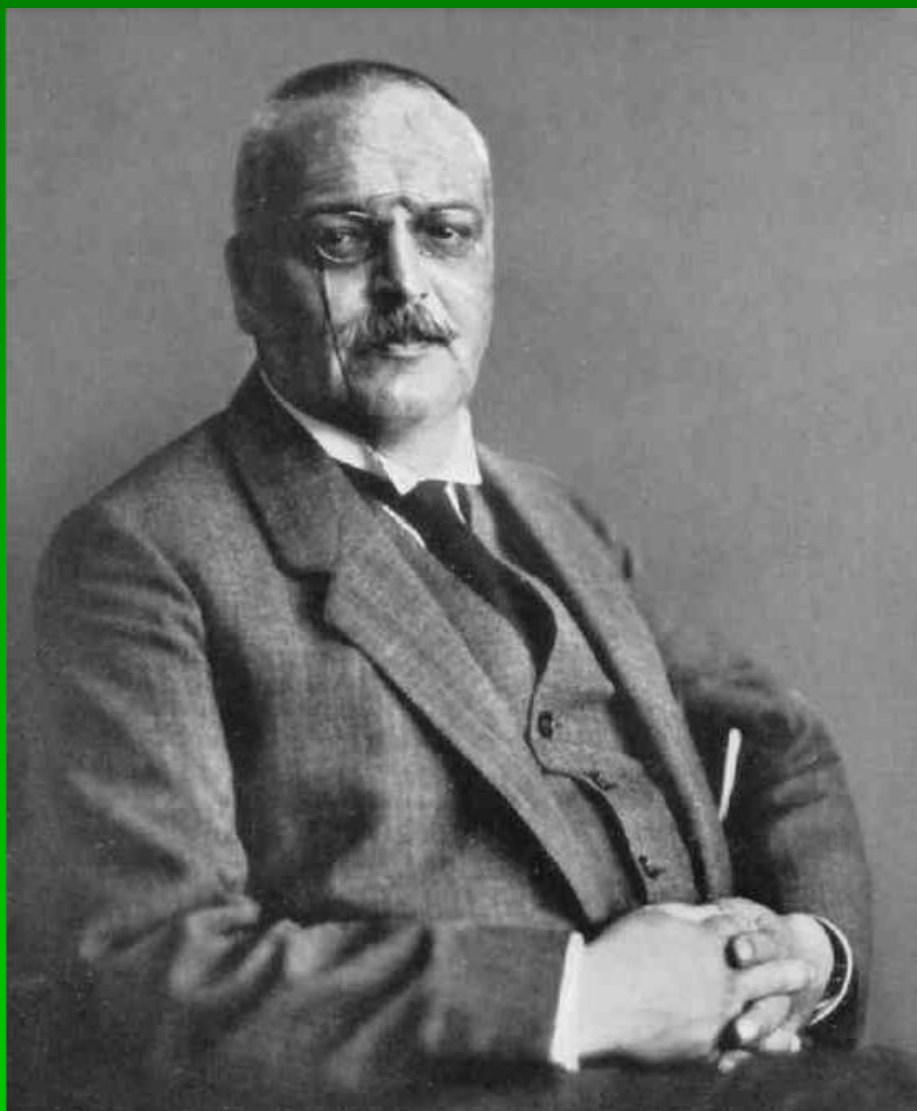


Az Alzheimer-kór „*in vivo*” modellezése

Szerzők: *Suvanjeiev Róbert Gábor* (MOGYE, ÁOK 4.)

Témavezetők: *Dr. Datki Zsolt László*, Délalföldi Neurobiológiai Tudásközpont, Szegedi Tudományegyetem, *Prof. Dr. Penke Botond*, Orvosi Vegytani Intézet, Szegedi Tudományegyetem, *Dr. Bán Erika Gyöngyi*, egyetemi tanársegéd, MOGYE, Farmakológiai tanszék, *Prof. Dr. Brassai Attila*, egyetemi tanár, MOGYE, Farmakológiai tanszék



**Alois Alzheimer 1864-
1915**

Bevezetés:

A XXI. század egyre fontosabb kérdése az Alzheimer-kór korai diagnózisa és annak gyógyítása. Világszerte több, mint 12 millióan szenvednek ebben a betegségben és az előfordulási gyakoriság 65 éves kor felett ötévente megduplázódik.

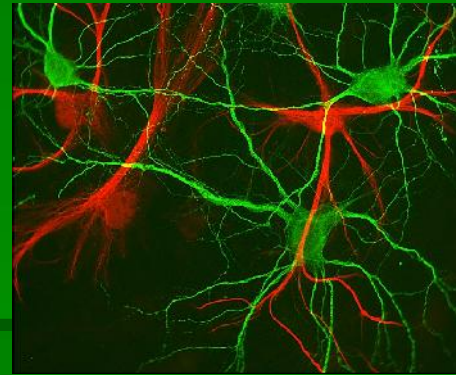
In silico

- Számítógépes modellezés.
- Gyógyszertervezés.



In vitro

- Szinapszisok, neuronok és ezek működésében szerepet játszó molekulák vizsgálata.
- Sejtkultúrák, sejtvonalak – organotipikus kultúrák segítségével.



Lehetséges modellek

Ex vivo

- Neuronális körök, struktúrális elváltozások, aktivitás vizsgálata.



In vivo

- A felsoroltak vizsgálata élő rendszerben (transzgén egér, patkány).



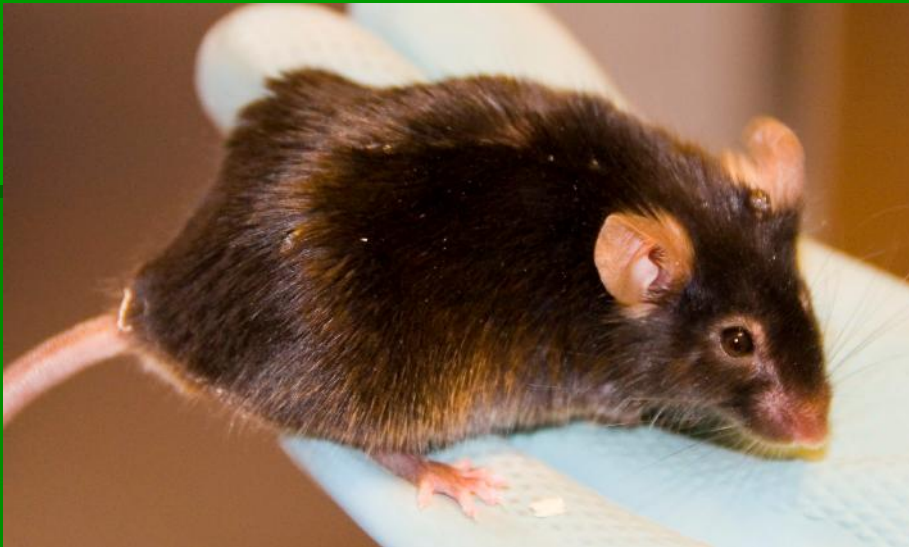
Alzheimer-kór „*in vivo*” modellezése

- familiáris Alzheimer modell:

- transzgén állat

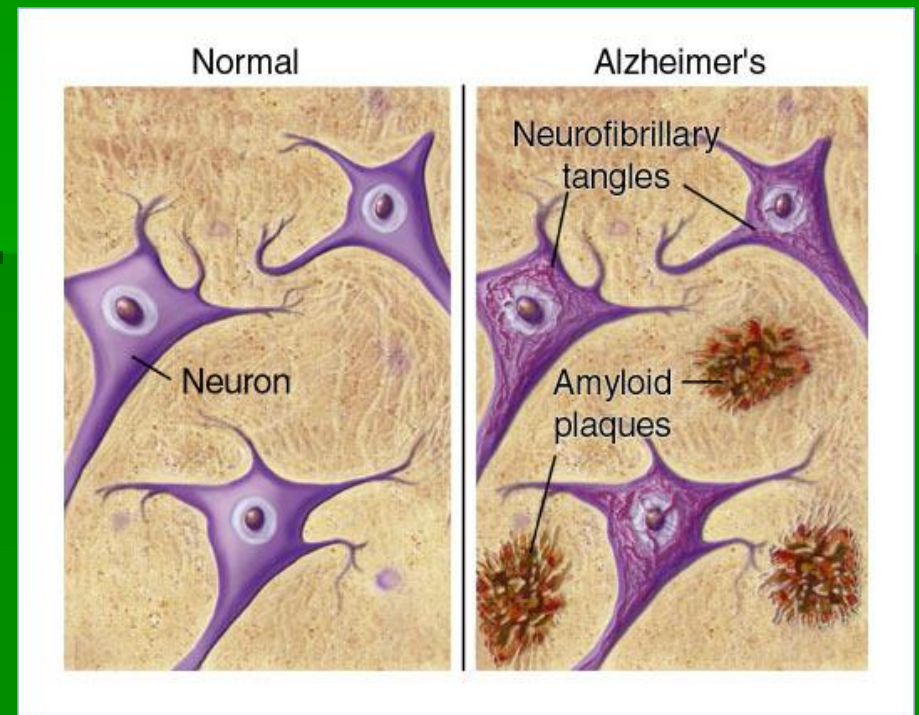
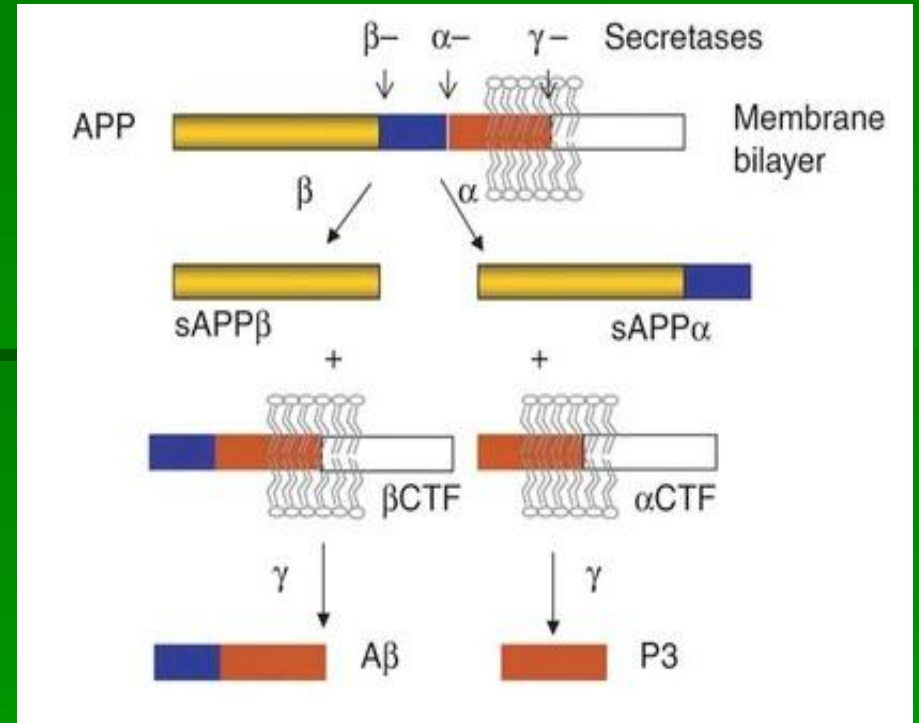
- sporadikus Alzheimer modell:

- A β intracerebroventrikuláris (ICV) adagolása
- REM fázis megvonás



Familiáris Alzheimer modell

- A modellezésre magas béta-amiloid szintű humán amyloid precursor protein (hAPP) transzgén egereket használnak.
- A szervezetben normálisan is előforduló amyloid prekursor protein (APP) melynek több izoformája ismert, és melyet 3 féle szekretáz bont: α - , β - és γ -szekretáz.
- A patológiás izoformájú APP felhalmozódása és a β -szekretáz túlműködése a $A\beta$ felhalmozódásához vezet, ezáltal az amyloid plakkok kialakulásához vezet.



Sporadikus Alzheimer modellek

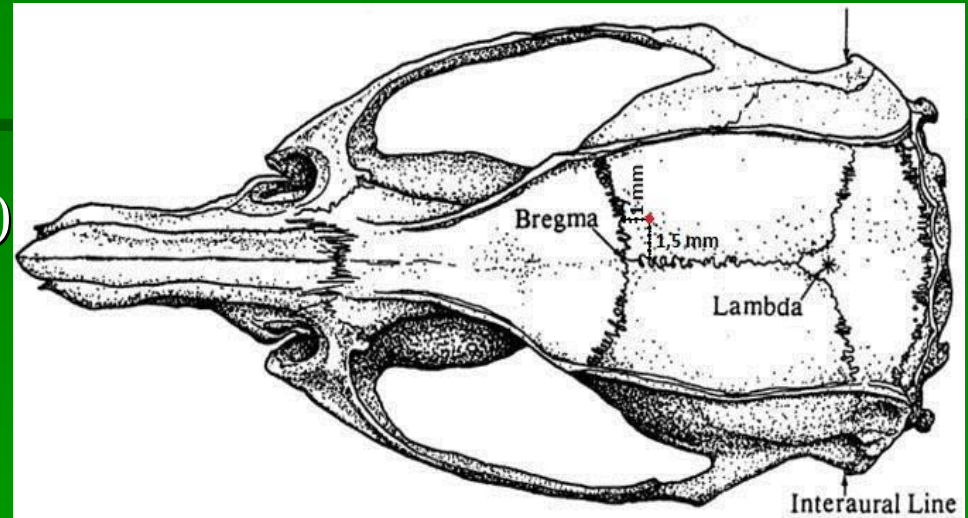
1. $A\beta$ intracerebroventrikuláris (ICV) adagolása

- Az állat előkészítése a műtéthez:
 - Altatás 1,20 ml oldattal, műtét alatt további 0,20 ml visszaaltatásra
 - a használt oldat: 1,00 ml fiziológiás sóoldat,
 - 0,72 ml Calypsol (h.a. Ketamin)
 - 0,20 ml Xylasine
 - Az állat rögzítése a sztereotaxiás készülékben
 - Állat szemének védelme Corneregel (dexpanthenol) géllal



A műtét menete:

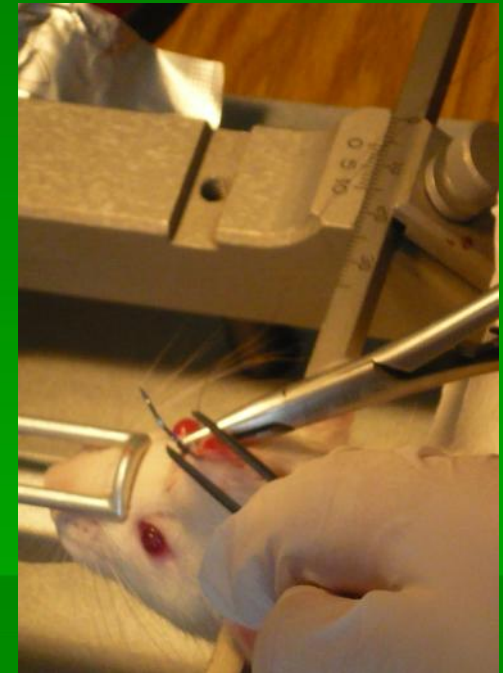
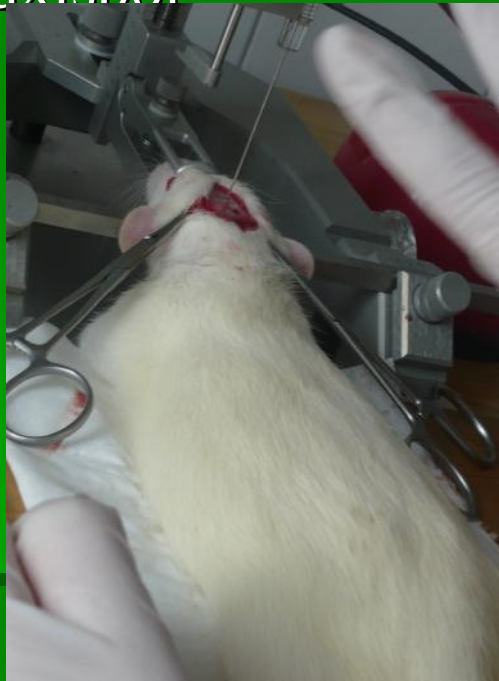
- Az állat fejbőrének bemetszése a középvonalban
- Koponya óvatos megtisztítása az izmoktól
- Bregma megkeresése
- Fúrási pontok pontos megjelölése
(a bregmától AP 0,1 cm, ML 0,15 cm)
- A koponya kifúrása



- A Hamilton típusú fecskendő rögzítése a sztereotaxisban
- A megadott koordináták (AP: 0,1 cm, ML: 0,15 cm, DV: 0,45 cm) szerinti injektálás 7,5 μ L A β -t mindkét oldalon
- Mikroszkóppal ellenőrizzük a műveletet
- A fej bőrét összevarrjuk és az állatot kivesszük a sztereotaxisból



Copyright © 1998-2018 Allstar Scientific



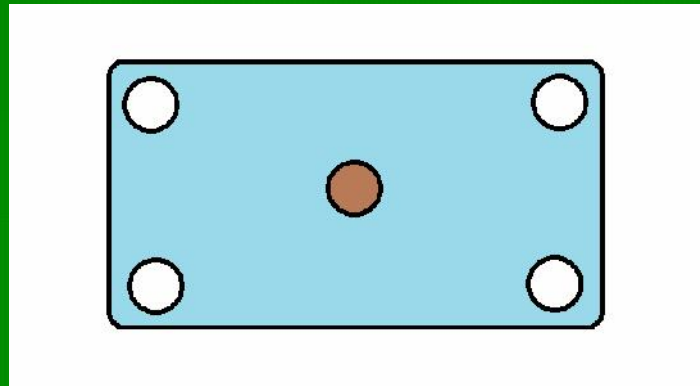
Utókezelés: 0,1 ml 1%-os Enroxil (Enrofloxacin) antibiotikum
 0,1 ml Rymadil (Carprofen) gyulladáscsökkentő és fájdalomcsillapító
 Lábadozási idő kb. 1 hét, külön ketrecben pihen az állat

2. REM fázis megvonás

Kísérlet

Sporadikus Alzheimer-modell felállítása REM-fázis megvonással

- Célkitűzés: sporadikus Alzheimer-kór korai szakaszának modellezése, illetve annak vizsgálata, ellenőrzése
- Anyag és módszer:
 - 8 db, 150-200 g tömegű, 5 hetes hím Wistar patkány (5 REM-fázis megvont, 3 kontroll)
 - Speciális ketrec: sarkaiban 4 db platformot (10 cm átmérőjű felfordított virágcserep) rögzítettünk. A ketrec közepén található az etetőedény
 - A ketrec alját kb. 1-2 cm magasságig feltöltöttük vízzel.



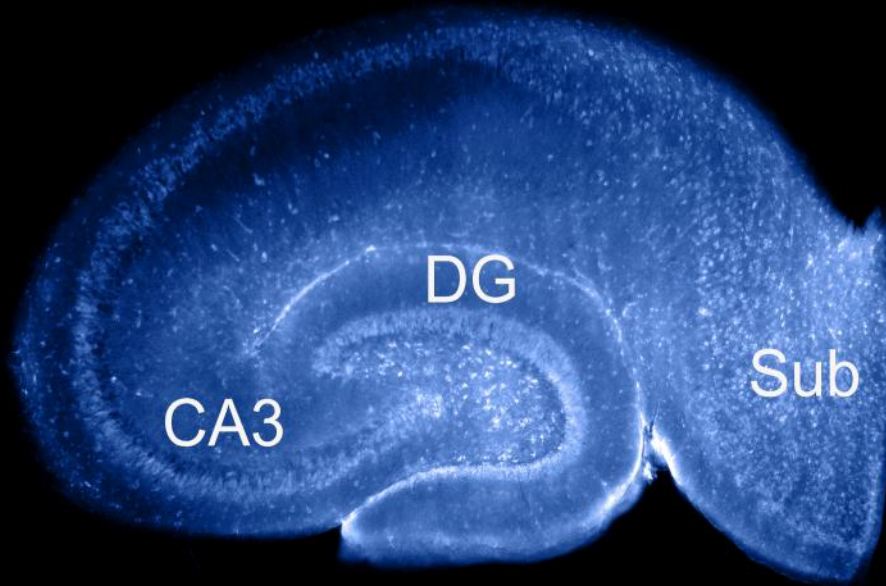
1. nap – ismerkedés a környezettel



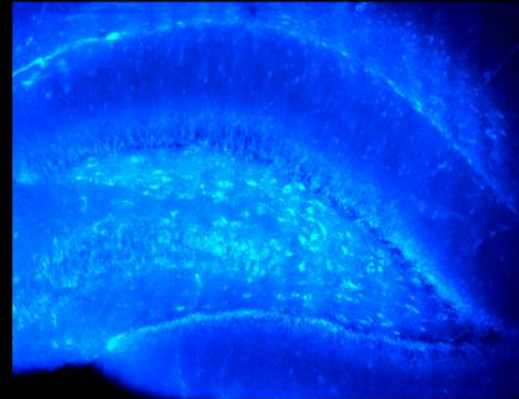
6.-7. nap – félelem, ijedtség, zavartság, agresszió jelei



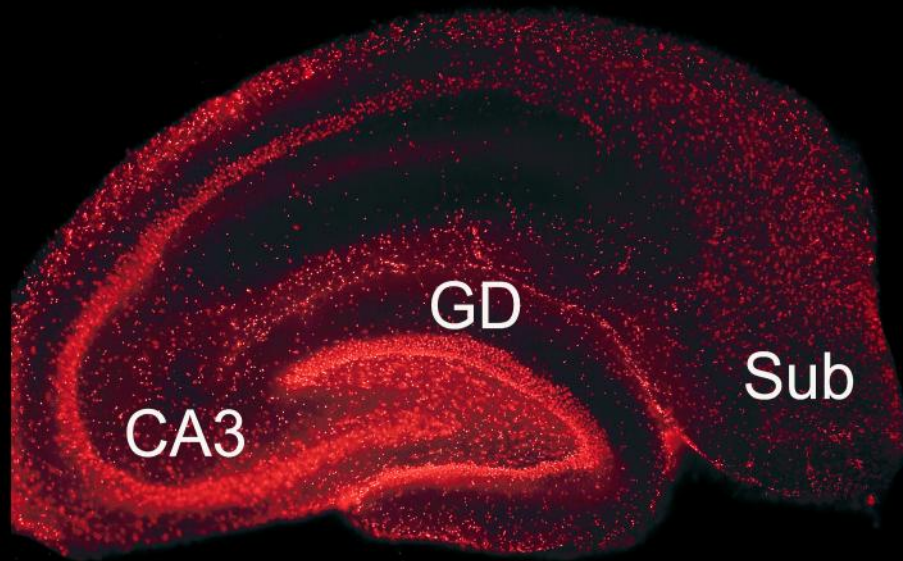
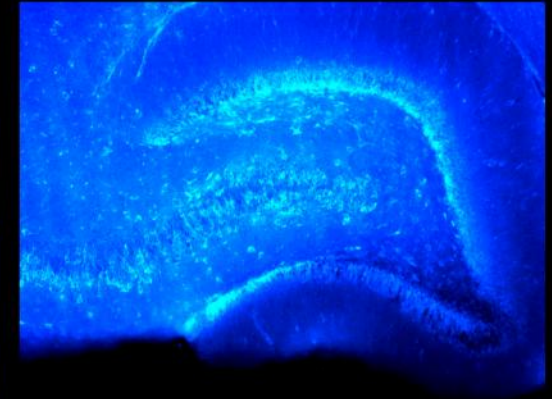
Sejttest (BisANS)



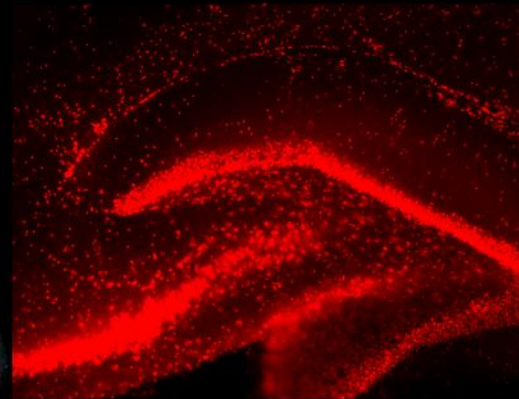
Kontroll



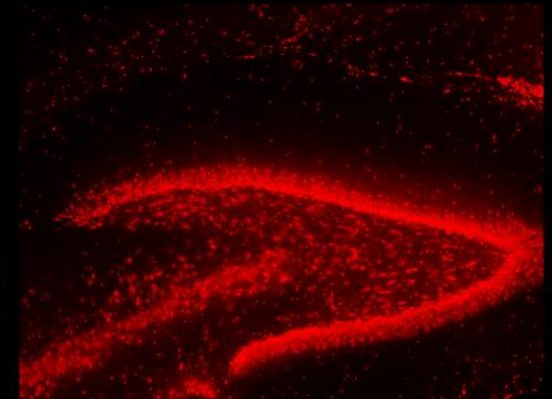
REM -



Kontroll



REM -

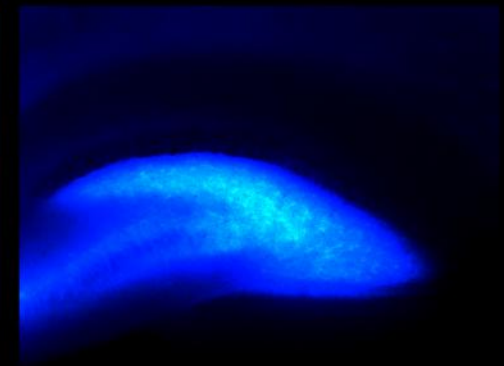
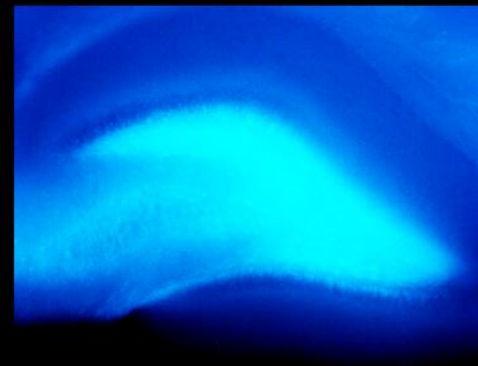
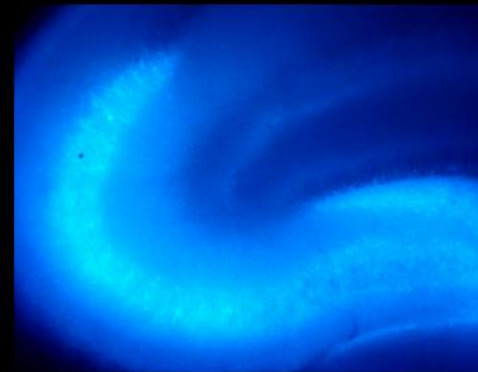
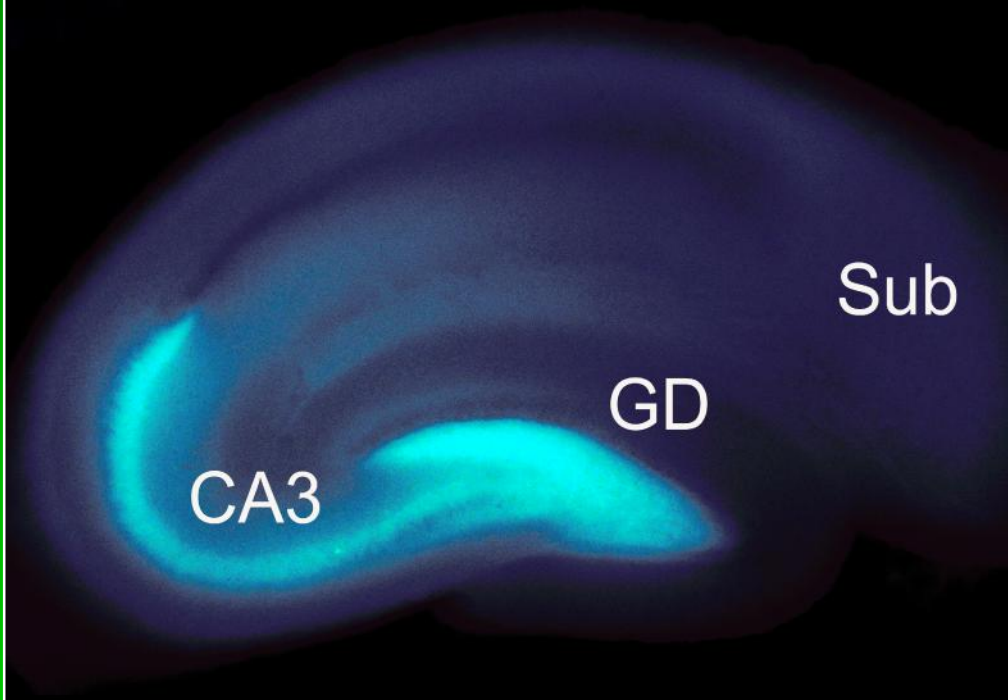


Sejtmag (PI)

Intracelluláris cink (ZnAF2)

Kontroll

REM -



Intracelluláris kalcium

Fluo-3

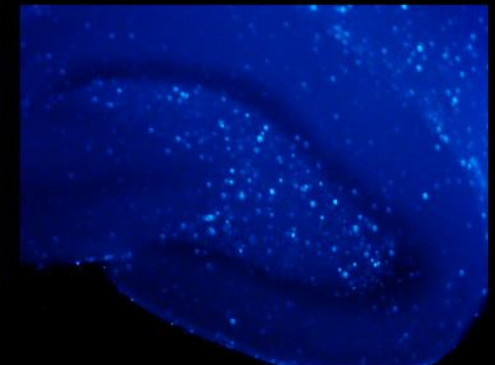
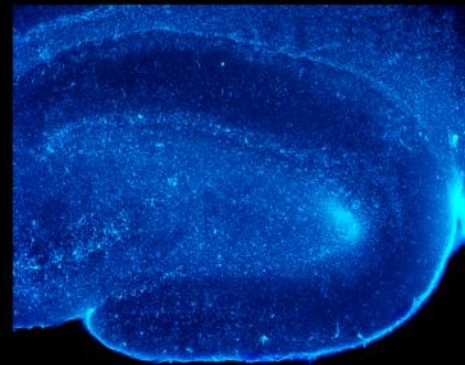
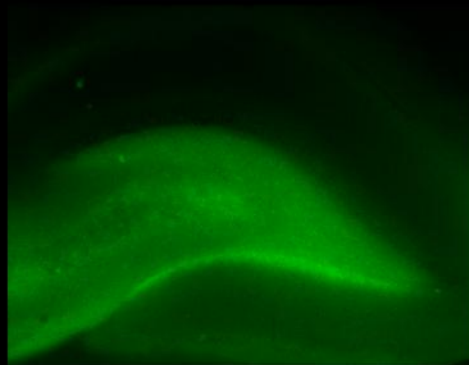
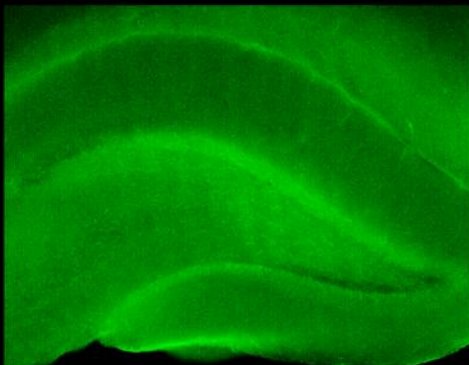
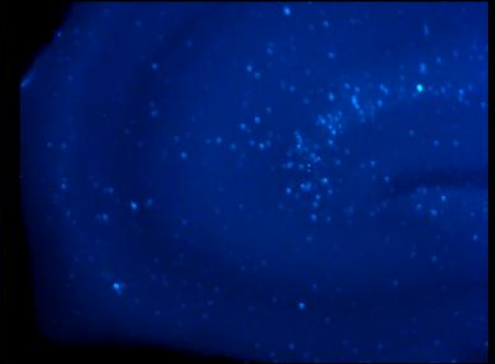
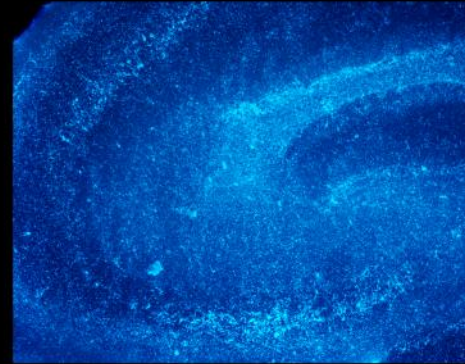
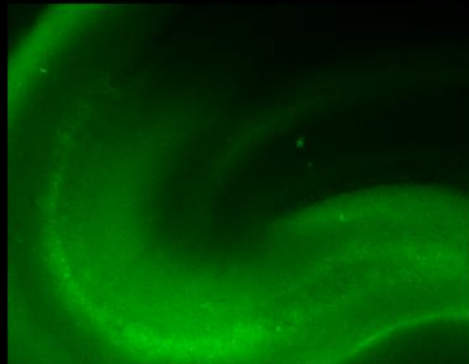
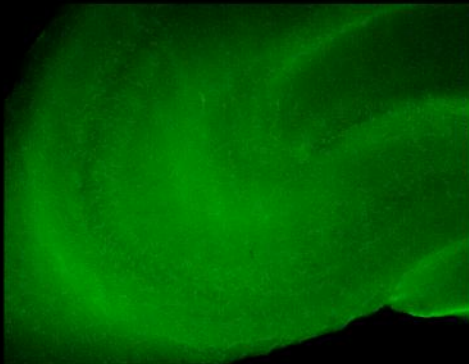
Fura-2

Kontroll

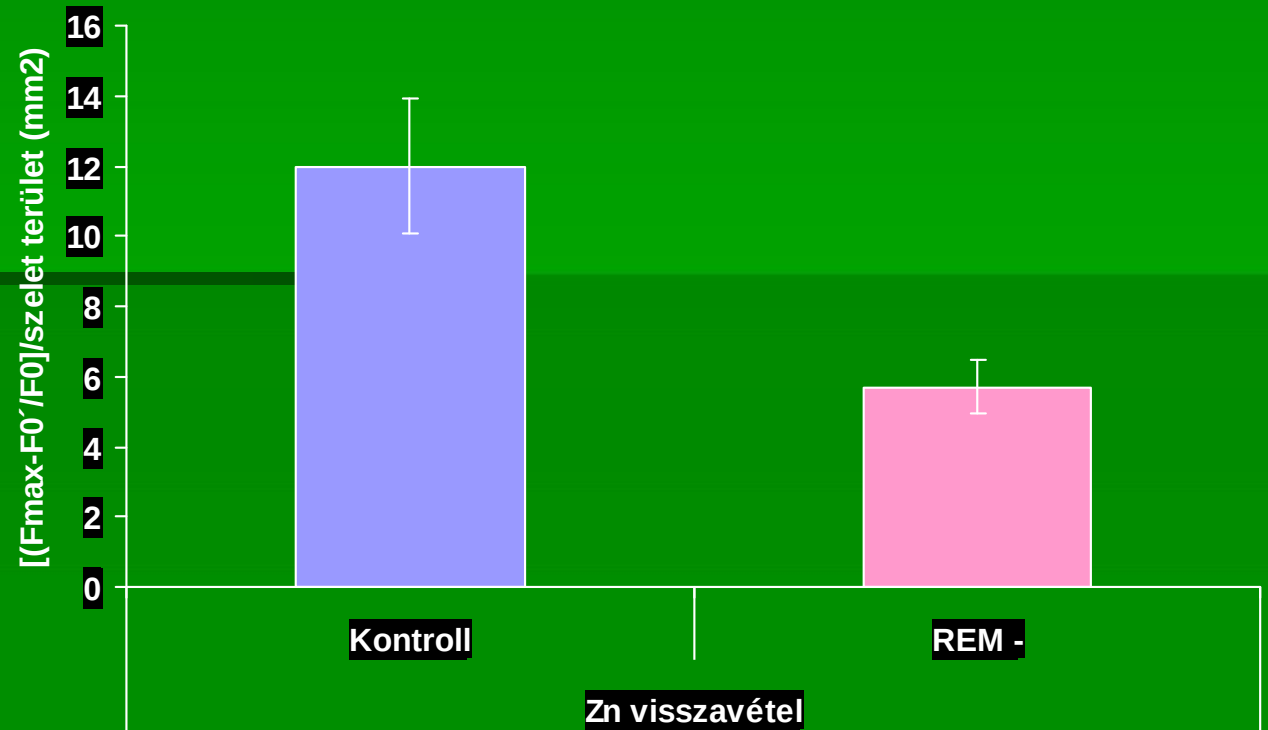
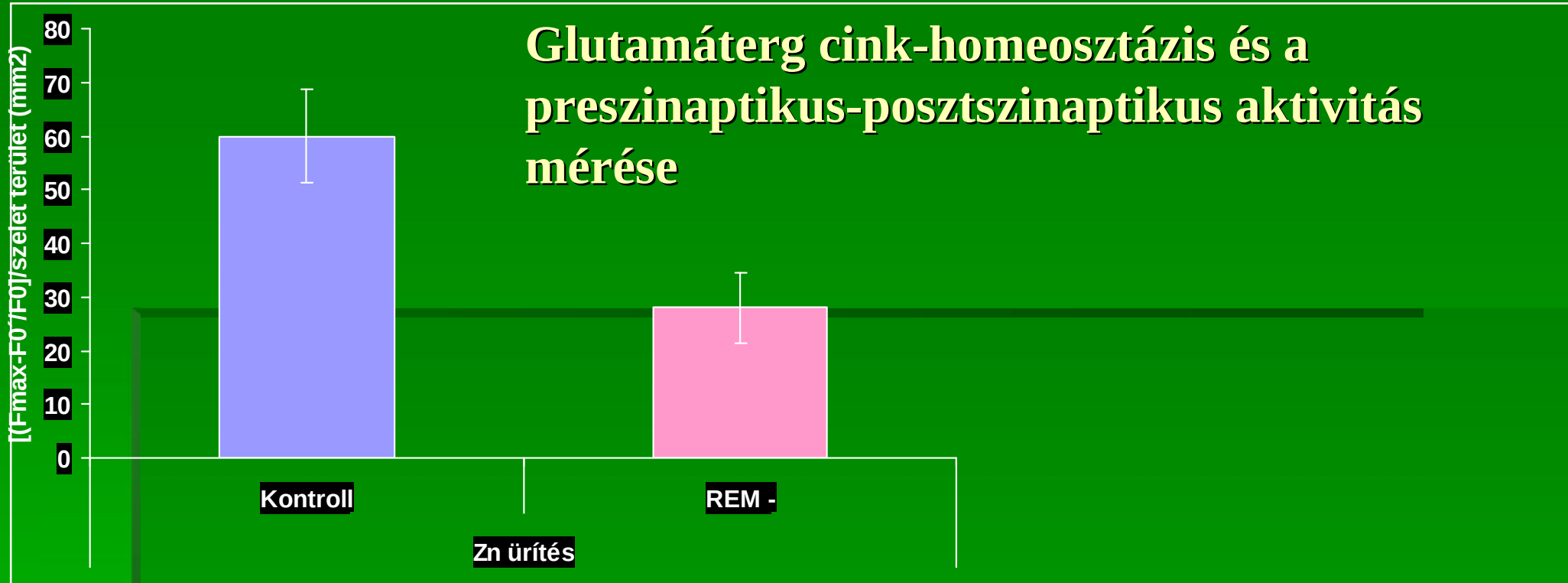
REM -

Kontroll

REM -



Glutamáterg cink-homeosztázis és a preszinaptikus-posztszinaptikus aktivitás mérése



■ Eredményeink:

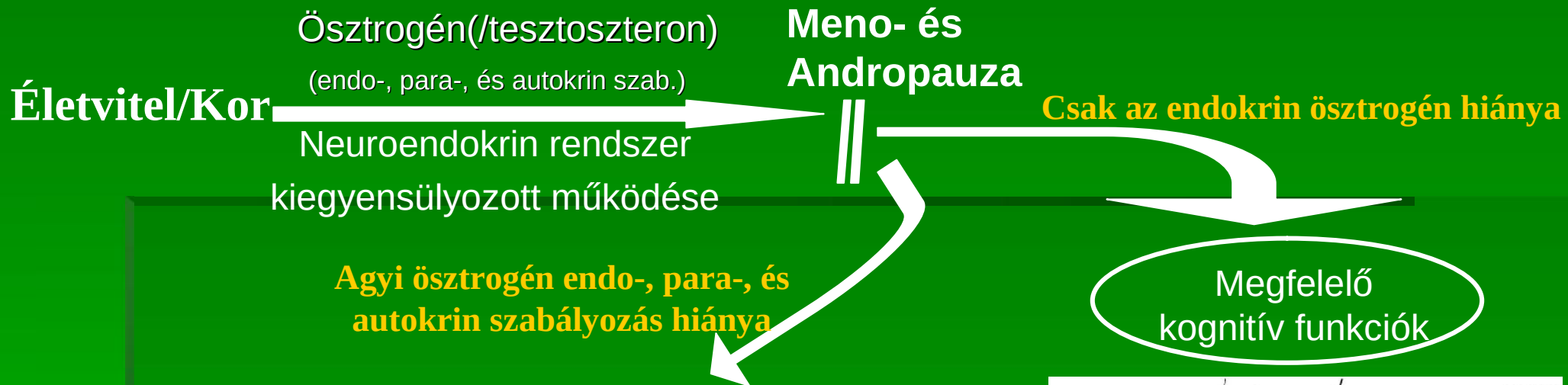
- A *strukturális elemek* (sejttest és sejtmag) festődésében nem találtunk számottevő eltérést;
- Jelentős különbséget észleltünk bizonyos *élettani folyamatokban résztvevő elemek* mennyiségében (Zn^{2+} , Ca^{2+});
- A REM-fázis megvont csoport Zn^{2+} ürítés és visszavétel mérése során kapott eredmények felére csökkentek a kontroll csoport eredményeihez képest.

■ Értelmezés:

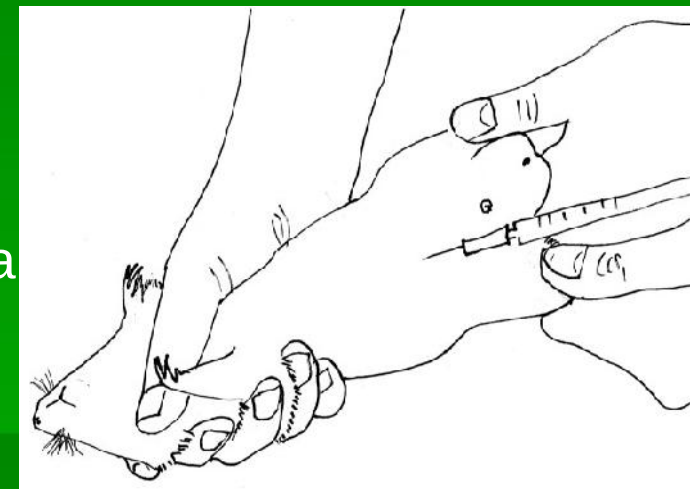
- A fenti mérések azt sugallják, hogy a módszer további tökéletesítése esetén megfelelő lehet a sporadikus Alzheimer-kór korai szakaszának modellezésére.

További lehetőségek:

I. Kezelés aromatáz gátlóval



- Agyi ösztrogén, melatonin ↓, (FSH, LH) ↑
- „Erőltetett és gyorsított” neuroplaszticitás indukció
- Mélyalvás hiánya, cirkadián ritmus szabályozási zavara
- Neurogénézis serkentés/gátlás
- NMDA-R számának/aktivációjának fluktuációja
- Intra- és extracell. $\text{Ca}^{2+}/\text{Zn}^{2+}$ homeosztázis zavar



→ APP expresszió változás

II. REM-fázis megvonás és aromatáz gátlóval való kezelés kombinációja

Összegzés

		Előnyök	Hátrányok
F a m.	Transzgén állat	Valósághű, precíz képet ad. Etimológiai és hisztológiai vizsgálatok egyaránt lehetségesek.	Jelenleg egyetlen hozzáférhető lehetőség. Magas beszerzési ár. Magas rizikó.
S p o r a d i k u s	Aβ ICV adagolása	Aβ direkt az agykamrákba kerül (vér-agy gát kikerülése). Az előrehaladott forma modellezése. Etimológiai és hisztológiai vizsgálatok. Alacsonyabb költségek.	Speciális eszközök: sztereotaxis, Hamilton fecskendő. Számos technikai hibalehetőség.
	REM fázis megvonás	A korai szakasz modellezési lehetősége. Elhanyagolható költségek.	Időigényes. Etimológiai vizsgálat nem végezhető.
	Kezelés aromatáz gátlóval	A korai szakasz modellezési lehetősége. Etimológiai és hisztológiai vizsgálatok. Alacsonyabb költségek.	Időigényes. Az állatokra kiható ismételt stressz (intraperitoneális injektálás naponta 2 hétig).
	REM fázis megvonás + aromatáz gátló	A korai szakasz pontosabb modellezési lehetősége (?).	Időigényes. Etimológiai vizsgálat nem végezhető.



Köszönetnyilvánítás:

Prof. Dr. Penke Botond

Dr. Datki Zsolt és csapata

SZTE, Orvosi Vegytani Intézet munkatársai

Dr. Bán Erika Gyöngyi

Prof. Dr. Brassai Attila



Saját hozzájárulás:

- ✓ 3 hónapos nyári gyakorlat, Erasmus ösztöndíj, SZTE
- ✓ szakirodalom, elméleti felkészülés
- ✓ aktív gyakorlati részvétel a felsorolt módszerek minden egyes lépésénél
- ✓ bemutató megszerkesztése, eredmények összegzése

Köszönöm a figyelmet!