

ОГЛЯДИ

УДК 616.8-00:577.3:576.32/36:576.3

О.П. Костюк, Т.Ю. Король, П.Г. Костюк

Молекулярні та клітинні механізми факторів патогенезу хвороби Альцгеймера

При вивченні нейрональних патологій було виділено низку таких нейродегенеративних захворювань, як хвороба Альцгеймера та Паркінсона. Хвороба Альцгеймера характеризується наявністю когнітивних порушень та практично повним погіршенням пам'яті. Вважається, що в основі цих патологічних змін є утворення сенільних бляшок (переважно навколосудинної локалізації), основним структурним компонентом яких є пептид β -амілоїд, а також зміна кальцієвого гомеостазу та синаптичної пластичності. За сучасними даними в порушенні кальцієвого гомеостазу переважно лежить зміна проникності мембрани нейронів, зокрема для іонів кальцію, а також функціонування ендоплазматичного ретикулума і довготривалих потенціалів та депресії. Отже, в цьому огляді ми намагалися розглянути порушення внутрішньоклітинних кальційрегулювальних структур (зокрема мітохондрій, ендоплазматичного ретикулума), кальцієвих каналів, а також зміни механізмів синаптичної пластичності та спробувати за допомогою аналізу даних літератури з'ясувати, який все ж таки процес може бути більш вагомим при виникненні та розвитку хвороби Альцгеймера.

Ключові слова: хвороба Альцгеймера, амілоїд, кальцієвий гомеостаз, синаптична пластичність, мітохондрія, ендоплазматичний ретикулум, кальцієві канали.

Загальна характеристика хвороби Альцгеймера. Хвороба Альцгеймера (ХА) характеризується патологічними змінами на рівні гіпокампа. Вони включають погіршення пам'яті, здатності до навчання, функціонування синапсів, а також прогресуючу деменцію, зниження енергетичного статусу нейронів, що в результаті спричинює когнітивні синдроми та порушення руху на пізніх стадіях розвитку хвороби. Експериментально було показано, що важлива роль у патогенезі ХА належить пептиду β -амілоїду ($A\beta$), який виникає з білка-попередника амілоїдного протеїну (APP, від англ. amyloid precursor protein). Цей процес може інтенсифікуватися внаслідок молекулярних дефектів на аутосомально-домінантному рівні. Надмірне накопичення $A\beta$ призводить до утворення сенільних бляшок

в мозку частіше на рівні дендритів. Водночас деякі дослідники висунули припущення, що у розвитку цього захворювання може мати значення гіперфосфорилування тау білка (МАРТ від англ. microtubule associated protein tau) та енергетичні зміни клітин [28, 86]. Гіперфосфорилування тау білка призводить до різних типів деменції, включаючи фронтотемпоральну, яка характеризується утворенням «клубочків», котрі поступово розповсюджуються на ділянку гіпокампа [10]. Було зазначено, що таким змінам може сприяти пресинілін 1 [61, 82]. Проте для того, щоб гіперфосфорилування тау білка мало суттєве значення у розвитку ХА необхідне попереднє утворення $A\beta_{1-42}$. Але навіть при одночасному зниженні його концентрації та гіперфосфорилуванні тау білка патологічний процес буде продовжу-

© О.П. Костюк, Т.Ю. Король, П.Г. Костюк

ватися. Крім того, до такого самого ефекту може призводити тривала імунізація [40].

Одним з факторів, які можуть впливати на розвиток ХА, є наявність аполіпропротеїну Е4 (апоЕ4). Всього існує 4 його форми [80]. Було показано, що мутація гена, який кодує апоЕ, спричинює підвищене утворення сенільних бляшок та вмісту фосфорильованого тау білка [30]. Висунуто низку припущень щодо того, як наявність апоЕ4 може корелювати з утворенням сенільних бляшок [20, 26]. Зокрема, експериментально було показано, що апоЕ4 виділяється з астроглії та на відміну від інших ізоформ викликає підвищення вмісту А β [45, 46]. Проте деякі автори припускають існування взаємозв'язку апоЕ4 і гіперфосфорильовання тау білка. Було встановлено зв'язок між апоЕ та глікогенсинтетазкіназою 3 (GSK3) [11, 16]. Подальші дослідження показали, що цей тип кінази є найбільш важливим у процесі фосфорильовання тау білка [36]. Частина з цих експериментів була проведена на культурі клітин гіпокампа. При цьому тісний зв'язок між тау білком та синтетазкіназою не обов'язковий, остання може поєднуватися з рецепторзв'язаними протеїнами (LRP), розташованими на поверхні мембрани нейронів. Припускається, що в механізмах розвитку ХА основну роль відіграють LRP5 і LRP6 [15, 65].

APP є інтегральним мембранним глікопротеїном, "дозріває" при проходженні відповідного секреторного шляху. У послідовності APP було ідентифіковано певні структурні домени. Зовнішньоклітинна ділянка набагато більша за внутрішньоклітинну та поділена на домени E₁ і E₂. Перший містить декілька субдоменив: домен, подібний до фактора росту (4GPO), металозв'язувальна петля, домен-інгібітор серинової протеази тощо, а другий може зв'язувати протеоглікани в зовнішньоклітинному матриці.

Було встановлено, що ген, який кодує APP, локалізований в 21-й хромосомі

людини та містить 18 екзонів. APP піддається протеолітичному процесові, в результаті якого відбувається продукування його фрагментів. Він розщеплюється трьома протеазами родини секретаз: α - та β -секретази (остання вивільнює N-кінець А β) відщеплюють майже весь зовнішньоклітинний домен і вивільнюють C-кінець частини молекули APP. γ -Секретаза розщеплює частину APP, яка занурена в мембрану, внаслідок чого вивільнюється А β -й фрагмент [33, 52].

Став очевидним той факт, що агрегований А β *in vivo* прискорює хронічний деструктивний запальний процес у мозку. Так, було виявлено, що у безпосередній близькості від місць відкладень сенільних бляшок у мозку пацієнтів з ХА активується мікроглія та астроцити. Ці два типи клітин є первинними посередниками запального процесу в центральній нервовій системі (ЦНС) завдяки продукуванню великої кількості таких прозапальних молекул, як система комплементу, цитокіни тощо. Оскільки синтез APP регулюється інтерлейкінами (IL-1), це насамперед призводить до дефектного циклу. У результаті такого відкладення А β стимулює мікрогліальну активність і продукування цитокінів, що викликає навіть вищу експресію APP. Кульмінація даного процесу полягає в деструкції нервових клітин, імовірно, завдяки продукції вільних радикалів активованою мікроглією або внаслідок руйнування нейронних мембран [34].

Найбільший інтерес у процесі амілоїдогенезу викликає γ -секретаза – мультисубодиначний ферментативний комплекс. Останній є інтегральним мембранним білком, що розщеплює APP у межах трансмембранного домену. γ -Секретазний комплекс ще не повністю описаний, але відомо, що він складається з чотирьох окремих білків: пресеніліну (PS), нікастріну, APH1 і APH2 (підсилювач пресеніліну). Було показано, що мутації гена, який кодує

пресенілін, можуть бути головним генетичним фактором ризику ХА [3, 35, 85]. γ -Секретаза може розщеплювати APP в багатьох місцях, призводячи до появи пептиду довжиною від 39 до 42 амінокислотних залишків. A β з довжиною молекули у 40 амінокислотних залишків (A β ₁₋₄₀) є найбільш загальною формою, а (A β ₁₋₄₂) – найчутливішою до конформаційних змін, які призводять до амілоїдного фібрилогенезу.

Підсумовуючи отримані дані можна припустити, що однією з можливих ліній розвитку ХА є утворення A β і гіперфосфорилювання тау білка при наявності апоЕ4 [86]. Крім того, слід мати на увазі, що при цій хворобі суттєві значення можуть мати β - (BACE1), α - та γ -секретази. Найважливішою з них є BACE1, оскільки зниження її активності практично призводить до повного зниження вмісту A β та до покращення процесів запам'ятовування [57]; водночас підвищення вмісту BACE1 знижує енергетичну здатність клітини, що різко підвищує амілоїдогенез. Нарешті було з'ясовано, що важливу роль при розвитку зазначеної хвороби відіграє також мутація пресиніліну [35].

Механізми порушення кальцієвого гомеостазу при ХА. Нейротоксичність, зумовлена впливом A β , може мати відношення до змін внутрішньоклітинної концентрації кальцію. Експериментально було підтверджено, що застосування блокаторів кальцієвих каналів, факторів росту і цитохалазинів призводило до зменшення токсичного впливу, викликаного наявністю A β . Також було показано, що останній знижує залежну від натрію акумуляцію кальцію у нейронах фронтальної кори мозку пацієнтів з ХА, що прямо підкреслює порушення кальцієвого гомеостазу при цій патології [97].

Функціонування таких внутрішньоклітинних структур, як ендоплазматичний ретикулум, мітохондрії, Na⁺-Ca²⁺-обмінник, виділення нейротрансмітерів, екзотозитоз,

а також розвиток апоптозу залежать від концентрації іонів кальцію. Тому зміни кальцієвих сигналів, безумовно, можуть спостерігатися при ХА.

Експериментально було виявлено багато порушень у кальцієвому гомеостазі та секреції глутамату при ХА, проте ці дані були дуже суперечливі. Спочатку не могли знайти точного зв'язку між цими змінами та безпосередніми симптомами захворювання. Деякі дослідники визначили, що вміст кальцію в клітинах при розвитку ХА підвищується, інші вказували, що він знижується, треті вважали, що ця патологія лише модулює кальцієві сигнали. Можливо, це пояснюється різними схемами її моделювання або різними видами A β , який використовувався для цих експериментів. Разом з тим суттєве значення мав різний ступінь визначення оксидативного стресу та порушення ензиматичних систем [32]. Наші результати показали, що базальний вміст кальцію у цитоплазмі нейронів при інкубуванні їх з підвищеною концентрацією A β ₁₋₄₂ був збільшеним [55].

Нині більшість дослідників вважає, що основними порушеннями кальцієвого гомеостазу при ХА є зміна функціонування ендоплазматичного ретикулума, кальцієвих каналів, мітохондрій, синаптичної передачі, а також секреції нейротрансмітерів. Експериментально було показано, що мутація пресиніліну 1 може призводити до порушення функціонування мітохондрій, що в свою чергу зумовлює перевантаження синапсів кальцієм і викликає апоптоз [69]. Поряд з цим при спадкових випадках ХА зміни вмісту кальцію, як правило, також пов'язані зі збільшенням виділенням його з ендоплазматичного ретикулума та підвищенням активності кальційрегулювальних протеаз. Проте і нині невідомо, чи існує зв'язок між гіперекспресією APP і порушеннями кальцієвого гомеостазу.

Початковими дослідженнями ХА було встановлено, що підвищене утворення A β

сприяє збільшенню вмісту кальцію в клітинах. Ця зміна кальцієвого гомеостазу є однією з основних причин розвитку хвороби та може викликати патологічні зміни цитоскелета клітин. При використанні трансгенних мишей було виявлено вагоме порушення синаптичної передачі, яке погіршувалося зі збільшенням накопичення А β . Однією з теорій, якою намагалися пояснити це явище, була теорія утворення нових каналів: підвищення вмісту А β сприяло формуванню катіонселективних каналів вбудованих у ліпідний бішар мембрани. Вони могли спричиняти звичайні кальцієві транзєнти при низьких концентраціях А β та утворення кальцієвих хвиль при його підвищенні [56]. Проте інші дослідники вказували, що такі зміни накопичення А β можуть бути проявом клітинного апоптозу в процесі старіння взагалі.

Цікавим є той факт, що виділення кальцію з внутрішньоклітинного депо (переважно рїанодинчутливого ендоплазматичного ретикулума) може посилити генерацію А β . Але ще є питання, які не з'ясовані до кінця і нині. Зокрема, було показано, що при блокуванні SERCA (від англ. Sarco/Endoplasmic Reticulum Ca²⁺-ATPase) вміст А β у нейронах зменшувався, що позитивно впливало на життєздатність нейронів. На сьогодні не існує чітких даних для пояснення цього протиріччя. Можливо, що вихід кальцію з депо відіграє навіть більшу роль у патогенезі ХА, ніж кальцієві канали. Пептид А β може перебувати в розчинній та агрегованій формах. Вважається, що агрегований нерозчинний А β є проапоптотичним і може спричинювати клітинну дегенерацію порушенням кальцієвого гомеостазу. Було представлено низку експериментальних доказів того, що він може зумовлювати нейротоксичні ефекти, впливаючи на іонні канали плазматичної мембрани. Дослідженнями було встановлено, що він також змінює активність по-

тенціалкерованих кальцієвих каналів, як у свіжоізольованих клітинах, так і в нейронних клітинних лініях. Декілька дослідницьких груп за допомогою методу фіксації потенціалу продемонстрували здатність амїлоїду збільшувати кальцієвий струм в нейронах [21]. Інкубація клітинної лінії N1E з А β ₁₋₄₂ протягом 24 год призвела до збільшення активності кальцієвих каналів [33]. Подібне збільшення струму спостерігалось і в експериментах на центральних гранулярних і кортикальних нейронах, де їх попередньо інкубували з А β ₂₅₋₃₅. Було висунуто припущення, що в цьому задїянї потенціалкеровані кальцієві канали L- та N-типу [33, 90].

Одна з частин поліненасичених жирних кислот, з яких під впливом окиснення утворюються токсичні альдегіди – так звані HNE-кислоти 4-гідроксіноненал пригнічує процес гліколізу та одночасно підсилює кальцієві струми через потенціалкеровані кальцієві канали (переважно через L-тип кальцієвих каналів) [81]. Цим було показано, що зовнішньоклітинний кальцій може сприяти апоптозу нейронів внаслідок підвищеного його входу до клітин через кальцієві канали [12, 76]

Важливим моментом при вивченні, як саме А β впливає на клітини, є ідентифікація специфічних мембранних макромолекул-мішеней та оцінка того, як ця взаємодія відображується на функціонуванні клітин. У цьому відношенні були ідентифіковані рецептори плазматичної мембрани, з якими взаємодіє А β : рецептор гліколізованих кінцевих продуктів (RAGE, від англ. receptor for advanced glycation endproduct) [10, 99], α_7 -нікотинний ацетилхоліновий рецептор, протеоглікани, α -5- β -1-інтегрини, серпін і нейротрофін (p75) [9, 70] тощо. Внаслідок взаємодії А β з цими рецепторами можуть запускатися внутрішньоклітинні сигнальні каскади, що призводять до порушення функціонування клітини та навіть їх загибелі.

ХА зустрічається переважно серед людей похилого віку, але саме генетично зумовлені випадки цього захворювання виникають у людей більш молодого віку, що привертає до неї ще більшу увагу [33].

Дослідженнями останніх років було встановлено, що А β може спостерігатись у ліпідному бішарі клітинної мембрани, утворюючи білкову пору. Слід зазначити, що при вивченні бішару мембрани було знайдено також сформовані ним додаткові канали [50, 51]. Згідно з експериментальними даними, останні утворюються спонтанно, але за своїми властивостями схожі на катіонні канали та можуть викликати нерегульований потік кальцію. Для їх виникнення необхідна досить велика концентрація А β . При екзогенному прикладанні 100 нмоль/л А β спостерігався потенціал-залежний кальцієвий струм (1рА/рF) [87], який частково нагадував струм через CRAC-канали.

Зміни тривалої потенціації та депресії синаптичної передачі. Щоб мати чітку змогу детально аналізувати перебіг ХА, слід розглянути механізми розвитку довготривалої потенціації (LTP, від англ. long-term potentiation) і довготривалої депресії (LTD, від англ. long-term depression), а також функціонування таких рецепторів, як NMDA (від англ. N-methyl-D-aspartic acid), AMPA (α -amino-3-hydroxyl-5-methyl-4-isoxazole-propionate), каїнатних, а також вплив відповідних нейротрансмітерів. Було показано, що виникнення синаптичної пластичності зумовлено полегшенням активності пресинаптичних каїнатних рецепторів. Крім того, останні при розвитку цього процесу суттєво впливають на AMPA- та GABA- (від англ. γ -aminobutyric acid) рецептори та підсилюють швидку гомосинаптичну передачу. Цей механізм було відкрито нещодавно та активно вивчається [55].

Пресинаптичні NMDA-рецептори активуються внаслідок виділення ендogenous

глутамату з поступовим підвищенням спонтанних збуджувальних постсинаптичних потенціалів (EPSP) та можливою появою мініатюрних пригнічувальних потенціалів. Цікавим є той момент, що γ -аміномасляна кислота також бере участь у формуванні синаптичної пластичності, пригнічуючи її розвиток [54]. Також показано, що А β прямо впливає на NMDA і холінорецептори та може брати участь при активації AMPA-рецепторів [64]. Проте значення цього механізму при формуванні процесів довготривалої та короткотривалої пам'яті невідоме.

Значно більш широкий інтерес викликає LTP. В її розвитку суттєвий вплив мають пресинаптичні механізми, ауторецепція та задіяні нейрони ділянок CA1, CA3 гіпокампа, пірамідальні клітини гіпокампа. У розвитку LTP каїнатні рецептори відіграють менш вагому роль, ніж NMDA. Їх активація підключає до процесу мигдалеподібного тіла, таламічні та кортикальні аференти. При цьому слід звертати увагу на те, що глутаматні рецептори можуть бути як іоно-, так і метаболічними, і мати різне значення в розвитку потенціації та депресії. Цікаво, що в ділянці CA3 гіпокампа виявлено інтернейрони, які виділяють соматостатин, але природа згаданого явища до кінця не з'ясована. В деяких випадках цьому також можуть сприяти каїнатні рецептори, що підсилюють деполяризацію пресинаптичних мембран. Останнє може бути зумовлене інактивацією калієвих каналів або завдяки полегшенню активації кальцієвих каналів. Можливе значення каїнатних рецепторів у цьому процесі обговорюється, хоча є дані що навіть дуже незначна зміна передавання ними кальцію викликає суттєве збільшення виділення нейротрансмітерів. Цікавим і малодослідженим є те, що при активації пресинаптичних структур активуються канали, що вивільнюють кальцій. При розвитку LTP ендоплазматичний ретикулум є однією з найбільш задіяних внутрішньо-

клітинних кальційрегулювальних структур. Водночас відмічається, що при активації GluRs (від англ. glutamate receptors), які відносяться до метаботропних рецепторів (тобто G-білкового сигнального шляху), синаптична передача гальмується. Було зроблено припущення, що в такому разі головну роль відіграють кайнатні рецептори. Переважно такі зміни відмічаються в пірамідальних клітинах, а в гіпокампі вони активуються різко (за типом вибуху) [44, 49]. Якщо при цьому одночасно виділяється NO, то може розвинути LTP. У цьому процесі також беруть участь АМРА-рецептори. Вони опосередковують активність каналів внаслідок зниження надходження глутамінової кислоти [79]. Припускається, що механізми, які можуть брати участь в цьому процесі, є протилежними тим, котрі задіяні у розвитку LTP. До них належить: пригнічення пресинаптичних кальцієвих каналів (наприклад P/Q потенціалзалежних кальцієвих каналів), прямий вплив глутамату на β , γ -субодиниці G-білків, а також пригнічення активності протеїнкінази C і фосфоліпази C у нейронах гіпокампа [72, 102].

Пресинаптичні NMDA-рецептори можуть залучатися у розвиток LTD внаслідок зміни виділення нейротрансмітерів і впливу нейромодуляторів. Нарешті, можливе випрямлення вхідних кальцієвих струмів без прямого впливу на кальцієві канали [19, 43, 25].

Таким чином, у розвитку LTP і LTD має значення пресинаптична активність нейронів і модуляція кайнатних і GABA-рецепторів [43]. При LTP вагомою є тривалість зміни активності NMDA-рецепторів і синапсів, оскільки від цього певною мірою залежить, що буде наслідком їх функціонування – LTP чи LTD. Водночас, наприклад, моховисті волокна не мають відношення до зміни синаптичної активності, хоча вони знаходяться в активній ділянці, яка відповідає за розвиток LTP у гіпокампі [74].

Найчастіше механізми розвитку синаптичної пластичності вивчають на нейронах ділянки CA1 гіпокампа. Аплікація γ -аміномасляної кислоти на ці нейрони викликає збільшення частоти розвитку LTP (0,25-0,5 Гц). Було також показано, що існує частота, при якій зворотне пригнічення γ -аміномасляної кислоти може, навпаки, викликати індукцію LTP (вплив на А-рецептори γ -аміномасляної кислоти). Обидва процеси можуть бути частково зворотними та швидко зменшуватися, оскільки ці форми пластичності переважно залежать від постсинаптичного потенціалу, і навіть часткові модифікації синапсів або їх груп можуть призводити до їх зменшення. Було показано, що існує сукупність змін у синаптичній силі збудження та щільності іонних каналів, яка може регулювати постсинаптичну активність. Більше того, негативний зв'язок може підтримувати нейрони на динамічному рівні [7].

Слід зазначити, що при зворотному інгібуванні швидкість розвитку LTP може бути більшою, ніж LTD, та це є можливим лише при антидромній стимуляції. При зворотній стимуляції активність входу кальцію до пірамідальних нейронів дещо знижується. Нещодавно було показано, що негативна регуляція може бути пов'язана з кальційкальмодулінзалежною кіназою. Вищезазначені результати залежать від віку тварин, які використовувалися в дослідженнях, і точності виготовлення препаратів, тому зробити остаточний висновок на їх основі не можна. Steele і Mauk [88] припускають, що зворотний механізм виникнення LTP та LTD і модуляція їх взаємодії можуть мати суттєве значення у розвитку синаптичної пластичності.

Зміни певних механізмів цих процесів можуть мати також значення на пізніх стадіях розвитку ХА. Дія глутамату на активність NMDA- та АМРА-рецепторів переважно в ділянці гіпокампа є критичною

для розвитку захворювання. При усуненні кальцію з розчину, в якому вирощувалася культура клітин гіпокампа, відбувалося зворотне пригнічення активності вищезазначених рецепторів. Водночас при додаванні $A\beta_{1-42}$, створений ефект для NMDA-та AMPA-рецепторів відновити було неможливо. Крім того, $A\beta$ викликає пригнічення аксонального транспорту, що насамперед пов'язано з внутрішньоклітинною агрегацією актину. Цей ефект може бути знятий при умові переведення актину у деполімеризований стан. Отже, при ХА знижується активність аксонального транспорту та ріст нейронів [41, 42].

Нейрофіламенти, що переносяться аксонами повільно, та які, як вважалося, мають переважне значення при ХА, можуть зберігатися і швидкий аксональний транспорт завдяки наявності мікротрубочок та кінезину [78]. Проте іншими дослідниками було показано, що APP може зменшувати його та транспорт ацетилхолінових везикул. Додавання у цих умовах глутамату було зворотним. Проте $A\beta$, прикладений у таких самих дозах, викликав некроз нейронів [94]. При цьому відмічалась інтенсивна полімеризація білка анексину [95], вхідні незворотні струми та збільшення вмісту глутамату. Більше того, утворювалися бляшки навіть у астроцитах [38]. При цих процесах також спостерігалось значне зменшення кількості синапсів у мозку та їх ушкодження вже на ранніх етапах розвитку хвороби. Наприклад, прикладання протягом 30 хв 100 мкмоль/л глутамату призводило до суттєвого зниження як ретроградного, так і антероградного аксонального транспорту. Але при зниженні його кількості цей ефект зникав. AMPA-рецептори також мали негативний вплив на аксональний транспорт в обох напрямках. Результати досліджень підтверджувалися і тим, що такий антагоніст глутаматних рецепторів, як МК-801, або антагоніст AMPA-рецепторів CNQX призводили до повного пригнічення аксо-

нального транспорту. Показано, що останнє виникає уже на самому початку підвищення вмісту глутамату.

При початковому підвищенні концентрації кальцію, глутамату та $A\beta$ в нейронах починалися зміни цитоскелета. Створюючи сенільні бляшки, $A\beta$ сприяє утворенню філоподій, що виникають при полімеризації актинових філаментів. $A\beta$ має спорідненість до рецепторів, збудження яких підвищує вміст кальцію у клітині внаслідок його входу ззовні. Це може бути ще однією з причин токсичності $A\beta$, яка, як вже вказувалося, може частково пригнічуватися блокуванням потенціалкерованих кальцієвих каналів або NMDA-рецепторів.

Зміни функціонування гліальних клітин. Дослідження функціонування астроцитів при ХА виявили спорадичні осциляції кальцію в цих клітинах, які починали виникати через 10–15 хв після збільшення концентрації $A\beta$. Дослідники висунули гіпотезу, що в астроцитах, як і в нейронах, є канали, утворені самим $A\beta$ [2, 4]. Було також зроблено припущення, що ці гіпотетичні неселективні канали можуть сприймати зміни рН і натрію, і тим самим викликати флуктуацію цитозольного кальцію [24]. Інше припущення полягало в тому, що астроцити „відтягують” на себе частину глутамату та уповільнюють розвиток хвороби [1]. При цьому зазначені кальцієві сигнали у нейронах кори та гіпокампа могли взагалі не розвиватись, але паралельно у самих астроцитах утворювалися кальцієві хвилі (як правило, такі хвилі характерні для незбудливих клітин), які пригнічувалися цинком [62]. Цікавим є те, що таке явище можливе лише серед клітин з уже ушкодженими мембранами. На структуру цих каналів впливав холестерол. Залишається практично не вивченим і суперечливим питання про те, яким чином останній може утворювати канали як в астроцитах, так і в нейронах, і чому в першу чергу гинуть нейрони, а астроцити ще певний час функ-

ціонують [67].

Початковим механізмом порушень у розвитку LTP і LTD є зміна накопичення кальцію в пресинаптичних закінченнях. Слід зазначити, що у осіб молодого віку з ХА при короткочасній зміні пластичності навіть підсилюється короткочасна пам'ять, хоча, здається, слід було б чекати підвищення LTD. Надалі порушувалася LTP та посилювалася LTD. При мутаціях гена, який кодує пресенілін (PS1), недостатність LTP взагалі розвивалася дуже швидко (уже через 6 міс після перших симптомів хвороби). Такий самий перебіг подій відмічався при фосфорилуванні тау білка. Підсилює вищезгадані порушення і білок AISD. Було показано, що ці білки є в клітинах і здорових людей та пов'язані з транскрипційним фактором. Але все більше дослідників схиляється до думки, що головною причиною виникнення ХА є Аβ, який сприяє подальшим змінам.

Зміни внутрішньоклітинних кальційрегулювальних структур. В патологічному процесі ХА можуть брати участь не лише мембранні, але і внутрішньоклітинні (переважно кальційрегулювальні) структури. Початковими дослідженнями було встановлено, що у нокаутних щурів або у щурів з мутацією гена PS1 збільшується вивільнення кальцію з ендоплазматичного ретикулума, що може прискорювати процеси нейродегенерації клітин [18]. Вищезгаданий пресенілін забезпечували розщеплення клітинних білків, оскільки він пов'язаний з γ-секретазою. Вперше це було показано на клітинах лінії PC12 (клітини лінії феохромоцитом) [93]. Така зміна може призводити до порушення різних структур, відповідальних за виникнення кальцієвого сигналу. Також продемонстровано зміну процесу виділення кальцію з інозитолтрифосфатного (IP₃) ретикулума [92]. Було показано, що виділення кальцію при активації ріанодинових рецепторів ендоплазматичного ретикулума, в якому утримується

від 100 до 500 нмоль/л Ca²⁺, також може збільшити утворення Аβ [75]. Також було відмічено, що зниження вироблення SERCA призводить до зниження продукції Аβ, в той час як збільшення – до підвищення її вмісту [31]. Було показано, що підвищення продукції Аβ негативно впливає на кальцієвий гомеостаз у нейронах культури дорсальних гангліїв щурів [37]. Тривалий час вважали, що це і є початок зміни внутрішньоклітинної організації, але потім знову повернулися до думки, що головним є утворення Аβ. Паралельно з цим було показано, що зміни вмісту таких протеїнів, як кальбідин, кальретикулін не відмічалось [87]. Отже, ще одним чинником, який призводить до розвитку ХА, є порушення функціонування ендоплазматичного ретикулума та фосфорилування тау білка.

Бласс і Гібсон [29] – одні з перших запропонували ідею, що ХА обов'язково супроводжується порушенням енергетичного метаболізму нейрона. Спочатку дослідження були сфокусовані на піруватдегідрогеназі та α-кетоглутаратдегідрогеназі – ферментах, які регулюють швидкість циклу Кребса. Знижена швидкість метаболізму нейронів мозку є одним з найкраще описаних нині порушень при ХА [47]. Існують дані позитронно-емісійної томографії, які демонструють уповільнення метаболізму нейронів скронево-тім'яної ділянки кори головного мозку пацієнтів з ХА.

Найбільш поширеним порушенням мітохондріальних електронно-транспортних ферментів при ХА є дефіцит цитохром-оксидази с. Було показано зниження її активності як у центральних нейронах, так і в периферичних тканинах, таких, як тромбоцити крові пацієнтів з ХА [58, 59].

Надалі за допомогою гібридного методу, суть якого полягає у перенесенні мітохондрій від живих хворих в клітинні лінії, в яких їх немає, була полегшена можливість дослідження енергетичного метаболізму при ХА. Експерименти з використанням

цього методу показали, що навіть після перенесення мітохондрій зі зниженим вмістом цитохромоксидази с з тромбоцитів хворих на ХА в здорові клітини, в останніх зберігається дефіцит цитохромоксидази с. Крім того, у досліджених гібридних лініях клітин спостерігалось підвищене продукування вільних радикалів, погіршена внутрішньоклітинна буферизація кальцію, підвищена внутрішньоклітинна концентрація кальцію та чутливість до IP_3 -опосередкованого вивільнення кальцію [14, 71].

Була відмічена важлива роль мітохондрій у процесі апоптозу при ХА [17]. Відомо, що мітохондрії містять молекулярний “пусковий механізм” для ініціації апоптозу у вигляді неспецифічного мітохондріального внутрішньомембранного каналу – мітохондріальної пори. Утворення цієї пори спричинює колапс електрхімічного градієнта й активацію апоптозіндукуючих факторів і каспаз. Відкриття пори може бути спричинене надлишковим захопленням кальцію, зниженням синтезу АТФ тощо. Таким чином, значне зниження мітохондріального енергетичного метаблізму та хронічне посилення впливу оксидативного стресу теоретично може активувати утворення мітохондріальної пори та ініціювати апоптоз, що потенційно зумовлює нейродегенерацію при ХА.

Як доповненням цих досліджень вивчали вплив А β на ізольовані мітохондрії. Наприклад, у мітохондрій нейронів мозку щурів, які інкубувались з А β , було відмічено пригнічення мітохондріального дихання, зниження активності β -кетоглутаратдегідрогенази та піруватдегідрогенази [6]. Інші дослідники показали, що мітохондрії клітин печінки, на які впливали А β , виявляли зменшення мембранного потенціалу та схильність до матриксного набухання, водночас мітохондрії нейронів мозку були менш чутливі до впливу А β [77].

Важливо було відшукати потенційні мішені впливу А β . Одним з таких канди-

датів виявився фермент родини дегідрогеназоредуктаз, здатний зв’язувати А β . Він був названий β -амілоїдалкогольдегідрогеназа – АВАД (від англ. amyloid в alcohol dehydrogenase). АВАД здатна зв’язуватися з А β , внаслідок чого клітина зазнає патологічних функціональних змін. Цей фермент було виявлено як в ендоплазматичному ретикулумі, так і в мітохондріях різних типів клітин. У нейронах АВАД локалізована в мітохондріях, де цей комплекс відіграє важливу роль у підтриманні енергетичного метаболізму клітини [29, 69, 91, 100].

Зв’язування А β з АВАД призводить до порушення структури ферменту, виключаючи його з метаболічного ланцюга, в результаті чого мітохондрії починають активно продукувати вільні радикали. У трансгенних мишей з підвищеним рівнем експресії як АВАД, так і А β (за допомогою застосування мутантного гена, що кодує АРР) було відмічено прогресуюче погіршення пам’яті, здатності до просторової орієнтації та інші патологічні зміни. На основі цих даних можна припустити, що мітохондріальна АВАД, яка в нормальних умовах відіграє одну з ключових ролей у підтриманні функціонування мітохондрій, має здатність перетворюватися на патогенний фактор при надлишку А β у середовищі.

Відомо, що внаслідок порушення дихального ланцюга та зміни вироблення АТФ мітохондрії активно можуть продукувати такі вільні радикали, як O_2^- , OH^\cdot , H_2O_2 . Зовнішня мембрана цієї органели є проникною для іонів кальцію, а внутрішня має кальцієвий уніпортер. Через останній кальцій надходить в матрикс, де він зв’язується з фосфатами та бере участь у циклі Кребса, а виводиться з мітохондрій за допомогою Na^+-Ca^{2+} та $Ca^{2+}-H^+$ -обмінників. Мітохондріальний мембранний потенціал становить – 220 мВ, при його зниженні активність мітохондрій зменшується. Таким чином, градієнти кальцію, натрію та

особливо водню впливають на потенціал мітохондріальної мембрани. При ХА може виникнути порушення кетоглутаматдегідрогенази, яке призводить до зниження вироблення глутамату. Крім того, нещодавно було з'ясовано, що мітохондрії знаходяться в функціональному зв'язку з ендоплазматичним ретикулоном [23].

Мітохондрії можуть активно транспортуватись як в ретроградному, так і антероградному напрямку. Локальні зміни нейрональної активності та енергетичного метаболізму можуть призводити до порушення їх транспортування. Точні механізми, які задіяні в таких транспортних процесах, до кінця не відомі. Можливо, в них також бере участь нейротрофічний фактор росту. Крім того, зниження мітохондріального потенціалу може призводити до спорадичних гібридів ХА [77].

Мітохондрії розрізняються за кількістю та розташуванням у різних клітинах та їх частинах [39]. Так, наприклад, було показано, що в аксонах їх кількість значно більша, та вони метаболічно більш активні, ніж у дендритах. До таких особливостей дуже чутливі відповідні синапси, тому мітохондрії мають велике значення для синаптичної пластичності. Зниження активності гуанінтрифосфатази зменшує їх кількість у дендритах і викликає втрату синапсів і з'єднань дендритів, а підвищення підсилює пластичність синапсів та їх стійкість до можливих уражень. Крім того, білок синтафілін здатний впливати на кальцієву сигналізацію в мітохондріях і синаптичних терміналях [48]. Зміни в регуляції кальцію та енергетичного метаболізму мітохондрій можуть мати значення для синаптичної пластичності при ХА. Посттетанічна потенціація, яка є однією з форм пластичності і виникає при стійкому підвищенні вмісту пресинаптичного кальцію, пригнічується при порушенні захоплення чи віддачі кальцію мітохондріями [60]. Іншими дослідженнями показано, що

пресинаптичні мітохондрії відіграють основну роль у підтриманні синаптичної передачі внаслідок виділення кальцію [8]. Крім того, не виключено, що патологічна модифікація структури мітохондрій та оксигенації РНК і ДНК ймовірно призводить до порушення пам'яті та до нейродегенеративних захворювань [63]. BDNF може сприяти активності мітохондрій при підсиленні комплексу першого мітохондріального ланцюга [84]. Таким чином мітохондрії можуть суттєво впливати на стан дендритів за рахунок кіназ, глутаматних рецепторів і циклічних нуклеотидів [64].

За допомогою томографічних досліджень було виявлено зміни енергетичного метаболізму та вмісту кальцію в нейронах різних ділянок гіпокампа при ХА. У хворих різко знижувався вміст цитохромоксидази с, що є також наслідком порушення функціонування мітохондрій. Паралельно було відмічено виникнення перекисного окиснення ліпідів. Проте основна причина порушення мітохондрій при ХА до кінця не з'ясована. Більшість дослідників вважає, що в основі зміни їх функції лежить підвищення захоплення ними кальцію, що зумовлює зниження потенціалу мембрани та підвищення можливості виникнення МРТР (від англ. mitochondrial permeability transition pores) [13]. Не виключено, що певне значення можуть мати цераміди, які викликають гідроліз мембранних білків і можуть призвести до мітохондріальнозалежної смерті. Крім того, вони знижують аксональний рух мітохондрій [73]. Всі ці зміни призводять до підсилення утворення А β та прискорення розвитку хвороби.

Таким чином, ці факти вказують на безпосередню роль мітохондрій у нейродегенерації при ХА, а також припускають, що рання терапевтична "корекція" їх роботи може бути ефективною при запобіганні розвитку та прогресуванні цієї патології у людей похилого віку. Також терапевтичний підхід до лікування ХА має включати як

інгібітори β - та γ -секретаз, так і кальцій-регулювальні препарати [68].

Зміна різних типів клітинних сигнальних шляхів. Відома ціла низка сигнальних шляхів, порушення яких також може прискорювати розвиток ХА, основними з яких є сАМР (від англ. сАМР – cyclic adenosine monophosphate)- та МАРК- (від англ. МРКА – mitogen-activated protein kinase)-залежні. МАРК-залежний шлях є необхідним для виникнення та формування пам'яті гіпокампа. Його регуляція може відігравати критичну роль при формуванні синаптичної пластичності [5]. Активація цього шляху безпосередньо впливає на нейрони СА1 зони гіпокампа через два різні пули: ядерний і постсинаптичний. Нормальна активність цього шляху тренує гіпокампозалежну пам'ять при наявності кальційзалежної аденілатциклази [96, 98]. Підтримати його також можуть додаткові кінзи, однією з яких є зовнішньоклітинна сигналізована кінза (ЕРК). Остання є важливою для формування синаптичної пластичності, фосфорилування білків і відповідає за перебіг нейрональної активності. Найбільш вивчений цей сигнальний шлях у нейронах ділянці СА1 гіпокампа. Для ХА має значення також те, що МАРК може регулювати синтез інших білків, а також активність дендритних калієвих каналів і глутаматних кальцієвих рецепторів [53, 101]. Таким чином, ці факти вказують на те, що формування та порушення пам'яті може залежати від МАРК-регульованих процесів, включаючи синаптичну активність, синтез дендритних протеїнів і транскрипцію генів [89]. Sindreu [84] показав, що його стимуляція також залежить від активності кальційзалежної аденілатциклази та може призвести до активації CREB. Також МАРК-залежний шлях може перехрещуватися з сАМР-залежним.

Відомо, що сАМР – це вторинний посередник для активації рецепторзалежних

каналів і розвитку синаптичної пластичності та пам'яті. Він призводить до активації сАМР-залежної протеїнкінази А (РКА), яка регулює рецепторзалежні канали. Зокрема, РКА підсилює фосфорилування АМРА. Цей шлях має суттєве значення лише для нервової системи та може перехрещуватися з сигнальним шляхом МАРК. При його uszkodженні, яке спостерігається при ХА, відбувається патологічна зміна рецепторкероаних іонних каналів і синаптичної пластичності. Цей ефект було показано на гіпокампальних зрізах ділянки СА1 [27]. Згадані вторинні посередники не є головними у формуванні LTP і LTD та виникненні нейродегенеративних захворювань, проте вони можуть суттєво впливати на обмін кальцію, від якого залежать вищезгадані процеси. Було також показано, що в нейронах гіпокампа є рецептори таких нейромодуляторів, як ендоканабіноїди та серотонін. Порушення виділення останніх може впливати на розвиток ХА.

Гіпофізарний аденілатциклазаактивований поліпептид (РАСАР) є одним з нейропротекторних факторів. РАСАР спроможний зменшувати виникнення вільних радикалів, що може відігравати критичну роль у патогенезі нейродегенеративних захворювань. Він зменшує кількість церамідів (метаболітів сфінголіпідів), які включаються в процес апоптозу клітини при ХА. РАСАР захищає нейрони від цитотоксичності А β та пов'язаний з циклом сАМР і МАРК [22].

Таким чином, порушення фізіологічних процесів у структурах центральної нервової системи, насамперед гіпокампа, можуть призводити до патологічних змін синаптичної пластичності, яка є ключовим процесом у формуванні пам'яті. Порушення співвідношення таких важливих складових пластичності, як LTD і LTP (згідно з сучасними теоріями – підвищення LTD та зниження LTP) можуть призводити до розвитку ХА. Більшість дослідників вва-

жають, що в основі цього процесу лежить утворення Аβ на основі зміни кальцієвого гомеостазу.

О.П. Костюк, Т.Ю. Король, П.Г. Костюк

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ФАКТОРОВ ПАТОГЕНЕЗА БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

При изучении нейрональных патологий было выделено ряд таких нейродегенеративных заболеваний, как болезнь Альцгеймера и Паркинсона. Болезнь Альцгеймера характеризуется наличием когнитивных нарушений и практически полным ухудшением памяти. Принято считать, что в основе этих патологических нарушений лежит образование сенильных бляшек (преимущественно околососудистой локализации), основным структурным компонентом которых есть пептид β-амилоид, а также изменение кальциевого гомеостазу и синаптической пластичности. Согласно результатам недавних исследований, в основе нарушения кальциевого гомеостазу преимущественно лежит изменение проницаемости мембраны нейронов, в частности для ионов кальция, а также функционирования эндоплазматического ретикулума и процессов долговременной потенциации и долговременной депрессии. Таким образом, в этом обзоре мы пытались рассмотреть нарушение внутриклеточных кальцийрегулирующих структур (в частности, митохондрий, эндоплазматического ретикулума), кальциевых каналов, а также изменения механизмов синаптической пластичности и попытаться с помощью анализа данных литературы выяснить, какой же всё-таки процесс может быть более весомым при возникновении и развитии болезни Альцгеймера.

Ключевые слова: болезнь Альцгеймера, амилоид, кальциевый гомеостаз, синаптическая пластичность, митохондрия, эндоплазматический ретикулум, кальциевые каналы.

E.P. Kostyuk, T.Y. Korol, P.G. Kostyuk

MOLECULAR AND CELLULAR MECHANISMS OF ALZHEIMER'S DISEASE DEVELOPMENT

Neuropathological studies classified several neurodegenerative illnesses among which Alzheimer's and Parkinson's diseases are the most frequent. Alzheimer's disease is characterized by the presence of cognitive syndromes and almost complete destruction of memory. It is suggested that the basis of these syndromes is formation of senile plaques the main component of which is β-amyloid-42 peptide (mainly in hippocampal neurons), changes in calcium homeostasis and synaptic plasticity. Recent data indicate that alterations of calcium homeostasis connected with changes in neuronal membrane and functioning of the endoplasmic reticulum and leads to

changes in long-term potentiation and long-term depression. Therefore the task of this review was the analysis of alterations in the functioning of structures involved in calcium homeostasis (including mitochondria, endoplasmic reticulum, calcium channels) as well as processes leading to changes in synaptic plasticity. Beside this we intend to clarify (mainly from the data of literature) which process is the most ponderable in the development of Alzheimer's disease.

Key words: Alzheimer's disease, amyloid, calcium homeostasis, synaptic plasticity, mitochondria, endoplasmic reticulum, calcium channels.

O.O. Bogomolets Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Abramov A.Y., Canevari L., Duchon M.R. Beta-amyloid peptides induce mitochondrial dysfunction and oxidative stress in astrocytes and death of neurons through activation of NADPH oxidase // *J. Neurosci.* – 2004. – **24**. – P. 565–575.
2. Arispe N., Pollard H.B., Rojas E. Giant multilevel cation channels formed by Alzheimer disease amyloid beta-protein [A beta P-(1–40)] in bilayer membranes // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 1993. – **90**. – P. 10573–10577.
3. Arispe N., Pollard H.B., Rojas E. The ability of amyloid beta-protein [A beta P (1–40)] to form Ca²⁺ channels provides a mechanism for neuronal death in Alzheimer's disease // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* – 1994. – **747**. – P. 256–266.
4. Arispe N., Rojas E., Pollard H.B. Alzheimer disease amyloid beta protein forms calcium channels in bilayer membranes: blockade by tromethamine and aluminum // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 1993. – **90**. – P. 567–571.
5. Athos J., Impey S., Pineda V.V. et al. Hippocampal CRE-mediated gene expression is required for contextual memory formation // *Nat. Neurosci.* – 2002. – **5**. – P. 1119–1120.
6. Beal M.F. Oxidative damage as an early marker of Alzheimer's disease and mild cognitive impairment // *Neurobiol. Aging.* – 2005. – **26**. – P. 585–586.
7. Becker N., Wierenga C.J., Fonseca R. et al. LTD induction causes morphological changes of presynaptic boutons and reduces their contacts with spines // *Neuron.* – 2008. – **60**. – P. 590–597.
8. Billups B., Forsythe I.D. Presynaptic mitochondrial calcium sequestration influences transmission at mammalian central synapses // *J. Neurosci.* – 2002. – **22**. – P. 5840–5847.
9. Bosetti F., Brizzi F., Barogi S. et al. Cytochrome c oxidase and mitochondrial F1F0-ATPase (ATP synthase) activities in platelets and brain from patients with Alzheimer's disease // *Neurobiol. Aging.* – 2002. – **23**. – P. 371–376.
10. Braak H., Braak E. Neuropathological staging of

- Alzheimer-related changes // *Acta Neuropathol.* – 1991. – **82**. – P. 239–259.
11. Brecht W.J., Harris F.M., Chang S. et al. Neuron-specific apolipoprotein e4 proteolysis is associated with increased tau phosphorylation in brains of transgenic mice // *J.Neurosci.* – 2004. – **24**. – P. 2527–2534.
 12. Brorson J.R., Bindokas V.P., Iwama T. et al. The Ca²⁺ influx induced by beta-amyloid peptide 25–35 in cultured hippocampal neurons results from network excitation // *J.Neurobiol.* – 1995. – **26**. – P. 325–338.
 13. Bruce-Keller A.J., Li Y.J., Lovell M.A. et al. 4-Hydroxynonenal, a product of lipid peroxidation, damages cholinergic neurons and impairs visuospatial memory in rats // *J.Neuropathol.Exp.Neurol.* – 1998. – **57**. – P. 257–267.
 14. Butterfield D.A., Drake J., Pocernich C. et al. Evidence of oxidative damage in Alzheimer's disease brain: central role for amyloid beta-peptide // *Trends Mol.Med.* – 2001. – **7**. – P. 548–554.
 15. Caruso A., Motolese M., Iacovelli L. et al. Inhibition of the canonical Wnt signaling pathway by apolipoprotein E4 in PC12 cells // *J.Neurochem.* – 2006. – **98**. – P. 364–371.
 16. Cedazo-Minguez A., Popescu B.O., Blanco-Millan J.M. et al. Apolipoprotein E and beta-amyloid (1–42) regulation of glycogen synthase kinase-3beta // *J.Neurochem.* – 2003. – **87**. – P. 1152–1164.
 17. Chen Q.S., Kagan B.L., Hirakura Y. et al. Impairment of hippocampal long-term potentiation by Alzheimer amyloid beta-peptides // *J.Neurosci.Res.* – 2000. – **60**. – P. 65–72.
 18. Cheung K.H., Shineman D., Muller M. et al. Mechanism of Ca²⁺ disruption in Alzheimer's disease by presenilin regulation of InsP3 receptor channel gating // *Neuron.* – 2008. – **58**. – P. 871–883.
 19. Cochilla A.J., Alford S. Metabotropic glutamate receptor-mediated control of neurotransmitter release // *Ibid.* – 1998. – **20**. – P. 1007–1016.
 20. De Mattos P.S., Del Lama M.A., Toppa R.H. et al. Populational genetic structure of free-living maned wolves (*Chrysocyon brachyurus*) determined by proteic markers // *Braz.J.Biol.* – 2004. – **64**. – P. 639–644.
 21. De S.B., Saftig P., Craessaerts K. et al. Deficiency of presenilin—1 inhibits the normal cleavage of amyloid precursor protein // *Nature.* – 1998. – **391**. – P. 387–390.
 22. Dejda A., Sokolowska P., Nowak J.Z. Neuroprotective potential of three neuropeptides PACAP, VIP and PHI // *Pharmacol.Rep.* – 2005. – **57**. – P. 307–320.
 23. Dubinsky J.M., Levi Y. Calcium-induced activation of the mitochondrial permeability transition in hippocampal neurons // *J.Neurosci.Res.* – 1998. – **53**. – P. 728–741.
 24. Duchon M.R. Roles of mitochondria in health and disease // *Diabetes.* – 2004. – 53 Suppl 1. – P. S96–102.
 25. Dudek S.M., Bear M.F. Homosynaptic long-term depression in area CA1 of hippocampus and effects of N-methyl-D-aspartate receptor blockade // *Proc. Nat. Acad. Sci.USA.* – 1992. – **89**. – P. 4363–4367.
 26. Fagan A.M., Watson M., Parsadanian M. et al. Human and murine ApoE markedly alters A beta metabolism before and after plaque formation in a mouse model of Alzheimer's disease // *Neurobiol.Dis.* – 2002. – **9**. – P. 305–318.
 27. Gelinas J.N., Banko J.L., Peters M.M. et al. Activation of exchange protein activated by cyclic-AMP enhances long-lasting synaptic potentiation in the hippocampus // *Learn.Mem.* – 2008. – **15**. – P. 403–411.
 28. Gendron T.F., Petrucelli L. The role of tau in neurodegeneration // *Mol.Neurodegener.* – 2009. – **4**. – P. 13.
 29. Gibson G.E., Sheu K.F., Blass J.P. Abnormalities of mitochondrial enzymes in Alzheimer disease // *J.Neural Transm.* – 1998. – **105**. – P. 855–870.
 30. Glodzik-Sobanska L., Pirraglia E., Brys M. et al. The effects of normal aging and ApoE genotype on the levels of CSF biomarkers for Alzheimer's disease // *Neurobiol.Aging.* – 2009. – **30**. – P. 672–681.
 31. Green K.N., Demuro A., Akbari Y. et al. SERCA pump activity is physiologically regulated by presenilin and regulates amyloid beta production // *J.Cell Biol.* – 2008. – **181**. – P. 1107–1116.
 32. Green K.N., LaFerla F.M. Linking calcium to Abeta and Alzheimer's disease // *Neuron.* – 2008. – **59**. – P. 190–194.
 33. Hardy J. A hundred years of Alzheimer's disease research // *Ibid.* – 2006. – **52**. – P. 3–13.
 34. Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis: an update and reappraisal // *J.Alzheimers.Dis.* – 2006. – **9**. – P. 151–153.
 35. Hardy J. Does Abeta 42 have a function related to blood homeostasis? // *Neurochem.Res.* – 2007. – **32**. – P. 833–835.
 36. Harris F.M., Tesseur I., Brecht W.J. et al. Astroglial regulation of apolipoprotein E expression in neuronal cells. Implications for Alzheimer's disease // *J.Biol. Chem.* – 2004. – **279**. – P. 3862–3868.
 37. He L.M., Chen L.Y., Lou X.L. et al. Evaluation of beta-amyloid peptide 25–35 on calcium homeostasis in cultured rat dorsal root ganglion neurons // *Brain Res.* – 2002. – **939**. – P. 65–75.
 38. Hiruma H., Katakura T., Takahashi S. et al. Glutamate and amyloid beta-protein rapidly inhibit fast axonal transport in cultured rat hippocampal neurons by different mechanisms // *J.Neurosci.* – 2003. – **23**. – P. 8967–8977.
 39. Hollenbeck P.J., Saxton W.M. The axonal transport of mitochondria // *J.Cell Sci.* – 2005. – **118**. – P. 5411–5419.
 40. Holmes C., Boche D., Wilkinson D. et al. Long-term effects of Abeta42 immunisation in Alzheimer's disease: follow-up of a randomised, placebo-controlled phase I trial // *Lancet.* – 2008. – **372**. – P. 216–223.
 41. Huang T.H., Yang D.S., Fraser P.E., Chakrabarty A. Alternate aggregation pathways of the Alzheimer beta-

- amyloid peptide. An in vitro model of preamyloid // *J.Biol.Chem.* – 2000. – **275**. – P. 36436–36440.
42. Huang T.H., Yang D.S., Plaskos N.P. et al. Structural studies of soluble oligomers of the Alzheimer beta-amyloid peptide // *J.Mol.Biol.* – 2000. – **297**. – P. 73–87.
 43. Huang Y., Liu X.Q., Wyss-Coray T. et al. Apolipoprotein E fragments present in Alzheimer's disease brains induce neurofibrillary tangle-like intracellular inclusions in neurons // *Proc.Natl.Acad.Sci.USA.* – 2001. – **98**. – P. 8838–8843.
 44. Huber K.M., Mauk M.D., Kelly P.T. LTP induced by activation of voltage-dependent Ca²⁺ channels requires protein kinase activity // *Neuroreport.* – 1995. – **6**. – P. 1281–1284.
 45. Irizarry M.C., Cheung B.S., Rebeck G.W. Apolipoprotein E affects the amount, form, and anatomical distribution of amyloid beta-peptide deposition in homozygous APP(V717F) transgenic mice // *Acta Neuropathol.* – 2000. – **100**. – P. 451–458.
 46. Irizarry M.C., Rebeck G.W., Cheung B. et al. Modulation of A beta deposition in APP transgenic mice by an apolipoprotein E null background // *Ann.N.Y.Acad.Sci.* – 2000. – **920**. – P. 171–178.
 47. Ito S., Ohta S., Nishimaki K., Kagawa Y. et al. Functional integrity of mitochondrial genomes in human platelets and autopsied brain tissues from elderly patients with Alzheimer's disease // *Proc. Nat. Acad. Sci.USA.* – 1999. – **96**. – P. 2099–2103.
 48. Kang J.S., Tian J.H., Pan P.Y. et al. Docking of axonal mitochondria by syntaphilin controls their mobility and affects short-term facilitation // *Cell.* – 2008. – **132**. – P. 137–148.
 49. Katsuki H., Izumi Y., Zorumski C.F. Removal of extracellular calcium after conditioning stimulation disrupts long-term potentiation in the CA1 region of rat hippocampal slices // *Neuroscience.* – 1997. – **76**. – P. 1113–1119.
 50. Kawahara M., Arispe N., Kuroda Y. et al. Alzheimer's disease amyloid beta-protein forms Zn(2+)-sensitive, cation-selective channels across excised membrane patches from hypothalamic neurons // *Biophys.J.* – 1997. – **73**. – P. 67–75.
 51. Kawahara M., Kuroda Y. Molecular mechanism of neuronal death in Alzheimer's disease: Ca(2+)-channel formation of beta amyloid protein molecules // *Tanpakushitsu Kakusan Koso.* – 1997. – **42**. – P. 2002–2010.
 52. Keil U., Bonert A., Marques C.A. et al. Amyloid beta-induced changes in nitric oxide production and mitochondrial activity lead to apoptosis // *J.Biol.Chem.* – 2004. – **279**. – P. 50310–50320.
 53. Kelleher R.J., III, Govindarajan A., Jung H.Y. et al. Translational control by MAPK signaling in long-term synaptic plasticity and memory // *Cell.* – 2004. – **116**. – P. 467–479.
 54. Klishin A., Lozovaya N., Krishtal O. Persistently enhanced ratio of NMDA and non-NMDA components of rat hippocampal EPSC after block of A1 adenosine receptors at increased [Ca²⁺]_o/[Mg²⁺]_o // *Neurosci. Lett.* – 1994. – **179**. – P. 132–136.
 55. Kostyuk P.G., Verkhratsky A.N. Calcium signalling in the nervous system / Chichester, New-York, Brisbane, Toronto, Singapore: Clarendon press, John Wiley and Sons. – 1995. – P. 206.
 56. LaFerla F.M. Calcium dyshomeostasis and intracellular signalling in Alzheimer's disease // *Nat.Rev.Neurosci.* – 2002. – **3**. – P. 862–872.
 57. Laird F.M., Cai H., Savonenko A.V. et al. BACE1, a major determinant of selective vulnerability of the brain to amyloid-beta amyloidogenesis, is essential for cognitive, emotional, and synaptic functions // *J.Neurosci.* – 2005. – **25**. – P. 11693–11709.
 58. Leissring M.A., Parker I., LaFerla F.M. Presenilin-2 mutations modulate amplitude and kinetics of inositol 1, 4,5-trisphosphate-mediated calcium signals // *J.Biol.Chem.* – 1999. – **274**. – P. 32535–32538.
 59. Leissring M.A., Paul B.A., Parker I. et al. F.M. Alzheimer's presenilin-1 mutation potentiates inositol 1,4,5-trisphosphate-mediated calcium signaling in *Xenopus* oocytes // *J.Neurochem.* – 1999. – **72**. – P. 1061–1068.
 60. Levy M., Faas G.C., Saggau P. et al. Mitochondrial regulation of synaptic plasticity in the hippocampus // *J.Biol.Chem.* – 2003. – **278**. – P. 17727–17734.
 61. Levy-Lahad E., Lahad A., Wijsman E.M. et al. Apolipoprotein E genotypes and age of onset in early-onset familial Alzheimer's disease // *Ann.Neurol.* – 1995. – **38**. – P. 678–680.
 62. Lin M.S., Chen L.Y., Wang S.S. et al. Examining the levels of ganglioside and cholesterol in cell membrane on attenuation the cytotoxicity of beta-amyloid peptide // *Colloids Surf.B Biointerfaces.* – 2008. – **65**. – P. 172–177.
 63. Liu J., Head E., Gharib A.M. et al. Memory loss in old rats is associated with brain mitochondrial decay and RNA/DNA oxidation: partial reversal by feeding acetyl-L-carnitine and/or R-alpha-lipoic acid // *Proc. Nat. Acad. Sci.USA.* – 2002. – **99**. – P. 2356–2361.
 64. Liu Q., Kawai H., Berg D.K. beta-Amyloid peptide blocks the response of alpha 7-containing nicotinic receptors on hippocampal neurons // *Ibid.* – 2001. – **98**. – P. 4734–4739.
 65. Magoori K., Kang M.J., Ito M.R. et al. Severe hypercholesterolemia, impaired fat tolerance, and advanced atherosclerosis in mice lacking both low density lipoprotein receptor-related protein 5 and apolipoprotein E // *J.Biol.Chem.* – 2003. – **278**. – P. 11331–11336.
 66. Markham A., Cameron I., Franklin P. BDNF increases rat brain mitochondrial respiratory coupling at complex I, but not complex II // *Eur.J.Neurosci.* – 2004. – **20**. – P. 1189–1196.
 67. Matos M., Augusto E., Oliveira C.R. et al. Amyloid-beta peptide decreases glutamate uptake in cultured astrocytes: involvement of oxidative stress and mito-

- gen-activated protein kinase cascades // *Neuroscience*. – 2008. – **156**. – P. 898–910.
68. Mattson M.P., Gleichmann M., Cheng A. Mitochondria in neuroplasticity and neurological disorders // *Neuron*. – 2008. – **60**. – P. 748–766.
 69. Mattson M.P., LaFerla F.M., Chan S.L. et al. Calcium signaling in the ER: its role in neuronal plasticity and neurodegenerative disorders // *Trends Neurosci*. – 2000. – **23**. – P. 222–229.
 70. Maurer I., Zierz S., Moller H.J. A selective defect of cytochrome c oxidase is present in brain of Alzheimer disease patients // *Neurobiol.Aging*. – 2000. – **21**. – P. 455–462.
 71. Nakajima M., Miura M., Aosaki T. et al. Deficiency of presenilin-1 increases calcium-dependent vulnerability of neurons to oxidative stress in vitro // *J.Neurochem*. – 2001. – **78**. – P. 807–814.
 72. Perroy J., Prezeau L., De W.M. et al. Selective blockade of P/Q-type calcium channels by the metabotropic glutamate receptor type 7 involves a phospholipase C pathway in neurons // *J.Neurosci*. – 2000. – **20**. – P. 7896–7904.
 73. Pigino G., Morfini G., Pelsman A. et al. Alzheimer's presenilin 1 mutations impair kinesin-based axonal transport // *J.Neurosci*. – 2003. – **23**. – P. 4499–4508.
 74. Pinheiro P.S., Mulle C. Presynaptic glutamate receptors: physiological functions and mechanisms of action // *Nat.Rev.Neurosci*. – 2008. – **9**. – P. 423–436.
 75. Querfurth H.W., Jiang J., Geiger J.D. et al. Caffeine stimulates amyloid beta-peptide release from beta-amyloid precursor protein-transfected HEK293 cells // *J.Neurochem*. – 1997. – **69**. – P. 1580–1591.
 76. Ramsden M., Plant L.D., Webster N.J. et al. Differential effects of unaggregated and aggregated amyloid beta protein (1–40) on K(+) channel currents in primary cultures of rat cerebellar granule and cortical neurones // *J.Neurochem*. – 2001. – **79**. – P. 699–712.
 77. Reddy P.H., Mani G., Park B.S., Jacques J., Murdoch G., Whetsell W., Jr., Kaye J., Manczak M. Differential loss of synaptic proteins in Alzheimer's disease: implications for synaptic dysfunction // *J.Alzheimers. Dis*. – 2005. – **7**. – P. 103–117.
 78. Roy S., Coffee P., Smith G. et al. Neurofilaments are transported rapidly but intermittently in axons: implications for slow axonal transport // *J.Neurosci*. – 2000. – **20**. – P. 6849–6861.
 79. Rusakov D.A., Saitow F., Lehre K.P. et al. Modulation of presynaptic Ca²⁺ entry by AMPA receptors at individual GABAergic synapses in the cerebellum // *J.Neurosci*. – 2005. – **25**. – P. 4930–4940.
 80. Saunders A.M., Roses A.D. Apolipoprotein E4 allele frequency, ischemic cerebrovascular disease, and Alzheimer's disease // *Stroke*. – 1993. – **24**. – P. 1416–1417.
 81. Scragg J.L., Fearon I.M., Boyle J.P. et al. Alzheimer's amyloid peptides mediate hypoxic up-regulation of L-type Ca²⁺ channels // *FASEB J*. – 2005. – **19**. – P. 150–152.
 82. Sherrington R., Rogaev E.I., Liang Y. et al. Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease // *Nature*. – 1995. – **375**. – P. 754–760.
 83. Shuttleworth C.W., Brennan A.M., Connor J.A. NAD(P)H fluorescence imaging of postsynaptic neuronal activation in murine hippocampal slices // *J.Neurosci*. – 2003. – **23**. – P. 3196–3208.
 84. Sindreu C.B., Scheiner Z.S., Storm D.R. Ca²⁺-stimulated adenylyl cyclases regulate ERK-dependent activation of MSK1 during fear conditioning // *Neuron*. – 2007. – **53**. – P. 79–89.
 85. Sisodia S.S., Annaert W., Kim S.H. et al. Gamma-secretase: never more enigmatic // *Trends Neurosci*. – 2001. – **24**. – P. S2–S6.
 86. Small S.A., Duff K. Linking Abeta and tau in late-onset Alzheimer's disease: a dual pathway hypothesis // *Neuron*. – 2008. – **60**. – P. 534–542.
 87. Smith I.F., Hitt B., Green K.N. et al. Enhanced caffeine-induced Ca²⁺ release in the 3xTg-AD mouse model of Alzheimer's disease // *J.Neurochem*. – 2005. – **94**. – P. 1711–1718.
 88. Steele P.M., Mauk M.D. Inhibitory control of LTP and LTD: stability of synapse strength // *J.Neurophysiol*. – 1999. – **81**. – P. 1559–1566.
 89. Sweatt J.D. Mitogen-activated protein kinases in synaptic plasticity and memory // *Curr.Opin.Neurobiol*. – 2004. – **14**. – P. 311–317.
 90. Tamagno E., Parola M., Guglielmotto M. et al. Multiple signaling events in amyloid beta-induced, oxidative stress-dependent neuronal apoptosis // *Free Radic.Biol.Med*. – 2003. – **35**. – P. 45–58.
 91. Trimmer P.A., Swerdlow R.H., Parks J.K. et al. Abnormal mitochondrial morphology in sporadic Parkinson's and Alzheimer's disease cybrid cell lines // *Exp.Neurol*. – 2000. – **162**. – P. 37–50.
 92. Tu H., Nelson O., Bezprozvanny A. et al. Presenilins form ER Ca²⁺ leak channels, a function disrupted by familial Alzheimer's disease-linked mutations // *Cell*. – 2006. – **126**. – P. 981–993.
 93. Vaisid T., Barnoy S., Kosower N.S. Calpastatin overexpression attenuates amyloid-beta-peptide toxicity in differentiated PC12 cells // *Neuroscience*. – 2008. – **156**. – P. 921–931.
 94. Weiss J.H., Pike C.J., Cotman C.W. Ca²⁺ channel blockers attenuate beta-amyloid peptide toxicity to cortical neurons in culture // *J.Neurochem*. – 1994. – **62**. – P. 372–375.
 95. White F., Nicoll J.A., Roses A.D. et al. Impaired neuronal plasticity in transgenic mice expressing human apolipoprotein E4 compared to E3 in a model of entorhinal cortex lesion // *Neurobiol.Dis*. – 2001. – **8**. – P. 611–625.
 96. Wong S.T., Athos J., Figueroa X.A. et al. Calcium-stimulated adenylyl cyclase activity is critical for hippocampus-dependent long-term memory and late phase

- LTP // *Neuron*. – 1999. – **23**. – P. 787–798.
97. Wu A., Derrico C.A., Hatem L. et al. Alzheimer's amyloid-beta peptide inhibits sodium/calcium exchange measured in rat and human brain plasma membrane vesicles // *Neuroscience*. – 1997. – **80**. – P. 675–684.
98. Wu Z.L., Thomas S.A., Villacres E.C. et al. Altered behavior and long-term potentiation in type I adenylyl cyclase mutant mice // *Proc.Nat.Acad.Sci. USA*. – 1995. – **92**. – P. 220–224.
99. Yankner B.A., Duffy L.K., Kirschner D.A. Neurotrophic and neurotoxic effects of amyloid beta protein: reversal by tachykinin neuropeptides // *Science*. – 1990. – **250**. – P. 279–282.
100. Yoo A.S., Cheng I., Chung S. et al. Presenilin-mediated modulation of capacitative calcium entry // *Neuron*. – 2000. – **27**. – P. 561–572.
101. Yuan L.L., Adams J.P., Swank M. et al. Protein kinase modulation of dendritic K⁺ channels in hippocampus involves a mitogen-activated protein kinase pathway // *J.Neurosci*. – 2002. – **22**. – P. 4860–4868.
102. Zheng Z., Keifer J. Protein kinase C-dependent and independent signaling pathways regulate synaptic GluR1 and GluR4 AMPAR subunits during in vitro classical conditioning // *Neuroscience*. – 2008. – **156**. – P. 872–884.

Ин-т фізіології ім О.О. Богомольця НАН України
E-mail: ekostyuk@biph.kiev.ua

Матеріал надійшов до редакції 02.09.2009