvno-moždane barijere u cirkulaciju. Ometanje ovog mehanizma dovodi do povećanja koncentracije amiloida β u mozgu i njegove konačne akumulacije. Topivi amiloid β se prenosi preko krvno-moždane barijere dvama mehanizmima; preko proteina povezanog s receptorima niske gustoće lipoproteina na moždanoj strani i receptora za naprednu glikozilaciju na luminalnoj strani (Deane, 2003). Nije utvrđena točna fiziološka uloga ovog dvosmjernog mehanizma za transport amiloida β , no smatra se da poremećaj ovih mehanizama, uz prisustvo drugih vaskularnih abnormaliteta u mozgu oboljelih od AD, značajno doprinosi razvoju amiloidne patologije AD.

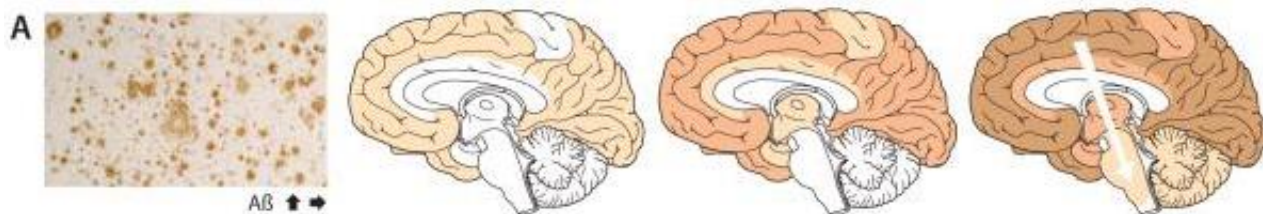
3.2. Nukleacija i odlaganje amiloida β

Sklapanje amiloida β u multimerne strukture je ključan proces koji uvjetuje biološki utjecaj ovog peptida na razvoj AD. Postoje dvije faze njegova sklapanja koje imaju različite karakteristike i dovode do struktura s različitim biološkim svojstvima. Naglasak početnih istraživanja amiloida β je bio na histološkim obilježjima AD, odnosno amorfnim i fibrilarnim naslagama ovog peptida. Trenutna istraživanja fokus stavljaju na raniju fazu u formaciji multimernih struktura sačinjenih od amiloida β koje uključuju njegove topive multimerne. Ove strukture su toksičnije za samu stanicu za nekoliko redova veličine od različitih tipova amilodnih fibrila te su morfološki i konformacijski različite, pa tako oligomer-specifična antitijela ne prepoznaju monomere ili fibrile dok ona antitijela specifična za fibrile ne prepoznaju topive oligomere. Iako je potpuno negiranje utjecaja amilodnih fibrila na AD u ovom trenutku preuranjeno može se reći da je ono ipak manje nego što se originalno smatralo te da su topivi oligomeri ti koji imaju važniju biološku ulogu u razvoju AD. Oligomeri se lako formiraju iz duljih oblika amiloid β peptida (Ap42) dok iz onih nešto kraćih (Ap40) ta formacija ide sporije. Pokazano je da postoji uska povezanost između omjera Ap42/Ap40 i dobi manifestacije bolesti kod obiteljski naslijeđene AD pri čemu omjer u korist Ap42 peptida uvjetuje raniju manifestaciju, što se može objasniti upravo lakšom formacijom toksičnih oligomera iz ovog oblika peptida (Duering, 2005). Smatra se da C-terminus Ap42 peptida ima važnu ulogu

prilikom njihove formacije u oligomerne oblike. Definirani su neki strukturni parametri za različite korake *in-vitro* formacije oligomera sa sintetskim peptidima mutiranim u toj regiji (Bitan i sur., 2003). Dok su rani međuprodukti tijekom oligomerizacije sintetskog peptida nestabilni i zahtijevaju fotokemijsko hvatanje intermedijera, stabilni mali oligomeri mogu se izolirati iz bioloških sustava no zašto postoji razlika u stabilnosti nije poznato. Pokazano je i da amiloid β oligomeri sa SDS-stabilnim supstrukturama izolirani kao mali dimeri iz mozga oboljelih od AD ometaju sinaptičku elektrofiziologiju (Klyubin i sur., 2008). Istraživanja su potvrdila da su topivi oligomeri biološki aktivni i da mogu uzrokovati smrt stanice pod određenim uvjetima no još nije precizno definiran način na koji do toga dolazi. Formiranje topivih oligomera i formiranje fibrila iz amiloida β se ne odvija istim putem, iako mehanistički oba procesa moraju proći multimerne stadije. Budući da su koncentracije amiloida β u intersticijskoj tekućini mozga najmanje tri reda veličine niže od koncentracije potrebne za formaciju fibrila vrlo je vjerojatno da se formacija fibrila nukleira u izvanstaničnom matriksu ili na površini stanica. Produljivanje ovako stvorenih fibrila je linerano ovisno o koncentraciji amiloid β monomera te je sam proces produljenja fibrila reverzibilan, pa se tako njegovim skraćivanjem oslobađaju amiloid β monomeri, i jako brz. Nisu svi bazeni amiloida β u ljudskom mozgu dostupni za sudjelovanje u ovoj brznoj razmjeni monomera no što uvjetuje njihovo sudjelovanje u ovom patološkom procesu nije poznato.

3.3. Amiloid kaskadna teorija

Takozvana “kolinergička hipoteza AD” dominira krajem sedamdesetih i početkom osamdesetih godina 19.-og stoljeća, a nasljeđuje je krajem osamdesetih “hipoteza kalcija”. Nakon otkrića da su cerebrovaskularni amiloid i neuralni plakovi sačinjeni od amiloida β , ne samo kod AD već i kod Downovog sindroma, te da je V717I besmisljena mutacija u APP-u na 21-om kromosomu vezana uz ranu manifestaciju autosomno dominantne obiteljske AD, Hardy i suradnici su predložili “amiloid kaskadnu teoriju” koja je zauzela primat (Hardy i sur., 1991). Prema amiloidnoj teoriji prekomjerna proizvodnja amiloida β putem serijskog cijepanja APP-a od strane β i γ -sekretaze je ključni patološki događaj koji djeluje kao generator ostalih patoloških promjena (astrocitoza, mikroglijalna aktivacija, neuralna smrt, gubitak sinapsi, razvoj neuralnih fibrila i demencija).



Slika 2. Shematski prikaz medijalnog presjeka mozga s označenim regijama u kojima dolazi do pojave β -amiloidnih plakova. Prvo je to područje neokorteksa, zatim alokorteksa i konačno subkortikalnih regija. Preuzeto iz *Chengxuan Q. i sur., 2009; Epidemiology of Alzheimer's disease: occurrence, determinants, and strategies toward intervention.*

1987. godine Goldgaber i sur. su izolirali APP i lokalizirali njegov gen na 21.kromosomu. Prva otkrivena mutacija APP je bila transverzija G u C kodona 693 koja nije bila povezana s razvojem AD već s nasljednom cerebralnom hemoragijom s amiloidozom (Levy i sur., 1990). Zanimljivo je da od ukupno četiri druge poznate mutacije unutar amiloid β dijela APP-a (egzoni 16 i 17) čak dvije uzrokuju kobna krvarenja zbog amiloidne angiopatije dok samo rijetke "Artic" (APPE693G) i "Osaka" (APPE693 Δ) mutacije uzrokuju rani razvoj AD. Poznato je da postoje brojne obitelji u kojima dolazi do ranog razvoja AD koje se ne može objasniti mutacijama u APP već do razvoja AD kod njih dolazi zbog mutacija unutar presenilin-1 gena na kromosomu 14 (Sherrington i sur., 1995) kao i njegovom homologu presenilin-2 na 10-om kromosomu (Levy-Lahad i sur., 1995). Ove mutacije na presenilin genima su u skladu s amiloidnom teorijom no i dalje ne objašnjavaju patogenezu same AD.

4. TAU PROTEIN

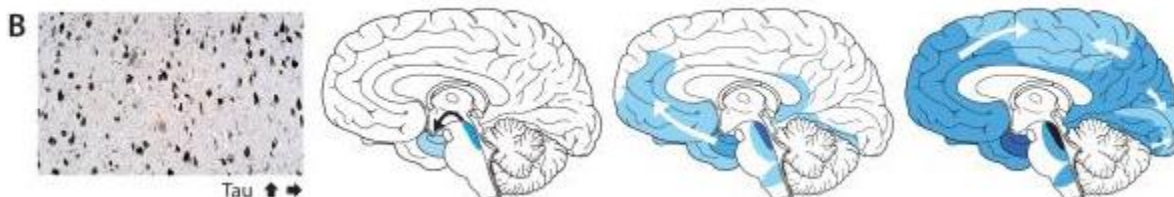
Tau je protein vezan za mikrotubule (MAP) koji je kodiran MAPT genima. Protein sadrži aminoterminalnu domenu, regiju bogatu prolinom, karboksiterminalnu domenu s ponavljanjima na koja se vežu mikrotubuli i kratku repnu sekvencu. Tau interagira s brojnim proteinima, konkretno s heterodimerima α - i β -tubulina, čime sudjeluje u formaciji mikrotubula i regulira aksonalni transport.

4.1. Funkcija i formiranje tau proteina

Tau protein je najekspresiraniji u aksonima neurona središnjeg živčanog sustava, ali se također može pronaći i u somatodendritičkom odjeljku neurona, oligodendrocita i neuralnih tkiva. Vjerojatno najvažnija njegova uloga je ona u formiranju i stabilnosti mikrotubula iako tu funkciju obavljaju i brojni drugi MAP proteini (posebno MAP18), budući da su tau knockout miševi vijabilni, fertilni i bez znakova neurodegeneracije. Također, utišavanje tau proteina sa *silencing* RNA (siRNA) ne ubija neurone u primarnim kulturama niti sprječava stvaranje aksona (Qiang, 2006).

Najčešće post-translacijske modifikacije tau proteina su fosforilacija i O-glikozilacija. Fosforilacija mijenja oblik tau molekule i dovodi do promjene njegove biološke aktivnosti. Većina mjesta za fosforilaciju su na Serin-Prolin (Ser-Pro) i Treonin-Prolin (Thr-Pro) motivima. Mnoge terapijske strategije protiv neurodegeneracije su usmjerene upravo na moduliranje fosforilacije tau proteina, obzirom da su njegovi oblici koje nalazimo u intracelularnim neuralnim fibrilima oboljelih od AD hiperfosforilirani. O-glikozilacija je karakterizirana dodavanjem O-vezanog N-acetilglukozamina (O-GlcNAc) na Ser ili Thr ostacima u blizini Pro ostataka. Pretpostavlja se da glikozilacija može imati ulogu u subcelularnoj lokalizaciji i degradaciji tau proteina (Šimić i sur., 2003). Nedavno je otkriveno da se tau također modificira acetiliranjem no za sada nema dovoljno saznanja o fiziološkim i patološkim posljedicama tau acetilacije (Kingwell i sur., 2015). Tau protein se može podijeliti u dvije glavne funkcionalne domene; osnovnu mikrotubul veznu domenu prema C-terminusu i kiselu projekcijsku domenu

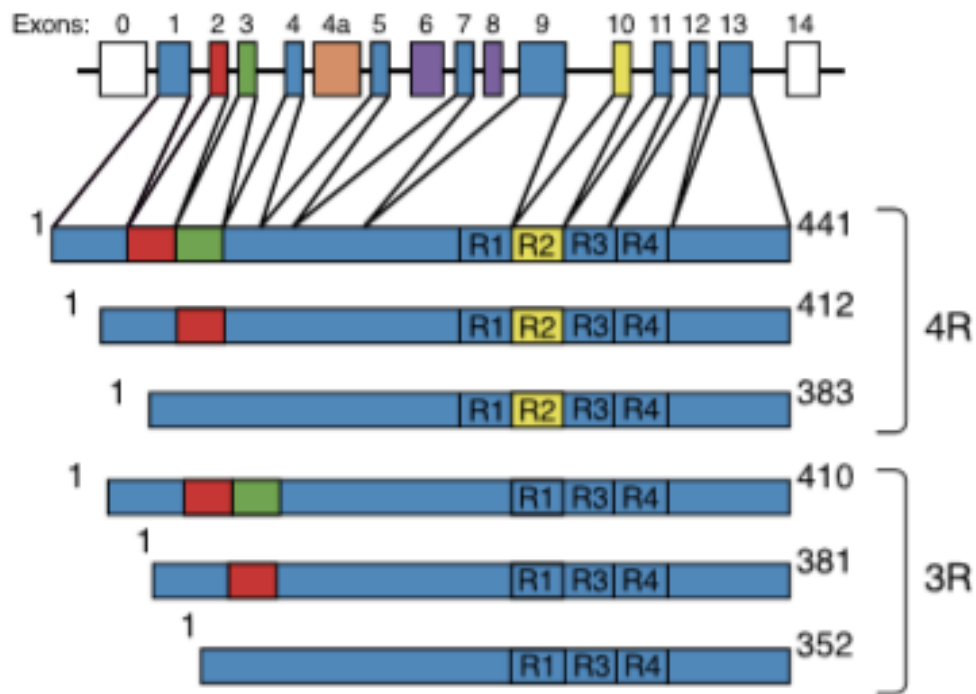
glikozaminoglikana, rezultira formiranjem filamenata. Ovako formirane filamente prepoznaju protutijela usmjerena na N i C-terminalnu domenu tau proteina no ne i ona usmjerena na mikrotubul vezujuću domenu, što je u skladu s filamentima izoliranim iz mozga oboljelog od AD i drugih Tauopatija (Hasegawa i sur., 1997).



Slika 4. Shematski prikaz medijalnog presjeka mozga s plavo označenim regijama u kojima dolazi do formiranja tau fibrila. To se prvo događa u locusu coeruleusu i transentorinalnom korteksu te se širi do amigdale i neokortikalnih regija mozga. Preuzeto iz *Chengxuan Q. i sur., 2009; Epidemiology of Alzheimer's disease: occurrence, determinants, and strategies toward intervention.*

4.2. Tau izoforme u centralnom živčanom sustavu

U odraslom ljudskom mozgu je eksprimirano šest izoformi tau proteina koje se sastoje od 352 do 441 aminokiseline, a proizvode se alternativnim prekrajanjem transkripata MAPT gena. Šest izoformi se razlikuju po prisutnosti ili odsutnosti umetaka od 29, odnosno 58 aminokiselina na N-terminusu (29-N1 i 58-N2) i prisutnosti ili odsutnosti 31 aminokiseline na C-terminusu kodirane egzonom 10 MAPT gena. Uključivanje egzona 10 rezultira proizvodnjom tri tau izoforme sa četiri ponavljanja (4R), a njegovim isključivanjem tri izoforme s tri ponavljanja (3R) konzerviranog tubulin vezujućeg motiva. Postoji još jedan veći transkript koji kodira za protein od 110 kDa koji ima dodatne 254 aminokiseline na N-terminusu, no ekspresija ovog proteina je ograničena na periferni živčani sustav. Najznačajnija ekspresija tau proteina je zabilježena tijekom fetalnog razvoja kada se eksprimira samo najkraća (takozvana fetalna tau) izoforma (N0R3 s 352 aminokiseline i molekulskom masom od 45 kDa). U odraslom ljudskom mozgu su eksprimirane sve izoforme tau proteina pri čemu je omjer R4 naprema R3 izoformi jednak 1 (Goedert i sur., 1990). Relativne količine N0, N1 i N2 izoformi su redom 37%, 54% i 9%.



Slika 5. Izoforme tau proteina u odraslom ljudskom mozgu. Preuzeto iz *Goedert M., Grazia Spillantini M., 2017; Propagation of Tau aggregates.*

U mozgu odraslih pilića nalazimo 3R, 4R i 5R izoforme, dok se u mozgu odraslih glodavaca može naći samo 4R izoforma tau proteina (Yoshida, 2012). Ono što je konzervirano među vrstama je ekspresija hiperfosforilirane 3R tau izoforme bez aminoterminalnih umetaka prilikom razvoja kralježnice. Slična ponavljanja prisutna u tau proteinu nalazimo i u mikrotubul vezujućim proteinima velike molekulske mase MAP2 i MAP4.

Upareni helikalni filamenti su sastavljeni od svih šest tau izoformi no nisu sve u hiperfosforiliranom stanju kako se prije smatralo već je prisutnost fosforiliranog tau u filamentima ograničena na vanjski zaštitni omotač, čineći tako jednu od sedam tau molekula u filamentu fosforiliranom (Wischnik i sur., 1997).

4.3. Mutacije u MAPT genima i povezane Tauopatije

Veza između disfunkcije tau proteina i neurodegeneracije je uspostavljena preko genetike. 1988. godine su zabilježene dominantne mutacije MAPT gena koje dovode do frontotemporalne demencije i parkinsonizma povezanog s kromosomom 17q21-22 (Poorkaj, 1998). Do početka 2017. godine je identificirano pedeset devet patogenih MAPT mutacija. Najčešći simptomi su poremećaji u ponašanju no mogu se javiti i problemi s govorom, kao i znakovi parkinsonizma. MAPT mutacije su uvijek povezane s obilnom količinom tau inkluzija u živčanim i glija stanicama. Mutacije su koncentrirane u egzonima 9-12 te intronima koji graniče s egzonom 10, a možemo ih podijeliti na one koje imaju primaran učinak na razini proteina ili one koje djeluju na alternativno prekrajanje tau premRNA. Mutacije koje djeluju na razini proteina mijenjaju ili uklanjaju pojedinačne aminokiseline, čime se smanjuje sposobnost tau da stupi u interakciju s mikrotubulima. Neke mutacije potiču skupljanje tau u filamente, što također negativno regulira njegovu interakciju s mikrotubulima. Mutacije s primarnim učinkom na razini RNA utječu na odnos 3R i 4R izoformi, što rezultira relativnom prekomjernom proizvodnjom 4R tau izoformi, i njihovom sastavljanju u filamente (McMillan i sur., 2008).

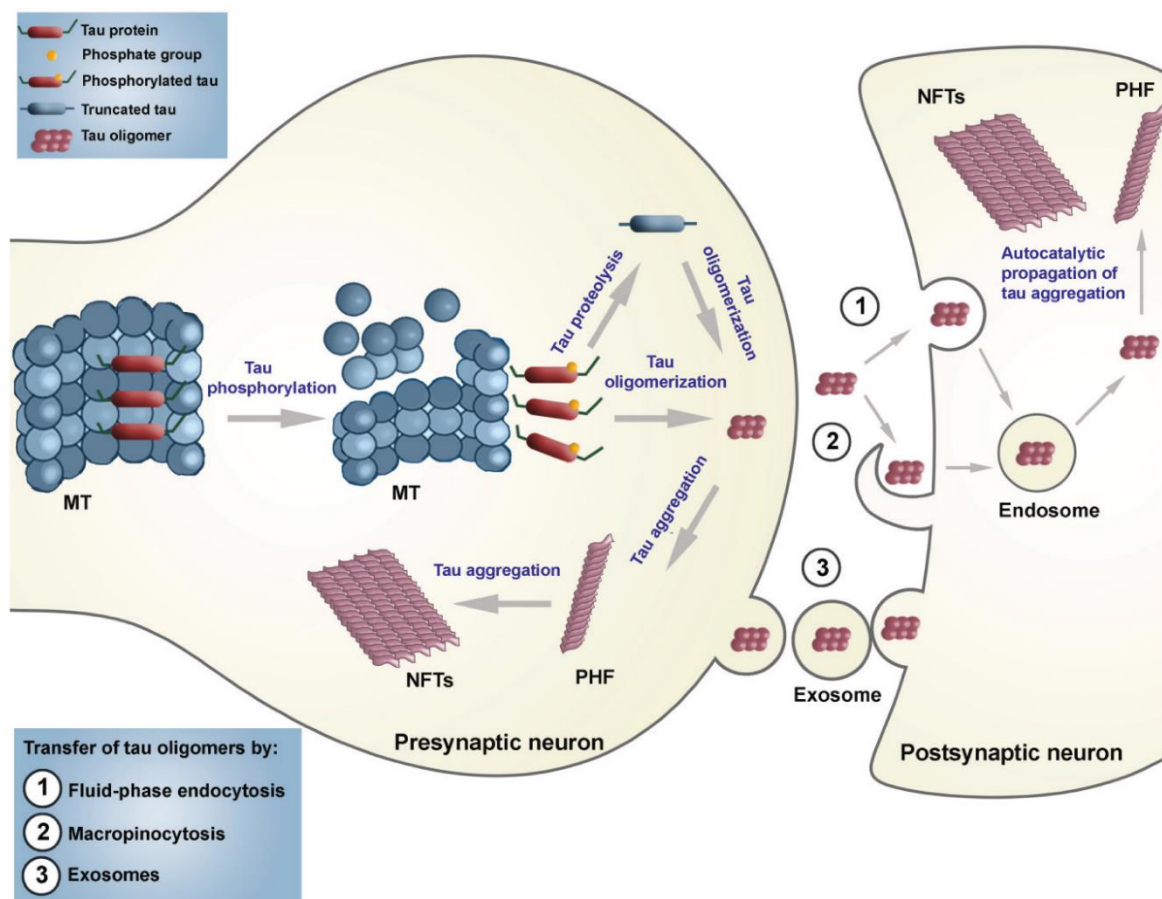
Hiperfosforilacija tau proteina je zajednička karakteristika frontotemporalne demencije, progresivne supranuklearne paralize i AD, no za razliku od AD ovim bolestima nedostaje patologija amiloida β . Različite mutacije u MAPT genima dovode do različitih oblika tau proteina i njegove agregacije u filamente karakteristične za spektar tauopatija. Važnost otkrića ovih mutacija je u tome što dokazuju da molekularna tau patologija može dovesti do neurodegeneracije i u odsutnosti amiloida β te da je tau ključna patološka komponenta (od normalnog, topivog tau do abnormalnog, filamentoznog koji uzrokuje neurodegeneraciju i demenciju) brojnih neurodegenerativnih stanja i poremećaja. Zašto su određeni neuroni osjetljivi na tau agregaciju još nije poznato stoga se u svrhu istraživanja sve više uzgajaju transgenične životinje i stanične linije koje služe za modeliranje učinaka bolesti povezanih s mutacijama MAPT gena. Razinu biokemijske raznolikosti i složenosti tau patologije možemo zaključiti iz činjenice da ista mutacija (npr. TAU P301L) može dovesti do kortikobazalne degeneracije ili do frontotemporalne demencije i parkinsonizma vezanog uz kromosom 17 (Wszolek i sur., 2006).

4.4. Patologija i širenje tau proteina

Krajem 20. stoljeća značaj tau patologije za neurodegenerativne bolesti, posebice AD, je bio u sjeni amiloidne teorije. Međutim, pokazalo se da raspodjela i ukupna količina amiloida β ima ograničen značaj za patološko određivanje progresije AD i ozbiljnost njenih simptoma stoga su Braak i Braak (1994) predložili neuropatološko stupnjevanje postupnog taloženja abnormalnog tau proteina u obliku neurofilamenata ili niti. U početku se koristilo klasično bojanje srebrom za detekciju filamenata i niti, a kasnije i imunohistokemijsko bojanje hiperfosforiliranog tau pomoću antitijela AT8 (Braak i sur., 2006). Ovim istraživanjima utvrđeno je da neurofilamenti pokazuju bolju povezanost s kognitivnim oštećenjima, čime je uviđen značaj tau patologije u AD. Braakov sustav stupnjevanja je klasificirao topografsku progresiju neurofibrilarne degradacije u AD kroz šest stupnjeva. Početne faze I i II (koje klinički koreliraju sa subjektivnim ili objektivnim oštećenjem memorije za nedavne događaje i blagu prostornu dezorijentaciju) obuhvaćaju širenje neurofilamentoznih tvorbi od transentorinalne regije do hipokampusa. Zatim se one šire na područje temporalnog, parijetalnog i frontalnog neokorteksa, a to čini međufaze III i IV (koje klinički koreliraju s težom dezorijentacijom u vremenu i prostoru, oslabljenom koncentracijom, te teškoćama u govoru). Konačno, u fazama V i VI (koje klinički koreliraju s poremećajem percepcije i motornih vještina) neurofilamenti se mogu naći i u primarnim senzornim i motoričkim područjima neokorteksa. Međutim još nije poznato koja forma tau proteina je najtoksičnija, je li to agregirana filamentozna ili hiperfosforilirana topiva ili su pak obe. Budući da postoji mali broj dokaza o toksičnosti tau fibrila sve više se smatra da je topivi oligomerni oblik tau proteina onaj koji je toksičan za neuralnu i sinaptičku funkciju. Formiranje neurofilamenata može čak akutno zaštititi neurone od toksičnog djelovanja tau oligomera (Kopeikina i sur., 2012).

Tau može biti izravno uključen u širenje patologije AD na susjedne neurone. Formiranje tau proteina slijedi mehanizam nukleacije-elongacije, gdje se nukleacija može eksperimentalno zaobići dodatkom vanjskih sjemenki preformiranih tau filamenata. Ovakvi mehanizmi širenja, nalik onima širenja priona, su prvi put predloženi 2009-e, te se od tada prikupljaju dokazi koji podupiru hipotezu da tau filamenti, kada se dodaju izvanstanično, mogu djelovati kao sjemenke za formiranje agregata i njihovo širenje na susjedne stanice. Budući da je tau unutarstanični protein za njegovu propagaciju je potrebna sjemenka, kao i uzimanje i otpuštanje agregata iz

stanice. Iako stanice mogu propustiti monomerni oblik tau proteina, on vjerojatno nema mogućnost djelovati kao sjeme za daljnju agregaciju. Također 4R tau izoforma se ne može agregirati ako joj nedostaju aminokiseline na pozicijama 275-280 i 306-311 (Falcon i sur., 2015). Stoga inhibitori tau agregacije mogu efikasno smanjiti njegovo “prion-like” širenje i time usporiti progresiju bolesti.

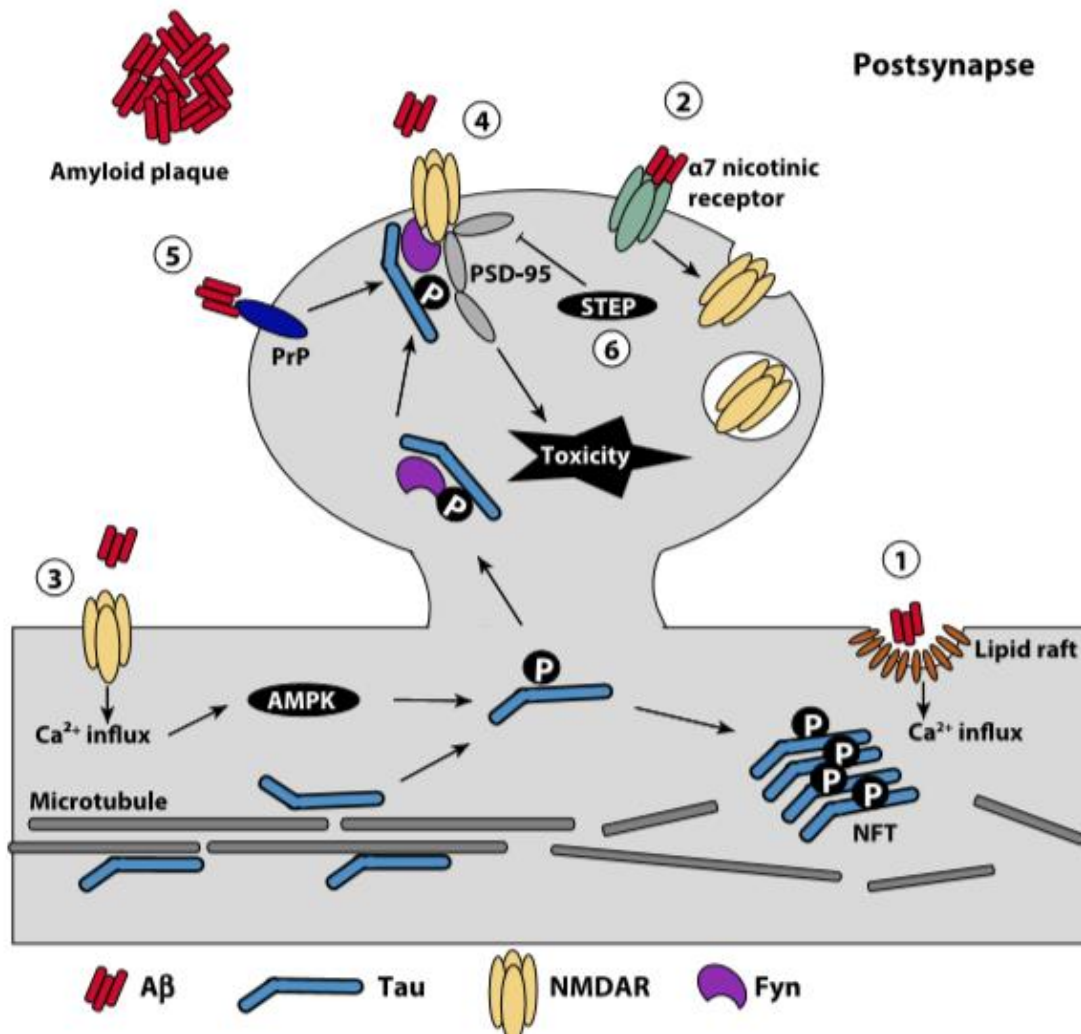


Slika 6. Shematski prikaz anterogradnog širenja tau agregata endocitozom, makropinocitozom i egzozomima. Preuzeto iz Šimić G. i sur., 2016; *Tau protein hyperfosforilacija i agregacija u Alzheimerovoj bolesti i drugim tauopatijama, i moguće neuroprotektivne strategije.*

Uzimanje agregiranog tau proteina u stanicu ovisi o heparansulfat proteoglikanima na njenoj površini i može se dogoditi makropinocitozom, barem kod stanica u kulturi. Ovi agregati, koji djeluju kao sjemenke, bježe od endosomnih vezikula i induciraju formiranje citoplazmatskog tau proteina. Nakon njegove formacije tau agregati se oslobađaju iz stanice. Mehanizmi ovog otpuštanja su slabo poznati, no smatra se da se tau agregati anterogradno šire endocitozom, makropinocitozom i putem egzosoma. U slučaju topivih monomernih ili malih oligomernih tau proteina endocitoza je ovisna o klatrinu (Rubinsztein, 2006). Suprotno tome veći tau agregati mogu vezati heparin u ekstracelularnom matriksu i biti internalizirani makropinocitozom (Holmes i sur., 2014). Kao rezultat egzo- i endocitoze dolazi do širenja tau proteina u mnogim neurodegenerativnim bolestima uključujući i AD. Dodatno neke mikroglialne stanice mogu olakšati propagaciju tau proteina njegovim fagocitiranjem (Asai i sur., 2015). Pretpostavlja se da bi se unutarstanični tau mogao prenijeti između stanica i kroz tunnelske nanocjevčice koje ih povezuju. Alternativno bi se mogao otpustiti iz stanice u izvanstanični prostor unutar vezikula. Oblici tau proteina koji djeluju kao sjemenke ne moraju biti fosforilirani, iako induciraju formaciju agregata u kojima je tau hiperfosforiliran (Falcon i sur., 2015). Nakupine tau proteina se mogu povećavati ugradnjom nefosforiliranog tau, koji zatim prolazi konformacijsku promjenu i postaje hiperfosforiliran.

5. SINERGISTIČKO DJELOVANJE AMILOIDA β I TAU

Amiloid β i tau ne djeluju izolirano jedan od drugog, već postoji značajno međudjelovanje ovih dviju molekula. Prvotno je tau bio postavljen nizvodno od amiloida β u patokaskadi, no ova hijerarhija je opovrgnuta nakon saznanja da redukcija endogene razine tau proteina kod APP transgeničnih miševa revertira sposobnost pamćenja i smanjuje ranu smrtnost oboljelih od AD, bez promjene u količini amiloidnih plakova. Još jedan dokaz o ključnoj ulozi tau proteina u sinaptotoksičnosti je došao nakon što je u APP transgenične miševe injektiran humani tau što je dovelo do njegove ubrzane agregacije i gubitka kognitivnih sposobnosti (Chabrier, 2014). Tau ima ključnu ulogu u usmjeravanju src-kinaze Fyn prema dendritičkim spinama gdje ona fosforilira N-metil-D-aspartat receptore (NMDAR) koji pak aktiviraju PSD-95 protein u kompleks koji posreduje citotoksičnost. Kod povišene količine amiloida β (kod APP mutiranih miševa) NMDAR receptori su prekomjerno aktivirani, bilo izravnim ili neizravnim vezanjem, te uzrokuju nizvodnu toksičnost. Kada povišenu koncentraciju amiloida β prati i povišena koncentracija fosforiliranog tau više Fyn se usmjerava, povećavajući toksične učinke amiloida β (Ittner i sur., 2010). Vezanje Fyn na tau protein je posredovano dvama domenama, SH2 domenom koja se veže preko fosforiliranog Tyr18 i SH3 domenom koja se veže na niz PXXP motiva u projekcijskoj domeni tau proteina. Potpuno isključenje Fyn iz dendrita transgeničnih miševa kojima u potpunosti nedostaje tau ili eksprimiraju samo njegovu projekcijsku domenu (Δ tau) otklanja citotoksičnost amiloida β . Budući da ovi miševi pokazuju smanjenu razinu postsinaptičke Fyn i smanjenu fosforilaciju NMDAR receptora, što olakšava njegovu interakciju s PSD-95 proteinskim kompleksom, smatra se da tau stabilizira ovaj kompleks i povećava amiloid β induciranu toksičnost u sinapsi preko NMDAR receptora. Također povišena međustanična koncentracija kalcijevih iona inducirana pretjeranom ekscitacijom NMDAR receptora, koju pak uzrokuje povišena koncentracija amiloida β , aktivira AMPK i PAR-1 / MARK kinaze koje zatim fosforiliraju tau protein. U prisutnosti amiloid β oligomera AMPK kinaza fosforilira tau na epitopu Ser422, koji je normalno fosforiliran tek u kasnim stadijima bolesti (Grueninger i sur., 2010). Kako bolest napreduje amiloid β aktivira Fyn fosfatazu koja inaktivira Fyn što rezultira sinaptičkim gubitkom i kolapsom dendritičkih trnova (Mairet-Coello i sur., 2013). Iz ovih saznanja možemo zaključiti da amiloid β djeluje kao okidač patogeneze AD, dok tau djeluje kao njezin izvršitelj.

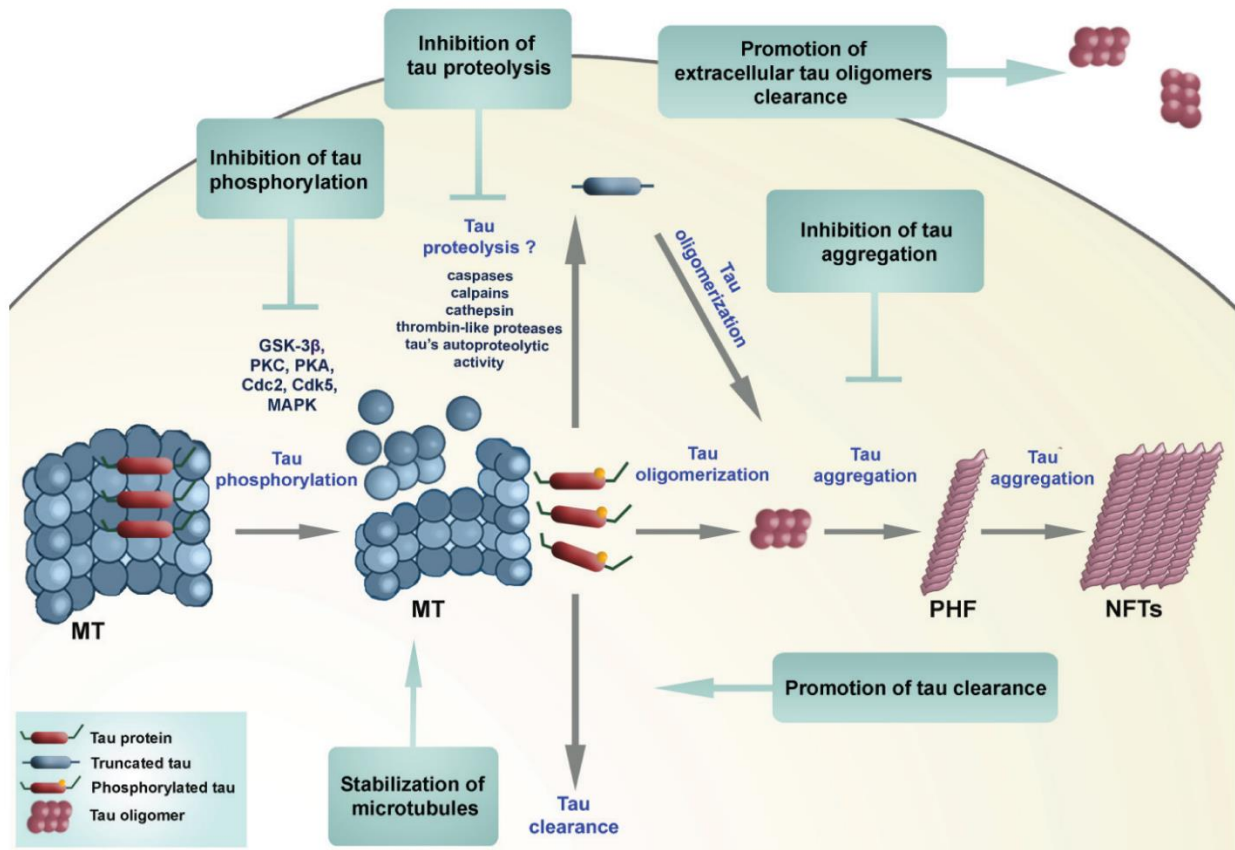


Slika 7. Shematski prikaz predloženog mehanizma međudjelovanja amiloida β i tau proteina u sinapsi. Preuzeto iz Nisbet R.M i sur., 2015; *Tau aggregation and its interplay with amyloid- β .*

6. TERAPEUTSKE STRATEGIJE AD

Predložene su brojne neuroprotektivne strategije usmjerene na procesiranje tau proteina u tauopatijama.

- (1) Djelovanje mikrotubul stabilizirajućim agensima, koji ne utječu izravno na akumulaciju tau agregata
- (2) Moduliranje tau fosforilacije čime se sprječava motoričko oštećenje u tau transgeničnim miševima (pokazalo se da zelena kava, inhibitor proteinske fosfataze 2A metilesteraze, poboljšava kognitivne i motoričke sposobnosti u mišjim modelima s tau patologijom)
- (3) Drugi pristup se ne oslanja na fosforilacijsku teoriju tau patologije već se bazira na selektivnoj inhibiciji njegove agregacije. Problem ove metode je odabir prikladnih inhibitora agregacije, budući da se većina testova tau agregacije bazira na formiranju fibrila što zahtjeva relativno visoku koncentraciju tau proteina. U ovakvim testovima formacija fibrila se mjeri pomakom fluorescencije reporter boje interkalirane u beta ploče tau fibrila.
- (4) Pristup koji mnogo obećava je onaj koji cilja tau oligomere, bili oni unutar ili izvanstanični. Pokazano je da su *in vitro* pročišćeni tau oligomeri neurotoksični. Budući da su u AD intracelularne razine tau proteina više od četiri reda veličine više od onih ekstracelularnih, one predstavljaju prihvatljiviji farmakološki cilj.
- (5) Moguće je djelovati i na uklanjanje tau proteina, npr. rampamicinom koji inducira makroautofagiju (Berger i sur., 2006) ili nekom drugom imunoterapijskom metodom.
- (6) Izravno djelovanje na tau proteolizu. Enzimi uključeni u istu su kaspaze, kalpaini, katepsini i proteaze sličnu trombinu. Glavna prednost ciljanja tau proteolize je ta što je jednostavnije inhibirati enzimski mehanizam proteolize od onog agregacije. Moguće je i da inhibicija skraćivanja može spriječiti stvaranje fragmenata sklonih agregaciji, kao i spriječiti trans-sinaptičko / egzosomalno širenje tau patologije.



Slika 8. Dijagram koji pokazuje potencijalne neuroprotektivne strategije koje reduciraju formaciju tau agregata. Preuzeto iz Šimić G. i sur., 2016; *Tau protein hyperfosforilation and aggregation in Alzheimer's disease and other Tauopathies, and possible neuroprotective strategies.*

U početku su sve terapijske intervencije bile usmjerene na ciljanje amiloida β . Iako su prekliničke studije pokazale vrlo uzbudljive rezultate, klinička ispitivanja nisu spriječila napredovanje kognitivnog deficita. Stoga se smatra da amiloid β inicira kaskadu događaja koji u određenoj fazi postaju nepovratni, čime uklanjanje samog amiloida β prestaje biti učinkovito za sprečavanje kognitivnog propadanja.

Nedavno su dva lijeka usmjerena na blokiranje tau fosforilacije doživjela neuspjeh u fazi II kliničke studije. To je navelo Wischika i sur. (2014) na proizvodnju lijeka kojem cilj nije blokada fosforilacije već agregacije tau proteina. Trenutno je tau agregacijski inhibitor LMTX (leukometiltionin sa prikladnim protuionom) u fazi III kliničkih ispitivanja te se čekaju njegovi ishodi (Baddeley i sur., 2015).

7. SAŽETAK

Alzheimerova bolest je kronična neurodegenerativna bolest s dobro definiranim patofiziološkim mehanizmima koji najčešće utječu na područja medijalnog temporalnog režnja i susjedne neokortikalne strukture. Ekstracelularni neuralni plakovi i inercelularni fibrili su najpoznatije patološke značajke Alzheimerove bolesti, a nastaju zbog akumulacije amiloid β peptida i citoskeletnih promjena koje proizlaze iz hiperfosforilacije i agregacije mikrotubul vezujućeg tau proteina. Nakon originalno uspostavljene amiloidne teroije prema kojoj je amiloid β bio glavni nositelj patologije AD istraživanjima je utvrđeno da tau protein svojom agregacijom u oligomere i fibrile uvelike doprinosi progresiji same bolesti. Unatoč brojnim istraživanjima patologije AD i dalje ostaje nepoznato zašto razvoj bolesti traje desetljećima prije pojave prvih simptoma, no smatra se da bi tome mogao biti razlog smanjena sposobnost uklanjanja pogrešno smotanih, oligomernih i agregiranih oblika tau proteina koji se nakupljaju starenjem. Nakon neuspješnih terapijskih intervencija usmjerenih na amiloid β noviji lijekovi za cilj imaju fosforilaciju i agregaciju tau proteina, te se još čekaju ishodi njihovih kliničkih studija. Također od velike važnosti za projektiranje novih terapeutika je i točno razumijevanje mehanizama kojima se toksični tau oligomeri šire kroz sinapsu.

8. SUMMARY

Alzheimer's disease is a chronic neurodegenerative disease with well-defined pathophysiological mechanisms that most often affect the medial temporal lobe and adjacent neocortical structures. Extracellular neural plaques and intercellular fibrils are most common pathological features of Alzheimer's disease, resulting from the accumulation of amyloid β peptides and cytoskeletal changes resulting from hyperphosphorylation and aggregation of microtubule binding tau protein. After the originally established amyloid theory according to which amyloid β was the main bearer of AD pathology, was found that tau protein by its aggregation into oligomers and fibrils greatly contributes to the progression of the disease as well. Despite the numerous studies of AD pathology, it remains unknown why the development of the disease lasts decades before the appearance of the first symptoms, but it is considered that the reason could be diminished ability to remove misfolded, oligomeric and aggregated forms of protein, which accumulate with age. Following unsuccessful therapeutic interventions that target amyloid β , new drugs are aiming at phosphorylation and aggregation of tau protein but we are still awaiting the outcomes of their clinical studies. In addition, the accurate understanding of the mechanisms by which the toxic tau oligomers are spread through the synapse is of great importance for the design of new therapies.

9. LITERATURA

1. Asai H.; Ikezu S.; Tsunoda S.; Medalla M.; Luebke J.; Haydar T.; Wolozin B.; Butovsky O.; Kügler S.; Ikezu T. Depletion of microglia and inhibition of exosome synthesis halt tau propagation. *Nat. Neurosci.* 2015;18:1584–1593.
2. Baddeley T.; McCaffrey J.; Storey J.; Cheung J.; Melis V.; Horsley D.; Harrington C.; Wischik C. Complex disposition of methylthioninium redox forms determines efficacy in tau aggregation inhibitor therapy for Alzheimer's disease. *J.Pharmacol. Exp. Ther.* 2015;352:110–118.
3. Bitan G.; Kirkitadze M.; Lomakin A.; Vollers S.; Benedek G.; Teplow D. Amyloid beta-protein (A β) assembly: A β 40 and A β 42 oligomerize through distinct pathways. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2003;100:330–335.
4. Braak, H.; Braak, E.; Strothjohann, M. Abnormally phosphorylated tau protein related to the formation of neurofibrillary tangles and neuropil threads in the cerebral cortex of sheep and goat. *Neurosci. Lett.* 1994;171:1–4.
5. Buchman A.; Wilson R.; Bienias J.; Shah R.; Evans D.; Bennet A. Change in body mass index and risk of incident Alzheimer disease. *Neurology* 2005;65(6):531.
6. Chabrier M.; Cheng D.; Castello N.; Green K.; LaFerla F. Synergistic effects of amyloid-beta and wild-type human tau on dendritic spine loss in a floxed double transgenic model of Alzheimer's disease. *Neurobiol. Dis.* 2014;64:107–117.
7. Deane R.; Du Yan S.; Subramanian R. et al. RAGE mediates amyloid-beta peptide transport across the blood-brain barrier and accumulation in brain. *Nat. Med.* 2003;9:907–913.
8. Duering M.; Grimm M.; Grimm H.; Schroder J.; Hartmann T. Mean age of onset in familial Alzheimer's disease is determined by amyloid beta 42. *Neurobiol. Aging.* 2005;26:785–788.
9. Epis R.; Marcello E.; Gardoni F.; Di Luca M. Alpha beta and gamma-secretases in Alzheimer's disease. *Front. Biosci. (Schol Ed)* 2012;4:1126–1150.
10. Goedert M.; Spillantini M. Propagation of Tau aggregates. *Mol. Brain.* 2017;10(1):18
11. Goedert, M.; Wischik, C.; Crowther, R.; Walker, J.; Klug, A. Cloning and sequencing of the cDNA encoding a core protein of the paired helical filament of Alzheimer disease:

- Identification as the microtubule-associated protein tau. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1988;85:4051–4055.
12. Grueninger F.; Bohrmann B.; Czech C.; Ballard T.; Frey J.; Weidensteiner C.; von Kienlin M.; Ozmen L. Phosphorylation of Tau at S422 is enhanced by Abeta in TauPS2APP triple transgenic mice. *Neurobiol. Dis.* 2010;37(2):294–306.
 13. Guerrero-Munoz M.; Gerson J.; Castillo-Carranza D. Tau oligomers: The toxic player at synapses in Alzheimer's disease. *Front Cell Neurosci.* 2015;9:464.
 14. Hardy, J.; Allsop, D. Amyloid deposition as the central event in the aetiology of Alzheimer's disease. *Trends Pharmacol. Sci.* 1991;12:383–388.
 15. Hasegawa M.; Crowther R.; Jakes R.; Goedert M. Alzheimer-like changes in microtubule-associated protein Tau induced by sulfated glycosaminoglycans. Inhibition of microtubule binding, stimulation of phosphorylation, and filament assembly depend on the degree of sulfation. *J. Biol. Chem.* 1997;272(52):33118-24.
 16. Holmes B.; Furman J.; Mahan T.; Yamasaki T.; Mirbaha H.; Eades W.; Belaygorod L.; Cairns N.; Holtzman D.; Diamond M. Proteopathic tau seeding predicts tauopathy in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2014;111:E4376–E4385.
 17. Iqbal K.; Liu F.; Gong C.; Grundke-Iqbal I. Tau in Alzheimers disease and related tauopathies. *Curr. Alzheimer Res.* 2010;7(8):656–664.
 18. Iwata N.; Tsubuki S.; Takaki Y et al. Identification of the major A β 1-42-degrading catabolic pathway in brain parenchyma: suppression leads to biochemical and pathological deposition. *Nat. Med.* 2000;6:143–150.
 19. Kingwell K. Neurodegenerative disease: Targeting tau acetylation attenuates neurodegeneration. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2015;14:748–749.
 20. Klyubin I.; Betts V.; Welzel A. et al. Amyloid beta protein dimer-containing human CSF disrupts synaptic plasticity: prevention by systemic passive immunization. *J Neurosci.* 2008;28:4231–4237.
 21. Kopeikina, K.; Hyman, B.; Spires-Jones, T. Soluble forms of tau are toxic in Alzheimer's disease. *Transl. Neurosci.* 2012;3:223–233.
 22. Lasagna-Reeves C.; Castillo-Carranza D.; Sengupta U. et al. Alzheimer brain-derived tau oligomers propagate pathology from endogenous tau. *Scientific Reports* 2012;700(2):321.

23. Levy, E.; Carman, M.; Fernandez-Madrid, I. Mutation of the Alzheimer's disease amyloid gene in hereditary cerebral hemorrhage, Dutch type. *Science* 1990;248:1124–1126.
24. Levy-Lahad, E.; Wasco, W.; Poorkaj, P.; Romano, D.M.; Oshima, J.; Pettingell, W.H.; Yu, C.E.; Jondro, P.D.; Schmidt, S.D.; Wang, K.; et al. Candidate gene for the chromosome 1 familial Alzheimer's disease locus. *Science* 1995;269:973–977.
25. Mairet-Coello G.; Courchet J.; Pieraut S.; Courchet V.; Maximov A.; Polleux F. The CAMKK2-AMPK kinase pathway mediates the synaptotoxic effects of Abeta oligomers through Tau phosphorylation. *Neuron* 2013;78(1):94–108.
26. McMillan P.; Korvatska E.; Poorkaj P. Tau isoform regulation is region and cell-specific in mouse brain. *J. Comp. Neurol.* 2008;511(6):788–803.
27. O'Brien J.; Markus H. Vascular risk factors and Alzheimer's disease. *BMC medicine* 2014;12:218.
28. Poorkaj P.; Muma N.; Zhukareva V. et al. An R5L tau mutation in a subject with a progressive supranuclear palsy phenotype. *Ann. Neurol.* 2002;52:511–516.
29. Qiang L.; Yu W.; Andreadis A.; Luo M.; Baas P. Tau protects microtubules in the axon from severing by katanin. *J. Neurosci.* 2006;26:3120–3129.
30. Qiu C.; Kivipelto M.; von Strauss E. Epidemiology of Alzheimer's disease: Occurrence, determinants, and strategies toward intervention. *Dialogues in Clinical Neuroscience* 2009;11(2):111–128.
31. Qiu W.; Folstein M. Insulin, insulin-degrading enzyme and amyloid-beta peptide in Alzheimer's disease: review and hypothesis. *Neurobiol. Aging* 2006;27:190–198.
32. Rebecca M.; Nisbet P.; Ittner L.; Gotz J. Tau aggregation and its interplay with amyloid- β . *Acta Neuroathol.* 2015;129:207-220.
33. Rubinsztein D. The roles of intracellular protein-degradation pathways in neurodegeneration. *Nature* 2006;443:780–786.
34. Sherrington R.; Rogaev E.; Liang Y. et al. Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease. *Nature* 1995;375:754–760.
35. Sowade R.; Jahn T. Seed-induced acceleration of amyloid- β mediated neurotoxicity in vivo. *Nat. Commun.* 2017;8(1):512.
36. Sündermann F.; Fernandez M.; Morgan R. An evolutionary roadmap to the microtubule-associated protein MAP Tau. *BMC Genomics* 2016;17:264.

37. Suzuki N.; Cheung T.; Cai X. et al. An increased percentage of long amyloid beta protein secreted by familial amyloid beta protein precursor (beta APP717) mutants. *Science* 1994;264(5163):1336–1340.
38. Šimić G.; Babić L.; Wray S.; Harrington C. et al. Tau protein hyperphosphorylation and aggregation in Alzheimer's Disease and other tauopathies, and possible neuroprotective strategies. *Biomolecules*. 2016;6:6.
39. Wischik C.; Novak M.; Thogersen H. et al. Isolation of a fragment of tau derived from the core of the paired helical filament of Alzheimer disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1988;85:4506–10.
40. Wolfe M.; Xia W.; Ostaszewski B.; Diehl T.; Kimberly W.; Selkoe D. Two transmembrane aspartates in presenilin-1 required for presenilin endoproteolysis and gamma-secretase activity. *Nature* 1999;398:513–517.
41. Wszolek Z.; Tsuboi Y.; Ghetti B. et al. Frontotemporal dementia and parkinsonism linked to chromosome 17 (FTDP-17). *Orphanet J. Rare Dis*. 2006;1:30.
42. Xu W.; Ferrari C.; Hui-Xin W. *Understanding Alzheimer's Disease* 2013;11:330-356.