



Životní prostředí a jeho úloha v etiologii neurodegenerativních onemocnění

Ing. Jan Topinka, DSc.

Ústav experimentální medicíny AV ČR, v.v.i., Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4

jan.topinka@iem.cas.cz



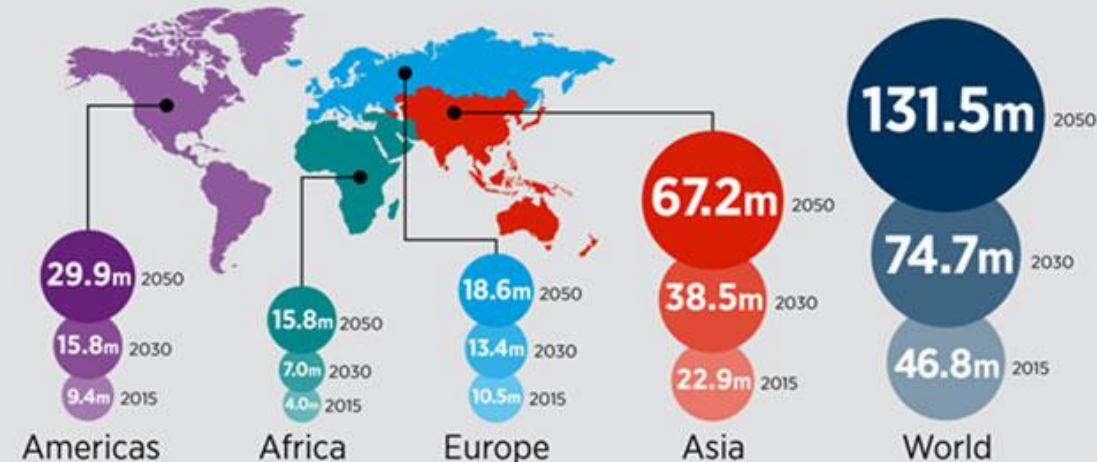
Neurodegenerativní onemocnění

- Neurodegenerativní onemocnění jsou charakterizována **progresivní degenerací** nebo úhynem **nervových buněk**
- **Neuron** (nervová buňka) = základní funkční a histologická jednotka nervové tkáně
- V důsledku omezené regenerace nervové tkáně je poškození **nevratné** -> v současnosti neléčitelné
- Poškození **struktury a funkce** nervového systému
- Projevují se jako pokles duševních funkcí (**demence**) nebo problémy s pohybem (**ataxie**)
- Pravděpodobnost rozvoje onemocnění stoupá s **věkem**



https://www.niehs.nih.gov/research/supported/assets/images/n_p/og_neurodegenerativediseases.jpg

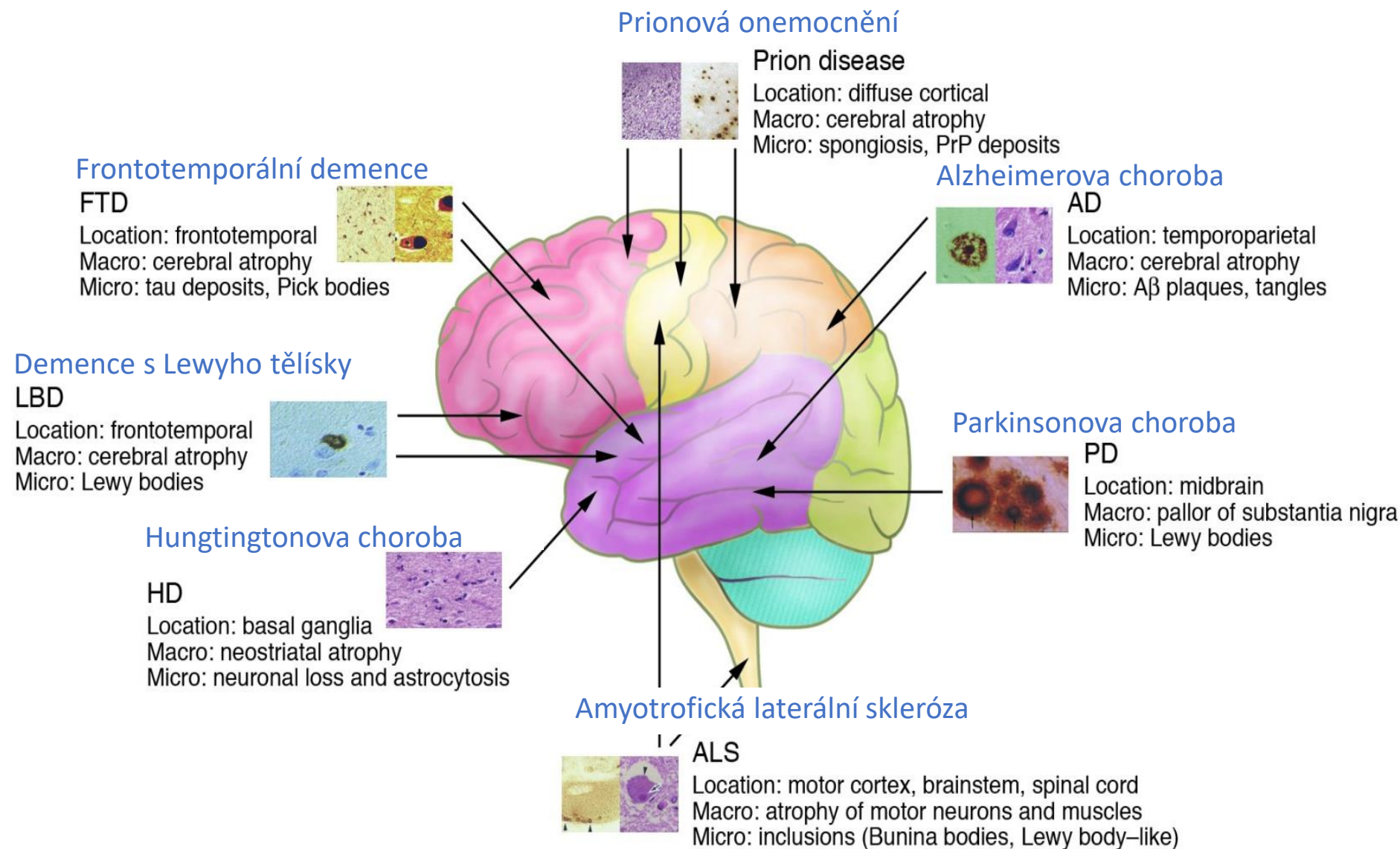
People living with **dementia** around the world



Demence je nejčastějším projevem neurodegenerace

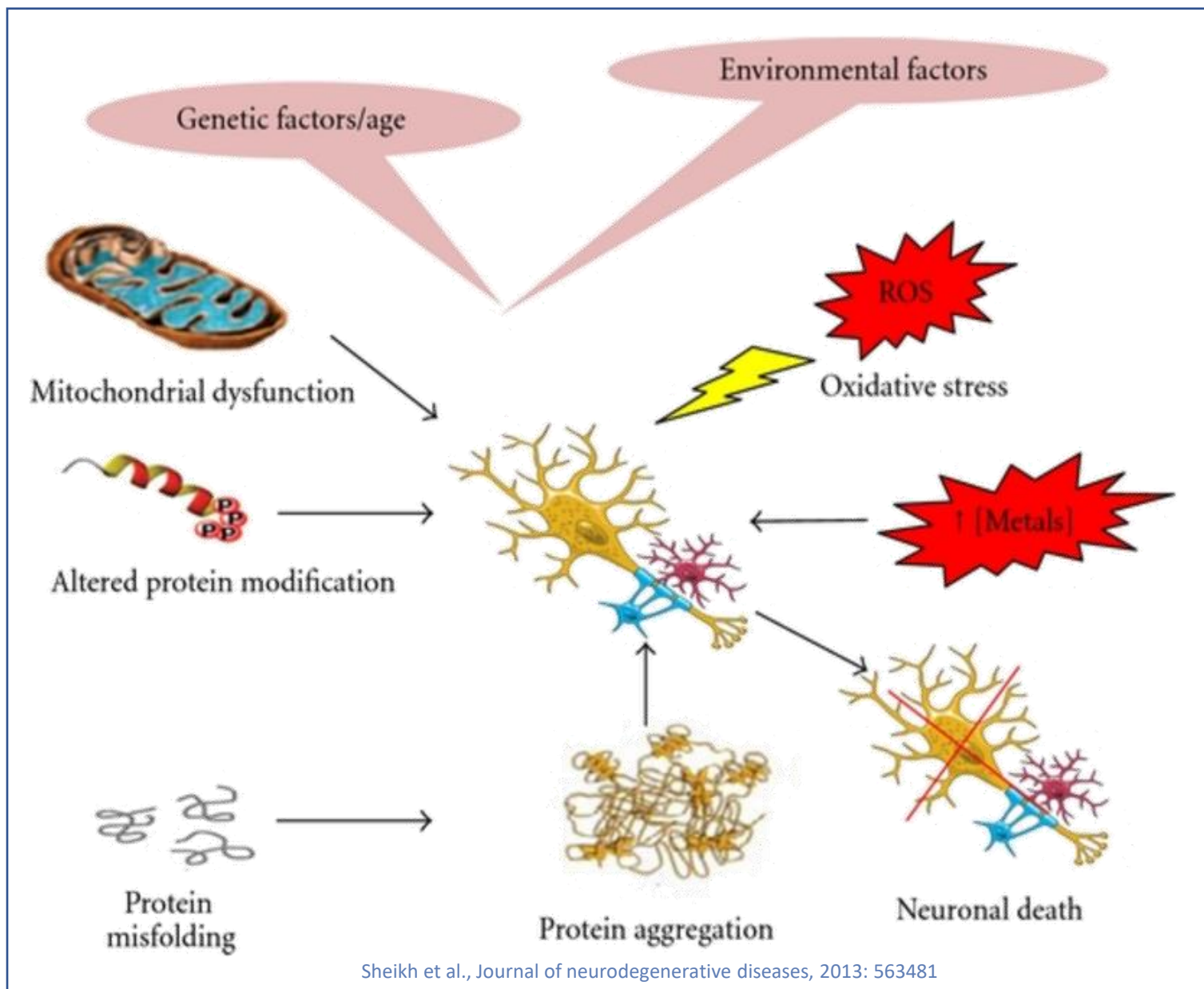
- Aktuální zdravotní problém:
- Každé 3,2 sekundy dochází na světě ke vzniku nového případu demence
- Předpokládaný nárůst počtu lidí s demencí v důsledku stárnutí populace

Příklady neurodegenerativních onemocnění



- Společné projevy: pokles duševních funkcí (demence) nebo problémy s pohybem (ataxie)
- Různá **místa poškození mozku** a různé makroskopické a mikroskopické projevy
- Na **makroskopické úrovni** se obvykle projevují atrofií postižené části mozku
- Na **mikroskopické úrovni** dochází k depozici a akumulaci defektních proteinů

Příčiny neurodegenerace

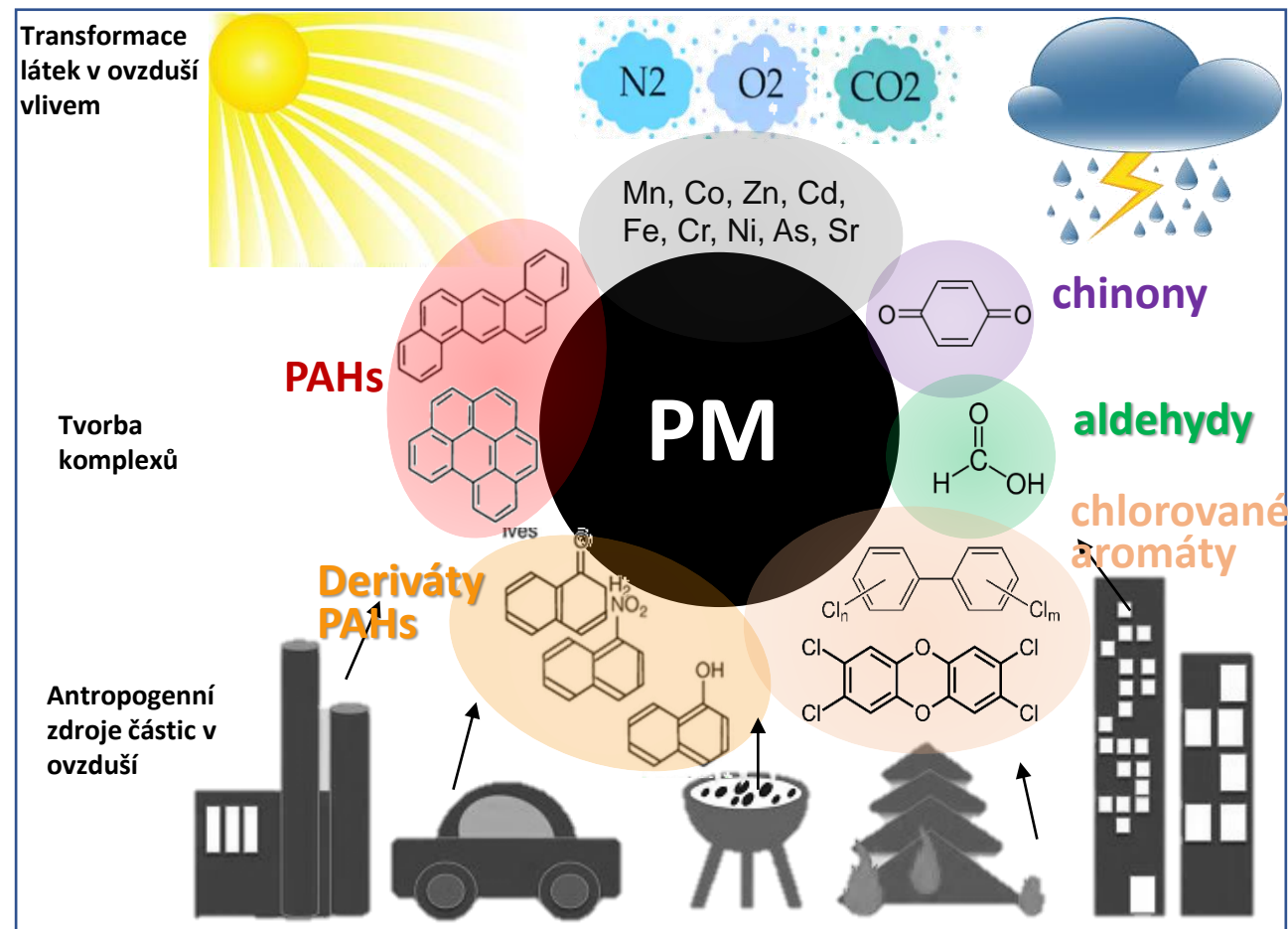
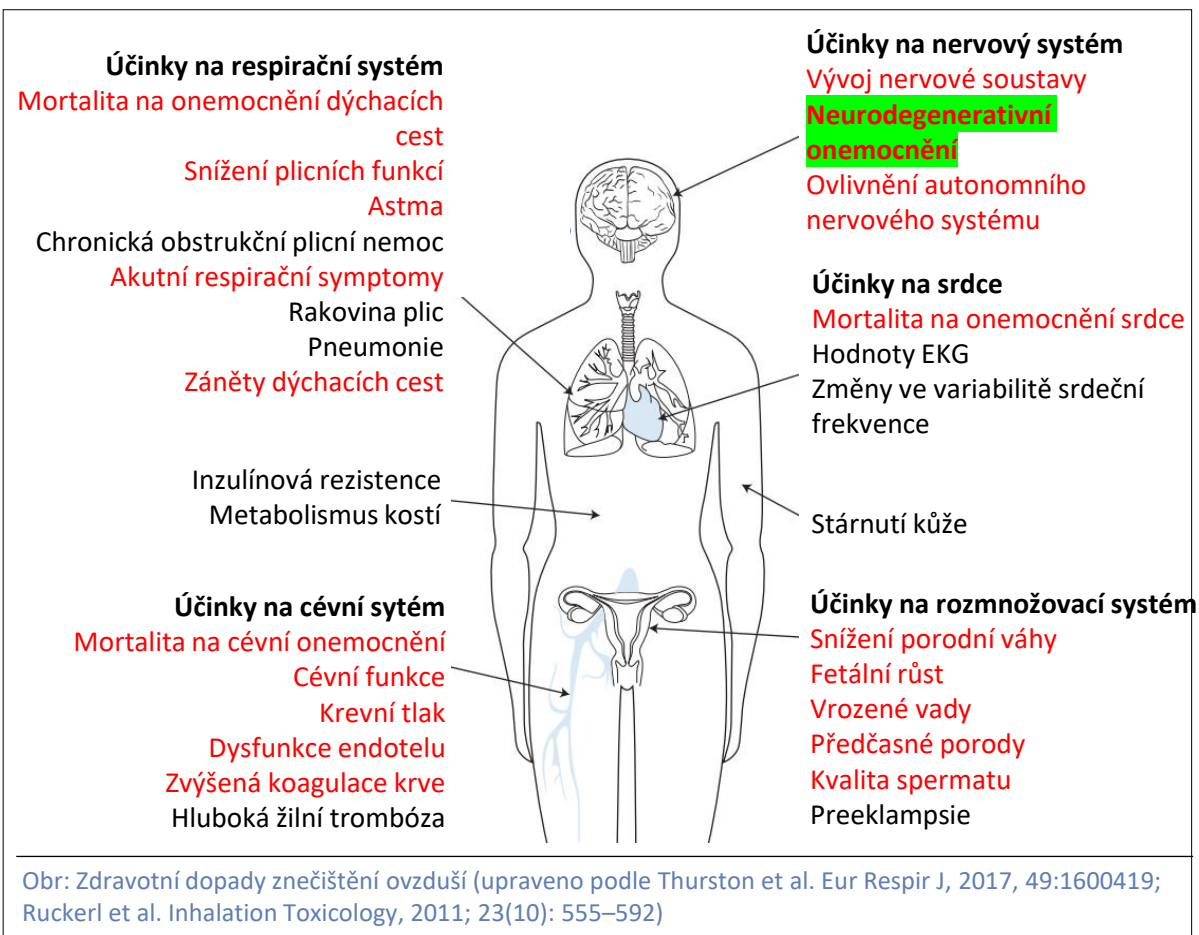


- **Multifaktoriální**
 - Význam **genetické predispozice**
 - **Environmentální faktory** významně přispívají k rozvoji onemocnění
- Předpokládán vliv:
- Expozice kovům (např. As, Pb, Mn)
 - Expozice pesticidům, fungicidům, insekticidům
 - Expozice polychlorovaným bifenylym, polybromovaným difenyletherům (zpomalovače hoření) a dalším průmyslovým chemikáliím
 - Bakteriální toxiny (endotoxiny)
 - Životní styl (dieta, kouření)
 - **Znečištění** životního prostředí, zejm. **ovzduší**

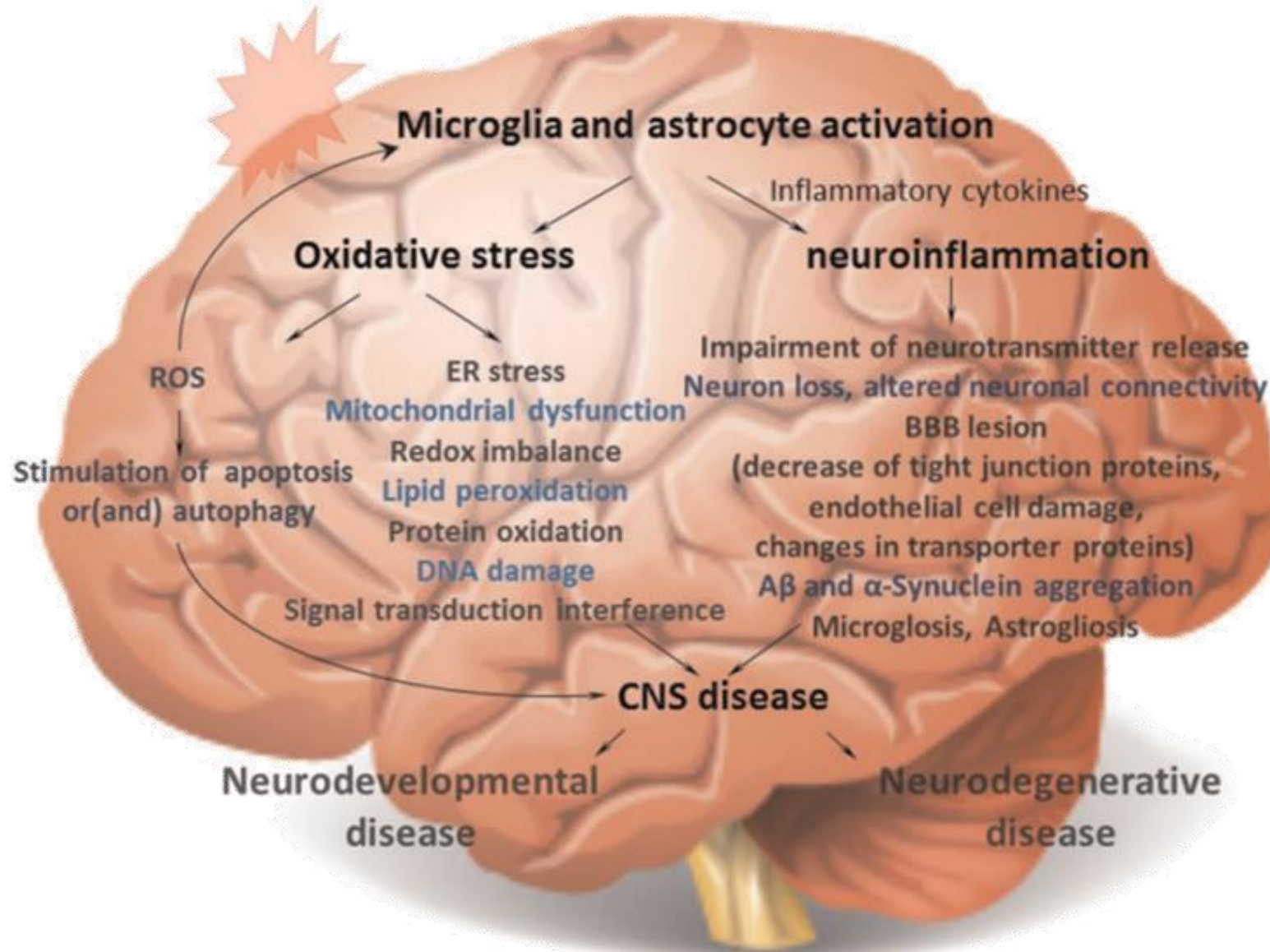
Ultrajemné částice

- Epidemiologická data spojují znečištění ovzduší s řadou onemocnění
- Prokázán **podíl pevných částic (particulate matter) na negativních zdravotních účincích** znečištěného ovzduší

- PM fungují jako **nosiče** látek adsorbovaných na jejich povrch (až tisíce různých chemických látek)
- S klesajícími rozměry roste relativní povrch, reaktivita a schopnost prostupovat do organismu



Mechanismy neurotoxicity NPs



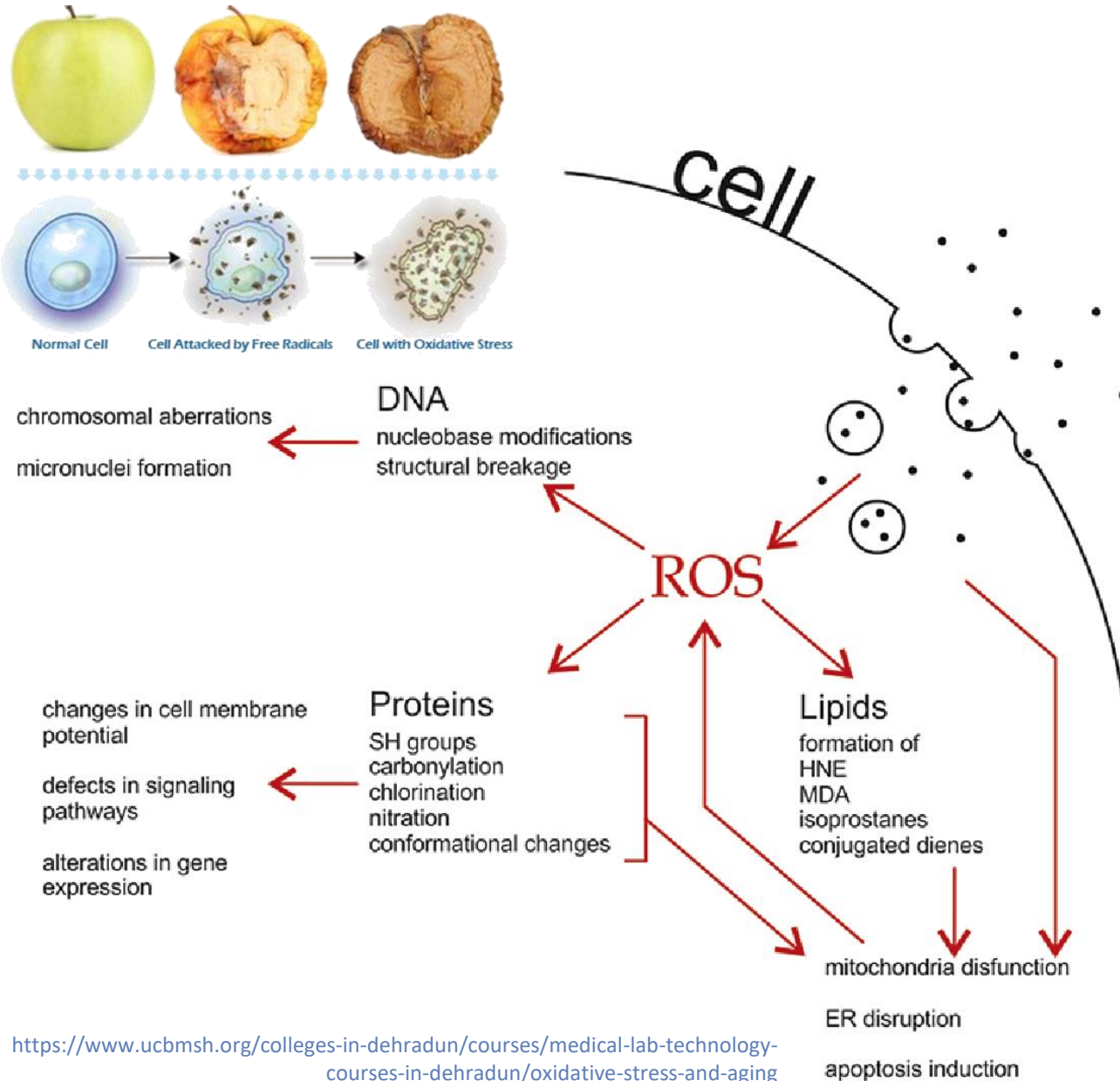
Hlavní mechanismy

- **Oxidativní stres** - > poškození makromolekul -> poškození buněk (neuronů a podpůrných buněk)
- **Zánět** - důsledek aktivace imunitního systému – obranná reakce, která vede k poškození tkáně

Poškození:

- Neuronů
- Podpůrných buněk v mozku, které zajišťují výživu, mechanickou oporu neuronů, funkčnost hemato-encefalické bariéry, imunitní obranu

Důsledky oxidativního stresu



Nemoci související s chronickým zánětem

BRAIN

Pro-inflammatory cytokines cause autoimmune reactions in the brain, which can lead to depression, autism, poor memory, Alzheimer's disease and MS



SKIN

Chronic inflammation compromises the liver & kidneys, resulting in rashes, dermatitis, eczema, acne, psoriasis, wrinkles & fine lines.



CARDIOVASCULAR

Inflammation in the heart & arterial & venous walls contributes to heart disease, strokes, high blood sugar (diabetes) and anemia.



KIDNEYS

Inflammatory cytokines restrict blood flow to the kidneys. Complications like edema, hypertension, nephritis & kidney failure can result.



BONES

Inflammation interferes with the body's natural ability to repair bone mass, increasing the number of fractures & leading to conditions like osteoporosis.



LIVER

Build-up of inflammation leads to an enlarged liver or fatty liver disease. Increased toxic load build-up in the body.



THYROID

Autoimmunity as a result of inflammation can reduce total thyroid receptor count & disrupts thyroid hormone function.



LUNGS

Inflammation induces autoimmune reactions against the linings of airways. Can result in allergies or asthma.



GI TRACT

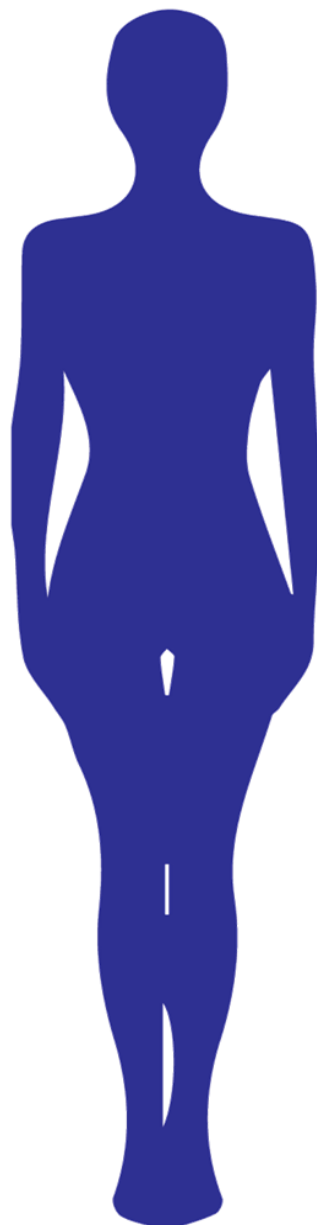
Chronic inflammation damages our intestinal lining and can result in issues like GERD, Chron's disease and Celiac disease.



MUSCLE






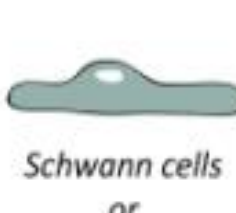
Inflammatory cytokines can cause muscle pain & weakness. Can manifest as carpal tunnel syndrome, or polymyalgia rheumatica, to name a few.



Prozánětlivá odpověď vede k

- Uvolňování **cytotoxických a prozánětlivých mediátorů**
- Prozánětlivé mediátory **prostupují hematoencefalickou bariérou** -> možné účinky systémového zánětu
- Poškození a **ztráta nervové tkáně**
- Poškození struktur mozku zásadních pro kognitivní funkce (čichového laloku, frontální kůry, hipokampu)
- Tvorbě **otoků**
- Omezení **toku krve** do mozku

Buňky poškozené při neurodegenerativních onemocněních

	 primary target neurons	 astrocytes	 microglial cells	 Schwann cells or oligodendrocytes
Alzheimer's disease	cortical and hippocampal neurons	not directly tested	microglial dysfunction contributes to pathogenesis ¹	not directly tested
Parkinson's disease	dopaminergic neurons	express enzyme that induces toxicity ²	their activation precedes neurodegeneration ³	elevated expression in oligodendrocytes suffices for disease ⁴
Huntington's disease	striatal neurons	mutant expression renders neurons vulnerable in culture ⁵	their activation occurs early and progresses with disease ⁶	not directly tested
Spinocerebellar ataxia	Purkinje cells	mutant expression in Bergmann glia suffices for disease ⁷	not directly tested	not directly tested
Prion disease	cortical neurons	PrP ^C expression suffices for disease ⁸	microglial activation decreases prion infection ⁹	probably not important for pathogenesis ¹⁰

Typy buněk

- **Neurony** (různé typy nervových buněk)
 - **Astrocyty** (podpůrné buňky, zajišťují výživu neuronům)
 - **Mikroglie** (typ makrofágů, hl. imunitní funkce)
 - **Schwanovy buňky, oligodendrocyty** (tvorba myelinu okolo axonů)
- podpůrné buňky**
nervové tkáně
(tvorí 90 % buněk nervové tkáně)
- Podle typu poškozených buněk, typu poškození a predispozici dojde k rozvoji konkrétního neurodegenerativního onemocnění
 - Zatím ne zcela objasněn příspěvek jednotlivých buněk a mechanismus rozvoje onemocnění

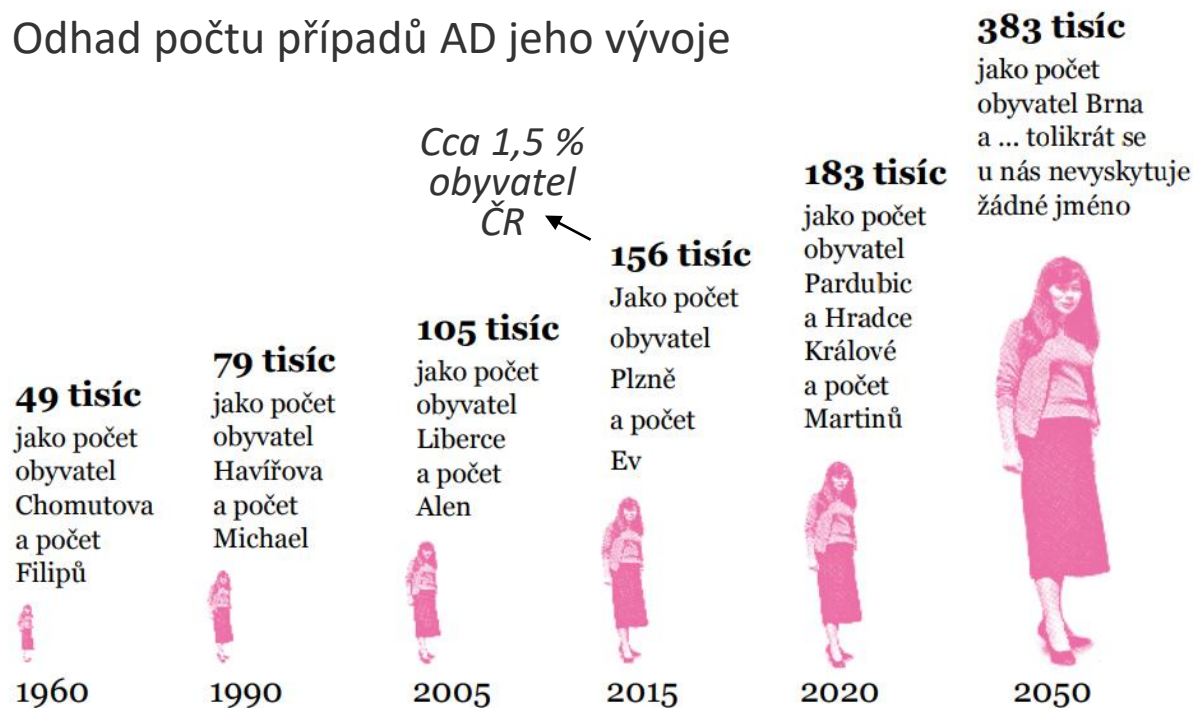
Alzheimerova choroba (AD)

- **Nejčastější neurodegenerativní onemocnění**
- **Nejčastější příčina demence** (před 60 % případů demence jsou AD)
- **Nevyléčitelné** (nasazení kognitiv dokáže zmírnit, ne však zvrátit vývoj onemocnění)
- Pravděpodobnost rozvoje choroby **stoupá s věkem**



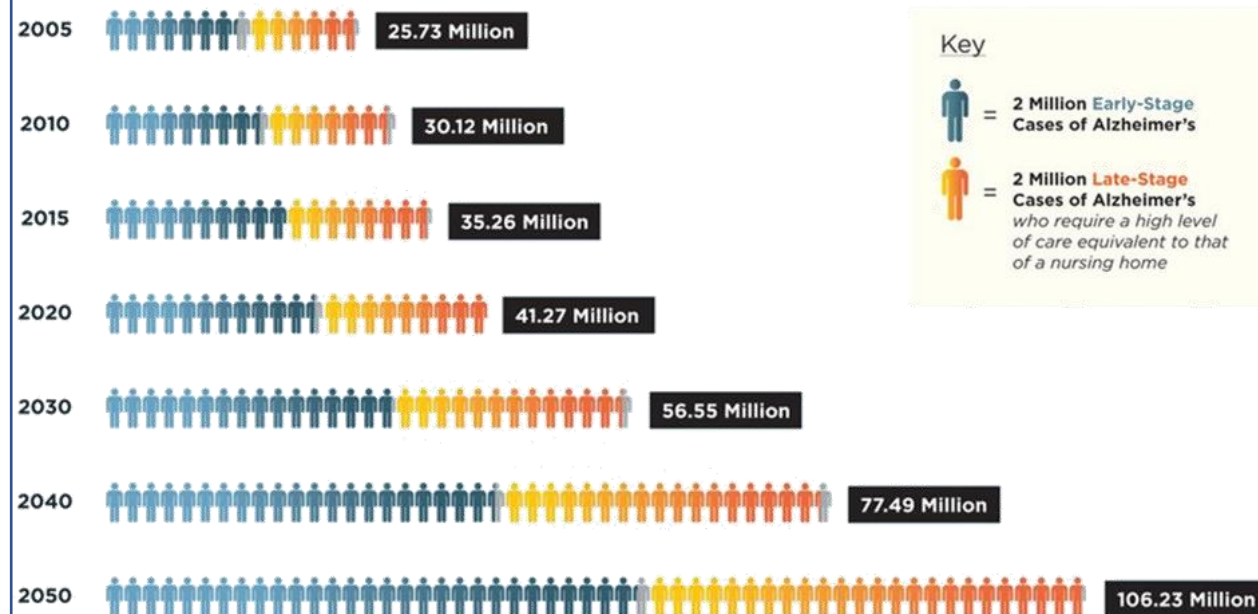
Mátl et al. Zpráva o stavu demence 2016, Česká alzheimerovská společnost, o. p. s., 2016

Odhad počtu případů AD jeho vývoje



Mátl et al. Zpráva o stavu demence 2016, Česká alzheimerovská společnost, o. p. s., 2016

Celosvětový odhad počtu případů AD a jeho vývoje



Brookmeyer et al. *Alzheimer's & dementia*, 2007: 3(3), 186-191.

Projevy Alzheimerovy choroby (AD)

Kognitivní a behaviorální příznaky AD

- Ztráta **paměti**, která ovlivňuje schopnost plnit běžné pracovní úkoly
- Problémy s vykonáním **běžných činností**
- Problémy s **řečí**
- Časová a místní **dezorientace**
- Špatný nebo zhoršující se **racionální úsudek**
- Problémy s **abstraktním myšlením**
- Změny v **náladě** nebo chování
- Změny **osobnosti**
- Ztráta **iniciativy**



Projevy AD na úrovni nervové tkáně

Beta amyloid (A β) – peptid, produkt štěpení amyloidového prekurzorového proteinu (APP)

- Hydrofóbní „lepivá“ neurotoxická forma amyloidu, odolná vůči degradaci
- Nárůst A β v mozku -> tvorba amyloidních plaků (vně neuronů), aktivace mikroglíí, poškození neuronů, narušení komunikace neuronů na synapsích

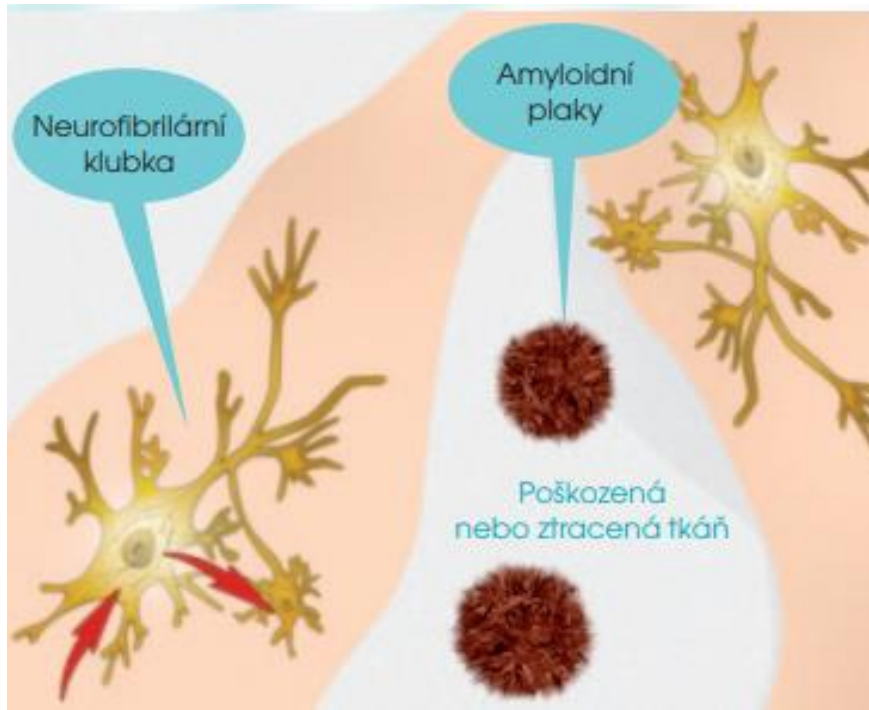
Tau protein – spojuje mikrotubuly v axonech, podílí se na stabilitě cytoskeletu

- U AD je nadměrně fosforylován prostřednictvím kinázy 3-glykogensyntázy
- Fosforylovaný Tau protein agreguje a vytváří neurofibrilární klubka (uvnitř neuronů) -> ztráta stability, porušení transportu živin a molekul v axonu, rozpad cytoskeletu

Zdravé neurony



Neurony u AD

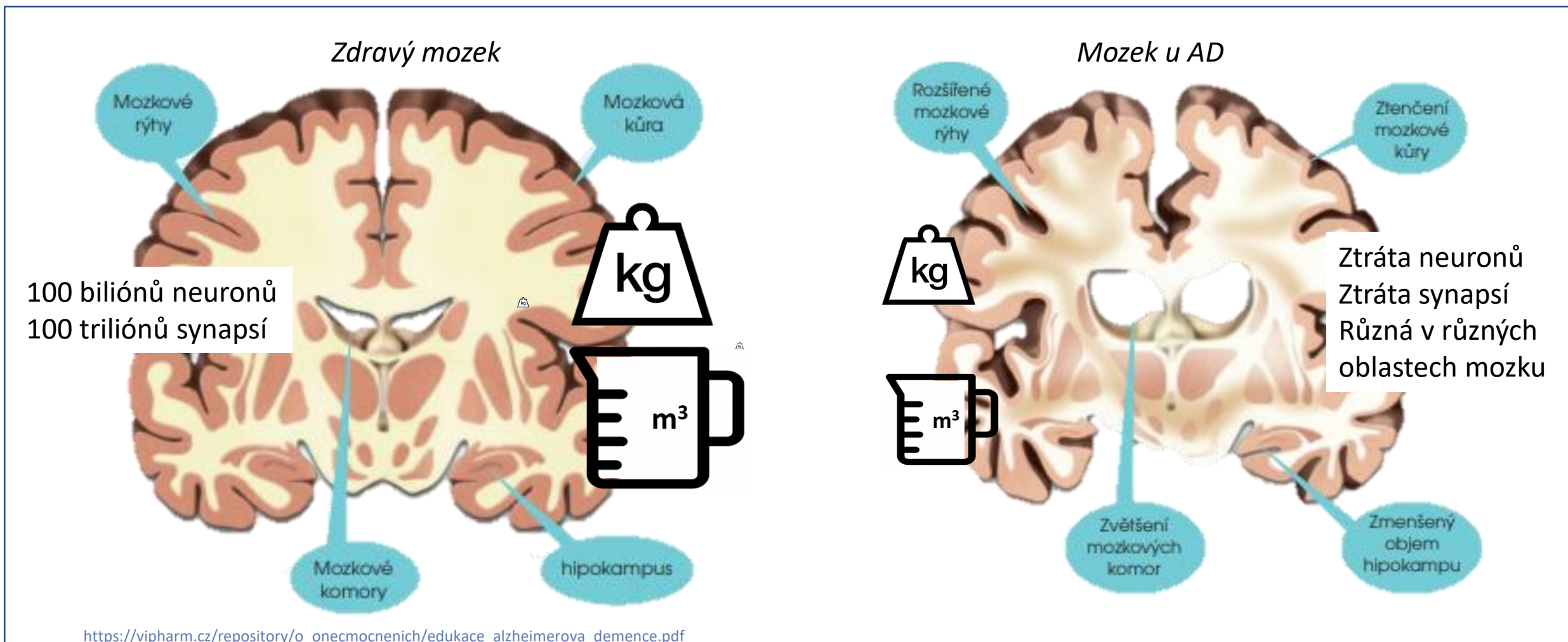


- Poškození tkáně v důsledku tvorby **neurofibrilárních klubek** a ukládáním **amyloidních plaků** vede **narušení přenosu impulzů** mezi neurony.
- Pokles **počtu neuronů**, tvorby nervových **růstových faktorů**, **receptorů** pro faktory

Projevy AD - změny na úrovni mozku

Úbytek neuronů postihuje zejm.

- **Mozkovou kůru** myšlení, plánování, paměť
- **Hipokampus** klíčová role v tvorbě vzpomínek

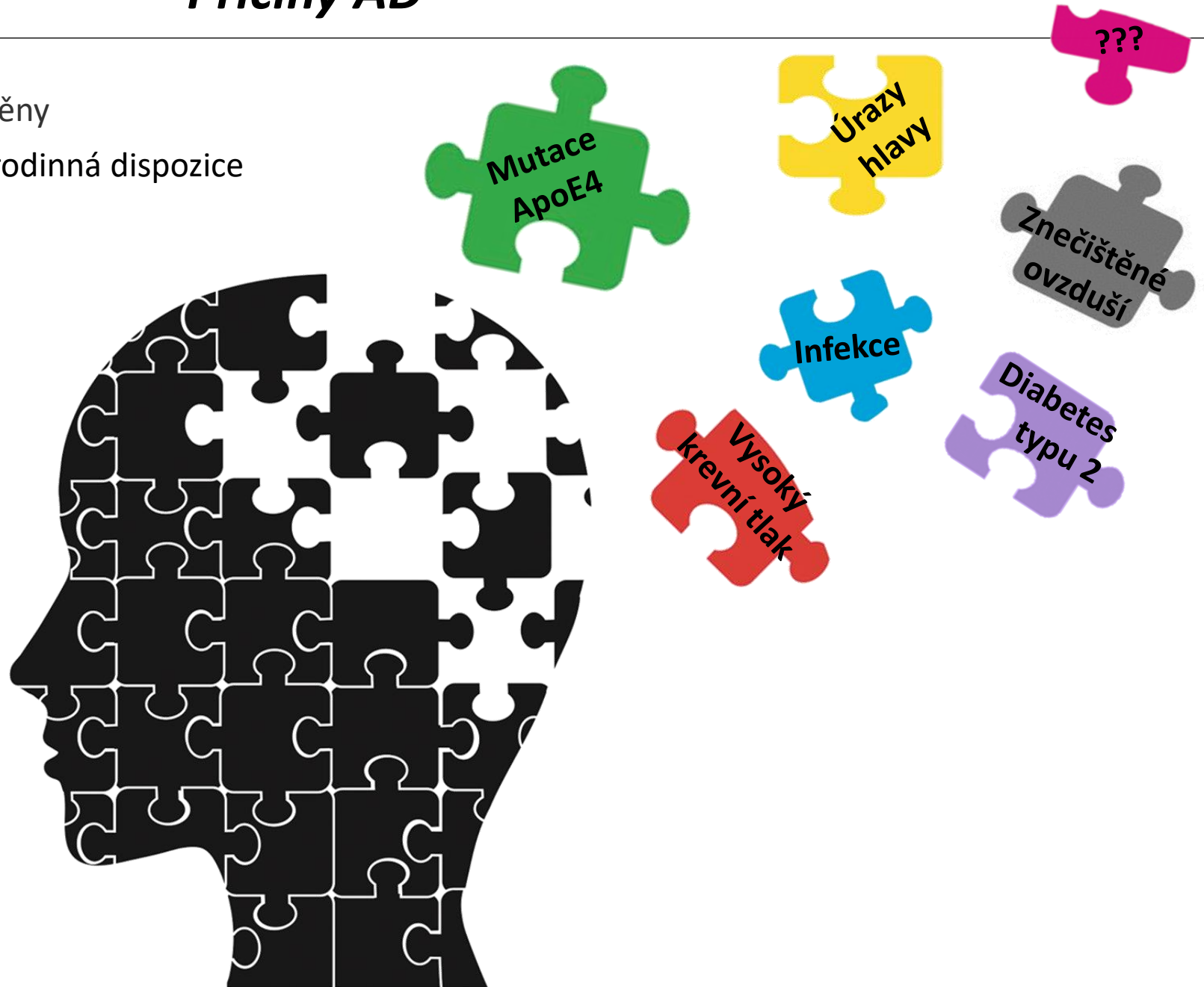


Příčiny AD

- Multifaktoriální, dosud ne zcela objasněny
- Hlavními rizikovými faktory jsou věk a rodinná dispozice

Hlavní faktory podmiňující vznik AD

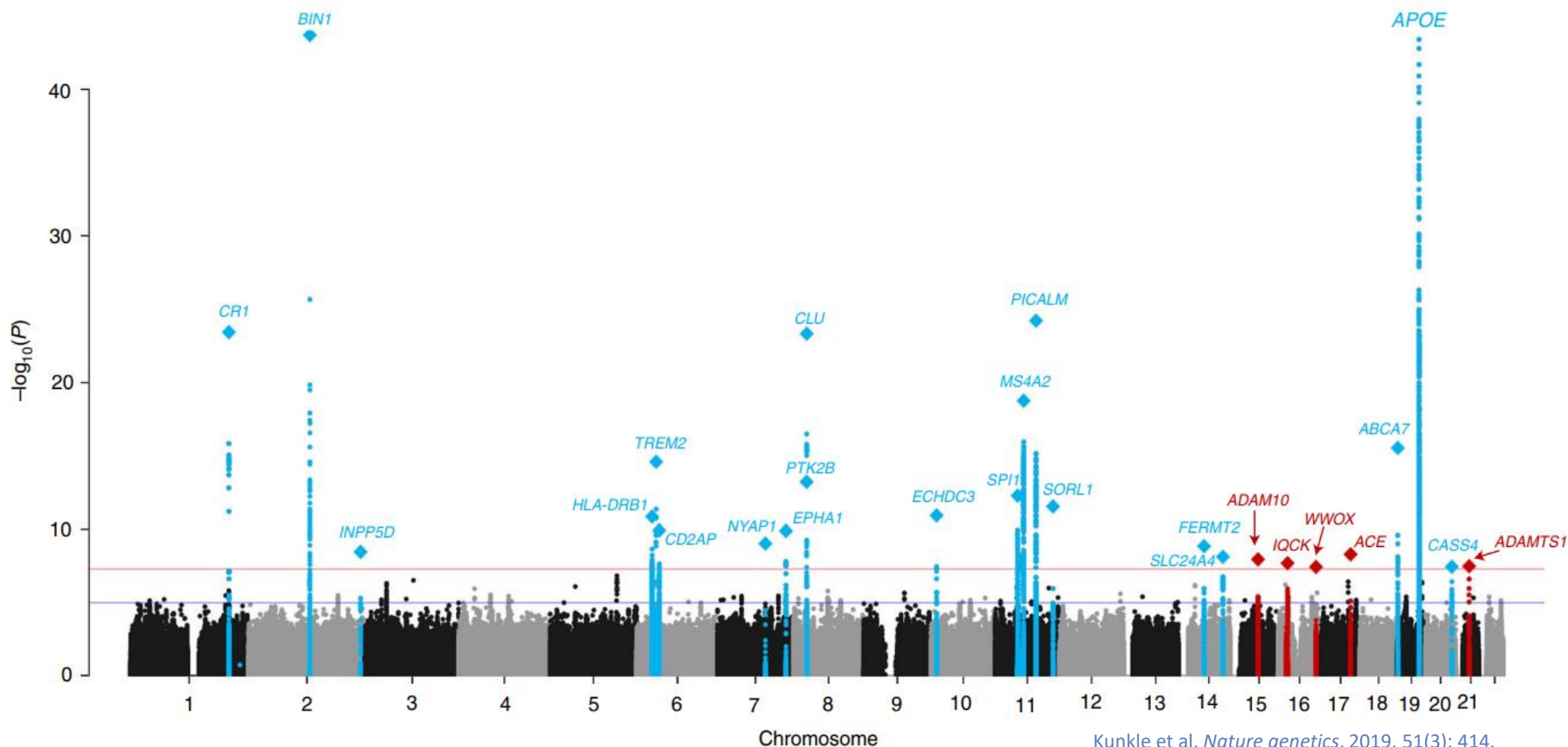
1. Genetické, epigenetické
2. Kardiovaskulární
3. Metabolické
4. Infekční
5. Poranění mozku
6. Expozice toxickým látkám
7.



Genetické faktory pro vznik a rozvoj AD

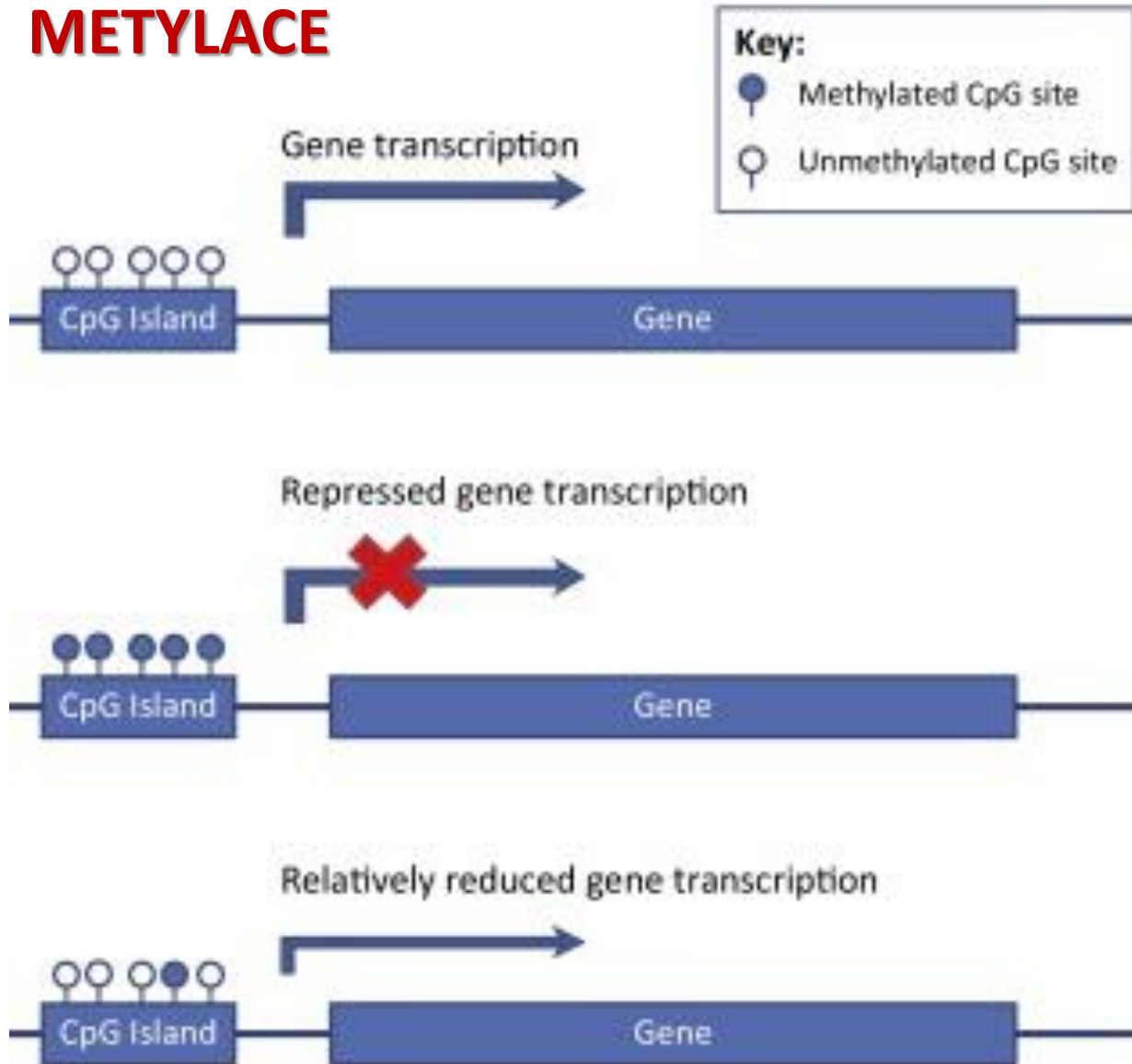
- **Časná familiární forma AD** (2– 5 % případů AD) - autozomálně dominantní mutace v genech pro APP (amyloid precursor protein - transmembránový protein, z něj vzniká Beta amyloid -> plaky), presenilin 1 a presenilin 2 (enzymy modifikující štěpení APP)
- **Pozdní forma** - dle nedávné meta-analýzy (>94 000 pacientů s diagnostikovanou AD) detekováno 24 genů asociovaných s AD
Downův syndrom (trizomie 21) – vyšší riziko AD (APP na 21. chromozomu)

- **ApoE4** – isoforma pro Apolipoprotein E (ApoE) - plazmatický protein, který přepravuje lipidy v plasmě a tělních tekutinách, význam v transportu cholesterolu, nejvýznamnější mutace pro vznik AD
- Další geny ovlivňují: **tvorbu a degradaci amyloidu (APP, PS1)**; zánětlivou **odpověď, neuroplasticitu** (geny pro růstové faktory), **metabolismus lipidů, dráhy pro recyklaci endosomálních vesikulů**



Epigenetické faktory pro vznik a rozvoj AD

METYLACE



- **Hypometylace APP a PS1** vede k jejich zvýšené funkci – zvýšené tvorbě A β z prekursoru
- **Nižší metylace promotoru BACE1** nalezena in vivo u zvířat s AD
- **Metylace APOE**
- Expozice **PM** způsobuje **globální hypometylaci genomu**

Imunologické faktory pro vznik a rozvoj AD

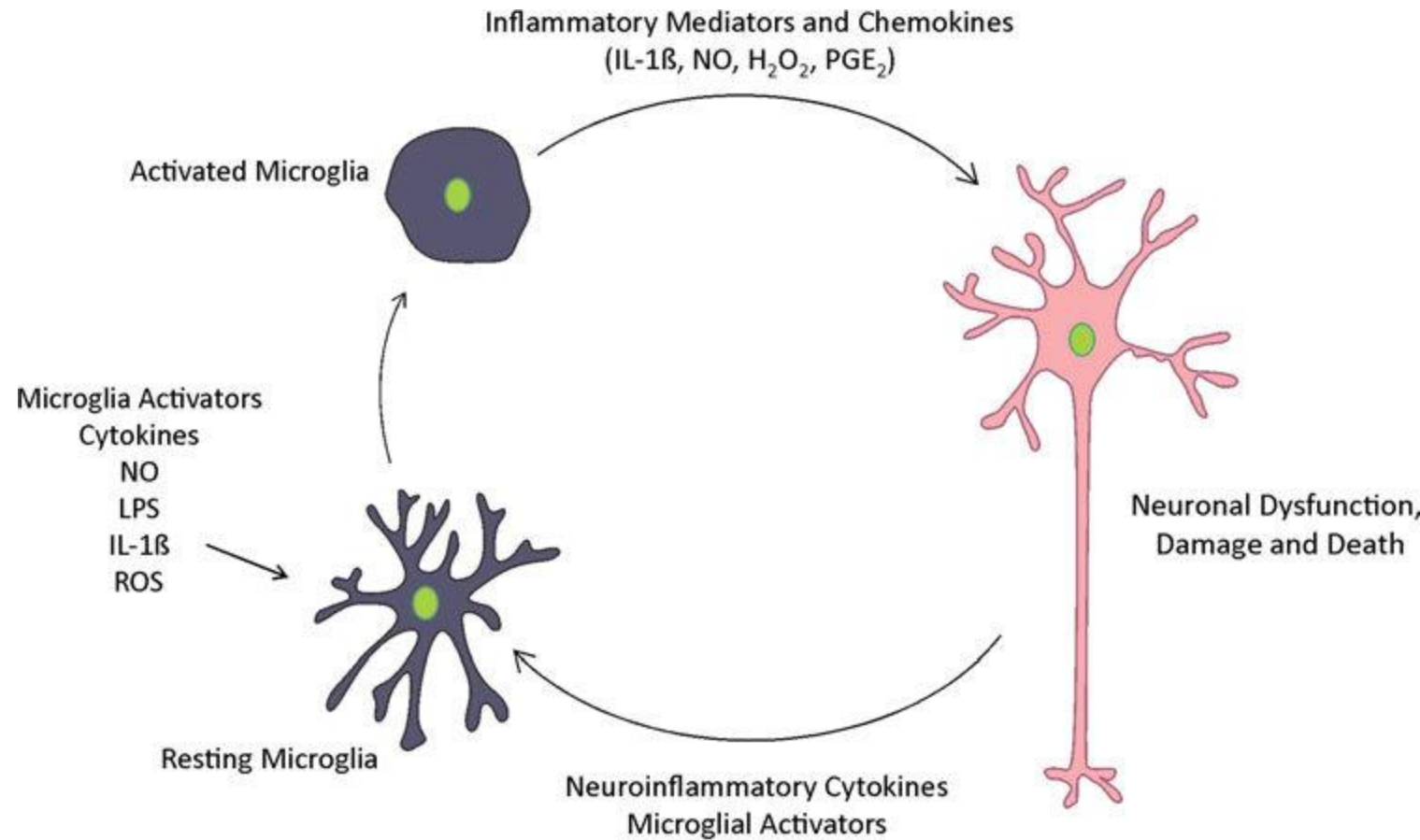
Mikroglie

- = **makrofágy** (b. nespecifické imunity s významnou fagocytickou aktivitou) v mozku a míše
- Aktivace mikroglíí – nejdůležitější **imunitní obrana mozku**
- Eliminace nekrotických neuronů a původců infekce
- Uvolňování prozánětlivých mediátorů, poškozování nervové tkáně
- *In vitro* experimenty prokazují vliv expozice PM na aktivaci mikroglíí a poškození neuronů (např. TNF- α způsobuje degeneraci axonů),

+ **Mediátory zánětu** produkované buňkami v plicích v důsledku expozici PM – systémový zánět

+ **Zánětlivé působení** PM na cestách vstupu do mozku (**čichový lalok**)

AKTIVACE A ROLE MIKROGLIÍ



Asociace AD s environmentálními faktory

- Výskyt AD spojován s expozicí kovům (první studie 1953 – objeveny vysoké hladiny železa v mozcích osob postižených AD, výskyt Fe v placích (Goodman, *The Journal of nervous and mental disease*, 1953, 118(2): 97-130)
- Později v placích detekovány další kovy: Co, Zn
- V pokusech *in vitro* i *in vivo* potvrzeno, že Co a Fe přispívají k tvorbě plaků (Zn naopak zmírňoval toxické účinky a tvorbu plaků v některých studiích)
- 1965 *in vivo* pokus na králicích ukázal, že Al ve velmi vysokých dávkách způsobuje vznik plaků, relevance pro reálné podmínky expozice není dosud jasná (používání hliníkového nádobí?)
- Epidemiologické studie asociují AD s expozicí pesticidům (Tyas et al. *Epidemiol.* 2001, 30: 590-7), rozpouštědlům (Kukull et al. *American journal of epidemiology*, 1995, 141(11): 1059-1071.) a znečištěnému ovzduší (NO_x, O₃ a částicím, zejm. jemné frakce)



Vliv částic v ovzduší na vznik a rozvoj AD

Mechanismy působení

- **Oxidativní stres**
- **Systémový zánět**
- **Epigenetické změny** - expozice PM2.5 vede ke snížené metylaci (globální hypometylaci genomu, zejm. repetitivních sekvencí, jejichž exprese je metylací potlačena); demetylaci může vést k aktivaci genů zapojených v rozvoji AD (BACE1, APP, PS1, APOE) (Tarantini et al. Effects of particulate matter on genomic DNA methylation content and iNOS promoter methylation. *Environ. Health Perspect.*, 2009, 117(2):217-222); produkce ROS a zánětu může rovněž ovlivňovat metylaci
- **Aktivace mikroglie** vedoucí k zánětu (Sama et al. The cellular and genomic response of an immortalized microglia cell line (BV2) to concentrated ambient particulate matter. *Inhal. Toxicol.*, 2017, 19(13):1079-1087)
- **Narušení integrity hematoencefalické bariéry** poškozením proteinů zajišťujících těsné spoje buněk (Oppenheim et al. Exposure to vehicle emissions results in altered blood brain barrier permeability and expression of matrix metalloproteinases and tight junction proteins in mice. *Part. Fibre Toxicol.* 2013, 10 (1): 62)
větší riziko u dětí (ne zcela vyvinutá hematoencefalická bariéra, možné narušení vývoje bariéry) (Brockmeyer et 'Angiulli. How air pollution alters brain development: the role of neuroinflammation. *Translational neuroscience*, 2016, 7(1):24-30)
- **Poškození čichového laloku** vedoucí k zánětu (Calderon-Garciduenas et al. Urban air pollution: influences on olfactory function and pathology in exposed children and young adults. *Exp. Toxicol. Pathol.*, 2010, 62(1):91–102).
- **Narušení střevní mikroflóry** částicemi, které jsou po inhalaci spolknuty (střevní mikroflóra ovlivňuje řadu procesů v organismu, např. metabolismus, u myši byl prokázán vliv na AD), PM mohou zvýšit permeabilitu střevní bariéry (možnost prostupu bakterií do krevního oběhu)

Faktory zvyšující riziko vzniku AD

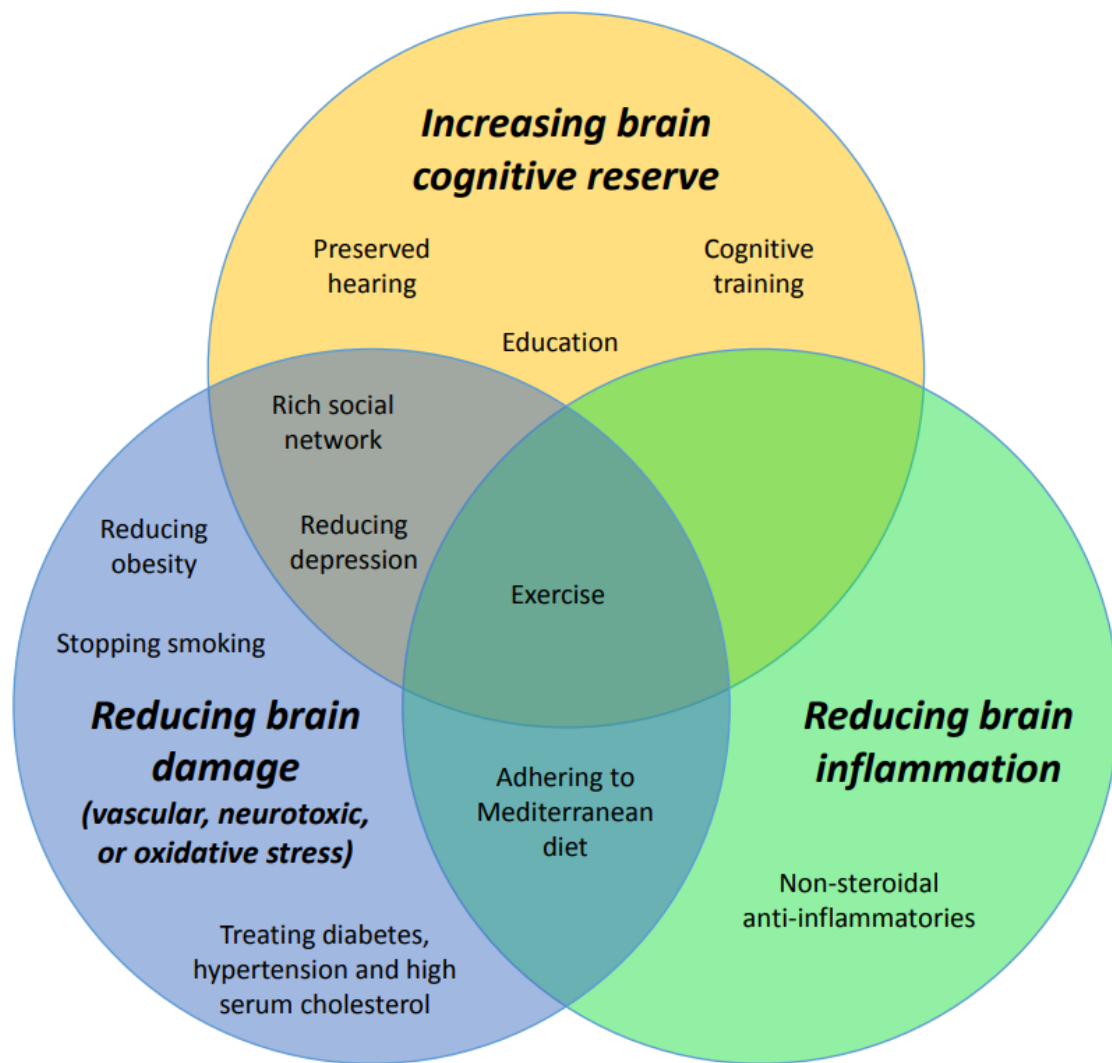
- Genetická predispozice
 - Věk nad 60 let
 - Ženské pohlaví? (možná vysvětlení: ženy žijí v průměru déle, dříve častější nižší vzdělání žen, „survival bias“ u mužů (náchylnější na kardiovaskulární úmrtí))
 - Rasa – USA: pokles výskytu Afroameričané Hispánci Běloši Asiaté (pravděpodobný vliv životního stylu a socioekonomických faktorů)
-



- Kouření, nadužívání alkoholu, užívání drog
- Obezita
- Nízká fyzická aktivita
- Nízká úroveň vzdělání
- Pracovní expozice (sváření (Mn), měštší strážníci??)
- Poranění mozku
- Další onemocnění: diabetes 2. typu, vysoký krevní tlak
- Existující defekty hematoencefalické bariéry
- **Environmentální faktory (expozice znečištěnému ovzduší, vč. prenátální expozice)**



Protektivní účinky



- **Dieta** (antioxidanty, prevence obezity, diabetu 2. typu, metabolického syndromu)

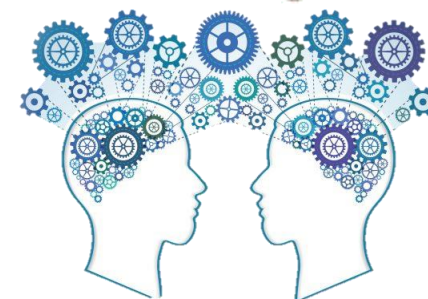
- Nekouřit, neužívat drogy, omezená konzumace alkoholu



- **Fyzická aktivita** (pravidelný pohyb, střední zátěž)



- **Společenské kontakty** (stimulace kognitivních funkcí, prevence depresí)

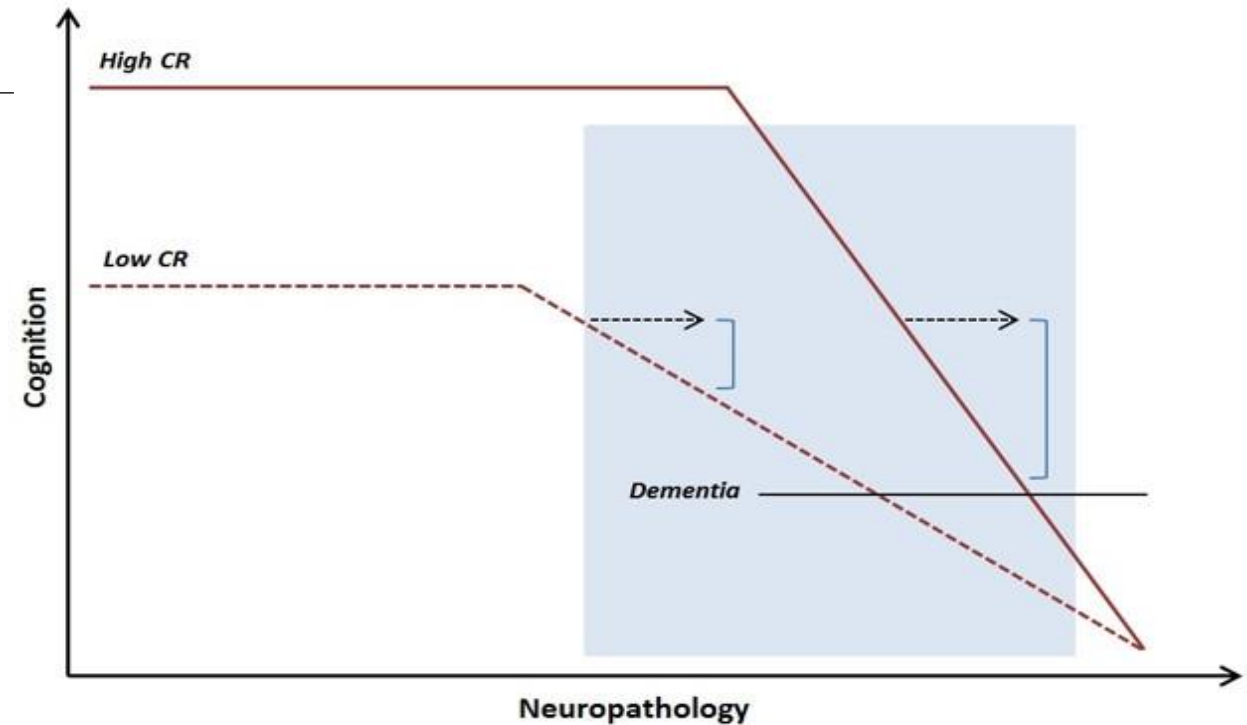


- **Mentální aktivita** (kognitivní rezerva, posilování nervových spojení)



Koncept kognitivní rezervy

- **Zachování kognitivních schopností** u starších osob, avšak post-mortem patologické vyšetření potvrdilo **nález Alzheimerovy choroby** (Katzman et al. Development of dementing illnesses in an 80-year-old volunteer cohort. *Ann Neurol.* 1989, 25: 317–324)
- Rozsahem **stejně poškození mozku** (např. AD, cévní mozková příhoda) má **rozdílný rozsah postižení** u různých pacientů
- Princip: budování **hustší sítě nervových spojů**

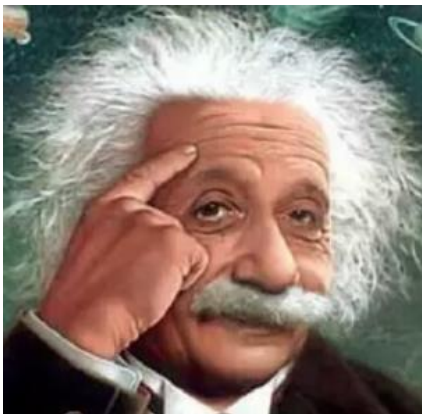


S nižším rizikem AD (a jiných demencí koreluje:

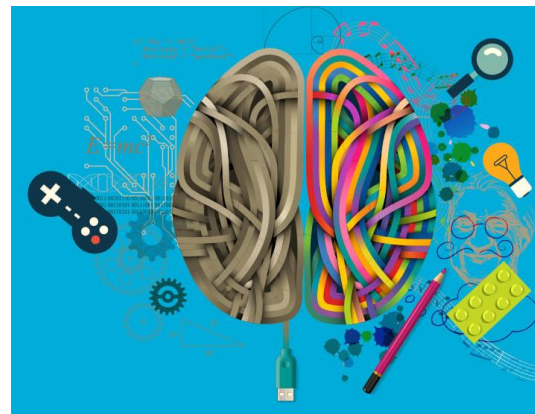
Vyšší dosažené formální vzdělání



profese vyžadující stimulaci mozku



Záliby vyžadující mentální aktivitu



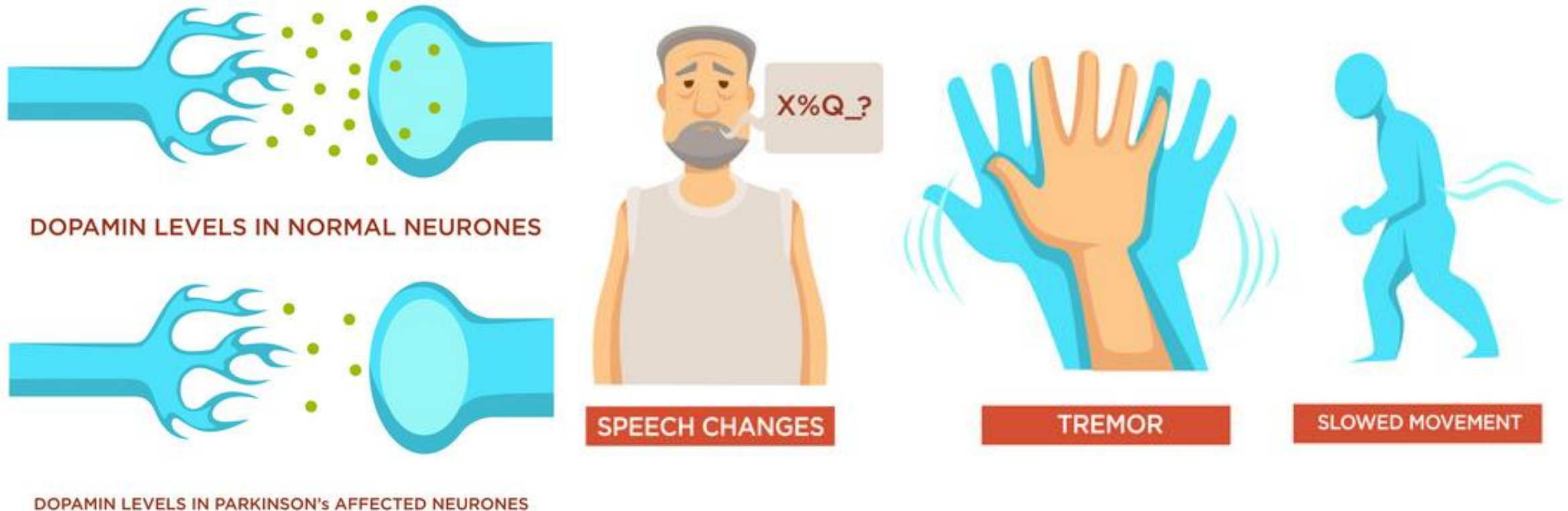
Rozvíjení bohatých sociálních kontaktů a aktivit



Další neurologická onemocnění asociovaná s expozicí ultrajemným částicím

- **Parkinsonova choroba**

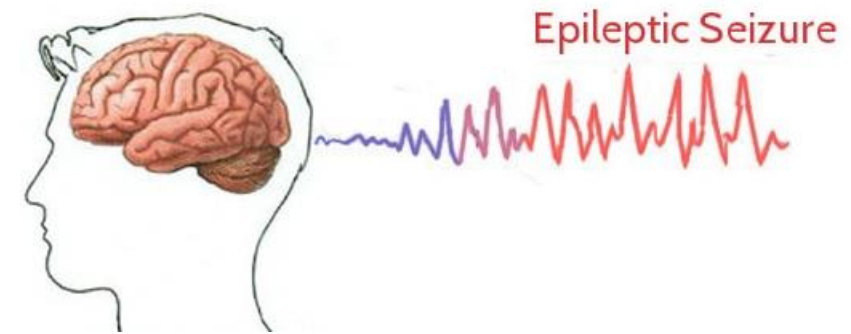
- úbytek nervových buněk v substantia nigra produkujících dopamin (neurotransmitter, který zajišťuje přenos signálů mezi neurony). Nedostatek dopaminu vede ke snížení schopnosti ovládat pohyb.
- Liu, R., Young, M. T., Chen, J. C., Kaufman, J. D., & Chen, H. (2016). Ambient air pollution exposures and risk of Parkinson disease. *Environmental health perspectives*, 124(11), 1759-1765.
- Zjištěno větší riziko u žen a nekuřáků exponovaných vysokým koncentracím PM10 a PM2.5



Další neurologická onemocnění asociovaná s expozicí ultrajemným částicím

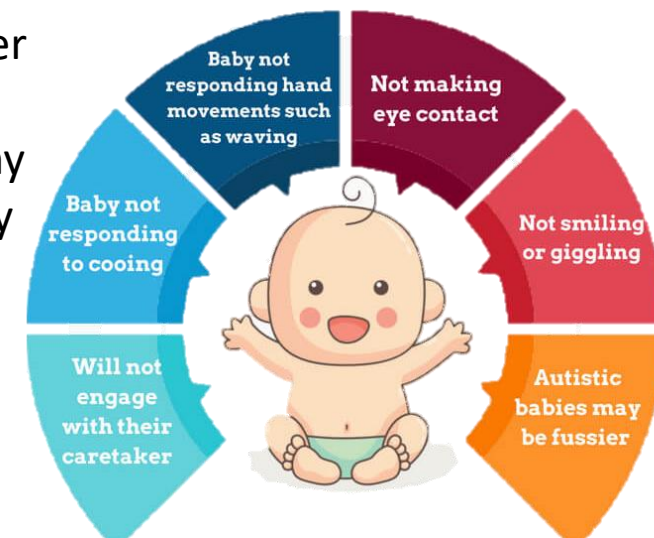
• Epilepsie

- záchvaty v důsledku abnormálních výbojů nervových buněk v mozku
- Skupina onemocnění, různé příčiny
- Bao et al. Association between ambient air pollution and hospital admission for epilepsy in Eastern China. *Epilepsy research*, 2019, 152:52-58.



• Poruchy autistického spektra (ADS)

- Vývojová duševní porucha, projevující se abnormální sociální interakcí, stálými opakujícími se vzorci chování a narušenými komunikačními schopnostmi
- Příčiny onemocnění neobjasněny
- Allen et al. Developmental neurotoxicity of inhaled ambient ultrafine particle air pollution: parallels with neuropathological and behavioral features of autism and other neurodevelopmental disorders. *Neurotoxicology*, 2017, 59:140-154 (u potomků myší exponovaných v 3. trimestru koncentrovaným ultrajemným částicím pozorovány změny odpovídající ADS: např. zmenšení kalózního tělesa, hypomyelinizace, narušení integrity bílé hmory, zvýšené hladiny glutamátu), poruchy učení a repetitivní chování
- vliv prenatální expozice -> narušení vývoje nervové soustavy (důsledek zánětu)
- Podobný mechanismus může přispívat **schizofrenii** a **ADHD** (porucha pozornosti s hyperaktivitou)



Transport ultrafines brain effects

Projekt H2020



- **Časový rámec:** 1.5. 2019 – 30.4. 2023
- **Hlavní cíle:**
 - Objasnit mechanismus účinku ultrajemných částic z dopravy na lidských mozkových buňkách
 - Objasnit jak emise z dopravy ovlivňují fenotyp, funkci, **globální genovou expresi a epigenetický profil buněk** čichového laloku
 - Objasnit jak emise z dopravy ovlivňují hematoencefalickou bariéru.
 - Objasnit jak emise z dopravy ovlivňují zánětlivé procesy v mozkových buňkách
 - Charakterizovat vliv emisí z dopravy na AD-fenotyp v lidských buňkách
 - Zhodnotit vliv emisí z dopravy na rozvoj AD u myší
- **Partneři:** 15 partnerů z EU, Chile a Čína; interdisciplinární přístup – konsorcium zahrnuje experty v oblasti technologií měření aerosolů a emisí, motorů a paliv, klinických studií, epidemiologie, inhalační toxikologie a mechanismů onemocnění.

- **Časový rámec:** 1.5. 2019 – 31. 12. 2023 (prodlouženo)
- **Hlavní cíle:**
 - Identifikace nových biomarkerů vlivu znečištěného ovzduší na zdraví a jejich korelace s riziky vzniku AD u rizikových populací
 - Lepší porozumění vztahu environmentální expozice ke komplexnímu mechanismu vzniku AD.
 - Navazuje na rozsáhlé epidemiologické studie BETULA, ROTTERDAM
- **Partneři:** 7 partnerů z EU; interdisciplinární přístup – konsorcium zahrnuje experty v oblasti neurověd, životního prostředí, epidemiologie a molekulární biologie

Shrnutí: Hlavní polutanty ovlivňující neurodegenerativní onemocnění a kognitivní funkce

- **PM2.5** zvyšují výskyt: autismu, poruch kognitivních funkcí u dětí, onemocnění depresí, incidence demence, Alzheimerovy choroby, Parkinsonovy choroby
- **Ultrajemné částice (UFP)** - (Calderón-Garcidueñas and Ayala Environ. Air Pollution, Ultrafine Particles, and Your Brain: Are Combustion Nanoparticle Emissions and Engineered Nanoparticles Causing Preventable Fatal Neurodegenerative Diseases and Common Neuropsychiatric Outcomes?Sci. Technol. 2022, 56, 11, 6847–6856)
- **NO₂** > 30 ug/m³ ovlivňují u dětí: pozornost, neuropsychický vývoj, duševní zdraví, zvyšují výskyt ADHD (Min and Min, Environ Int 99; 2017: 221-227; Forns et al., Environ Res 159, 2017: 416-421)
- **PAU** jsou nebezpečné pro fetální vývoj mozku (W.A.Jedrychowski et al. Prenatal exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons and cognitive dysfunction in children. Environ Sci Pollut Res 22 (2015) 3631-3639; B. S. Peterson et al. Effects of prenatal exposure to air pollutants (PAHs) on development of brain white matter, cognition, and behavior in later childhood. JAMA Psychiatry 72 (2015) 531-540.
- **Kovy (zejména emise z dopravy):** Karri et al. Heavy metals (Pb, Cd, As and MeHg) as risk factors for cognitive dysfunction: A general review of metal mixture mechanism in brain, Environmental Toxicology and Pharmacology, Volume 48, December 2016, Pages 203-213
- **Znečištěné ovzduší celkově:** Power MC, Adar SD, Yanosky JD, Weuve J. Exposure to air pollution as a potential contributor to cognitive function, cognitive decline, brain imaging, and dementia: a systematic review of epidemiologic research. Neurotoxicology Elsevier; 2016;56:235–253.

Budoucí výzkumné priority ÚEM

1. **Prevence nástupu neurodegenerativních změn** u seniorů a středněvěkových osob žijících v regionech se sníženou kvalitou životního prostředí (PM2.5, UFP, NO2, PAU) – identifikace nových biomarkerů (genomika a epigenetika)
2. **Změny kognitivních funkcí** u předškolních dětí z těchto regionů
3. **Mechanismy adaptivní odpovědi** organismu na prostředí

Partneři:

- **ČR:** Ostravská univerzita, Univerzita J.E.Purkyně v Ústí n/L, VŠCHT, Fakultní nemocnice Královské Vinohrady, RECETOX, Thomayerova nemocnice, Národní ústav duševního zdraví
- **Mezinárodní:** University of Eastern Finland, UMEA University v Lundu, University of Verona, RIVM, IUF Duesseldorf a řada dalších



Podpořeno grantem
Healthy Aging in Industrial Environment HAIE
CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000798



Děkuji za pozornost



jan.topinka@iem.cas.cz

