

Poremećaji funkcije mitohondrija u Alzheimerovoj bolesti

Kola, Ivan

Master's thesis / Diplomski rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:721979>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-24**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Ivan Kola

**Poremećaji funkcije mitohondrija u
Alzheimerovoj bolesti**

DIPLOMSKI RAD



Zagreb, 2022.

Diplomski je rad izrađen na Katedri za farmakologiju Medicinskoga fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom izv. prof. Jelene Osmanović Barilar i predan je na ocjenjivanje u akademskoj godini 2021./2022.

Popis kratica

MCI (engl. *mild cognitive impairment*) – blagi kognitivni poremećaj

PET – pozitronska emisijska tomografija

FDG-PET – fluorodeoksiglukoza-pozitronska emisijska tomografija

A β – amiloid beta

APP – amiloidni prekursorski protein

PSEN1/PS1 – presenilin 1

PSEN2/PS2 – presenilin 2

APOE – apolipoprotein E

fMRI – funkcionalna magnetska rezonancija

cGMP – ciklički gvanozin monofosfat

GTP – gvanozin trifosfat

NADH – nikotinamid adenin dinukleotid

FADH₂ – flavin adenin dinukleotid

kB – kilobaza

Pfkfb3 (engl. *6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-biphosphatase 3*) – 6-fosfofrukto-2-kinaza/fruktoza-2,6-bifosfataza 3

ATP – adenin trifosfat

ADP – adenin difosfat

DNA (engl. *deoxyribonucleic acid*) – deksiribonukleinska kiselina

Mt - mitohondrijski

MERC (engl. *mitochondria-ER contact*) – mjesto kontakta između mitohondrija i endoplazmatskoga retikuluma

MAM (engl. *mitochondria-associated membranes*) – membrane vezane uz mitohondrije

PDH – piruvat dehidrogenaza

PDK – piruvat dehidrogenaza kinaza

ICDH – izocitrat dehidrogenaza

KGDHC (engl. *alpha-ketoglutarate dehydrogenase complex*) – alfa-ketoglutarat dehidrogenaza kompleks

SDH – sukcinat dehidrogenaza

MDH – malat dehidrogenaza

COX (engl. *cytochrome c oxidase*) – citokrom c oksidaza

HNE – 4-hidroksinonenal/4-hidroksi-2-nonal

NMDA – N-metil D-aspartat

GLT – glutamatni transporter

LDH – laktat dehidrogenaza

MCT – monokarboksilatni transporter

nNOS – neuralna sintaza dušičnog oksida

HIF (engl. *hypoxia-inducible factor*) - hipoksijom inducirani čimbenik

AICD (engl. *the amyloid precursor protein intracellular domain*) – intracelularna domena amiloid prekursornog proteina

CaMK (engl. *Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase*) – protein kinaza ovisna o Ca²⁺/kalmodulinu

GSK3 β – glikogen sintaza kinaza 3 β

Ub – ubikvitin

HRE (engl. *Hypoxia-Response Element*) – element odgovora na hipoksiju

TOM (engl. *translocase of the outer membrane*) – translokaza vanjske membrane

TIM (engl. *translocase of the inner membrane*) – translokaza unutarnje membrane

MCU (engl. *mitochondrial calcium uniporter*) – mitohondrijski uniporter kalcija

MDV (engl. *Mitochondrial-Derived Vesicles*) – vezikule nastale od mitohondrija

MDC (engl. *Mitochondrial-Derived Compartment*) – odjeljci nastali od mitohondrija

MICOS (engl. *mitochondrial contact site and cristae organizing system*) - proteinski kompleks sustava za organiziranje krista mitohondrijskog mjesta kontakta

PPAR – peroksisomski proliferatorom aktivirani receptor

TPP – tiamin pirofosfat/difosfat

CoA/CoASH (engl. *coenzyme A*) – koenzim A

Sadržaj

Sažetak

Summary

1. Uvod.....	1
2. Metabolizam stanica mozga.....	3
3. Struktura i funkcija mitohondrija.....	7
4. Mitohondrijska disfunkcija u Alzheimerovoj bolesti.....	19
4.1. Hipoenergoza i hipometabolizam u sklopu Alzheimerove bolesti.....	20
4.2. Poremećaji mitohondrijske bioenergetike.....	21
4.3. Povišenje oksidativnog stresa.....	22
4.4. Poremećaji homeostaze mitohondrijskoga genoma.....	23
4.5. Promjene u mitohondrijskoj dinamici.....	24
4.6. Promjene aksonalnog transporta i preraspodjele mitohondrija.....	25
4.7. Promjene u mitohondrijskoj biogenezi.....	26
4.8. Poremećaji u interakciji s endoplazmatskim retikulumom.....	27
4.9. Poremećaji mitofagije.....	28
4.10. Promjene mitohondrijske proteostaze.....	30
5. Zaključak.....	32
6. Zahvale.....	33
7. Literatura.....	34
8. Životopis.....	45

Sažetak

Poremećaji funkcije mitohondrija u Alzheimerovoj bolesti

Ivan Kola

Alzheimerova je bolest neurodegenerativna bolest rastuće prevalencije bez učinkovite terapije i nerazjašnjene patogeneze. Postoje dva pogleda na etiologiju i patogenezu, a to su amiloidna i mitohondrijska kaskadna hipoteza. Hipoenergoza i poremećaji metabolizma rani su nalaz i javljaju se godinama prije kliničkog razvitka bolesti što smješta mitohondrije u središte patogeneze kod obiju hipoteza. U suštini, narušena je funkcija metaboličkih enzima i oksidativne fosforilacije uz izmjenu strukture i ekspresije genoma te pogoršanje oksidativnog stresa. Navedeni poremećaji nisu izolirani, već si međusobno pojačavaju negativan učinak na funkciju mitohondrija i u konačnici neurona. Rastući je broj otkrivenih disfunkcija koja se javljaju u mitohondrijima dok nam fiziološka uloga mitohondrija i njihova važnost za normalno funkcioniranje stanica postaje jasnija. Otkrića normalnih i abnormalnih procesa u kojima mitohondriji sudjeluju međusobno se nadopunjuju i pružaju nam cjelovitiji uvid u problematiku te nam otvaraju nove mogućnosti intervencije i dijagnostike.

KLJUČNE RIJEČI: Alzheimerova bolest, mitohondriji, amiloidna kaskadna hipoteza, mitohondrijska kaskadna hipoteza, hipoenergoza, disfunkcija mitohondrija

Summary

Mitochondrial dysfunction in Alzheimer`s disease

Ivan Kola

Alzheimer`s disease is chronic, progressive neurodegenerative disease with increasing prevalence and without an effective treatment. Amyloid cascade hypothesis and mitochondrial cascade hypothesis are trying to explain the etiology and pathogenesis of the disease. Since it was found that hypoenergetics with accompanying hypometabolism are earliest findings which precede onset of clinically verifiable disease by years, dysfunctional mitochondria are thought to be key factors fueling the manifestation and progression of the disease. In a nutshell, activity of bioenergetic machinery is diminished and oxidative stress is increased in addition to structural changes of mtDNA and downregulated expression of its genes. All of these changes have negative impacts on each other while worsening the dysfunction of mitochondria and neurons. In addition to our better understanding of the underlying dysfunction, physiological functions are also being elucidated. Together, they give us hope that new and more effective treatments and diagnostic tests are going to be developed in the near future.

KEYWORDS: Alzheimer`s disease, mitochondria, amyloid cascade hypothesis, mitochondrial cascade hypothesis, hypoenergetics, mitochondrial dysfunction

1. Uvod

Alzheimerova bolest je progresivna neurodegenerativna bolest karakteriziran pojavom ekstracelularnih A β -plakova i intracelularnih neurofibrilarnih snopića. Tipično se dijagnosticira nakon 65-te godine kada se jave poremećaji u radnoj memoriji uz gubitak sjećanja na nedavne događaje iako se sama bolest javlja puno ranije. Rijetko se može manifestirati i kao kognitivni deficit bez zahvaćanja memorije. Postoji više varijanti tog neamnestičnog oblika poput vizualne varijante, logopenične i disegzekutivne varijante. Ove se varijante javljaju primarno kod mlađih pacijenata. S napredovanjem bolesti javljaju se deficiti i u govoru, vizuospacijalnom procesiranju i egzekutivnoj funkciji. Težina simptoma i njihov napredak različiti su među pacijentima. Osim ranih poremećaja u memoriji u samome početku bolesti pacijenti se znaju žaliti na subjektivno opadanje kognitivnih sposobnosti koje se u počecima ne mogu zamijetiti objektivnim kognitivnim testovima. U tim počecima bolest ne možemo zvati demencijom, već blagim kognitivnim poremećajem (MCI). Demencijom stanje počinjemo nazivati kad je kognitivni poremećaj dovoljno težak da utječe na svakodnevni život i kad osoba prestaje biti samostalna. Prije razvitka boljih kliničkih testova uz biomarkere u cerebrospinalnoj tekućini i markere za pozitronsku emisijsku tomografiju (PET), Alzheimerova se bolest smatrala kliničkopatološkim entitetom umjesto neurobiološkim stanjem kakvim se danas smatra (1–5). Mehanizam se kognitivnog propadanja primarno veže uz sinaptičku disfunkciju koja dovodi do gubitka neurona i integriteta neuralnih mreža. Obje prezentacije, neamnestička i amnestička, imaju A β depozite po cijelome mozgu, dok je proširenost neurofibrilnih snopića specifična za simptome koji se javljaju. Njezin se utjecaj na kognitivno propadanje nerijetko isprepliće s ostalim uzrocima demencije u starijoj dobi poput cerebrovaskularnih bolesti i drugih neurodegenerativnih bolesti (6,7). Glavni su rizični faktor za razvitak bolesti godine i nešto je veća prevalencija kod žena (8). Rijetko dominantne nasljedne mutacije u genima *APP*, *PSEN1* i *PSEN2* dovode do dominantno nasljednog oblika bolesti koji se javlja četrdesetak godina ranije od sporadičnog oblika (9). Kod sporadičnoga je oblika nađeno šestotinjak gena koji u većoj ili manjoj mjeri utječu na rizik od razvitka bolesti, a među njima su polimorfizmi u *APOE* genu najvažniji genetski rizični faktor (10). Postoji i nekoliko rizičnih faktora u srednjim godinama na koje se može utjecati poput metaboličkih faktora (diabetes mellitus, hipertenzija, pretilost i niske razine HDL kolesterola), gubitka sluha, traumatske ozljede glave i zlouporabe alkohola. Rizični su faktori u starijoj životnoj dobi pušenje, depresija, niska razina tjelesne aktivnosti, društvena izolacija, diabetes mellitus i zagađenost zraka. U ovoj dobi se depresija, niska razina tjelesne aktivnosti i društvena izolacija mogu isprepletati i s ranim simptomima bolesti (11,12). Od navedenih su rizičnih faktora najznačajniji hipertenzija i diabetes

mellitus u srednjim, ali i u starijim godinama života zbog njihove uloge u nastanku aterosklerotskih i arteriosklerotskih cerebrovaskularnih bolesti koje podržavaju patogenezu i manifestaciju Alzheimerove bolesti (13–15).

Nijedna od danas dostupnih terapija ne dovodi do izlječenja bolesti te ima vrlo mali utjecaj na usporavanja progresije bolesti. Uz to, incidencija i prevalencija rastu starenjem stanovništva što stvara velik socijalni i ekonomski teret. Novija istraživanja upućuju na to da se poremećaj u funkciji mitohondrija javljaju u samim počecima bolesti, prije odlaganja A β -plakova i stvaranja neurofibrilarnih snopića. Bolje razumijevanje mehanizama koji dovode do disfunkcije mitohondrija te razumijevanje međuovisnosti njihove disfunkcije s ostatkom pronađenih patoloških supstrata bolesti omogućit će otkrivanje učinkovitije terapije i dijagnostike.

2. Metabolizam stanica mozga

Metabolizam se stanica mozga može drastično mijenjati u ovisnosti o aktivnosti neurona podržavajući fiziološke procese u njima. Promjene su metabolizma dinamične i neophodne za normalnu kognitivnu funkciju te plastičnost mozga. Dovode do promjena u oksidativnom stanju stanica i induciraju aktivnost transkripcijskih senzora oksidativnog stresa. Bitno je razumijevanje uloge metabolizma i gena reguliranih metaboličkim stanjem u funkciji neurona jer nam mogu razjasnit kako u bolestima kod kojih je metabolizam neurona zahvaćen dolazi do poremećaja kognitivnih funkcija (16).

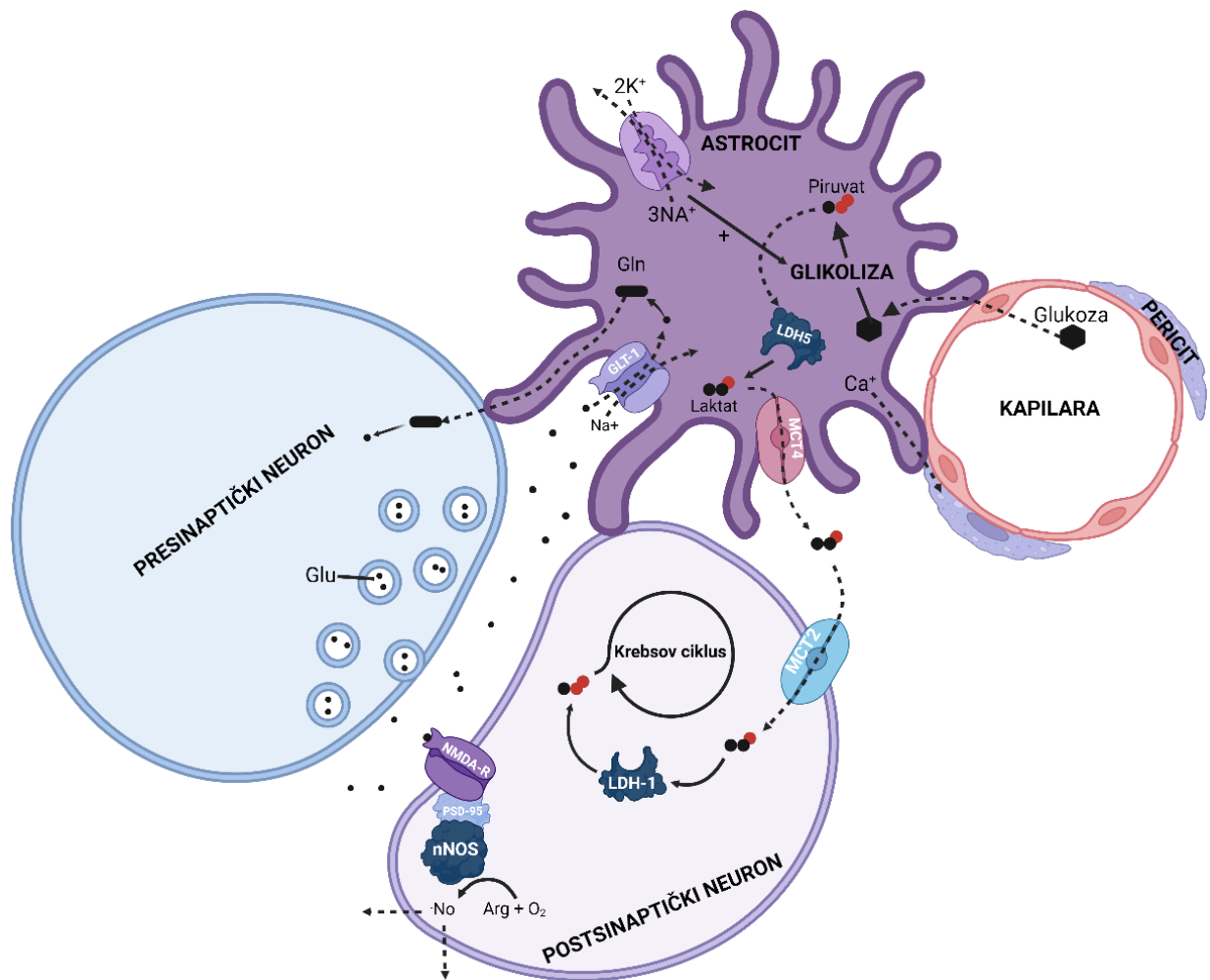
Sve stanice u organizmu ovisno o svojim potrebama za energijom mogu regulirati lokalni protok krvi i time dotok kisika i metabolita. Ovo vrijedi i za neurone, ali njihova je potreba za energijom izrazito dinamična, ovisna ponajprije o funkciji sinapsi, te dovodi do kompenzatornih promjena u metabolizmu i krvožilju koji podržavaju njihov rad. Zahtjevi stanica mozga u konačnici dovode do toga da je za normalnu funkciju mozga nužna stroga prostorna i vremenska regulacija metabolizma koja seže od pojedinih regija sve do pojedinačne sinapse (17).

Mozak je izrazito vaskulariziran organ u kojemu se svaki neuron nalazi unutar 15 μ m od krvne žile (18) Vaskulatura se sastoji od više funkcionalnih segmenata s različitim tipovima stanica koje, uz stanice moždanoga tkiva, tvore neurovaskularnu jedinicu sa svojstvima koja ju čine posebnima u organizmu poput krvnomoždane barijere i mogućnosti neurovaskularne sprege(19).

Mozak potroši više od 20% ukupno iskorištenog kisika u aerobnome metabolizmu, a oko 80% od toga potroše samo neuroni, iskorištava 25% sveukupno iskorištene glukoze, a sačinjava samo 2% tjelesne mase (20). Najviše se koristi glukozom u metabolizmu, uz laktat i ketonska tijela, a osnova za dostatnu proizvodnju energije su zdravi mitohondriji. Većina se proizvedene energije utroši na razini sinapsi, ponajviše na obnovu i održavanje membranskoga potencijala, a potom i na sintezu i otpuštanje neurotransmitera, recikliranje vezikula te na transport duž aksona. Iz ovoga je očito da se potrebe za energijom u pojedinim regijama mozga drastično mogu razlikovati (21–24). Osim što je za njihovu funkciju neophodna odgovarajuća dostava metabolita i kisika, počela se rasvjetljivati i uloga hipoksije u moduliranju rada neurona kako u patološkim stanjima tako i u fiziološkim (25,26).

Dinamične su metaboličke potrebe za energijom, koje se vremenski i prostorno stalno mijenjaju, zadovoljene pomoću neurovaskularne i neurometaboličke sprege. Neurovaskularna je sprega mogućnost mijenjanja lokalnog protoka krvi u ovisnosti o energetske potrebama neurona što dovodi do promjena u dotoku glukoze i kisika (27). Funkcionalna magnetska rezonancija (fMRI)

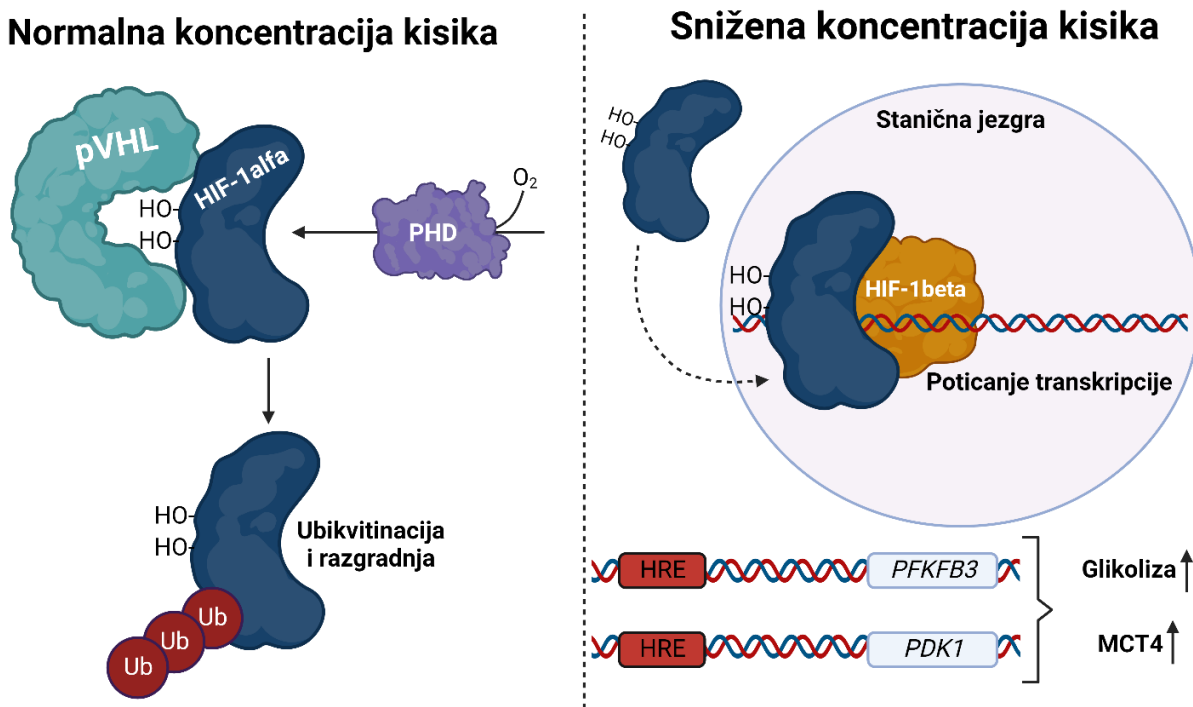
iskorištava ovaj fiziološki proces za vizualizaciju aktivnosti mozga što je našlo svoju primjenu u klinici i istraživanjima. Glavni je medijator neurovaskularne sprege slobodni radikal dušični oksid koji se sintetizira ovisno o aktivaciji NMDA receptora i dovodi do vazodilatacije arteriola tako što potakne stvaranje cGMP-a koji aktivira kinaze ovisne o cGMP-u (28). U regulaciji protoka krvi veliku ulogu imaju i astrociti. Otpuštaju kalcij iz svojih nožica i time aktiviraju signalne puteve u pericitima, koji imaju sposobnost kontrakcije, što dovodi do povećanog protoka krvi u kapilarama (29,30). U sklopu pojma neurometaboličke sprege primarno se opisuje odnosu između astrocita i neurona tijekom njihove povećane aktivnosti i potrebe za energijom. Primjer povećane neuronske aktivnost jest povećana glutamatna neurotransmisija. Astrociti omogućavaju ponovljenu transmisiju pomoću glutamat-glutaminskoga ciklusa (31). Ciklus omogućava prestanak djelovanja glutamata u sinaptičkoj pukotini koji se potom pretvara u glutamin, a on se prenosi u neurone obnavljajući zalihe neurotransmitera. Unos glutamata u astrocite je omogućen putem GLT-1 simportera i ovisan je o natriju što povećava njegovu koncentraciju u astrocitima (32). Nastala povećana koncentracija natrija u astrocitima aktivira Na-K-ATPazu koja omogućava povećan unos glukoze u astrocite i potiče aktivnost glikolize (33). Astrociti i neuroni u ovim uvjetima mogu imati inverzne, ali komplementarne metaboličke profile što znači da astrociti mogu primarno metabolizirati glukozu glikolizom do laktata dok neuroni ovise o oksidativnom metabolizmu, a glukozu u ovim uvjetima metaboliziraju, osim glikolizom, ponajviše pomoću pentoza fosfatnog puta stvarajući NADH kojeg koriste za neutralizaciju kisikovih radikala. U konačnici se glukoza u astrocitima primarno metabolizira u laktat kojeg neuroni koriste u oksidativnom metabolizmu za stvaranje energije što je srž hipoteze astrocitno-neuronskog šatla (ANLS) (34,35). Njome se pokušava opisati mehanizam neurometaboličke sprege to jest jedan od načina na koji se neuroni mogu prilagoditi na povećane zahtjeve za energijom. Istražuju se i interakcije između aktivnosti neurona i krvnomoždane barijere, a otkriveno je da povećana aktivnost neurona putem pericita i astrocita može utjecati na permeabilnost krvnomoždane barijere (36).



Slika 1. Prikazana je neurovaskularna jedinica tijekom glutamatne neurotransmisije i interakcije unutar nje koje dovode do prilagodbe na povećan metabolizam (16). Napravljeno u aplikaciji Biorender.com (262) uz izdanu licencu za objavljivanje (Agreement number: FH24EFGL1W)

Uz dostatan priljev metabolita kisik je neophodan za učinkovit metabolizam neurona i time njihovo funkcioniranje, zato je važno da je tijekom aktivnosti održana njegova koncentracija u optimalnom rasponu u mikrookolišu. Prestankom povećane aktivnosti pak dolazi do pada koncentracije kisika što je zabilježeno pomoću fMRI-e (37). Jedno od objašnjenja jest da po prestanku aktivnosti nastaje sraz između održanog povećanog metabolizma dok se protok krvi vraća na početnu razinu. Zajedno ovi procesi dovode do fiziološke hipoksije neurona (38,39). Unatoč uvriježenom mišljenju da je hipoksija isključivo nepovoljna za neurone i da su oni izrazito osjetljivi na nju, uviđa se i funkcionalna uloga fiziološke hipoksije. Niska je koncentracija kisika primjerice neophodna za normalan embrionalni razvoj mozga, a u slučaju odrasloga mozga u ekstremnim uvjetima ishemičnog moždanog udara otkriveno je da je potaknuta proliferacija neuralnih matičnih stanica

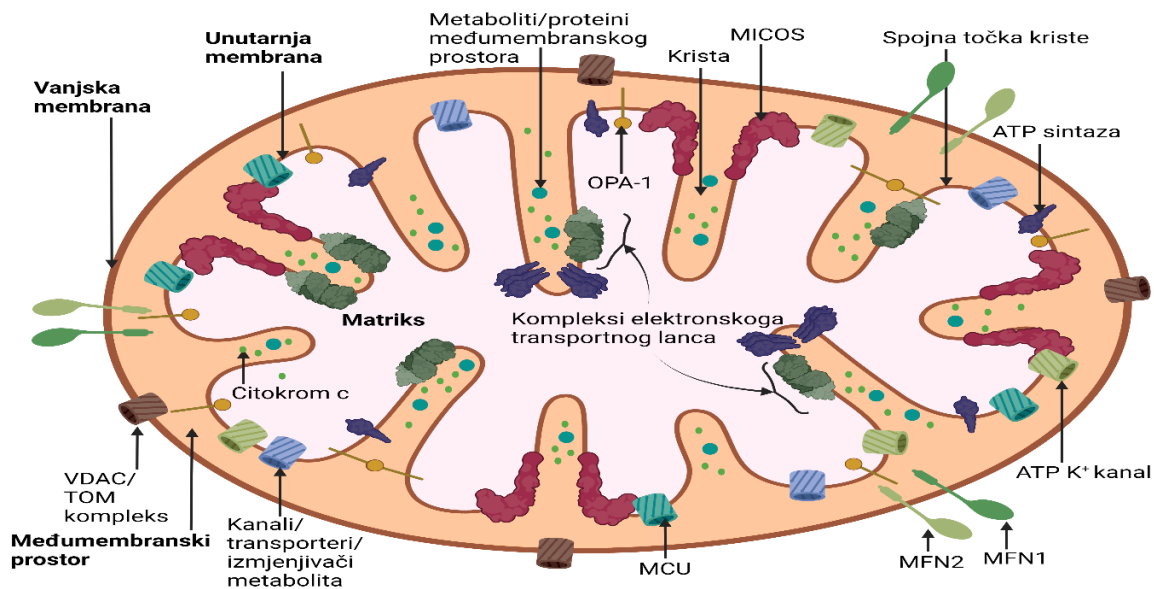
i neurogeneza (40,41). Hipoksija i prateća promjena redoks stanja neurona svoj regulatorni učinak na fiziologiju neurona ostvaraju pomoću transkripcijski faktora induciranih hipoksijom (HIF-ovi) koji reguliraju 1%-1,5% genoma (42). Produkti tih gena povezani su povećanjem učinkovitosti metabolizma i sve je više dokaza da imaju bitnu ulogu u plastičnosti mozga dok se disregulacija ekspresije HIFova povezuje s poremećajima u učenju i pamćenju (43,44).



Slika 2. Aktivnost se HIF-1 α proteina mijenja ovisno o koncentraciji kisika. Povećanjem aktivnosti veže se za HIF-1beta čime se povećava transkripcija gena koje regulira (16). Napravljeno u aplikaciji Biorender.com (262) uz izdanu licencu za objavljivanje (Agreement number: LP24EFGSN1)

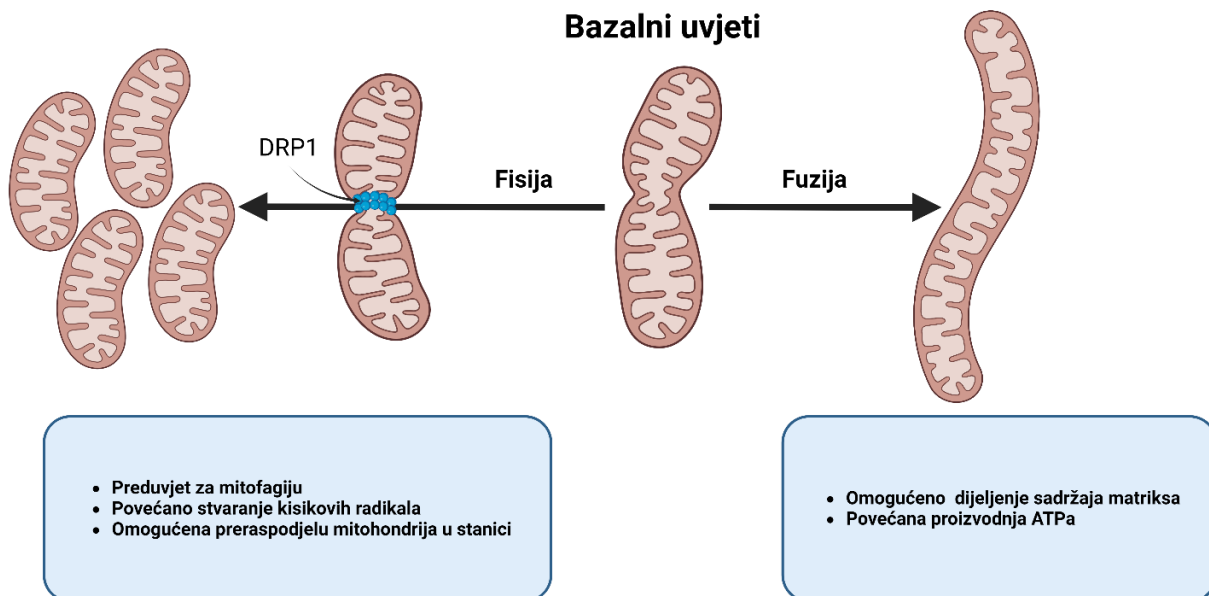
3. Struktura i funkcija mitohondrija

Mitohondriji su stanična tjelešca koja se nalaze u svim ljudskim stanicama osim u crvenim krvnim stanicama. Stanicama omogućuju aerobno stvaranje ATP-a, koji je neophodan za integritet i funkciju stanica. Mogućnost aerobnog stvaranja ATP-a značajno povećava iskoristivost oksidacije metabolita zbog čega su mitohondriji okosnica metabolizma ljudskih stanica. Otkrio ih je fiziolog Albert von Kolliker 1857.g., a 1898.g. Carl Benda ih je po prvi put nazvao mitohondrijima (μίτος-nit + χορδρίου-zrnce). Sastoje se od dva lipidna dvosloja koja sačinjavaju vanjsku membranu, unutarnju membranu i kriste. Između membrana nalazi se međumembranski prostor, a u središtu omeđenom unutarnjom membranom nalazi se viskozni mitohondrijski matriks. Površina im seže od 0.75 do 3 μm^2 , a i veličina, i oblik, i struktura (ponajviše izgled i sastav membrana) kao i brojnost te raspored unutar stanica su promjenljivi što se naziva mitohondrijskom dinamikom. Upravo je ta dinamika mitohondrija način na koji se oni mogu prilagoditi na promjenjive prostorne i vremenske zahtjeve stanica za energijom (45,46). Većinu mitohondrijskih proteina kodira stanična DNA, ali dijelom i mitohondrijska, kružna dvolančana DNA koja slični na bakterijski genom (47). Zanimljivo je kako mitohondrijski genom nije kompletan, već se većina gena preselila i ugradila u stanični genom. Nasljeđivanje je maternalno putem citoplazme oocite uz zanemariv prijenos putem spermija (48). Otkrićem Krevsova ciklusa 1950ih smatralo se da je jedina uloga mitohondrija u stanici proizvodnja ATP-a, ali danas se zna da povrh stvaranja ATP-a sudjeluju u brojnim biosintetskim procesima i signalnim putevima (49).



Slika 3. Struktura mitohondrija, detaljnije objašnjena u nastavku teksta (60). Napravljeno u aplikaciji Biorender.com (262) uz izdanu licencu za objavljivanje (Agreement number: LN24EFKC38)

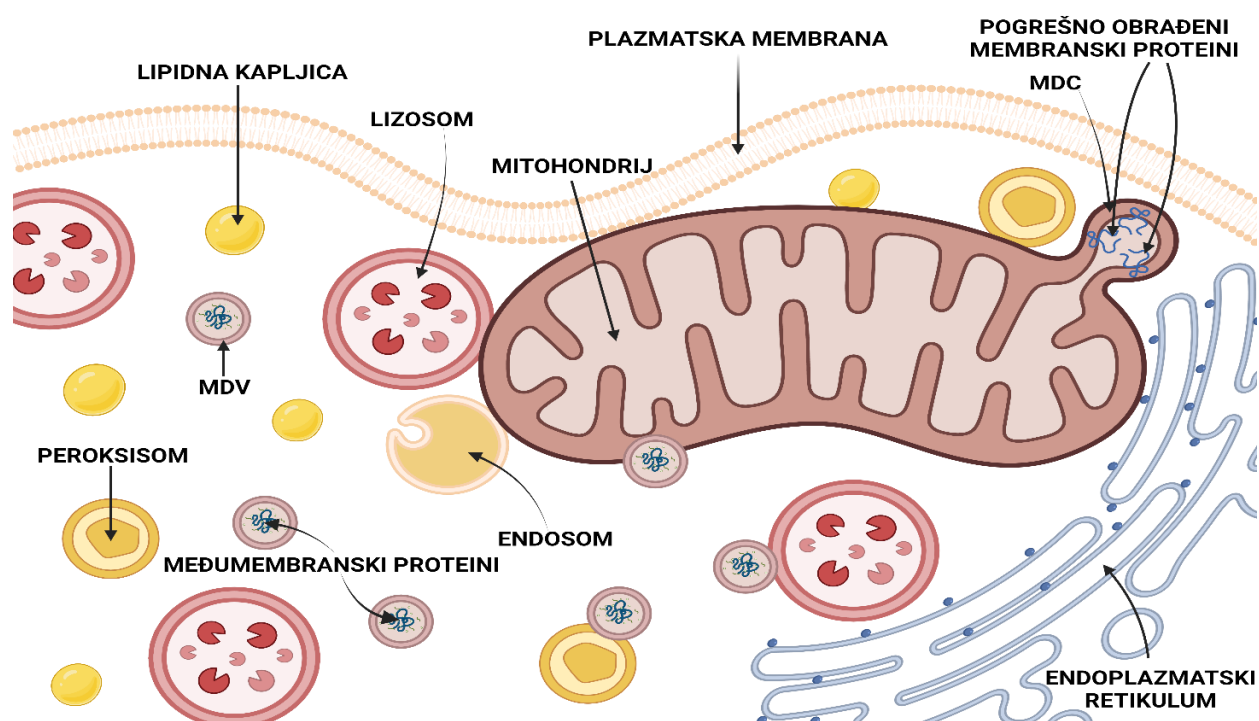
Vanjska membrana odvaja organelu od citosola. Njezina je uloga transport metabolita, nukleotida, iona, malih molekula kao i proteina koji će biti dijelom fosfolipifnih dvosloja, intermembranskoga prostora i matriksa. Za to su zaslužni porini, među njima najvažniji VDAC za male molekule i metabolite te translokaze i TOM kompleks, za proteine. Za razliku od unutarnje membrane, jednostavne je strukture, „glatka“ je i jer su navedeni porini za molekule manje od 5000 daltona posve permeabilni, male otopljene tvari između citosola i intermembranskog prostora mogu slobodno difundirati. Vanjska je membrana mjesto interakcije s ostalim organelama (Slika 5), što omogućuje reguliranje funkcije mitohondrija i mjesto je na kojemu se sabiru, integriraju pa prenose u matriks informacije od staničnih signalnih puteva i putem koje se prenose signali iz mitohondrija u citosol, a oštećenje njezine cjelovitosti i otpuštanjem sadržaja intermembranskoga prostora u citosol dolazi do apoptoze stanice (50). Zahvaljujući brojnim dokazima i rastućem broju signalnih kaskada koji se služe vanjskom mitohondrijskom membranom, mitohondriji su se počeli nazivati signalnim organelama (51,52). Proteini u vanjskoj membrani zaslužni su i za proces fuzije i fisije mitohondrija, ključnog procesa u sklopu mitohondrijske dinamike, koji omogućavaju normalno funkcioniranje mitohondrija te njihovu preraspodjelu unutar stanice (Slika 4) (53).



Slika 4. Fuzija i fisija proteina te njihove posljedice (60). Napravljeno u aplikaciji Biorender.com (262) uz izdanu licencu za objavljivanje (Agreement number: EZ24EFKPJY)

Proces fuzije omogućuju mitofuzin 1 (MFN1) i mitofuzin 2 (MFN2), proteini koji se nalaze u sklopu vanjske membrane i članovi su obitelji proteina sličnih dinaminu, te uz njih fuziju omogućuje OPA1 protein koji se nalazi u unutarnjoj membrani. Nadalje, MFN2 sudjeluje i u procesu fuzije, služi i

kao spona između membrana mitohondrija i endoplazmatskoga retikuluma (54,55). Fisiju mitohondrija posreduje DRP1 protein koji se nalazi u citosolu i po prelasku u mitohondrij, što ovisi o aktivnosti kalcineurina i koncentraciji kalcija, proces započinje ulazeći u interakciju s MFF, MID49, MID51 i FIS1 proteinima. Fisija se odvija u neposrednoj blizini tubula endoplazmatskog retikuluma i podržana je kontrakcijom citoskeleta uz mitohondrijsku membranu (56–59). Mitohondriji stvaraju i male čestice odvojene membranom (MDV i MDC) cijepajući ih od sebe. Tako osim putem vanjske membrane, u interakciju s ostalim organelama mogu ući pomoću vezikula nastalih od mitohondrija (MDV) dok pomoću odjeljaka nastalih od mitohondrija (MDC) rješavaju se disfunkcionalnih proteina time vršeći provjeru kvalitete (Slika 5) (60).



Slika 5. Interakcija mitohondrija i MDVa s organelama. Kontrola kvalitete pomoću MDC čestica. (60) Napravljeno u aplikaciji Biorender.com (262) uz izdanu licencu za objavljivanje (Agreement number: MH24EFL0TC)

Najbolje je proučena interakcija s endoplazmatskim retikulumom. U interakciju ulaze putem proteinskih mostova, ponajviše sačinjenih od MFN2 proteina (mogu homooligomerizirati jer se nalaze u obje membrane) i u manjoj mjeri VAPB i PTPIP51 proteina. Ti proteinski mostovi vežu membranu mitohondrija za membranu endoplazmatskoga retikuluma tvoreći kontaktno mjesto između mitohondrija i endoplazmatskoga retikuluma (MERC). MERC je mjesto gdje započinje fisija mitohondrija te je mjesto gdje se fosfolipidi razmjenjuju između membrana

endoplazmatskoga retikuluma i mitohondrija. Pomoću te se strukture odvija i signaliziranje ionima kalcija bitnim za završetak fisije, za aktivnost enzima i za apoptozu što će biti detaljnije opisano kasnije (61,62). Osim s endoplazmatskim retikulumom ulaze u interakciju i s lizosomima, peroksisomima, endosomima, melanosomima, lipidnim kapljicama i staničnom membranom putem membranskih mjesta kontakta, mjesta na kojem dvije membrane teku paralelno nekoliko nanometara na istoj udaljenosti, vezani membranskim proteinima. Opseg funkcionalnih implikacija ovih interakcija se tek počinje rasvijetljivati. Spona s plazmatskom membranom omogućuje asimetričnu distribuciju fuziranih mitohondrija time utječući na sudbinu matičnih stanica, a uz to kontaktna mjesta sudjeluju u regulaciju influksa ekstracelularnoga kalcija. Kod interakcije s endosomima omogućen je unos željeza (on im je neophodan za stvaranje željezo-sumpor klastera i hema bitnih za funkcioniranje elektronskoga lanca) putem transferina direktno u mitohondrije i unos kolesterola. Lizosomi doprinose mitohondrijskoj homeostazi degradacijom oštećenih mitohondrija, ali osim toga označavaju mjesto započinjanja fisije. Vežanje lipidnih kapljica ima zanimljiv učinak inhibicije mitohondrijske dinamike. Ciklusi su fisije i fuzije sporiji, smanjena je razina beta oksidacije i povećan bioenergetski kapacitet, te je podržana sinteza triglicerida i rast lipidnih kapljica. Peroksisomi i mitohondriji imaju nekoliko stvari zajedničkih. Obje organele sudjeluju u beta oksidaciji masnih kiselina i sintezi žučnih kiselina te im je uz to zajednička fisijska proteinska mašinerija. Sam način na koji su povezani i koji je opseg uloge njihove spone na funkciju stanice i njih samih nije posve razjašnjen kao ni kod ostalih organela, ali iz navedenog, razjašnjenje bi nam moglo pružiti nove uvide u regulaciju metabolizma (63–69).

Između vanjske i unutarnje membrane mitohondrija nalazi se međumembranski prostor. Njegov sadržaj šećera, iona i ostalih malih molekula isti je kao u citosolu, a razlikuje se u sadržaju proteina koji moraju imati specifične signalne sekvence na krajevima peptidnih lanaca da bi mogli biti transportirani kroz vanjsku membranu. Jedan od proteina specifičnih za intermembranski prostor jest citokrom c, nosač elektrona koji u procesu oksidativne fosforilacije prenosi elektrone do citokroma c oksidaze.

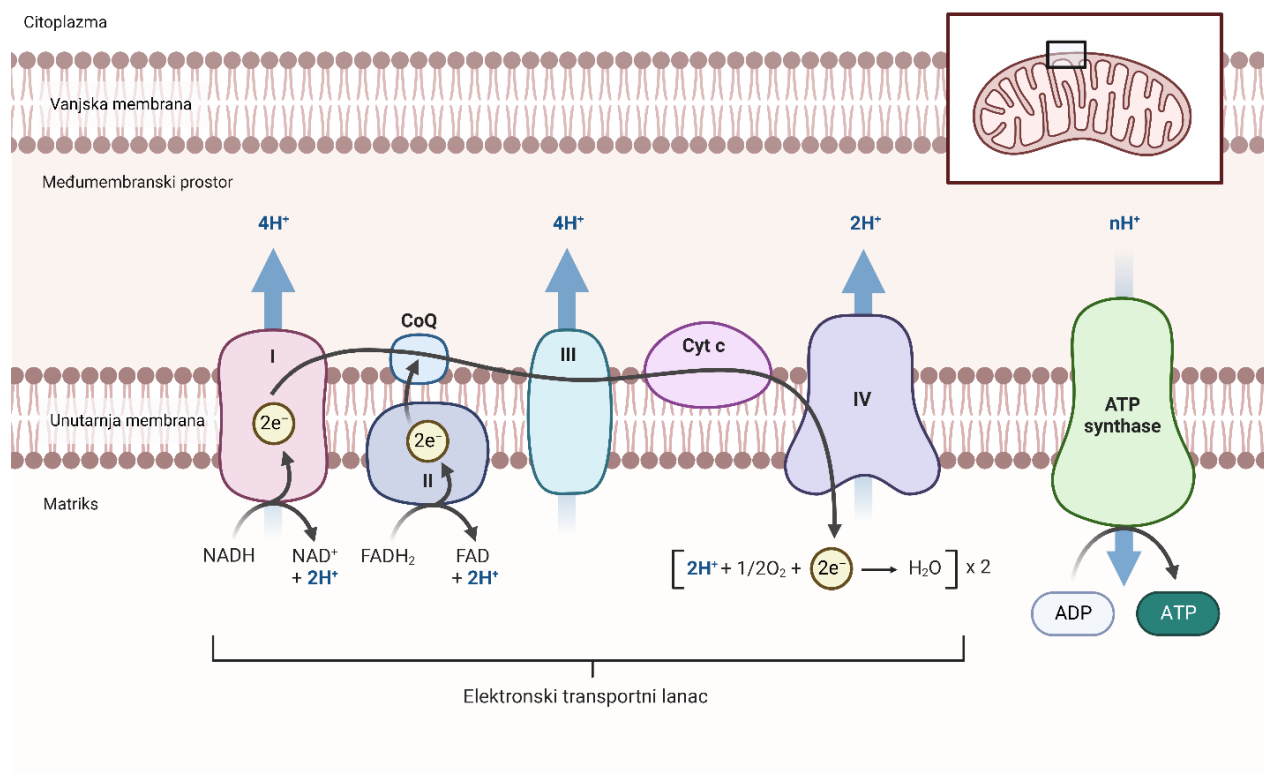
Za razliku od vanjske membrane koja je svojim sastavom slična staničnoj membrani, unutarnja mitohondrijska membrana ima visok omjer fosfolipida i proteina (3:1) i dijeli se u dvije funkcijski odvojene podjedinice: unutarnju graničnu membranu i kriste (70). U nju je ugrađeno 151 različit peptid i sadrži dvadeset posto ukupnih mitohondrijskih proteina. Funkcija se njezinih proteina može svrstati u tri skupine: proteini elektronskoga lanca, F_0-F_1 -ATP-sintaza i specifični transporter, to jest translokaze za metabolite i proteine (71). Unutarnja membrana ne sadrži porine i promet kroz nju je visokospecifičan. Omogućen je navedenim translokazama kao što su

ATP/ADP antiporter za metabolite te TIM kompleks i OXAL1 translokaze za proteine. Visokospecifičan promet omogućava stvaranje optimalnoga miljea u matriksu. Promet se odvija ponajviše kroz unutarnju graničnu membranu (72). Mitohondrijska membrana sadrži dva fosfolipida koja su specifična za nju: kardiolipin(oko 15% mase membrane) i fosfatidilglicerol te za razliku od stanične membrane ima mali udio kolesterola i sfingolipida (73,74). Kardiolipin zahvaljujući svojoj posebnoj strukturi s kosturom od tri glicerola i na njih vezane četiri linoleinske kiseline bitna je komponenta za optimalnu funkciju mitohondrija (74). Osim održavanja membranskoga potencijala i integriteta membrane, daje funkcijsku i strukturnu potporu proteinima elektronskoga lanca i u slučaju odsutstva kardiolipina destabilizirani su kompleksi III i IV (74,75). Osim s proteinima elektronskog lanca ulazi u interakciju i s translokazama utječući na njihovo funkcioniranje, poput ATP/ADP translokaze (76). U konačnici, fosfatidčna kiselina koja nastaje hidrolizom kardiolipina djelovanjem fosfolipaze D bitna je uz fosfatidiletanolamin za tubularni izgled mitohondrija i mogućnost fuzije mitohondrija (71). Linoleinske kiseline čine ga prvom metom slobodnih radikala, a njegova peroksidacija smatra se jednim od prvih događaja koji dovode do intrizične apoptoze stanice (77). Iz ovoga je proizašlo da se količina kardiolipina i njegovih peroksidacijskih produkata povezala s nekolicinom bolesti poput ateroskleroze, malignih novotvorina, Barthova sindroma i neurodegenerativnih bolesti (78).

Drugi se dio unutarnje membrane uvlači u matriks i te tvorbe nazivamo mitohondrijskim kristama. Proces se oksidativne fosforilacije primarno tu odvija (79,80). Mjesto prelaska unutarnje granične membrane u kriste, zvani vratovi krista, su njihove spojne točke i tu su krajevi unutarnje granične membrane tijesno spojeni. Tijesan spoj otežava difundiranje sadržaja lumena krista (najistaknutije ADP-a, metabolita, citokroma c i protona) u intermembranski prostor time optimizirajući stvaranje ATP-a. Također, omogućuje i različit sastav membranskih proteina između krista i unutarnje granične membrane (81). Sustav MICOS i OPA1 proteini, a i F_0-F_1 -ATP sintaza i protein FAM92A1, omogućuju stvaranje krista, stvaranje tijesnoga pripoja među njihovim krajevima i posreduju u komunikaciji između unutarnje i vanjske membrane(60,82,83) Površina se krista razlikuje među stanicima, mitohondrijima i unutar istog mitohondrija. Njima se efektivna površina unutarnje membrane višestruko povećava i time mogućnost proizvodnje ATP-a, a sama dinamičnost površine odgovara potrebama za stvaranjem energije (84). Svaka se pojedina krista može smatrati zasebnom funkcionalnom i strukturnom podjedinicom mitohondrija jer mogu mijenjat sastav membranskih proteina, imaju vlastiti transmembranski potencijal i mogu regulirati sadržaj svoga lumena putem tjesnoće spoja na prelasku u unutarnju graničnu membranu (tijekom oksidativne fosforilacije spoj je tjesniji i kriste se sužavaju optimizirajući oksidativnu fosforilaciju, a pri procesu apoptoze kriste se remodeliraju, spoj je prohodniji što omogućuje prelazak

citokroma c u intermembranski prosotor) (85–88). Kao što je već spomenuto kriste su zahvaljujući svojoj strukturi glavno mjesto oksidativne fosforilacije na unutarnjoj membrani. Oksidativna je fosforilacija (OXPHOS) stanični proces baziran na nizu redoks reakcija u kojima NADH i FADH₂ doniraju elektrone elektronskom transportnom lancu, sačinjenom od proteina, metala i lipidnih kompleksa koji potom te elektrone prenose do kisika reducirajući ga do vode, pumpajući protone kroz unutarnju membranu koje će F₀-F₁-ATP sintaza iskoristiti za sintezu ATP-a (Slika 6). NADH i FADH₂ su porijeklom iz citosola i mitohondrija te služe kao nositelji elektrona, a u ovaj reducirani oblik primarno prelaze sudjelujući u glikolizi, Krebsovom ciklusu i beta oksidaciji masnih kiselina. Važnost postojanja oksidativne fosforilacije proizlazi iz efikasnosti iskorištavanja energije nastale razgradnjom glukoze. Sama glikoliza proizvodi dvije molekule ATP-a po jednoj molekuli glukoze, dok postojanje Krebsova ciklusa i elektronskog transportnog lanca omogućuje stvaranje 30-32 molekule ATP-a. U procesu sudjeluje pet proteinskih kompleksa. Četiri kompleksa su dio elektronskoga transportnog lanca i nazvani su kompleks I, II, III i IV. Sačinjeni su od nekoliko molekula, Fe-S klastera, citokroma i drugih prostetskih skupina koje im omogućuju postepeni prijenos elektrona, što oslobađa manje pakete energije kako bi se ukupna energija iz NADH i FADH₂ molekula efikasnije mogla iskoristiti u obliku konformacijskih promjena kompleksa koje potom dovode do pumpanja po četiri protona po kompleksu, osim kod kompleksa II. Tijekom procesa slobodni kisikovi radikali su neizbježan nusprodukt zbog bijega elektrona, u kompleksima I i III, koji potom reagiraju s kisikom, a od ukupne količine nastalih radikala u stanici u mitohondrijima nastane oko 90%. Za prijenos elektrona među kompleksima odgovorni su hidrofilni citokrom c i hidrofobni koenzim Q₁₀. Kompleks I se još naziva NADH dehidrogenaza. Pomoću njega elektroni se s NADH prenose do ubikvinona (koenzima Q) prvo putem prostetske skupine sačinjene od flavin mononukleotida te potom putem niza Fe-S klastera. Drugo je ime za kompleks II sukcinat dehidrogenaza i osim u oksidativnoj fosforilaciji sudjeluje i u Krebsovom ciklusu. On na sebe ima vezan FAD⁺ kao kofaktor i katalizira oksidaciju sukcinata u fumarat uz stvaranja FADH₂. Pomoću Fe-S klastera prenosi oslobođene elektrone od FADH₂ do ubikvinona i time zaobilazi kompleks I, ali u procesu ne pumpa protone, što je razlog zašto se po molekuli NADH proizvedu 2,5 molekule ATP-a, a po molekuli FADH₂ 1,5 molekula. Elektroni se potom od kompleksa I i II do kompleksa III prenose pomoću ubikvinona koji je tada u svom reduciranom obliku, ubikvinolu. Citokrom c reduktaza ili kompleks III prenosi dva elektrona s jednog ubikvinola na dva citokroma c. U sklopu kompleksa ovaj proces omogućuju citokrom B i niz Fe-S klastera. Posljednji u nizu elektronskoga lanca jest kompleks IV, poznat i kao citokrom c oksidaza. Sačinjena je od više proteinskih podjedinica, nekoliko grupa hema i kofaktora. Kompleks prenosi elektrone do kisika te uz pomoć protona iz matriksa stvara vodu. Proces od kompleksa I do

kompleksa IV i kisika teče tim redom zahvaljujući njihovoj rastućoj elektronegativnosti. Nakon stvaranja vode i izmjene transmembranskoga potencijala ostaje još jedan korak do stvaranja ATP-a. Kompleks V ili F_0-F_1 ATP sintaza u procesu oksidativne fosforilacije koristi nastali elektrokemijski potencijal. F_0 podjedinica hidrofobna je, ugniježđena u membranu i ima funkciju kanala za protone. F_1 je podjedinica hidrofилna, nalazi se na strani matriksa i glavno je katalitičko mjesto za stvaranje ATP-a. ATP nastaje rotacijom F_1 podjedinice koju omogućava influks protona u matriks, a rotacija izmjenično omogućava vezanje ADP-a i P_i -ja za podjedinicu i otpuštanje ATP-a s podjedinice (89–95).



Slika 6. Proces oksidativne fosforilacije (OXPHOS) (90). Napravljeno u aplikaciji Biorender.com (262) uz izdanu licencu za objavljivanje (Agreement number: ZY24EFOR4L)

Proces apoptoze odličan je primjer posredovanja vanjske membrane u signalnoj kaskadi i kao primjer sponje između transdukcije signala i mitohondrijske dinamike. Apoptoza ili programirana stanična smrt je proces neophodan za normalan razvitak i funkcioniranje organizma, ali povezana je i sa brojnim bolesnim stanjima kao što su neurodegenerativne bolesti kada dovodi do gubitka neurona i atrofije mozga. Postoje tri apoptotska puta, intrinzični ili mitohondrijski, ekstrinzični ili receptorski i perforin/granzimski ili put citotoksičnih T limfocita. Sva tri puta sijeku se u točki cijepanja kaspaze 3 što započinje egzekucijsku kaskadu. Egzekucijska kaskada dovodi do

fragmentacije DNA, degradacije citoskeleta i nuklearnih proteina, unakrsnog vezanja proteina, formiranja apoptotskih tjelešaca, ekspresije na membrani liganada za receptore fagocita te u konačnici dovodi do fagocitoze nastalih apoptotskih tjelešaca. Podražaji koji dovode do započinjanja intrizičnoga puta mogu biti pozitivni i negativni. Negativni su nedostatak faktora rasta, hormona i citokina, dok bi pozitivni bili radijacija, toksini, hipoksija, hipertermija, virusna infekcija i slobodni radikali. Navedeni podražaji dovode do stvaranje apoptotskih pora što dovodi do gubitka transmembranskog potencijal i otpuštanja dviju skupina proapoptotskih proteina. Predstavnik je prve grupe citokrom c koji dovodi do apoptoze aktivirajući kaspazu 9 preko aktivacije prokaspaze 9 i stvaranja apoptosoma. Druga se grupa u citosol otpušta tek u kasnoj fazi apoptoze kada je sudbina stanice neizbježna. Središnje molekule koje reguliraju apoptozu su proteini iz obitelji BCL-2, a protein p53 ima ključnu ulogu u regulaciji aktivnosti proteina iz ove obitelji. BCL-2 proteini mogu biti proapoptotski i antiapoptotski. Među antiapoptotske spadaju Bcl-2, Bcl-x, Bcl-XL, Bcl-XS, Bcl-w i BAG. Proapoptotski su Bcl-10, Bax, Bak, Bid, Bad, Bim, Bik i Bli. Vezani su za vanjsku membranu i utječu na njezinu poroznost regulirajući nastanka apoptotskih pora. Također, ulaze u interakciju i utječu na aktivnost ključnih proteina zaslužnih za procese fuziji i fisije organele, dovodeći do fisije mitohondrija tijekom apoptoze. BAX i BAK proteini ulaze u interakciju s DRP1 i MFN2 proteinima. Mjesto je interakcije označeno kao mjesto fisije, a interakcija dovodi i do poboljšane komunikacije s endoplazmatskim retikulumom putem MERCa. Dolazi potom do priljeva kalcija koji podržava remodeliranje kristi, i amplificira otpuštanje citokroma c. Aktivnost kalcineurina je također osjetljiva na koncentraciju kalcija, a on prenosi DRP1 do membrane mitohondrija i regulira njegovu aktivnost utječući na razinu njegove fosforilacije. Dolazi do remodeliranja kristi pomoću OPA1 proteina. Vrat se kristi širi što omogućuje otpuštanje citokroma c iz njihova lumena u intermembranski prostor. Proapoptotski proteini BCL-2 obitelji mogu direktno ući u interakciju s OPA1 i razdvojiti postojeće njegove oligomere, a apoptotsko preopterećenje mitohondrija kalcijem dovodi do osmotskog bujanja mitohondrija i time distenzije kristi što isto deoligomerizira OPA1 proteine (96–105). Morfologija se mitohondrija prilagođava i na metaboličke potrebe i to primarno fuzijom i fisijom te remodeliranjem kristi. Izduljeni, veći mitohondriji su bioenergetski efikasniji što je čista suprotnost fragmentaciji mitohondrija tijekom opisane apoptoze kada je stanica u energetskej krizi. U slučaju gladovanja stanica DRP1 je fosforiliran čime se favorizira fuzija mitohondrija i prevenira njihova degradacija, dok fosforilacija MFF-a pomoću AMPK, koji se aktivira padom ATP-a, potiče fisiju i shodno tomu uklanjanje oštećenih mitohondrija ili u slučaju masivnije disfunkcije dovodi do apoptoze stanice. Kod remodeliranja kristi ponovno glavnu ulogu ima OPA1 protein. Njegova povećana ekspresija steže kriste, čini ih manje propusnima i podržava stabilnost i udruživanje

superkompleksa proteina koji sačinjavaju elektronski lanac. OPA1 služi i kao senzor metaboličkih promjena zahvaljujući njegovim interakcijama s transporterima u unutarnjoj membrani i time prilagođava oblik kristi staničnim potrebama (106,107).

Mitohondrijski matriks čini središnji dio mitohondrija omeđen unutarnjom membranom u koji protrudiraju kriste. U njemu se nalazi 2/3 mitohondrijskih proteina, čija koncentracija matriks čini viskoznom kada se uspoređuje s citosolom. Osnovna mu je funkcija aerobno stvaranje ATP-a, za što su neophodne male organske molekule, nukleotidni kofaktori, inorganski ioni te enzimi za oksidaciju piruvata i masnih kiselina, potom enzimi ciklusa limunske kiseline i enzimi elektronskog lanca uz ATP-sintazu, koji se nalaze u unutrašnjoj membrani i čija je funkcija ranije opisana. Osim njih, u matriksu se nalaze enzimi ciklusa ureje i transaminaze. Kako je funkcija primarno metabolička, u nastavku će biti opisani biokemijski procesi koji se zbivaju u matriksu. Središnja je točka u aerobnom metabolizmu molekula acetil-CoA, koja je završni produkt oksidacije glukoze, masnih kiselina i dijela aminokiselina, dok drugi dio aminokiselina može nadoknađivati metabolite Krebsova ciklusa ili se sintetizirati iz njih. Piruvat dehidrogenaza kompleks (PDK) je spona između glikolize i Krebsova ciklusa. Kako bi mogla funkcionirati prvo je potreban prijenos piruvata kroz mitohondrijske membrane u matriks što u vanjskoj membrani omogućavaju porini dok u unutrašnjoj simporter za piruvat i protone (108). PDK je kompleks koji se sastoji od tri enzima i katalizira oksidativnu dekarboksilaciju piruvata u acetil-CoA. Piruvat dehidrogenaza je prva podjedinica (E1) koja za dekarboksilaciju piruvata koristi kofaktore magnezij i tiamin difosfat (TPP) (109). Druga podjedinica, dihidrolipoil transacetilaza, katalizira prijenos acetilne skupine na koenzima A, a kao kofaktori joj služe koenzim A i lipoat (110). Time je sinteza acetil-CoA završena. Kako bi kompleks mogao nastaviti raditi potrebno je oksidirati lipoatnu skupinu i vratiti ju u prvobitni, funkcionalni oblik sa disulfidnim mostom. Za ovaj je proces odgovorna dihidrolipoil dehidrogenaza (E3) koja u svojoj strukturi sadrži FAD⁺, a kao kofaktor joj služi NAD⁺ i nakon oksidacije lipoata stvara molekulu NADH (111).

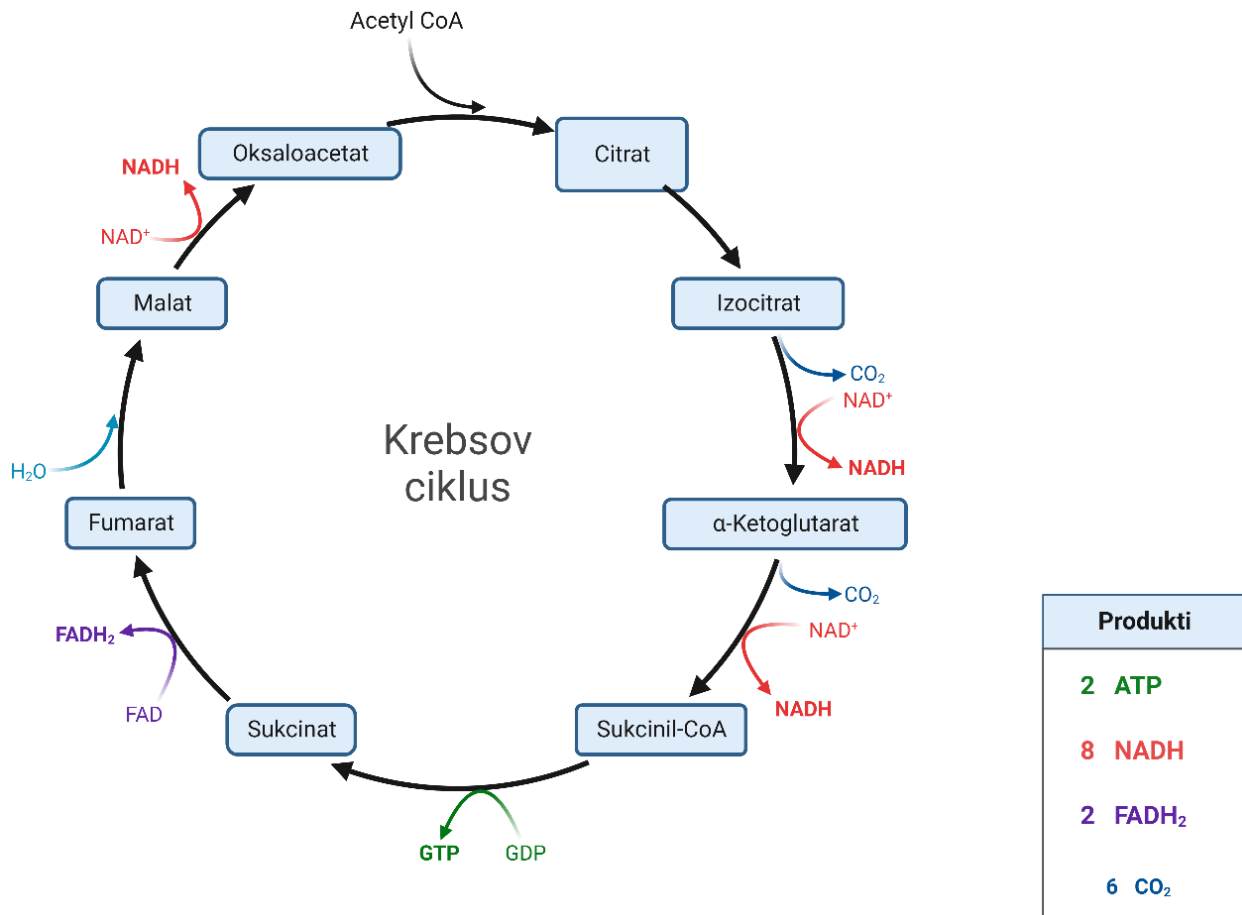
Aktivnost PDK može biti regulirana alosterički i kovalentno. Alosterički ju reguliraju koncentracije substrata i produkata, ponajviše omjeri ATP/ADP, NADH/NAD⁺ i acetil-CoA/CoA uz kalcij. Kovalentno joj aktivnost reguliraju piruvat dehidrogenaza kinaze i fosfataze, tako da fosforilacija E1 dovodi do inaktivacije kompleksa. Kinaze i fosfataze također reguliraju produkti i substrati reakcije (112). Metabolizam se masnih kiselina odvija u više staničnih odjeljaka. U peroksisomima se odvija alfa i beta oksidacija, u endoplazmatskom retikulumu omega dok se u mitohondrijima odvija beta oksidacija. Ključan je izvor energije između jela i kod velikih zahtjeva za energijom te spašava mišiće od katabolizma. Beta oksidacijom masnih kiselina proizvodi se acetil-CoA, jedna

molekula FADH₂ i jedna molekula NADH. Acetil CoA može se potom iskoristiti na dva načina. U skeletnim i srčanim mišićnim stanicama ulazi u Krebsov ciklus, dok ga jetrene stanica iskorištavaju za proizvodnju ketonskih tijela. Beta oksidaciju masnih kiselina reguliraju stanične potrebe za energijom. Na priljev masnih kiselina u stanice utječu hormoni adrenalin i glukagon koji u stanjima gladovanja stimuliraju na hormone ovisnu lipazu u masnome tkivu i dovodeći do hidrolize triglicerida povisuju koncentraciju slobodnih masnih kiselina u serumu i posljedično koncentraciju u citosolu i matriksu mitohondrija. Ostali čimbenici regulacije su adekvatna koncentracija kisika za oksidativnu fosforilaciju, i oksidiranih oblika kofaktora FAD i NAD. Regulacija se provodi i pomoću PPAR transkripcijskih faktora kojima su masne kiseline ligandi te njihova povećana koncentracija dovodi do povećane sinteze enzima za beta oksidaciju i mitohondrijsku biogenezu. Da bi se masne kiseline mogle metabolizirati prvo moraju doći do matriksa. Preko plazmatske membrane prenose ih transporteri FABPpm, potom se moraju aktivirati za što je zaslužna acil-CoA sintetaza, kojih ima više vrsta ovisno o karakteristikama masnih kiselina i mjestu gdje će se odvijati njihov metabolizam te se nalazi vezana za organelu u koju će se transport izvršiti. Ona veže CoA za masnu kiselinu iskorištavajući molekulu ATP-a. Prijenos do matriksa mitohondrija omogućuju tri enzima. Kroz vanjsku membranu prenosi ih karnitin:palmitoiltransferaza I (CPT1) stvarajući molekulu acilkarnitina i ovo je glavni limitirajući korak kontroliran koncentracijom malonil-CoA, čija koncentracija ovisi o energetske statusu stanice i aktivnosti AMPK. Kroz unutrašnju membranu nastali acilkarnitin u zamjenu za karnitin iz matriksa prenosi karnitin:acilkarnitin translokaza. U konačnici kako ne bi acilkarnitin izašao iz matriksa i kako bi se obnovile zalihe karnitina za nastavak funkcije antiportnoga sustava, karnitin:palmitoiltransferaza II (CPTII) pretvara acilkarnitin u acil-CoA.

Beta oksidacija u mitohondrijima se odvija u četiri koraka. U prvome koraku enzim acil-CoA dehidrogenaza, kojih ima više vrsta ovisno o duljini masne kiseline, katalizira stvaranje dvostruke veze između alfa i beta ugljika, a otpuštena dva elektrona iskoristi za stvaranje FADH₂ molekule. Enoil CoA-hidrataza sudjeluje u drugome koraku i katalizira hidrataciju dvostruke veze čime se hidroksilna skupina veže za beta ugljik, a proton za alfa ugljik. Nakon hidratacije, u trećem koraku, beta-hidroksil-acil-CoA dehidrogenaza katalizira oksidaciju hidroksilne skupine na beta ugljiku te otpuštene elektrone i protone iskoristi za proizvodnju molekule NADH. U posljednjem koraku, kataliziranom pomoću beta-keto tialaze cijepa se veza između alfa i beta ugljika tializacijom uz iskorištavanje CoASH čime nastaje acetyl-CoA i acil-CoA, koji je sada kraći za dva ugljika. U slučaju oksidacije nezasićenih masnih kiselina poput oleinske i linoleinske nužna je ili izmjena konfiguracije iz cis u trans pomoću enoil-CoA izomeraze ili dvostruku vezu treba prvo reducirati pomoću 2,4-dienoil CoA reduktaze koja za reakciju iskorištava NADPH (113–116).

Krebsov ciklus ili ciklus limunske kiseline, ili ciklus trikarboksilnih kiselina (TCA) metabolički je proces u kojemu se u potpunosti oksidira molekula acetyl-CoA i proizvode se NADH, FADH₂, GTP (koji se može iskoristiti za stvaranje ATP-a) i CO₂ (Slika 7). Ovaj se proces uglavnom smatra kataboličkim, ali intermedijarni se metaboliti mogu koristiti i u anaboličke svrhe (glukoneogenezu, ketogenezu i lipogenezu) te se proces u cijelomu metabolizmu opisuje kao središnja točka u kojoj se brojni metabolički putovi sijeku. Reakcije koje nisu vezane uz same enzime ciklusa, a povezane su njegovim intermedijarnim metabolitima zovu se kataplerotske i anaplerotske. Tako pod kataplerotske reakcije spadaju uloga citrata u sintezi masnih kiselina, sukcinil-CoA u sintezi hema, alfa-ketoglutarata kod sinteze aminokiselina, purina i neurotransmitera, oksaloacetata također u sintezi aminokiselina te uloga malata u glukoneogenezi. Anaplerotske su reakcije pak karboksilacija piruvata u oksaloacetat i oksidativna deaminacija ili transaminacija glutamata u alfa-ketoglutarat. Krebsov se ciklus sastoji od osam enzima od kojih se samo sukcinat dehidrogenaza nalazi u unutrašnjoj membrani i dijelom je i elektronskog lanca. Zanimljivo je da je enzim alfa-ketoglutarat dehidrogenaza strukturno i funkcionalno sličan piruvat dehidrogenaza kompleksu. Ciklus je reguliran na točkama djelovanja citrat sintaze, izocitrat dehidrogenaze i alfa-ketoglutarat dehidrogenaze, dostupnošću substrata poput FAD-a i NAD-a. Prvi korak je sinteza citrata iz oksaloacetata i acetyl-CoA koju katalizira enzim citrat sintaza. Aktivnost enzima inhibira citrat, koji u suvišku može izaći iz mitohondrija i u citosolu inhibirati fosfofruktokinazu I jer se ponaša kao signal stanici da se dovoljno energije proizvodi u stanicama dok u isto vrijeme potiče rad acetyl-CoA karboksilaze i time pojačava sintezu masnih kiselina. Potom akonitaza katalizira reverzibilno konverziju citrata u izocitrat. Nakon toga izocitrat dehidrogenaza katalizira reakciju oksidativne dekarboksilacije izocitrata u alfa-ketoglutarat služeći se NAD-om kao kofaktorom. U reakciji uz alfa-ketoglutarat nastaju CO₂, NADH i proton. Aktivnost mu je regulirana alosterički. ADP i ioni kalcija aktiviraju dok ATP i NADH inhibiraju aktivnost enzima. Sljedeći je korak oksidativna dekarboksilacija alfa-ketoglutarata posredovana alfa-ketoglutarat dehidrogenaza kompleksom. U reakciji nastaju sukcinil-CoA, NADH, CO₂ i proton. Potrebni su mu za funkciju isti kofaktori kao i piruvat dehidrogenaza kompleksu, a to su tiamin pirofosfat, lipoična kiselina, koenzim A, NAD i FAD. Sukcinil-CoA, NADH i ATP inhibiraju kompleks. Po nastanku sukcinil-CoA odvija se reakcija fosforilacije na razini substrata. Nju katalizira sukcinat tiokinaza i cijepanjem tioesterske veze oslobođenu energiju iskorištava za stvaranje molekule ATP-a otpuštajući molekulu sukcinata. Sukcinat se oksidira u području unutrašnje membrane gdje se nalazi kompleks II elektronskog lanca ili sukcinat dehidrogenaza. U reakciji nastaju fumarat i FADH₂, koji će potom pomoću kompleksa predati elektrone ubikvinonu stvarajući ubikvinol kao što je već opisano u paragrafu o oksidativnoj fosforilaciji. Nastali fumarat u reakciji hidratacije

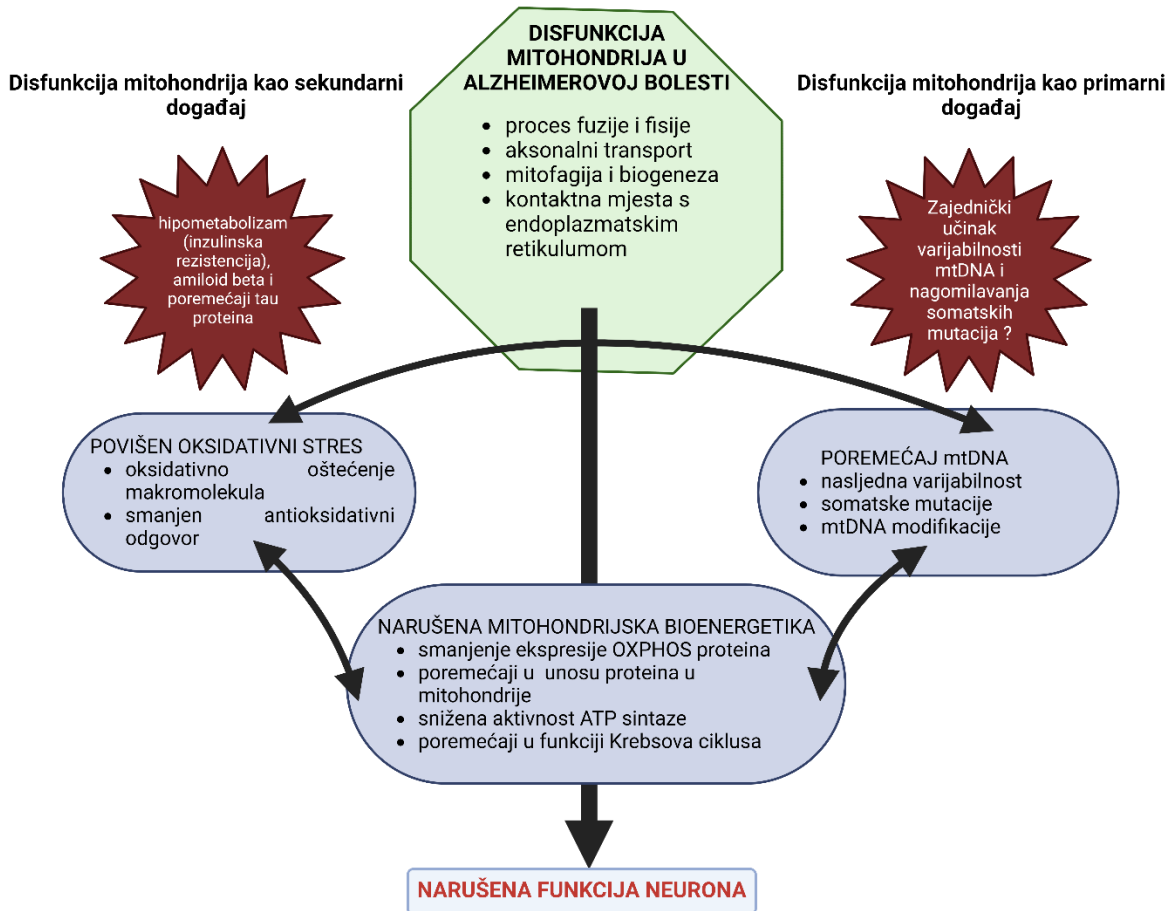
koju katalizira fumaraza reverzibilno prelazi u malat. I u konačnici, kako bi se ciklus mogao zatvoriti, obnavlja se molekula oksaloacetata uz stvaranje molekule NADH u ireverzibilnoj reakciji koju katalizira malat dehidrogenaza. Za razliku od ostalih reakcija slobodna je energija ove reakcije pozitivna, ali vrlo niske koncentracije oksaloacetata, zbog iskorištavanja u sintezi citrata, povoljno utječu na stvaranje novih molekula oksaloacetata (117–129).



Slika 7. Krebsov ciklus (126). Napravljeno u aplikaciji Biorender.com (262) uz izdanu licencu za objavljivanje (Agreement number: WT24EFP3OH)

4. Mitohondrijska disfunkcija u sklopu Alzheimerove bolesti

Zahvaljujući prvim nađenim patološkim nalazima, A β -plakovima i neurofibrilarnim snopićima, te prvim transgeničnim animalnim modelima u začecima je vladalo mišljenje da su ti nalazi u mozgu ključna točka u patogenetskome nizu Alzheimerove bolesti. Na tim temeljima skovan je pojam amiloidne kaskadne hipoteze. Njezin je problem što transgenične životinje modeliraju familijarni oblik bolesti koji je izrazito rijedak te se otkrića na temelju njih skromno mogu primijeniti za objašnjavanje prevalentnijega sporadničnog oblika bolesti. Uviđanjem da je energetska stanica narušena i razvitkom novijih fizioloških modela koji vjernije reprezentiraju sporadični oblik, paradigma patogeneze Alzheimerove bolesti polagano se počela mijenjati. Hipoteza mitohondrijske kaskade postaje sve zastupljenija. Skovali su je Russel H. Swerdlow i Shaharyar M. Khan sa Sveučilišta u Virginiji. Nagomilavanjem radova koji pozornost skreću na mitohondrije, postaje sve izglednije da je njihova disfunkcija jedan od središnjih događaja u patogenezi koji zatvara začarani krug progresije bolesti nebitno s koje od navedene dvije pozicije da se problemu pristupa (Slika 8) (130,131). Ideju da je uloga mitohondrija ključna, podržava velika potreba neurona za energijom koja omogućuje održavanje njihove homeostaze i funkciju, također u mitohondrijima se sintetiziraju Fe-S klasteri i hem, sudjeluju u presinaptičkoj sintezi neurotransmitera i dio su puferske mašinerije za kalcij tijekom signalne transdukcije. Neuronu su postmitotičke stanice čiji životni vijek jest vijek organizma u kojemu se nalaze zbog čega se moraju moći prilagoditi promjenjivim zaživotnim uvjetima i stresorima. Upravo su mitohondriji ključni za to i posreduju prilagođavanje, preživljavanje ili smrt stanica ulazeći u interakcije međusobno ili s drugim organelama. U nastavku će ovoga poglavlja biti prikazane brojne abnormalnosti pronađene u mitohondrijima, a ono što ih smješta na same početke patogenetskoga niza jest saznanje da poremećaj u stvaranju energije uvijek prethodi nekoliko desetljeća kliničkom početku bolesti (Slika 8) (132–134).



Slika 8. Sažetak pronađenih promjena u mitohondrijima uz pretpostavljenu etiologiju (261). Napravljeno u aplikaciji Biorender.com (262) uz izdanu licencu za objavljivanje (Agreement number: JP24EFIXBI)

4.1. Hipoenergoza i hipometabolizam u sklopu Alzheimerove bolesti

Energetsko stanje i metabolizam mozga možemo procijeniti mjerenjem razine iskorištavanja glukoze pomoću pozitronske emisijske tomografije korištenjem fluorodeoksiglukoze (FDG-PETa). Kao biomarker za ranu detekciju Alzheimerove bolesti počinje se koristiti FDG-PET i pomoću njega se može predvidjeti konverzija MCI-ja u Alzheimerovu bolest. Hipometabolizam se konzistentno pronalazi prvo u stražnjem cingulatnom korteksu pa u hipokampusu te potom u ostatku korteksa razvitkom patologije. U manjem opsegu i manjoj razini slični nalazi javljaju se i kod MCI-a. Ranu ulogu hipometabolizma podržava činjenica da je kod mladih odraslih u njihovim dvadesetima koji nose APOE4 alel nađen hipometabolizam u vulnerabilnim regijama mozga desetljećima prije mogućeg razvitka prvih simptoma. Razina i rasprostranjenost hipometabolizma prati težinu simptoma i regionalnu sinaptičku gustoću i disfunkciju (135–139). Pored istraživanja regionalnog i globalnog iskorištavanja glukoze istražuje se i međuovisnost hipometabolizma i

odlaganja amiloidnih plakova pomoću amiloidnih PET biomarkera u sklopu multimodalnih slikovnih istraživanja. Dio slučajeva implicira da je hipometabolizam sekundarni događaj koji slijedi godinama nakon globalne depozicije amiloidnih plakova, dok je povezanost regionalne depozicije i regionalnog hipometabolizma slaba, a u drugome dijelu slučajeva hipometabolizam prethodi nalazu odlaganja amiloidnih plakova. Bilo da je hipometabolizam primarni ili sekundarni događaj, počinje se u oba slučaja smatrati ključnim za razvitak bolesti i za razvitak terapije koji bi progresiju bolesti zaustavio ili barem usporio (140–142). Otkriveno je da kao podloga hipometabolizmu u Alzheimerovoj bolesti može biti sve od poremećaja protoka krvi, inzulinske rezistencije, disrupcije transporta glukoze do narušenoga metabolizma u citosolu i mitohondrijima. Teško je razlučiti koji bi od navedenih uzroka imao najjači učinak, ali najviše pažnje pridodaje se procesu oksidativne fosforilacije i time se u središte uzroka hipometabolizma stavlja mitohondrijska disfunkcija. Važnost mitohondrija oslikava povezanost hipometabolizma u frontalnom, temporalnom i parijetalnom korteksu sa sniženom koncentracijom tiamin difosfata u krvi na što se nadovezuje smanjenje aktivnosti enzima ovisnih o tiaminu. U korist uloge disfunkcije mitohondrija primarno putem elektronskog transportnog lanca idu i rezultati istraživanja koji su se za mjerenje razine metabolizma služili mjerenjem potrošnje kisika koristeći se kisikom-15 u sklopu slikovne metode PET-a. Metabolizam je kisika također snižen u frontalnom, temporalnom i parijetalnom korteksu i redukcija metabolizma odgovara težini demencije te usporenu aktivnost mozga mjerenom elektroencefalogramom. Navedenim nalazima pridružuju se i dokazi smanjenja aktivnosti bioenergetske mašinerije Krebsova ciklusa i elektronskog lanca (143–146).

4.2. Poremećaji mitohondrijske bioenergetike

Genetska se proteomska i biokemijska istraživanja provode kako bi se uspjela razjasniti podloga disfunkcije mitohondrija koja dovodi do opisane hipoenergoze i hipometabolizma. U dosadašnjim istraživanjima nailazilo se na oprečne rezultate koji su ukazali na razlike koje proizlaze iz korištenja različitih regija mozga, razlike uzrokovane heterogenošću uzoraka mozga sporadničnog oblika bolesti i razlike koje su vezane uz korištenje različitih tipova stanica mozga. Istraživanjima se genetske ekspresije pronašlo da je ekspresija nuklearnih gena podjedinica elektronskog transportnog lanca snižena u stražnjem cingulatnom korteksu i hipokampusu, potom je snižena ekspresija gena glikolize, Krebsova ciklusa i pridruženih puteva, a i sam je mehanizam unosa proteina u mitohondrije i glukoze u stanice isto narušen. Proteomska istraživanja i istraživanja proteinske ekspresije također ukazuju da su proteini OXPHOS puta najzahvaćeniji i da im je ekspresija smanjena te da je promjena u mitohondriomu u sklopu bolesti različita od

promjena koje se javljaju rijekom starenja. U sklopu Krebsova ciklusa aktivnost je dehidrogenaza/dekarboksilaza (PDHC, ICDH i KGDHC) karakteristično snižena dok je aktivnost samo dehidrogenaza (SDH i MDH) povišena, a razina aktivnosti korelira sa kliničkim stadijem. Biokemijska istraživanja potvrđuju da je aktivnost enzima elektronskog transportnog lanca snižena uz drastično sniženje aktivnosti COX-a. ATP sintaza je također povezana s hipoenergozom. Sniženje njezine aktivnosti posredovano je gubitkom proteinske podjedinice osjetljive na oligomicin i promjenama u acetilaciji α -podjedinice (147–154).

4.3. Povišenje oksidativnog stresa

Slobodni kisikovi radikali su uobičajeni nusprodukti aktivnosti enzima elektronskog transportnog lanca i imaju važnu signalnu ulogu, ali njihov višak dovodi do oksidativnoga stresa i opsežnih oštećenja strukture i funkcije makromolekula poput proteina, šećera, lipida i nukleinskih kiselina. Unatoč postojanju antioksidansa mitohondriji su podložni oksidativnom oštećenju, a nagomilavanjem oštećenja pada im efikasnost proizvodnje ATP-a dok im raste učinkovitost stvaranja radikala što zatvara začarani krug. Proizvodnja se kisikovih radikala povećava starenjem što je objašnjeno akumulacijom mutacija mtDNA koje negativno utječu na mitohondrijsku strukturu i funkciju. Dolazi do promjena u aktivnosti enzima i porina, promjena u mitohondrijskoj koncentraciji kalcija te do smanjenja proizvodnje ATPa. Kod Alzheimerove bolesti povišena je razina karbonilnih i 3-nitrotirozinskih modifikacija proteina uz povišenu proteinsku glikaciju i glikooskidaciju. Proces lipidne peroksidacije dovodi do povišenja reaktivnih aldehida poput 4-hidroksinonala, malondialdehida i akroleina. Zahvaćanje DNA, nuklearne i mitohondrijske, te RNA dovodi do povišenja abnormalnih baza poput 8-hidroksideoksigvanozina i 8-hidroksigvanozina. Dok je nađen porast produkata kisikovih radikala učinak je antioksidansa snižen, smanjena im je ekspresija i aktivnost. Primjerice, pad je koncentracije glutationa povezan s razinom kognitivnog propadanja. Povišenje opisanih markera oksidativnog stresa povezano je s gubitkom sinaptičkih proteina. Stabilni se markeri oksidativnoga stresa vremenom akumuliraju i mogu se naći i u neronima sa i bez amiloidne patologije. Zanimljivo je da su kratkoživući produkti oksidativnog stresa poput oksidacije baza nukleinskih kiselina i 3-nitrozilacije izraženi u neuronima bez amiloidne patologije, a sniženi u neuronim s izraženim patološkim nalazom. Navedeno bi impliciralo da bi amiloidni proteini mogli u ovome slučaju imati protektivnu ulogu. Mnogo je antioksidansnih enzima oksidirano što im narušava funkciju i doprinosi oksidativnom stresu. Glutation-S-transferaza Mu, peroksiredoksin 6, MRP 1 i 3 i glutation su HNE-modificirani i/ili nitrirani u brojnim regijama mozga. Oksidativnim oštećenjem su zahvaćeni i proteini koji sudjeluju u metaboličkim procesima. Postranslacijski su modificirani lipidnom konjugacijom ili

djelovanjem kisikovih radikalima. Primjerice ATP sintaza je HNE-modificirana i nitrirana, a akonitaza je također HNE-modificirana te karbonilirana uz kreatin kinazu (155–160).

4.4. Poremećaji homeostaze mitohondrijskoga genoma

Mitohondrijski je genom neophodan za funkciju mitohondrija. Sklon je oksidativnom oštećenju uz nagomilavanje mutacija zbog blizine nastajanja kisikovih radikala i male količine protektivnih histona te slabe učinkovitosti DNA popravilačkih enzima uz greške prepisivanja koje mogu nastati djelovanjem DNA polimeraze γ . Pored kisikovih radikala mtDNA može biti oštećena alkilacijom pomoću S-adenozilmetionina, hidrolizom glikozidnih veza i hidrolitičkom deaminacijom najčešće citozina. Mutacije se mogu naslijediti ili se nagomilavaju tijekom života, a klonalna ekspanzija mitohondrija umnožava posljedice mutacije na funkciju i strukturu stanica povišenjem razine heteroplazmije što može dovesti do stanične smrti i bolesti. Primarne mitohondrijske bolesti kod kojih je zahvaćen CNS služe kao primjer da mutacije mtDNA mogu dovesti do kognitivnoga deficita. Najčešće bude oštećena baza timidin koja u pravilu ima nizak mutageni potencijal dok oksidativne promjene gvanozina koje dovode do nastanka 8-dihidro-8-okso-2'-deoksigvanozina imaju mutageni potencijal. Uočena je mogućnost da nasljedna varijabilnost mtDNA igra ulogu u nastanku bolesti. Naime, obiteljska je anamneza prepoznati čimbenik rizika sa značajno učestalijim učinkom prijenosa po majci. Kod pozitivne obiteljske anamneze s majčine strane u kognitivno neoštećenih pojedinaca otkrivena je povišena atrofija u regijama mozga inače zahvaćenim kod Alzheimerove bolesti. Potom, uočen je napredak slabljenja moždanoga metabolizma glukoze i povišenje hiperintenzivnost bijele tvari u temporalnom i okcipitalnom režnju. Primarne mutacije mtDNA nisu zasad povezane s bolešću, ali uočena je uloga varijanti genoma. Haplogrupa UK povezana je s povećanim rizikom od oboljevanja dok je haplogrupa T ima protektivnu ulogu. Haplogrupe K i U pak umanjuju povećanje rizika vezanog uz *APOE4* alel. Istraživanja koja pokušavaju otkriti povezanost somatskih mutacija i razvitka bolesti fokusirana su na učestalu 5-kb deleciju, $\Delta 4997$, za koju se smatra da utječe na ekspresiju gena kompleksa I, III i V. Uz deleciju, povišena je razina F i R tipova reorganizacije DNA te količina točkastih mutacija u kontrolnoj regiji mtDNA što dovodi do supresije transkripcije i replikacije genoma. Istraživači su nailazili i na oprečne rezultate, a smatra se da im je podloga razlika u veličini uzoraka, korištena metodologija i razlike u tipovima i specifičnosti istraživanih stanica. Zanimljivo je da je broj točkastih mutacija mtDNA viši kod pacijenata u ranoj fazi bolesti prije razvitka demencije u usporedbi s pacijentima s patološki dokazanom bolesti. Implicirano je ovim da se promjene u genomu javljaju u samim začecima i da opterećenje mutiranim genomom opada gubitkom neurona. Velika je vjerojatnost da su mutacije, modifikacije i varijabilnosti u mtDNA ključne u

patogenezi. Trenutna je pretpostavka u sklopu hipoteze mitohondrijske kaskade da o nasljeđenoj mtDNA ovisi sklonost osobe za razvoj bolesti, a fenotip se manifestira zahvaljujući akumulaciji somatskih mutacija i modifikacija zbog utjecaja okoliša i starenja. Za konačne zaključke je doduše potrebno još istraživanja, a zanimljivo je da su promjene u mtDNA nađene i kod ostalih neurodegenerativnih bolesti (161–173).

4.5. Promjene u mitohondrijskoj dinamici

Promjene u ravnoteži fisije i fuzije povezane su neurološkim poremećajima. U ranim istraživanjima ultrastrukturnih promjena piramidnih neurona nađene su promjene u veličini, broju i obliku mitohondrija uzrokovane najvjerojatnije njihovom fragmentacijom pojačanim učinkom fisije. Fragmentacija pak onemogućuje dijeljene sadržaja među mitohondrijima, podržava egzacerbaciju deficita mtDNA i bioenergetske smetnje te dovodi i do povećanog stvaranja kisikovih radikala. Biokemijska su istraživanja pronašla sniženu ekspresiju svih velikih GTPaza dinamičke obitelji poput DRP1, OPA1, MFN1 i MFN2 proteina, uz povećanje ekspresije Fis1 proteina. Dijelom u redukciji sudjeluje i aktivacija proteaze kalpaina u sklopu opće patologije Alzheimerove bolesti. Nadalje, analizama DRP1 proteina naišlo se na promjene u njegovim posttranslacijskim modifikacijama koje utječu na njegovu aktivnost i povećanu povezanost s mitohondrijskom vanjskom membranom. DRP1 je pojačano S-nitroziliran na mjestu Cys644 te je na mjestu Ser616 povećana njegova fosforilacija, a promjene u aktivnosti proteina su povezane s interakcijama s oligomernim oblikom A β i hiperfosforiliranim tau proteinima. Važnost fosforilacije proizlazi iz potrebe za defosforilacijom na mjestu ser637 i fosforilacijom na mjestu ser616 kako bi se protein mogao premjestiti do vanjske membrane. Nije još razjašnjenja priroda interakcije s A β , ali pokušava se objasniti pomoću signaliziranja kalcijem te povećanim stvaranjem kisikovih radikala. A β povećava inluks kalcija koji aktivira CaMKII te Akt koji fosforiliraju DRP1 na mjestu Ser616 dok oksidativni stres aktivira ERK koji isto fosforilira protein, a u proces fosforilacije uključen je i GSK3 β protein. U slučaju povećane nitrozilacije pretpostavka je da A β učinak posreduje povećanjem proizvodnje dušičnog oksida. Uz navedena istraživanja predloženo je da A β može dovesti do povećane fragmentacije i indukcijom O-GlcNAcilacije Drp1 proteina. Istraživanja na animalnim modelima pokazala su da se promjene dinamike mitohondrija javljaju rano, prije razvitka fenotipa bolesti i odlaganja vidljivih amiloidnih plakova. Implicirano je da fragmentacija mitohondrija stvara podlogu koja podržava i pogoršava razvitak disfunkcije mitohondrija, ali potrebni su bolji modeli koji bi promjene kvalitetnije objasnili i omogućili temelj za razvoj novih lijekova(174–183).

4.6. Promjene aksonalnog transporta i preraspodjele mitohondrija

Pored promjena u morfologiji i funkciji mitohondrija narušena je i njihova distribucija unutar neurona. Naime, izdanci neurona postaju siromašniji mitohondrijima koji se nakupljaju u njihovom tijelu. Preraspodjelu uzduž citoskelata omogućuju anterogradno kinezini dok retrogradno dineini. Ključna je uloga transporta i preraspodjele opskrbljivanje mitohondrijima ona područja koja su najpotrebitija za energijom te pomoću retrogradnog i anterogradnog transporta održati zdravu i funkcionalnu lokalnu populaciju mitohondrija. Poremećaji u transportu bilo da su posredovani poremećajima unutar mitohondrija ili poremećajima u interakciji s transportnom mašinerijom dovode do gubitka mitohondrija u energetski zahtjevnim područjima poput sinapsi uz nagomilavanje disfunkcionalnih mitohondrija (184,185).

Poremećaji su u transportu povezani s A β proteinima. Postoji nekoliko objašnjenja kako posreduju svoj učinak. A β , povisujući koncentraciju kalcija u neuronima, na transport bi mogao djelovati putem adapterskog na kalcij osjetljivog Miro1 proteina ili djelovanjem preko kalcineurina i GSK3 β proteina, koji fosforilira lake lance kinezina što dovodi do otpuštanja prenašanog sadržaj. Moguće je i da povišenjem oksidativnog stresa utječe na transport. Pronađen je i učinak na sniženu ekspresiju anterogradnoga motornog proteina KIF5A, a ulazeći u interakciju sa srednjim lancem dineina ometa vezanje sa Snapinom. Nadalje, poremećaj može biti i na razini mikrotubula. Uočena je interakcija povišenja koncentracije A β i aktivnosti HDAC6 koja regulira acetilacijski status α -tubulina. Pored α -tubulina, supstrat je HDAC6 i peroksiredoksin1 koji posreduje A β inducirane poremećaje oksidativnog stresa, homeostaze kalcija i aksonalnog transporta. Utječući na već opisanu ekspresiju DRP1 i MFN2 i poremećaji u samom mitohondriju mogu dovesti do disrupcije transporta. Redukcija oba proteina dovodi do osiromašenja izdanaka dok je interakcija MFN2 s Miro/Milton kompleksom neophodna za aksonalni transport (186–192).

Povećana ekspresija ili fosforilacija tau proteina također je povezana s poremećajima u transportu. Svoj učinak posreduju moduliranjem dineina i kinezina povećavajući njihovo vezanje za mikrotubule uz djelovanje na raspodjelu mikrotubula remeteći njihovu arhitekturu. Učinak A β ovisi o prisutnosti tau proteina. Primjerice, redukcija tau proteina blokira aktivaciju GSK3 β povoljno utječući na deficite u anterogradnom aksonalnom transportu inače inducirane A β proteinima (193–196).

Otvorena je još uvijek rasprava je li zahvaćen isključivo transport mitohondrija, je li primarno zahvaćen anterogradni ili retrogradni transport ili su zahvaćeni podjednako te sudjeluju li i drugi procesi u poremećuju preraspodjele poput mitohondrijskog usidranja (197).

4.7. Promjene u mitohondrijskoj biogenezi

Osnova funkcioniranja mitohondrijske biogeneze jest koordinirana ekspresija mitohondrijskog i nuklearnog genoma. Glavna je regulatorna molekula mitohondrijske biogeneze PGC-1 α protein koji koordinira i regulira metaboličke procese u mitohondrijima putem transkripcijskih faktora, nuklearnih respiratornih faktora 1 i 2 (NRF1 i NRF2). Transkripcijski faktori NRF 1 i 2 potom reguliraju ekspresiju nuklearnih gena kao što je primjerice humani mitohondrijski transkripcijski faktor A (hTFAM) koji potiče transkripciju i replikaciju mtDNA. Također, PGC-1 α protein spona je između obrambenog sustava od kisikovih radikala i gena koji kodiraju proteine oksidativnog lanca omogućujući stanicama održavanje normalnog oksidativnog statusa u promjenjivim uvjetima. Uloga biogeneze u održavanju homeostaze stanica je ključna jer omogućava repopulaciju dotrajalih organela i reakciju na inzulte zamjenjujući disfunkcionalne organele zdravima (198–200).

Opisani manjak komponenti elektronskog transportnog lanca čini podlogu hipoenergoze, ali implicira i na mogući deficit biogeneze. Prva skupina koja je opisala sniženu ekspresiju PGC-1 α jest Qin i sur. Također, broj kopija mtDNA je snižena uz opadanje aktivnosti transkriptoma mitohondrijske biogeneze. Zanimljiva je poveznica između poremećaja u inzulinskom signaliziranju u mozgu i snižene aktivnosti PGC-1 α što bi mogao biti jedan od mehanizama pretilosti kao rizičnog čimbenika. Postoji poveznica i između ekspresije APP-a i njegovih produkata s aktivnošću PGC-1 α . Naime, povećana ekspresija APP-a povezana je sa sniženom ekspresijom PGC-1 α . Nadalje, presenilin 1 stvarajući AICD peptide povećava ekspresiju PGC-1 α dok sam PGC-1 α snižava ekspresiju BACE1 uz pomoć deacetilacije PPAR γ pomoću proteina sirtuina 1 (SIRT1). Smanjena ekspresija BACE1 smanjuje sekreciju amiloidogenog A β dok se sekrecija topljivog neamiloidogenog APP α povećava. U istraživanjima u kojima su povratili ekspresiju PGC-1 α otkriveno je da pak visoka neregulirana njegova razina dovodi do toksičnog efekta. Pokušaji kemijske stimulacije njegove aktivnosti pomoću agonista bezafibrata ili povećanja ekspresije pomoću NAD-a te suplementacijom melatonina doveli su u modelima do smanjenja tau patologije, redukcije proizvodnje A β , poboljšanja biogeneze i mitohondrijske funkcije uz bolje rezultate na testovima prostornog učenja i pamćenja. Pored stimulacije aktivnosti direktno PGC-1 α pokušalo se utjecati i na molekule nizvodno u aktivacijskoj kaskadi poput hTFAM-a čija je povišena ekspresija i aktivnost dovela do poboljšanja kognitivnih funkcija, sniženja oksidativnog stresa i unutarstaničnog stvaranja A β uz povećanje ekspresije transtiretina koji inhibira agregaciju A β (201–211).

Nuklearni genom kodira 99% mitohondrijskih proteina, stoga je za normalan proces biogeneze nužna i očuvana funkcija ekspresije proteina i potom unosa proteina u mitohondrije što reguliraju proteini u vanjskoj i unutarnjoj membrani. Unos kroz vanjsku membranu omogućuju i reguliraju TOM44 proteini, koji stvaraju pore, uz receptorske proteine TOM20, TOM22 i TOM70 na citosolnoj strani. Prvi koji je natuknuo da bi importni sustav mogao biti zahvaćen jest Alan Rose kad je povezo polimorfnu poli-T varijantu, rs10524523, u TOM40 genu s godinama nastupa sporadične Alzheimerove bolesti. Kasnije je dokazano da oksidativni stres negativno utječe na unos proteina, koji se pojačava razvitkom bolesti. Analizom genskih podataka bolesnika implicirano je da je poremećaj sustava unosa jedan od ključnih zbivanja u bolesti što je kasnije i dokazano. Koncentracije su Tom20 i Tom70 proteina snižene uz smanjenje količine komponenti kompleksa I i III u hipokampusu što dovodi do narušavanja oksidativnog metabolizma (212–215).

Istražuje se i uloga APP-a i A β na sustav unosa proteina. APP proteini imaju signalnu sekvencu koja ih usmjerava prema mitohondrijama i omogućava njihov prijenos kroz membranu. APP se doduše ne unese u potpunosti već tvori stabilne komplekse s translokazama remeteći promet kroz njih što dovodi do disfunkcije mitohondrija. A β pak u potpunosti prođe kroz translokaze i smješta se ponajprije u područje kristi te njegova akumulacija prati rane sinaptičke defekte. Utjecaj je A β na prijenos kroz membranu vanmitohondrijski, putem njegove koagregacije dok deficit unosa proteina korelira sa amiloidogenim kapacitetom A β proteina (216–219).

4.8. Poremećaji u interakciji s endoplazmatskim retikulumom

Kontaktno mjesto između membrana endoplazmatskog retikuluma i mitohondrija (MERC) je neophodno za normalnu funkciju mitohondrija uz posebnu važnost očuvanosti endoplazmatskog dijela koji se iz povijesnih razloga naziva membranom vezanom uz mitohondrije (MAM). Eric Schon je prvi implicirao da bi disfunkcija MAM-a mogla igrati ulogu u patogenezi Alzheimerove bolesti otkrivši da se proteini presenilin 1 i 2 (PS1 i PS2) te gama sekretaze tu nalaze. Kasnija istraživanja ukazala su da se u području MAM-a nalaze i APP te beta sekretaze. Navedeni proteini čine MERC bitnim centrom za proizvodnju A β i mjestom na kojem je primarno izražena njegova toksičnost. U bolešću zahvaćenim mozgovima povećana je ekspresija proteina vezanih uz MAM dok disregulacija MAM-a progredira napretkom bolesti. U životinjskim modelima opisano je da bi disregulacija MAM-a mogla dovesti do disfunkcije mitohondrija povećanjem unosa kalcija u mitohondrije koji inducira stvaranje superoksidnih radikala te da se molekularne promjene MAM-a javljaju rano u tijeku bolesti. Rezultati su staničnih modela konzistentni s navedenim nalazima te pružaju uvid u mehanizam promjena. Primjerice, povećanje ekspresije APP-a ili izloženost A β dovodi do povećanja broja kontaktnih mjesta te povećanja koncentracije kalcija u mitohondrijama

te utječe na kolesterolsku homeostazu potičući sintezu kolesterola i njegov unos u mitohondrije djelujući na aktivnost kontaktnih mjesta. Kod presenilin 1 i 2 dvostrukih knock-out modela povišena je sinteza kolesterol estera i fosfolipida što ukazuje na aberantno povećanje aktivnosti MAM-a te poremećaje u komunikaciji putem kontaktnih mjesta. Nadalje, učinak nedostatka presenilina se objašnjava putem promjena u cijepanju APP-a. Djelovanjem beta sekretaza iz APP-a nastaje peptid C99, koji je supstrat gama sekretazama, čija povišena koncentracija u području MAM-a dovodi do povećanja obrtaja sfingolipida i ceramida što za posljedicu ima promjene u lipidnom sastavu membrana i posljedično promjene u funkciji kontaktnih mjesta. Promjene u funkciju nadalje dovode do disfunkcije metaboličkih procesa i umanjuju mogućnost stvaranja energije. Na aktivnost MAM-a utječe i apolipoprotein E4 kojeg secerniraju astrociti. ApoE4 dovodi također do povećane komunikacije putem kontaktnih mjesta i aktivnosti MAM-a mjereno povećanjem sinteze kolesterol estera i fosfolipida (220–229).

Pored učinak gubitka presenilina 1 na povećanje broja i aktivnosti kontaktnih mjesta nailazi se i na oprečne rezultate gdje je vezanje među membranama oslabljeno dok je pokazano da povećanje ekspresije presenilina 2 može dovesti do jačanja fizičke interakcije i funkcije vjerojatno djelujući na MFN2. Razlike u rezultatima nisu razjašnjenje, ali promjene u smislu povećanja i smanjenja broja i funkcije kontaktnih mjesta mogu dovesti do neželjenih promjena u funkciji endoplazmatskog retikuluma i mitohondrija. Osim razjašnjenja opisanih razlika istražuje se trenutno dovode li promjene u kontaktnim mjestima i kako dovode do poremećaja mitofagije i aktivacije inflammasoma (230,231).

4.9. Poremećaji mitofagije

Zahvaljujući oksidativnom opterećenju i posljedičnom neminovnom oštećenju strukture i funkcije, mitohondriji su razvili sustav kontrole kvalitete putem mitofagije koju primarno regulira PINK1 protein. Oštećeni mitohondriji dovode do promjena u membranskom potencijalu vanjske membrane koji stabilizira i aktivira PINK1. Protein PINK1 fosforilira i regrutira E3-ubikvitin ligazu, Parkin, uz fosforilaciju ubikvitina kojeg iskorištava Parkin za ubikvitinaciju vanjske membrane čime označava mitohondrije i započinje proces mitofagije. Primjer važnost održane funkcije PINK1 ili Parkin proteina jesu njihove mutacije koje dovode do obiteljskog oblika Parkinsonove bolesti ranog nastupa. U sklopu patogeneze Alzheimerove bolesti implicirano je da je proces narušen. Mitohondriji razvitkom bolesti nagomilavaju strukturna i funkcionalna oštećenja i za obnovu fiziološke funkcije neophodno je ukloniti disfunkcionalne mitohondrije i zamijeniti ih zdravima. Elektronskim mikroskopom je nađeno da se oštećeni mitohondriji nakupljaju te da izgledaju otečeno uz izmijenjen oblik kristi. Aktivnost je pak PINK1 proteina i Parkina povećana

kao i razina ubikvitinacije mitohondrijskih proteina dok se mitohondriji nagomilavaju što ukazuje da je proces mitofagije započeo, ali je obustavljen. Razlog ovomu bi mogli biti ili opterećenje sustava mitofagije čija je funkcija narušena, ili poremećaji u nizvodnim procesima vezani uz disfunkciju lizosomalne degradacije (232–240).

Na mitofagiju utječu brojni proteini. Naprimjer, presenilin 1 podržava mitofagiju stvaranjem AICD proteina koji potiče ekspresiju PINK1 proteina dok mutacije u presenilinu 1 dovode do poremećaja acidifikacije lizosoma i proteolize. Posebni oblici tau proteina pak podržavaju mitofagiju. 20-22kDA veliki NH₂-tau fragmenti regrutiraju Parkin i UCHL-1 čineći mitohondrije podložnije aberantnoj autofagiji što doprinosi sinaptičkom propadanju. Nasuprot tomu, povećanje koncentracije tau proteina povećava membranski potencijal mitohondrija što prevenira regrutaciju Parkina. U konačnici u podlozi snižene razine mitofagije jest i smanjenje ekspresije proteina koji ju posreduju poput p-TKB1 i p-ULK1 koja se javlja rano u razvoju Alzheimerove bolesti (241–243). Istraživanje je Hana i sur. ukazalo i na ulogu Ras homologa obogaćenog u mozgu (RHEB) u posredovanju mitofagije te ulogu retrogradnog transporta putem dineina i SNAPINa na održavanje integriteta sinaptičkih mitohondrija. U modelima transgeničnih miševa uz povećanu koncentraciju A β povećano je vezanje RHEB proteina za mitohondrije, a povećanu regrutaciju RHEB-a potiču i promjene u membranskom potencijalu mitohondrija. Navedeno potiče aktivnost mitofagije, no retrogradni je transport narušen što onemogućava njihovo uklanjanje iz sinapsi (244).

Na temelju navedenih otkrića pokušava se povratiti funkcija mitofagije genetskom manipulacijom ili farmakološkom intervencijom. Obnovom funkcije membranski se potencijal vratio u normalu, smanjeno je stvaranje A β i nastanak amiloidne patologije, poboljšana je sinaptička funkcija uz poboljšano kognitivno i bihevioralno funkcioniranje u animalnim modelima. Utjecaj je na amiloidnu patologiju vjerojatno posredovan obnovom efikasnost mikroglijalne fagocitoze. Poboljšanje funkcije mitofagije nadalje smanjuje inflamatorima posredovanu neuroinflamaciju (245,246).

4.10. Promjene mitohondrijske proteostaze

Kvaliteta se kontrole unutar mitohondrija izvršava i na razini proteina. Pomoću šaperona i proteaza reguliraju se nastala oštećenja proteina u svakom od odjeljaka. Šaperoni su vezani uz proces translokacije i sklapanja proteina dok proteaze ovisne o ATP-u uklanjaju oštećene ili pogrešno sklopljene proteine. Gubitak njihove funkcije dovest će do nagomilavanja oštećenih i nefunkcionalnih proteina te u konačnici do disfunkcije mitohondrija. Važnost se navedenog sustava ogleda i u mutacijama u genima šaperona i proteaza koje dovode do teških neuroloških smetnji. U korist poremećaja proteostaze govore nalazi akumulacije oštećenih proteina i mtDNA u mitohondrijima. Jedno je istraživanje pokazalo da je ekspresija šaperona i proteaza povećana vjerojatno kao protektivna reakcija nedovoljno velikog učinka do koje dolazi prije vidljive tau i A β patologije. Pojačana je aktivnost mitohondrijske proteostaze povezana i sa smanjenjem toksičnosti A β u životinjskim modelima (247–250). Fokus je istraživanja trenutno usmjeren na dvije mitohondrijske proteaze vezane uz obradu i metabolizam APP-a i A β , a to su PreP i HtrA2/Omi proteaze. PreP se nalazi u mitohondrijskom matriksu i sudjeluje u dozrijevanju proteina matriksa. PreP ima sposobnost degradacije A β ₄₀ i A β ₄₂. Otkriveno je da oksidativni stres može narušiti funkciju PrePa te da A β također može sudjelovati u tomu što dovodi do smanjenja funkcionalnosti proteina matriksa. Kod modela kod kojih je ekspresija PrePa povećana umanjena je pak amiloidna patologija i sinaptička disfunkcija (251–253).

Serinska proteaza HtrA2/Omi smještena je u intermembranskom prostoru. U Švedskom istraživanju slučajeva i kontrola otkrivena je povezanost između pojačane specifične aktivnosti proteaze i Alzheimerove bolesti. Proteaza u interakciju s A β proteinima može ući pomoću svoje PDZ domene na C-kraju. Utjecaj A β na aktivnost proteaze nije razjašnjena. Proteza obnaša i funkciju šaperona te odgađa agregaciju A β ₁₋₄₂ peptida. Akumulira se i ekstracelularno te promjene u njezinoj funkciji bi mogle utjecati na ekstracelularno odlaganje amiloida. Utjecaj ovih procesa na funkciju mitohondrija također nije razjašnjen. Jedan od mogućih pozitivnih učinaka jest mogućnost cijepanja APPa uz otpuštanje C161 fragmenta u citosol. Cijepanje APP-a ima potencijalno pozitivan učinak na mitohondrijsku funkciju smanjujući sposobnost akumulacije APP-a što dovodi do disfunkcije kao što je opisano. Nadalje, HtrA2 proteaza ulazi u interakciju i s presenilinom modulirajući cijepanje APP-a. Interakcija utječe i na aktivnost proteaze jer je C-terminalni dio presenilina 1 aktivni peptidni ligand PDZ domene čime se može inducirati stanična smrt posredovana HtrA2 proteazom (254–258).

U konačnici unatoč nagomilavanju oštećenih proteina same promjene u procesima proteostaze nisu razjašnjene. Nadalje, uočeno je da povrh kontrole nad vlastitim proteinima, mitohondrijske

proteaze sudjeluju i u razgradnji citosolnih proteina sklonih agregaciji nakon njihova unosa u mitohondrije implicirajući ulogu mitohondrijske proteostaze i na regulaciju homeostaze citosolnih proteina time utječući na integritet neurona (259,260).

5. Zaključak

Alzheimerova je demencija progresivna neurodegenerativna bolest za koju još uvijek nije pronađen učinkovit lijek. Prevalencija joj je u porastu i time društveno opterećenje njome. Karakterističan je za nju gubitak kognitivnih funkcija u čijoj je podlozi sinaptička disfunkcija i gubitak neurona. Dugo je prevladavalo mišljenje da je ključ patogeneze nastanak toksičnih amiloidnih proteina, stvaranje amiloidnih plakova i neurofibrilarnih snopića uz hiperfosforilaciju tau proteina. Zahvaljujući brojnim istraživanjima potaknutim saznanjima o hipoenergozi uz hipometabolizam u bolešću zahvaćenim regijama mozga pozornost se počela usmjeravati na mitohondrije. Bilo da se patogenezi pristupa iz pozicije inzulinske rezistencije, amiloidne kaskadne hipoteze ili mitohondrijske kaskadne hipoteze izgledno je da su za progresiju bolesti važni disfunkcionalni mitohondriji. Gotovo je svaka funkcija mitohondrija zahvaćena. Mitohondrijski je genom izmijenjen uz abnormalnu ekspresiju gena, aktivnost je enzima snižena, proces fuzije je narušen što povećava broj fragmentiranih mitohondrija, otežan je aksonalni transport, izmijenjen je i membranski potencijal, a mitofagija i biogeneza su defektne. Nova otkrića u području funkcije mitohondrija i mehanizama njihovih interakcija s ostalim organelama omogućavaju razjašnjavanje patoloških promjena do kojih u njima dolazi, a zajedno otvaraju vrata novim farmakološkim intervencijama i dijagnostičkim testovima. Sadašnja su saznanja već dovela do novih ideja. Istražuju se učinci prirodnih antioksidansa, antioksidansa usmjerenih na mitohondrije (planiraju se klinička istraživanja molekula MitoQ i SS31) i molekula koje potiču mitofagiju (u kulturama stanica i mišjim modelima istražuje se učinak urolitina, aktinina, tomatidina, NAD⁺ ribozida i kombinacija urolitina s EGCG-om). Doduše, mehanizam nastanka promjena i interakcije među promjenama nisu u potpunosti razjašnjene što je ključno za učinkovitu prevenciju i terapiju i zbog čega se nastavlja intenzivno istraživati uloga mitohondrija.

6. Zahvale

Zahvaljujem svojoj mentorici, izv. prof. Jeleni Osmanović-Barilar na podršci, strpljenju i pruženoj prilici tijekom akademske godine. Vrijeme su studiranja, koliko god da je bilo lijepo, pratili brojni izazovi koje ne bih uspio savladati bez podrške prvenstveno obitelji i prijatelja. Stoga veliko hvala ocu Ivu Koli, majci Lidiji Koli i bratu Marku Koli.

7. Literatura

1. Knopman DS, Amieva H, Petersen RC, Chételat G, Holtzman DM, Hyman BT, et al. Alzheimer disease. *Nat Rev Dis Primers*. 2021 13;7(1):33. doi: 10.1038/s41572-021-00269-y.
2. Jessen F, Amariglio RE, van Boxtel M, Breteler M, Ceccaldi M, Chételat G, et al. A conceptual framework for research on subjective cognitive decline in preclinical Alzheimer's disease. *Alzheimer's and Dementia*. 2014 1;10(6): p. 844–52.
3. Petersen RC. Mild cognitive impairment as a diagnostic entity. *J Intern Med*. 2004;256(3): p. 183-94.
4. McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, Hyman BT, Jack CR, Kawas CH, et al. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's and Dementia*. 2011;7(3): p. 263–9.
5. Petersen RC. How early can we diagnose Alzheimer disease (and is it sufficient)? *Neurology*. 2018 28;91(9): p. 395–402.
6. Nelson PT, Head E, Schmitt FA, Davis PR, Neltner JH, Jicha GA, et al. Alzheimer's disease is not "brain aging": Neuropathological, genetic, and epidemiological human studies. *Acta Neuropathologica*. 2011;121(5): p. 571–87.
7. Boyle PA, Yu L, Wilson RS, Leurgans SE, Schneider JA, Bennett DA. Person-specific contribution of neuropathologies to cognitive loss in old age. *Ann Neurol*. 2018;83(1): p. 74–83.
8. Mielke MM, Vemuri P, Rocca WA. Clinical epidemiology of Alzheimer's disease: Assessing sex and gender differences. *Clinical Epidemiology*. 2014. p. 37–48.
9. Thambisetty M, An Y, Tanaka T. Alzheimer's disease risk genes and the age-at-onset phenotype. *Neurobiol Aging*. 2013;34(11): p. 2696.e1-5.
10. Van der Lee SJ, Wolters FJ, Ikram MK, Hofman A, Ikram MA, Amin N, et al. The effect of APOE and other common genetic variants on the onset of Alzheimer's disease and dementia: a community-based cohort study. *Lancet Neurol*. 2018;17(5): p. 434–44.
11. Livingston G, Huntley J, Sommerlad A, Ames D, Ballard C, Banerjee S, et al. Dementia prevention, intervention, and care: 2020 report of the Lancet Commission. *The Lancet*. Lancet Publishing Group; 2020. p. 413–46.
12. Singh-Manoux A, Dugravot A, Fournier A, Abell J, Ebmeier K, Kivimäki M, et al. Trajectories of depressive symptoms before diagnosis of dementia: A 28-year follow-up study. *JAMA Psychiatry*. 2017;74(7): p. 712–8.
13. Gottesman RF, Albert MS, Alonso A, Coker LH, Coresh J, Davis SM, et al. Associations between midlife vascular risk factors and 25-year incident dementia in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) cohort. *JAMA Neurol*. 2017;74(10): p. 1246–54.
14. Samieri C, Perier MC, Gaye B, Proust-Lima C, Helmer C, Dartigues JF, et al. Association of cardiovascular health level in older age with cognitive decline and incident dementia. *JAMA - Journal of the American Medical Association*. 2018;320(7): p. 657–64.
15. Vemuri P, Lesnick TG, Przybelski SA, Knopman DS, Preboske GM, Kantarci K, et al. Vascular and amyloid pathologies are independent predictors of cognitive decline in normal elderly. *Brain*. 2015;138(3): p. 761–71.
16. Watts ME, Pocock R, Claudianos C. Brain Energy and Oxygen Metabolism: Emerging Role in Normal Function and Disease. *Front Mol Neurosci*. 2018;11:216. doi: 10.3389/fnmol.2018.00216.
17. Roy CS, Sherrington CS. On the Regulation of the Blood-supply of the Brain. *J Physiol*. 1890;11(1-2): p. 85-158.17.
18. Tsai PS, Kauffhold JP, Blinder P, Friedman B, Drew PJ, Karten HJ, et al. Correlations of neuronal and microvascular densities in murine cortex revealed by direct counting and colocalization of nuclei and vessels. *Journal of Neuroscience*. 2009;29(46): p. 14553–70.
19. Vanlandewijck M, He L, Mäe MA, Andrae J, Ando K, del Gaudio F, et al. A molecular atlas of cell types and zonation in the brain vasculature. *Nature*. 2018;554(7693): p. 475–80.
20. Hyder F, Rothman DL, Bennett MR. Cortical energy demands of signaling and non-signaling components in brain are conserved across mammalian species and activity levels. Vol. 110, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2013. p. 3549–54.
21. Harris JJ, Jolivet R, Attwell D. Synaptic Energy Use and Supply. *Neuron*. 2012. p. 762–77.
22. Attwell D, Laughlin SB. An energy budget for signaling in the grey matter of the brain. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2001;21(10): p. 1133-45.

23. Rangaraju V, Calloway N, Ryan TA. Activity-driven local ATP synthesis is required for synaptic function. *Cell*. 2014 Feb;156(4): p. 825–35.
24. Pathak D, Shields LY, Mendelsohn BA, Haddad D, Lin W, Gerencser AA, et al. The role of mitochondrially derived ATP in synaptic vesicle recycling. *Journal of Biological Chemistry*. 2015;290(37): p. 22325–36.
25. Zhou C, Huang Y, Przedborski S. Oxidative stress in Parkinson's disease: A mechanism of pathogenic and therapeutic significance. In: *Annals of the New York Academy of Sciences*. Blackwell Publishing Inc.; 2008. p. 93–104.
26. Silverman DHS, Small GW, Chang CY, Lu CS, Kung De Aburto MA, Chen W, et al. Positron Emission Tomography in Evaluation of Dementia Regional Brain Metabolism and Long-term Outcome *JAMA*. 2001;286(17): p. 2120-7.
27. Roy CS, Sherrington CS. On the Regulation of the Blood-supply of the Brain. *J Physiol*. 1890;11(1-2): p. 85-158.17.
28. Miki N, Kawabe Y, Kuriyama K. BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS ACTIVATION OF CEREBRAL GUANYLATE CYCLASE BY NITRIC OXIDE.1977. p. 851-856
29. Takano T, Tian GF, Peng W, Lou N, Libionka W, Han X, et al. Astrocyte-mediated control of cerebral blood flow. *Nat Neurosci*. 2006;9(2): p. 260–7.
30. Mishra A, Reynolds JP, Chen Y, Gourine A v., Rusakov DA, Attwell D. Astrocytes mediate neurovascular signaling to capillary pericytes but not to arterioles. *Nat Neurosci*. 2016;19(12): p. 1619–27.
31. Kvamme E. Synthesis of glutamate and its regulation. *Progress in Brain Research*. Elsevier,1998. p. 73-85
32. Bergles DE, Jahr CE. Synaptic Activation of Glutamate Transporters in Hippocampal Astrocytes. *Neuron*.1997;19(6): p. 1297-308.
33. Pellerin L, Magistretti PJ. Glutamate Uptake Stimulates Na + K +-ATPase Activity in Astrocytes via Activation of a Distinct Subunit Highly Sensitive to Ouabain. *J. Neurochem*. 1997;69(5): p. 2132-7.
34. Kasischke KA, Vishwasrao HD, Fisher PJ, Zipfel WR, Webb WW. Neural activity triggers neuronal oxidative metabolism followed by astrocytic glycolysis. *Science* (1979). 2004;305(5680): p. 99–103.
35. Pellerin L, Magistretti PJ. Glutamate uptake into astrocytes stimulates aerobic glycolysis: A mechanism coupling neuronal activity to glucose utilization (glutamate transporter/Na+/K+-ATPase/2-deoxyglucose/positron-emission tomography/magnetic resonance imaging). *Proc. Natd. Acad. Sci. USA*. 1994;91(22): p. 10625-9.
36. Kaplan L, Chow BW, Gu C. Neuronal regulation of the blood–brain barrier and neurovascular coupling. *Nature Reviews Neuroscience*. *Nature Research*; 2020. p. 416–32.
37. Van Zijl PCM, Hua J, Lu H. The BOLD post-stimulus undershoot, one of the most debated issues in fMRI. *NeuroImage*. 2012. p. 1092–102.
38. Lu H, Golay X, Pekar JJ, van Zijl PCM. Sustained poststimulus elevation in cerebral oxygen utilization after vascular recovery. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*. 2004;24(7): p. 764–70.
39. Lin AL, Fox PT, Hardies J, Duong TQ, Gao JH. Nonlinear coupling between cerebral blood flow, oxygen consumption, and ATP production in human visual cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(18): p. 8446–51.
40. Wagenführ L, Meyer AK, Braunschweig L, Marrone L, Storch A. Brain oxygen tension controls the expansion of outer subventricular zone-like basal progenitors in the developing mouse brain. *Development (Cambridge)*. 2015;142(17): p. 2904–15.
41. Martí-Fàbregas J, Romaguera-Ros M, Gómez-Pinedo U, Martínez-Ramírez S, Jiménez-Xarrié E, Marín R, et al. Proliferation in the human ipsilateral subventricular zone after ischemic stroke *Neurology*. 2010;74(5): p. 357-65.
42. Denko NC, Fontana LA, Hudson KM, Sutphin PD, Raychaudhuri S, Altman R, et al. Investigating hypoxic tumor physiology through gene expression patterns. *Oncogene*. 2003. p. 5907–14.
43. Hunsberger JG, Bennett AH, Selvanayagam E, Duman RS, Newton SS. Gene profiling the response to kainic acid induced seizures. *Molecular Brain Research*. 2005;141(1): p. 95–112.
44. O'Sullivan NC, McGettigan PA, Sheridan GK, Pickering M, Conboy L, O'Connor JJ, et al. Temporal change in gene expression in the rat dentate gyrus following passive avoidance learning. *J Neurochem*. 2007;101(4): p. 1085–98.
45. Wiemerslage L, Lee D. Quantification of mitochondrial morphology in neurites of dopaminergic neurons using multiple parameters. *J Neurosci Methods*. 2016;262: p. 56–65.
46. Collins TJ, Berridge MJ, Lipp P, Bootman MD. Mitochondria are morphologically and functionally heterogeneous within cells. *EMBO J*. 2002;21(7): p. 1616-27.

47. Andersson SGE, Karlberg O, Canbäck B, Kurland CG, Whatley FR, van der Giezen M, et al. On the origin of mitochondria: A genomics perspective. In: *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. Royal Society; 2003. p. 165–79.
48. Chan DC. Mitochondria: Dynamic Organelles in Disease, Aging, and Development. *Cell*. Elsevier B.V.; 2006. p. 1241–52.
49. Liu X, Kim CN, Yang J, Jemmerson R, Wang X. Induction of Apoptotic Program in Cell-Free Extracts: Requirement for dATP and Cytochrome c. *Cell*. 1996.;86(1): p. 147-57.
50. Chipuk JE, Bouchier-Hayes L, Green DR. Mitochondrial outer membrane permeabilization during apoptosis: The innocent bystander scenario. *Cell Death and Differentiation*. 2006. p. 1396–402.
51. Chandel NS. Evolution of Mitochondria as Signaling Organelles. *Cell Metabolism*. Cell Press; 2015. p. 204–6.
52. Bahat A, Gross A. Mitochondrial plasticity in cell fate regulation. *Journal of Biological Chemistry*. American Society for Biochemistry and Molecular Biology Inc.; 2019. p. 13852–63.
53. Chen H, Ren S, Clish C, Jain M, Mootha V, McCaffery JM, et al. Titration of mitochondrial fusion rescues Mff-deficient cardiomyopathy. *Journal of Cell Biology*. 2015;211(4): p. 795–805.
54. Delettre C, Lenaers G, Griffoin JM, Gigarel N, Lorenzo C, Belenguer P, et al. Nuclear gene OPA1, encoding a mitochondrial dynamin-related protein, is mutated in dominant optic atrophy. *Nat Genet*. 2000;26(2): p. 207-10.
55. Santel A FM. Control of mitochondrial morphology by a human mitofusin. *J Cell Sci*. 2001; 114(Pt 5): p. 867-74.
56. Smirnova E, Griparic L, Shurland DL, van der Bliek AM. Dynamin-related Protein Drp1 Is Required for Mitochondrial Division in Mammalian Cells. *Molecular Biology of the Cell*. 2001.;12(8): p. 2245-56.
57. Otera H, Wang C, Cleland MM, Setoguchi K, Yokota S, Youle RJ, et al. Mff is an essential factor for mitochondrial recruitment of Drp1 during mitochondrial fission in mammalian cells. *Journal of Cell Biology*. 2010;191(6): p. 1141–58.
58. Palmer CS, Osellame LD, Laine D, Koutsopoulos OS, Frazier AE, Ryan MT. MiD49 and MiD51, new components of the mitochondrial fission machinery. *EMBO Rep*. 2011;12(6): p. 565–73.
59. Losó n OC, Song Z, Chen H, Chan DC. Fis1, Mff, MiD49, and MiD51 mediate Drp1 recruitment in mitochondrial fission. *Mol Biol Cell*. 2013;24(5): p. 659–67.
60. Giacomello M, Pyakurel A, Glytsou C, Scorrano L. The cell biology of mitochondrial membrane dynamics. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. Nature Research; 2020. p. 204–24.
61. Hayashi T, Rizzuto R, Hajnoczky G, Su TP. MAM: more than just a housekeeper. *Trends in Cell Biology*. 2009. p. 81–8.
62. Giacomello M, Pellegrini L. The coming of age of the mitochondria-ER contact: A matter of thickness. *Cell Death and Differentiation*. Nature Publishing Group; 2016. p. 1417–27.
63. Wu MJ, Chen YS, Kim MR, Chang CC, Gampala S, Zhang Y, et al. Epithelial-Mesenchymal Transition Directs Stem Cell Polarity via Regulation of Mitofusin. *Cell Metab*. 2019;29(4): p. 993-1002
64. Singaravelu K, Nelson C, Bakowski D, de Brito OM, Ng SW, di Capite J, et al. Mitofusin 2 regulates STIM1 migration from the Ca²⁺ store to the plasma membrane in cells with depolarized mitochondria. *Journal of Biological Chemistry*. 2011 Apr;286(14): p. 12189–201.
65. Das A, Nag S, Mason AB, Barroso MM. Endosome-mitochondria interactions are modulated by iron release from transferrin. *Journal of Cell Biology*. 2016;214(7): p. 831-45.
66. Charman M, Kennedy BE, Osborne N, Karten B. MLN64 mediates egress of cholesterol from endosomes to mitochondria in the absence of functional Niemann-Pick Type C1 protein. *J Lipid Res*. 2010;51(5): p. 1023–34.
67. Wang H, Sreenevasan U, Hu H, Saladino A, Polster BM, Lund LM, et al. Perilipin 5, a lipid droplet-associated protein, provides physical and metabolic linkage to mitochondria. *J Lipid Res*. 2011;52(12): p. 2159–68.
68. Benador IY, Veliova M, Mahdavian K, Petcherski A, Wikstrom JD, Assali EA, et al. Mitochondria Bound to Lipid Droplets Have Unique Bioenergetics, Composition, and Dynamics that Support Lipid Droplet Expansion. *Cell Metab*. 2018;27(4): p. 869-885.e6.
69. Fransen M, Lismont C, Walton P. The peroxisome-mitochondria connection: How and why? *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG; 2017;18(6):1126. doi.org/10.3390/ijms18061126
70. Raza Shaikh S, Brown DA. Models of plasma membrane organization can be applied to mitochondrial membranes to target human health and disease with polyunsaturated fatty acids. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2013;88(1): p. 21–5.
71. Schenkel LC, Bakovic M. Formation and regulation of mitochondrial membranes. *International Journal of Cell Biology*. 2014;2014:709828. doi: 10.1155/2014/709828.

72. Neupert W, Herrmann JM. Translocation of proteins into mitochondria. *Annu Rev Biochem.* 2007;76: p. 723-49..
73. Osman C, Voelker DR, Langer T. Making heads or tails of phospholipids in mitochondria. *Journal of Cell Biology.* 2011. p. 7–16.
74. Houtkooper RH, Vaz FM. Cardiolipin, the heart of mitochondrial metabolism. *Cellular and Molecular Life Sciences.* 2008. p. 2493–506.
75. Pfeiffer K, Gohil V, Stuart RA, Hunte C, Brandt U, Greenberg ML, et al. Cardiolipin Stabilizes Respiratory Chain Supercomplexes. *Journal of Biological Chemistry.* 2003;278(52): p. 52873–80.
76. Claypool SM, Oktay Y, Boonthung P, Loo JA, Koehler CM. Cardiolipin defines the interactome of the major ADP/ATP carrier protein of the mitochondrial inner membrane. *Journal of Cell Biology.* 2008;182(5): p. 937–50.
77. Zhong H, Lu J, Xia L, Zhu M, Yin H. Formation of electrophilic oxidation products from mitochondrial cardiolipin in vitro and in vivo in the context of apoptosis and atherosclerosis. *Redox Biol.* 2014;2(1): p. 878–83.
78. Montine TJ, Montine KS, McMahan W, Markesbery WR, Quinn JF, Morrow JD. F2-isoprostanes in Alzheimer and other neurodegenerative diseases. *Antioxid Redox Signal.* 2005;7(1-2): p. 269-75.
79. Frey TG, Mannella CA. The internal structure of mitochondria. *Trends Biochem Sci.* 2000;25(7): p. 319-24..
80. Vogel F, Bornhövd C, Neupert W, Reichert AS. Dynamic subcompartmentalization of the mitochondrial inner membrane. *Journal of Cell Biology.* 2006;175(2): p. 237–47.
81. Demongeot J, Glade N, Hansen O, Moreira A. An open issue: The inner mitochondrial membrane (IMM) as a free boundary problem. *Biochimie.* 2007;89(9): p. 1049–57.
82. Wang L, Yan Z, Vihinen H, Eriksson O, Wang W, Soliymani R, et al. FAM92A1 is a BAR domain protein required for mitochondrial ultrastructure and function. *Journal of Cell Biology.* 2019;218(1): p. 97–111.
83. Davies KM, Anselmi C, Wittig I, Faraldo-Gómez JD, Kühlbrandt W. Structure of the yeast F₁F_o-ATP synthase dimer and its role in shaping the mitochondrial cristae. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012;109(34): p. 13602-7.
84. Cserép C, Pósfai B, Schwarcz AD, Dénes Á. Mitochondrial ultrastructure is coupled to synaptic performance at axonal release sites. *eNeuro.* 2018;5(1):ENEURO.0390-17.2018. doi: 10.1523/ENEURO.0390-17.2018.
85. Wolf DM, Segawa M, Kondadi AK, Anand R, Bailey ST, Reichert AS, et al. Individual cristae within the same mitochondrion display different membrane potentials and are functionally independent. *EMBO J.* 2019;38(22):e101056. doi: 10.15252/embj.2018101056
86. Hackenbrock CR. Ultrastructural bases for metabolically linked mechanical activity in mitochondria. I. Reversible ultrastructural changes with change in metabolic steady state in isolated liver mitochondria. *J Cell Biol.* 1966;30(2): p. 269-97.
87. Mannella CA, Pfeiffer DR, Bradshaw PC, Moraru II, Slepchenko B, Loew LM, Hsieh CE, Buttle K, Marko M. Topology of the mitochondrial inner membrane: dynamics and bioenergetic implications. *IUBMB Life.* 2001;52(3-5): p. 93-100.
88. Cogliati S, Frezza C, Soriano ME, Varanita T, Quintana-Cabrera R, Corrado M, et al. Mitochondrial cristae shape determines respiratory chain supercomplexes assembly and respiratory efficiency. *Cell.* 2013;155(1): p. 160–71.
89. Neupane P, Bhuju S, Thapa N, Bhattarai HK. ATP Synthase: Structure, Function and Inhibition. *Biomol Concepts.* 2019;10(1): p. 1–10.
90. Letts JA, Sazanov LA. Clarifying the supercomplex: The higher-order organization of the mitochondrial electron transport chain. *Nature Structural and Molecular Biology.* *Nature Research;* 2017. p. 800–8.
91. Vinogradov AD. New Perspective on the Reversibility of ATP Synthesis and Hydrolysis by Fo-F1-ATP Synthase (Hydrolase). *Biochemistry (Moscow).* *Pleiades journals;* 2019. p. 1247–55.
92. Dereven'kov IA, Hannibal L, Makarov S v., Molodtsov PA. Catalytic effect of riboflavin on electron transfer from NADH to aquacobalamin. *Journal of Biological Inorganic Chemistry.* 2020;25(1): p. 125–33.
93. Pehar M, Harlan BA, Killoy KM, Vargas MR. Nicotinamide Adenine Dinucleotide Metabolism and Neurodegeneration. *Antioxidants and Redox Signaling.* *Mary Ann Liebert Inc.;* 2018. p. 1652–68.
94. Miranda-Quintana RA, Martínez González M, Ayers PW. Electronegativity and redox reactions. *Physical Chemistry Chemical Physics.* 2016;18(32): p. 22235–43.
95. Morelli AM, Ravera S, Calzia D, Panfoli I. An update of the chemiosmotic theory as suggested by possible proton currents inside the coupling membrane. *Open Biology.* *Royal Society Publishing;* 2019;9(4):180221. doi: 10.1098/rsob.180221.

96. Nguyen M, Millar DG, Yong VW, Korsmeyer SJ, Shore GC. Targeting of Bcl-2 to the mitochondrial outer membrane by a COOH-terminal signal anchor sequence. *Journal of Biological Chemistry*. 1993;268(34): p. 25265–8.
97. Scorrano L, Korsmeyer SJ. Mechanisms of cytochrome c release by proapoptotic BCL-2 family members. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003;304(3): p. 437–44.
98. Karbowski M, Norris KL, Cleland MM, Jeong SY, Youle RJ. Role of Bax and Bak in mitochondrial morphogenesis. *Nature*. 2006;443(7112): p. 658–62.
99. Karbowski M, Lee YJ, Gaume B, Jeong SY, Frank S, Nechushtan A, et al. Spatial and temporal association of Bax with mitochondrial fission sites, Drp1, and Mfn2 during apoptosis. *Journal of Cell Biology*. 2002;159(6): p. 931–8.
100. Landes T, Emorine LJ, Courilleau D, Rojo M, Belenguer P, Arnauné-Pelloquin L. The BH3-only Bnip3 binds to the dynamin Opa1 to promote mitochondrial fragmentation and apoptosis by distinct mechanisms. *EMBO Rep*. 2010;11(6): p. 459–65.
101. Elmore S. Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. *Toxicologic Pathology*. 2007. p. 495–516.
102. Bernardi P, Rasola A, Forte M, Lippe G. THE MITOCHONDRIAL PERMEABILITY TRANSITION PORE: CHANNEL FORMATION BY F-ATP SYNTHASE, INTEGRATION IN SIGNAL TRANSDUCTION, AND ROLE IN PATHOPHYSIOLOGY. *Pathophysiology Physiol Rev*. 2015;95: p. 1111–55
103. Yamaguchi R, Lartigue L, Perkins G, Scott RT, Dixit A, Kushnareva Y, et al. Opa1-Mediated Cristae Opening Is Bax/Bak and BH3 Dependent, Required for Apoptosis, and Independent of Bak Oligomerization. *Mol Cell*. 2008;31(4): p. 557–69.
104. Cogliati S, Enriquez JA, Scorrano L. Mitochondrial Cristae: Where Beauty Meets Functionality. *Trends in Biochemical Sciences*. Elsevier Ltd; 2016. p. 261–73.
105. Karbowski M, Arnoult D, Chen H, Chan DC, Smith CL, Youle RJ. Quantitation of mitochondrial dynamics by photolabeling of individual organelles shows that mitochondrial fusion is blocked during the Bax activation phase of apoptosis. *Journal of Cell Biology*. 2004;164(4): p. 493–9.
106. Patten DA, Wong J, Khacho M, Soubannier V, Mailloux RJ, Pilon-Larose K, et al. OPA1-dependent cristae modulation is essential for cellular adaptation to metabolic demand. *EMBO J*. 2014;33(22): p. 2676–91.
107. Miyamoto T, Rho E, Sample V, Akano H, Magari M, Ueno T, et al. Compartmentalized AMPK Signaling Illuminated by Genetically Encoded Molecular Sensors and Actuators. *Cell Rep*. 2015;11(4): p. 657–70.
108. Papa S, Francavilla A, Paradies G, Meduri B. The transport of pyruvate in rat liver mitochondria. *FEBS Lett*. 1971;12(5): p. 285-288.
109. Sgrignani J, Chen JJ, Alimonti A, Cavalli A. How phosphorylation influences E1 subunit pyruvate dehydrogenase: A computational study. *Sci Rep*. 2018;8(1):14683 doi: 10.1038/s41598-018-33048-z
110. Patel MS, Nemeria NS, Furey W, Jordan F. The pyruvate dehydrogenase complexes: Structure-based function and regulation. *Journal of Biological Chemistry*. American Society for Biochemistry and Molecular Biology Inc.; 2014. p. 16615–23.
111. Billgren ES, Cicchillo RM, Nesbitt NM, Booker SJ. Lipoic acid biosynthesis and enzymology. In *Comprehensive Natural Products II: Chemistry and Biology*. Elsevier Ltd. 2010. p. 181-212.
112. Minakami S, Yoshikawa H. Studies on erythrocyte glycolysis. II. Free energy changes and rate limiting steps in erythrocyte glycolysis. *J Biochem*. 1966;59(2): p. 139-44.
113. Houten SM, Violante S, Ventura F v., Wanders RJA. The Biochemistry and Physiology of Mitochondrial Fatty Acid β -Oxidation and Its Genetic Disorders. *Annual Review of Physiology*. Annual Reviews Inc.; 2016. p. 23–44.
114. de Lima FD, Correia ALM, Teixeira D da S, da Neto DVS, Fernandes ÍSG, Viana MBX, et al. Acute metabolic response to fasted and postprandial exercise. *Int J Gen Med*. 2015;8: p. 255–60.
115. Alves-Bezerra M, Cohen DE. Triglyceride metabolism in the liver. *Compr Physiol*. 2018;8(1): p. 1–22.
116. Longo N, Frigeni M, Pasquali M. Carnitine transport and fatty acid oxidation. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*. 2016;1863(10): p. 2422–35.
117. Gibala MJ, MacLean DA, Graham TE, Saltin B. Anaplerotic processes in human skeletal muscle during brief dynamic exercise. *J Physiol*. 1997;502: p. 703-13
118. Hertz L, Hertz E. Cataplerotic TCA cycle flux determined as glutamate-sustained oxygen consumption in primary cultures of astrocytes. In: *Neurochemistry International*. Elsevier Ltd; 2003. p. 355–61.
119. Minárik P, Tomášková N, Kollárová M, Antalík M. Malate Dehydrogenases-Structure and Function. *Gen. Physiol. Biophys*. 2002;21(3): p. 257-65.

120. Yogevev O, Yogevev O, Singer E, Shaulian E, Goldberg M, Fox TD, et al. Fumarase: A mitochondrial metabolic enzyme and a cytosolic/nuclear component of the dna damage response. *PLoS Biol.* 2010;9(8(3):e1000328. doi: 10.1371/journal.pbio.1000328.
121. Cavalcanti JHF, Esteves-Ferreira AA, Quinhones CGS, Pereira-Lima IA, Nunes-Nesi A, Fernie AR, et al. Evolution and functional implications of the tricarboxylic acid cycle as revealed by phylogenetic analysis. *Genome Biol Evol.* 2014;6(10): p. 2830–48.
122. Spydevold S, Davis EJ, Bremer J. Replenishment and depletion of citric acid cycle intermediates in skeletal muscle. Indication of pyruvate carboxylation. *Eur J Biochem.* 1976;71(1): p. 155-65.
123. Wiegand G, Remington SJ. Citrate synthase: structure, control, and mechanism. *Annu Rev Biophys Biophys Chem.* 1986;15: p. 97-117.
124. Pechter KB, Meyer FM, Serio AW, Stülke J, Sonenshein AL. Two roles for aconitase in the regulation of tricarboxylic acid branch gene expression in *Bacillus subtilis*. *J Bacteriol.* 2013;195(7): p. 1525–37.
125. Al-Khallaf H. Isocitrate dehydrogenases in physiology and cancer: Biochemical and molecular insight. *Cell Biosci.* 2017;7:37. doi: 10.1186/s13578-017-0165-3.
126. Krebs HA, Johnson WA. Metabolism of ketonic acids in animal tissues. *Biochem J.* 1937;31(4): p. 645-60
127. Tretter L, Adam-Vizi V. Alpha-ketoglutarate dehydrogenase: A target and generator of oxidative stress. In: *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences.* Royal Society; 2005. p. 2335–45.
128. Phillips D, Aponte AM, French SA, Chess DJ, Balaban RS. Succinyl-CoA synthetase is a phosphate target for the activation of mitochondrial metabolism. *Biochemistry.* 2009;48(30): p. 7140–9.
129. Rutter J, Winge DR, Schiffman JD. Succinate dehydrogenase - Assembly, regulation and role in human disease. *Mitochondrion.* 2010;10(4): p. 393–401.
130. Karran E, Mercken M, Strooper B de. The amyloid cascade hypothesis for Alzheimer's disease: An appraisal for the development of therapeutics. *Nature Reviews Drug Discovery.* 2011. p. 698–712.
131. Swerdlow RH, Khan SM. A "mitochondrial cascade hypothesis" for sporadic Alzheimer's disease. *Med Hypotheses.* 2004;63(1): p. 8–20.
132. Lin MT, Beal MF. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Nature.* 2006. p. 787–95.
133. Swerdlow RH. Mitochondria and Mitochondrial Cascades in Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease.* IOS Press; 2018. p. 1403–16.
134. Wang X, Wang W, Li L, Perry G, Lee H gon, Zhu X. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease.* Elsevier; 2014. p. 1240–7.
135. Weise CM, Chen K, Chen Y, Kuang X, Savage CR, Reiman EM. Left lateralized cerebral glucose metabolism declines in amyloid- β positive persons with mild cognitive impairment. *Neuroimage Clin.* 2018;20: p. 286–96.
136. Reiman, Eric & Chen, Kewei & Alexander, Gene & Caselli, Richard & Bandy, Daniel & Osborne, et al. Functional brain abnormalities in young adults at genetic risk for late-onset Alzheimer's dementia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*;2004;101: p. 284-9.
137. Paranjpe MD, Chen X, Liu M, Paranjpe I, Leal JP, Wang R, et al. The effect of ApoE ϵ 4 on longitudinal brain region-specific glucose metabolism in patients with mild cognitive impairment: a FDG-PET study. *Neuroimage Clin.* 2019;22:101795. doi: 10.1016/j.nicl.2019.101795.
138. Crane PK, Walker R, Hubbard RA, Li G, Nathan DM, Zheng H, et al. Glucose levels and risk of dementia. *Forschende Komplementarmedizin. S. Karger AG*; 2013. p. 386–7.
139. Kapogiannis D, Mattson MP. Disrupted energy metabolism and neuronal circuit dysfunction in cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Lancet Neurol.* 2011;10(2): p. 187-98.
140. McDade E, Wang G, Gordon BA, Hassenstab J, Benzinger TLS, Buckles V, et al. Longitudinal cognitive and biomarker changes in dominantly inherited Alzheimer disease. *Neurology.* 2018;91(14): p. E1295–306.
141. Altmann A, Ng B, Landau SM, Jagust WJ, Greicius MD. Regional brain hypometabolism is unrelated to regional amyloid plaque burden. *Brain.* 2015;138(12): p. 3734–46.
142. Jack CR Jr, Wiste HJ, Weigand SD, Knopman DS, Lowe V, Vemuri P, et al. Amyloid-first and neurodegeneration-first profiles characterize incident amyloid PET positivity. *Neurology.* 2013;81(20): p. 1732-40.
143. Buchan RJ, Nagata K, Yokoyama E, Langman P, Yuya H, Hirata Y, et al. Regional correlations between the EEG and oxygen metabolism in dementia of Alzheimer's type. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1997;103(3): p. 409-17.

144. Ishii K, Kitagaki H, Kono M, Mori E. Decreased medial temporal oxygen metabolism in Alzheimer's disease shown by PET. *J Nucl Med* 37:1996. p. 1159-1165.
145. Gibson GE, Sheu KF, Blass JP, Baker A, Carlson KC, Harding B, et al. Reduced activities of thiamine-dependent enzymes in the brains and peripheral tissues of patients with Alzheimer's disease. *Arch Neurol.* 1988;45(8): p. 836-40.
146. Sang S, Pan X, Chen Z, Zeng F, Pan S, Liu H, et al. Thiamine diphosphate reduction strongly correlates with brain glucose hypometabolism in Alzheimer's disease, whereas amyloid deposition does not. *Alzheimers Res Ther.* 2018;10(1):26. doi: 10.1186/s13195-018-0354-2.
147. Cha MY, Cho HJ, Kim C, Jung YO, Kang MJ, Murray ME, et al. Mitochondrial ATP synthase activity is impaired by suppressed O-GlcNAcylation in Alzheimer's disease. *Hum Mol Genet.* 2015;24(22): p. 6492–504.
148. Maurer I, Zierz S, Möller HJ. A selective defect of cytochrome c oxidase is present in brain of Alzheimer disease patients. *Neurobiol Aging.* 2000;21(3): p. 455-62.
149. Castellani RJ, Rolston RK, Smith MA. Alzheimer disease. *Dis Mon.* 2010;56(9): p. 484-546.
150. Bubber P, Haroutunian V, Fisch G, Blass JP, Gibson GE. Mitochondrial abnormalities in Alzheimer brain: Mechanistic implications. *Ann Neurol.* 2005;57(5): p. 695–703.
151. Valla J, Berndt JD, Gonzalez-Lima F. Energy Hypometabolism in Posterior Cingulate Cortex of Alzheimer's Patients: Superficial Laminar Cytochrome Oxidase Associated with Disease Duration. *The Journal of Neuroscience.* 2001;21(13): p. 4923-30.
152. Adav SS, Park JE, Sze SK. Quantitative profiling brain proteomes revealed mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease. *Mol Brain.* 2019;12(1) :8. doi: 10.1186/s13041-019-0430-y.
153. Mastroeni D, Khoudour OM, Delvaux E, Nolz J, Olsen G, Berchtold N, et al. Nuclear but not mitochondrial-encoded oxidative phosphorylation genes are altered in aging, mild cognitive impairment, and Alzheimer's disease. *Alzheimer's and Dementia.* 2017;13(5): p. 510–9.
154. Liang WS, Reiman EM, Valla J, Dunckley T, Beach TG, Grover A et al. Alzheimer's disease is associated with reduced expression of energy metabolism genes in posterior cingulate neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2008;105(11): p. 4441-4446.
155. Swomley AM, Butterfield DA. Oxidative stress in Alzheimer disease and mild cognitive impairment: evidence from human data provided by redox proteomics. *Archives of Toxicology.* Springer Verlag; 2015. p. 1669–80.
156. Scheff SW, Ansari MA, Mufson EJ. Oxidative stress and hippocampal synaptic protein levels in elderly cognitively intact individuals with Alzheimer's disease pathology. *Neurobiol Aging.* 2016;42: p. 1–12.
157. Mandal PK, Saharan S, Tripathi M, Murari G. Brain Glutathione Levels - A Novel Biomarker for Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease. *Biol Psychiatry.* 2015;78(10): p. 702–10.
158. Nunomura A, Tamaoki T, Motohashi N, Nakamura M, McKeel DW Jr, Tabaton M, et al. The earliest stage of cognitive impairment in transition from normal aging to Alzheimer disease is marked by prominent RNA oxidation in vulnerable neurons. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2012;71(3): p. 233-41.
159. Butterfield DA, Halliwell B. Oxidative stress, dysfunctional glucose metabolism and Alzheimer disease. *Nature Reviews Neuroscience.* Nature Publishing Group; 2019. p. 148–60.
160. Balaban RS, Nemoto S, Finkel T. Mitochondria, oxidants, and aging. *Cell.* Cell Press; 2005. p. 483–95.
161. Soltys DT, Pereira CPM, Rowies FT, Farfel JM, Grinberg LT, Suemoto CK, et al. Lower mitochondrial DNA content but not increased mutagenesis associates with decreased base excision repair activity in brains of AD subjects. *Neurobiol Aging.* 2019;73: p. 161–70.
162. Phillips NR, Simpkins JW, Roby RK. Mitochondrial DNA deletions in Alzheimer's brains: A review. *Alzheimer's and Dementia.* Elsevier Inc.; 2014. p. 393–400.
163. Wang J, Xiong S, Xie C, Markesbery WR, Lovell MA. Increased oxidative damage in nuclear and mitochondrial DNA in Alzheimer's disease. *J Neurochem.* 2005;93(4): p. 953–62.
164. Coskun PE, Beal MF, Wallace DC. Alzheimer's brains harbor somatic mtDNA control-region mutations that suppress mitochondrial transcription and replication. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101(29): p. 10726-31.
165. Chen Y, Liu C, Parker WD, Chen H, Beach TG, Liu X, et al. Mitochondrial DNA Rearrangement Spectrum in Brain Tissue of Alzheimer's Disease: Analysis of 13 Cases. *PLoS One.* 2016 Jun 14;11(6):e0154582. doi: 10.1371/journal.pone.0154582
166. Corral-Debrinski M, Horton T, Lott MT, Shoffner JM, McKee AC, Beal MF, et al. Marked changes in mitochondrial DNA deletion levels in Alzheimer brains. *Genomics.* 1994;23(2): p. 471-6.

167. Hudson G, Sims R, Harold D, Chapman J, Hollingworth P, Gerrish A, et al. GERAD1 Consortium. No consistent evidence for association between mtDNA variants and Alzheimer disease. *Neurology*. 2012;78(14): p. 1038-42.
168. Carrieri G, Bonafè M, de Luca M, Rose G, Varcasia O, Bruni A, et al. Mitochondrial DNA haplogroups and APOE4 allele are non-independent variables in sporadic Alzheimer's disease. *Hum Genet*. 2001;108(3): p. 194–8.
169. Lakatos A, Derbeneva O, Younes D, Keator D, Bakken T, Lvova M, et al. Association between mitochondrial DNA variations and Alzheimer's disease in the ADNI cohort. *Neurobiol Aging*. 2010;31(8): p. 1355–63.
170. Mosconi L, Mistur R, Switalski R, Brys M, Glodzik L, Rich K, et al. Declining brain glucose metabolism in normal individuals with a maternal history of Alzheimer disease. *Neurology*. 2009;72(6): p. 513-20.
171. Honea RA, Swerdlow RH, Vidoni ED, Burns JM. Progressive regional atrophy in normal adults with a maternal history of Alzheimer disease. *Neurology*. 2011;76(9): p. 822-9.
172. Yana MH, Wang X, Zhu X. Mitochondrial defects and oxidative stress in Alzheimer disease and Parkinson disease. *Free Radical Biology and Medicine*. Elsevier Inc.; 2013. p. 90–101.
173. Inczedy-Farkas G, Trampush JW, Perczel Forintos D, Beech D, Andrejkovics M, Varga Z, et al. Mitochondrial DNA mutations and cognition: A case-series report. *Archives of Clinical Neuropsychology*. 2014;29(4): p. 315–21.
174. Zhu X, Perry G, Smith MA, Wang X. Abnormal mitochondrial dynamics in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2013;33 Suppl 1(0 1): p. S253-62.
175. Wang X, Su B, Siedlak SL, Moreira PI, Fujioka H, Wang Y, et al. Amyloid-beta overproduction causes abnormal mitochondrial dynamics via differential modulation of mitochondrial fission/fusion proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(49): p. 19318-23.
176. Wang X, Su B, Lee HG, Li X, Perry G, Smith MA, et al. Impaired balance of mitochondrial fission and fusion in Alzheimer's disease. *Journal of Neuroscience*. 2009;29(28): p. 9090–103.
177. Manczak M, Calkins MJ, Reddy PH. Impaired mitochondrial dynamics and abnormal interaction of amyloid beta with mitochondrial protein Drp1 in neurons from patients with Alzheimer's disease: Implications for neuronal damage. *Hum Mol Genet*. 2011;20(13): p. 2495–509.
178. Jiang S, Shao C, Tang F, Wang W, Zhu X. Dynamin-like protein 1 cleavage by calpain in Alzheimer's disease. *Aging Cell*. 2019;18(3):e12912. doi: 10.1111/acer.12912.
179. Bergmann O, Bhardwaj RD, Bernard S, Zdunek S, Barnabé-Heide F, Walsh S, et al. Evidence for cardiomyocyte renewal in humans. *Science*. 2009;324(5923): p. 98–102.
180. Manczak M, Reddy PH. Abnormal interaction between the mitochondrial fission protein Drp1 and hyperphosphorylated tau in Alzheimer's disease neurons: Implications for mitochondrial dysfunction and neuronal damage. *Hum Mol Genet*. 2012;21(11): p. 2538–47.
181. Wang W, Yin J, Ma X, Zhao F, Siedlak SL, Wang Z, et al. Inhibition of mitochondrial fragmentation protects against Alzheimer's disease in rodent model. *Hum Mol Genet*. 2017;26(21): p. 4118-4131.
182. Trushina E, Nemutlu E, Zhang S, Christensen T, Camp J, Mesa J, et al. Defects in mitochondrial dynamics and metabolomic signatures of evolving energetic stress in mouse models of familial Alzheimer's disease. *PLoS One*. 2012;7(2):e32737. doi: 10.1371/journal.pone.0032737.
183. Park SJ, Bae JE, Jo DS, Kim JB, Park NY, Fang J, et al. Increased O-GlcNAcylation of Drp1 by amyloid-beta promotes mitochondrial fission and dysfunction in neuronal cells. *Mol Brain*. 2021;14(1):6. doi: 10.1186/s13041-020-00727-w.
184. Sheng ZH, Cai Q. Mitochondrial transport in neurons: Impact on synaptic homeostasis and neurodegeneration. *Nature Reviews Neuroscience*. 2012. p. 77–93.
185. Pickett EK, Rose J, McCrory C, McKenzie CA, King D, Smith C, et al. Region-specific depletion of synaptic mitochondria in the brains of patients with Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol*. 2018;136(5): p. 747–57.
186. Misko A, Jiang S, Wegorzewska I, Milbrandt J, Baloh RH. Mitofusin 2 is necessary for transport of axonal mitochondria and interacts with the Miro/Milton complex. *Journal of Neuroscience*. 2010;30(12): p. 4232–40.
187. Choi H, Kim HJ, Kim J, Kim S, Yang J, Lee W, et al. Increased acetylation of Peroxiredoxin1 by HDAC6 inhibition leads to recovery of A β -induced impaired axonal transport. *Mol Neurodegener*. 2017;12(1):23. doi: 10.1186/s13024-017-0164-1.
188. Kim C, Choi H, Jung ES, Lee W, Oh S, Jeon NL, et al. HDAC6 inhibitor blocks amyloid beta-induced impairment of mitochondrial transport in hippocampal neurons. *PLoS One*. 2012;7(8):e42983. doi: 10.1371/journal.pone.0042983.
189. Tammineni P, Ye X, Feng T, Aikal D, Cai Q. Impaired retrograde transport of axonal autophagosomes contributes to autophagic stress in Alzheimer's disease neurons. *Elife*. 2017;6:e21776. doi: 10.7554/eLife.21776.

190. Wang Q, Tian J, Chen H, Du H, Guo L. Amyloid beta-mediated KIF5A deficiency disrupts anterograde axonal mitochondrial movement. *Neurobiol Dis.* 2019;127: p. 410–8.
191. Calkins MJ, Reddy PH. Amyloid beta impairs mitochondrial anterograde transport and degenerates synapses in Alzheimer's disease neurons. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2011;1812(4): p. 507–13.
192. Wang X, Perry G, Smith MA, Zhu X. Amyloid- β -derived diffusible ligands cause impaired axonal transport of mitochondria in neurons. In: *Neurodegenerative Diseases.* 2010. p. 56–9.
193. Vossel KA, Xu JC, Fomenko V, Miyamoto T, Suberbielle E, Knox JA, et al. Tau reduction prevents A β -induced axonal transport deficits by blocking activation of GSK3 β . *Journal of Cell Biology.* 2015;209(3): p. 419–33.
194. Quintanilla RA, Dolan PJ, Jin YN, Johnson GVW. Truncated tau and A β cooperatively impair mitochondria in primary neurons. *Neurobiol Aging.* 2012;33(3): p. 619.e25-619.e35.
195. Shahpasand K, Uemura I, Saito T, Asano T, Hata K, Shibata K, et al. Regulation of mitochondrial transport and inter-microtubule spacing by tau phosphorylation at the sites hyperphosphorylated in Alzheimer's disease. *Journal of Neuroscience.* 2012;32(7): p. 2430–41.
196. Dixit R, Ross JL, Goldman YE, Holzbaur ELF. Differential regulation of dynein and kinesin motor proteins by tau. *Science.* 2008;319(5866): p. 1086–9.
197. Cai Q, Sheng ZH. Mitochondrial transport and docking in axons. *Experimental Neurology.* 2009. p. 257–67.
198. Choi HI, Kim HJ, Park JS, Kim IJ, Bae EH, Ma SK, et al. PGC-1 α attenuates hydrogen peroxide-induced apoptotic cell death by upregulating Nrf-2 via GSK3 β inactivation mediated by activated p38 in HK-2 Cells. *Sci Rep.* 2017;7(1):4319. doi: 10.1038/s41598-017-04593-w.
199. Ventura-Clapier R, Garnier A, Veksler V. Transcriptional control of mitochondrial biogenesis: The central role of PGC-1 α . *Cardiovascular Research.* Oxford University Press; 2008. p. 208–17.
200. Hällberg BM, Larsson NG. Making proteins in the powerhouse. *Cell Metabolism.* Cell Press; 2014. p. 226–40.
201. Qin W, Haroutunian V, Katsel P, Cardozo CP, Ho L, Buxbaum JD, et al. PGC-1 α expression decreases in the Alzheimer disease brain as a function of dementia. *Arch Neurol.* 2009;66(3): p. 352-61.
202. Rice AC, Keeney PM, Algarzae NK, Ladd AC, Thomas RR, Bennett JP. Mitochondrial DNA copy numbers in pyramidal neurons are decreased and mitochondrial biogenesis transcriptome signaling is disrupted in Alzheimer's disease hippocampi. *Journal of Alzheimer's Disease.* 2014;40(2): p. 319–30.
203. Sajan M, Hansen B, Ivey R 3rd, Sajan J, Ari C, Song S, et al. Brain Insulin Signaling Is Increased in Insulin-Resistant States and Decreases in FOXOs and PGC-1 α and Increases in A β 1-40/42 and Phospho-Tau May Abet Alzheimer Development. *Diabetes.* 2016;65(7): p. 1892-903.
204. Robinson A, Grösgen S, Mett J, Zimmer VC, Haupenthal VJ, Hundsdörfer B, et al. Upregulation of PGC-1 α expression by Alzheimer's disease-associated pathway: Presenilin 1/amyloid precursor protein (APP)/intracellular domain of APP. *Aging Cell.* 2014;13(2): p. 263–72.
205. Wang R, Li JJ, Diao S, Kwak YD, Liu L, Zhi L, et al. Metabolic stress modulates Alzheimer's β -secretase gene transcription via SIRT1-PPAR γ -PGC-1 in neurons. *Cell Metab.* 2013;17(5): p. 685–94.
206. Dumont M, Stack C, Elipenahli C, Jainuddin S, Launay N, Gerges M, et al. PGC-1 α overexpression exacerbates β -amyloid and tau deposition in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *FASEB Journal.* 2014;28(4): p. 1745–55.
207. Tsunemi T, la Spada AR. PGC-1 α at the intersection of bioenergetics regulation and neuron function: From Huntington's disease to Parkinson's disease and beyond. *Progress in Neurobiology.* 2012. p. 142–51.
208. Dumont M, Stack C, Elipenahli C, Jainuddin S, Gerges M, Starkova N, et al. Bezafibrate administration improves behavioral deficits and tau pathology in P301S mice. *Hum Mol Genet.* 2012;21(23): p. 5091–105.
209. Gong B, Pan Y, Vempati P, Zhao W, Knable L, Ho L, et al. Nicotinamide riboside restores cognition through an upregulation of proliferator-activated receptor- γ coactivator 1 α regulated β -secretase 1 degradation and mitochondrial gene expression in Alzheimer's mouse models. *Neurobiol Aging.* 2013;34(6): p. 1581–8.
210. Song C, Li M, Xu L, Shen Y, Yang H, Ding M, et al. Mitochondrial biogenesis mediated by melatonin in an APP^{swe}/PS1^{dE9} transgenic mice model. *Neuroreport.* 2018;29(18): p. 1517–24.
211. Oka S, Leon J, Sakumi K, Ide T, Kang D, LaFerla FM, et al. Human mitochondrial transcriptional factor A breaks the mitochondria-mediated vicious cycle in Alzheimer's disease. *Sci Rep.* 2016; 6:37889. doi: 10.1038/srep37889.
212. Harbauer AB, Zahedi RP, Sickmann A, Pfanner N, Meisinger C. The protein import machinery of mitochondria - A regulatory hub in metabolism, stress, and disease. *Cell Metabolism.* 2014. p. 357–72.

213. Roses AD, Lutz MW, Amrine-Madsen H, Saunders AM, Crenshaw DG, Sundseth SS, et al. A TOMM40 variable-length polymorphism predicts the age of late-onset Alzheimer's disease. *Pharmacogenomics Journal*. 2010;10(5): p. 375–84.
214. Wright G, Terada K, Yan M, Sergeev I, Mori M. Oxidative stress inhibits the mitochondrial import of preproteins and leads to their degradation. *Exp Cell Res*. 2001;263(1): p. 107–17.
215. Chai YL, Xing H, Chong JR, Francis PT, Ballard CG, Chen CP, et al. Mitochondrial Translocase of the Outer Membrane Alterations May Underlie Dysfunctional Oxidative Phosphorylation in Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2017;61(2): p. 793–801.
216. Devi L, Prabhu BM, Galati DF, Avadhani NG, Anandatheerthavarada HK. Accumulation of amyloid precursor protein in the mitochondrial import channels of human Alzheimer's disease brain is associated with mitochondrial dysfunction. *Journal of Neuroscience*. 2006;26(35): p. 9057–68.
217. Hansson Petersen CA, Alikhani N, Behbahani H, Wiehager B, Pavlov PF, Alafuzoff I, Leinonen V, et al. The amyloid beta-peptide is imported into mitochondria via the TOM import machinery and localized to mitochondrial cristae. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(35): p. 13145–50.
218. Cenini G, Rüb C, Bruderek M, Voos W. Amyloid β -peptides interfere with mitochondrial preprotein import competence by a coaggregation process. *Mol Biol Cell*. 2016;27(21): p. 3257–3272.
219. Du H, Guo L, Yan SS. Synaptic mitochondrial pathology in Alzheimer's disease. *Antioxidants and Redox Signaling*. 2012. p. 1467–75.
220. Csordás G, Weaver D, Hajnóczky G. Endoplasmic Reticulum–Mitochondrial Contactology: Structure and Signaling Functions. *Trends in Cell Biology*. Elsevier Ltd; 2018. p. 523–40.
221. Paillusson S, Stoica R, Gomez-Suaga P, Lau DHW, Mueller S, Miller T, et al. There's Something Wrong with my MAM; the ER-Mitochondria Axis and Neurodegenerative Diseases. *Trends in Neurosciences*. Elsevier Ltd; 2016. p. 146–57.
222. Area-Gomez E, de Groof AJC, Boldogh I, Bird TD, Gibson GE, Koehler CM, et al. Presenilins are enriched in endoplasmic reticulum membranes associated with mitochondria. *American Journal of Pathology*. 2009;175(5): p. 1810–6.
223. Schreiner B, Hedskog L, Wiehager B, Ankarcrona M. Amyloid- β peptides are generated in mitochondria-associated endoplasmic reticulum membranes. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2015;43(2): p. 369–74.
224. Hedskog L, Pinho CM, Filadi R, Rönnbäck A, Hertwig L, Wiehager B, et al. Modulation of the endoplasmic reticulum-mitochondria interface in Alzheimer's disease and related models. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110(19): p. 7916–21.
225. Sarasija S, Laboy JT, Ashkavand Z, Bonner J, Tang Y, Norman KR. Presenilin mutations deregulate mitochondrial Ca²⁺ homeostasis and metabolic activity causing neurodegeneration in *Caenorhabditis elegans*. *Elife*. 2018;7:e33052. doi: 10.7554/eLife.33052.
226. Area-Gomez E, del Carmen Lara Castillo M, Tambini MD, Guardia-Laguarta C, de Groof AJC, Madra M, et al. Upregulated function of mitochondria-associated ER membranes in Alzheimer disease. *EMBO Journal*. 2012;31(21): p. 4106–23.
227. Pera M, Larrea D, Guardia-Laguarta C, Montesinos J, Velasco KR, Agrawal RR, et al. Increased localization of APP -C99 in mitochondria-associated ER membranes causes mitochondrial dysfunction in Alzheimer disease. *EMBO J*. 2017;36(22): p. 3356–71.
228. Tambini MD, Pera M, Kanter E, Yang H, Guardia-Laguarta C, Holtzman D, et al. ApoE4 upregulates the activity of mitochondria-associated ER membranes. *EMBO Rep*. 2016;17(1): p. 27–36.
229. Barbero-Camps E, Fernández A, Baulies A, Martínez L, Fernández-Checa JC, Colell A. Endoplasmic reticulum stress mediates amyloid β neurotoxicity via mitochondrial cholesterol trafficking. *American Journal of Pathology*. 2014;184(7): p. 2066–81.
230. Sepulveda-Falla D, Barrera-Ocampo A, Hagel C, Korwitz A, Vinueza-Veloz MF, Zhou K, et al. Familial Alzheimer's disease-associated presenilin-1 alters cerebellar activity and calcium homeostasis. *Journal of Clinical Investigation*. 2014;124(4): p. 1552–67.
231. Zampese E, Fasolato C, Pozzan T, Pizzo P. Presenilin-2 modulation of ER-mitochondria interactions. *Commun Integr Biol*. 2011;4(3): p. 357–60.
232. Nguyen TN, Padman BS, Lazarou M. Deciphering the Molecular Signals of PINK1/Parkin Mitophagy. *Trends in Cell Biology*. Elsevier Ltd; 2016. p. 733–44.
233. Fischer F, Hamann A, Osiewacz HD. Mitochondrial quality control: An integrated network of pathways. *Trends in Biochemical Sciences*. 2012. p. 284–92.
234. Pickrell AM, Youle RJ. The roles of PINK1, Parkin, and mitochondrial fidelity in parkinson's disease. *Neuron*. Cell Press; 2015. p. 257–73.

235. Moreira PI, Siedlak SL, Wang X, Santos MS, Oliveira CR, Tabaton M, et al. Autophagocytosis of mitochondria is prominent in Alzheimer disease. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2007;66(6): p. 525-32.
236. Moreira PI, Siedlak SL, Wang X, Santos MS, Oliveira CR, Tabaton M, et al. Erratum: Increased autophagic degradation of mitochondria in Alzheimer disease. *Autophagy.* Taylor and Francis Inc.; 2007. p. 614–5.
237. Nixon RA, Yang DS. Autophagy failure in Alzheimer's disease-locating the primary defect. *Neurobiology of Disease.* 2011. p. 38–45.
238. Martín-Maestro P, Gargini R, Perry G, Avila J, García-Escudero V. PARK2 enhancement is able to compensate mitophagy alterations found in sporadic Alzheimer's disease. *Hum Mol Genet.* 2016;25(4): p. 792-806.
239. Fang EF, Hou Y, Palikaras K, Adriaanse BA, Kerr JS, Yang B, et al. Mitophagy inhibits amyloid- β and tau pathology and reverses cognitive deficits in models of Alzheimer's disease. *Nat Neurosci.* 2019;22(3): p. 401–12.
240. Kerr JS, Adriaanse BA, Greig NH, Mattson MP, Cader MZ, Bohr VA, et al. Mitophagy and Alzheimer's Disease: Cellular and Molecular Mechanisms. *Trends in Neurosciences.* Elsevier Ltd; 2017. p. 151–66.
241. Lee JH, Yu WH, Kumar A, Lee S, Mohan PS, Peterhoff CM, et al. Lysosomal proteolysis and autophagy require presenilin 1 and are disrupted by Alzheimer-related PS1 mutations. *Cell.* 2010;141(7): p. 1146–58.
242. Corsetti V, Florenzano F, Atlante A, Bobba A, Ciotti MT, Natale F, et al. NH2-truncated human tau induces deregulated mitophagy in neurons by aberrant recruitment of Parkin and UCHL-1: implications in Alzheimer's disease. *Hum Mol Genet.* 2015;24(11): p. 3058-81.
243. Hu Y, Li XC, Wang ZH, Luo Y, Zhang X, Liu XP, et al. Tau accumulation impairs mitophagy via increasing mitochondrial membrane potential and reducing mitochondrial Parkin. *Oncotarget.* 2016;7(14): p. 17356-68.
244. Han S, Jeong YY, Sheshadri P, Su X, Cai Q. Mitophagy regulates integrity of mitochondria at synapses and is critical for synaptic maintenance. *EMBO Rep.* 2020;21(9) :e49801. doi: 10.15252/embr.201949801.
245. Du F, Yu Q, Yan S, Hu G, Lue LF, Walker DG, et al. PINK1 signalling rescues amyloid pathology and mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease. *Brain.* 2017;140(12): p. 3233–51.
246. Kesharwani R, Sarmah D, Kaur H, Mounika L, Verma G, Pabbala V, et al. Interplay between Mitophagy and Inflammasomes in Neurological Disorders. *ACS Chemical Neuroscience.* American Chemical Society; 2019. p. 2195–208.
247. Tang H, Chen Y, Liu X, Wang S, Lv Y, Wu D, et al. Downregulation of HSP60 disrupts mitochondrial proteostasis to promote tumorigenesis and progression in clear cell renal cell carcinoma. *Oncotarget.* 2016;7(25): p. 38822-38834.
248. Martinelli P, Rugarli EI. Emerging roles of mitochondrial proteases in neurodegeneration. *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics.* 2010. p. 1–10.
249. Bohovych I, Chan SSL, Khalimonchuk O. Mitochondrial Protein Quality Control: The Mechanisms Guarding Mitochondrial Health. *Antioxidants and Redox Signaling.* Mary Ann Liebert Inc.; 2015. p. 977–94.
250. Voos W. Mitochondrial protein homeostasis: the cooperative roles of chaperones and proteases. *Res Microbiol.* 2009;160(9): p. 718–25.
251. Falkevall A, Alikhani N, Bhushan S, Pavlov PF, Busch K, Johnson KA, et al. Degradation of the amyloid β -protein by the novel mitochondrial peptidosome, PreP. *Journal of Biological Chemistry.* 2006;281(39): p. 29096–104.
252. Mossmann D, Vögtle FN, Taskin AA, Teixeira PF, Ring J, Burkhart JM, et al. Amyloid- β peptide induces mitochondrial dysfunction by inhibition of preprotein maturation. *Cell Metab.* 2014;20(4): p. 662–9.
253. Fang D, Wang Y, Zhang Z, Du H, Yan S, Sun Q, et al. Increased neuronal PreP activity reduces A β accumulation, attenuates neuroinflammation and improves mitochondrial and synaptic function in Alzheimer disease's mouse model. *Hum Mol Genet.* 2015;24(18): p. 5198–210.
254. Westerlund M, Behbahani H, Gellhaar S, Forsell C, Belin AC, Anvret A, et al. Altered enzymatic activity and allele frequency of OMI/HTRA2 in Alzheimer's disease. *The FASEB Journal.* 2011;25(4): p. 1345–52.
255. Kooistra J, Milojevic J, Melacini G, Ortega J. A new function of human htra2 as an amyloid- β oligomerization inhibitor. *Journal of Alzheimer's Disease.* 2009;17(2): p. 281–94.
256. Park HJ, Kim SS, Seong YM, Kim KH, Hui GG, Eun JY, et al. β -Amyloid precursor protein is a direct cleavage target of HtrA2 serine protease: Implications for the physiological function of HtrA2 in the mitochondria. *Journal of Biological Chemistry.* 2006;281(45): p. 34277–87.
257. Behbahani H, Pavlov PF, Wiehager B, Nishimura T, Winblad B, Ankarcrona M. Association of Omi/HtrA2 with γ -secretase in mitochondria. *Neurochem Int.* 2010;57(6): p. 668–75.

258. Gupta S, Singh R, Datta P, Zhang ZJ, Orr C, Lu Z, et al. The C-terminal tail of presenilin regulates Omi/HtrA2 protease activity. *Journal of Biological Chemistry*. 2004;279(44): p. 45844–54.
259. Liu W, Duan X, Fang X, Shang W, Tong C. Mitochondrial protein import regulates cytosolic protein homeostasis and neuronal integrity. *Autophagy*. 2018;14(8): p. 1293–309.
260. Ruan L, Zhou C, Jin E, Kucharavy A, Zhang Y, Wen Z, et al. Cytosolic proteostasis through importing of misfolded proteins into mitochondria. *Nature*. 2017;543(7645): p. 443–6.
261. Wang W, Zhao F, Ma X, Perry G, Zhu X. Mitochondria dysfunction in the pathogenesis of Alzheimer's disease: recent advances. *Mol Neurodegener*. 2020 May 29;15(1):30. doi: 10.1186/s13024-020-00376-6.
262. <https://app.biorender.com/>

8. Životopis

Rodio sam se 22. kolovoza 1997.g. u Dubrovniku. U Slanome sam 2012.g. završio osnovnu školu, a srednju školu, Biskupijsku klasičnu gimnaziju Ruđer Bošković s pravom javnosti, završavam 2016. godine. Upisao sam Medicinski fakultet u Zagrebu na ljeto 2016. godine. Tijekom studija bio sam demonstrator na predmetu Histologija i embriologija od 2018.g. do 2020.g., aktivan sam bio od 2018.g. u studentskoj udruzi EMSA-i (European Medical Students' Association) i Studentskoj sekciji za pravilnu prehranu i zdravlje. Dobio sam Rektorovu nagradu u interdisciplinarnom području znanosti 2019.g. za sudjelovanje u projektu „Promicanje mentalnog zdravlja – Pogled u sebe“ kojeg je pokrenula Međunarodna udruga studenata medicine CroMSIC. Na petoj sam godini, 2021.g. dobio Dekanovu nagradu za ostvareni uspjeh na petoj godini studija. Položio sam Tečaj neposrednih mjera održavanja života (eng. Immediate Life Support, ILS) koje organizira Europsko društvo za reanimatologiju u proljeću 2022. godine. Služim se engleskim jezikom na B2/C1 razini.