



ЛУК'ЯНЕЦЬ

Олена Олександрівна — доктор біологічних наук, професор, завідувач відділу біофізики іонних каналів Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України

ХВОРОБА АЛЬЦГЕЙМЕРА: СУЧАСНІ ГІПОТЕЗИ ПАТОГЕНЕЗУ, ПЕРСПЕКТИВИ РОЗРОБЛЕННЯ НОВІТНІХ МЕТОДІВ РАННЬОЇ ДІАГНОСТИКИ ТА ЛІКУВАННЯ

За матеріалами наукової доповіді на засіданні Президії НАН України 3 березня 2021 року

У доповіді розглянуто різні гіпотези щодо причин виникнення і розвитку хвороби Альцгеймера, проаналізовано сучасний стан і перспективи розроблення новітніх методів ранньої діагностики, створення нових препаратів для ефективного лікування цього нейродегенеративного захворювання. Наведено найважливіші результати, отримані вченими НАН України, щодо вивчення низки фундаментальних питань патогенезу ушкоджень мозку при хворобі Альцгеймера, які сприяли появі нових підходів до лікування цього захворювання.

На сьогодні у світі на хворобу Альцгеймера страждають 26,6 млн осіб, і це число рік від року зростає через старіння населення планети, оскільки захворювання вражає насамперед людей старшого віку. За прогнозами фахівців, очікується, що до 2050 р. кількість людей з хворобою Альцгеймера зросте вчетверо і становитиме 106 млн чоловік, тобто хворітиме один з 85 людей. Всесвітня організація охорони здоров'я щороку публікує список захворювань, що є головними причинами смерті у світі, і у 2020 р. хвороба Альцгеймера вперше в історії потрапила до першої десятки цього рейтингу.

Отже, дослідження, пов'язані з вивченням клітинних та молекулярних механізмів виникнення і розвитку хвороби Альцгеймера, пошуком нових методів діагностики та розробленням новітніх препаратів для ефективного її лікування, є вкрай актуальними, оскільки стосуються здоров'я, якості життя і благополуччя багатьох людей.

Хвороба Альцгеймера є найбільш поширеним різновидом деменції. Загалом деменція — це синдром, при якому деградація когнітивних, тобто розумових, функцій відбувається біль-

шою мірою, ніж це очікується в разі нормального старіння людей одного й того самого віку й рівня освіченості.

Деменція проявляється в поступовому погіршенні пам'яті, мислення, розуміння, мови, здатності орієнтуватися в просторі, рахувати, пізнавати, розмірковувати і часто супроводжується послабленням контролю над емоційним станом, деградацією соціальної поведінки та мотивації. До розвитку деменції призводять різні хвороби і травми, які викликають пошкодження мозку. Однак у понад 60% випадків причиною деменції є хвороба Альцгеймера, тобто цей вид деменції трапляється частіше, ніж усі разом взяті інші форми, такі як деменція з тільцями Леві, васкулярна (судинна) деменція, хвороба Паркінсона, лобово-скронева деменція, змішані форми та ін. (рис. 1).

До характерних ознак хвороби Альцгеймера відносять наявність у структурах мозку сенильних бляшок, які являють собою міжклітинні агрегати білка А β -амілоїду (А β), та внутрішньоклітинних нейрофібрилярних клубків, що утворюються з гіперфосфорильованого тау-білка, пов'язаного з мікротрубочками. Саме ці структури пов'язують зі значною втратою нейронів головного мозку, в результаті чого фіксується зменшення об'єму кори головного мозку. Крім того, при хворобі Альцгеймера спостерігаються порушення роботи мітохондрій, зменшення споживання глюкози головним мозком, що клінічно проявляється як прогресуюче зниження когнітивних функцій.

Хвороба Альцгеймера розвивається ґрадуально (поступово) і пролонговано у часі — триває зазвичай 8–10 років і більше. Основною причиною деградації розумових здібностей людини при цьому захворюванні є поступова загибель нейронів мозку. Першою структурою, з якої розпочинається руйнування мозку, є гіпокамп, що відповідає за здатність до навчання, короткотривалу пам'ять та інші процеси, особливо за перехід від короткотривалої пам'яті в довготривалу. При поступовій загибелі нейронів гіпокампу людині стає все складніше засвоювати нову інформацію, запам'ятовувати події, навіть ті, які сталися, скажімо, дві години тому.

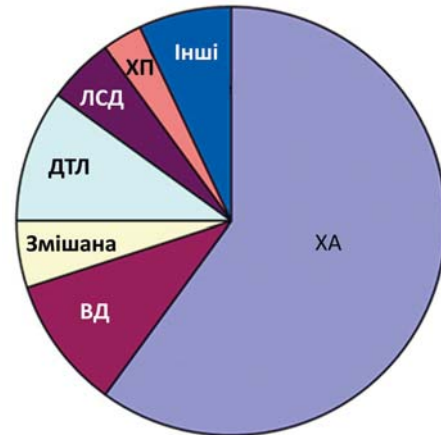


Рис. 1. Частота основних типів когнітивних порушень (деменцій): ХА — хвороба Альцгеймера; ВД — васкулярна деменція; ДТЛ — деменція з тільцями Леві; ЛСД — лобово-скронева деменція; ХП — хвороба Паркінсона

На ранніх стадіях зміни можуть бути практично непомітними, але згодом вони прогресують. Причому загибель нейронів відбувається у певній чіткій послідовності. Так, на наступному етапі деградація нейронів зачіпає зону мозку, яка відповідає за мовлення. Хворий починає відчувати труднощі з добором необхідних слів, формулюванням своїх думок. Далі страждає зона, що відповідає за функції логічного мислення, і людина втрачає здатність висувати концепції, будувати плани, вирішувати конкретні завдання. Наступною стає зона мозку, яка відповідає за формування емоцій. При цьому людина втрачає контроль над своїм емоційним станом, настроєм, почуттями. При подальшому прогресуванні захворювання, коли ураження зазнає сенсорна зона мозку, спотворюються відчуття нюху, слуху, зору, виникають галюцинації. Хворі не здатні усвідомлювати, що вони бачать і чують, не можуть розрізнити запахи, настає відстороненість від зовнішнього світу. На останніх етапах хвороби людина втрачає спогади, які становили основу її життя, — вона вже не може згадати найближчих родичів, не пам'ятає, чим захоплювалася, які заняття приносили їй задоволення, може загубитися у власному помешканні, не впізнає себе



Рис. 2. Трансформація самосвідомості художника Вільяма Утермолена в процесі розвитку у нього хвороби Альцгеймера. Наведені автопортрети написано в різні роки, що ілюструє прогресування захворювання

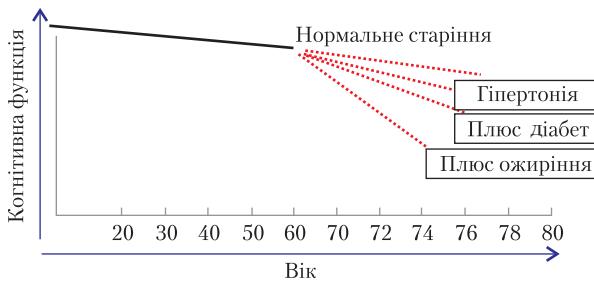


Рис. 3. Фактори ризику, які впливають на прогресування хвороби Альцгеймера

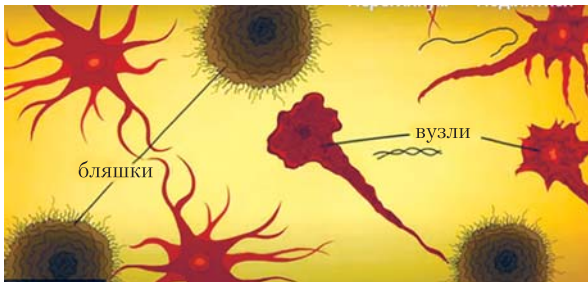


Рис. 4. Схематичне зображення утворень у мозку, що спостерігаються при хворобі Альцгеймера. Показано нейрони з відростками, сеньльні (амілоїдні) бляшки, розташовані позаклітинно. В середині нейронів утворюються нейрофібрилярні клубки, сформовані з тау-білка, пов'язаного з мікротрубочками

у дзеркалі, тобто втрачає індивідуальність. Насамкінець у хворих порушується координація рухів, настає інвалідизація — людина не може самостійно пересуватися, харчуватися, обслуговувати себе. На останніх стадіях пацієнти

вже повністю залежать від сторонньої допомоги і потребують постійного догляду. Звісно, це справляє глибокий негативний вплив не лише на хворих, а й на членів їхніх родин і тих, хто забезпечує догляд, що пов'язано з великим фізичним, психологічним і соціальним навантаженням на них.

Насправді вчені достеменно не знають, що саме відчуває людина на різних стадіях перебігу хвороби, як саме змінюється її сприйняття світу. Проте один пацієнт зумів трохи підняти завісу над цією таємницею. Коли в 1995 р. художник Вільям Утермолен дізнався, що в нього діагностували хворобу Альцгеймера, він почав малювати автопортрети, і ця серія його робіт стала, образно кажучи, портретом хвороби. На цих картинах добре видно, як з часом викривлялося його сприйняття реальності, яких перетворень зазнала його свідомість (рис. 2).

З багатьох експериментальних та клінічних досліджень відомо, що є фактори, які пришвидшують розвиток хвороби Альцгеймера. Серед них — супутні захворювання, які розвиваються зазвичай у зрілому віці, після 65 років: гіпертонія, некомпенсований діабет, ожиріння (рис. 3).

На сьогодні механізм патогенезу цього нейродегенеративного захворювання до кінця не з'ясовано. Відомо лише, що важливу роль у ньому відіграють два види білків: амілоїди і тау-білки, які змінюють своє нормальне функціонування. Патологічні форми амілоїдного білка утворюють агрегації у вигляді скупчень, які називають β -амілоїдними бляшками. Зміни у структурі тау-білків призводять до того, що їх нитки переплітаються між собою і утворюють нейрофібрилярні клубки всередині нейронів (рис. 4). 3D-форма нейрона зумовлена наявністю в ньому цитоскелету, однією зі складових якого є мікротрубочки — білкові структури, які діють подібно до каналів, транспортуючи поживні речовини та інші молекули з центру клітини на периферію та у зворотному напрямку. Оскільки тау-білки асоційовані з мікротрубочками, порушення в їх функціонуванні спричиняє дезінтеграцію мікротрубочок. Утворення вузлів руйнує транспортну систе-

му клітини і зрештою призводить до загибелі нейрона.

Наявність β -амілоїдних бляшок і нейрофібрилярних клубків відрізняє хворобу Альцгеймера від інших видів деменції, але, на жаль, виявити їх можна лише посмертно у зрізах мозкової тканини. Причому чим пізніша стадія розвитку хвороби, тим більше на зрізах спостерігається таких утворень. Це й дало змогу висунути гіпотезу про ключову роль патологічних форм амілоїдів і тау-білків у механізмі розвитку хвороби Альцгеймера.

Відомо, що β -амілоїд утворюється зі свого білка-попередника (БПА). Це мембранний білок, який має високу спорідненість до міді, експресується повсюди в організмі, відіграє роль у розвитку мозку і є необхідним для росту нейронів. БПА також бере участь у синаптогенезі та адгезії клітин.

Формується β -амілоїд при розрізанні БПА (який є довшим, ніж β -амілоїд) спеціальними ферментами мембрани — β -секретазами. Спочатку формується фрагмент С99, який далі розрізається γ -секретазами з утворенням β -амілоїду (рис. 5). Мутації БПА та субодиниць γ -секретазного комплексу є причиною розвитку спадкової хвороби Альцгеймера, яка може виникати в ранньому віці. Слід зазначити, що генетично зумовлена хвороба Альцгеймера спостерігається не дуже часто — близько 5% всіх випадків. Найчастіше у таких пацієнтів трапляється мутація в генах PSEN1, PSEN2 та APP що кодують відповідно білки пресенілін-1 (30–70% усіх генетично зумовлених випадків), пресенілін-2 (<5%) і БПА (10–15%). Пресеніліни належать до родини трансмембранних білків, що становлять частину протеазного комплексу γ -секретази.

Встановлено, що β -амілоїд складається з 39–42 амінокислотних залишків. Дві його основні форми, А β -40 і А β -42, відрізняються лише двома залишками, і вони проявляють різні фізико-хімічні, біологічні та клінічні характеристики. А β -42 є найбільш нейротоксичним, він агрегує у скупчення набагато швидше і переважає в сенильних бляшках пацієнтів з хворобою Альцгеймера. Тому вважається, що токсичний А β -

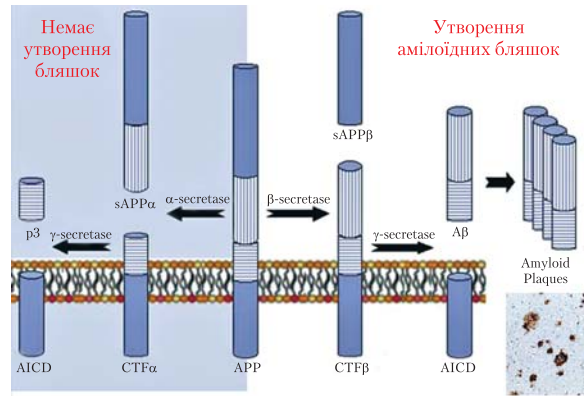


Рис. 5. Утворення β -амілоїду. По центру показано мембрану клітини, яку пронизує білок-попередник амілоїду (APP); зліва від нього — нормальний перебіг, при якому бляшки не утворюються; справа — процес, що призводить до формування амілоїдних бляшок. Позначення: А β — β -амілоїд; АICD — внутрішньоклітинний домен APP; CTF α — α -карбокситермінальний фрагмент; CTF β — β -карбокситермінальний фрагмент; p3 — p3-фрагмент; sAPP β — APP β , що секретується

42 утворюється в разі неправильного розрізу БПА γ -секретазами, в результаті чого замість А β -40 формується токсичний і більш липкий А β -42, який здатен швидко утворювати амілоїдні бляшки.

Отже, на сьогодні причина виникнення хвороби Альцгеймера невідома (за винятком генетично зумовленої форми), але є багато старих і новітніх гіпотез щодо первинних причин розвитку захворювання. Серед них — гіпотеза амілоїдного каскаду, тау-гіпотеза, пресенілінова гіпотеза, нейротрансмітерні гіпотези (за участю ацетилхоліну, серотоніну), мітохондріальна гіпотеза, гіпотеза запалення, гіпотеза оксидативного стресу, нейроваскулярна гіпотеза, генетична, теорія залучення металів (Cu, Al), гіпотеза глюкозного гіпометаболізму («діабет 3-го типу»), кальцієва гіпотеза, мікробіомна гіпотеза, вірусна гіпотеза.

Більшість із зазначених гіпотез тестуються і в клінічній практиці. Так, останнім часом у клініці найбільше досліджували амілоїдну гіпотезу (22,3% всіх клінічних досліджень), нейротрансмітерну (19%), мітохондріальну (17%), тау-гіпотезу (12,2%), нейроваскулярну

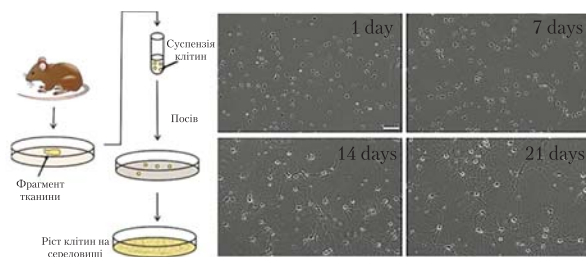


Рис. 6. Схема приготування первинної дисоційованої культури нейронів гіпокампу щурів

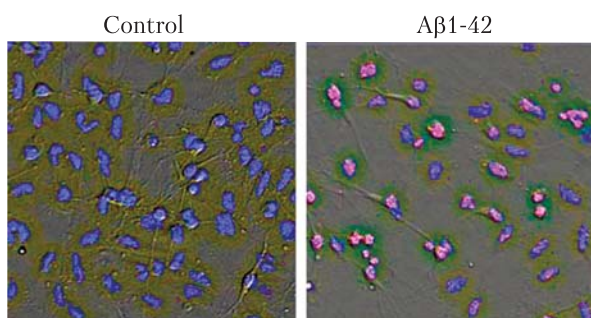


Рис. 7. Моделювання хвороби Альцгеймера на культурі клітин гіпокампу. Використовувався метод подвійного фарбування клітин. Зліва показано нейрони, пофарбовані флуоресцентним барвником живих клітин Hoechst 33258, праворуч — барвником некротичних клітин протидієм йодидом

(7,9%), запальну (4,6%), діабетичну (2,3%), вірусну (0,5%). Проте першопричини виникнення цього захворювання поки що не з'ясовано.

В Україні дослідження хвороби Альцгеймера проводять у кількох наукових та медичних установах. Серед них — Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України (академік М.В. Скок), Інститут геронтології ім. Д.Ф. Чеботарьова НАМН України (проф. Н.Ю. Бачинська), Інститут неврології, психіатрії та наркології НАМН України (проф. О.Г. Берченко).

У дослідженнях, які проводяться у відділі біофізики іонних каналів Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, ми використовуємо клітинну модель хвороби Альцгеймера. Для цього виділяються нейрони з частини мозку (гіпокампа) щурів та культивуються в штучному культуральному середовищі (рис. 6). Після 14–20 днів клітини гіпокампа

набувають вигляду зрілих нейронів з добре розвиненими нейритами. Першу групу нейронів вирощують у нормальному культуральному середовищі, і вона є контролем, а другу групу клітин інкубують у такому самому середовищі з додаванням β -амілоїду. Ця група і є моделлю хвороби Альцгеймера, оскільки нейрони в ній зазнають токсичної дії β -амілоїду (рис. 7). Така модель дозволяє кількісно оцінювати ефективність хімічних сполук, лікарських засобів та впливів на нейрони гіпокампа на основі кількісного співвідношення між живими та некротичними нейронами.

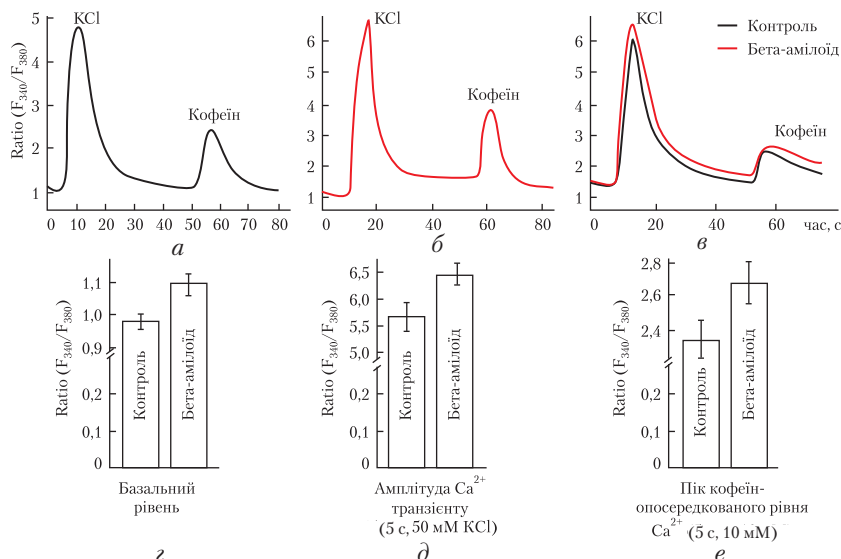
Ми зосередили наші дослідження на вивченні кількох концепцій розвитку хвороби Альцгеймера, серед яких кальцієва гіпотеза, мітохондріальна гіпотеза та гіпотеза β -амілоїдного каскаду.

Згідно з кальцієвою гіпотезою, як причину патології розглядають порушення кальцієвого гомеостазу. Відомо, що порушення кальцієвого гомеостазу призводить до утворення різних патофізіологічних станів, таких як некроз, апоптоз, дефіцит аутофагії та дегенерація органів. При цьому кальцієва гіпотеза не заперечує ключової ролі амілоїдів і тау-білків у прогресуванні захворювання, проте головною її особливістю є припущення, що саме порушення кальцієвого гомеостазу передуює появі амілоїдних бляшок, нейрофібрилярних вузлів і масовій загибелі нейронів. У цій гіпотезі вважається, що в результаті первинного порушення кальцієвого гомеостазу відбуваються вторинні процеси — утворення амілоїдних бляшок, які у свою чергу впливають на кальцієві канали, рецептори та інші сигнальні молекули, діючи за принципом позитивного зворотного зв'язку.

Наші дослідження, спрямовані на перевірку кальцієвої гіпотези, показали, що β -амілоїд спричиняє у нейронів підвищення рівня кальцію в цитоплазмі, а також збільшується кількість його входу в клітину при збудженні (рис. 8). Відповідно, більше заповнюються кальцієм внутрішньоклітинні депо, а тому відповідь на активацію депо також збільшується.

Застосування гіперкальціємії на нашій моделі хвороби Альцгеймера показало, що в разі

Рис. 8. Вплив β -амілоїду на внутрішньоклітинний кальцій у нейронах гіпокампу. Вгорі показано мікрофлуоресцентні вимірювання іонів кальцію в нейроні під впливом деполаризації мембрани (KCl) та кофеїну для вивільнення кальцію із внутрішньоклітинних депо. Вимірювання зроблено в контролі (а, в) та у клітин, що інкубувалися з β -амілоїдом (б, в). Внизу наведено статистичні дані для значень базального рівня кальцію (з), амплітуди кальцієвого транзйенту, викликаного деполаризацією мембрани (д), та піку кальцію, зумовленого вивільненням його з депо ендоплазматичного ретикулуму (е)



збільшення позаклітинної концентрації кальцію внутрішньоклітинна концентрація Ca^{2+} також збільшується, а повернення її до базового рівня відбувається з уповільненням. Останній факт виявився дуже схожим на вплив β -амілоїду на нейрони. Зважаючи на можливість того, що позаклітинна дисрегуляція Ca^{2+} може бути причиною патогенезу хвороби Альцгеймера, дослідження, спрямовані на виправлення цієї дисрегуляції, потенційно можуть стати терапевтичними підходами для профілактики та/або лікування цього захворювання.

Одним із перспективних напрямів у пошуку новітніх лікарських препаратів для лікування хвороби Альцгеймера є використання хімічних сполук на основі наночастинок, зокрема наночастинок діоксиду церію (НДЦ). Такі сполуки випробовують в Інституті мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України (чл.-кор. М.Я. Співак). Матеріали на основі наночастинок SeO_2 є цікавими об'єктами для дослідження, оскільки вони низькотоксичні, мають специфічні окисно-відновні й антирадикальні властивості і здатність до регенерації. Їх біомедичне використання може виявитися ефективним при нейродегенеративних захворюваннях, особливо в разі хвороби Альцгеймера.

У наших дослідженнях ми вивчали вплив наночастинок діоксиду церію на життєздат-

ність нейронів гіпокампа під час моделювання хвороби Альцгеймера в культурі клітин. Для цього ми інкубували культури нейронів гіпокампа з β -амілоїдом та перевіряли захисні властивості наночастинок SeO_2 на нейронах. На нашій моделі ми виявили їх низьку токсичність для нейронів і встановили, що наявність наночастинок SeO_2 значно зменшує кількість загинувших нейронів гіпокампа у присутності β -амілоїду (рис. 9).

Отже, можна зробити висновок, що наночастинки діоксиду церію виявляють нейропротекторні властивості і їх використання є дуже перспективним напрямом для розроблення нових препаратів для лікування хвороби Альцгеймера на основі наночастинок SeO_2 .

На сьогодні лікування хвороби Альцгеймера фокусується переважно на керуванні симптомами хвороби, оскільки специфічних ліків поки що немає. Окремі препарати можуть допомагати при втраті пам'яті, інші використовують для зняття симптомів, наприклад агресії, але найбільшу ефективність такі ліки виявляють на ранніх стадіях захворювання (рис. 10). Тому на нинішньому рівні знань про причини розвитку хвороби Альцгеймера дуже важлива рання діагностика цього захворювання. Для остаточного діагностування хвороби Альцгеймера зараз використовують посмертний роз-

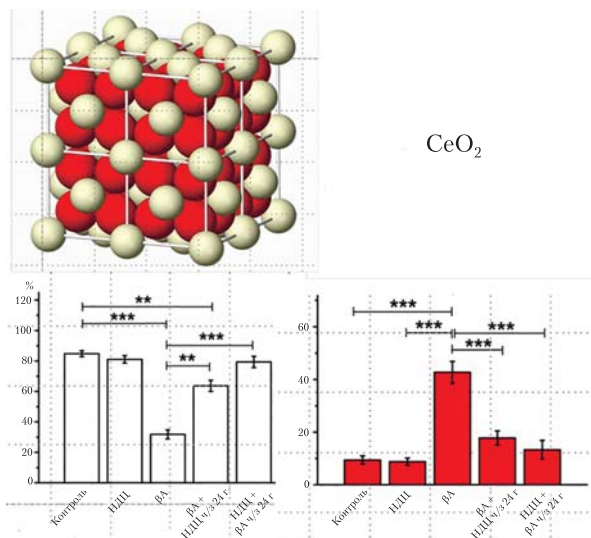


Рис. 9. Вплив нанокристалічного діоксиду церію на життєздатність нейронів культури гіпокампу при моделюванні хвороби Альцгеймера. Зверху – структура нанокристалічного діоксиду церію (НДЦ). Знизу наведено статистичні дані щодо частки живих і некротичних нейронів за різних впливів. Позначення: βA – β -амілоїд; βA + НДЦ – через 24 год (спочатку інкубація відбувалася з β -амілоїдом, потім, через 24 год, додавали НДЦ); НДЦ + βA – через 24 год (інкубація клітин з НДЦ, потім, через 24 год, додавали НДЦ)

тин, а для ранньої діагностики – дослідження спинномозкової рідини на β -амілоїд, позитронно-емісійну (ПЕТ) і комп’ютерну (КТ) томографії, а також томографію з використанням фтордезоксиглюкози (ФДГ-ПЕТ), в якій замість контрастного барвника використовують аналог глюкози.

Elena A. Lukyanetz

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2789-019X>

Bogomoletz Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

ALZHEIMER'S DISEASE: MODERN HYPOTHESES OF PATHOGENESIS, PROSPECTS FOR THE DEVELOPMENT OF NEW METHODS OF EARLY DIAGNOSIS AND TREATMENT

According to the materials of scientific report at the meeting of the Presidium of the NAS of Ukraine, March, 3, 2021

The report examines various hypotheses about the causes and development of Alzheimer's disease, analyzes the current state and prospects of developing new methods of early diagnosis, creation of new drugs for the effective treatment of this neurodegenerative disease. The most important results obtained by scientists of the NAS of Ukraine on the study of a number of fundamental questions of the pathogenesis of brain damage in Alzheimer's disease that contributed to the emergence of new approaches to the treatment of this disease are given.

Keywords: Alzheimer's disease, pathogenesis, nanocrystalline cerium dioxide.

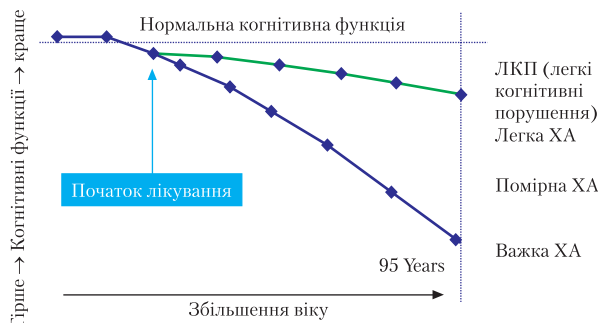


Рис. 10. Залежність когнітивної функції при хворобі Альцгеймера від початку лікування

Останнім часом почали розробляти нові підходи і методи ранньої діагностики хвороби Альцгеймера, пов'язані, наприклад, з визначенням нових маркерів, сигнальних білків у крові, які можуть з'явитися за 6 років до перших проявів хвороби (точність такої діагностики становить 90%), або з встановленням ознак ранньої стадії хвороби Альцгеймера за МРТ-знімками з використанням нейромереж.

Отже, для розроблення ефективних методів лікування хвороби Альцгеймера насамперед потрібні дослідження зі встановлення механізмів розвитку та прогресування захворювання з подальшим пошуком нових мішеней, створенням нових ліків і розробленням нових підходів до лікування. Для цього необхідне широке використання новітніх біонанотехнологій, досягнень генної інженерії, нових методів ранньої діагностики – комп'ютерних, імунологічних та ін.