

UNIVERZA NA PRIMORSKEM  
FAKULTETA ZA MATEMATIKO, NARAVOSLOVJE IN  
INFORMACIJSKE TEHNOLOGIJE

ZAKLJUČNA NALOGA  
POVEZAVA MED ALZHEIMERJEVO DEMENCO IN  
GLUKOKORTIKOIDNO IZZVANO  
PREOBČUTLJIVOSTJO MIKROGLIJE

UNIVERZA NA PRIMORSKEM  
FAKULTETA ZA MATEMATIKO, NARAVOSLOVJE IN  
INFORMACIJSKE TEHNOLOGIJE

Zaključna naloga

**Povezava med Alzheimerjevo demenco in glukokortikoidno  
izzvano preobčutljivostjo mikroglije**

(Link between Alzheimer's disease and glucocorticoids – induced primed  
microglia)

Ime in priimek: Neli Kovšca  
Študijski program: Biopsihologija  
Mentor: prof. dr. Gorazd Drevenšek

Koper, september 2016

## Ključna dokumentacijska informacija

Ime in PRIIMEK: Neli KOVŠCA

Naslov zaključne naloge: Povezava med Alzheimerjevo demenco in glukokortikoidno izzvano preobčutljivostjo mikroglije

Kraj: Koper

Leto: 2016

Število listov: 37      Število slik: 7

Število referenc: 86

Mentor: Prof. dr. Gorazd Drevenšek

Ključne besede: Alzheimerjeva demenca, amiloid beta, mikroglija, stres, glukokortikoidi.

Izvleček:

Alzheimerjeva bolezen je nevrodegenerativna bolezen, ki predstavlja velik javno zdravstveni problem. Pojavnost bolezni se povečuje, ustreznega zdravila za preprečitev te bolezni pa ni. Simptome bolezni lahko zdravimo zgolj simptomatsko. Čeprav sta znana glavna patološka mehanizma, odlaganje amiloida beta in nevrofibrilarne pentlje, pa sama patogeneza še vedno ni povsem jasna. Današnje študije povezujejo nastanek Alzheimerjeve bolezni z imunskim sistemom, predvsem mikroglialnimi celicami. Avtorica najprej predstavi funkcijske, morfološke in molekularne spremembe Alzheimerjeve demence. Nadalje so prikazani izsledki novjših raziskav, ki se osredotočajo na vpliv mikroglialnih celic na nastanek Alzheimerjeve demence. Opredeli pomen povečano občutljive mikroglije, dejavnike za njen nastanek in možen vpliv le-te na Alzheimerjevo demenco. Novejše študije nakazujejo, da bi se nastanek bolezni lahko začel že v zgodnjem obdobju našega življenja. Stres naj bi preko glukokortikoidov vplival na mikroglijo in povečal njen imunski odgovor. V zaključku avtorica preko različnih teorij in raziskav s področja psihonevroimnologije in nevrologije predstavi morebiten nov multifaktorski model nastanka Alzheimerjeve demence preko izločanja glukokortikoidov in povečano občutljive mikroglije. Gre za tako imenovani psihološki imunski spomin preko mikroglije.

### Key words documentation

Name and SURNAME: Neli KOVŠČA

Title of the final project paper: Link between Alzheimer's disease and glucocorticoids – induced primed microglia

Place: Koper

Year: 2016

Number of pages: 37                      Number of figures: 7

Number of references: 86

Mentor: Prof. Gorazd Drevenšek, PhD

Keywords: Alzheimer disease, amyloid beta, microglia, stress, glucocorticoids

Abstract:

Alzheimer's disease is a neurodegenerative disease which represents a major public health problem. The incidence of the disease is increasing. Properly drugs and medicaments for the prevention of disease are not known yet. Symptoms of the disease can be treated only symptomatically. Despite the fact that there is known the main pathological mechanism of Alzheimer's disease such as aggregation of amyloid beta and neurofibrillary tangles, the whole pathogenesis is not clear yet. The current studies link Alzheimer's disease with immune system, particularly with microglial cells. This review focuses on functional, morphological and molecular changes of Alzheimer's dementia. Furthermore, the main results of current studies of the impact of microglial cells in Alzheimer's dementia are presented. Recent studies suggest that the disease can be started in the early stages of our lives. Stress should be influence on microglia through the glucocorticoid's system and increased the immune response. In conclusion, the author synthesizes the knowledge of neurology and psychoneuroimmunology into form a potential, multifactor model of Alzheimer's disease, glucocorticoids and primed microglia . It is a so-called psychological immune memory through the microglia .

## **ZAHVALA**

*Prof. dr. Gorazd Drevenšek, hvala Vam, da ste sprejeli vlogo mentorja. Hvala za vse napotke, kritike in pohvale pri pisanju zaključne naloge. Predvsem pa cenim, da ste mi pustili prosto pot pri pisanju zaključne naloge.*

*Iskrena hvala **celotni družini** za razumevanje in spodbudo, še posebno **mami**, ki mi vedno stoji ob strani.*

*Hvala **Jerneju** za vso ljubezen in potrpežljivost.*

*Hvala **Viktoriji** in **Maticu** za vse konstruktivne kritike, dobre ideje, pomoč in vajino prijateljstvo.*

*Iskrena hvala tudi **Anji, Brigiti, Tanji, Jasmini, Barbari, Poloni** in **Andreji** za vso podporo, razumevanje in spodbudo.*

*Hvala vam!*

***Zaključno nalogo posvečam svoji pokojni babici, ki je trpela za hudo obliko Alzheimerjeve demence.***

## KAZALO VSEBINE

1	UVOD.....	1
1.1	Namen in cilji dela.....	2
2	ALZHEIMERJEVA BOLEZEN .....	3
2.1	Morfološko anatomske spremembe .....	3
2.2	Funkcijske spremembe možganov.....	4
2.3	Molekularne spremembe v možganih.....	4
2.3.1	Patogeneza nevrofibrilarnih pentelj.....	4
2.3.2	Patogeneza proteina amiloid beta.....	5
3	MIKROGLIJA.....	6
3.1	Pomen mikroglije pri nastanku Alzheimerjeve bolezni.....	8
3.2	Povečano občutljiva mikroglija .....	10
3.2.1	Model nastanka povečano občutljive mikroglije.....	13
3.2.2	Stres kot dejavnik za nastanek povečano občutljive mikroglije.....	14
4	STRES .....	15
4.1	Akutni stres in povečano občutljiva mikroglija .....	16
4.2	Kronični stres in povečano občutljiva mikroglija.....	16
4.3	Mehanizem delovanja glukokortikoidov pri nastanku povečano občutljive mikroglije .....	17
4.3.1	Vpliv glukokortikoidov na mikroglijo.....	18
4.3.2	Nastanek povečano občutljive mikroglije preko glukokortikoidov in povezanost z Alzheimerjevo demenco .....	19
5	SKLEP.....	21
6	LITERATURA .....	22

## **KAZALO SLIK**

Slika 3.01. Aktivacija mikroglije preko molekularnih vzorcev, povezanih s poškodbami (PAMPs) ali vdorom padogenov (DAMPs).....	7
Slika 3.02. Načini, s katerimi mikroglija odstrani amiloid beta iz ekstracelularnega predela možganov .....	8
Slika 3.03. Hiperaktivacija mikroglije in ponavljajoč se krog nevro-vnetja.....	10
Slika 3.04. Koncept povečano občutljive mikroglije pri različnih stanjih .....	11
Slika 3.05. Možni mehanizmi, ki bi lahko pripomogli k nastanku povečano občutljive mikroglije .....	13
Slika 3.06. Prikaz psihološkega imunskega spomina preko mikroglije .....	14
Slika 4.01. Stresno izzvani glukokortikoidi med stresno situacijo beg ali boj.....	19

## SEZNAM KRATIC

- A $\beta$  - amiloid beta  
ATP - adenzin trifosfat  
APP - amiloidni prekuzorski protein  
CA1 - hipokampalna regija 1  
CA3 - hipokampalna regija 3  
CCL2 - človeški CC kemokin  
CDK 5 - ciklin odvisna kinaza 5  
COX-2 - ciklooksigenaza 2  
DAMP - molekularni vzorci, povezani s poškodbami  
HMGB1 - visoko mobilizirajoča skupina proteinov 1  
HPA - hipotalamus – hipofizna-nadledvična os  
IFN- $\gamma$  - interferon gama  
IL - interleukin  
iNOS - inducibilne sintaze dušikovega oksida  
LPS - lipopolisaharidi  
LRP1 - receptor lipoproteina nizke gostote povezujočega proteina 1  
M1 - stanje aktivirane mikroglije s sproščanjem pro-vnetnih dejavnikov  
M1P-1 - kemokinski makrofagni vnetni protein 1  
M2 - stanje aktivirane mikroglije s sproščanjem protivnetnih dejavnikov  
MAPT - z mikrotubuli povezan protein tau  
MCP-1 - monocitni kemotaktični protein 1  
MHC II - poglavitni histokompatibilnostni kompleks II  
MKB-10 - mednarodna klasifikacija bolezni in sorodnih zdravstvenih problemov 10  
mRNA - informacijska RNA  
NLRP3 - NLR družina pirin z domeno 3  
NMDA - N-metil D-aspartat  
PAMP - molekularni vzorci, povezani z vdorom patogenov  
ROS - reaktivne kisikove molekule  
SCARA1 - »Scavenger« receptorji razreda 1  
TLR - »Toll« podobni receptorji  
TNF- $\alpha$  - tumor – nekrotizirajoči dejavnik alfa  
Trem2 - sprožitveni receptor, izražen na mieloičnih celicah 2



## 1 UVOD

Alzheimerjeva bolezen je kronična progresivna nevrodegenerativna bolezen, pri kateri se kažejo znaki pozabljivosti, dezorientiranosti v času in prostoru, nesposobnosti skrbeti zase ter globalni upad spoznavnih in spominskih funkcij (Ribarič, 2009). Je ena izmed najpogostejših oblik demenc pri starejših ljudeh (Kumar in Ekavali, 2015). Po MKB-10 je Alzheimerjeva demenca šifrirana s F00, pri kateri gre za bolezen neznane etiologije z značilnimi nevropatološkimi in nevrokemičnimi lastnostmi (Kogoj in Ličina, 2013). Trenutno je v Evropi več kot 6 milijonov ljudi z demenco, od tega več kot polovica z Alzheimerjevo boleznijo (Emeršič in Pirtošek, 2013). V longitudinalni raziskavi, izvedeni v Ameriki, so v letu 2010 odkrili, da je imelo Alzheimerjevo bolezen 4,7 milijona posameznikov, ki so bili stari nad 65 let (Hebert, Weuve, Scherr in Evans, 2013). Prav tako v Ameriki ocenjujejo, da je imelo v letu 2015 Alzheimerjevo bolezen 5,3 milijona ljudi vseh starostnih skupin (2015 Alzheimer's Disease: Fact and Figures, 2015).

Ključne patološke spremembe, ki se pokažejo v možganih, so plaki oziroma agregati peptida amiloid beta in nevrofibrilarne pentlje (Mhatre, Tsai, Rubin, James in Andreasson, 2015). Kljub velikim odkritjem nastanka patogeneze pri Alzheimerjevi bolezni ta v celoti še vedno ni dobro poznana (Emeršič in Pirtošek, 2013). Nedavne raziskave namreč kažejo na velik pomen mikroglialnih celic pri poteku in nastanku Alzheimerjeve bolezni. Trenutno je to ena izmed bolj odmevnih tem pri raziskovanju nevrodegenerativnih bolezni (Li, Tan, Jiang in Tan, 2014). Patogenezo Alzheimerjeve bolezni namreč močno povezujejo z imunskim sistemom v možganih (Heneka idr., 2015a). Ključno je nevrovnetje v možganih in aktivacija imunskega sistema, predvsem mikroglialnih celic (Heneka, Golenbock in Latz, 2015b). Pojasnjujejo, da ima mikroglija neuro-zaščitno in nevrotoksično funkcijo. Ta naj bi se aktivirala v večini primerov možgansko-patoloških sprememb in delovala zaščitno. Vendar pa v primeru hiperaktivacije njenega delovanja lahko povzroči nevronske poškodbe, predvsem pri nevrodegenerativnih boleznih, tudi pri Alzheimerjevi bolezni (Block, Zecca in Hong, 2007; Brown in Vilalta, 2015). Kronično aktivacijo imunskega sistema in nepravilno delovanje mikroglije naj bi povzročili prav agregati amiloid beta (Heneka idr., 2015b). Mikroglija pa bi ob tem postala nevrotoksična za nevrone in okolijske celice (Block idr., 2007).

Kljub vsemu se strokovnjaki nadalje sprašujejo, ali se ne bi morebiti bolezen lahko začela že zelo zgodaj v posameznikovem življenju in bi že takrat prišlo do določenih sprememb v samem delovanju mikroglije (Lim, Rodriguez-Ortiz in Kitazawa, 2015). Kato in Kanba (2013) sta navedla nov model – psihološki imunski spomin mikroglije, v katerem opozarjata prav na pomembnost zgodnjih posameznikovih izkušenj in pomen stresnih dejavnikov, ki povzročijo spremembe v mikrogliji. To stanje spremenjene mikroglije strokovnjaki poimenujejo povečano občutljiva mikroglija. Mikroglija naj bi zaradi nekega primarnega stresorja postala bolj občutljiva na sekundarni vnetni dražljaj ter tako

povzročila povečan vnetni odgovor (Perry in Holmes, 2014). Mehanizem, preko katerega bi postala bolj občutljiva, je verjetno hormonalni sistem glukokortikoidov (Frank, Watkins in Maier, 2013).

## **1.1 Namen in cilji dela**

Namen zaključne naloge je skozi pregled strokovne literature ugotoviti možne povezave v patogenezi Alzheimerjeve demence z imunskim sistemom in glukokortikoidi. Cilj je sprva predstaviti Alzheimerjevo bolezen in opisati pomen mikroglijalnih celic pri njeni patogenezi. Nadalje želimo opredeliti dejavnike (akutni in kronični stres), ki bi lahko spremenili delovanje mikroglije, jo naredili bolj občutljivo za vse nadaljnje imunske dražljaje in ji s tem povečali toksične sposobnosti za nastanek nevrodegenerativnih sprememb tekom našega življenja oziroma Alzheimerjeve demence. Na koncu želimo ugotoviti in razložiti mehanizem (glukokortikoidi in stres), preko katerega bi prišlo do imunskih sprememb v delovanju mikroglije že v zgodnjem obdobju posameznikovega življenja in bi ta v poznem obdobju povzročila povečan nevrovnetni odgovor.

## 2 ALZHEIMERJEVA BOLEZEN

Alzheimerjeva bolezen je ena najpogostejših oblik demence, katere globalna razširjenost je ocenjena na 24 milijonov ljudi po celem svetu. To število naj bi se do leta 2040 še podvojilo (Mayeux in Stern, 2012; Winslow idr., 2011). Ocenjujejo, da ima v Evropi približno 3 milijone ljudi Alzheimerjevo bolezen, medtem ko jo ima v Ameriki 5.3 milijona (Emeršič in Pirtošek, 2013; 2015 Alzheimer's Disease: Fact and Figures). Pojavila naj bi se pri tretjini Američanov, ki so starejši od 85 let (Winslow idr., 2011). Alzheimerjeva bolezen je nevrodegenerativna progresivna bolezen, pri kateri opazimo upad kognitivnih funkcij, nezmožnost skrbeti zase, dezorientiranost v času in prostoru ter spremembe v vedenju in čustvovanju (Ribarič, 2009). Problem Alzheimerjeve demence je v tem, da zanjo ni učinkovitega zdravila. Trenutno so v uporabi tista, ki delujejo simptomatsko. Mednje sodijo zaviralci acetilholinesteraze in antagonisti NMDA-receptorjev (Winslow idr., 2011). Zaviralci acetilholinesteraze delujejo tako, da zavirajo encim acetilholinesterazo in tako preprečijo razgradnjo acetilholina (Kores Plesničar, 2013). Trenutno so v uporabi donepezil, galantamin in rivastigmin. Edini predstavnik antagonistov NMDA-receptorjev je memantin, ki ga velikokrat uporabijo skupaj z enim izmed inhibitorjev acetilholinesteraze (Winslow idr., 2011). Deluje tako, da zavira učinke povišane ravni glutamata (Kores Plesničar, 2013). Vsekakor pa je poleg farmakološkega zdravljenja potreben celovit pristop k obravnavi pacienta z Alzheimerjevo demenco. Poleg zdravljenja so zelo pomembni psihosocialni ukrepi (Kores Plesničar, 2013).

Patogeneza in vzrok nastanka Alzheimerjeve demence še vedno nista povsem jasna (Emeršič in Pirtošek, 2013; Winslow idr., 2011). Kljub temu so znane določene morfološko anatomske, funkcijske in molekularne spremembe možganov (Ribarič, 2009). V nadaljevanju so predstavljene prav te spremembe.

### 2.1 Morfološko anatomske spremembe

Degenerativne spremembe se v predklinični fazi Alzheimerjeve bolezni najprej začno na entorinalni skorji in preidejo v hipokampus, ki je pomembno področje spomina in učenja (Brown Rodgers, 2008). V raziskavi, pri kateri so izvedli histološko analizo človeških možganov z Alzheimerjevo demenco in zdravih možganov, so ugotovili, da je bila v primeru prisotnosti bolezni zmanjšana nevronska gostota prav na področju hipokampusa, predvsem v regiji CA1 in CA3 (Padurariu, Ciobica, Mavroudis, Fotiou in Baloyannis, 2012). Prav piramidalni nevroni v regiji CA1 so najbolj ranljivi za nevrodegeneracijo in nastanek neurofibrilarnih pentelj (Kerchner, Deutsch, Zeineh, Dougherty, Saranathan in Rutt, 2010). Možgani nato začnejo atrofirati in ventrikli postajajo širši in vse večji (Brown Rodgers, 2008). Pri nadaljnjem poteku bolezni se anatomske spremembe razširijo na

področje parietalnega in temporalnega predela. Nazadnje zajamejo celoten neokorteks (Ribarič, 2009).

## **2.2 Funkcijske spremembe možganov**

Čeprav je težko določiti, kdaj nastopi Alzheimerjeva demenca v primerjavi z blago kognitivno motnjo, literatura vseeno navaja tri pomembne stopnje Alzheimerjeve demence (Brown Rodgers, 2008).

Pri blagi stopnji se kažejo predvsem znaki prostorske izgubljenosti, podaljšan je čas izvršilnih funkcij, prihaja do težav s plačevanjem računov in denarjem, nastopi slabo presojanje, razpoloženske in osebnostne motnje ter izguba spontanosti in iniciative (Brown Rodgers, 2008; Reisburg, 2008 po Kolb in Whishaw, 2008).

Zmerna stopnja Alzheimerjeve demence nastopi, ko patološke spremembe že preidejo na cerebralno skorjo. Pokažejo se znaki zmedenosti in vse večjega upada spomina. Prihaja do razburjenosti in jeze. Posameznik ima težave pri prepoznavanju družinskih članov in prijateljev, hkrati se težko nauči novih stvari in sooča z novimi situacijami. Za osebo so značilne težnje po ponavljanju, kar pomeni, da vedno znova ponavlja ista dejanja ali govori iste stavke. Postaja nemirna, anksiozna in tesnobna. Pojavita se jokavost in obdobja tavanja. Oseba ne zmore več opravljati kompleksnih nalog. Prihaja tudi do halucinacij in blodenj (Brown Rodgers, 2008; Reisburg, 2008 po Kolb in Whishaw, 2008).

V zadnji fazi oseba poveča svoje obdobje spanja, ima težave s požiranjem in izgubi telesno težo. V tem obdobju izgubi tudi kontrolo nad izločanjem. Postane inkontinentna. Ni več sposobna živeti sama in potrebuje 24-urni nadzor (Brown Rodgers, 2008).

## **2.3 Molekularne spremembe v možganih**

### **2.3.1 Patogeneza neurofibrilarnih pentelj**

Neurofibrilarne pentlje so patološke spremembe v možganih, ki jih najdemo znotraj živčnih celic. To so skupki hiperfosforiliranega proteina tau. Tau je z mikrotubuli povezan protein (MAPT), katerega glavna funkcija je stabilizacija mikrotubulov in nevronske izražanje. Vpliva na aksonalni transport snovi, rastnih dejavnikov in metabolitov. Njegova zmožnost je tudi ta, da se lahko veže na proteine različnih funkcij in vpliva na njihovo delovanje (Ebner, Godemann, Stamer, Illenberger, Trinczek, Mandelkow idr., 1998 po Jesús, Lucas, Pérez in Hernández, 2004). Normalni protein tau povezuje beljakovino tubulin v mikrotubule – elemente citoskeleta, ki so pomembni za aksoplazemski transport

snovi (Garcia in Cleveland, 2001; Ribarič, 2009). Pri Alzheimerjevi bolezni pa se verige hiperfosforiliranega proteina tau sestavijo v parne vijačne filamente, ki se nato združujejo v neurofibrilarne pentlje. Čezmerna fosforilacija proteina je posledica povečane aktivnosti kinaze proteina tau. Domnevajo, da naj bi h kopičenju pripomogel tudi amiloid beta (Ribarič, 2009).

### 2.3.2 Patogeneza proteina amiloid beta

Že 20 let je v ospredju amiloidna hipoteza, ki pravi, da amiloid beta deluje toksično na nevrone in sinapse ter da je glavni povzročitelj Alzheimerjeve demence (Drachman, 2014). V zadnjih dveh desetletjih je izšlo več kot 18.000 člankov, ki povezujejo Alzheimerjevo bolezen z amiloidom beta ter mogočo uporabo različnih terapevtskih pristopov za zmanjševanje kopičenja agregatov amiloid beta v možganih (Drachman, 2014).

Amiloidna hipoteza namreč pravi, da gre pri Alzheimerjevi bolezni za nenormalno kopičenje proteina amiloid beta v različnih predelih možganov (Hardy and Higgins, 1992, po Barage in Sonawane, 2015). Amiloidni prekursorški protein (APP) je glikozilirani membranski protein, ki se sintetizira v možganih in celicah glije (Ribarič, 2009). Cepi se lahko na dva različna načina. Pri ne-amiloidni poti (normalna pot) je cepljen z  $\alpha$ -sekretazo. Na tej poti nastanejo topni fragmenti sAPP $\alpha$ , ki imajo zaščitne lastnosti. V primeru amiloidne poti pa se APP cepi najprej z  $\beta$ -sekretazo in nato z  $\gamma$ -sekretazo, kar povzroči tvorbo nevrotoksičnih agregatov peptida amiloid beta (Weidemann idr., 2002, po Vardy, Catto in Hooper, 2005). V tem primeru gre za tvorbo dveh vrst peptidov amiloida beta, tako imenovana A $\beta$ 40 in A $\beta$ 42, pri čemer je slednji toksičen za nevrone in sinapse. Posledica je povečana produkcija amiloida beta v možganih, povečana količina A $\beta$ 42 v primerjavi z A $\beta$ 40 ter zmanjšano odstranjevanje amiloida beta iz možganov. Vsi ti trije dejavniki vodijo v tvorbo oligomerov A $\beta$ 42 in njihovih depozitov, ki vplivajo na sinaptično funkcijo. Nadalje se aktivira nevroimunski sistem (mikroglija) in oblikujejo se amiloidni plaki/agregati. Vse to povzroči še hujšo poškodbo sinaps in živčnih celic na področju možganov. Prav tako se kažejo posledice na ionski homeostazi. Pride do obsežne oligomerizacije agregatov amiloid beta in nastanka neurofibrilarnih pentelj, kar privede do obsežne poškodbe možganov na različnih področjih ter na koncu do nastanka demence (Haass and Selkoe, 2007 po Barage in Sonawane, 2015; Kumar in Ekavali, 2015).

Kljub vsemu pa imajo možgani na izbiro več poti odstranjevanja agregatov A $\beta$ . Poznana sta proteinska kompleksa LRP1 in apolipoprotein E, ki sta sposobna vezati A $\beta$  in ga transportirati skozi krvno možgansko pregrado. Druga pot odstranjevanja je glimfatični sistem, ki odstranjuje odpadne snovi v možganih s pomočjo cerebrospinalne tekočine (Yang idr., 2013, po Cherry, Olschowka in O'Banion, 2014; Zlokovic, Deane, Sagare, Bell in Winkler, 2010). Nazadnje je treba omeniti še fagocitozo, ki jo povzročajo imunske

celice (mikroglija) in astrociti (Lee in Landreth, 2010; Yang idr., 2013 po Cherry idr., 2014; Zlokovic, Deane, Sagare, Bell in Winkler, 2010).

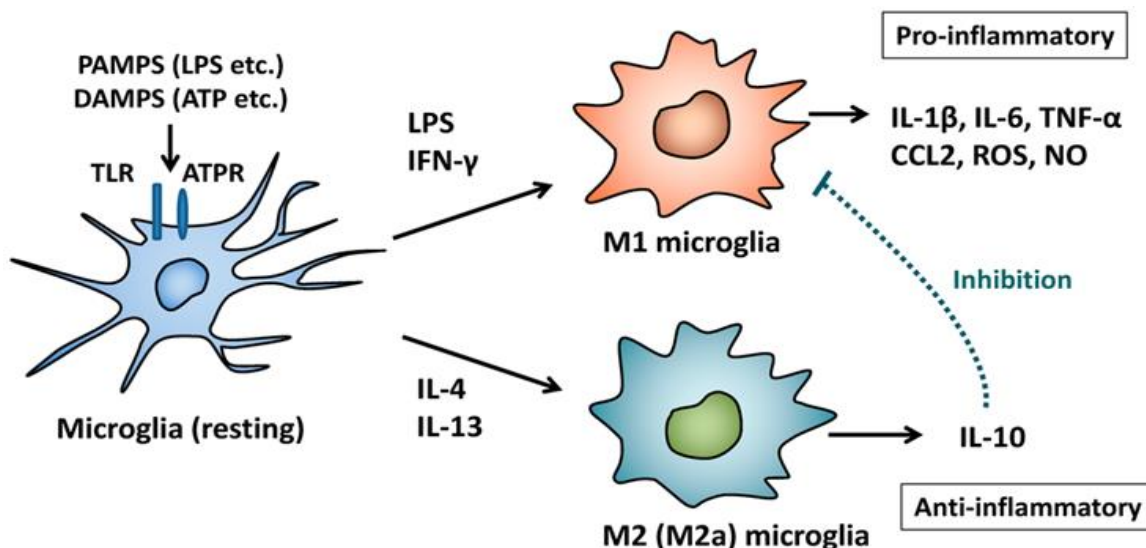
Pri amiloidni hipotezi je protein amiloid beta glavni vzrok za nastanek Alzheimerjeve bolezni, ki nadalje povzroči številne patološke procese, kot so hiperfosforilacija proteina tau, nevro-vnetje, izguba sinaps in patološka aktivnost (Pimplikar, 2009). Pimplikar poimenuje amiloid beta kot primarni dejavnik in številne patološke procese kot sekundarne procese, ki se zgodijo kot posledica kopičenja amiloid beta. Vendar pa se v nadaljevanju Pimplikar (2009) osredotoči tudi na drugi model, in sicer na to, da so škodljivi dogodki, ki vodijo v Alzheimerjevo bolezen, tako amiloid beta in ostali patološki procesi, enakovredni glede vzročnosti (Pimplikar, 2009).

Kljub vsem možnim modelom pa patogeneza Alzheimerjeve bolezni trenutno še ni v celoti poznana (Emeršič in Pirtošek, 2013). Mhatre in sodelavci so v svojem članku poudarili predvsem povezavo imunskega sistema z Alzheimerjevo boleznijo (Mhatre idr., 2015). Pravijo namreč, da pri nekaterih posameznikih nalaganje agregatov amiloida beta ni vodilo v nastanek Alzheimerjeve demence. Za pospešitev in napredovanje teh patoloških sprememb so izpostavili za ključni faktor imunski odgovor aktivirane mikroglije na amiloid beta (Block idr., 2007; Mhatre idr., 2015). V nadaljevanju je prikazan model pomena mikroglije pri nastanku Alzheimerjeve demence.

### 3 MIKROGLIJA

Mikroglialne celice spadajo v skupino imunskih celic v možganih, poleg astrocitov in oligodendrocitov (Nimmerjahn, Kirchhoff in Helmchen, 2005). Mikroglija ima centralno vlogo pri nevrovnetju, s spodbujanjem nevrozaščitnih ali nevrotoksičnih učinkov na nevrone (González, Elgueta, Montoya in Pacheco, 2014). Pomembna je tudi pri vzdrževanju plastičnosti nevronskega kroga in zaščiti sinaps (Kettenman, Hanisch, Noda in Verkhratsky, 2011, po Heneka idr., 2015a). V prenatalnem obdobju regulira izražanje dopaminergičnih aksonov (Pont-lezica, Beumer, Colasse, Drexhage, Versnel in Bessis, 2014, po Chen in Trapp, 2015). V eni izmed študij so ugotovili, da mikroglija prevladuje v sivi substanci, predvsem na področju hipokampusa, bazalnih ganglijev, substantie nigre in telencefalona (Lawson, Perry, Dri in Gordon, 1990). Mikroglija naj bi se ob prepoznavi patogenega elementa v možganih aktivirala, zato znanstveniki to stanje poimenujejo aktivirana mikroglija. Tisti čas, ko naj mikroglija ne bi delovala, pa imenujejo stanje počitka. Vendar pa so v študijah in vivo ugotovili, da četudi je mikroglija v fazi počitka, ta neprestano deluje v smislu zagotavljanja pravilnega in ustreznega mikrookolja v možganih (Soulet in Rivest, 2008). Ko mikroglija preide iz stanja počitka v aktivno mikroglijo, ta

spremeni morfologijo, in sicer postane ameboidno oblikovana (Cho idr., 2006, po Block idr., 2007).



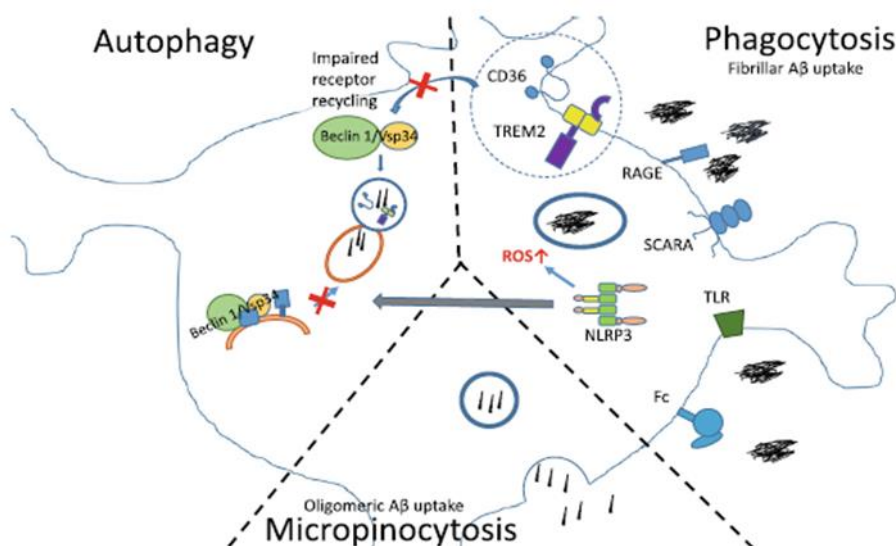
Slika 3.01. Aktivacija mikroglije preko molekularnih vzorcev, povezanih s poškodbami (PAMPs) ali vdorom patogenov (DAMPs). Mikroglia v stanju počitka prepozna molekularne vzorce preko »Toll« podobnih receptorjev in purinergičnih receptorjev (ATP) in se nato aktivira oz. izrazi v dveh fenotipih. Prvi fenotip (M1) je stanje, ko začne z izločanjem pro-vnetnih faktorjev. Pri drugem fenotipu (M2) pa mikroglia sproča protivnetne citokine, tako imenovani interlevkin 10 (IL-10) (povzeto po Nakagawa in Chiba, 2014).

Glede na sekrecijo določenih citokinov ali gensko ekspresijo (Slika 3.01.) je stanje aktivirane mikroglije karakterizirano na dva fenotipa, in sicer M1 in M2 (Malm, Jay in Landreth, 2015). M1 je stanje, kjer mikroglia sprošča pro-vnetne faktorje. Mednje sodijo pro-vnetni citokini, kot so tumor – nekrotizirajoči dejavnik alfa (TNF- $\alpha$ ), interlevkini (IL-1, IL-6, IL-12, IL-18), dušikov oksid, ROS (reaktivne kisikove molekule ali radikali) in prostaglandini (Malm idr., 2015; Nakagawa in Chiba, 2014). V tem stanju naj bi mikroglia delovala nevrotoksično (Brown in Vilalta, 2015). Medtem pa naj bi v fenotipu M2 mikroglia sproščala protivnetne citokine, kot so interlevkini (IL-4, IL-10, IL-13) in rastni faktor- $\beta$ . Ta fenotip so poimenovali tudi alternativna pot, saj naj bi delovala nevro-zaščitno (Brown in Vilalta, 2015). Iz slike 3.01. je prav tako razvidno, da v primeru aktivacije fenotipa M2 ta povzroči inhibicijo fenotipa M1 s protivnetnim citokinom IL-10 (Nakagawa in Chiba, 2014). Cherry in sodelavci so opazili v vsem tem predvsem terapevtske možnosti. Potencialna zdravila so glatiramer acetat, beksaroten in PPAR $\gamma$  agonisti. Ti naj bi zavirali vnetje in povečali aktivacijo M2 (Cherry idr., 2014).

### 3.1 Pomen mikroglije pri nastanku Alzheimerjeve bolezni

V primeru Alzheimerjeve demence naj bi prav oblikovanje in nalaganje amiloidnih agregatov povzročilo aktivacijo mikroglije, ki ima sposobnost odstranjevanja teh plakov. V eni izmed raziskav so na transgenih miših ugotovili, da se v primeru prisotnosti agregatov amiloid beta v možganih lokalna mikroglija hitro aktivira in pride v stik z amiloidnimi agregati (Bolmont idr., 2008). Vendar pa lahko postane stanje patološko, saj ko se mikroglija hiperaktivira, ta postane nevrotoksična in ključna za poslabšanje človeške kognicije (Heneka idr., 2015b; Malm idr., 2015).

Mikroglija lahko s pomočjo več vrst receptorjev prepozna molekularne vzorce, povezane s poškodbami (DAMP: angl. damage-associated molecular pattern), in molekularne vzorce, povezane z vdorom patogenov (PAMP: angl. patogen-associated molecular pattern). V primeru Alzheimerjeve bolezni so ti molekularni vzorci agregati amiloid beta. Mikroglija prepoznava molekularne vzorce, povezane s poškodbami (DAMP), preko številnih receptorjev, kot so SCARA1, CD36, CD14,  $\alpha\beta 1$  integrin, CD47, »Toll« podobni receptorji (prepoznava vstopa tujkov; TLR2, TLR4, TLR6 in TLR9) (Bamberger, Harris, McDonald, Husemann in Landreth, 2003; Heneka idr., 2015a). Po prepoznavi agregatov amiloid beta jih mikroglija obkroži/zaobjame (Griffin, Sheng, Roberts in Mrak, 1995, po Cherry, 2014), nato začne z njihovo razgradnjo in odstranitvijo. To lahko stori na tri različne načine, in sicer s fagocitozo, avtofagijo in mikropinocitozo (Malm idr., 2015).



Slika 3.02. Načini, s katerimi mikroglija odstrani amiloid beta iz ekstracelularnega predela možganov (povzeto po Malm idr., 2015).

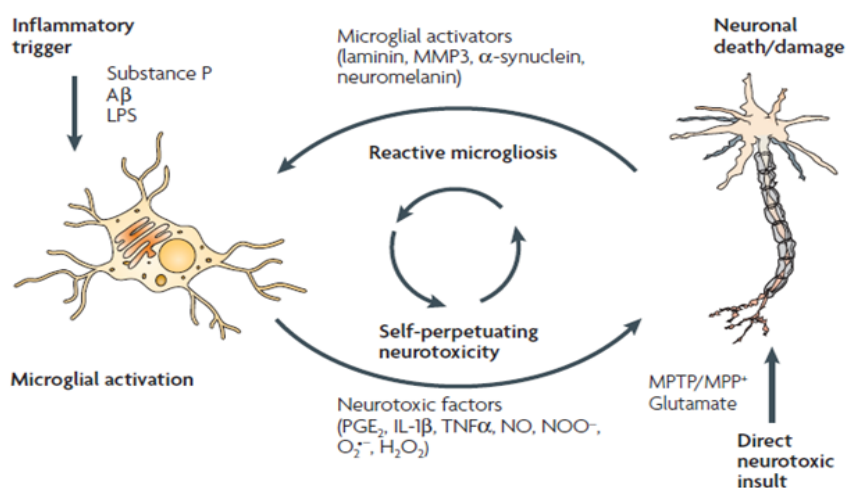
V primeru fagocitoze (Slika 3.02.) so fibrilarni amiloidi beta vzeti preko prirojenih imunskih receptorjev (katepsin B). Beclin 1 naj bi pospeševal fagocitozo z regulacijo ekspresije CD36 in Trem2. Slednji je še posebej pomemben pri odstranjevanju molekul



(Hsieh idr., 2009). V študiji, kjer so izolirali človeške možgane, so ugotovili, da imajo manj beclin 1 molekul tisti, pri katerih je prisotna prav Alzheimerjeva bolezen (Lucin idr., 2013; Yang idr., 2011, po Malm idr., 2015). Z mikroavtofagijo (Slika 3.02.) so molekule izolirane preko avtofagosoma (Todde, Veenhuis in van der Klei, 2009, po Malm idr., 2015). Eden izmed najpomembnejših mediatorjev avtofagije je kompleks Beclin 1/Vsp34. Beclin 1 je tudi tisti element, ki stimulira avtofagijo. Inducirana je s pomočjo TLR4 kot odgovor na mieloidno spremembo primarnega odgovora (Shi in Kehrl, 2010, po Malm idr., 2015). Pinocitoza (Slika 3.02.) oziroma makropinocitoza izoblikuje zaprti mehurček z amiloidom beta. Gre za mehanizem, ki je selektiven za privzem topnih in oligomernih amiloidov beta (Malm idr., 2015).

Vendar pa, ne glede na zaščitno vlogo mikroglije pred nevarnimi delci ( $A\beta$ ), lahko njena aktivacija povzroči škodljive in toksične poškodbe na nevronih in sinapsah preko velikega izločanja citokinov in reaktivnih kisikovih molekul (ROS) (Li idr., 2014). Prav zaradi tega ji pripisujejo tudi eno izmed pomembnejših vlog pri nastanku Alzheimerjeve demence (Heneka idr., 2015a; Li idr., 2014). Dolgotrajno in nekontrolirano vnetje naj bi vodilo v tkivne poškodbe možganov zaradi vnetnih molekul, kot so tumor – nekrotizirajoči dejavnik alfa ( $TNF-\alpha$ ), interlevkin 6 (IL-6), kemokinski makrofagni vnetni protein 1 (M1P-1), monocitni kemotaktični protein 1 (MCP-1), drugi komplementi in ROS (Chen in Trapp, 2015; Lee, Han, Nam, Oh in Hong, 2010, po Li idr., 2014). Vse te poškodbe nevronov, ki se zgodijo zaradi vnetnih molekul, ponovno aktivirajo mikroglijo. Gre za dolgotrajen in ponavljajoč se krog dogodkov, kjer je mikroglija venomer aktivirana (Li idr., 2014). Preveliko izločanje citokinov naj bi povečalo oblikovanje neurofibrilarnih pentelj s hiperfosforiliranim proteinom tau preko ciklin odvisne kinaze (CDK5) (Heneka idr., 2015b).

Mikroglija naj bi torej postala hiperaktivna preko dveh povezanih mehanizmov (Slika 3.03.). Mikroglija postane aktivna in sprošča nevrotoksične pro-vnetne faktorje (superoksid, dušikov oksid in  $TNF-\alpha$ ) kot odgovor na pro-vnetne dražljaje ( $A\beta$ , LPS). Po drugi strani postane mikroglija čezmerno aktivna zaradi nevronskih poškodb, ki so nastale na sosednjih nevronih. Vsi ti mehanizmi so ključnega pomena pri nastanku neurodegenerativnih bolezni (Block idr., 2007). To stanje namreč postane za mikroglijo zelo stresno in energetska potratno, zato oslabi svojo zmožnost fagocitoze peptidov amiloid beta. Posledica tega je akumulacija agregatov amiloid beta v mikrogliji (ElAli in Rivest, 2015).



Slika 3.03. Hiperaktivacija mikroglije in ponavljajoč se krog neuro-vnetja (povzeto po Block idr., 2007).

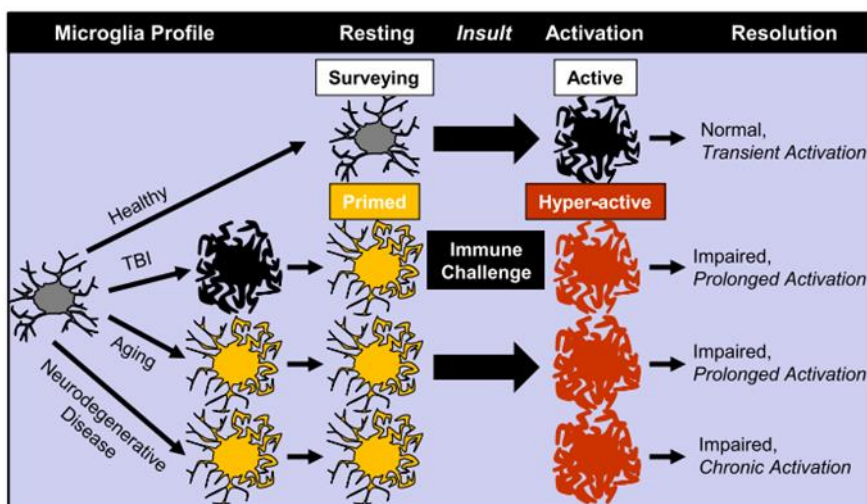
V nadaljevanju pa so se Lim in sodelavci (2015) spraševali, ali se ne bi vse skupaj začelo že zelo zgodaj, v zgodnjem obdobju našega življenja. Zgodnje izkušnje bi lahko vplivale na spremembo imunskega sistema in na ta način bi povečano občutljiva mikroglija v zgodnjem obdobju spremenila aktivno stanje mikroglije v poznem obdobju življenja. Tako bi lahko postala hiperaktivirana in preveč občutljiva na dražljaje. Znanstveniki menijo, da se vse te spremembe začnejo od 10 do 20 let pred tem, ko se pojavijo prvi klinični znaki Alzheimerjeve demence, zato je zanimanje za zgodnje obdobje pojava bolezni veliko. Študije namreč kažejo na pojav neurofibrilarnih pentelj že v adolescenci, in sicer v transentorinalni skorji, ki se potem čez leta razširijo v hipokampus in neokorteks. Amiloid beta naj bi se pojavil kasneje in je prisoten tudi pri kognitivno normalnih ljudeh (Braak, Thal, Ghebremedhin in Del Tredici, 2011). Vse te spremembe naj bi vodile v povečano sproščanje citokinov, kar pospeši patogenezo nastanka Alzheimerjeve demence (Lim idr., 2015).

Prav zaradi dejstva, da je zgodnje obdobje našega življenja ključno za razvoj posameznika v odraslosti (Vanbesien-Mailliotte idr., 2007), sta v nadaljevanju predstavljena model delovanja povečano občutljive mikroglije ter njen vpliv na razvoj neurodegenerativnih sprememb v možganih.

### 3.2 Povečano občutljiva mikroglija

Povečano občutljiva mikroglija je pojav, ki ga strokovna literatura umešča predvsem v obdobje staranja, možganskih poškodb in neurodegenerativnih bolezni. V številnih člankih jo navajajo kot »primed« mikroglijo, saj povzroči molekularne in celularne spremembe, preko nje pa sistemsko vnetje pripomore k poslabšanju oziroma nastanku

nevrodegenerativnih bolezni (Norden, Muccigrosso in Godbout, 2015; Peryy in Holmes, 2014; Wynne, Henry in Godbout, 2009). Živalski modeli staranja kažejo na povečano stopnjo izločanja pro-vnetnih citokinov v možganih in povečano ekspresijo receptorjev na mikrogliji (Norden in Godbout, 2013). Frank in sodelavci pravijo, da pri povečano občutljivi mikrogliji ne gre za povečano produkcijo pro-vnetnih citokinov, ampak za povečano stimulacijo le-teh (Frank, Watkins in Maier, 2015). Pri povečano občutljivi mikrogliji poteka sprememba v njenem delovanju, saj naj bi ta zaradi nekega primarnega stresorja postala bolj občutljiva na sekundarni vnetni dražljaj ter tako povzročila povečan vnetni odgovor (Perry in Holmes, 2014). Lastnosti, ki se kažejo, so zmanjšan vzdražni prag za njeno aktivacijo in preklop v pro-vnetno stanje, prav tako ima mikroglija višjo ekspresijo vnetnih markerjev in njihovih mediatorjev ter povečan vnetni odgovor (Lull and Block, 2010 po Norden idr., 2015). Spremeni se tudi njena morfologija, kar se kaže kot povečanje »scavenger« receptorjev (CD 68), »Toll« podobnih receptorjev, integrinov (CD11b in CD11c) ter MHC II in CD 86 na mikrogliji (Norden in Godbout, 2013).



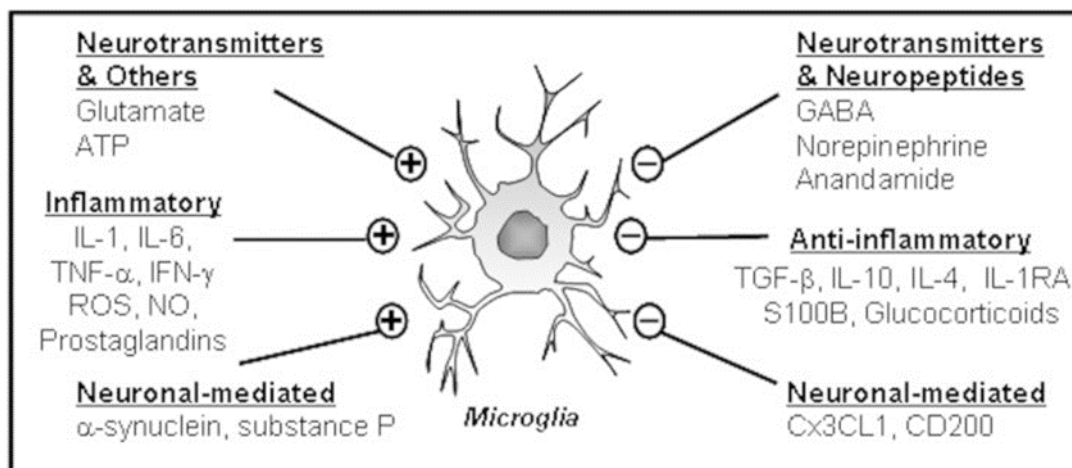
Slika 3.04. Koncept povečano občutljive mikroglije pri različnih stanjih (povzeto po Norden, Muccigrosso in Godbout, 2015).

Slika 3.04. predstavlja shematični prikaz delovanja povečano občutljive mikroglije v obdobju staranja, možganskih poškodb, nevrodegenerativnih bolezni in v primeru zdravih možganov. Prav pri slednjih mikroglija ohranja in vzdržuje mikrookolje, saj je njeno stanje aktiviranosti le prehodno. V primeru staranja, nevrodegenerativnih sprememb in možganskih poškodb pa prvotna mikroglija spremeni svojo morfologijo in postane bolj občutljiva ter tako prispeva k povečanemu izločanju pro-vnetnih citokinov. Ravno to delovanje naj bi pripomoglo h kroničnemu nevro-vnetju in tako prispevalo k razvoju nevrodegenerativnih sprememb, tudi Alzheimerjeve demence (Heppner, Ransohoff in Becher, 2015; Norden idr., 2015).

V primeru travmatične možganske poškodbe (Slika 3.04.) se mikroglija sprva aktivira in začne z izločanjem kemokinov in citokinov. Čeprav se del mikroglije nato vrne v prvotno stanje, se del mikroglije reprogramira v povečano občutljivo mikroglijo, ki ima povečano ekspresijo MHC II in CD68. Pri nadaljnji izpostavitvi povečano občutljive mikroglije sekundarnemu dražljaju ta postane hiperaktivirana in povzroča dolg pro-vnetni odgovor (Witcher, Eiferman in Godbout, 2015).

V primeru nevrodegenerativnih sprememb (Slika 3.04.), in sicer Alzheimerjeve demence, naj bi prisotnost proteina amiloid beta in drugih patoloških proteinov povečala občutljivost mikroglije in tako povzročila občutljivost na druge sekundarne dražljaje. Konstantno izločanje pro-vnetnih citokinov povzroči poškodbo in izgubo nevronskih celic ter na koncu preide v stanje nevrodegeneracije (Heppner idr., 2015).

Pri staranju pa so prisotnost povečano občutljive mikroglije opazili tudi pri vzorcu zdravih starejših možganov (Sparkman in Johnson, 2008). Študije kažejo, da naj bi se v času staranja že tako povečali gostota in količina mikroglije v možganih, predvsem na predelih hipokampusa, retine in slušno-vidne skorje (Wong, 2013). V raziskavi, ki so jo izvedli na miših, so namreč ugotovili, da sta bili količini mikroglije in astrocitov pri starejših zdravih miškah (samicah) povečani za 20 % v primerjavi z mlajšimi zdravimi miškami (samicami). Predvsem se je pokazala razlika na področju hipokampusa (Mouton idr., 2002). Pri starejših je opažen povečan pro-vnetni profil mikroglije, ki je povezan s povečano občutljivo mikroglijo (Norden in Godbout, 2013). Kljub temu pri starejših modelih ni znan mehanizem nastanka povečano občutljive mikroglije (Wynne idr., 2009). Znani so nekateri možni dejavniki, ki bi lahko povzročili povečano občutljivo mikroglijo v obdobju staranja (Wynne idr., 2009). Wynne in sodelavci (2009) možne mehanizme predstavijo v dveh skupinah (Slika 3.05.). Prva je tista, ki določa mehanizme, ki bi aktivirali mikroglijo (glutamat, ATP, IL-10, IL-6, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , ROS, NO, prostaglandini,  $\alpha$ -sinuklein in substanca P). Druga pa vključuje elemente, ki inhibirajo mikroglijo (GABA, noradrenalin, anandamid, TGF- $\beta$ , IL-10, IL-4, IL-1RA, S100B, glukokortikoidi, Cx3CL1 in CD200). Vsak izmed teh mehanizmov (Slika 3.05.) bi lahko bil okvarjen oziroma upočasnen v obdobju staranja in tako prispeval k nastanku povečano občutljive mikroglije (Wayne, 2009).



Slika 3.05. Možni mehanizmi, ki bi lahko pripomogli k nastanku povečano občutljive mikroglije (povzeto po Wynne idr., 2009).

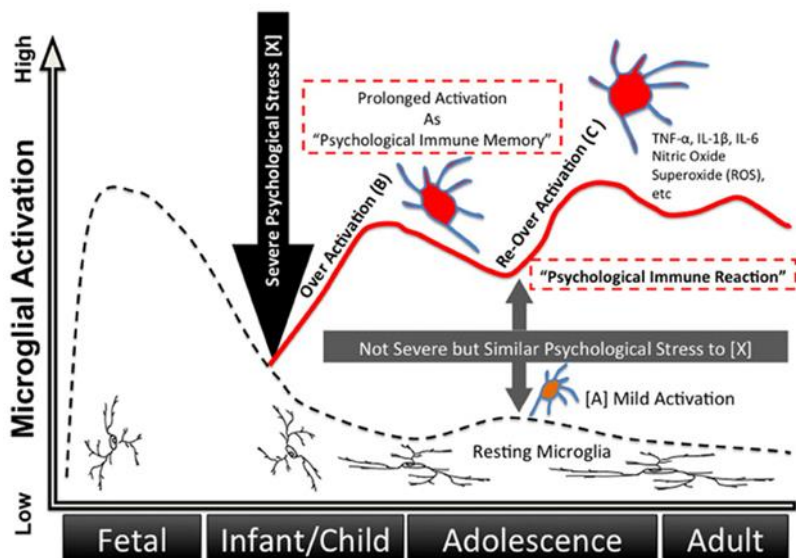
Prav zaradi dejstva, da vsi ljudje vstopamo v fazo staranja in imamo v tem obdobju povečano aktivacijo ter občutljivost mikroglije (Solito in Sastre, 2012), je v nadaljevanju predstavljen model, kje bi lahko bila razlika v patologiji povečano občutljive mikroglije med tistimi z Alzheimerjevo boleznijo in tistimi, ki te bolezni nimajo. Strokovnjaki se namreč sprašujejo, ali bi lahko določeni dražljaji v zgodnjem obdobju življenja vplivali na mikroglijo tako, da ta postane bolj aktivna ob sekundarnem dražljaju v poznem obdobju posameznikovega življenja in bi tako lahko povzročila nastanek Alzheimerjeve demence (Kato in Kanba, 2013).

### 3.2.1 Model nastanka povečano občutljive mikroglije

Pregled literature (Ganguly in Brenhouse, 2015; Harry in Kraft, 2012; Kato in Kanba, 2013; Lim idr., 2015) kaže na nekatere možne modele oziroma dejavnike, ki bi lahko vplivali na povečano občutljivost mikroglije že v zgodnjem obdobju našega življenja in tako vplivali na aktivacijo mikroglije v poznem življenju ter nastanek nevrodegenerativnih sprememb, še posebej Alzheimerjeve demence.

Kato in Kanba (2013) sta v svojem članku predstavila nov model, tako imenovani psihološki imunski spomin mikroglije. Predpostavljata namreč, da bi lahko različni stresorji pripomogli k povečano občutljivi mikrogliji že v zgodnjem obdobju našega življenja. Za možne stresorje ne navajata zgolj fizioloških (infekcije), ampak tudi psihološke dejavnike (Kato in Kanba, 2013). Dnevni oziroma vsakdanji stres naj bi začasno aktiviral mikroglijo v zgodnjem obdobju našega življenja. Do zdravstvenih težav lahko pride, kadar doživimo hud psihološki stres oziroma travmo, ki čezmerno aktivira našo mikroglijo. To povzroči povečano izločanje citokinov in povišano raven oksidativnega stresa. Ta mikroglija, ki je že bila v obdobju hiperaktivacije, ostane v pred-

aktiviranem stanju še leta. Prav to stanje sta Kato in Kanba (2013) imenovala psihološki imunski spomin, ki poteka preko mikroglije (Slika 3.06.). Predhodno aktivirana mikroglija oziroma povečano občutljiva mikroglija se bo namreč na prihodnje dražljaje odzvala bolj hitro in s povečanim imunskim odzivom (Kato in Kanba, 2013).



Slika 3.06. Prikaz psihološkega imunskega spomina preko mikroglije (povzeto po Kato in Kanba, 2013).

Glede na prebrano literaturo se bomo v nadaljevanju osredotočili na dva dejavnika, ki bi lahko vplivala na samo mikroglijo in njeno delovanje že v zgodnjem obdobju našega življenja ter tako prispevala k nastanku nevrodegenerativne bolezni, kot je Alzheimerjeva demenca. To sta akutni stres in kronični stres (Walker, Nilsson in Jones, 2013).

### 3.2.2 Stres kot dejavnik za nastanek povečano občutljive mikroglije

Že petdeset let se znanstveniki sprašujejo, kako lahko kronični in akutni stres vplivata na delovanje možganov (Walker idr., 2013). S temi vprašanji se ukvarja predvsem področje znanosti, imenovano psihonevroimunologija (Glaser in Kiecolt Glaser, 2005). Raziskovanje vpliva stresa in glukokortikoidov pa je postalo zanimivo tudi v povezavi z nevrodegenerativnimi boleznimi, tudi Alzheimerjevo demenco (Landfield, Blalock, Chen in Porter, 2007). Stresni hormoni v možganih namreč vplivajo tako na nevrone kot na celice glija (Jauregui-Huerta idr., 2010). Stresne izkušnje v centralnem živčnem sistemu dvignejo raven nevrovnetja z aktivacijo mikroglialnih celic in s povečanjem sekrecije citokinov (O'Connor idr., 2003 po Yuan, Hou, Zhao in Arias-Carrión, 2015; Walker idr., 2013). Prav tako povzročijo spremembe na sami mikrogliji, njeni strukturi in funkciji (Yuan idr., 2015). Med drugim študije kažejo, da naj bi bili prav glukokortikoidi sposobni povečanja nevrovnetnega odgovora oziroma povečane občutljivosti mikroglije (Frank idr.,

2015; Frank, Thompson, Watkins in Maier, 2012). Iz številnih študij je namreč jasno, da stres lahko pospeši celično staranje, imunsko senescenco in nastanek nevrodegenerativnih sprememb, kot je Alzheimerjeva demenca (de Pablos idr., 2014).

## 4 STRES

Stres je odziv na zaporedje dogodkov, ki so sestavljeni iz dražljajev oziroma stresorjev. Le-ti povzročijo reakcijo v možganih, ki nadalje aktivira fiziološki sistem v telesu, imenovan beg ali boj (Dhabhar in McEwen, 1997 po Dhabhar, 2009). Gre za zapleteno povezanost med osrednjim živčevjem, endokrinim in imunskim sistemom (Starc, 2007). Glavna kontrola odziva na stres je v možganih, in sicer na področju hipotalamusa in možganskega debla. V sistem stresnega odziva so vključeni kortikotropin sproščujoči hormoni (CRH) in arginin-vazopresinki nevroni (AVP) v paraventricularnih jedrih hipotalamusa in noradrenalinški sistem v lokus ceruleus (LC), imenovan tudi centralni simpatični sistem (Chrousos, 1992 po Tsigos in Chrousos, 2002). Prav preko teh sistemov in hipotalamične – hipofizne osi (HPA os) možgani vplivajo na druge organe po telesu, ko smo izpostavljeni stresorju in nanj odgovorimo (Habib, Gold in Chrousos, 2001 po Tsigos in Chrousos, 2002). Izpostavljanje stresni izkušnji oziroma stresorju namreč povzroči aktivacijo hipotalamične – hipofizne poti (HPA os) in simpatične – nadledvično žlezne osi (SAM os). Ko je zaznan stresni dražljaj, začne hipofiza izločati adrenokortikotropne hormone, ki posledično aktivirajo izločanje kortizola in drugih glukokortikoidnih hormonov iz nadledvične žleze (Glaser in Kiecolt Glaser, 2005). Vse to nam pomaga, da se lahko spoprijemamo s stresom. Kortizol pod določenimi pogoji povzroči negativno povratno zanko in sporoči hipotalamusu (hipokampusu), naj umiri delovanje HPA osi in povrne kortizol v prvotno stanje (Meyer in Quenzer, 2013).

Stres je lahko dober ali slab, torej je imunozaščitni ali imunopatološki. Dhabhar (2009) loči dve vrsti stresa, akutnega in kroničnega. Akutni je tisti, ki traja krajši čas in lahko poveča imunski odgovor. Ta je lahko koristen. Na drugi strani pa kronični stres traja dlje časa in zatre imunost z zmanjšanjem imunskih celic in njihove aktivnosti. Prav tako lahko okvari imunsko funkcijo z aktivacijo pro-vnetnih dejavnikov (Dhabhar, 2009). Predvsem lahko poškoduje strukture, ki so vključene v stresni odgovor. Gre za hipotalamus, prefrontalni korteks in hipokampus (de Pablos, Espinosa-Oliva, Sarmiento in Venero, 2014).

V nadaljevanju je predstavljen pregled relevantne literature, ki proučuje pomen kroničnega in akutnega stresa v povezavi z glukokortikoidi na delovanje mikroglije in njeno povečano občutljivost (Walker idr., 2013).

## 4.1 Akutni stres in povečano občutljiva mikroglija

V literaturi so se začele pojavljati novosti o sposobnosti vpliva akutnega stresa na mikroglijo. In sicer naj bi že ena stresna situacija ali izkušnja lahko povzročila povečano občutljivo mikroglijo in tako prispevala k povečani imunski stimulaciji (Frank, Baratta, Sprunger, Watkins in Maier, 2007 po Walker idr., 2013). V eni izmed raziskav (Frank idr., 2007) so na podganah in vivo ugotavljali učinek neizogibnega repnega šoka na aktivacijo mikroglije in vpliv na regulatorne markerje (CD200). Nadalje so skušali ugotoviti mikroglialni pro-vnetni odgovor na lipopolisaharide (LPS), ki so bili vstavljeni v podganji hipokampus (ex vivo). Ugotovili so, da se je povečala stopnja mikroglialnega aktivnostnega markerja MHC II, in sicer po 24 urah, ko je bila podgana izpostavljena neizogibnemu šoku. Medtem pa pri markerju GFAP astroglije ni prišlo do sprememb. Po neizogibnem šoku se je protein CD200 zmanjšal. Povečal se je tudi pro-vnetni odgovor na lipopolisaharide ex vivo 24 ur po stresu na področju hipokampusu. Tako so ugotovili, da stres aktivira in poveča občutljivost mikroglije (Frank idr., 2007). V naslednji raziskavi so prav tako ugotovili, da lahko po eni seji neizogibnega šoka ter izpostavljanjem naslednjim lipopolisaharidom povzroči povečano stopnjo produkcije IL-1 $\beta$  znotraj hipotalamusa, hipokampusu in ščitnice (Johnson, O'Connora, Deak, Stark, Watkins in Maier, 2002). V raziskavi, kjer so bile podgane izpostavljene prekinitvenim šokom stopal (80) preko 2 uri, so ugotovili, da sta bila mRNA za IL-1 $\beta$  in CD14 močno povečana, v nasprotju pa je bila mRNA za CD200 zmanjšana (Blandino, Barnum, Solomon, Lankow in Deak, 2009). Nadalje so v raziskavi podgane izpostavili dvournemu stresu. Zadrževali so jih v bazenu, morale so plavati in se potapljati. Že samo ena izpostavitvev je izzvala morfološko mikroglialno aktivacijo v hipokampusu, hipotalamusu, talamusu, centralnem girusu in substancii nigri (Sugama, Fujita, Hashimoto in Conti, 2007).

## 4.2 Kronični stres in povečano občutljiva mikroglija

Kronični stres je povezan s povečanim nevrovnetnim signaliziranjem in dolgotrajnim povečanjem glukokortikoidov (Yuan idr., 2015). Vse več raziskav povezuje kronični stres in stresno izzvane glukokortikoide pri ugotavljanju nastanka Alzheimerjeve demence (Vyas, 2016). Študije kažejo, da naj bi kronični stres preko povečanja ekspresije CD200, CX3CR1, IL-6, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  in iNOS povečal aktivacijo mikroglije (de Pablos idr., 2014). Prav tako naj bi povečal občutljivost mikroglije in nevrovnetnega odgovora (Frank, Hershman, Weber, Watkins in Maier, 2014). V eni izmed raziskav so podgane izpostavili stresnim dražljajem, in sicer 30-minutnim sejam po dvakrat na dan v obdobju 14 dni. Ugotovili so, da se je število mikroglialnih celic povečalo, prav tako so prešle iz stanja počitka v aktivno stanje (Tynan idr., 2010). Hinwood, Tynan, Charnley, Beynon, Day in Walker (2013) so v raziskavi podgane izpostavili psihološkemu kroničnemu stresu 21 dni



po 6 ur na dan. Ugotavljali so spremembe na mikrogliji v prefrontalni skorji. Ugotovili so, da se je pod vplivom kroničnega psihološkega stresa povečala razvejanost mikroglije in ekspresija  $\beta 1$ -integrina (CD29), proteina, vključenega v preoblikovanje mikroglije (Hinwood idr., 2013). V naslednji raziskavi so podganam z intrakortikalno injekcijo vbrizgali 2  $\mu$ g lipopolisaharidov (LPS), ki veljajo za enega izmed ključnih povzročiteljev nevrovnetja (de Pablos idr., 2006). To so storili podganam, ki so bile nadalje izpostavljene 9-dnevemu stresu in podganam brez stresa. Kronični stres, ki so mu bile podgane izpostavljene, je bil različen. Bile se izpostavljene odvzemu vode ali hrane za 24 ur, temperaturi 4 stopinj Celzija in plavanju. Ugotovili so, da kronični stres bistveno zviša vnetne procese, povzročene z injekcijo LPS, v prefrontalni skorji. Povečala se je raven pro-vnetnih citokinov, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  in IL-6, zmanjšala pa se je populacija astroglialnih celic. Prišlo je tudi do aktivacije in proliferacije mikroglije (de Pablos idr., 2006).

Glede na zgoraj omenjene raziskave lahko zaključimo, da kronični in akutni stres vplivata na nevrovnetni odgovor. Literatura tako izpostavi mehanizem, preko katerega bi lahko stres privedel do povečanega pro-vnetnega odgovora oz. mikroglije. To je hormonalni sistem glukokortikoidov. Gre za stresne hormone, ki se izločajo med stresom (Frank idr., 2012; Frank, 2013; Walker idr., 2013).

### **4.3 Mehanizem delovanja glukokortikoidov pri nastanku povečano občutljive mikroglije**

Glukokortikoidi so steroidni hormoni, ki se izločajo iz nadledvične žleze in imajo tako vpliv na skoraj vse organe in tkiva. Njihova ključna vloga je zagotavljanje ravnovesja in homeostaze. Regulirajo aktivnosti HPA osi in omogočajo negativno povratno zanko (Nicolaidis, Kyratzi, Lamprokostopoulou, Chrousos in Charmandari, 2015). Pomembno vlogo imajo pri zagotavljanju primerne kardiovaskularnega tonusa, elektrolitskega ravnovesja in uravnavanju metabolizma preko katabolnih aktivnosti v jetrih, mišicah in adipoznih tkivih. Prav tako imajo ključno vlogo pri zagotavljanju količine in kakovosti v delovanju imunskega sistema in vnetja (Nicolaidis idr., 2015).

Glukokortikoidi so v splošnem poznani kot protivnetne molekule (de Pablos idr., 2014). S povečanjem sinteze protivnetnih proteinov zatirajo vnetje. Povečujejo transkripcijo IL-1 receptorskega antagonista, sekretornega levkocitnega inhibitornega proteina in lipokortina-1. Na drugi strani pa zmanjšujejo transkripcijo citokinov (IL-1 - IL-6; IL-11 - IL-13), kemokinov, TNF- $\alpha$ , COX-2, adhezijskih molekul in iNOS (Barnes, 1998). Kljub vsemu pa dokazi kažejo na to, da naj bi imeli glukokortikoidi pro-vnetni učinek (Frank idr., 2015; Sorrells, Caso, Munhoz in Sapolsky, 2009). Med stresom se namreč stopnja glukokortikoidov močno poveča, kar naj bi povzročilo nevronske poškodbe.

Glukokortikoidi lahko izzovejo mitohondrijsko disfunkcijo in celično smrt. Stresno izzvani glukokortikoidi lahko s stimulacijo hiperfosforilacije proteina tau povzročajo nevronske atrofije in sinaptično disfunkcijo. Vsi ti mehanizmi bi lahko vodili v degeneracijo. Prav zaradi teh procesov jih uvrščajo med možne dejavnike, ki bi pripomogli k nastanku Alzheimerjeve demence. Zanimivo je, da so pri bolnikih z Alzheimerjevo demenco v slini, plazmi in cerebrospinalni tekočini našli povišano raven kortizola. Prav tako je povišana celokupna dnevna raven tega hormona (Hartmann, Veldhuis, Deuschle, Standhardt in Heuser, 1997 po Vyas, 2016; Hoogendijk, Meynen, Endert, Hofman in Swaab, 2006 po Vyas, 2016). Raziskovalci jih umeščajo med modulatorje mikroglijske aktivnosti in nevrovnetnega procesa. Zaradi vpliva na delovanje mikroglije naj bi pripomogli k povečani občutljivosti imunskega odgovora (Frank idr., 2015; Sorrells idr., 2009; Vyas, 2016).

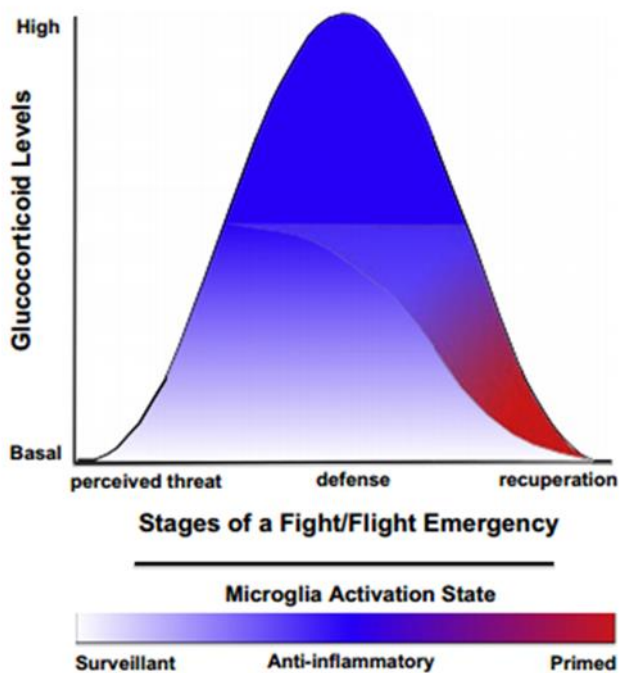
#### 4.3.1 Vpliv glukokortikoidov na mikroglijo

Vse več je raziskav, ki nakazujejo delovanje glukokortikoidov na povečanje občutljivosti mikroglialnega nevrovnetnega odgovora (Walker idr., 2013). V raziskavi so miškam in vivo vbrizgali glukokortikoidni receptorski antagonist RU486, tako imenovani mifepriston, ali pa so jim odstranili nadledvične žleze. Miške so bile nato izpostavljene akutnemu stresu (neizogibnemu repnemu šoku) z jakostjo toka 1001.6 mA po 5 sekund s povprečnimi intervali 1 minute. Akutni stresorji oziroma dražljaji so trajali 2 uri, in sicer med 9. in 11. uro. Po 24 urah so miškam ex vivo izolirali hipokampalno mikroglijo in jo izpostavili lipopolisaharidom, in sicer 0.1, 1, 10, 100 ng/ml in brez dodanih lipopolisaharidov za 2 uri. Ugotovili so, da je prišlo v obeh skupinah, tako pri uporabi RU486 kot pri odstranitvi nadledvičnih žlez, do blokiranja moči stresorja, da bi ta povzročil občutljivostni odgovor mikroglije. Lipopolisaharidi so na hipokampalni mikrogliji ex vivo povzročili povečano ekspresijo IL-1 $\beta$  pri vseh eksperimentalnih skupinah (Frank idr., 2012). V naslednji študiji so podgane razdelili v tri skupine. V prvi je bila skupina podgan, ki so jim vbrizgali kortikosteron 1 uro po izpostavitvi lipopolisaharidom. V drugi skupini so bile podgane, ki so jim najprej vbrizgali kortikosteron, 2 uri pozneje pa so jih izpostavili lipopolisaharidom. Zadnja skupina podgan pa je dobila kortikosteroone 24 ur pred izpostavitvijo lipopolisaharidom. Vse skupine so bile nato izpostavljene lipopolisaharidom za 4 ure. Ugotovili so, da so glukokortikoidi okrepili pro-vnetni odgovor s povečanjem TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  in IL-6, če so bili ti aplicirani 2 uri in 24 ur preden so miške izpostavili lipopolisaharidom. Ravno nasprotno pa se je pokazalo, če so glukokortikoide aplicirali 1 uro po izpostavitvi lipopolisaharidom. Takrat naj bi glukokortikoidi delovali protivnetno. Ti dokazi kažejo na močno povezavo med imunsko spremembo in glukokortikoidi (Frank, Miguel, Watkins in Maier, 2010). Ugotovitve naslednje študije prav tako nakazujejo pomen glukokortikoidov na povečano občutljivost mikroglije. In sicer se je po kroničnem izpostavljanju kortikosteronom močno povečala ekspresija NLRP3, Iba-1 in MHCII. Prav

tako se je povečal mikroglialni pro-vnetni odgovor. Prišlo je do povečanja TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 in NLRP3 (Frank idr., 2014).

#### 4.3.2 Nastanek povečano občutljive mikroglije preko glukokortikoidov in povezanost z Alzheimerjevo demenco

Frank in sodelavci (2013) so predstavili shematski prikaz povezanosti glukokortikoidov, stresne situacije in mikroglije (Frank idr., 2013). Med stresorjem naj bi zvišani glukokortikoidi opravljali dvojno funkcijo. Na eni strani naj bi zavirali vnetje, na drugi strani pa povzročali procese, ki povečajo občutljivost same mikroglije. Ti procesi vključujejo povečanje TLR in aktivacijo citosolske strukture, v kateri so skoncentrirani vnetni dejavniki (angl. inflammasome). Ko pride do povečanja glukokortikoidov in ti dosežejo visoko stopnjo koncentracije, bo njihov učinek protivnetni (Slika 4.01.). Ko se stopnja glukokortikoidov zniža in pade pod prag, pa ostane del mikroglije, ki je povečano občutljiva. Prav ta postane pro-vnetna, če je nadalje izpostavljena novim izzivom oziroma stresorjem (Frank idr., 2013).



Slika 4.01. Stresno izzvani glukokortikoidi med stresno situacijo beg ali boj (povzeto po Frank idr., 2013).

V članku (Frank idr., 2015) predpostavi model, kako lahko glukokortikoidi povzročijo povečano občutljiv imunski odgovor. V stanju počitka mikroglija omogoča oziroma vzdržuje pravo ravnovesje v možganih. Z odstranjevanjem določenih tvorbo omogoča in varuje homeostazo. Ko je organizem izpostavljen stresni izkušnji ali eksogenim glukokortikoidom, pa se raven glukokortikoidov poveča in ti nadalje povzročijo na

desetine celularno pomembnih dogodkov. To stanje imenujejo stanje povečano občutljive mikroglije. Glukokortikoidi preko glukokortikoidnih receptorjev povzročijo sproščanje HMGB1 iz mikroglije ali poškodovanega nevrona. Sproščen HMGB1 se nato veže na »Toll«-podoben receptor 4 (TLR4) na mikrogliji in povzroči povečanje NLRP3 mRNA in proteinov. S tem se poveča občutljivost NLRP3 vnetnega telesca, kar vodi v povečano občutljivost nevrovnetnega odgovora. Ko je organizem izpostavljen pro-vnetnemu imunskemu stresorju, aktivno NLRP3 vnetno telesce povzroči aktivacijo kaspaze-1, ki cepi pro-IL-1 v zrele IL-1. Prav slednji nato povzročijo kaskado pro-vnetnih dogodkov. Njihov rezultat je nevrovnetje (Frank idr., 2015).

Raziskave poudarjajo pomen mikroglialne aktivnosti pri nevrovnetju in nevrodegeneraciji. Prav tako jo močno povezujejo tudi z nastankom Alzheimerjeve demence (Block in Hong, 2005). V eni izmed raziskav so s pomočjo fotonske emisijske računalniške tomografije (SPECT) in vezave ligandov na periferne benzodiazepinske receptorje (PK11195) ugotovili povečano prisotnost mikroglije pri bolnikih z Alzheimerjevo boleznijo v primerjavi s tistimi, ki te bolezni nimajo (Versijpt idr., 2003). Zanimivo je, da prav NLRP3 povezujejo z Alzheimerjevo demenco. In sicer, naj bi se ob prisotnosti amiloid beta aktivirala mikroglija in s tem tudi NLRP3 citosolna struktura z vnetnimi dejavniki, ki nadalje povzroči zorenje IL-1. Kljub vsemu pa še vedno ni jasno kako NLRP3 aktivacija vodi v Alzheimerjevo demenco (Heneka idr., 2013). Morda se prav tu kaže povezava med Alzheimerjevo demenco, NLRP3 citosolno strukturo, glukokortikoidi, stresom in mikroglijo. Stresno izzvani glukokortikoidi bi lahko preko sproščanja HMGB1 iz mikroglije povečali občutljivost NLRP3 citosolnega telesca in nevrovnetnega odgovora (Frank idr., 2015).

## 5 SKLEP

Vse bolj je jasno, da gre pri Alzheimerjevi demenci za multifaktorski proces nastanka te bolezni in da do danes še ni možno popolnoma razložiti vseh njenih molekularnih mehanizmov. Glavna dejavnika za nastanek te bolezni sta kopičenje agregatov amiloid beta in nevrofibrilarnih pentelj. Vendar pa raziskave kažejo, da ima pri samem napredovanju bolezni pomembno vlogo tudi mikroglija, ki se aktivira zaradi agregatov amiloid beta. Glavni vzrok poslabšanja stanja Alzheimerjeve demence je tako hiperaktivacija mikroglije zaradi prisotnih plakov. Mikroglija ne zmore več tako učinkovite fagocitoze, zato se v njej akumulira amiloid beta. S čezmernim sproščanjem citokinov postane toksična za ostale nevrone in sinapse ter tako pripomore k napredovanju Alzheimerjeve demence.

Kljub vsemu pa je v novejših raziskavah predstavljen nov model, tako imenovani psihološki imunski spomin preko mikroglije, pri katerem naj bi k aktivaciji mikroglije pripomogli vtisnjeni spomini iz zgodnjega obdobja posameznikovega življenja oziroma stresni dogodki. Predvsem se kaže vpliv akutnega in kroničnega stresa. Prav ti spomini bi lahko pripomogli k nastajanju in ohranjanju mikroglije v hiperaktivnem stanju. Ravno v tem stanju začne mikroglija z odstranjevanjem škodljivih tarč, hkrati pa poškoduje zdrave nevrone in odstranjuje koristne elemente. Pri svojem delovanju postane neselektivna in neučinkovita. Nove poškodbe nevronov in sosednjih struktur namreč pripomorejo k aktivaciji preostale mikroglije. Gre za začaran krog in zapleten potek mehanizmov, ki se venomer ponavljajo in močno vplivajo drug na drugega ter prispevajo k nastanku Alzheimerjeve demence.

Naloga želi predvsem opozoriti na možen nov model oziroma idejo o nastanku Alzheimerjeve bolezni. Zavedati se je treba, da na morebiten nastanek te bolezni vplivamo že od svojega spočetja, in sicer preko različnih mehanizmov. V tem primeru so to glukokortikoidi preko akutnega in kroničnega stresa ter mikroglialne celice. Na eni strani naj bi glukokortikoidi zavirali vnetje, na drugi strani pa povzročali procese, ki povečajo občutljivost same mikroglije. Lahko bi rekli, da je v tem primeru najboljša preventiva prava mera stresa. Torej tista, ki nam še dovoli, da stres normalno obvladujemo. S povezovanjem področij iz psihonevroimunologije in nevrologije želimo poudariti tudi morebitne nove potencialne tarče za zdravljenje te bolezni. To sta NLRP3 citosolska struktura in HMGB1. Lahko zaključimo, da to področje odpira še veliko nerazrešenih vprašanj in je eno izmed možnosti nadaljnega raziskovanja.

## 6 LITERATURA

- Bamberger, M. E., Harris, M. E., McDonald, D. R., Husemann, J. in Landreth, G. E. (2003). A cell surface receptor complex for fibrillar beta-amyloid mediates microglial activation. *The Journal of Neuroscience*, 23 (7), 2665–2674.
- Barage, S. H. in Sonawane, K. D. (2015). Amyloid cascade hypothesis: Pathogenesis and therapeutic strategies in Alzheimer's disease. *Neuropeptides*, 52, 1–18.
- Barnes, P. J. (1998). Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: molecular mechanisms. *Clinical Science*, 94 (6), 557–572.
- Blandino, P., Barnum, C. J., Solomon, L. G., Larish, Y., Lankow, B. S. in Deak, T. (2009). Gene expression changes in the hypothalamus provide evidence for regionally-selective changes in IL-1 and microglial markers after acute stress. *Brain, Behavior, and Immunity*, 23 (7), 958–968.
- Block, M. L. in Hong, J-S. (2005). Microglia and inflammation-mediated neurodegeneration: Multiple triggers with a common mechanism. *Progress in Neurobiology*, 76 (2), 77-98.
- Block, M. L., Zecca, L. in Hong, J-S. (2007). Microglia-mediated neurotoxicity: uncovering the molecular mechanisms. *Nature Reviews. Neuroscience*, 8 (1), 57–69.
- Bolmont, T., Haiss, F., Eicke, D., Radde, R., Mathis, C. A., Klunk, W. E., Kohsaka, S., Jucker, M. in Calhoun, M. E. (2008). Dynamics of the Microglial/Amyloid Interaction Indicate a Role in Plaque Maintenance. *The Journal of Neuroscience*, 28 (16), 4283–4292.
- Braak, H., Thal, D. R., Ghebremedhin, E. in Del Tredici, K. (2011). Stages of the Pathologic Process in Alzheimer Disease: Age Categories From 1 to 100 Years. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 70 (11), 960–969.
- Brown, G. C. in Vilalta, A. (2015). How microglia kill neurons. *Brain Research*, 8, 288–297.
- Brown Rodgers, A. (2008). Alzheimer's disease. Unraveling the Mystery. U. S.: Department of Health and Human Services NIH. Pridobljeno aprila 2016 na <https://www.nia.nih.gov/alzheimers/publication/alzheimers-disease-unraveling-mystery/preface>
- Chen, Z. in Trapp, B. (2015). Microglia and neuroprotection. *Journal of neurochemistry*, 2015, pridobljeno decembra 2015 na <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jnc.13062/pdf>

- Cherry, D. J., Olschowka, J. A. in O'Banion, M. K. (2014). Neuroinflammation and M2 microglia: the good, the bad, and the inflamed. *Journal of Neuroinflammation*, 11 (98), 1–15.
- D'Andrea, M. R., Cole, G. M. in Ard, M. D. (2004). The microglial phagocytic role with specific plaque types in the Alzheimer disease brain. *Neurobiology of aging*, 25 (5), 675–683.
- De Pablos, R. C., Espinosa-Oliva, A. M., Sarmiento, M. in Venero, J. L. (2014). Stress and inflammation: a detrimental combination in the development of neurodegenerative disease. *Inflammation & Cell Signaling*, 1 (2), 1–8.
- De Pablos, R. C., Villarán, R. F., Argüelles, S., Herrera, A. J., Venero, J. L., Ayala, A., Cano, J. in Machado, A. (2006). Stress Increases Vulnerability to Inflammation in the Rat Prefrontal Cortex. *The Journal of Neuroscience*, 26 (21), 5709–5719.
- Dhabhar, F. S. (2009). Enhancing versus Suppressive Effects of Stress on Immune Function: Implications for Immunoprotection and Immunopathology. *Neuroimmunomodulation*, 16 (5), 300–317.
- Deretic, V. in Levine, B. (2009). Autophagy, immunity, and microbial adaptations. *Cell Host Microbe*, 5 (6), 527–549.
- Drachman, D. A. (2014). The amyloid hypothesis, time to move on: Amyloid is the downstream result, not cause, of Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia: The Journal of Alzheimer's association*, 10 (3), 372–380.
- ElAli, A. in Rivest, S. (2015). Microglia in Alzheimer's disease: A multifaceted relationship. *Brain, behavior, and immunity*, 15, 1–13.
- Emeršič, A. in Pirtošek, Z. (2013). Nastanek, razvoj in diagnostika Alzheimerjeve bolezni. *Farmacevtski vestnik*, 64 (3), 191–202.
- Frank, M. G., Hershman, S. A., Weber, M. D., Watkins, L. R. in Maier, S. F. (2014). Chronic exposure to exogenous glucocorticoids primed microglia to pro-inflammatory stimuli and induces NLRP3 mRNA in the hippocampus. *Psychoneuroendocrinology*, 40, 191–200.
- Frank, M. G., Miguel, Z. D., Watkins, L. R. in Maier, S. F. (2010). Prior exposure to glucocorticoids sensitizes the neuroinflammatory and peripheral inflammatory responses to E. coli lipopolysaccharide. *Brain, Behavior, and Immunity*, 24 (1), 19–30.

- Frank, M. G., Thompson, B. M., Watkins, L. R. in Maier, S. F. (2012). Glucocorticoids mediate stress-induced priming of microglial pro-inflammatory responses. *Brain, Behavior, and Immunity*, 26 (2), 337–345.
- Frank, M. G., Watkins, L. R. in Maier, S. F. (2013). Stress-induced glucocorticoids as a neuroendocrine alarm signal of danger. *Brain, Behavior, and Immunity*, 33, 1–6.
- Frank, M. G., Watkins, L. R. in Maier, S. F. (2015). The permissive role of glucocorticoids in neuroinflammatory priming: mechanisms and insights. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*, 22 (4), 300–305.
- Ganguly, P. in Brenhouse, C. H. (2015). Broken or maladaptive? Altered trajectories in neuroinflammation and behavior after early life adversity. *Developmental Cognitive Neuroscience*, 11, 18–30.
- Garcia, M. L. in Cleveland, D. W. (2001). Going new places using an old MAP: tau, microtubules and human neurodegenerative disease. *Current opinion in cell biology*, 13 (1), 41–48.
- Glaser, R. in Kiecolt-Glaser, J. K. (2005). Stress-induced immune dysfunction: implications for health. *Nature Reviews Immunology* 5(3), 243–251.
- González, H., Elgueta, D., Montoya, A. in Pacheco, R. (2014). Neuroimmune regulation of microglial activity involved in neuroinflammation and neurodegenerative diseases. *Journal of neuroimmunology*, 15 (247), 1–13.
- Harry, G. J. in Kraft, A. D. (2012). Microglia in the developing brain: A potential target with lifetime effects. *NeuroToxicology*, 33 (2), 191–206.
- Hebert, L. E., Weuve, J., Scherr, P. A. in Evans, D. A. (2013). Alzheimer disease in the United States (2010-2050) estimated using the 2010 census. *Neurology*, 80 (19), 1778–1783.
- Heneka, M. T., Carson, M. J., Khoury, J. EL., Landreth, G. E., Brosseron, F., Feinstein, D. L., Jacobs, A. H., Wyss-Coray, T., Vitorica, J., Ransohoff, R. M., Herrup, K., Frautschy, S. A., Finsen, B., Brown, G. C., Verkhratsky, A., Yamanaka, K., Koistinaho, J., Latz, E., Halle, A., Heneka, M. T., Golenbock, D. T. in Latz, E. (2015). Innate immunity in Alzheimer's disease. *Nature immunology*, 16 (3), 229–236.
- Heneka, M. T., Kummer, M. P., Stutz, A., Delekate, A., Schwartz, S., Vieira-Saecker, A., Griep, A., Axt, D., Remus, A., Tzeng, T-C., Gelpi, E., Halle, A., Korte, M., Latz, E. in Golenbock, D. T. (2013). NLRP3 is activated in Alzheimer's disease and contributes to pathology in APP/PS1 mice. *Nature*, 493 (7434), 674–678.



- Hinwood, M., Tynan, R. J., Charnley, J. L., Beynon, S. B., Day, T. A. in Walker, F. R. (2013). Chronic Stress Induced Remodeling of the Prefrontal Cortex: Structural Re-Organization of Microglia and the Inhibitory Effect of Minocycline. *Cerebral Cortex*, 23 (8), 1784–1797.
- Hsieh, C. L., Koike, M., Spusta, S., Niemi, E., Yenari, M., Nakamura, M. C. in Seaman, W. E. (2009). A Role for TREM2 Ligands in the Phagocytosis of Apoptotic Neuronal Cells by Microglia. *Journal of neurochemistry*, 109 (4), 1144–1156.
- Jauregui-Huerta, F., Ruvalcaba-Delgadillo, Y., Gonzalez-Castañeda, R., Garcia-Estrada, J., Gonzalez-Perez, O. in Luquin, S. (2010). Responses of glial cells to stress and glucocorticoids. *Current Immunology Reviews*, 6 (3), 195–204.
- Jesús, A., Lucas, J. J., Pérez, M. in Hernández, F. (2004). Role of Tau Protein in Both Physiological and Pathological Conditions. *Physiological Reviews*, 84 (2), 361–384.
- Johnson, J. D., O'Connor, K. A., Deak, T., Stark, M., Watkins, L. R. in Maier, S. F. (2002). Prior Stressor Exposure Sensitizes LPS-Induced Cytokine Production. *Brain, Behavior, and Immunity*, 16 (4), 461–476.
- Kato, T. A. in Kanba, S. (2013). Are microglia minding us? Digging up the unconscious mind-brain relationship from a neuropsychanalytic approach. *Frontiers of Human Neuroscience*, 7 (13), 1–12.
- Kerchner, G. A., Deutsch, G. K., Zeineh, M., Dougherty, R. F., Saranathan, M. in Rutt, B. K. (2012). Hippocampal CA1 apical neuropil atrophy and memory performance in Alzheimer's disease. *Neuroimage*, 63 (1), 194–202.
- Kogoj, A. in Ličina, M. (2013). 12 Organske duševne motnje. V P. Pregelj, B. Kores Plesničar, M. Tomori, B. Zalar in S. Zihelr (ur.), *Psihijatrija* (140–145). Ljubljana: Psihijatrična klinika.
- Kolb, B. in Whishaw, I. Q. (2008). *Fundamentals of Human Neuropsychology (Sixth edition)*. New York: University of Lethbridge.
- Kores Plesničar, B. (2013). 30 Psihofarmakoterapija. V P. Pregelj, B. Kores Plesničar, M. Tomori, B. Zalar in S. Zihelr (ur.), *Psihijatrija* (380–383). Ljubljana: Psihijatrična klinika.
- Kumar, A. in Ekavali, A. R. (2015). A review on Alzheimer's disease pathophysiology and its management: an update. *Pharmacological Reports*, 67 (2), 195–203.

- Landfield, P. W., Blalock, E. M., Chen, K-C. in Porter, N. M. (2007). A New Glucocorticoid Hypothesis of Brain Aging: Implications for Alzheimer's Disease. *Current Alzheimer Research*, 4 (2), 205–212.
- Lawson, L. J., Perry, V. H., Dri, P. in Gordon, S. (1990). Heterogeneity in the distribution and morphology of microglia in the normal adult mouse brain. *Neuroscience*, 39 (1), 151–170.
- Lee, C. Y. in Landreth, G. E. (2010). The role of microglia in amyloid clearance from the AD brain. *Journal of Neural Transmission*, 117 (8), 949–960.
- Lee, M., McGeer, E. in McGee, P. L. (2015). Activated human microglia stimulate neuroblastoma cells to upregulate production of beta amyloid protein and tau: implications for Alzheimer's disease pathogenesis. *Neurobiology of Aging*, 36 (1), 42–52.
- Li, Y., Tan, M-S., Jiang, T. in Tan, L. (2014). Microglia in Alzheimer's Disease. *BioMed Research International*, 2014, pridobljeno januarja 2016 na <http://www.hindawi.com/journals/bmri/2014/437483/>
- Lim, S. L., Rodriguez-Ortiz, C. J. in Kitazawa, M. (2015). Infection, systemic inflammation, and Alzheimer's disease. *Microbes and infection*, 17 (8), 549–556.
- Lucin, K. M., O'Brien, C. E., Bieri, G., Czirr, E., Mosher, K. I., Abbey, R. J., Mastroeni, D.F., Rogers, J., Spencer, B., Masliah, E. in Wyss-Coray, T. (2013). Microglial beclin 1 regulates retromer trafficking and phagocytosis and is impaired in Alzheimer's disease. *Neuron*, 79 (5), 873–886.
- Lawson, L. J., Perry, V. H., Dri, P. in Gordon, S. (1990). Heterogeneity in the distribution and morphology of microglia in the normal adult mouse brain. *Neuroscience*, 39 (1), 151–170.
- Malm, T. M., Jay, T. R. in Landreth, G. E. (2015). The Evolving Biology of Microglia in Alzheimer's Disease. *Neurotherapeutics*, 12 (1), 81–93.
- Mayeux, R. in Stern, Y. (2012). Epidemiology of Alzheimer Disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2 (8), 1–18.
- Meyer, S. J. in Quenzer, L. F. (2013). *Psychopharmacology: Drugs, the Brain, and Behavior*. Sunderland: Sinauer Associates.
- Mhatre, D. M., Tsai, C. A., Rubin, A. J., James, M. L. in Andreasson, K. I. (2015). *Trends in Neurosciences*, 38 (10), 621–635.

- Mouton, P. R., Longa, J. M., Lei, D-L., Howarda, V., Juckerc, M., Calhounb, M. E. in Ingrama, D. K. (2002). Age and gender effects on microglia and astrocyte numbers in brains of mice. *Brain Research*, 956 (1), 30–35.
- Nakagawa, Y. in Chiba, K. (2014). Role of Microglial M1/M2 Polarization in Relapse and Remission of Psychiatric Disorders and Diseases. *Pharmaceuticals*, 7 (12), 1028–1048.
- Norden, D. M. in Godbout, J. P. (2013). Microglia of the Aged Brain: Primed to be Activated and Resistant to Regulation. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, 39 (1), 19–34.
- Norden, D. M., Muccigrosso, M. M. in Godbout, J. P. (2015). Microglial priming and enhanced reactivity to secondary insult in aging, and traumatic CNS injury, and neurodegenerative disease. *Neuropharmacology*, 96 (Part A), 29–41.
- Nicolaidis, N. C., Kyratzi, E., Lamprokostopoulou, A., Chrousos, G. P. in Charmandari, E. (2015). Stress, the stress system and the role of glucocorticoids. *Neuroimmunomodulation*, 22 (1-2), 6–19.
- Nimmerjahn, A., Kirchhoff, F. in Helmchen, F. (2005). Resting microglial cells are highly dynamic surveillants of brain parenchyma in vivo. *Science*, 27 (308), 1314–1318.
- Perry, V. H. In Holmes, C. (2014). Microglial priming in neurodegenerative disease. *Nature Reviews Neurology*, 10, 217–224.
- Petzold, G. C., Town, T., Morgan, D., Shinohara, M. L., Perry, V. H., Holmes, C., Bazan, N. G., Brooks, D. J., Hunot, S., Joseph, B., Deigendesch, N., Garaschuk, O., Boddeke, E., Dinarello, C. A., Breitner, J. C., Cole, G. M., Golenbock, D. T. in Kummer, M. P. (2015a). Neuroinflammation in Alzheimer's disease. *The Lancet Neurology*, 14 (4), 388–405.
- Padurariu, M., Ciobica, A., Mavroudis, I., Fotiou, D. in Baloyannis, S. (2012). Hippocampal neuronal loss in the CA1 and CA3 of Alzheimer's disease patients. *Psychiatria Danubina*, 24 (2), 152–158.
- Pimplikar, S. W. (2009). Reassessing the amyloid cascade hypothesis of Alzheimer's disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 41 (6), 1261–1268.
- Ribarič, S. (2009). *Temelji patološke fiziologije*. Ljubljana: Medicinska fakulteta, Inštitut za patološko fiziologijo.
- Solito, E. in Sastre, M. (2012). Microglia function in Alzheimer's disease. *Frontiers in Pharmacology*, 3 (14), 1–10.

- Soulet, D. in Rivest, S. (2008). Microglia. *Current Biology*, 18 (12).
- Sorrells, S. F., Caso, J. R., Munhoz, C. D. in Sapolsky, R. M. (2009). The Stressed CNS: When Glucocorticoids Aggravate Inflammation. *Neuron*, 64 (1), 33–39.
- Sparkman, N. L. in Johnson, R. W. (2008). Neuroinflammation Associated with Aging Sensitizes the Brain to the Effects of Infection or Stress. *Neuroimmunomodulation*, 15 (4-6), 323–330.
- Starc, R. (2007). *Stres in bolezni: Pot od stresa do debelosti, zvišanih maščob, arterijske hipertenzije, depresije, srčnega infarkta, kapi in prezgodnje smrti*. Ljubljana: Sirius AP.
- Sugama, S., Fujita, M., Hashimoto, M. in Conti, B. (2007). Stress induced morphological microglial activation in the rodent brain: involvement of interleukin-18. *Neuroscience*, 146 (3), 1388–1399.
- Tsigos, C. in Chrousos, G. P. (2002). Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factor and stress. *Journal of Psychosomatic Research*, 53 (4), 865–871.
- Tynan, R. J., Naicker, S., Hinwood, M., Nalivaiko, E., Buller, K. M., Pow, D. V., Day, T. A. in Walker, F. R. (2010). Chronic stress alters the density and morphology of microglia in a subset of stress-responsive brain regions. *Brain, Behavior, and Immunity*, 24 (7), 1058–1068.
- Vanbesien-Mailliot, C. C., Wolowczuk, I., Mairesse, J., Viltart, O., Delacre, M., Khalife, J., Chartier-Harlin, M. C. in Maccari, S. (2007). Prenatal stress has pro-inflammatory consequences on the immune system in adult rats. *Psychoneuroendocrinology*, 32 (2), 114–124.
- Vardy, E. R., Catto, A. J. in Hooper, N. M. (2005). Proteolytic mechanisms in amyloid-beta metabolism: therapeutic implications for Alzheimer's disease. *Trends in molecular medicine*, 11 (10), 464–472.
- Versijpt, J. J., Dumont, F., van Laere, K. J., Decoo, D., Santens, P., Audenaert, K., Achten E., Slegers, G., Dierckx, R. A. in Korf J. (2003). Assessment of Neuroinflammation and Microglial Activation in Alzheimer's Disease with Radiolabelled PK11195 and Single Photon Emission Computed Tomography. *European Neurology*, 50 (1), 39-47.
- Vyas, S., Rodrigues, A. J., Silva, J. M., Tronche, F., Almeida, O. F. X, Sousa, N. in Sotiropoulos, I. (2016). Chronic Stress and Glucocorticoids: From Neuronal Plasticity to Neurodegeneration. *Neural Plasticity*, 2016, 1–15.

- Walker, F. R., Nilsson, M. in Jones, K. (2013). Acute and Chronic Stress-Induced Disturbances of Microglial Plasticity, Phenotype and Function. *Current Drug Targets*, 14, 1262–1276.
- Winslow, B. T., Onysko, M. K., Stob, C. M. in Hazlewood, K. A. (2011). Treatment of Alzheimer Disease. *American Family Physician*, 83 (12), 1403–1412.
- Witcher, K. G., Eiferman, D. S. in Godbout, J. P. (2015). Priming the Inflammatory Pump of the CNS after Traumatic Brain Injury. *Trends in Neurosciences*, 38 (10), 609–620.
- Wynne, A. M., Henry, C. J. in Godbout, J. P. (2009). Immune and behavioral consequences of microglial reactivity in the aged brain. *Integrative and Comparative Biology*, 49 (3), 254–266.
- Yuan, T-F., Hou, G., Zhao, Y. in Arias-Carrión, O. (2015). The Effects of Psychological Stress on Microglial Cells in the Brain. *CNS & Neurological Disorders - Drug Targets*, 14 (3), 304–308.
- Zlokovic, B. V., Deane, R., Sagare, A. P., Bell, R. D. in Winkler, E. A. (2010). Low-density lipoprotein receptor-related protein-1: a serial clearance homeostatic mechanism controlling Alzheimer's amyloid  $\beta$ -peptide elimination from the brain. *Journal of Neurochemistry*, 115 (5), 1077–1089.
- 2015 Alzheimer's Disease: Fact and Figures (2015). Pridobljeno decembra 2015 na [https://www.alz.org/facts/downloads/facts\\_figures\\_2015.pdf](https://www.alz.org/facts/downloads/facts_figures_2015.pdf)