

# Alzheimerjeva bolezen: nova spoznanja in učinkovine

## Alzheimer's disease: New knowledge and compounds

Sebastjan Reven, Lucija Peterlin Mašič

**Povzetek:** Alzheimerjeva bolezen je ena izmed najbolj pogostih neurodegenerativnih bolezni (preko 12 milijonov pacientov na svetu). Klinično je karakterizirana s progresivnim upadom kognitivnih funkcij, kar se kaže v otežkočenem vsakodnevnem življenju. Trenutno zdravljenje Alzheimerjeve bolezni temelji na uporabi inhibitorjev acetilholinesteraze, poleg tega prihaja do novih odkritij o vzrokih nastanka te bolezni in posledično novih terapij, ki so usmerjene v sam vzrok nastanka bolezni (inhibitorji sekretaz, učinkovine za zniževanje holesterola, kelatorji kovinskih ionov, protivnetne učinkovine, ...). Namen članka je pregled trenutno dostopnih terapij za zdravljenje Alzheimerjeve bolezni, s poudarkom tako na zdravilnih učinkovinah za simptomatsko zdravljenje kot tudi predstavitev novih strategij za usmerjeno tarčno zdravljenje in razvoja novih zdravilnih učinkovin.

**Ključne besede:** alzheimerjeva bolezen, inhibitorji acetilholinesteraze, neurotransmiterji, beta amiloidni protein, vnetje.

**Abstract:** Alzheimer's disease (AD) is the most common neurodegenerative disorder with over 12 million sufferers worldwide. Clinically, Alzheimer's disease is characterised by progressive cognitive decline associated with impairment in activities of daily living and progressive behavioural disturbances throughout the disease course. Current treatment of AD is based on the use of acetylcholinesterase inhibitors, but also other therapies are becoming available, including those more closely targeted to the pathogenesis of the disease (secretase inhibitors, cholesterol-lowering drugs, metal chelators, anti-inflammatory agents, ...). The aim of this article is to review the available data on the current treatments of AD with emphasis both on the symptomatic drugs available and on the potentially disease modifying strategies that will give rise to the next generation of treatments.

**Key words:** Alzheimer's disease, cholinesterase inhibitors, neurotransmitters, beta-amyloid protein, inflammation.

## 1 Uvod

Alzheimerjeva bolezen je ena izmed najbolj pogostih neurodegenerativnih bolezni (preko 12 milijonov pacientov na svetu) in predstavlja okrog 70 % vseh oblik demenc. Klinično delijo Alzheimerjevo bolezen na obliko z nastopom v zgodnji življenjski dobi (45-65 let) in na obliko z nastopom v kasnejši življenjski dobi (po 65 letu). Prva oblika je redka, druga je pogosta zlasti v deželah, kjer se je podaljšala življenjska doba prebivalstva (razviti svet). Prva znamenja bolezni so pozabljivost, neurejenost, nemirnost, motnje v presoji, za razvito bolezen so značilni izguba spomina za sveže dogodke, dezorientiranost v času in prostoru, nesposobnost skrbeti zase in globalni upad kognitivnih funkcij (1, 2).

Vzroki za nastanek bolezni so še danes dokaj nepoznani in prav to je posledica, da je večina današnjih strategij za zdravljenje usmerjena v odpravljanje simptomov in ne vzrokov Alzheimerjeve bolezni.

## 2 Alzheimerjeva bolezen: spremembe v telesu

Alzheimerjeva bolezen je neurodegenerativno obolenje karakterizirano z nepovratno progresivno izgubo spomina, kateremu sledi

popolna demenca. Diagnoza bolezni je zelo težka in se najlažje potrdi šele pri izvedbi avtopsijske, ki razkrije karakteristične patološke spremembe v morfoloiji in histologiji možganov (1).

### a) Morfološke spremembe možganov

Prve spremembe, ki so jih opazili tekom obdukcij, so bile anatomske spremembe; atrofija možganskih vijug in zvečanje stranskih ventriklov v frontalnem, temporalnem ter parietalnem režnju možganske skorje.

Druga morfološka sprememba so senilne lehe. Ležijo zunajcelično in vsebujejo amiloid. Ta pretežno vsebuje amiloidni protein beta (AP $\beta$ ), protein, ki nastane pri proteolitičnem razcepu amiloidnega prekurzorskega proteina (APP). V senilni lehi se molekule AP $\beta$  proteina nalagajo v skupke netopnih fibril, kar je posledica spremembe konformacije tega proteina v beta obliko. Leha kaže sliko vnetne reakcije v živčnem tkivu, ki povzroči degeneracijo in odmiranje nevronov, ki so preko dendritov in nevrinov v stiku z njimi.

Amiloidni prekurzorski protein se sintetizira v nevronih in v celicah glije in je glikozilirani membranski protein, ki se preko sekretornih mešičkov vgradi v plazmalemo, tako da je daljši N-terminalni konec polipeptidne verige usmerjen iz celice, krajši C-terminalni pa v celico. V svoji verigi vsebuje odsek, ki ima aminokislinsko sekvenco AP $\beta$

proteina. Ta nastane s proteolitično razgradnjo APP-ja z  $\beta$  oziroma  $\gamma$ -sekretazami. Normalno  $\alpha$ -sekretaza razgradi APP v celični membrani sredi odseka, ki vsebuje AP $\beta$  in nastane topni APPs, ki ni amiloidogen in se izloči iz celice. Nerazgrajeni APP se z endocitozo vrne v notranjost celice in razgradi v endosomih ali lizosomih z delovanjem proteinaz  $\beta$  in  $\gamma$ -sekretaz. Pri tem tipu razgradnje nastane AP $\beta$  protein, ki se izloči iz celice. Aktivnost teh proteinaz uravnajo beljakovine presenilini. Med nevrotoksične učinke AP $\beta$  proteina na živčne celice spadajo okvara homeostaze citosolnega kalcija, aktivacija kinaze proteina tau, nastajanje radikalov ter indukcija prepisovanja genov, ki vodijo v apoptozo. V možganih prizadetih bolnikov so opazili tudi nastanek neurofibrilarnih pentelj. Gre za distrofične nevrone, ki vsebujejo vlaknaste snopiče, katerih glavna sestavina so skupki fosforilirane proteina tau. Nastajanje neurofibrilarnih pentelj je posledica čezmernega kopičenja fosforilirane proteina tau zaradi zvečane aktivnosti kinaze proteina tau, h kateri prispeva AP $\beta$  protein. V nevronih bolnikov se verige proteina tau sestavijo v parne vijačne filamente, ki se združujejo v neurofibrilarne pentlje (v normalnih nevronih protein tau povezuje beljakovino tubulin v neurotubule) (3).

### b) Biokemične spremembe

Povezane so s propadanjem specifičnih nevronov. Posledica je znižana koncentracija receptorjev za glutamat v možganski skorji (propad piramidnih celic) ter upadanje aktivnosti acetilholinacetiltransferaze v Meynertovem jedru, hipokampusu in neokorteksu (propad holinergičnih nevronov) (3).

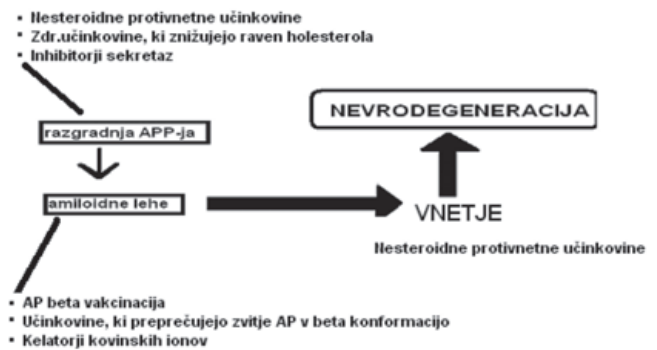
### c) Funkcionalne spremembe

Vsa predhodno omenjena prizadeta področja so pomembna za normalno delovanje kognitivnih funkcij. Najprej je prizadeto prehajanje kratkotrajnega v trajni spomin zaradi prizadetosti hipokampusu. Odsev obsežnih sprememb v možganski skorji in v ascendentnih projekcijskih sistemih pa je terminalni globalni upad kognitivnih funkcij (3).

## 3 Zdravljenje Alzheimerjeve bolezni: trenutni status in nove perspektive

Glavne nevropatološke značilnosti Alzheimerjeve bolezni so senilne lehe povezane z amiloidnim proteinom beta (AP $\beta$ ), neurofibrilarne pentlje (NFT) ter propad nevronov v hipokampusu ter Meynertovem jedru. Novejši terapevtski pristopi k zdravljenju temeljijo na morfoloških in biokemičnih značilnostih Alzheimerjeve bolezni (4):

- kompenziranje zmanjšane delovanja holinergičnega sistema,
- vpletanje v metabolizem amiloidnega proteina beta (AP $\beta$ ),
- zaščita živčnih celic pred toksičnimi metaboliti, ki se tvorijo pri nevrodegenerativnih procesih,
- aktivacija drugih neurotransmiterskih sistemov, ki neposredno kompenzirajo primanjkljaj holinergičnih funkcij,
- vpliv na tvorbo neurofibrilarnih pentelj,
- ter razvoj protivotnetnih učinkovin, ki preprečujejo propad živčnih celic.



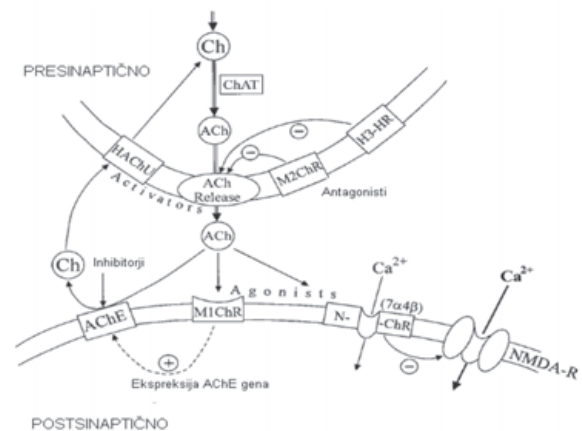
Slika 1: Slika predstavlja glavne patološke procese pri Alzheimerjevi bolezni in z njimi povezane terapevtske pristope (5).

Figure 1: Figure summarises the main pathological processes and the related therapeutic approaches in AD (5).

Inhibicija acetilholinesteraz sicer upočasni razvoj bolezni, a je učinkovita le v začetni fazi bolezni. Vzrok je v tem, da ne gre za izolirano okvaro holinergičnih projekcij v hipokampusu in v možganski skorji, ampak tudi za propadanje piramidnih celic (5).

### a) inhibitorji encima acetilholinesteraze

V preteklosti je zdravljenje Alzheimerjeve bolezni temeljilo na nadomestitvi neurotransmiterjev (holinergična hipoteza) (slika 2),



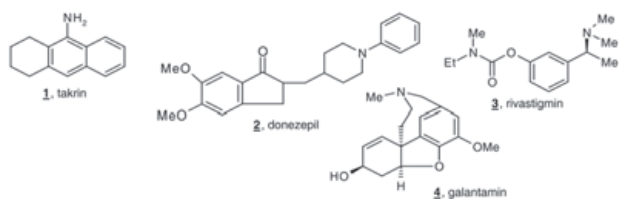
Slika 2: Slika predstavlja glavne značilnosti holinergičnega sistema, pomembne za razvoj zdravnih učinkovin pri zdravljenju Alzheimerjeve bolezni. AchE=acetilholinesteraza, Ch=holin, H3-HR= H3 podtip histaminskega receptorja, HACHU= sistem privzema holina, M1ChR, M2ChR= dva podtipa muskarinskih receptorjev, N-ChR, nikotinski receptor, NMDA-R=N-metil-D-aspartatni receptor (4).

Figure 2: The main targets of cholinomimetic therapy of Alzheimer's disease. Abbreviations: AchE = acetylcholinesterase; Ch = choline; H3-HR = H3 histamine subtype receptors; HACHU = high affinity choline uptake system; M1ChR, M2ChR = muscarinic subtypes 1 and 2 cholinergic receptor; N-ChR = nicotinic receptor; NMDA-R = N-methyl-D-aspartate receptor (4).

katerih primankljaj v centralni holinergični transmisiji je bil povzročen z degeneracijo bazalnega možganskega nukleusa. Poleg tega pride tudi do izgube nikotinskih receptorjev, kar prav tako vpliva na proces tvorbe spomina in drugih kognitivnih funkcij (1, 2, 4, 5).

Acetilholin se v možganih hidrolitično razgradi zaradi delovanja dveh holinesteraz, acetilholinesteze (AChE) ter butilholinesteraze (BuChE). Študije so pokazale, da je pri bolnikih z Alzheimerjevo boleznijo aktivnost AChE zmanjšana za približno 70 %, medtem ko je aktivnost drugega tipa holinesteraz butilholinesteraz povečana za približno 170 % (6).

Učinkovine, ki zavirajo acetilholinesterazo pripomorejo le k izboljšanju spomina pri blagi demenci, ne zaustavijo pa procesa nevrodegeneracije. Prav tako je učinkovitost inhibitorjev AChE odvisna od integritete presinaptičnih nevronov, kar pomeni, da bo zmanjšana pri zelo razviti bolezni. Poleg tega je uporaba teh zdravilnih učinkovin omejena zaradi pojava neželenih gastrointestinalnih stranskih učinkov (1, 4, 5, 6).



Slika 3: Prva generacija inhibitorjev acetilholinesteraze (1).

Figure 3: First generation of cholinesterase inhibitors (1)

FDA (Food and Drug Administration) je v preteklosti odobrila dovoljenje za promet štirim zdravilnim učinkovinam z zgoraj omenjenim delovanjem (slika 3) – takrin (1), donezepil (2), rivastigmin (3) ter galantamin (4). V Evropi je registriran le rivastigmin (3) (7).

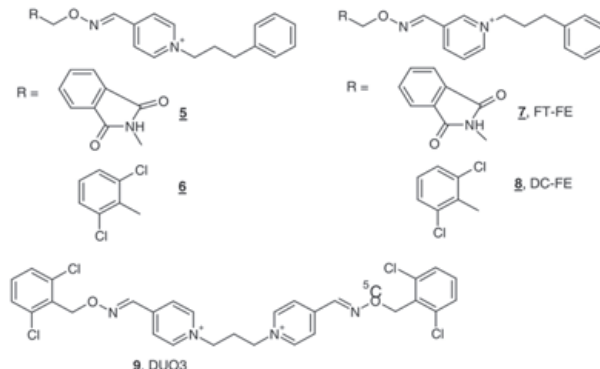
Stranski učinki zdravljenja z inhibitorji acetilholinesteraznih receptorjev so povezani s holinergičnimi učinki, kot so slabost, anoreksija, bruhanje in diareja, ki sčasoma zbledijo (1, 7).

Ker pacienti z Alzheimerjevo boleznijo pogosto trpijo tudi za depresijo, se kot terapevtska možnost ponujajo dualni inhibitorji; inhibitorji acetilholinesteraze ter inhibitorji privzema serotonina. Inhibicija slednjih lahko zmanjša z odmerkom pogojene stranske učinke acetilholinesteraznih inhibitorjev. Eden izmed predstavnikov te skupine je bil pripravljen s hibridizacijo rivastigmina ter fluoksetina (1).

Na osnovi tridimenzionalne strukture encima acetilholinesteraze določene z rentgensko kristalografijo, so odkrili periferno anionsko mesto (PAS) ter vsaj še pet glavnih vezavnih mest: oksianionsko luknjo, estrsko mesto, vezavno mesto za anionski substrat, vezavno mesto za aromate ter acilno vezavno mesto. Izkazalo se je, da se AChE veže preko perifernega mesta na neamiloidogeno obliko  $\beta$ -amiloida in inducira pretvorbo v amiloidogeno konformacijo. Slednje pomeni, da AChE pospešujejo tvorbo amiloidnih fibril, pri čemer se tvori stabilen AChE-AP $\beta$  kompleks (8).

V člankih so poročali o AChE inhibitorjih piridinskega ter bispiridinskega tipa (slika 4) (5, 6, 7, 8, 9), ki imajo poleg inhibitorne aktivnosti

spособnost preprečiti tvorbo amiloidnih fibril. V teku je optimizacija učinkovitosti in aktivnosti teh dvojnih inhibitorjev (9).

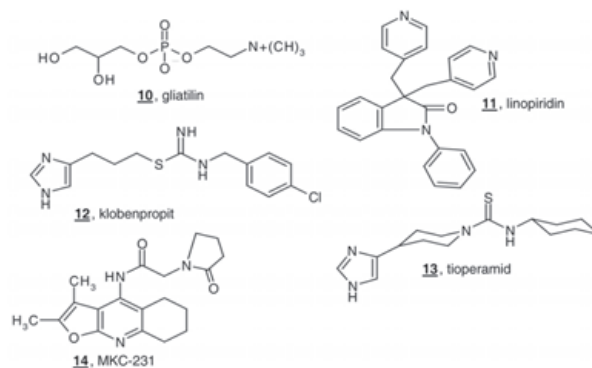


Slika 4: Strukture učinkovin piridinskega oziroma bispiridinskega tipa (9).

Figure 4: Structures of pyridinium and bispyridinium-type compounds (9)

Pomemben pristop k zvečanju delovanja holinergičnega sistema je tudi razvoj zdravilnih učinkovin, ki stimulirajo sintezo in sproščanje acetilholina (slika 5) (4):

- Biokemični prekurzorji acetilholina – povečanje koncentracije prekurzorja ACh-a - holina (gliatilin, 10).
- Stimulatorji sproščanja acetilholina preko večih mehanizmov:
  - Inhibicija M-tipa kalijevih kanalov presinaptičnih holinergičnih nevronov (linopiridin, 11).
  - Neselektivna inhibicija kanalov reguliranih s  $Ca^{2+}$ .
  - Stimulacija sproščanja acetilholina preko antagonistov H3 histaminskih receptorjev. Ti so lokalizirani na presinaptičnih koncih histaminskih nevronov v centralnem in perifernem živčnem sistemu (klobenpropit (12) ter tioperamid (13)).
  - Stimulacija sproščanja acetilholina preko povečanja presinaptičnega prevzema endogenega holina. Ta se tvori zaradi encimske (AChE) razgradnje ACh-a (MKC-231, (14)



Slika 5: Strukture učinkovin, ki vplivajo na sintezo in sproščanje acetilholina (4).

Figure 5: Structures of compounds affecting synthesis and release of Ach (4)

**b) Delni antagonisti NMDA receptorjev**

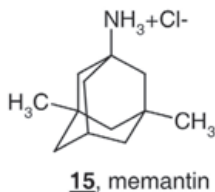
Okoli 70 % ekscitatornih sinaps v centralnem živčnem sistemu je stimuliranih preko glutamata. Sprostitev glutamata iz veziklov presinaptičnih nevronov se zgodi preko mehanizma odvisnega od kalcijevih ionov. Glutamat deluje na tri tipe ionotropnih receptorjev v postsinaptični membrani. Receptorji so bili poimenovani po njihovih agonistih *N*-metil-D-aspartat (NMDA), alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoksazol propionska kislina (AMPA) ter kainatni receptorji. NMDA receptorji so v večini prisotni v nevronih in njihova aktivacija povzroči pritek  $Ca^{2+}$ , ostala dva receptorja pa  $Na^+$  ter  $K^+$ . Dve posebnosti NMDA receptorjev sta od napetosti odvisna blokada za  $Mg^{2+}$  ioni ter nujnost prisotnosti kofaktorja glicina (5).

Pri patogenezi, kot je nevrodegeneracija pri Alzheimerjevi bolezni presežek glutamata vodi v preveliko aktivacijo NMDA receptorjev s posledično akumulacijo znotrajceličnega  $Ca^{2+}$ , ki sproži kaskado dogodkov, katerih rezultat je propad nevrona. Povečan pritek kalcijevih ionov v citoplazmo povzroči akumulacijo  $Ca^{2+}$  znotraj mitohondrija. To vodi v tvorbo reaktivnih dejavnikov, ki zmanjšajo zmoglost celične membrane za izločanje  $Ca^{2+}$ . Ko se doseže določen nivo kalcijevih ionov v mitohondriju, se pore membrane ireverzibilno odprejo. Sledi izločitev kalcijevih ionov in makromolekularnih sestavin, ki povzročijo celično smrt.

V začetku zdravljenje z NMDA antagonisti zaradi stranskih učinkov (halucinacije, zvišan krvni tlak, anestezija, vznemirjenost), ki so se pojavljali predvsem zaradi interakcij z drugimi receptorji, in vezave na različna mesta na NMDA receptorju v primerjavi z glutatomom, ni kazalo posebnega zanimanja. Z razvojem nekompetitivnih NMDA-receptorskih antagonistov, ki se vežejo v isto vezavno mesto kot glutamat, so dosegli želeni učinek in odsotnost psihomimetičnih stranskih učinkov. Nekompetitivni inhibitor NMDA-receptorjev blokira kanal receptorja in prepreči prekomeren pritek kalcijevih ionov v celico. Blokada receptorja se ne more izničiti z višanjem koncentracije glutamata. (1).

Memantin (15) (slika 6) je bil prva učinkovina registrirana v Veliki Britaniji za zdravljenje zelo razvite Alzheimerjeve bolezni. Je predstavnik nekompetitivnih NMDA antagonistov fenciklidinskega tipa (1, 2, 5).

Prvič je bil sintetiziran leta 1963 kot hipoglikemik z zelo šibkim delovanjem. Šele leta 1972 so odkrili možnost uporabe memantina kot nekompetitivnega antagonista NMDA receptorjev. Čeprav memantin blokira nevrotoksičnost glutamata, se ne vpleta v njegove fiziološke učinke, ki so potrebni za mišljenje in spomin (1).

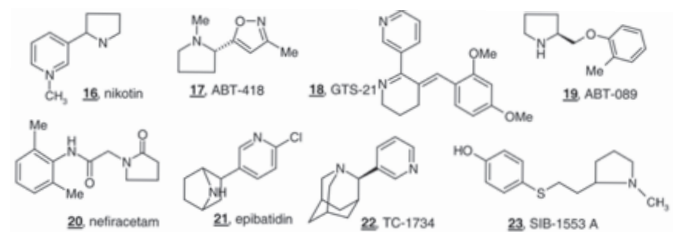


Slika 6: Molekula memantina (1).

Figure 6: Structure of memantine (1).

**c) Agonisti nikotinskih receptorjev**

Tekom študij se je izkazalo, da neselektivni agonisti nikotinskih receptorjev (tudi nikotin, 16), lahko izboljšajo kognitivne procese tako pri živalih kot tudi pri ljudeh. Nikotinski receptorji (nAChR) so v možganih locirani v predelih, ki so povezani z mišljenjem in spominom. V nedavnih raziskavah so prišli do dokaj učinkovitih selektivnih agonistov, kot je npr. ABT-418 (17) (veže se na  $\beta 2$  podenoto nAChR), GTS-21(18) ( $\alpha 7$  podenoto), ABT-089 (19), nefiracetam (20), epibatidin (21), TC-1734 (22) ter SIB-1553 (23) (slika 7) (2, 4).

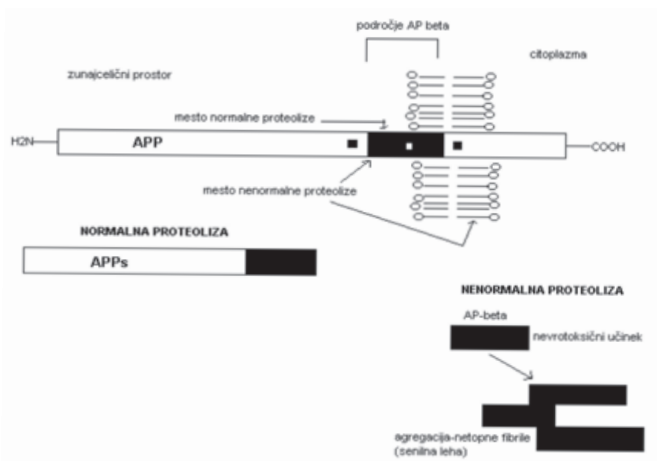


Slika 7: Agonisti nikotin-acetilholinskih receptorjev (nAChR)(2).

Figure 7: Structures of nicotinic acetylcholine receptor (nAChR) agonists (2).

**d) inhibicija encimov  $\beta$  in  $\gamma$  sekretaz**

Ena glavnih značilnosti pri bolnikih z Alzheimerjevo boleznijo je akumulacija tako imenovanih senilnih leh v poškodovanih možganskih nevronih (1).



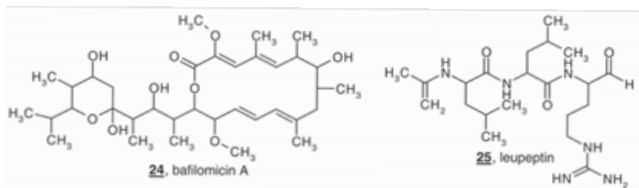
Slika 8: Model polipeptidne verige APP, vgrajen v fosfolipidno membrano ter proteolitično odcepljeni APPs ter AP $\beta$ . Z ■ so označena mesta točkovnih mutacij (zamenjave aminokislin) pri treh familiarnih oblikah Alzheimerjeve bolezni (prirejeno po 5).

Figure 8: The figure represents the model of polypeptide chain of APP incorporated into the phospholipide membrane and the cleavage products of APPs and AP $\beta$ . Marked with ■ are areas of mutations of the familiar forms of AD (3).

Glavna sestavina leh je amiloidni protein beta (AP $\beta$ ), protein v  $\beta$  konformaciji obdan z distrofičnimi nevriti, reaktivnimi astrociti ter aktiviranimi mikroglijami. AP $\beta$  protein nastaja kot posledica delovanja dveh encimov ( $\beta$  ter  $\gamma$  sekretaz), ki cepita APP (slika 8)(1, 5).

Nastanek AP $\beta$  proteina iz prekursorja APP je zelo zanimiv kot tarča zdravljenja, ker je to korak, kjer bi lahko zavirali kaskadni proces neurodegeneracije. Intracelularno pride do proteolize APP-ja z encimom  $\beta$ -sekretazo, rezultat je nastanek amino-terminalnega dela AP $\beta$  proteina. Sledi zunajcelična cepitev z  $\gamma$ -sekretazo na C-terminalnem delu sekvence tega proteina.

Podjetje Eli Lilly je nedavno predstavilo inhibitor encima  $\gamma$ -sekretaze, ki v zelo nizkih koncentracijah bistveno zniža nivo AP $\beta$  proteina v možganih miši. Bafilomicin A (**24**) in njegovi analogi zelo učinkovito preprečujejo nastanek AP $\beta$  proteina preko indirektno inhibicije aktivnosti  $\beta$ -sekretaze. Prav tako so ugotovili, da peptid leupeptin (**25**) stabilizira C-terminalni fragment AP $\beta$  proteina z direktno in indirektno inhibicijo  $\gamma$ -sekretaze (slika 9) (4, 10).

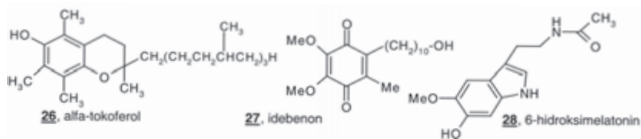


Slika 9: Inhibitor  $\beta$ -sekretaze bafilomicin A ter  $\gamma$ -sekretaze leupeptin (4).

Figure 9:  $\beta$ -secretase bafilomicin A and  $\gamma$ -secretase leupeptin inhibitors (4).

### e) antioksidanti

AP $\beta$  agregati se lahko direktno vmestijo v celično membrano in povzročijo membransko lipidno peroksidacijo. Po vmestitvi v celico agregati poškodujejo mitohondrijsko membrano, kar vodi v večjo propustnost elektronov skozi membrano ter tvorbo intracelularnih prostih radikalov. Ti povzročijo membransko lipidno peroksidacijo in motijo integriteto nevrnske membrane. Antioksidanti ( $\alpha$ -tokoferol (**26**), idebenon (**27**), 6-hidroksimelatonin (**28**)), predvsem tisti, ki lahko prehajajo celično membrano so se izkazali kot uspešni pri zdravljenju Alzheimerjeve bolezni (slika 10) (1, 4, 5, 7).



Slika 10: Strukture učinkovin z antioksidativnim delovanjem za zdravljenje AD (5).

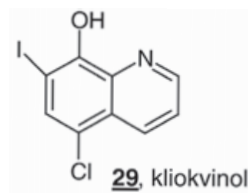
Figure 10: Structures of some anti-oxidants for AD treatment (5)

### f) Zdravilne učinkovine, ki preprečujejo zvitje AP v beta konformacijo - »beta-sheet breakers«

AP $\beta$  protein ima zmožnost pretvorbe v netopno beta-konformacijo. Le netopni agregati AP $\beta$  proteina so nevrotoksični. S tega vidika bi torej učinkovine, ki bi upočasnile oziroma zaustavile agregacijo AP $\beta$  proteina, lahko bile potencialno uporabne pri zdravljenju Alzheimerjeve bolezni. Tekom študij so prišli do ugotovitev, da AP $\beta$  fragmenti z aminokislinsko sekvenco 16-20 – KLVFF imajo prav takšno zmožnost. Slabost teh peptidov je njihovo slabo prehajanje hematoencefalne barriere ter neželeni stranski učinki, kot so alergične reakcije. Razvoj nizko-molekularnih analogov teh peptidov (glikoprotein laminin) je dal boljše rezultate v smislu preprečevanja zvitja AP $\beta$  proteina brez pojava stranskih učinkov (4).

### g) Kelatorji kovinskih ionov

Kovinski ioni kot so Zn<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup> ter Fe<sup>3+</sup> povzročijo obarjanje topnega AP $\beta$  proteina. Vsi ti ioni so prisotni v neokorteksu in obenem reagirajo z AP $\beta$  proteinom, pri čemer se tvori vodikov peroksid in povzroča oksidativne okvare v možganih. Pomanjkanje teh ionov pomeni raztapljanje senilnih leh. Kliokvinol (**29**) (slika 11) je hidrofojni Cu/Zn kelator, ki prosto prehaja krvno možgansko bariero in preprečuje vezavo teh ionov na AP $\beta$  protein (1, 5, 10).



Slika 11: Kliokvinol; hidrofojni Cu/Zn kelator (10).

Figure 11: Clioquinol; hydrophobic Cu/Zn chelator (10).

### h) Protitelesa proti AP $\beta$

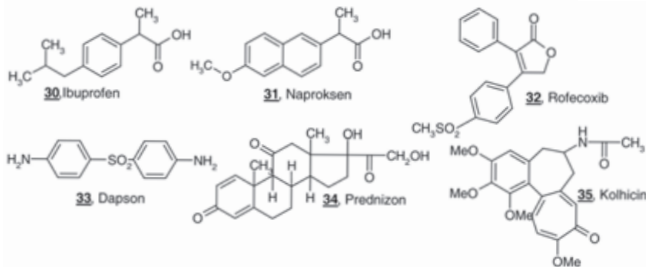
Pri testiranjih v klinični fazi I so se protitelesa proti AP $\beta$  proteinu pokazala kot uspešna, v klinični fazi II pa se pri mnogih pacientih razvil meningoencefalitis in študije so bile zaustavljene. Mehanizem delovanja še ni popolnoma razložen. Po vsej verjetnosti protitelesa inducirajo fagocitozo amiloidnih leh. Po vstopu v centralno živčni sistem se pritrdijo na senilne lehe, ki se aktivno fagocitirajo s primarnimi mikroglijami. Monoklonska protitelesa usmerjena proti N-terminalnemu delu AP $\beta$  proteina imajo antiagregatorne lastnosti ter raztapljajo obstoječe lehe. Poleg tega AP $\beta$  protitelesa tudi spremenijo dinamično ravnotežje tega proteina med centralno živčnim sistemom ter plazmo in zmanjšajo koncentracijo v možganih (5, 11, 12).

### i) Protivnetne učinkovine

Lokalno vnetje kot posledica tvorbe senilnih leh, aktivirane mikroglije, reaktivni astrociti ter citokini so glavne značilnosti Alzheimerjeve bolezni.

Kronično zdravljenje z nesteroidnimi protivnetnimi učinkovinami (slika 12) (ibuprofen (**30**), indometacin (**31**)) je bistveno zmanjšalo vnetje in količino AP $\beta$  proteina v možganih miši. Gre za posledico neselektivne inhibicije encimov COX, glavnih dejavnikov v kaskadi sinteze

prostaglandinov. Zaradi pojava neželenih stranskih učinkov (ulcerogeno delovanje), ki so povezani z dolgotrajnim jemanjem, je razločeno posvečen iskanju učinkovitih selektivnih inhibitorjev encima ciklooksigenaze 2. Delež tega encima, lociranega v neokorteksu ter hipokampusu in odgovornega za regulacijo možganske simpatične funkcije, je povečan pri razviti Alzheimerjevi bolezni (1, 4, 5, 7, 13).



Slika 12: Učinkovine s protivnetnim delovanjem (4).

Figure 12: Anti-inflammatory drugs (4).

Rofekoksib (32), registriran za blaženje simptomov osteoartritis ter akutne bolečine pri dismenoreji, je trenutno v fazi II kliničnih raziskav za zdravljenje Alzheimerjeve bolezni. Pokazalo se je namreč, da so inhibitorji COX-2 sposobni zmanjšati količino AP $\beta$  proteina v možganih. (1, 4, 5, 7, 13).

Še en učinkovit pristop temelji na stabilizaciji deleža eikozanoidov v možganih preko inhibicije 5-lipoksigenaze, encima, katerega ekspresija je ravno tako povečana pri razviti Alzheimerjevi bolezni. Učinkovine, ki so se izkazale kot učinkovite in ne spadajo v skupino NSAID, so (slika 12) (4):

- Dapson (33) – antiinfektivna učinkovina, ki se uporablja za zdravljenje leproze, lahko zmanjša vnetje in upočasni razvoj Alzheimerjeve bolezni.
- Prednizon (34), sintezni glukokortikoid, je dehidrogeniran derivat endogenega hormona kortizona in se trenutno uporablja kot protivnetna učinkovina.
- Kolhicin (35) ima zmožnost preprečevanja vnetja mikroglij in je trenutno sredi kliničnih raziskav.

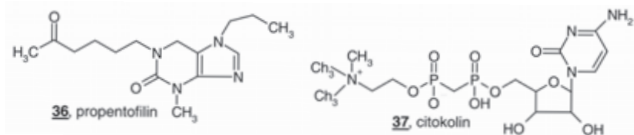
## j) Učinkovine, za zniževanje koncentracije holesterola

Alela  $\epsilon 3$  apolipoproteina (APO E) je vpletena v distribucijo holesterola v centralnem živčnem sistemu in predstavlja pogost lipoprotein v možganih ter glavni genetski rizični faktor za pojav Alzheimerjeve bolezni. APO E je povezan z rahlim povečanjem serumskega holesterola in ima po vsej verjetnosti vpliv na nalaganje amiloidnih fibril in AP $\beta$  agregacije. Prisotna visoka koncentracija holesterola generira cepitev APP-ja z  $\alpha$ -sekretazo, produkt je AP $\beta$  protein, medtem ko nizke koncentracije usmerjajo cepitev z  $\alpha$ -sekretazo, kar vodi v nastanek neamiloidogenega produkta. Prav zato statini, učinkovine za zniževanje holesterola, znižujejo nivo AP $\beta$  proteina in blokirajo aktivacijo T-celic inducirano z interferonom  $\gamma$ , kar zmanjša vnetje in ima nevroprotektivno delovanje (1, 4, 5, 10, 13).

## k) Zdravilne učinkovine, ki stimulirajo nevrotropne učinke in stabilizirajo celično membrano

Učinkovine, predstavljene v nadaljevanju, imajo nevroprotektivno delovanje in lahko stimulirajo kognitivne funkcije. Delujejo preko različnih funkcij, v glavnem preko stimulacije nevrotropnih funkcij v centralno živčnem sistemu (slika 13) (4, 14):

- Propentofilin (36) stabilizira intracelularni delež cAMP-ja in cGMP-ja z inhibicijo fosfodiesteraz ter zmanjša aktivnost mikroglij pri nevrodegenerativnih procesih. Posledica je zmanjšana količina radikalov ter endogenih citotoksičnih faktorjev (citokinov) v možganih.
- Citokolin (37) (citidin 5'-disfosfoholin) je endogeni intermediat pri sintezi strukturnih membranskih fosfolipidov in acetilholina v možganih. Tekom testiranja se je izkazalo, da ima citokolin zmožnost izboljšanja pomnjenja preko nevrotropnih učinkov.
- Anapsos (izoliran iz droge Filices Polypodium Leucomotos) izboljša kognitivne funkcije, cerebralno kroženje krvi pri pacientih s senilno demenco.



Slika 13: Učinkovini z nevrotrofičnim delovanjem (4).

Figure 13: Structures of some compounds with neurotrophic activity (4)

## 4 Zaključek

Alternativni pristop inhibitorjem acetilholinesteraz pri zdravljenju Alzheimerjeve bolezni predstavljajo agonisti nikotinskih receptorjev, za katere se predpostavlja, da bi bili učinkoviti tudi ob velikem pomanjkanju acetilholina.

Študije z antagonisti NMDA receptorjev so pokazale zadovoljiv učinek pri zdravljenju Alzheimerjeve bolezni. Predklinični rezultati pa kažejo, da imajo te učinkovine obenem tudi dodatne zaščitne lastnosti za nevrone.

Ker nevrokemični primanjkljaj oziroma neravnovesje ne gre samo na račun holinergičnega oziroma glutamatnega sistema, se v prihodnosti lahko pričakuje razvoj učinkovin z delovanjem na več nevrotrofnih poteh hkrati za bolj učinkovito zdravljenje. Klinične študije so pokazale, da kombinirano zdravljenje z donepezilom ter memantinom izkazuje boljše učinke v primerjavi z monoterapijo.

Raziskave v svetu so usmerjene v izvor Alzheimerjeve bolezni, akumulacijo AP $\beta$  proteina. Zmanjšanje tvorbe tega proteina preko inhibicije  $\beta$  ter  $\gamma$ -sekretaz je zdaleč najbolj obetajoč pristop, ki pa je še daleč od klinične uporabe, zaradi pojava stranskih učinkov.

Vzporedno pa potekajo številne raziskave, kjer preizkušajo učinkovitost že uveljavljenih učinkovin (NSAID ter učinkovin za zdravljenje hiperholesterolemije) pri preprečevanju oziroma upočasnevanju nastanka bolezni.

Potrebno pa se je zavedati, da obstaja velika razlika med modeli (celične kulture, miši), na katerih se izvajajo raziskave, in realnim stanjem možganov prizadetih bolnikov. V prihodnosti je torej glavni izziv raziskav preizkusiti učinkovitost teh novih učinkovin tudi na bolnikih.

## 5 Literatura

1. Sonkusare S K, Kaul C L, Ramarao A. Dementia of Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders-memantine, a new hope. *Pharmacological Research*. 2005; 51: 1-17.
2. Johnson C N, Roland A, Upton N. New symptomatic strategies in Alzheimer's disease. *Drug discovery Today. Therapeutic Strategies*. 2004; 1: 13-19.
3. Bresjanac M, Bunc M, Črne-Finderle N, Grubič Z, Kamarič L, Kordaš M, Pavlin R, Ribarič S, Sket D, Sketelj J, Šuput D, Zorec R, Živin M. Izbrana poglavja iz patološke fiziologije. Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta. Ljubljana. 2001.
4. Bachurin S O. Medicinal Chemistry Approaches for the treatment and prevention of Alzheimer's disease. *Medicinal Research Reviews*. 2003; 23: 48 – 88.
5. Scarpini E, Scheltens P, Feldman H. Treatment of Alzheimer's disease: current status and new perspectives. *The Lancet Neurol*. 2003; 2: 539 –547.
6. Ellis J M. Cholinesterase inhibitors in the treatment of dementia. *JAOA*. 2005; 105: 145 – 158.
7. Tariot P N, Federoff H J. Current treatment for alzheimer disease and future prospects. *Alzheimer Dis Assoc Disord*. 2003; 17: 105 – 113.
8. Alonso D, Dorransoor I, Rubio L, Munoz P, Palomero G E, Del Monte M, Bidon-Chanal A, Orozco M, Luque F J, Castro A, Medina M, Martinez A. Donezepil-tacrine hybrid related derivatives as new dual binding site inhibitors of AChE. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2005.13: 6588-6597.
9. Kapkova P, Akptuzun V, Frey P, Erciyas E, Holzgrabe U. Search for dual function inhibitors for Alzheimer's disease. Synthesis and biological activity of acetylcholinesterase inhibitors of pyridinium-type and their A beta fibril formation inhibition capacity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2005.
10. Helmuth L. New Alzheimer's Treatments that may ease the mind. *Science*. 2002; 297: 1260 – 1262.
11. McGeer P, McGeer E. Is there a future for vaccination as a treatment for Alzheimer's disease?. *Neurobiology of aging*. 2003; 24: 391 – 395.
12. Hirschfield G M, Hawkins P N. Amyloidosis: new strategies for treatment. *The international Journal of Biochemistry&Cell Biology*. 2003; 35: 1608 – 1613.
13. Dominguez D. I, De Strooper B. Novel therapeutic strategies provide the real test to the amyloid hypothesis of Alzheimer's disease. *Trends in Pharmacological Sciences*. 2002; 23: 324 – 330.
14. Neve L R, McPhie L D. The cell cycle as a therapeutic target for Alzheimer's disease. *Pharmacology&Therapeutics*. 2005: 2-15.
15. Alzheimer's Association; [www.alz.org](http://www.alz.org). Accessed January 2006
16. The Rubins; [www.therubins.com/aging](http://www.therubins.com/aging). Accessed January 2006