

MOLEKULARNE MECHANIZMY CHOROBY ALZHEIMERA*

MOLECULAR MECHANISMS OF ALZHEIMER'S DISEASE

Magdalena BARTOSZEWSKA

Wydział Biotechnologii Uniwersytetu Wrocławskiego.

Streszczenie: Choroba Alzheimer'a jest jednym z najbardziej rozpowszechnionych schorzeń neurodegeneracyjnych na świecie. Etiologia tej choroby nie została jeszcze wyjaśniona. Cechą charakterystyczną tego schorzenia są zmiany morfologiczne, obecność płytek starczych (zewnątrzkomórkowe agregaty peptydu amyloidu β – A β) oraz splotów neurofibrylarnych (wewnątrzkomórkowe kompleksy hyperfosforylowanego białka Tau), które są zlokalizowane w rejonach mózgu odpowiedzialnych za pamięć, uczenie się oraz emocje. Krytyczne zmiany, które są istotne dla rozwoju choroby Alzheimer'a, powodowane są przez peptydy amyloidu β . W literaturze opisano szereg potencjalnych mechanizmów neurotoksyczności różnych form A β . Najważniejsze z nich dotyczą dysfunkcji mitochondriów, generacji wolnych rodników oraz zaburzeń integralności błon biologicznych. Peptydy A β powstają w wyniku proteolitycznej obróbki białka APP przez sekretazy: β oraz γ . Proces ten zachodzi przez całe życie człowieka. Upośledzenie mechanizmów zaangażowanych w zachowanie stężenia A β na nietoksycznym poziomie jest główną przyczyną choroby Alzheimer'a. Znane są genetyczne oraz środowiskowe czynniki ryzyka zachorowania na to schorzenie. Śmierć komórek nerwowych jest prawdopodobnie skorelowana również z chronicznym stanem zapalnym stymulowanym w mózgu przez stale obecny A β . Liczne dowody wskazują jednak na korzystne działanie cytokin prozapalnych w aspekcie tego schorzenia. Rola mediatorów reakcji zapalnej w patogenezie choroby Alzheimer'a jest bardzo skomplikowana i nie do końca wyjaśniona. Ostatnio dokonano dużego postępu w zrozumieniu molekularnych mechanizmów leżących u podstaw choroby Alzheimer'a. Dzięki temu możliwe było opracowanie szeregu potencjalnych terapeutyków, które mogą mieć zastosowanie w leczeniu przyczynowym tego schorzenia.

Słowa kluczowe: choroba Alzheimer'a, neurodegeneracja, amyloid β , białko Tau, stan zapalny, cytokiny.

Summary: Alzheimer's disease is one of the most widespread neurodegenerative disorder. The etiology of this disease is not completely elucidated. Amyloid plaques (extracellular aggregates of amyloid β peptides – A β) and neurofibrillary tangles (intracellular deposits of hyperphosphorylated tau protein) are histopathological hallmarks of the Alzheimer disease. These morphological changes are present mostly in brain regions involved in cognition, emotion, learning and memory. The critical events in the pathogenesis of Alzheimer's disease are caused by amyloid β peptides. The mechanism of the neurotoxicity of A β has not yet been fully defined. A β peptides have been reported to mediate dysfunction of mitochondria, production of reactive oxidative species and disruption of cell membrane permeability. Proteolytic processing of

*Praca napisana na podstawie pracy magisterskiej przygotowanej pod kierunkiem prof. dr hab. Marii Janusz z Laboratorium Immunochemii Ogólnej, Zakładu Immunochemii, Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. L. Hirszfelda PAN we Wrocławiu.

the amyloid precursor protein (APP) by β - and γ -secretase is the initial step in the production of the amyloid β peptide, it occurs throughout the whole life. Attenuated mechanisms of the A β maintenance on non-toxic level in the brain, is the main cause of Alzheimer's disease. The genetics and environmental risk factors associated with this disorder have been characterized. Moreover, A β permanently presented in brain of people suffering from Alzheimer's disease stimulates chronic inflammatory reaction, which might contribute to death of neurons. However, many evidences indicate that mediators of inflammatory reaction have beneficial effects on neuron survival in Alzheimer's disease. The contribution of inflammatory processes to Alzheimer's disease remains to be elucidated. Recently, the rapid progress towards understanding of Alzheimer's disease molecular mechanisms have been made. On the basis of current knowledge many new therapeutics strategies are developed.

Keywords: Alzheimer's Disease, neurodegeneration, amyloid β peptides, Tau protein, inflammation, cytokines.

WPROWADZENIE

Choroba Alzheimerera (chA) jest główną przyczyną demencji w krajach wysokorozwiniętych. Obecnie to schorzenie dotyczy 30 mln osób na świecie. Szacuje się, że w 2050 roku jedna osoba na 85 może chorować na chA [40]. Etiologia tej choroby nie została jeszcze w pełni wyjaśniona. Nazwa schorzenia pochodzi od nazwiska niemieckiego psychiatry, Alojzego Alzheimerera. Na początku XX wieku lekarz ten zaobserwował bardzo niepokojące objawy u 50-letniej Augustyny D., m.in. postępujące zaburzenia; pamięci, mowy, orientacji w czasie i przestrzeni; napady lęku i coraz większe trudności w radzeniu sobie z czynnościami życia codziennego. W histopatologicznych badaniach *post mortem* A. Alzheimer stwierdził obecność zmian w mózgu tej kobiety, którym później nadano nazwę płytek starczych (zewnątrzkomórkowe agregaty peptydu amyloidu β) i splotów neurofibrylarnych (wewnątrzkomórkowe kompleksy hyperfosforylowanego białka Tau) [87]. U ludzi dotkniętych chorobą Alzheimerera takie zmiany zlokalizowane są głównie w rejonach mózgu odpowiedzialnych za pamięć, uczenie się i emocje [66]. Postępująca demencja w tym schorzeniu związana jest właśnie z ich obecnością. Regiony mózgu, w których obecne są płytki starcze i sploty neurofibrylarne, charakteryzują się obniżoną ilością połączeń synaptycznych i spadkiem liczby neuronów. Istnieje wiele hipotez, które angażują różnorodne procesy (m.in. nieprawidłowa obróbka proteolityczna białek, stres oksydacyjny, stan zapalny w mózgu, zaburzenia w gospodarce wapniowej), aby wytłumaczyć przyczynę śmierci komórek nerwowych. Żadne z tych założeń samodzielnie nie jest w stanie wyjaśnić molekularnego mechanizmu leżącego u podstaw choroby Alzheimerera, jednak nieprawidłowa obróbka proteolityczna APP (*Amyloid Precursor Protein*) wydaje się być decydującym czynnikiem odpowiedzialnym za rozwój choroby.

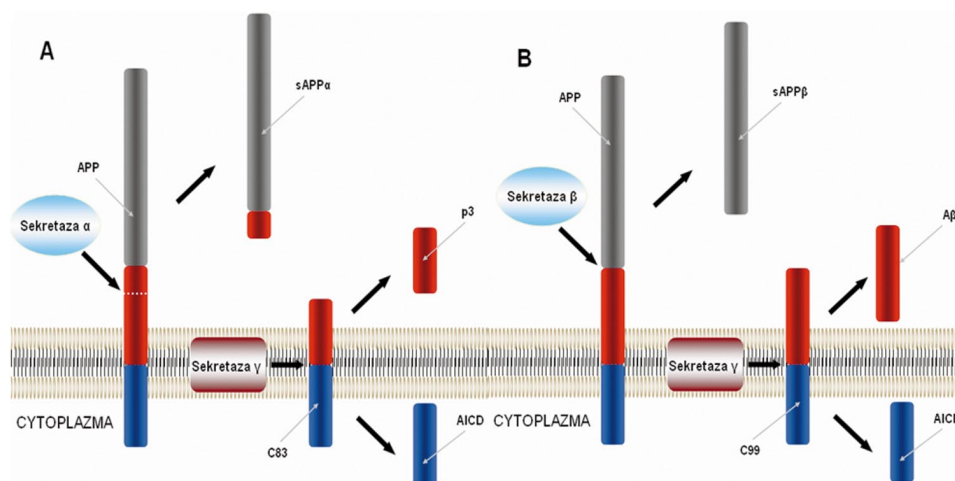
HIPOTEZA KASKADY AMYLOIDOWEJ

Na początku lat 90 sformułowano hipotezę kaskady amyloidowej. Według jej założeń złoży amyloidowe, które powstają w mózgu, powodują najwcześniejsze i krytyczne zmiany, które są istotne dla rozwoju chA. Płytki starcze zbudowane są

nie tylko z agregatów amyloidu β , lecz również z dystroficznych neurytów i komórek astrogleju oraz mikrogleju.

Termin „amyloid β ” ($A\beta$) oznacza grupę homologicznych strukturalnie peptydów, które różnią się od siebie wielkością. Zbudowane są one najczęściej z 39 do 43 aminokwasów. Największą część amyloidu β w płytkach starczych stanowi $A\beta_{42}$, który ze względu na swoją hydrofobowość ma tendencję do agregacji [70]. Peptydy $A\beta$ powstają w wyniku proteolitycznej obróbki APP. Białko to występuje w większości tkanek w organizmie. Prekursor peptydów $A\beta$ jest białkiem transmembranowym, które zbudowane jest z dużej, glikozylowanej zewnątrzkomórkowej domeny, odcinka penetrującego błonę biologiczną i małego cytoplazmatycznego fragmentu. Znaczenie tego białka w funkcjonowaniu mózgu nie jest w pełni poznane. APP prawdopodobnie odgrywa ważną rolę w takich procesach, jak: adhezja komórkowa, plastyczność synaptyczna i wzrost neurytów [48]. Znane są dwie drogi proteolitycznej obróbki APP: amyloidogenna i nieamyloidogenna (ryc.1).

W nieamyloidogenną obróbkę proteolityczną APP zaangażowane są sekretazy: α i γ . Sekretaza α jest zależną od jonów Zn metaloproteinazą dezintegryny. Prawdopodobnie jest to białko TACE (*TNF- α Converting Enzyme*). Cięcie APP przez sekretazę α pomiędzy resztą aminokwasową 612 i 613 (reszta 16 i 17 $A\beta$) prowadzi do uwolnienia rozpuszczalnego fragmentu $sAPP\alpha$ z powierzchni błony komórkowej. Zaobserwowano, że zwiększone wydzielanie tego peptydu z błony presynaptycznej zachodzi pod wpływem pobudzenia nerwowego. Możliwe, że uczestniczy on w regulacji transmisji i plastyczności synaptycznej [48,66]. W obrębie błony biologicznej pozostaje odcinek APP, który jest zbudowany z 83 aminokwasów (C83). Może on być dalej hydrolizowany przez sekretazę γ , którą stanowi kompleks



RYCINA 1. Mechanizmy obróbki proteolitycznej APP: A – ścieżka nieamyloidogenna z udziałem sekretazy α , B – ścieżka amyloidogenna z zaangażowaniem sekretazy β

białkowy o aktywności proteazy aspartylowej. Cięcie C83 prowadzi do powstania nietoksycznych peptydów P3 ($A\beta_{17-40}$ lub $A\beta_{17-42}$) i AICD (*APP intracellular domain*).

Drogą amyloidogenną białko APP hydrolizowane jest w pozycji 596 i 597 przez sekretazę β , która ma aktywność proteazy aspartylowej i znana jest też pod nazwą BACE (*β -site APP Cleaving Enzyme*). Produktami tej reakcji enzymatycznej jest rozpuszczalne białko sAPP β oraz zakotwiczony w błonie peptyd C99 o masie ok. 11–12 kDa. Ten błonowy fragment może być dalej hydrolizowany przez sekretazę γ . Prowadzi to do powstania peptydu amyloidu β o masie ok. 4 kDa i fragmentu AICD [34]. Generowane są w ten sposób głównie peptydy amyloidu β zbudowane z 39 lub 40 aminokwasów, ale produkowana jest też pewna pula składająca się z 42 aminokwasów ($A\beta_{42}$). Obie formy $A\beta_{40}$ i $A\beta_{42}$ są toksyczne, jednak $A\beta_{42}$ jest bardziej hydrofobowy od krótszych peptydów $A\beta$, dlatego właśnie on jest głównym składnikiem płytek starczych. $A\beta_{42/40}$ może agregować w dwóch stanach konformacyjnych (α helisy lub β harmonijki), jednak tylko $A\beta_{42/40}$ w formie harmonijki tworzą fibrylarne struktury, określane mianem płytek starczych [70].

ROLA BIAŁEK BIORĄCYCH UDZIAŁ W HOMEOSTAZIE $A\beta$ W MÓZGU

Proces amyloidogennej obróbki APP zachodzi przez całe życie i dotyczy niemal każdej komórki ludzkiego ciała [11]. Patologia występująca w chorobie Alzheimera związana jest z upośledzeniem mechanizmów, które umożliwiają zachowanie stężenia $A\beta$ na nietoksycznym poziomie. Do nadprodukcji $A\beta$ mogą prowadzić mutacje w genach, które kodują składowe kompleksu sekretazy γ (PS1, PS2) oraz APP, dotyczą one jednak mniej niż 0,5% przypadków chA [91]. Istnieje wysokie prawdopodobieństwo, że w pozostałych przypadkach kluczowe znaczenie w rozwoju tej choroby mają nieprawidłowości w mechanizmach usuwania produktów obróbki APP z centralnego układu nerwowego.

Rozpuszczalne formy $A\beta$ mogą być transportowane przez barierę krew - mózg z udziałem specyficznych receptorów (80–75%) lub przez swobodną dyfuzję. W przenoszenie amyloidu β do krwioobiegu zaangażowane są błonowe białka LRP (*lipoprotein receptor-related protein*) oraz P-gp (*glycoprotein p*). W przeciwnym kierunku $A\beta$ transportowany jest przez makrocząsteczki: RAGE (*receptor for advanced glycation end products*) i Gp330 (*glycoprotein 330*) [91]. W doświadczeniach prowadzonych zarówno *in vitro*, jak i w modelach zwierzęcych zaobserwowano, że upośledzone działanie tych białek prowadzi do magazynowania $A\beta$ w mózgu [26,84,95,101].

Zachowanie stężenia $A\beta$ na odpowiednim poziomie wspomagane jest przez aktywność przynajmniej dwóch zależnych od cynku metaloendopeptydaz: neprylizyny i IDE (*insuline degrading enzyme*). Liczne eksperymenty udokumentowały rolę

tych białek w usuwaniu A β z mózgu oraz ich potencjalne właściwości terapeutyczne [39,65]. Poziom ich jest zredukowany w mózgu osób dotkniętych chorobą chA [69,97].

Całkiem niedawno opisano endogenne przeciwciała skierowane przeciwko A β , które występują zarówno u ludzi zdrowych, jak i dotkniętych chorobą Alzheimera. U osób z chA jest ich znacząco mniej [25,44]. W grupie 5 pacjentów chorych na to schorzenie, którzy przyjmowali dożylnie autoprzeciwciała skierowane przeciwko A β , zaobserwowano znaczący spadek (średnio 30,1%) ilości tego peptydu w płynie mózgowo-rdzeniowym. Stwierdzono też u nich polepszenie funkcji psychomotorycznych [36]. W badaniach *in vitro* takie autoprzeciwciała blokowały formowanie oraz niszczyły już istniejące fibryle i w znaczący sposób hamowały toksyczność A β [37]. Pomimo że poziom autoprzeciwciał skierowanych przeciwko A β jest niski, możliwe jest, że ich udział w usuwaniu neurotoksycznego peptydu z mózgu jest znaczący.

CZYNNIKI RYZYKA CHOROBY ALZHEIMERA

Występowanie mutacji w obrębie genów kodujących APP i białek odpowiedzialnych za jego proteolityczną obróbkę (PS1 i PS2) prowadzi do zwiększonego poziomu toksycznych form A β .

Niewielki procent przypadków zachorowań na chA ma charakter wrodzony. Jest to tzw. FAD (*Familial Alzheimer's Disease*). Dotyczy głównie ludzi w przedziale wiekowym poniżej 65 roku życia. W 10% przypadków FAD zmiany w obrębie genomu są dziedziczone w sposób autosomalny dominujący [22].

Choroba Alzheimera w większości przypadków ma charakter spontaniczny (90% chorych). Ryzyko zachorowania wzrasta drastycznie wraz z wiekiem. Dotyczy najczęściej ludzi po 65 roku życia. Mechanizm patogenezy choroby jest podobny jak w przypadku FAD [70]. Uważa się, że obecność pewnych alleli może zwiększać prawdopodobieństwo zachorowania na chA. Głównie dotyczy to genu kodującego apolipoproteinę E (ApoE).

Apolipoproteina E jest składową lipoprotein o bardzo małej gęstości – vLDL (*very low density lipoprotein*), pośredniej wielkości – IDL (*intermediate density lipoprotein*) i chylomikronów, które biorą udział w utrzymaniu homeostazy cholesterolu i kwasów tłuszczowych w organizmie. W populacji występują 3 allele genu apolipoproteiny (APO): ϵ 2, ϵ 3, ϵ 4, które kodują różne izoformy. Zwiększone ryzyko zachorowania na chA występuje u homozygotycznych nosicieli APO ϵ 4 w porównaniu z osobnikami heterozygotycznymi. Trzeba jednak podkreślić, że sama obecność tego allelu nie jest wystarczająca do rozwoju choroby. Mechanizm, który tłumaczy dlaczego allel APO ϵ 4 może nawet podwoić prawdopodobieństwo zachorowania, nie został dobrze poznany [89]. Ryzyko zachorowania na chA nie zależy wyłącznie od „genetycznej ruletki”, ale również od stylu życia człowieka. Mimo braku wystarczających dowodów uważa się, że siedzący tryb życia, dieta wysokokaloryczna oraz wysokotłuszczowa mogą zwiększyć prawdopodobieństwo wystąpienia demencji związanej z chA. Zależność taką obserwowano właśnie u nosicieli allelu APO ϵ 4.

Wynika ona z tego, że amyloidogenna obróbka proteolityczna APP w mózgu ma miejsce w tratwach lipidowych [31]. Struktury te są bogate m.in. w cholesterol i sfingomielinę. Stwierdzono, że wysokie stężenie cholesterolu stymuluje aktywność sekretazy β w obrębie tratw lipidowych [58]. Co więcej, fibrylarne agregaty $A\beta$ tworzą się łatwiej przy wysokim stężeniu cholesterolu [57,96].

Niekorzystne działanie $APO\epsilon 4$ może być również związane z jego działaniem prozapalnym w centralnym układzie nerwowym. Ludzkie monocyty pochodzące od nosicieli allelu $APO\epsilon 4$ produkują większe ilości tlenu azotu, w porównaniu z komórkami pobranymi od nosicieli $APO\epsilon 3$ [30]. Na modelu mysich monocytów transfekowanych genem $APO\epsilon 4$ stwierdzono, że charakteryzowały się one zwiększonym wydzielaniem prozapalnych cytokin w porównaniu z komórkami tej linii będącymi nosicielami allelu $APO\epsilon 3$ [56].

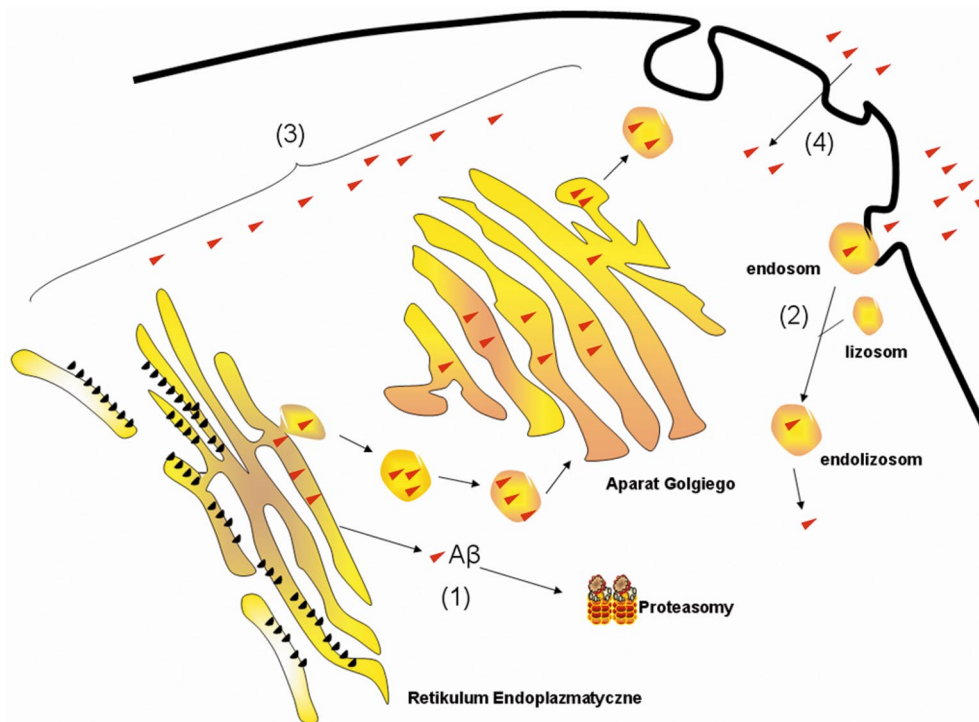
Występowanie polimorfizmu w rejonach sekwencji niekodujących – UTR (*untranslated region*) i promotorowych genów, które kodują cytokiny i enzymy biorące udział w reakcji zapalnej, również związane jest z ryzykiem zachorowania na chA [7,61]. Zaobserwowano nawet pewną tendencję. Mianowicie bardziej „prozapalny” genotyp wiąże się ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na chA [89].

NEUROTOKSYCZNOŚĆ AMYLOIDU β

Według hipotezy kaskady amyloidowej progresja choroby Alzheimera jest związana ze zwiększoną agregacją $A\beta$ w mózgu. Rozpuszczalne peptydy $A\beta$ oddziałują ze sobą. Tworzonych jest wiele form oligomerów i agregatów, które asocjują w nierozpuszczalne, fibrylarne złoża amyloidowe. Początkowo sądzono, że płytki starcze są główną przyczyną neurodegeneracji, która prowadzi do demencji. Badania histopatologiczne wykazały jednak brak korelacji pomiędzy ilością oraz rozmieszczeniem fibrylarnych agregatów $A\beta$ w mózgu a progresją choroby [24]. Wiele doświadczeń prowadzonych *in vitro* i *in vivo* dostarczyło dowodów na to, że pula rozpuszczalnych form $A\beta$ ma właściwości neurotoksyczne [32,50,60,90], a stopień zaawansowania choroby jest do nich proporcjonalny [64].

Obecnie uważa się, że rozpuszczalne, przejściowe oligomery $A\beta$, które powstały w wyniku obróbki APP, są kluczową przyczyną neurodegeneracji w chA. Pomimo tego, że proces proteolizy APP zachodzi na szlaku sekrecyjnym białek i w błonie komórkowej, okazało się, że powstające peptydy amyloidu β są obecne nie tylko w przestrzeni pomiędzy komórkami, lecz również w ich wnętrzu [33,47]. Istnieje kilka potencjalnych mechanizmów prowadzących do akumulacji peptydów $A\beta$ w cytoplazmie (ryc. 2).

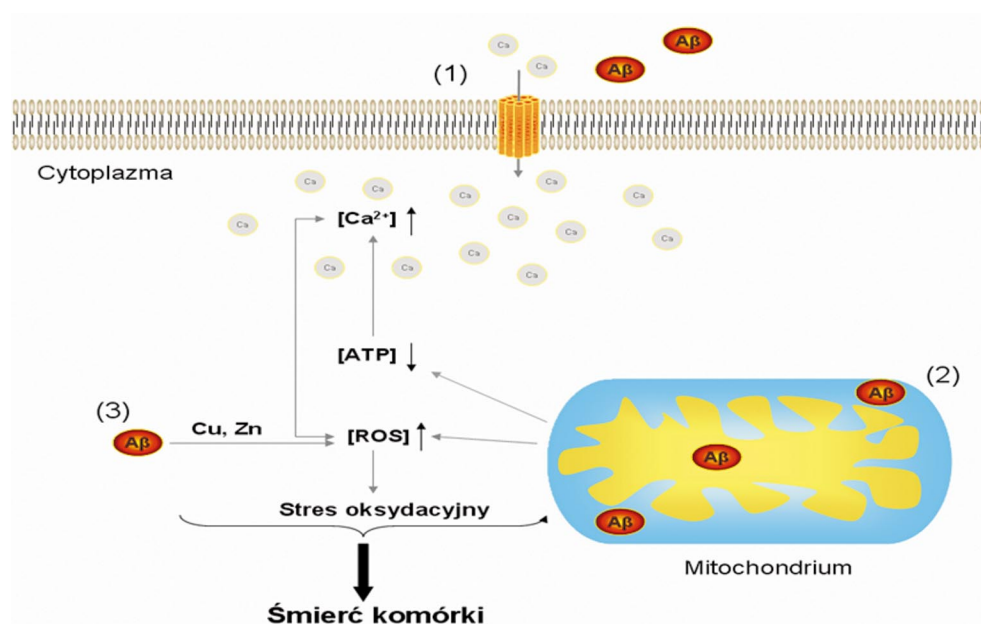
Niestety naukowcy nie są zgodni co do tego, które formy $A\beta$ odpowiadają za patogenezę chA. Kontrowersje wokół tego tematu związane są z trudnościami technicznymi w badaniu rozpuszczalnych form $A\beta$ [72]. W literaturze opisano szereg potencjalnych mechanizmów neurotoksyczności różnych form $A\beta$. Najważniejsze z



RYCINA 2. Mechanizmy prowadzące do akumulacji peptydów A β wewnątrz komórek: Amyloidogenna obróbka proteolityczna APP zachodzi w różnych elementach szlaku sekrecyjnego białek w retikulum endoplazmatycznym (ER), aparacie Golgiego oraz błonie komórkowej. Istnieją przynajmniej cztery hipotetyczne mechanizmy prowadzące do akumulacji peptydów A β wewnątrz komórki: (1) Produkowane nierozpuszczalne formy peptydów amyloidu β w ER są transportowane do cytoplazmy. Tam ulegają ubikwitynacji i degradacji w proteasomach. W związku z tym, że aktywność proteolityczna proteasomów spada wraz z wiekiem, u starszych osobników obserwowana jest akumulacja neurotoksycznych peptydów w cytosolu. (2) Zewnątrzkomórkowy A β ulega internalizacji w procesie endocytozy. Są dowody wskazujące na to, że peptydy A β przedostają się do cytoplazmy przez błonę biologiczną w endolizosomie. (3) A β ze względu na swoją hydrofobowość dyfunduje z różnych elementów szlaku sekrecyjnego do cytosolu. (4) Zewnątrzkomórkowy A β dyfunduje do wnętrza komórki przez błonę plazmatyczną

nich dotyczą dysfunkcji mitochondriów, generacji wolnych rodników oraz zaburzenia integralności błon biologicznych (ryc. 3).

Jeden z proponowanych mechanizmów neurotoksyczności produktów proteolitycznej obróbki APP przez sekretazę β i γ zakłada, że A β zaburza przepuszczalność błon biologicznych. Na podstawie wielu badań stwierdzono, że oddziaływanie A β z błoną komórkową prowadzi do rozregulowania homeostazy jonów Ca²⁺, czego konsekwencją jest aktywacja procesu apoptozy [11,72]. W 1993 roku Arispe ze współpracownikami zaproponował, że monomery niskocząsteczkowe i oligomery A β zdolne są do tworzenia kanałów jonowych, którym przypisuje się zaburzenie potencjału błonowego i rozregulowanie gospodarki wapniowej. Zjawiska te prowadzą do śmierci komórki nerwowej [11].



RYCINA 3. Mechanizmy neurotoksyczności peptydów A β : (1) Toksyczne formy peptydów A β zaburzą integralność błony biologicznej. Prawdopodobnie tworzą one kanały jonowe o niskiej selektywności, które są odpowiedzialne za niekontrolowany napływ jonów wapnia do wnętrza komórki. (2) A β 42 oraz A β 40 wywierają negatywny wpływ na aktywność kluczowych enzymów, które zaangażowane są w proces oddychania tlenowego m.in. na oksydazę cytochromu c. Niższa produkcja cząsteczek ATP, które są niezbędne do funkcjonowania m.in. pomp wapniowych, może prowadzić do rozregulowania gospodarki wapniowej w komórce. Działanie wewnątrzkomórkowej puli amyloidu β na mitochondria prowadzi również do generacji reaktywnych form tlenu. (3) A β bezpośrednio generuje reaktywne formy tlenu w obecności jonów metali. Stres oksydacyjny, obniżony poziom ATP i zaburzenia w gospodarce jonów Ca²⁺ indukują kaskadę zdarzeń, która prowadzi do śmierci neuronów

Coraz więcej dowodów wskazuje na to, że zaburzenia w funkcjonowaniu mitochondriów są ważnym czynnikiem w patofizjologii choroby Alzheimera [18,52]. Istnieje wiele dowodów na to, że bezpośredni udział w procesie uszkodzenia mitochondriów bierze A β . W doświadczeniach, w których mitochondria były bezpośrednio ekspozowane na peptydy amyloidu β , stwierdzono zaburzenia w funkcjonowaniu łańcucha transportu elektronów [13]. Ostatni element łańcucha oddechowego, oksydaza cytochromu c, wydaje się być głównym celem inhibitorowych właściwości peptydów A β [28]. Dysfunkcja kluczowych białek łańcucha transportu elektronu może prowadzić nie tylko do obniżenia stanu energetycznego komórki, lecz również do generacji reaktywnych form tlenu, a nawet apoptozy. Istnieją przypuszczenia, że akumulacja peptydów A β w mitochondriach może być związana z ich upośledzonym usuwaniem. Zjawisko to może być spowodowane spadkiem aktywności proteazy PreP (*Presequence protease*), której substratem są m.in. peptydy amyloidu β [38].

Stres oksydacyjny jest cechą charakterystyczną wielu chorób neurodegeneracyjnych, w tym chA. U osób cierpiących na to schorzenie stwierdzono podwyższony

poziom peroksydacji lipidów [12,27,81], utleniania białek [86] oraz uszkodzenia kwasów nukleinowych [42]. Bezpośrednią przyczyną stresu oksydacyjnego mogą być różne formy A β . Badania *post mortem* wykazały, że istnieje korelacja pomiędzy obecnością markerów peroksydacji a obecnością złogów amyloidowych [63]. Amyloid β może prowadzić do generacji reaktywnych form tlenu – ROS (*reactive oxygen species*) poprzez jego negatywny wpływ na funkcjonowanie mitochondriów. W licznych doświadczeniach stwierdzono również, że amyloid β i jego agregaty mają zdolność do wiązania jonów miedzi i ich utleniania z jednoczesną produkcją nadtlenu wodoru i rodnika hydroksylogowego [72]. Z drugiej strony pokazano, że produkt peroksydacji lipidów – 4-HNE (*4-hydroksynonenal*), promuje formowanie neurotoksycznych protofibrili A β przez kowalencyjną modyfikację A β [85]. Udokumentowano też, że rodnik hydroksylogowy może reagować z A β promując jego agregację poprzez sieciowanie łańcuchami di-tyrozynowymi [14]. Dotychczasowe badania nie dostarczają wiarygodnej odpowiedzi na pytanie, czy stres oksydacyjny jest przyczyną, czy skutkiem degeneracji tkanki nerwowej? Pewne wydaje się być jedynie stwierdzenie, że ROS przyspieszają zmiany patologiczne w chorobie Alzheimera.

SPLOTY NEUROFIBRYLARNE W PATOGENEZIE CHOROBY ALZHEIMERA

Sploty neurofibrylarne są drugą, obok złogów amyloidowych, charakterystyczną cechą histopatologiczną choroby Alzheimera. Struktury te zbudowane są z agregatów hiperfosforylowanego białka Tau. Obserwowane są wewnątrz komórek nerwowych, rzadziej glejowych. Tauopatia występuje również w innych chorobach neurodegeneracyjnych, takich jak: choroba Picka i postępujące zwyrodnienie nadjądrowe.

Białko Tau występuje głównie w neuronach. W centralnym układzie nerwowym istnieje jego sześć izoform, które powstają w wyniku alternatywnego *splicingu* mRNA. Białko Tau odpowiada za stabilizację mikrotubul – MT (*microtubule*) w komórkach nerwowych [15]. W komórce białko Tau może ulegać licznym potranslacyjnym modyfikacjom m.in. fosforylacji, glikacji, glikozylacji oraz proteolitycznej obróbce. Największe znaczenie w tworzeniu splotów neurofibrylarnych ma fosforylacja reszt seryny i treoniny w łańcuchu polipeptydowym tego białka. Zidentyfikowano szereg kinaz zaangażowanych w ten proces, z których największy udział mają kinaza białka Tau I – GSK3 (*glycogen synthase kinase 3*) oraz kinaza białka Tau II – Cdk5 (*cyclin dependent kinase*). Hyperfosforylowane białko Tau traci powinowactwo do MT. Destabilizacja cytoszkieletu wpływa na lokalizację i organizację organelli komórkowych. Dodatkowo hiperfosforylowane białko Tau agreguje w tzw. sploty neurofibrylarne [55]. Liczba splotów neurofibrylarnych jest często skorelowana ze stopniem demencji w chA. Prawdopodobnie powstawanie tych anormalnych struktur nie jest czynnikiem zapoczątkującym tę chorobę, tylko jej skutkiem. Stwierdzono, że peptydy amyloidu β mogą wpływać na aktywność kinazy GSK3 oraz stymulować

powstawanie splotów neurofibrylarnych [8]. Istnieją też uzasadnione przypuszczenia, że zmiany w szlakach sygnałowych, które regulują aktywność kinazy GSK3, odpowiadają za hiperfosforylację białka Tau [35].

UDZIAŁ MECHANIZMÓW WRODZONEJ ODPORNOŚCI W PATOGENEZIE CHOROBY ALZHEIMERA

Jednym z objawów starzenia się człowieka jest podwyższony poziom mediatorów reakcji zapalnej, takich jak: IL-1, IL-6, TNF- α [26,29]. Prawdopodobnie główną przyczyną tego zjawiska jest zależne od wieku upośledzenie mechanizmów niwelowania ROS i skutków ich działania. Reaktywne formy tlenu nie tylko prowadzą do stresu oksydacyjnego, lecz są też bezpośrednią przyczyną aktywowania czynnika transkrypcyjnego NF- κ B, który inicjuje mechanizmy zapalne [78]. Nie powinny zatem dziwić doniesienia, że chroniczny stan zapalny występuje często u ludzi cierpiących na choroby, w których czynnikiem ryzyka jest wiek. Dotyczy to również choroby Alzheimerera. Udokumentowane jest to badaniami poziomu markerów reakcji zapalnej, takich jak: cytokiny prozapalne, składniki układu dopełniacza oraz cząsteczki adhezyjne. Związki te u pacjentów dotkniętych chA są znacząco podwyższone [7,59,78,80,82,89].

Liczne dane podważają dogmat zakładający, że mózg, ze względu na barierę krew - mózg i brak systemu limfatycznego, jest organem immunologicznie uprzywilejowanym. Mechanizmy wrodzonej odporności są w tym organie aktywowane przez bodźce lokalne i systemowe. Za inicjację tych zjawisk i ich kontrolę odpowiedzialne są komórki glejowe (mikroglej i astrocyty) oraz neurony, które wydzielają mediatory zapalne. Proces ten regulowany jest przez produkcję przeciwzapalnych cytokin (IL-10, TGF- β), inhibitorowych białek (m.in. SOCS) oraz glukokortykoidów [7].

Badania, w których zauważono, że spożywanie niesteroidowych przeciwzapalnych leków – NSAIDs (*Non-steroidal antiinflammatory drugs*) może zapobiegać albo opóźniać rozwój choroby Alzheimerera, jako jedne z pierwszych rzuciły światło na potencjalną rolę reakcji zapalnej w patogenezie tego schorzenia [68,92]. Dodatkowo, w licznych pracach opisano obecność markerów reakcji zapalnej w tkance mózgowej badanej *post mortem* oraz w płynie mózgowo-rdzeniowym osób cierpiących na tę chorobę [7]. Czynnym udział układu immunologicznego w tym schorzeniu jest też potwierdzony przez obserwacje, że płytki starcze otoczone są aktywowanym mikroglejem i astrocytami [67]. Hipoteza tłumacząca rolę układu odpornościowego w rozwoju chA zakłada, że stymulacja wrodzonej odpowiedzi w mózgu w sposób ciągły przez stale obecny A β , prowadzi do niekontrolowanej produkcji mediatorów zapalnych. Konsekwencją tych zdarzeń jest dysfunkcja oraz śmierć komórek nerwowych [62]. Założenie to bardzo komplikują doniesienia, które dostarczają licznych dowodów na korzystne działanie stanu zapalnego w aspekcie chA. Niewątpliwie intrygującym zagadnieniem i ogromnym wyzwaniem jest poznanie, kiedy i w jakich okolicznościach stan zapalny oraz jego mediatory wywierają pozytywny, a kiedy negatywny wpływ na proces neurodegeneracji.

W badaniach *in vitro* i *in situ*, pod wpływem obecności złogów amyloidu β , stwierdzono wydzielanie przez komórki mikroglejowe IL-1, IL-6, TNF- α oraz ekspresję receptorów chemokin (CCR3, CCR5) [7]. W innych doświadczeniach pokazano, że ekspresja tych białek może być też indukowana przez rozpuszczalne formy A β 42/40. Sugeruje to wczesny udział układu immunologicznego w patogenezie chA [62]. Wiele dowodów wskazuje na to, że A β bezpośrednio aktywuje czynnik transkrypcyjny NF- κ B [80,88]. Aktywowany w chA mikroglej produkuje mediatory reakcji zapalnej, które mogą działać zarówno neuroprotekcynie, jak i neurotoksycznie. Doskonałym przykładem są reaktywne formy tlenu lub TNF- α , które w nadmiarze prowadzą do śmierci komórki, natomiast w niskim stężeniu mają wręcz działanie antyapoptyczne [7,54].

Rezydujące w mózgu makrofagi po aktywacji A β , charakteryzują się zwiększonym potencjałem fagocytarnym, który umożliwia im usuwanie złogów amyloidu z mózgu [41]. Z drugiej strony wielu badaczy sugeruje, że komórki mikrogleju nie mają tej zdolności *in vivo*. Z ostatnich badań wynika, że szczególne znaczenie w fagocytozie płytek starczych mogą mieć komórki mikroglejowe, których prekursorami są monocyty z krwiobiegu. W badaniach w mysim modelu choroby Alzheimera zaobserwowano dużą infiltrację monocytów przez barierę krew - mózg w początkowym oraz średniozaawansowanym stadium choroby [46]. Korzystna rola mikrogleju polega również na wydzielaniu przez te komórki metaloproteaz, takich jak: neprylizyna i IDE, dla których substratem jest A β . W warunkach stanu zapalnego aktywność tych enzymów jest wyższa [80].

Jedną z pierwszych neuropatologicznych zmian w mózgu dotkniętym chA jest akumulacja astrocytów w obrębie agregatów amyloidu β . Komórki te izolują neurony od płytek starczych chroniąc przed cytotoksycznością. Uczestniczą one też w degradacji złogów amyloidu [77,94]. W warunkach chronicznego stresu astrocyty mogą wydzielać czynniki neurotoksyczne. Po pierwsze oddziaływanie amyloidu β z komórkami glejowymi odpowiada za aktywację transkrypcji genów będących pod kontrolą czynnika NF- κ B. Kodują one m.in. indukowalną syntazę tlenu azotu – iNOS (*Inducible nitric oxide synthase*) [6] oraz ASS (*Argininosuccinate synthase*) [51]. Oba te białka uczestniczą w syntezie tlenu azotu, który w reakcji z ROS prowadzi do powstawania peroksyazotanów i nitrozotoli. Związki te są silnie cytotoksyczne, szczególnie w niekontrolowanej reakcji zapalnej. Po drugie, astrocyty mogą brać udział w obróbce APP, ponieważ pod wpływem stresu komórkowego wzrasta w nich ekspresja sekretazy β [77]. Niekorzystna rola astrocytów może też polegać na zaburzaniu zdolności do fagocytozy komórek mikrogleju [7].

NEUROPROTEKCYJNE I NEUROTOKSYCZNE WŁAŚCIWOŚCI CYTOKIN

Znaczenie cytokin w procesach neurodegeneracyjnych obserwowanych w chorobie Alzheimera nie zostało w pełni wyjaśnione. W mózgach ludzi dotkniętych tą chorobą obserwuje się znacząco wyższy poziom cytokin prozapalnych: IL-1 β , IL-6,

TNF- α , IL-8 oraz przeciwzapalnego TGF- β [7]. Opisano też korelację pomiędzy występowaniem choroby Alzheimera a polimorfizmem w genach kodujących mediatory reakcji zapalnej: IL-1, IL-6, TNF- α oraz MIP- α [80].

Cytokiny wydzielane przez mikroglej pod wpływem A β mogą aktywować kolejne komórki mikrogleju, astrocyty i neurony do produkcji nie tylko mediatorów zapalnych, lecz również samego amyloidu β [53]. Stwierdzono, że pewne białka, które są zaangażowane w odpowiedź immunologiczną, zwiększają ekspresję sekretazy β i jej aktywność enzymatyczną [79]. Dodatkowo mogą one wywierać wpływ na poziom substratu dla tego enzymu. Przykładem jest TGF- β , który odpowiada za wzrost ilości mRNA APP i jego 5-krotnie dłuższy czas półtrwania w ludzkich astrocytach [10]. Podobne działanie udowodniono dla IL-1 β w hodowli pierwotnej astrocytów [75]. Ponadto uważa się, że niektóre cytokiny mogą brać udział w powstawaniu splotów neurofibrylarnych. Zarówno IL-1, jak i IL-6 poprzez aktywację szlaku kinazy MAPK-p38, odpowiedzialne są za nadprodukcję i aktywację kompleksu kinaz Cdk5/p35, które prawdopodobnie prowadzą do hiperfosforylacji białka Tau [73]. Wzmoczona ekspresja IL-1 β w hipokampie związana jest też z indukcją syntazy tlenku azotu w neuronach. Prowadzi to do produkcji NO, który w tych warunkach jest przyczyną uszkodzeń oraz obumierania komórek nerwowych [83]. Prawdopodobnie prozapalne cytokiny wpływają też na sam proces agregacji A β . Do takiego wniosku skłaniają badania prowadzone na transgenicznym zwierzętach, w których nie dochodziło do amyloidogenezy w mózgu przy braku reakcji zapalnej [49].

Rola cytokin w chorobie Alzheimera nie jest jednak jednoznacznie związana z ich neurotoksycznością. Po pierwsze, efektywna odpowiedź immunologiczna, którą sterują te białka, jest niezbędna do wydajnego usuwania płytek starczych z mózgu. Po drugie pewne cytokiny (jak na przykład IL-3, TNF- α , INF- γ) wykazują w określonych warunkach właściwości neuroprotektcyjne. Większą żywotność neuronów hodowanych *in vitro*, które traktowano TNF- α , a następnie A β 42, tłumaczy się zahamowaniem aktywności kinazy Cdk5/p35 [71]. Coraz większe nadzieje budzi interleukina-3 ze względu na swoje antyapoptotyczne właściwości związane z aktywacją białka Bcl-2. Cytokina ta produkowana jest w centralnym układzie nerwowym (CUN) przez określone grupy komórek nerwowych. Potwierdzono eksperymentalnie, że IL-3 wpływa na formowanie sieci neuronalnych *in vitro* oraz ich żywotność. Uważa się, że jest ona potencjalnym inhibitorem apoptozy neuronów, które są narażone na kontakt z A β 42 [76].

STRATEGIE TERAPEUTYCZNE W LECZENIU CHOROBY ALZHEIMERA

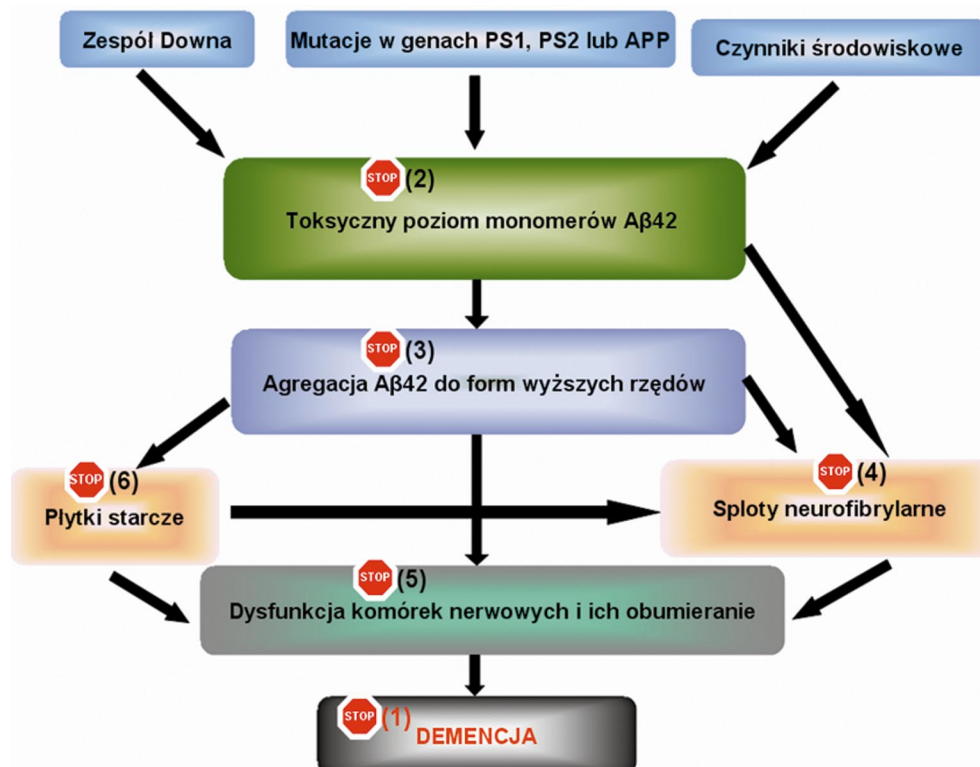
Współczesne metody leczenia choroby Alzheimera polegają na łagodzeniu objawów demencji. Główne leki, które są stosowane, to [4,100]:

- inhibitory acetylocholinoesterazy (np. donepezil), które stymulują system cholinergiczny;

- antagonist receptorów NMDA (*N-methyl-D-aspartate receptors*) – memantyna, która reguluje aktywność tych białek receptorowych i chroni przed ich nadmiernym pobudzeniem.

W ciągu ostatnich kilkunastu lat naukowcy dokonali wielkiego postępu w zrozumieniu molekularnych mechanizmów leżących u podstaw choroby Alzheimera. Obecnie w różnych fazach testów klinicznych badane są potencjalne terapie, które mogą mieć zastosowanie w leczeniu przyczynowym tej choroby (tab. 1). Gdyby okazały się skuteczne niewątpliwie zrewolucjonizowałyby terapię chA.

Bardzo obiecującą strategią leczenia choroby Alzheimera w stadium początkowym i średniozaawansowanym jest kompleks polipeptydowy bogaty w prolinę izolowany z siary (Colostrinin®). Na podstawie licznych eksperymentów stwierdzono, że Colostrinin® ma działanie neuroprotektoryjne [16,17,23,98,99]. Badania, prowadzone początkowo na zwierzętach, a później na ludziach, potwierdziły, że preparat ten ma



RYCINA 4. Strategie terapeutyczne w chorobie Alzheimera: Leczenie objawowe: (1) utrzymanie neurotransmiterów pobudzających na wyższym poziomie (inhibitory acetylocholinoesterazy). Leczenie przyczynowe: (2) zahamowanie produkcji A β (inhibitory sekretazy β i γ); (3) inhibicja agregacji A β do form wyższych rzędów (Colostrinin®); (4) hamowanie hiperfosforylacji białka Tau (inhibitory kinazy GSK3 β lub Cdk5); (5) redukcja toksyczności A β , czyli ROS, NO itp. (Colostrinin®, antyoksydanty, chelatory jonów metali, niesteroidowe leki przeciwzapalne itp.); (6) rozkład i wydajne usuwanie płytek starczych z mózgu (przeciwciała anti-A β), na podstawie [34]

TABELA 1. Potencjalne terapeutyki chA

| Potencjalny lek | Właściwości | Ref. | Faza badań | Firma |
|---|--|------------------|---------------------------------------|-----------------------------------|
| Alzhemed™ | hamowanie powstawania złogów A β | [5,43] | III faza testów klinicznych | Neurochem, Inc. |
| Bapineuzumab (humanizowane przeciwciała monoklonalne anti-A β) | usuwanie A β z mózgu | [2,19,45] | III faza testów klinicznych | Elan Pharmaceuticals, Inc., Wyeth |
| LY451039 (inhibitory γ sekretazy) | zmniejszanie puli peptydów A β | [3] | III faza testów klinicznych | Eli Lilly and Company |
| Flurizan™ (modulator γ sekretazy) | zmniejszanie puli peptydów A β | [1,20] | III faza testów klinicznych | Myriad Genetics, Inc. |
| Cerebrolysin® | neotropowe | [9,74,93] | III faza testów klinicznych | Ebewe Pharmaceutical |
| Colostrinin® | immunoregulacyjne antyoksydacyjne hamowanie agregacji amyloidu β neotropowe | [16,17,23,98,99] | II faza testów klinicznych zakończona | ReGen Therapeutics |

korzystne właściwości psychotropowe. Dużą zaletą Colostrinin® jest to, że nie powoduje on szkodliwych skutków ubocznych [21]. Mechanizm działania tego preparatu jest przedmiotem aktualnie prowadzonych badań. Obecnie Colostrinin® produkowany jest na skalę przemysłową przez amerykańską firmę Metagenics®. Jest on dostępny jako suplement diety przeznaczony dla osób cierpiących na chA m.in. na rynku australijskim, nowozelandzkim oraz amerykańskim.

PODZIĘKOWANIA

Dziękuję serdecznie Pani prof. dr hab. Marii Janusz za cenne wskazówki udzielone podczas redagowania powyższej pracy.

LITERATURA

- [1] <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00105547>.
- [2] <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00575055>
- [3] <http://clinicaltrials.gov/ct/show/NCT00594568>
- [4] www.alz.org
- [5] AISEN PS, SAUMIER D et al. A Phase II study targeting amyloid-beta with 3APS in mild-to-moderate Alzheimer disease. *Neurology* 2006; **67**: 1757–1763.
- [6] AKAMA KT, ALBANESE C et al. Amyloid beta-peptide stimulates nitric oxide production in astrocytes through an NFkappaB-dependent mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; **95**: 5795–800.
- [7] AKIYAMA H, BARGER S et al. Inflammation and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2000; **21**: 383–421.
- [8] ALVAREZ G, MUNOZ-MONTANO JR et al. Lithium protects cultured neurons against beta-amyloid-induced neurodegeneration. *FEBS Lett* 1999; **453**: 260–264.
- [9] ALVAREZ XA, CACABELOS R et al. A 24-week, double-blind, placebo-controlled study of three dosages of Cerebrolysin in patients with mild to moderate Alzheimer's disease. *Eur J Neurol* 2006; **13**: 43–54.

- [10] AMARA F.M, JUNAID A et al. TGF-beta(1), regulation of alzheimer amyloid precursor protein mRNA expression in a normal human astrocyte cell line: mRNA stabilization. *Brain Res Mol Brain Res* 1999; **71**: 42–49.
- [11] ARISPE N, DIAZ JC et al. Abeta ion channels. Prospects for treating Alzheimer's disease with Abeta channel blockers. *Biochim Biophys Acta* 2007; **1768**: 1952–1965.
- [12] ARLT S, BEISIEGEL U et al. Lipid peroxidation in neurodegeneration: new insights into Alzheimer's disease. *Curr Opin Lipidol* 2002; **13**: 289–294.
- [13] ATAMNA H, FREY WH. 2ND Mechanisms of mitochondrial dysfunction and energy deficiency in Alzheimer's disease. *Mitochondrion* 2007; **7**: 297–310.
- [14] ATWOOD CS, PERRY G et al. Copper mediates dityrosine cross-linking of Alzheimer's amyloid-beta. *Biochemistry* 2004; **43**: 560–568.
- [15] AVILA J, LUCAS JJ et al. Role of Tau protein in both physiological and pathological conditions. *Physiol Rev* 2004; **84**: 361–384.
- [16] BACSI A, STANTON GJ et al. Colostrinin-driven neurite outgrowth requires p53 activation in PC12 cells. *Cell Mol Neurobiol* 2005; **25**: 1123–1139.
- [17] BACSI A, WOODBERRY M et al. Colostrinin delays the onset of proliferative senescence of diploid murine fibroblast cells. *Neuropeptides* 2007; **41**: 93–101.
- [18] BALOYANNIS SJ, COSTA V et al. Mitochondrial alterations in Alzheimer's disease. *Am J Alzheimers Dis Other Demen* 2004; **19**: 89–93.
- [19] BARD F, CANNON C et al. Peripherally administered antibodies against amyloid beta-peptide enter the central nervous system and reduce pathology in a mouse model of Alzheimer disease. *Nat Med* 2000; **6**: 916–919.
- [20] BEHER D. Gamma-secretase modulation and its promise for Alzheimer's disease: a rationale for drug discovery. *Curr Top Med Chem* 2008; **8**: 34–37.
- [21] BILKIEWICZ A, GAUS W. Colostrinin (a naturally occurring, proline-rich, polypeptide mixture) in the treatment of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2004; **6**: 17–26.
- [22] BLENNOW K, ZETTERBERG H. Alzheimer's disease. *Lancet* 2006; **368**: 387–403.
- [23] BOLDOGH I, KRUZEL ML. Colostrinin increases the life-span and neurological performance in senescence accelerated mice. 8th International Conference AD/PD Alzheimer's and Parkinson's Diseases: Progress and New Perspectives. 2007; Salzburg, Austria, Neurodegener. Dis. 4 (suppl. 1): 264.
- [24] BRAAK H, BRAAK E. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol* 1991; **82**: 239–259.
- [25] BRETTSCHNEIDER S, MORGENTHALER NG et al. Decreased serum amyloid beta(1-42) autoantibody levels in Alzheimer's disease, determined by a newly developed immuno-precipitation assay with radiolabeled amyloid beta(1-42) peptide. *Biol Psychiatry* 2005; **57**: 813–816.
- [26] BRUUNSGAARD H, PEDERSEN M et al. Aging and proinflammatory cytokines. *Curr Opin Hematol* 2001; **8**: 131–136.
- [27] BUTTERFIELD DA, CASTEGNA A et al. Evidence that amyloid beta-peptide-induced lipid peroxidation and its sequelae in Alzheimer's disease brain contribute to neuronal death. *Neurobiol Aging* 2002; **23**: 655–664.
- [28] CASLEY CS, CANEVARI L et al. Beta-amyloid inhibits integrated mitochondrial respiration and key enzyme activities. *J Neurochem* 2002; **80**: 91–100.
- [29] COHEN HJ, PIEPER CF et al. The association of plasma IL-6 levels with functional disability in community-dwelling elderly. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 1997; **52**: M201–8.
- [30] COLTON CA, NEEDHAM LK et al. APOE genotype-specific differences in human and mouse macrophage nitric oxide production. *J Neuroimmunol* 2004; **147**: 62–67.
- [31] CORDY JM, HOOPER NM et al. The involvement of lipid rafts in Alzheimer's disease. *Mol Membr Biol* 2006; **23**: 111–122.
- [32] CROUCH PJ, BLAKE R et al. Copper-dependent inhibition of human cytochrome c oxidase by a dimeric conformer of amyloid-beta1-42. *J Neurosci* 2005; **25**: 672–679.
- [33] D'ANDREA MR, NAGELE RG et al. Evidence that neurones accumulating amyloid can undergo lysis to form amyloid plaques in Alzheimer's disease. *Histopathology* 2001; **38**: 120–134.
- [34] D'YATES DMM. The molecular pathology of Alzheimer's disease. *Psychiatry* 2007; **7**: 1–5.
- [35] DEUTSCH SI, ROSSE RB et al. Faulty regulation of tau phosphorylation by the reelin signal transduction pathway is a potential mechanism of pathogenesis and therapeutic target in Alzheimer's disease. *Eur Neuropsychopharmacol* 2006; **16**: 547–551.

- [36] DODEL RC, DU Y et al. Intravenous immunoglobulins containing antibodies against beta-amyloid for the treatment of Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2004; **75**: 1472–1474.
- [37] DU Y, WEI X et al. Human anti-beta-amyloid antibodies block beta-amyloid fibril formation and prevent beta-amyloid-induced neurotoxicity. *Brain* 2003; **126**: 1935–1939.
- [38] FALKEVALL A, ALIKHANI N et al. Degradation of the amyloid beta-protein by the novel mitochondrial peptidase, PreP. *J Biol Chem* 2006; **281**: 29096–29104.
- [39] FARRIS W, MANSOURIAN S et al. Insulin-degrading enzyme regulates the levels of insulin, amyloid beta-protein, and the beta-amyloid precursor protein intracellular domain *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; **100**: 4162–4167.
- [40] FERRI CP, PRINCE M et al. Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. *Lancet* 2005; **366**: 2112–2117.
- [41] FRAUTSCHY SA, YANG F et al. Microglial response to amyloid plaques in APPsw transgenic mice. *Am J Pathol* 1998; **152**: 307–317.
- [42] GABBITA SP, LOVELL MA et al. Increased nuclear DNA oxidation in the brain in Alzheimer's disease. *J Neurochem* 1998; **71**: 2034–2040.
- [43] GERVAIS F, PAQUETTE J et al. Targeting soluble Abeta peptide with Tramiprosate for the treatment of brain amyloidosis. *Neurobiol Aging* 2007; **28**: 537–547.
- [44] GEYLIS V, KOURILOV V et al. Human monoclonal antibodies against amyloid-beta from healthy adults. *Neurobiol Aging* 2005; **26**: 597–606.
- [45] GILMAN S, KOLLER M et al. Clinical effects of Abeta immunization (AN1792) in patients with AD in an interrupted trial. *Neurology* 2005; **64**: 1553–1562.
- [46] GLEZER I, SIMARD AR et al. Neuroprotective role of the innate immune system by microglia. *Neuroscience* 2007; **147**: 867–883.
- [47] GOURAS GK, TSAI J et al. Intraneuronal Abeta42 accumulation in human brain. *Am J Pathol* 2000; **156**: 15–20.
- [48] GRALLE M, FERREIRA ST. Structure and functions of the human amyloid precursor protein: the whole is more than the sum of its parts. *Prog Neurobiol* 2007; **82**: 11–32.
- [49] GUO JT, YU J et al. Inflammation-dependent cerebral deposition of serum amyloid a protein in a mouse model of amyloidosis. *J Neurosci* 2002; **22**: 5900–5909.
- [50] HARTLEY DM, WALSH DM et al. Protofibrillar intermediates of amyloid beta-protein induce acute electrophysiological changes and progressive neurotoxicity in cortical neurons. *J Neurosci* 1999; **19**: 8876–8884.
- [51] HENEKA MT, WIESINGER H et al. Neuronal and glial coexpression of argininosuccinate synthetase and inducible nitric oxide synthase in Alzheimer disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 2001; **60**: 906–916.
- [52] HIRAI K, ALIEV G et al. Mitochondrial abnormalities in Alzheimer's disease. *J Neurosci* 2001; **21**: 3017–3023.
- [53] HO GJ, DREGO R et al. Mechanisms of cell signaling and inflammation in Alzheimer's disease. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 2005; **4**: 247–256.
- [54] HOOZEMANS JJ, VEERHUIS R et al. Neuroinflammation and regeneration in the early stages of Alzheimer's disease pathology. *Int J Dev Neurosci* 2006; **24**: 157–165.
- [55] JACKSON GR, WIEDAU-PAZOS M et al. Human wild-type tau interacts with wingless pathway components and produces neurofibrillary pathology in *Drosophila*. *Neuron* 2002; **34**: 509–519.
- [56] JOFRE-MONSENY L, LOBODA A et al. Effects of apoE genotype on macrophage inflammation and heme oxygenase-1 expression. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; **357**: 319–324.
- [57] KAKIO A, NISHIMOTO S et al. Interactions of amyloid beta-protein with various gangliosides in raft-like membranes: importance of GM1 ganglioside-bound form as an endogenous seed for Alzheimer amyloid. *Biochemistry* 2002; **41**: 7385–7390.
- [58] KALVODOVA L, KAHYA N et al. Lipids as modulators of proteolytic activity of BACE: involvement of cholesterol, glycosphingolipids, and anionic phospholipids *in vitro*. *J Biol Chem* 2005; **280**: 36815–36823.
- [59] L'ROJO BM. Neuroinflammation: Implication for the Pathogenesis and Molecular Diagnosis of Alzheimer's Disease. *Archives of Medical Research* 2008; **39**: 1–16.
- [60] LAMBERT MP, BARLOW AK et al. Diffusible, nonfibrillar ligands derived from Abeta1-42 are potent central nervous system neurotoxins. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; **95**: 6448–6453.
- [61] LI K, DAI D et al. Association between the macrophage inflammatory protein-1 alpha gene polymorphism and Alzheimer's disease in the Chinese population. *Neurosci Lett* 2008;
- [62] LINDBERG C, SELENICA ML et al. Beta-amyloid protein structure determines the nature of cytokine release from rat microglia. *J Mol Neurosci* 2005; **27**: 1–12.

- [63] LOVELL MA, EHMANN WD et al. Elevated thiobarbituric acid-reactive substances and antioxidant enzyme activity in the brain in Alzheimer's disease. *Neurology* 1995; **45**: 1594–1601.
- [64] LUE LF, KUO YM et al. Soluble amyloid beta peptide concentration as a predictor of synaptic change in Alzheimer's disease. *Am J Pathol* 1999; **155**: 853–862.
- [65] MARR RA, ROCKENSTEIN E et al. Neprilysin gene transfer reduces human amyloid pathology in transgenic mice. *J Neurosci* 2003; **23**: 1992–1996.
- [66] MATTSON MP. Pathways towards and away from Alzheimer's disease. *Nature* 2004; **430**: 631–639.
- [67] MCGEER EG, MCGEER PL. Inflammatory processes in Alzheimer's disease. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2003; **27**: 741–749.
- [68] MCGEER PL, MCGEER E et al. Anti-inflammatory drugs and Alzheimer disease. *Lancet* 1990; **335**: 1037.
- [69] MORELLI L, LLOVERA RE et al. Insulin-degrading enzyme in brain microvessels: proteolysis of amyloid {beta} vasculotropic variants and reduced activity in cerebral amyloid angiopathy. *J Biol Chem* 2004; **279**: 56004–56013.
- [70] NEWMAN M, MUSGRAVE IF et al. Alzheimer disease: amyloidogenesis, the presenilins and animal models. *Biochim Biophys Acta* 2007; **1772**: 285–297.
- [71] ORELLANA DI, QUINTANILLA RA et al. Neuroprotective effect of TNFalpha against the beta-amyloid neurotoxicity mediated by CDK5 kinase. *Biochim Biophys Acta* 2007; **1773**: 254–263.
- [72] PJ CROUCH CLM. Mechanisms of Abeta mediated neurodegeneration in Alzheimer's disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2008; **40**: 181–198.
- [73] QUINTANILLA RA, ORELLANA DI et al. Interleukin-6 induces Alzheimer-type phosphorylation of tau protein by deregulating the cdk5/p35 pathway. *Exp Cell Res* 2004; **295**: 245–257.
- [74] ROCKENSTEIN E, MANTE M et al. Effects of Cerebrolysin on neurogenesis in an APP transgenic model of Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol* 2007; **113**: 265–275.
- [75] ROGERS JT, LEITER LM et al. Translation of the alzheimer amyloid precursor protein mRNA is up-regulated by interleukin-1 through 5'-untranslated region sequences. *J Biol Chem* 1999; **274**: 6421–6431.
- [76] ROJO LE, FERNANDEZ JA et al. Neuroinflammation: implications for the pathogenesis and molecular diagnosis of Alzheimer's disease. *Arch Med Res* 2008; **39**: 1–16.
- [77] ROSSNER S, LANGE-DOHNA C et al. Alzheimer's disease beta-secretase BACE1 is not a neuron-specific enzyme. *J Neurochem* 2005; **92**: 226–234.
- [78] SARKAR D, FISHER PB. Molecular mechanisms of aging-associated inflammation. *Cancer Lett* 2006; **236**: 13–23.
- [79] SASTRE M, DEWACHTER I et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonists modulate immunostimulated processing of amyloid precursor protein through regulation of beta-secretase. *J Neurosci* 2003; **23**: 9796–9804.
- [80] SASTRE M, KLOCKGETHER T et al. Contribution of inflammatory processes to Alzheimer's disease: molecular mechanisms. *Int J Dev Neurosci* 2006; **24**: 167–176.
- [81] SAYRE LM, ZELASKO DA et al. 4-Hydroxynonenal-derived advanced lipid peroxidation end products are increased in Alzheimer's disease. *J Neurochem* 1997; **68**: 2092–2097.
- [82] SCHULTZBERG M, LINDBERG C et al. Inflammation in the nervous system – physiological and pathophysiological aspects. *Physiol Behav* 2007; **92**: 121–128.
- [83] SEROU MJ, DECOSTER MA et al. Interleukin-1 beta activates expression of cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase in primary hippocampal neuronal culture: platelet-activating factor as a preferential mediator of cyclooxygenase-2 expression. *J Neurosci Res* 1999; **58**: 593–598.
- [84] SHIBATA M, YAMADA S et al. Clearance of Alzheimer's amyloid-ss(1-40) peptide from brain by LDL receptor-related protein-1 at the blood-brain barrier. *J Clin Invest* 2000; **106**: 1489–1499.
- [85] SIEGEL SJ, BIESCHKE J et al. The oxidative stress metabolite 4-hydroxynonenal promotes Alzheimer protofibril formation. *Biochemistry* 2007; **46**: 1503–1510.
- [86] SMITH CD, CARNEY JM et al. Excess brain protein oxidation and enzyme dysfunction in normal aging and in Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; **88**: 10540–10543.
- [87] SWERDLOW RH. Is aging part of Alzheimer's disease, or is Alzheimer's disease part of aging? *Neurobiology of Aging* 2007; **28**: 1465–1480.
- [88] VALERIO A, BORONI F et al. NF-kappaB pathway: a target for preventing beta-amyloid (Abeta)-induced neuronal damage and Abeta42 production. *Eur J Neurosci* 2006; **23**: 1711–1720.
- [89] VASTO S. Inflammation, genes and zinc in Alzheimer's disease. *Brain Research Reviews* 2008;
- [90] WALSH DM, HARTLEY DM et al. Amyloid beta-protein fibrillogenesis. Structure and biological activity of protofibrillar intermediates. *J Biol Chem* 1999; **274**: 25945–25952.

- [91] WANG YJ, ZHOU HD et al. Clearance of amyloid-beta in Alzheimer's disease: progress, problems and perspectives. *Drug Discov Today* 2006; **11**: 931–938.
- [92] WEGGEN S, ROGERS M et al. NSAIDs: small molecules for prevention of Alzheimer's disease or precursors for future drug development? *Trends Pharmacol Sci* 2007; **28**: 536–543.
- [93] WEI ZH, HE QB et al. Meta-analysis: the efficacy of nootropic agent Cerebrolysin in the treatment of Alzheimer's disease. *J Neural Transm* 2007; **114**: 629–634.
- [94] WYSS-CORAY T, LOIKE JD et al. Adult mouse astrocytes degrade amyloid-beta *in vitro* and *in situ*. *Nat Med* 2003; **9**: 453–457.
- [95] YAN SD, ZHU H et al. Receptor-dependent cell stress and amyloid accumulation in systemic amyloidosis. *Nat Med* 2000; **6**: 643–651.
- [96] YANAGISAWA K, MATSUZAKI K. Cholesterol-dependent aggregation of amyloid beta-protein. *Ann NY Acad Sci* 2002; **977**: 384–386.
- [97] YASOJIMA K, AKIYAMA H et al. Reduced neprilysin in high plaque areas of Alzheimer brain: a possible relationship to deficient degradation of beta-amyloid peptide. *Neurosci Lett* 2001; **297**: 97–100.
- [98] ZABŁOCKA A, JANUSZ M et al. A proline-rich polypeptide complex (PRP) isolated from ovine colostrum. Modulation of H₂O₂ and cytokine induction in human leukocytes. *Int Immunopharmacol* 2007; **7**: 981–988.
- [99] ZABŁOCKA A, JANUSZ M et al. A proline-rich polypeptide complex and its nonapeptide fragment inhibit nitric oxide production induced in mice. *Regul Pept* 2005; **125**: 35–39.
- [100] ZABŁOCKA A. Choroba Alzheimera jako przykład schorzenia neurodegeneracyjnego. *Post Hig Med Dosw* 2006; **60**: 209–216.
- [101] ZLOKOVIC BV, MARTEL CL et al. Glycoprotein 330/megalin: probable role in receptor-mediated transport of apolipoprotein J alone and in a complex with Alzheimer disease amyloid beta at the blood-brain and blood-cerebrospinal fluid barriers. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; **93**: 4229–4234.

Redaktor prowadzący – Bożena Kamińska-Kaczmarek

Otrzymano: 01.06. 2008 r.

Przyjęto: 22.07. 2008 r.

ul. Długosza 1, 67-100 Nowa Sól

e-mail: magdalena_bartoszevska@wp.pl