UPPSALA
UNIVERSITET

Framtiden för behandlingar av Alzheimers sjukdom

Susanna Granström

Independent Project in Biology
Självständigt arbete i biologi, 15 hp, vårterminen 2017
Institutionen för biologisk grundutbildning, Uppsala universitet

Framtiden för behandlingar av Alzheimers sjukdom

Susanna Granström

Självständigt arbete i biologi 2017

Sammandrag

Efter över hundra år av forskning har man kommit fram till att det finns två primära kännetecken hos Alzheimers sjukdom: neurofibrillära nystan bestående av hyperfosforylerade tau-protein samt senila fläckar orsakade av ackumulation av amyloid-β. Hyperfosforylerat tau skapas i och med att enzymet Pin1 förlorar sin reglerande förmåga på grund av hög oxidation av DAPK1, vilket i sig reglerar aktiviteten av Pin1. Amyloid-β är en skadlig substans vilken bildas av felaktig klyvning av amyloid prekursorprotein, vilket leder till att neuroner skadas och dör. Enzymet p38 har även associerats till förekommandet av båda typer av symptom. För att förhindra denna celldöd undersöker man flertalet typer av behandlingar och två av dem är antikroppsbehandling och stamcellsbehandling. Behandling med antikroppar attackerar källan till sjukdomen genom att antikroppar designas till att binda till specifika delar av de skadliga proteinerna och skapar på så vis en immunrespons. Stamcellsforskningen fokuserar främst på att ersätta de döda neuronerna och på så vis ta bort de skadliga symptomen hos patienterna. Samtliga undersökningar av både antikroppsbehandlingar och stamcellsbehandlingar har, i djurmodeller, resulterat i att kognitionen återkommer i och med att koncentrationerna av de skadliga proteinerna minskar efter en period av behandling. Få av dessa studier har givit upphov till allvarliga biverkningar hos försöksdjuren och på så vis finns hopp om fortsatta kliniska studier i människor. Dock finns alltid risker med dessa behandlingar. I fall med antikroppar kan det tänkas att antikropparna binder till andra strukturer än vad de var specifikt designade till. I några fall där stamceller använts i människor har canceruppkomst förekommit, dock inte fullt bekräftat att vara på grund av behandlingen. Även om det finns risker med båda behandlingarna finns det stora fördelar som kan uppkomma som följd, och det finns en ljus framtid för dem. På grund av längre användning och hantering av antikroppar kan den första verksamma behandlingen mot Alzheimers mycket troligt skapas med hjälp av dessa.

Inledning

” Her overall presentation in the institution bore the mark of complete perplexity. She is entirely disoriented to time and place. Once in a while she makes comments that she does not understand anything going on; or has lost track of things.” Detta är ett citat från Alois Alzheimer, översatt från tyska av Strassnig & Ganguli (2005) vilket beskriver några av de tidiga observationerna gjorda vid den första vetenskapliga dokumentationen av sjukdomen Alzheimers. Dessa observationer gjordes år 1907 vid en institution för psykiskt sjuka i Tyskland hos en 51 år gammal kvinna. De beskrivna symptomen stämmer väl överens med de vi idag ser hos patienter diagnostiserade med denna sjukdom.

I och med ökningen av teknologiska redskap användbara för studier, har man lyckats hitta anomalier i hjärnorna hos individer med Alzheimers. Det har visat sig att det finns både extracellulära och intracellulära kännetecken på sjukdomen. Neurofibrillära nystan (neurofibrillary tangles) återfinns i neuronerna i hjärnan och är på så vis tillhörande de intracellulära kännetecknen, medan så kallade ”senile plaques” (senila fläckar) tillhör de extracellulära och består av ansamlingar av protein genomträngande neuronerna (Rajmohan & Reddy 2016).

De, utifrån, synliga symptomen för Alzheimers kan lättast hittas i en manual vid namn ”Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders” – DSM. Enligt denna finns det vissa typiska symptom som måste uppvisas för att en diagnos ska vara möjlig. Ser vi till den fjärde upplagan av denna kan man diagnostisera Alzheimers genom att titta på om individen har problem med att återkalla minnen alternativt problem med att bilda nya, i kombination med en eller flera av följande symptom: afasi (försämrad förmåga att använda språk), apraxi (problem med motorik), agnosi (svårigheter att känna igen objekt), störningar i exekutiva funktioner (såsom planering och abstrakt tänkande). Samtliga av dessa symptom får då inte vara på grund av andra typer av störningar som kan orsaka demens (American Psychiatric Association 1998)

Enligt den senaste utgåvan av denna manual måste tre specifika symptom uppkomma självständigt från influens av andra degenerativa sjukdomar. Dessa tre symptom är mild kognitiv störning, tydlig nedgång gällande minne och inlärning, samt minskad kognition (American Psychiatric Association 2013).

I Sverige finns det idag ungefär 100 000 människor diagnostiserade med sjukdomen, och varje år bekräftas 15 000 nya fall (Demensförbundet 2017). Oftast diagnostiseras bara en av fyra individer, vilket innebär att det finns många som lider av sjukdomen utan att veta om det. Vid långt framskriden sjukdom har individen oerhört svårt att bilda nya minnen, och redan existerande minnen ligger mycket långt tillbaka i tiden. Detta leder till att den sjuke lever långt tillbaka i sitt förflutna (Demensförbundet 2017). Den belastning denna sjukdom orsakar, både på anhöriga och på samhället, gör att det är av stor vikt att hitta effektiva sätt att behandla de sjuka individerna så att de kan återfå sin förlorade kognitiva förmåga.

Denna överblicksartikel kommer att ta upp vilka mekanismer forskare idag tror ligger bakom denna degenerativa sjukdom. Vad är det som orsakar dessa ansamlingar av protein och nystan i hjärnan? Den kommer även att titta närmare på vad forskningssamhället idag gör för att kompensera för dessa mekanismer med hjälp av antingen antikropps- eller stamcellsbehandlingar. Vilken av dessa behandlingar är mest lovande inför framtiden?

Mekanismer bakomliggande nystan och fläckar

Eftersom det finns två primära kännetecken specifika för Alzheimers sjukdom – neurofibrillära nystan och senila fläckar – måste vi först förstå vad som orsakar dessa innan en behandling är möjlig. I följande avsnitt kommer flertalet mekanismer att behandlas gällande hur olika händelser inom cellerna förhåller sig till varandra och därefter hur de förhåller sig till sjukdomen och dess symptom. Orsakerna till Alzheimers har sin grund på proteinnivå, genom intracellulära kaskader av händelser med resultatet att neuroner i hjärnan dör. Detta i sin tur leder till minskande kognition och förmåga att bilda nya minnen, vilka är typiska symptom hos människor som lider av sjukdomen.

Nedreglering av Pin1 via oxidativ stress

Ett fenomen som anses ha stor inverkan på degradering av neuroner är oxidativ stress – ett överflöd av syrerika och reaktiva föreningar i cellen. Detta fenomen uppstår i samband med oxidation av olika proteiner i cellerna (Butterfield & Kanski 2001). Hos Alzheimers orsakas oxidativ stress av fria radikaler vilka interagerar med proteiner och resulterar ofta i att de får förändrad funktion (Butterfield *et al.* 2001). De neuroner man främst undersöker i dessa fall är de som kan hittas i hippocampus, eftersom det är den delen av hjärnan som främst är inblandad i bildandet av minnen (Purves *et al.*). Där studier utförts på neuroner i hippocampus hos individer diagnostiserade med Alzheimers, i jämförelse med friska individer, har man

observerat skillnader i graden av oxiderade proteiner. Ett av dessa proteiner har man funnit vara relevant gällande sjukdomsförloppet: Pin1 (Sultana *et al.* 2006).

Pin1, ett peptidyl-prolyl isomeras, är ett enzym som tros vara kopplat till Alzheimers då det har en viktig roll intracellulärt. Det har satts i stark relation till just bildandet av neurofibrillära nystan, vilka är abnormala ansamlingar av hyperfosforylerat tau-protein inom cellerna. Vid höga koncentrationer av detta protein blockeras cellernas normala struktur och funktion (Driver *et al.* 2015). Enzymet Pin1 har dokumenterats som ett protein av typen isomeras och det är främst inblandat i regleringen av cellcykeln där det arbetar tillsammans med andra typer av enzym – kinaser. Samarbetet består i att Pin1 ändrar konformationen hos protein vilka därefter kommer att genomgå ytterligare modifiering av kinaserna. Några exempel på substrat är cyklin D1, cyklin p53 och cyklin p27. När funktionen hos Pin1 först upptäcktes verkade det främst som att det var involverat i mitosen, men efter senare undersökningar har även G1- och S-fasen lagts till. Med andra ord: enzymet är viktigt för initiering av de olika stadierna i cellcykeln. Skulle Pin1 minska i koncentration skulle även cellcykeln påverkas genom att dämpa frekvensen av celldelning. Enzymets substrat är hårt reglerade för att cellcykeln i sig ska vara under kontroll, även om enzymet i sig själv inte regleras på liknande sätt utan hålls i en nästintill konstant koncentration (Lin *et al.* 2015). Pin1 är av stort intresse idag på grund av dess förhållande till neurofibrillära nystan, via relationen det har till tau-proteinet, vilket är enzymets substrat. Då tau-protein är vad neurofibrillära nystan består av har man tittat närmare på vilka enzym som reglerar dess funktion, från stabilt till ostabilt, och Pin1 är ett sådant enzym. Detta gör att man hoppas på att kunna använda sig av denna kunskap för att minska mängden neurofibrillära nystan i neuronerna hos individer diagnostiserade med Alzheimers (Chen *et al.* 2015).

I studier där man undersökt vad som händer när man tillsätter oxiderande ämnen till neuroner i hjärnan har man konstaterat att Pin1 förlorar sin katalytiska förmåga, i och med dess oxidation (Chen *et al.* 2015). Detta är mycket intressant att studera, eftersom det är just detta som händer i individer med Alzheimers. Genom att, in vitro, tillsätta olika koncentrationer av väteperoxid har försök gjorts att identifiera vilken grad av oxidation som krävs för att inaktivera enzymet. På detta vis upptäcktes det att en specifik del av enzymet – Cys113 – starkt reagerade på ämnet genom att oxidera. Dock är det inte specifikt Cys113 som gör att enzymet inaktiveras; det har fortfarande förmågan att känna igen och binda till substrat, utan det är en specifik del på Cys113. Det är denna del – en fri tiolgrupp – som, när oxiderad, orsakar oförmågan hos Pin1 att effektivt binda till sina substrat, och på detta sätt förhindras och förändras de normalt förekommande fosforyleringsförloppen i neuronerna (Chen *et al.* 2015).

Inhibering av Pin1 orsakar skadlig konformation hos tau

När isomeraset Pin1 fungerar som det ska orsakar det konformationsändringar i målproteiner, ofta från cis till trans. Ett av dessa målprotein är tau. Detta protein har en viktig roll när det kommer till cellers interna struktur, då det påverkar stabiliseringen av mikrotubuli. Skulle inte detta fungera ordentligt kommer transportvägarna i cellerna samt signalering via axonerna att påverkas negativt, vilket är fallet i Alzheimers. I friska individer interagerar Pin1 med tau och ändrar dess formation från det instabila cis till det mer stabila trans, vilket därefter fosforyleras för att kunna påverka formen hos mikrotubuli (Driver *et al.* 2015).

I individer med Alzheimers har det indikerats att tau aggregerar genom fosforylering av proteinet i dess cis-konformation. Enligt funktionen hos Pin1 ska det inte finnas höga koncentrationer av tau i cis-konformation, vilket är ett förmodat resultat av att enzymet är

inaktivt alternativt nedreglerat. När tau aggregerar skapas så kallade intracellulära neurofibrillära nystan, vilket är ansamlingar av mikrotubuli nära cellmembranet hos neuronerna, vilket till slut leder till celldöd då cellen inte kan signalera korrekt längre. I dessa fall slutar tau även att ge respons på försök till defosforylering. I och med att Pin1 blir inaktivt kommer ett kinas vilket är viktigt för fosforylering av tau att bli disinhiberat – mer aktivt. Detta kinas, vid namn GSK3, hyperfosfolyrerar tau, vilket resulterar i större mängder av dess aktiva och skadliga cis-konformation (Driver *et al.* 2015).

DAPK1, ”death associated protein kinase 1”, är ett proteinkinas vilket har undersökts närmare för att fastställa dess roll i förhållande till både tau och Pin1. Intresset för detta proteinkinas ökade när man observerade förhöjda halter av det i hippocampus hos patienter diagnostiserade med Alzheimers. I en studie gjord av (Kim *et al.* 2014) har man undersökt vilken aspekt det är hos DAPK1 som orsakar regleringen av tau. De kom fram till att tau blir indirekt reglerat av kinaset via fosforylering av Pin1. Detta gjordes genom att, i möss, introducera en punktmutation i genen för en treoninfosforyleringspunkt i tau, med resultatet att det då blir oförmöget att binda till Pin1 och därefter se hur proteinet reagerade på närvaron av DAPK1. De såg att stabiliteten hos tau inte förändrades, och drog då slutsatsen att Pin1 agerar som mellanhand mellan kinaset och tau. Fortsättningsvis undersökte de på vilket sätt DAPK1 och Pin1 interagerar genom att slå ut genen för Pin1 och se hur stabiliteten hos tau påverkades, med hypotesen att Pin1 stimulerar dess degradering. Resultatet visade på stabila former hos tau och lite degradering, vilket indikerar att deras hypotes stämde. Från detta kunde de sedan se att stabiliteten hos tau och fosforyleringen hos Pin1 ökade i respons mot tillsatts av DAPK1. Slutsatsen de kunde dra från detta var att Pin1 stimulerar konformationsändringen hos tau, från stabilt till ostabilt, och i sin tur inhiberas i närvaron av DAPK1 med resultatet att tau blir kvar längre i dess stabila och aggregerande form. Detta bekräftades ytterligare när de slog ut genen för DAPK1 och tittade på huruvida tau fosforylerades för att bilda sin stabila konformation, och huruvida Pin1 inhiberades eller ej. De såg i detta fall en minskning i den fosforylerade formen hos tau och även hos Pin1, vilket motverkar det potentiella bildandet av neurofibrillära nystan associerade med Alzheimers.

Sammanfattningsvis kom denna studie fram till att Pin1 har en viktig roll gällande inaktiveringen av tau, genom att ändra dess konformation, DAPK1 inhiberar den katalytiska funktionen hos Pin1 genom fosforylering, vilket orsakar abnormala mängder av stabilt tau via mikrotubuli. Detta lägger grunden för utvecklingen av den neurodegenerativa aspekten orsakad av neurofibrillära nystan som förhindrar korrekt cellsignalering.

Amyloid-β orsakar celldöd via p38 och tau

Så kallade ”senile plaques” (senila fläckar) är den extracellulära typen av symptom associerade med Alzheimers. Dessa består av aggregerade filament av peptiden amyloid-β (Aβ). Dessa ses ofta i samband med neurofibrillära nystan (aggregerade tau-protein) och tros ha en stor inverkan på neuroners livslängd (Takashima 2009). APP (amyloid prekursorprotein) har observerats att stimulera bildning av synapser och även påverka synaptisk plasticitet, vilket indikerar att det har en roll vid bildning av LTP (long term potentiation) – skapande och förstärkning av minnen. När APP inte klyvs på korrekt sätt kommer Aβ att bildas, och studier visar på att lösliga oligomerer av denna peptid kan påverka hur glutamatsignalerande synapser fungerar. Detta kan eventuellt leda till kognitiv minskning. Skulle denna peptid överproduceras i närheten av dendriter och axoner kan den lokalt minska antalet synapser och de befintligas synapsernas plasticitet (Rajmohan & Reddy 2016). Andra observationer i samband med aggregering av Aβ har också gjorts och samtliga indikerar att det eventuellt kan leda till degeneration av neuroner. Peptiden kan antingen påverka funktionen hos mitokondrier, inflammationsprocessen, aktivering av kinas eller

organiseringen av cytoskelettet (Bignante *et al.* 2013).

Bildandet av senila fläckar har i en studie visats orsaka celldöd i och med aggregeringen av amyloid-β. Det som händer i dessa fall är att formationen av filamenten orsakar perforering av cellmembranet, vilket resulterar i läckage. Eftersom det finns membranomslutna organeller inom cellerna är det ofta perforeringen av dessa, i synnerhet lysosomerna, i kombination med perforeringen av det omslutande membranet, som orsakar cellens död. I och med att lysosomer innehåller ämnen kapabla till nedbrytning av främmande substanser är ett sådant läckage förödande och leder till att cellen dör. Detta har satts i relation till koncentrationen av amyloid-β: ju högre koncentration, desto mer bildande av ”fläckar” (Han *et al.* 2017).

APP kan ge upphov till flera olika typer av Aβ, och tre av dessa har undersökts ingående för att etablera om någon av dem specifikt kan länkas till Alzheimers. Dessa är Aβ*56, amyloid-β dimerer, samt amyloid-β trimerer. Man har i friska individer observerat att alla dessa ökar i koncentration med åldern, markant efter 40. En av dessa oligomerer kunde även positivt korrelera med den patologiska konformationen av tau: Aβ*56. Eftersom just denna oligomer har observerats orsaka nedsatt kognitiv förmåga i gnagare, spekuleras det i huruvida det är denna som även orsakar nedsatt minnesförmåga vid hög ålder eller om dessa individer endast löper större risk att utveckla Alzheimers. Denna typ av oligomer har dock inte korrelerats till mängden fläckar (Lesne *et al.* 2013).

Som med Pin1, tror man att oxidativ stress kan påverka hur Aβ interagerar med olika protein och enzym i cellerna. Ett sådant är p38, ett fosforylerande enzym vilket man vet är inblandat i celldöd hos neuroner. Det har varit omdebatterat om huruvida det är Aβ som aktiverar enzymet eller om de inte har någon signifikant påverkan på varandra. I en studie undersöktes detta då man utsatte neuroblastomceller för Aβ och mätte graden av fosforylerat p38 efter 24 timmar. De såg en tydlig skillnad, och ökning, i aktivitet av enzymet vid koncentrationer av Aβ högre än 0,1 µM. För att därefter se inblandningen av p38 och Aβ i apoptos – celldöd – använde man sig av celler vilka uttryckte dominanta negativa versioner av genen för p38. Detta innebär att p38 inte har sin riktiga funktion och inte kan utföra det arbete det ska. I och med detta observerade man minskad celldöd hos celler med den felaktiga genen och kunde på så vis dra slutsatsen att p38 är inblandat i Aβ-medierad celldöd. För att försäkra sig om att detta resultat stämde testades även en p38-inhiberare – SB203580. Även då fick de samma resultat – minskad celldöd medierad av Aβ (Zhu *et al.* 2005).

Även en länk mellan p38 och neurofibrillära nystan har funnits och man har på grund av det undersökt på vilket sätt de interagerar med varandra. I en studie av Zhu *et al.* (2000) undersökte man just detta med hjälp av bindning av antikroppar. Genom att använda antikroppar mot p38 kunde man fastställa att enzymet återfanns i både neurofibrillära nystan och senila fläckar, vilka är de två främsta markörerna för Alzheimers. P38 observerades finnas på samma ställen som fosforylerat tau-protein, vilket leder till misstanken att p38, utöver Pin1, har förmågan att ändra konformationen hos tau.

Antikroppsbehandlingar

Antikroppar är proteiner vilka produceras av en organisms immunförsvar till att känna igen och märka ut främmande substanser – så kallade antigener. Monoklonala antikroppar används ofta för att märka ut specifika substanser och produceras till just detta inom forskningsvärlden. Dessa antikroppar känner igen endast en typ av antigen och blir på så sätt ett mycket specifikt sätt för detektion. Monoklonala antikroppar med syftet att användas till

människor framställs vanligtvis i möss, där de injiceras med antigenen och tillåts att producera antikropparna mot den. Dessa antikroppar extraheras sedan med förmågan att känna igen den specifika antigenen även i människor (Cooper & Hausman 2013).

På grund av antikroppars förmåga att känna igen specifika antigener finns det stora möjligheter att använda detta inom sjukdomsforskning. Om antikroppar skulle utvecklas till att känna igen de specifika dragen hos Alzheimers – amyloid-β och hyperfosforylerat tau – skulle de potentiellt kunna skapa en aggressiv och försvarande respons hos immunförsvaret. Detta i formen av att attackera och bryta ned det som antikropparna bundit till, och på så vis motverka sjukdomsförloppet.

Antikroppsbehandling mot tau

Eftersom proteinet tau är hyperfosforylerat hos individer diagnostiserade med Alzheimers är det många idag som undersöker huruvida detta går att förhindra, alternativt reducera, med hjälp av antikroppsbehandling. Flera mål för fosforylering har hittats i både N- och C-terminalen hos proteinet och vissa av dessa har, vid tester utförda i gnagare, svarat väl på både aktiv och passiv immunisering, där aktiv är tillsats av antigen och passiv är tillsats av färdiga antikroppar. Man har i dessa fall observerat att tillsatsen av fosfopeptider – aktiv immunisering – har reducerat mängden av patologiskt tau (Subramanian *et al.* 2017).

Förbättrad rumslig uppfattning efter passiv immunisering

När man undersökt passiv immunisering mot tau, inducerades råttor med toxisk okadiac acid (OA), med resultatet att tau hyperfosforylerades och bildade neurofibrillära nystan. Mössen påvisade inom kort symptom för Alzheimers via orienteringstester (Barne's labyrint). Antikroppar mot fosfopeptider injicerades med hypotesen om att dessa skulle binda till en specifik region nära N-terminalen på tau, i närheten av specifika kluster vilka vanligtvis lätt fosforyleras. Klustrens specifika position på proteinet var 68–71 i förhållande till N-terminalen, och bestod av serin- och treoninrester. Detta gjordes i hopp om att antikropparna skulle förhindra ansamlandet av tau. Resultatet av detta påvisade att mössen fick en förbättrad förmåga att skapa en rumslig uppfattning om deras orientering (Subramanian *et al.* 2017).

ACI-5400 mot fosforylerat tau

Antikroppsmarkering är en vanlig teknik som används vid detektion av specifika protein av intresse. En ny sådan antikropp är ACI-5400, vilken framtagits specifikt för att binda till fosforylerat tau. Denna antikropp har än så länge endast testats i hjärnor hos gnagare för att se om den binder till de tau-molekyler specifika för Alzheimers. I tester där de tillsatt antikroppen tillsammans med den harmlösa och ej fosforylerade formen av tau sågs ingen bindning, även vid höga koncentrationer. Man observerade även att antikroppen endast band till tau-protein fosforylerade vid en specifik punkt: S396, på både syntetiska och rekombinanta proteiner. Utöver detta kunde ACI-5400 även känna igen de typiska nystan bestående av aggregerande tau, speciellt i CA1 i hippocampus. Att antikroppen binder till tau på grund av den specifika fosforylerade platsen och på grund av konformationen hos proteinet gör att det blir mer specifikt för just symptomen hos Alzheimers. Detta gör att det finns hopp om att vidare utveckling med denna antikropp resulterar i en möjlighet att använda den till passiv immunisering mot sjukdomen (Theunis *et al.* 2017).

43D och 77E9 återställer kognition över längre period

I en nyligen publicerad studie av Dai *et al.* (2017) testade man två typer av antikroppar på möss inducerade med symptom liknande vid Alzheimers. Dessa antikroppar, 43D och 77E9,

designades för att binda till specifika och individuella ställen vid N-terminalen på tau (6–18 respektive 184–195). Efter en period av immunisering med antikropparna testades mössens förmåga att komma ihåg rumslig orientering, via ”Morris Water Maze”. I denna typ av test placeras försöksdjuren i en bassäng fylld med vatten samt en osynlig platå de måste hitta. Den tid det tar för mössen att hitta denna platå efter ett antal inlärningsomgångar kan påvisa huruvida de har förmågan att skapa nya minnen eller ej. De behandlade mössen påvisade en förbättring i tiden det tog för dem att hitta platån, speciellt de behandlade med 43D. Test har även utförts där det uppmättes huruvida antikroppsbehandlingarnas effekt varade längre utöver den perioden mössen behandlades under. Genom att introducera nya objekt tillsammans med redan bekanta objekt testades mössens minne genom att mäta den tid de spenderade med att undersöka det nya objektet. Detta test utfördes hundra dagar efter att den sista dosen antikroppar givits. Möss behandlade med endera antikroppar spenderade mer tid på att undersöka det nya objektet än det bekanta, vilket starkt antyder att de kommer ihåg att de redan undersökt det bekanta objektet. Detta i sin tur påvisar att antikroppsbehandlingen har effekt utöver behandlingsperioden.

I en dos-respons-undersökning utförd i ovan omnämnda studie, kunde det observeras att mängden hyperfosforylerat tau endast minskade efter sex doser antikroppar. Vid endast två doser kunde man se att den totala mängden tau minskade, men ingen antydan till specificering kunde ses, med tolkning att det krävs behandling under en längre tid innan mängden fosforylerat tau minskar. En förlängd effekt kunde även observeras här. Upp till sexton veckor efter den sista tillsatsen av antikroppar såg man fortfarande en minskning i hyperfosforylerat tau.

Intressant nog resulterade behandlingen med 43D, i samma studie, i en minskning av både amyloid prekursorprotein (APP) och även det ackumulerande amyloid-β. Denna bonus kunde observeras redan en dag efter den sjätte administreringen av antikroppen. Det visade sig att denna antikropp rekryterade fagocyterande mikroglia till fläckar med amyloid-β och skapade på så vis en immunrespons.

Eftersom inga observationer av ökande koncentrationer av ämnen relaterade till apoptos – celldöd – gjorts, kan inga slutsatser ännu dras gällande huruvida dessa två antikroppar orsakar någon oväntad minskning i antalet neuroner. Detta kan potentiellt ge upphov till en kombinerad behandling av både neurofibrillära nystan och fläckar orsakade av Aβ via passiv immunisering (Dai *et al.* 2017).

Antikroppsbehandling mot amyloid-β

Eftersom amyloid-β spelar en stor roll i sjukdomen Alzheimers neurodegenerativa aspekt vore det en stor fördel om det var möjligt att markera ut detta protein med antikroppar och på så vis minska dess ackumulation. Detta genom att immunförsvarets fagocyterande celler lär sig att känna igen antikroppen och kommer på så vis att attackera och bryta ned det antikroppen bundit till (Campbell *et al.* 2015). Resultatet av detta blir då förhoppningsvis en minskning av, i detta fall, amyloid-β. Idag förekommer en del forskning inom just detta område. Denna forskning, vars resultat kan jämföras med vad som gjorts med tau, kan ses ha stor potential.

Anti-$A\beta_{31\text{-}35}$ antikropp

Det finns olika sätt att angripa den extracellulära ackumuleringen av amyloid-β. Ett av dessa är att identifiera de reaktiva delarna av proteinet och behandla dem, specifikt, med antikroppar. Anti-$A\beta_{31\text{-}35}$ antikropp är en sådan. Den är designad till att binda till $A\beta_{31\text{-}35}$,

vilken är en specifik region på hela peptiden och har samma toxiska effekt som Aβ, vilken är inducering av apoptos. Denna antikropp producerades i hopp om att det skulle kunna binda till både syntetiskt och naturligt Aβ, eftersom den endast producerats för en liten del av hela molekylen. I tester utförda på Wistarråttor kunde det snabbt fastställas att antikroppen kunde binda med nästan samma affinitet till hela molekylen såväl som till den lilla sekvens den var designad för från början. För att därefter se vilken inverkan antikroppen har på celler uppmättes mängden utsläppt lactasdehydrogenas (LDH), det ämne som frisläpps när en cell dör, vid närvaron av endast hela Aβ-molekylen. Som väntat var koncentrationen LDH hög, eftersom cellerna dör av aggregerande amyloid-β, och resulterar på detta vis i minskad spatial förmåga. Dock, när antikroppen tillsattes kunde man se, i respons på dosens storlek, att mängden LDH minskade, vilket antyder att antalet celler som överlevde hade ökat. Vid tillsats av 20 µM antikropp var cellernas överlevnad nästan 100 % (98,5 ± 4,1 %), vilket starkt tyder på att den nästan fullt inhiberar den toxiska effekten hos Aβ. Något intressant värt att nämna är att en förbehandling av anti-$A\beta_{31-35}$ gav upphov till en minskad respons på senare tillsats av den fulla Aβ-molekylen. Den kunde, vid högre koncentrationer (0,05–0,5 nmol), nästan fullt återställa den undertryckande effekten Aβ har på minnesbildning (LTP) (Cheng *et al.* 2017).

Aducanumab
Aducanumab är en annan typ av antikropp vars effekter man idag studerar för att reducera ansamlingar av Aβ. Detta är en av få studier som utförts på människor diagnostiserade med Alzheimers sjukdom. Denna antikropp finns i två typer: aducanumab och analogen ^{ch}aducanumab. Den sistnämnde påvisades kunna reducera mängden Aβ i homogeniserad hjärna med 50 % men kunde inte binda till Aβ-monomerer. Dock kunde antikroppen känna igen och binda till fläckar av varierande storlekar och minska deras storlek, där effektiviteten berodde på mängden antikropp tillsatt. Varken analogen eller aducanumab kunde binda till monomerer av Aβ i koncentrationer mindre än 1 µM, vilket antyder att de är selektiva för stora, aggregerade mängder av peptiden. Efter tillsats av antikropparna har observationer av ökad rekrytering av mikroglia gjorts. Dessa har då börjat omsluta delar av kärnan hos klustren av Aβ och på så vis börjat bryta ned dem. I och med att tillsats av antikroppen har, över en tolv månaders period, påvisat en reduktion av fläckar i jämförelse med kontrollgruppen som inte uppvisat någon skillnad, finns det hopp för denna antikropp. Efter 6 månaders behandling kunde en tydlig minskning av fläckar observeras, och efter 12 månader kunde även återställandet av kognitiv förmåga antydas (Sevigny *et al.* 2016).

Stamcellsbehandlingar

I en organism finns det flera olika typer av celler, från hudceller till hjärnceller. Dessa uppkommer från en speciell celltyp – stamceller. Denna typ av cell har förmågan att dela sig och differentiera till vilken sorts celltyp som helst. Det är på grund av detta som stamceller är av stort intresse inom forskning om degenerativa sjukdomar eftersom man hoppas att de kommer kunna ersätta de redan befintliga, sjuka och döende neuronerna.

På grund av säkerhet testas ofta inte stamcellsodlingar idag direkt i människor, utan oftast i möss för att se hur organismen svarar på behandlingen. Detta görs genom att man extraherar mänskliga stamceller från foster eller ryggmärg varefter de odlas i tillväxtmedium för att öka i antal och differentiera till önskad celltyp. Därefter injiceras cellerna i försöksdjuret varpå de spåras för att se hur behandlingen mottages. Eftersom cellerna kommer att uttrycka mänskliga protein är det relativt lätt att återfinna dem genom att märka dem med antikroppar (Vescovi *et al.* 1999). I och med att stamceller kan differentiera till alla typer av celler är

detta förhoppningsvis ett nytt sätt att behandla Alzheimers på.

Stamceller från mänsklig navelsträng ger förbättrad kognition
I försök att återställa kognition hos transgena möss uttryckande symptom hos Alzheimers har intravenös injicering av mänskliga stamceller från navelsträngar testats. Baserat på tidigare studier av Kim *et al.* (2012) där man uppmätt en minskning av aggregerande amyloid-β, var förväntningarna att samma resultat skulle uppnås även i denna studie. Även om en minskning kunde observeras i hippocampus tillsammans med förbättrad kognition var dock skillnaden inte signifikant mot kontrollen. Detta antydde att stamcellerna verkade genom en annan mekanism än minskning av Aβ (Cui *et al.* 2017).

Parallellt undersöktes mängden oxiderande ämnen, eftersom oxidativ stress påverkar produktionen av neurofibrillära nystan och Aβ ackumulering. Ett av de ämnen som undersöktes var malonaldehyd (MDA). Detta oxiderande ämne uppmättes i en lägre nivå efter tillsats av stamceller, och indikerar på så vis att den oxidativa stressen i hippocampus minskar. Man observerade även att antalet nya neuroner och deras överlevnad ökade i jämförelse med vildtypen. Nya celler kunde ses hårt packade främst i hippocampus hos de transgena mössen vilka blivit injicerade med stamcellerna, vilket indikerar att stamcellerna orsakar generering och proliferering av nya neuroner. I denna undersökning kunde man även se att gener såsom *Sirt1*, *BDNF* och *SYN*, associerade med faktorer som skyddar neuroner fick ett ökat uttryck. Detta tros kunna ha en effekt speciellt på synapsernas roll i den återställda kognitionen (Cui *et al.* 2017).

Oligopotenta endotelceller från benmärg minskar mängden amyloid-β och tau
Extraktionen av benmärg är ett relativt enkelt sätt att införskaffa ej differentierade celler på. Det har även visat sig att oligopotenta endotelceller framtagna på detta vis kan hjälpa att lindra sjukdomsförloppet hos individer diagnostiserade med Alzheimers. I försök gjorda med råttor, där de inducerats med scopolamin (SCO), har positiva resultat producerats. SCO är ett ämne vilket orsakar svårigheter med inlärning genom blockering av cellsignalering via acetylkolin. Det orsakar även en ökad produktion av amyloid-β, APP och även hyperfosforylerat tau. I dessa försök har man därefter intravenöst injicerat råttor med dessa celler och redan efter 38 dagar kunde de tydligt observeras i hjärnan. Råttornas förmåga att känna igen och minnas vägar igenom labyrinter förbättrades påtagligt efter denna behandling.

För att undersöka vad som orsakade denna skillnad tittade man först på den vanligaste orsaken till sjukdomen: amyloid-β. En minskad ansamling av proteinet kunde observeras i hippocampus, med en antydan om att tillsatsen av endotelcellerna hade någon form av inverkan. En potentiell förklaring till den minskade mängden Aβ är en uppreglering av genen för det protein som degraderar det skadliga proteinet – neprilysin. En ökad koncentration av detta enzym skulle sannolikt minska mängden Aβ, och eftersom detta även sågs i denna undersökning är det en trolig slutsats att dra. Observationer gjordes även av en minskning av hyperfosforylerat tau och inhibering av ett protein som vanligtvis fosforylerar tau: GSK-3β. En inhibering av detta protein skulle resultera i en mindre mängd hyperfosforylerat tau, och på så vis en minskning av neurofibrillära nystan (Safar *et al.* 2016).

Neurala stamceller förbättrar kognition, men minskar inte mängden amyloid-β
Från hjärnorna hos mänskliga foster kan man extrahera neurala stamceller vilka man senare kan odla och använda till studier av, i detta fall, Alzheimers. Dessa celler kan därefter injiceras in i CA1-regionen i hippocampus i transgena möss med mutationer i genen för APP. Sex veckor efter en sådan transplantation kunde det fastställas att stamcellerna hade migrerat,

differentierat och mognat till celltyper tillhörande det centrala nervsystemet. I denna studie undersöktes främst förmågan till att skapa nya minnen genom att låta mössen genomgå ”Morris Water Maze”. I detta försök kunde de behandlade mössen hitta platån på tider jämbördiga med vildtypsmössen, vilket antyder att stamcellerna positivt påverkat kognitionsförmågan.

Mängden av två typer av amyloid-β uppmättes för att se huruvida stamcellerna även hade en inverkan där. Mängden löslig Aβ hade en signifikant minskning i jämförelse med kontrollen, vilken i det här fallet var transgena men obehandlade möss. Dock var det inte en signifikant skillnad gällande olöslig Aβ mellan de behandlade mössen och vildtypen, vilket antyder att även om mängden Aβ minskar är det inte tillräckligt för att normalisera mängden i de sjuka mössen. Detta kunde även observeras i mängden Aβ-fläckar, då det var en minskning mellan kontrollen och behandlade möss, men inte en signifikant skillnad mellan behandlade möss och vildtypsmöss.

Tillsammans med dessa resultat sågs det även att synapserna i sig påverkades av närvaron av stamcellerna. Synapserna påvisades ha en högre densitet och även en markant förbättrad form i jämförelse med kontrollen. Den inverkan stamcellerna hade på synapserna kunde liknas vid synapser hos friska möss, vilket skulle påvisa en förbättrad signaleringsväg mellan neuroner i hippocampus (Li *et al.* 2016).

Diskussion

Syftet med denna översiktsartikel är främst att jämföra två olika behandlingar – antikroppar kontra stamceller – i relation till hur de påverkar de två primära orsakerna till Alzheimers: neurofibrillära nystan och amyloid-β-fläckar. De tidigare nämnda mekanismerna – aggregering av hyperfosforylerade tau-protein och Aβ – ligger till grund för hur man väljer att gå tillväga gällande respektive behandlingstyp. Även om det inte är helt säkert om det endast är dessa två som orsakar sjukdomen finns det onekligen bevis för att de är starkt inblandade. Detta med tanke på att det är just nystan och fläckar som observerats i individer som, post mortem, har obducerats för att se hur deras hjärnor förhållit sig till friska hjärnor (Strassnig & Ganguli 2005). Eftersom det på senare tid även gjorts studier på dessa spekulerade bakomliggande mekanismer, såsom tidigare nämnda DAPK1, med ett resultat av bildandet av symptom observerade i Alzheimers bör de kunna ligga till grund för forskning inom genererandet av botemedel (Kim *et al.* 2014).

Få antikroppsundersökningar görs i människor

Det finns nästintill inga publicerade studier som har testat vaccin mot Alzheimers i människor. Dock finns det studier vars resultat lett fram till att vaccinet ska påbörja kliniska tester i människor. Ett sådant, en monoklonal antikropp med namnet DC8E8, har påvisats reducera mängden hyperfosforylerat tau-protein i möss. Vaccinet har även klarat sig igenom toxikologiska analyser, vilket resulterat i grönt ljus för test i människor (Kontsekova *et al.* 2014). Detta gör att det, förhoppningsvis, inom kort kommer att finnas en stor marknad inom antikroppsbehandlingar, med tanke på att det finns oerhört många studier uppvisande lovande resultat, såsom de studier som omnämnts i denna översiktsartikel.

Aducanumab är en av de få behandlingarna mot Alzheimers vars effekt testats i människor. Av de försökspersoner som medverkade i försöket förekom visserligen två dödsfall, dock var dessa inte relaterade till försöket i sig, vilket gör att studien bör kunna ses som framgångsrikt. Detta även på grund av att antikroppen lyckades minska mängden Aβ och via det återställa

kognition hos samtliga medverkande i försöket (Sevigny *et al.* 2016). Det finns alltid risker med att testa nya läkemedel, och dessa är att de inte gör det de ska göra eller att de gör mer än det de ska göra. I fall med antikroppar mot just amyloid-β finns det en viss risk att antikropparna inte bara binder till det skadliga proteinet. Risken kan vara att det binder till de ofarliga och normalt förekommande amyloid prekursorproteinerna och tar bort deras förekomst helt, vilket i sig vore skadligt (Cheng *et al.* 2017). Dock kunde detta inte observeras i fallet med aducanumab, vilket gör att det är ett läkemedel mot Alzheimers med en lovande prognos.

Stamcellsbehandlingar som ett nytt område ger få kliniska testmöjligheter
Idag finns få studier gällande stamcellers inverkan på människor. Majoriteten av studierna som utförs idag är på modellorganismen musen. Man använder möss just för att de beteendemässigt sett är väldigt lika människor, med fokus på sömn och matvanor. Just eftersom man använder främst möss vid forskning för botemedel mot Alzheimers med lovande resultat bör man förmodligen vara vaksam. Detta eftersom det inte finns en garanti för att läkemedlet fungerar i människor bara för att det ger resultat i möss. Detta även för att sjukdomen induceras i mössen via kemikalier eller mutationer, vilket medför risken att de påverkas på ett annat sätt än vad en mänsklig individ med äkta Alzheimers skulle göra. En människa injicerad med stamceller kanske resulterar i en annan respons än en mus. Många studier som omnämnts i denna översiktsartikel tar upp hur lovande deras resultat är, baserade på deras observationer hos försöksdjur. Detta bör så småningom leda till kliniska försök på människor för att se hur tekniken kommer att fungera i den organism den är tillämpad för.

Behandling med antikroppar kontra stamceller
För att kunna jämföra de två behandlingstyper som omnämnts är det allra viktigaste att titta på hur respektive behandling potentiellt oväntat kan påverka organismen den administreras till. Majoriteten av osäkerheterna ligger främst hos stamcellsbehandlingarna, eftersom det är en relativt ny typ av behandling i jämförelse med antikroppar. Antikroppar är ett frekvent och naturligt förekommande sätt att hantera ovälkomna substanser i en organism och ger på så vis en mer säker bild av vilka typer av bieffekter som kan uppkomma. Tidigare nämndes en potentiell bieffekt i form av att antikroppar eventuellt kan binda till oönskade mål i organismen och på så vis skapa en underskattad respons hos immunförsvaret. Detta i formen av att antikroppen binder till även den ofarliga formen av tau, eller APP, vilket skulle orsaka andra typer av problem hos cellerna när fagocyterande celler bryter ned även de ofarliga och normalt förekommande proteinerna (Cheng *et al.* 2017).

På ett sätt är stamceller även naturligt förekommande i organismer, dock ej i vuxna individer, vilket gör att oväntade responser eventuellt kan uppkomma vid tillsats av stamceller. Eftersom stamcellsbehandlingar är ett relativt nytt område finns det för närvarande inga långsiktiga studier på hur en individ reagerar på behandlingen längre fram. På grund av att stamceller har en viss förmåga att motstå apoptos och att dela sig fler gånger än vanliga celler kan, finns det en risk som inte går att förneka att tillsatsen av stamceller kan få bieffekter. Det finns kortsiktiga studier där man efter tillsats av stamceller insamlade från benmärg observerat bildningen av cancer. Detta har dock inte stöd från långsiktiga studier eftersom detta är ett nytt område, och det spekuleras i att cancerbildningen möjligtvis redan var närvarande vid tillsatsen av stamcellerna och att den endast fick möjligheten att fullt manifestera på grund av nedsatt immunförsvar (Li *et al.* 2006).

Förmågan hos en av de primära orsakerna till Alzheimers – hyperfosforylerat tau – att migrera mellan celler fysiskt länkade till varandra är oroväckande. Det har spekulerats kring att detta

händer på grund av att tau tagits upp av exosomer, vilka i sin tur absorberats av mikrogliaceller, med resultatet att tau kan spridas vidare till andra regioner av hjärnan (Maphis *et al.* 2015). Detta skulle eventuellt kunna ge upphov till att de nyligen tillsatta och differentierade stamcellerna, vilka ersatt de döda neuronerna, blir smittade via denna migration. En sådan händelse skulle på så vis potentiellt kunna leda till att symptomen hos sjukdomen återkommer efter en viss passerad tid.

Att sammanställa allt detta i en enda slutsats är svårt. Detta eftersom det finns stor potential hos båda sorters behandlingar, vissa mer beprövade än andra. Det som gör att de faller väldigt lika är att det inte finns många studier gjorda i människor, vilket leder till att vi för närvarande inte vet fullt ut hur en människa reagerar på endera behandlingen. Dock finns det, baserat på vad vi vet idag, mer kunskap inom produktionen och användandet av antikroppar. Detta gör att det troligast kan komma en testad och fungerande behandling mot sjukdomen via antikroppar innan det kommer en behandling baserad på stamceller. Vi vet dock att båda typer av behandling resulterat i lovande data hos försöksdjur, vilket ger stort hopp för att framtiden inom kort kommer att ha ett, eller kanske till och med flera behandlingar mot denna degenerativa sjukdom känd som Alzheimers.

Tack

Jag vill tacka min handledare, Elena Jazin och min studiekamrat Johanna Hedin för goda råd berörande revideringen av mitt arbete.

Referenser

American Psychiatric Association. 2013. Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-5, 5th ed. s. 621. American Psychiatric Association, Washington, D.C.

American Psychiatric Association (red). 1998. Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-IV; includes ICD-9-CM codes effective 1. Oct. 96, 4. ed., 7. print. s. 142-143. Washington, DC.

Bignante EA, Heredia F, Morfini G, Lorenzo A. 2013. Amyloid beta precursor protein as a molecular target for amyloid beta-induced neuronal degeneration in Alzheimer's disease. Neurobiology of Aging **34**: 2525–2537.

Butterfield DA, Drake J, Pocernich C, Castegna A. 2001. Evidence of oxidative damage in Alzheimer's disease brain: central role for amyloid beta-peptide. Trends in Molecular Medicine **7**: 548–554.

Butterfield DA, Kanski J. 2001. Brain protein oxidation in age-related neurodegenerative disorders that are associated with aggregated proteins. Mechanisms of Ageing and Development **122**: 945–962.

Campbell NA, Reece JB, Urry LA, Cain ML, Wasserman SA, Minorsky PV, Jackson RB. 2015. Biology: A Global Approach, 10:e uppl. s. 1110-1111. Pearson, Harlow, England.

Chen C-H, Li W, Sultana R, You M-H, Kondo A, Shahpasand K, Kim BM, Luo M-L, Nechama M, Lin Y-M, Yao Y, Lee TH, Zhou XZ, Swomley AM, Butterfield DA, Zhang Y, Lu KP. 2015. Pin1 cysteine-113 oxidation inhibits its catalytic activity and cellular function in Alzheimer's disease. Neurobiology of Disease **76**: 13–23.

Cheng L, Zhang J, Li X-Y, Yuan L, Pan Y-F, Chen X-R, Gao T-M, Qiao J-T, Qi J-S. 2017. A novel antibody targeting sequence 31-35 in amyloid protein attenuates Alzheimer's disease-related neuronal damage. Hippocampus **27**: 122–133.

Cooper GM, Hausman RE. 2013. The Cell: A Molecular Approach, 6:e uppl. s. 132-133. Sinauer Associates, Inc, Sunderland, Massachusetts, USA.

Cui Y, Ma S, Zhang C, Cao W, Liu M, Li D, Lv P, Xing Q, Qu R, Yao N, Yang B, Guan F. 2017. Human umbilical cord mesenchymal stem cells transplantation improves cognitive function in Alzheimer's disease mice by decreasing oxidative stress and promoting hippocampal neurogenesis. Behavioural Brain Research **320**: 291–301.

Dai CL, Tung YC, Liu F, Gong C-X, Iqbal K. 2017. Tau passive immunization inhibits not only tau but also A beta pathology. Alzheimers Research & Therapy **9**: 1–16.

Demensförbundet. 2017. Alzheimers sjukdom - Om symtom & förlopp - Demensförbundet. WWW-dokument 2017-: http://www.demensforbundet.se/sv/om-demens/demenssjukdomar/alzheimers-sjukdom/?gclid=CjwKCAjw3KDIBRAzEiwAQ6jiuwEa__jA0oDiqP-8DMN1KdrYGROLwlcoI5Bv7wIS2oRnWM4upCG-WxoCE68QAvD_BwE. Hämtad 2017-05-02.

Driver JA, Zhou XZ, Lu KP. 2015. Pin1 dysregulation helps to explain the inverse association between cancer and Alzheimer's disease. Biochimica Et Biophysica Acta-General Subjects **1850**: 2069–2076.

Han S, Kollmer M, Markx D, Claus S, Walther P, Faendrich M. 2017. Amyloid plaque structure and cell surface interactions of beta-amyloid fibrils revealed by electron tomography. Scientific Reports **7**: 1–18.

Kim BM, You M-H, Chen C-H, Lee S, Hong Y, Hong Y, Kimchi A, Zhou XZ, Lee TH. 2014. Death-associated protein kinase 1 has a critical role in aberrant tau protein regulation and function. Cell Death & Disease **5**: e1237.

Kim S, Chang K-A, Kim J a, Park H-G, Ra JC, Kim H-S, Suh Y-H. 2012. The preventive and therapeutic effects of intravenous human adipose-derived stem cells in Alzheimer's disease mice. PloS One **7**: 1–17.

Kontsekova E, Zilka N, Kovacech B, Novak P, Novak M. 2014. First-in-man tau vaccine targeting structural determinants essential for pathological tau-tau interaction reduces tau oligomerisation and neurofibrillary degeneration in an Alzheimer's disease model. Alzheimers Research & Therapy **6**: 1-12.

Lesne SE, Sherman MA, Grant M, Kuskowski M, Schneider JA, Bennett DA, Ashe KH. 2013. Brain amyloid-beta oligomers in ageing and Alzheimer's disease. Brain **136**: 1383–1398.

Li H-C, Stoicov C, Rogers AB, Houghton J. 2006. Stem cells and cancer: Evidence for bone marrow stem cells in epithelial cancers. World Journal of Gastroenterology **12**: 363–371.

Li X, Zhu H, Sun X, Zuo F, Lei J, Wang Z, Bao X, Wang R. 2016. Human Neural Stem Cell Transplantation Rescues Cognitive Defects in APP/PS1 Model of Alzheimer's Disease by

Enhancing Neuronal Connectivity and Metabolic Activity. Frontiers in Aging Neuroscience **8**: 282.

Lin C-H, Li H-Y, Lee Y-C, Calkins MJ, Lee K-H, Yang C-N, Lu P-J. 2015. Landscape of Pin1 in the cell cycle. Experimental Biology and Medicine **240**: 403–408.

Maphis N, Xu G, Kokiko-Cochran ON, Jiang S, Cardona A, Ransohoff RM, Lamb BT, Bhaskar K. 2015. Reactive microglia drive tau pathology and contribute to the spreading of pathological tau in the brain. Brain **138**: 1738–1755.

Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, Hall WC, LaMantia A-S, McNamara JO, Mooney RD, Platt ML, Simon SA, White LE. Neuroscience, 5:e uppl. s. 706, 713. Sinauer Associates, Inc, Sunderland, Massachusetts, USA.

Rajmohan R, Reddy PH. 2016. Amyloid-Beta and Phosphorylated Tau Accumulations Cause Abnormalities at Synapses of Alzheimer's disease Neurons. Journal of Alzheimer's Disease Preprint: 1–25.

Safar MM, Arab HH, Rizk SM, El-Maraghy SA. 2016. Bone Marrow-Derived Endothelial Progenitor Cells Protect Against Scopolamine-Induced Alzheimer-Like Pathological Aberrations. Molecular Neurobiology **53**: 1403–1418.

Sevigny J, Chiao P, Bussière T, Weinreb PH, Williams L, Maier M, Dunstan R, Salloway S, Chen T, Ling Y, O'Gorman J, Qian F, Arastu M, Li M, Chollate S, Brennan MS, Quintero-Monzon O, Scannevin RH, Arnold HM, Engber T, Rhodes K, Ferrero J, Hang Y, Mikulskis A, Grimm J, Hock C, Nitsch RM, Sandrock A. 2016. The antibody aducanumab reduces Aβ plaques in Alzheimer's disease. Nature **537**: 50–56.

Strassnig M, Ganguli M. 2005. About a Peculiar Disease of the Cerebral Cortex. Psychiatry (Edgmont) **2**: 30–33.

Subramanian S, Savanur G, Madhavadas S. 2017. Passive immunization targeting the N-terminal region of phosphorylated tau (residues 68-71) improves spatial memory in okadaic acid induced tauopathy model rats. Biochemical and Biophysical Research Communications **483**: 585–589.

Sultana R, Boyd-Kimball D, Poon HF, Cai J, Pierce WM, Klein JB, Markesbery WR, Zhou XZ, Lu KP, Butterfield DA. 2006. Oxidative modification and down-regulation of Pin1 in Alzheimer's disease hippocampus: A redox proteomics analysis. Neurobiology of Aging **27**: 918–925.

Takashima A. 2009. Amyloid-β, Tau, and Dementia. Journal of Alzheimer's Disease **17**: 729–736.

Theunis C, Adolfsson O, Crespo-Biel N, Piorkowska K, Pihlgren M, Hickman DT, Gafner V, Borghgraef P, Devijver H, Pfeifer A, Van Leuven F, Muhs A. 2017. Novel Phospho-Tau Monoclonal Antibody Generated Using a Liposomal Vaccine, with Enhanced Recognition of a Conformational Tauopathy Epitope. Journal of Alzheimers Disease **56**: 585–599.

Vescovi AL, Parati EA, Gritti A, Poulin P, Ferrario M, Wanke E, Frolichsthal-Schoeller P, Cova L, Arcellana-Panlilio M, Colombo A, Galli R. 1999. Isolation and cloning of multipotential stem cells from the embryonic human CNS and establishment of

transplantable human neural stem cell lines by epigenetic stimulation. Experimental Neurology **156**: 71–83.

Zhu XW, Mei M, Lee HG, Wang Y, Han JH, Perry G, Smith MA. 2005. P38 activation mediates amyloid-beta cytotoxicity. Neurochemical Research **30**: 791–796.

Zhu XW, Rottkamp CA, Boux H, Takeda A, Perry G, Smith MA. 2000. Activation of p38 kinase links tau phosphorylation, oxidative stress, and cell cycle-related events in Alzheimer disease. Journal of Neuropathology and Experimental Neurology **59**: 880–888.

Framtiden för behandlingar av Alzheimers sjukdom: etisk bilaga

Susanna Granström

Självständigt arbete i biologi 2017

Är det etiskt försvarbart att använda djurmodeller vid sjukdomsstudier?

Vid studier av sjukdomar som drabbar stora mängder människor är det mycket vanligt att man använder sig av djur för att studera hur dessa uppkommer och även hur de bör behandlas. Alzheimers sjukdom är en sådan. Vid studier av denna sjukdom inducerar man symptom, antingen genetiskt eller med hjälp av kemikalier, i möss, vilka sedan blir behandlade med substanser man tror kan lindra symptomen. Detta för att sedan kunna användas till att bota sjuka människor. När detta sker är det viktigt att ställa frågan: är det etiskt rätt att använda försöksdjur vid sjukdomsstudier?

Vad talar emot användandet av försöksdjur?

När det pratas om djurförsök är den första tanken hos många smärtan hos djuret som används i studien. Med smärta kan man tänka sig de fysiska ingreppen som utförs på djuren, men det finns även en annan vinkel på begreppet smärta. Denna vinkel är mycket framträdande vid studier av Alzheimers, där man introducerar mutationer hos djuret, vilket leder till att det utvecklar symptom för sjukdomen. Dessa symptom, vilka orsakar stora svårigheter med inlärning hos djuren, resulterar i en starkt negativ inverkan på djurens livskvalitet och de framträder redan vid några få månaders ålder. När symptomen uttrycks kommer diverse droger att administreras för att forskare ska veta hur de påverkar sjukdomsförloppet och även djuret i sig; vilka typer av sidoeffekter som uppkommer. Efter testperioder av behandling dödas ofta djuret för att göra det möjligt att studera hur hjärnan har reagerat på behandlingen. Är detta hur en organism, som är ett resultat av miljoner år av evolutionstryck, ska sluta sitt liv? Ska de behöva ge sina liv på ett sådant, till synes onödigt, sätt för att en annan art ska kunna frodas till ett överflöd som negativt påverkar allt annat liv på planeten?

Något som är viktigt att ha i åtanke gällande djurförsök är var gränsen dras för vad som räknas som ett godtyckligt djur att använda. För inte alltför länge sedan användes katter i studier gällande hur hjärnan fungerar. Idag ses detta som något otänkbart och visar starkt på att gränsen mellan försöksdjur och sällskapsdjur är tunn och snabbt kan ändras.

Vad talar för användandet av försöksdjur?

Vid sjukdomsstudier finns det mycket som talar för användandet av djurmodeller, eftersom det finns mycket att lära sig från att studera hur djuren reagerar på olika komponenter och behandlingar. Allt detta kan vi lära oss utan att utsätta människors liv för fara, i hoppet om att kunna rädda sjuka människor. Genom att använda denna typ av metod kan vi ta fram läkemedel för sjukdomar som idag drabbar många människor, sjukdomar som Alzheimers. Genom denna typ av forskning kan vi idag framställa vacciner och även andra typer av läkemedel vilka bidrar till att mänskligheten inte behöver förlora så många individer till onödiga sjukdomar.

Djurförsök tillåtet på grund av mänsklig egoism eller evolutionär fördel?

Är dessa nämnda argument hållbara? Med den kunskap som erhålls från studier på djurmodeller räddas mänskliga liv, på bekostnad av djurets liv. Detta är inget man kan bortse ifrån, vilket gör att det inte går att komma ifrån att dessa argument, både förespråkande och motsägande, alltid kommer att finnas.

Idag är det tillåtet att utföra djurförsök i den mån att forskarna har fått godkännande och att djuren åsamkas så lite onödig smärta som möjligt. Men, smärta är ändå smärta. Vad är det som ger människan rätten att manipulera andra organismer på detta sätt? Kan det relateras till Darwins ”survival of the fittest”? Genom att göra detta kan man påstå att det är för artens bästa att utföra dessa studier som ett sätt att säkra dess överlevnad. Men är det för artens bästa att frodas till ett överflöd som i slutänden kommer att orsaka problem i form av överpopulation och förstörelse av alla organismers habitat? Människan har utsett sig själv som den mest innovativa och intelligenta arten på planeten och anser på grund av det att vi förtjänar att leva mer än vad andra organismer gör. Gör det verkligen att vi har rätten att utnyttja andra levande varelser på de sätt vi idag gör? Enligt de argument jag har framlagt kan det verka som att det finns fler argument emot djurförsök än för. Dock, eftersom det är tillåtet att använda djurmodeller måste de få argument som talar för, väga tyngre. Detta troligen för att människan helst ser till sitt eget välbefinnande före andras.