



Peptydy A β w osoczu chorych ze sporadyczną postacią choroby Alzheimera i osób z łagodnymi zaburzeniami poznawczymi

Plasma levels of A β peptides in patients with sporadic Alzheimer's disease or mild cognitive impairment

TOMASZ SOBÓW¹, MARCIN FLIRSKI¹, PAWEŁ P. LIBERSKI², IWONA KŁOSZEWSKA¹

Z: 1. Kliniki Psychiatrii Wieku Podeszłego i Zaburzeń Psychotycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
2. Zakładu Patologii Molekularnej i Neuropatologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

STRESZCZENIE

Cel. Wyniki badań, w których oceniano poziomy peptydów A β w osoczu chorych z chorobą Alzheimera (ch.A.) są sprzeczne. Wzrost stężeń A β raportowano konsekwentnie wyłącznie w grupie chorych z mutacjami w genach dla β APP i presenilin. W grupie chorych ze sporadyczną postacią ch.A. niektórzy badacze obserwowali wzrost stężeń A β_{1-42} , inni nie stwierdzali różnic w porównaniu z grupą kontrolną. Badania wskazują ponadto, że podwyższone poziomy A β mogą być wykryte na wiele lat przed pojawieniem się objawów klinicznych ch.A.; nie były one jednak dotąd oceniane u chorych z łagodnymi zaburzeniami poznawczymi (l.z.p.).

Metoda. Oznaczono jednorazowo poziomy peptydów A β_{1-40} i A β_{1-42} u 54 chorych z ch.A., 39 osób z amnestyczną postacią l.z.p. i 35 z grupy kontrolnej bez zaburzeń poznawczych; zastosowano komercyjnie dostępny test z wykorzystaniem kolorymetrycznej metody „sandwich” ELISA (BioSource Intl, Inc).

Wyniki. Średnie stężenia A β_{1-42} były istotnie wyższe w porównaniu do zarówno chorych z ch.A. ($p < 0,001$), jak i grupy kontrolnej ($p < 0,001$), podczas gdy nie stwierdzono różnic w stężeniach A β_{1-40} . Nie obserwowano zależności między poziomami A β a wiekiem ani nasileniem otępienia. Wskaźnik A β_{1-40} /A β_{1-42} okazał się odróżniać grupę osób z l.z.p. zarówno od chorych z ch.A., jak i od grupy kontrolnej przy wartości odcięcia $< 3,8$ (analiza ROC).

Wnioski. Wprawdzie średnie poziomy peptydów A β różnią się w badanych grupach, to jednak ich użyteczność jako markera diagnostycznego jest wątpliwa; obiecującym markerem może być wskaźnik A β_{1-40} /A β_{1-42} . Badań podłużnych wymaga ocena wartości predykcyjnej podwyższonych poziomów A β_{1-42} w grupie osób z l.z.p. dla „konwersji” do ch.A.

SUMMARY

Background. Studies investigating plasma A β levels in patients with sporadic Alzheimer's disease (AD) yielded discrepant results. Some authors reported no difference between plasma concentrations of A β_{1-42} and A β_{1-40} in sporadic cases of AD as compared to controls, while others found increased levels of A β_{1-42} in at least some AD patients. The results of several recent studies suggest that elevated plasma A β_{1-42} levels may be detected several years before the onset of symptoms, though the value of that effect in predicting progression to dementia in subjects with mild cognitive impairment (MCI) is unknown. Finally, it has been proposed that plasma A β levels increase merely with age and are neither sensitive to nor specific for AD or MCI.

Method. Plasma levels of A β_{1-40} and A β_{1-42} were measured in 54 AD patients, 39 MCI subjects and 35 controls using a commercially available ELISA.

Results. Mean plasma A β_{1-42} levels were significantly higher in the MCI group as compared to both AD patients ($p < 0.001$) and controls ($p < 0.001$). Levels of A β_{1-40} did not differ between the groups. In contradistinction to some earlier reports no correlations were noted between A β species levels and either age or MMSE scores. Employing the ROC curve analysis we found that the maximum accuracy in discriminating MCI subjects from both controls and AD subjects was achieved using the cut-off value of 3.8.

Conclusions. Although mean plasma levels of A β peptides differentiate between AD, MCI and control subjects, their usefulness in differential diagnosis of AD is doubtful. Further studies are needed to establish the value of A β levels in identifying patients with mild cognitive impairment and (possibly) in predicting their progression to clinically overt AD.

Słowa kluczowe: amyloid / osocze / choroba Alzheimera / łagodne zaburzenia poznawcze

Key words: amyloid / plasma / Alzheimer's disease / mild cognitive impairment

Współczesne statystyki wskazują na otępienie jako na czwartą wiodącą przyczynę zgonów [1, 2]. Choroba Alzheimera (ch.A.) jest najczęstszą przyczyną występowania zespołów otępiennych w społeczeństwach zachodnich i drugą co do częstości w krajach Dalekiego

Wschodu. Dotyczy ona ok. 5–10% osób powyżej 65 roku życia i prawie połowy populacji powyżej 80 roku życia [3, 4, 5]. Wycinkowe dane polskie sugerują podobne rozpowszechnienie ch.A. jak w krajach zachodnich, uznają ją jednak, tak jak w Japonii, za prawdopodobnie

nieceo rzadszą niż otępienie naczyniopochodne przyczynę otępienia [6].

Diagnoza sporadycznej postaci ch.A. stawiana jest na podstawie klinicznych kryteriów wykluczających, jest przy tym czasochłonna i droga, skutkując, w najlepszym wypadku, rozpoznaniem prawdopodobnej ch.A. W wyspecjalizowanych ośrodkach, trafność rozpoznania sięga maksymalnie 65–90% [7]. Jako że większość badań oceniających dokładność diagnostyczną opiera się na wieloletniej katamniezie, przewidywana celność rozpoznania w najwcześniejszych stadiach choroby jest znacznie niższa.

Według rekomendacji Instytutu Nancy i Ronalda Reaganów, idealny marker diagnostyczny powinien także umożliwiać przewidywanie dalszego postępu choroby u osób zdrowych, monitorowanie tej progresji i ocenę skuteczności środków leczniczych (także potencjalnych) podczas terapii (badań naukowych); powinien on również odzwierciedlać główny proces patogenetyczny tego schorzenia, jakim są proces zwyrodnieniowy neuronów i synaps, czy rozwój typowych patologii – blaszek neurotycznych i zwyrodnienia neurofibrilarnego (*neurofibrillary tangles* – NFT). Przydatność markerów powinna być oceniana tylko w potwierdzonych neuropatologicznie przypadkach ch.A., powinny mieć one co najmniej 80% czułość w rozpoznawaniu ch.A. i przynajmniej 80% swoistość w różnicowaniu ch.A. z innymi rodzajami otępień. Co więcej, marker biologiczny powinien być obecny w łatwo dostępnych płynach ustrojowych, jak mocz, krew czy płyn mózgowo-rdzeniowy (pmr) [pełen tekst na stronie internetowej: <http://www.alzforum.org/res/enab/workshops/biomarkers.asp>].

Łagodne zaburzenia poznawcze (*mild cognitive impairment*, MCI; ł.z.p.), wprowadzone jako konstrukt kliniczny w połowie lat dziewięćdziesiątych XX wieku, są traktowane przez wielu badaczy jako wczesna, przedkliniczna faza ch.A. [8, 9]. Z badań podłużnych wynika, że część przypadków ł.z.p. (zwłaszcza jego amnestycznej postaci) ewoluje w kierunku ch.A. (średnioroczne odsetki „konwersji” są szacowane na 5–10%), ale znaczny odsetek powraca do stanu bez uchwytanych zaburzeń bez żadnego leczenia (w 5-letnim badaniu prospektywnym Larrieu i wsp. na kohorcie 1265 osób w wieku podeszłym było to aż 40%) lub pozostaje w stabilnym stanie [10, 11]. Trudno zatem jednoznacznie stwierdzić, które przypadki ł.z.p. są wczesną fazą ch.A., a brak biologicznego markera dla ch.A. uniemożliwia przy obecnym stanie wiedzy wewnętrzną weryfikację hipotezy o tożsamości patogenetycznej ł.z.p. i ch.A. lub o rozłączności tych stanów klinicznych [12]. Aktualne zalecenia Amerykańskiej Akademii Neurologii obejmują w przypadku ł.z.p. diagnostykę istniejącego deficytu funkcji poznawczych (z wykorzystaniem testów psychometrycznych) oraz monitorowanie tego stanu ze względu na wysokie ryzyko rozwoju otępienia, wskazując ponadto na potrzebę prac nad markerami biologicznymi i neuropsychologicznymi ł.z.p., które pozwoliłyby na odróżnianie tych ich postaci, które „ewoluują” w kierunku ch.A. [13].

AMYLOID B JAKO MARKER DIAGNOSTYCZNY CHOROBY ALZHEIMERA I ŁAGODNYCH ZABURZEŃ POZNAWCZYCH

Podstawową hipotezą patogenetyczną ch.A. jest obecnie teoria „kaskady amyloidowej”, wg której pierwotnym zjawiskiem jest odkładanie się w ośrodkowym układzie nerwowym nierozpuszczalnych i opornych na proteolizę form peptydu A β , co inicjować ma sekwencję zdarzeń prowadzącą do śmierci neuronów i ostatecznie rozwoju klinicznych objawów ch.A. [14]. Istotne znaczenie przypisuje się nie tylko akumulacji i agregacji A β , ale także roli toksycznych oligometrycznych form tego peptydu. A β ma wpływać także na wystąpienie charakterystycznej dla ch.A. dysfunkcji układu cholinergicznego; może to uzupełniać klasyczną cholinergiczną hipotezę ch.A., na której opiera się dominujący obecnie paradygmat leczenia ch.A. z wykorzystaniem inhibitorów cholinesterazy. Jako wtórne wobec amyloidozy można traktować także takie zjawiska jak podwyższony poziom stresu oksydacyjnego, przewlekła odpowiedź zapalna, formowanie patologicznych kanałów jonowych oraz obserwowane w ch.A. zmiany w neurotransmisji oraz przekąźnikach drugiego rzędu. Rola A β w patogenezie ch.A. nie budzi wątpliwości w przypadkach rodzinnych (*familial Alzheimer's disease*, FAD) o zidentyfikowanych, przynajmniej częściowo defektach genetycznych, z których większość prowadzi do zmiany metabolizmu β APP w kierunku promowania powstawania dłuższych, bardziej „amyloidogennych” form peptydu A β . W przypadkach sporadycznych ch.A. patogeneza jest słabiej poznana. Prawdopodobnie mamy do czynienia z działaniem wielu czynników, zarówno genetycznych (np. polimorfizmy APOE czy CYP46) jak i niegenetycznych (np. wpływ niektórych hormonów, patologia mikrokrążenia), które, działając synergistycznie, prowadzą do podobnego do FAD obrazu neuropatologicznego i klinicznego [15].

β -amyloid (A β) jest syntetyzowany podczas prawidłowego metabolizmu komórkowego i wydzielany do przestrzeni pozakomórkowej, co pozwala na jego detekcję w płynie mózgowo-rdzeniowym (pmr) [16].

Wyniki badań oceniających całkowite stężenia A β w pmr osób z ch.A. są niespójne, jako że stwierdzano brak zmian, niewielki wzrost lub niewielki ich spadek [17]. Większość autorów wykazało natomiast statystycznie znamienne, przebiegający w czasie spadek stężenia 42-aminokwasowej izoformy A β (A β 42) w pmr chorych z ch.A., co można tłumaczyć zmniejszonym klirenssem A β 42, które precypituje, tworząc blaszki amyloidowe [17, 18]. Czułość obniżenia stężenia A β 42, jako markera obecności klinicznej ch.A., oceniono na 100%, a swoistość na 63% [18]. Spadek ten udało się wykazać już u osób z ł.z.p., co powinno umożliwić korzystanie z tego markera w najwcześniejszych stadiach choroby [19]. Wartości stężeń A β 42 były stabilne w czasie, nie wykazywały korelacji ani z zaawansowaniem, ani z tempem progresji otępienia [17]. Przydatność oznaczania A β 42 w pmr jako markera diagno-

stycznego ch.A. jest ograniczona jego niską swoistością – obniżone stężenia A β 42 mogą być również stwierdzone w innych rodzajach otępień [7]. Ponadto, istotnym ograniczeniem jest konieczność pobierania płynu mózgowo-rdzeniowego, procedury, która poza krajami skandynawskimi i Japonią, wykonywana jest relatywnie rzadko, głównie ze względu na niechęć pacjentów.

Poziomy peptydów A β w osoczu, ze względu na łatwość uzyskania materiału biologicznego oraz możliwe reprezentowanie istotnych mechanizmów patogenetycznych choroby (zaburzenia metabolizmu transbłonowego białka β APP), stanowią potencjalnie atrakcyjny biomarker choroby Alzheimera. Są one niewątpliwie podwyższone w rodzinnej postaci ch.A., a także w przypadkach otępienia typu Alzheimera u osób z zespołem Downa [20, 21]. Wyniki badań w populacji chorych ze sporadyczną postacią ch.A. są niespójne: raportowano zarówno wzrost stężeń [22, 23], jak i brak różnic w porównaniu z osobami zdrowymi [24, 25]. Wskazywano ponadto, że wzrost stężeń A β może być związany wyłącznie z wiekiem badanych [26]. W innych badaniach zwrócono uwagę, że podwyższone poziomy A β mogą być stwierdzone na wiele lat przed rozwojem klinicznie jawnej choroby [22, 27]; nie oceniano jednak systematycznie ani wartości predykcyjnej podwyższonych wartości stężeń A β ani ich specyficzności dla osób z ł.z.p.

CEL BADANIA

Ocena poziomów peptydów A β w osoczu chorych z ch.A. i osób z ł.z.p. w porównaniu do osób zdrowych z grupy kontrolnej dobranych pod względem wieku, płci i wykształcenia; próba oszacowania czułości i swoistości poziomów peptydów A β w surowicy jako markerów diagnostycznych dla ch.A. i amnestycznej postaci ł.z.p.

BADANI PACJENCI

Włączanie do badań nad ch.A. i ł.z.p. chorych spełniających szerokie kryteria badawcze (np. NINCDS-ADRDA) jest jednym z czynników utrudniających ocenę rzetelności uzyskiwanych wyników. W badaniu przyjęto zaostrzone kryteria włączenia, co miało na celu wyeliminowanie z próby chorych z mieszaną postacią

ch.A., a także pacjentów spełniających kryteria diagnostyczne dla innych, specyficznych postaci otępień (np. otępienia z ciałami Lewy'ego). W przypadku osób ze wstępną diagnozą ł.z.p., włączono do badania wyłącznie osoby z amnestyczną postacią ł.z.p. (por. schematy rekrutacji poniżej). Wstępnie zakwalifikowano do badania 132 osoby spełniające kryteria badawcze NINCDS-ADRDA dla ch.A. Z tej grupy wykluczono 36 chorych spełniających kryteria ICD-10 dla mieszanej postaci ch.A., 11 chorych spełniających kryteria rozpoznawcze dla otępienia z ciałami Lewy'ego, 5 chorych spełniających kryteria dla otępienia czołowo-skroniowego oraz 8 chorych z długoletnim wywiadem uzależnienia (lub szkodliwego używania) alkoholu i/lub benzodiazepin lub barbituranów. Ponieważ założeniem pracy była ocena markera biochemicznego u osób ze sporadyczną postacią ch.A., z pozostałej po powyższych wykluczeniach grupy 72 chorych wyłączono jeszcze 18 osób z rodzinnym występowaniem ch.A. Ze wstępnie zakwalifikowanej grupy 70 osób spełniających ogólne, kliniczne kryteria dla ł.z.p. wyłączono 31 osób z następujących powodów: obecność izolowanego deficytu funkcji poznawczych, ale innego niż dotyczącego pamięci (N = 4), obecność łagodnych, ale licznych deficytów funkcji poznawczych (N = 7), obecność istotnych klinicznie i/lub słabo kontrolowanych chorób układu sercowo-naczyniowego, co do których nie można było wykluczyć ich udziału w patogenezie obserwowanych zaburzeń (N = 11), długoletni wywiad uzależnienia (lub szkodliwego używania) alkoholu i/lub benzodiazepin lub barbituranów (N = 2) oraz wywiad wskazujący na rodzinne występowania ch.A. (N = 7). Wszystkie osoby biorące udział w badaniu oraz ich opiekunowie (w przypadku chorych z ch.A.) zostali szczegółowo zapoznani z protokołem badania i podpisali formularz świadomej zgody. Protokół badania został zaakceptowany przez Komisję Etyczną Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

Ostatecznie do badania włączono 128 osób: 54 chorych ze sporadyczną postacią ch.A. (17 mężczyzn, mediana: wieku 78 ± 4 , MMSE $17,5 \pm 3,4$), 39 z amnestyczną postacią ł.z.p. (13 mężczyzn, mediana: wieku $74 \pm 3,4$, MMSE $27 \pm 0,9$) oraz 35 osób o porównywalnej charakterystyce demograficznej bez zaburzeń funkcji poznawczych jako grupy kontrolnej (11 mężczyzn, mediana: wieku $75 \pm 2,9$, MMSE $30 \pm 0,6$) – tabl. 1.

Tablica 1. Charakterystyka demograficzna badanych grup

Zmienna	Chorzy ze sporadyczną ch.A. (N = 54)	Osoby z amnestyczną postacią ł.z.p. (N = 39)	Grupa kontrolna (N = 35)
Wiek (mediana \pm SD)	$78 \pm 4,0$	$74 \pm 3,4^1$	$75 \pm 2,9^2$
Płeć (frakcja mężczyzn)	0,31	0,33	0,31
Edukacja (lata formalnego wykształcenia)	$7,1 \pm 1,2$	$8,4 \pm 4,7$	$8,0 \pm 4,1$
MMSE (mediana \pm SD)	$17,5 \pm 3,4$	$27,0 \pm 0,9^1$	$30,0 \pm 0,6^{1,3}$

¹ Różnica istotna statystycznie w porównaniu do ch.A. (test t-Studenta, $p < 0,0001$)

² Różnica istotna statystycznie w porównaniu do ch.A. (test t-Studenta, $p = 0,0002$)

³ Różnica istotna statystycznie w porównaniu do ł.z.p. (test t-Studenta, $p < 0,0001$)

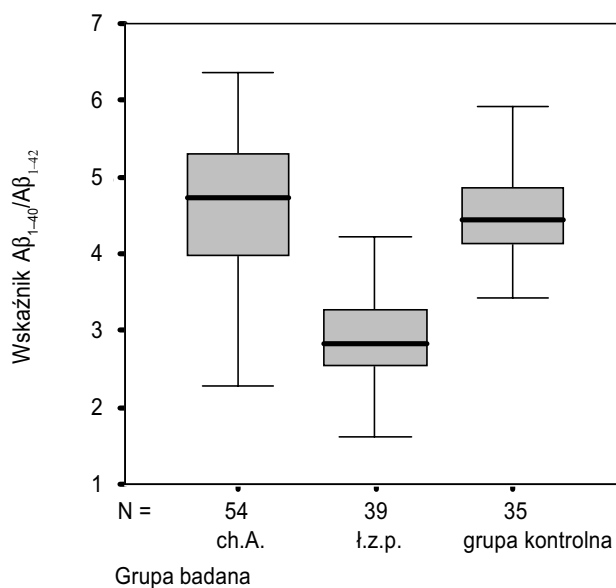
METODA

Pobierano krew pełną na EDTA, a materiał komórkowy usuwano metodą wirowania. Nie wdrożono specjalnych procedur zapobiegających aktywacji płytek krwi, opierając się na opracowaniu wskazującym na brak związku między tym procesem a poziomami peptydów A β w osoczu oznaczanych podobną do naszej metodą [28]. Nie stosowaliśmy także dodatkowych procedur w przypadku hipercholesterolemii leczonej statynami [29]. Osocze przechowywano w temperaturze -4°C przez maksimum 8 godzin, następnie zamrażano w porcjach po 1 ml i przechowywano w temperaturze -70°C do oznaczenia. Stężenia peptydów A β (A β_{1-40} i A β_{1-42}) oznaczano przy użyciu komercyjnie dostępnego kolorymetrycznego testu wykorzystującego metodę „sandwich” ELISA (BioSource Intl, Inc).

WYNIKI

W tabl. 2 zestawiono uzyskane średnie wartości stężeń peptydów A β w pg/ml (\pm odchylenie standardowe). Skalkulowano ponadto wskaźnik A β_{1-40} /A β_{1-42} postulowany przez niektórych badaczy jako czulszy niż poziomy peptydów A β . Analizy statystycznej różnic pomiędzy grupami dokonano stosując nieparametryczny test U Manna-Whitneya – ze względu na różnice pomiędzy grupami dotyczące wieku, liczby lat formalnego wykształcenia oraz wyniku testu MMSE stosowano poprawki na te trzy zmienne. Nie stwierdzono istotnych różnic w żadnym z ocenianych parametrów (A β_{1-40} , A β_{1-42} , A β_{1-40} /A β_{1-42}) pomiędzy oznaczeniami u chorych z ch.A. a grupą kontrolną. U osób z ł.z.p. w porównaniu zarówno z grupą kontrolną, jak i chorymi z ch.A., stwierdzono istotnie wyższe poziomy peptydu A β_{1-42} , przy nie różniących się istotnie poziomach peptydu A β_{1-40} ; występujące różnice skutkowały istotnie niższymi wartościami wskaźnika A β_{1-40} /A β_{1-42} w grupie ł.z.p. w porównaniu z grupą kontrolną oraz chorymi z ch.A. (rys. 1). Analiza metodą regresji liniowej (ANOVA) nie wykazała związku między wiekiem chorych a poziomami peptydów A β , na co wskazywały wyniki jednego badania [26].

Dla ustalenia wartości wskaźnika A β_{1-40} /A β_{1-42} , który najlepiej odróżnia grupę ł.z.p. od pacjentów z ch.A. i grupy kontrolnej, posłużono się analizą pola pod krzywą ROC. Największą dokładność rozróżnienia grup



Rysunek 1. Rozrzut wartości wskaźnika A β_{1-40} /A β_{1-42} pomiędzy badanymi grupami; z wykresu wynika, że nakładanie się wyników grupy ł.z.p. vs ch.A. i kontrola jest niewielkie, co może wskazywać na wysoką swoistość diagnostyczną

uzyskano przy przyjęciu wartości odcięcia 3,8. Pozwala ona na odróżnienie ł.z.p. ($<3,8$) od ch.A. z czułością 97,4% i swoistością 83,3%, zaś od grupy kontrolnej z czułością 97,4% i swoistością 88,6%. Nieco niższe wskaźniki czułości i swoistości uzyskuje się dla A β_{1-42} , wartość odcięcia >45 pg/ml pozwala na odróżnienie ł.z.p. od ch.A. z czułością 94,9% i swoistością 75,9%, zaś ł.z.p. od grupy kontrolnej z czułością 94,9% i swoistością 91,4%. Porównanie krzywych ROC dla ocenianych zmiennych przedstawiono na rys. 2 i 3.

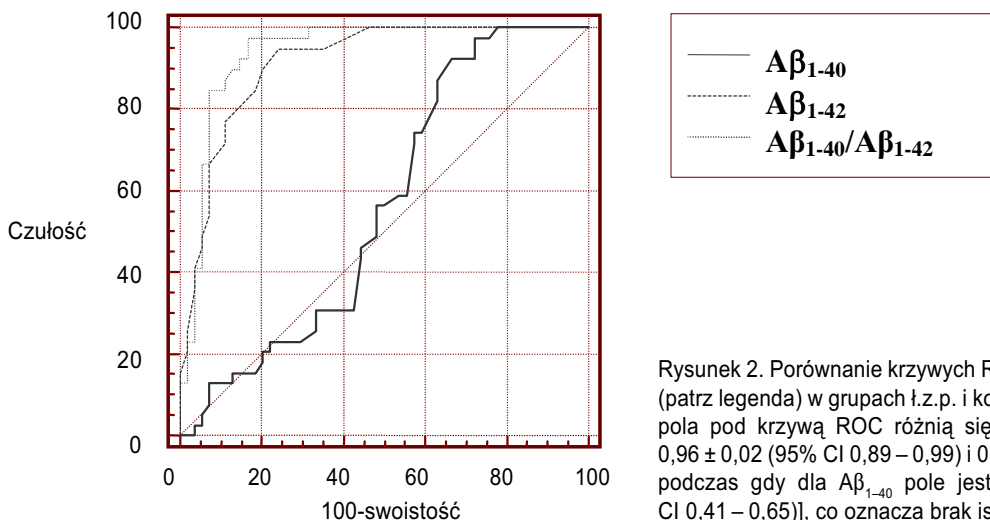
DYSKUSJA

Przedstawione w pracy wyniki porównania stężeń peptydów A β w osoczu chorych z ch.A. z odpowiednio dobraną grupą kontrolną wskazują na brak ich użyteczności w diagnostyce różnicowej sporadycznej ch.A. Brak istotnych różnic w porównaniu z grupą kontrolną jest zbieżny z niektórymi danymi z literatury [24, 25, 26], nie obserwowano raportowanej uprzednio zależności pomiędzy stężeniami peptydów A β a wiekiem chorych [26] ani żadną inną zmienną demograficzną (MMSE, płeć, liczba lat formalnego wykształcenia).

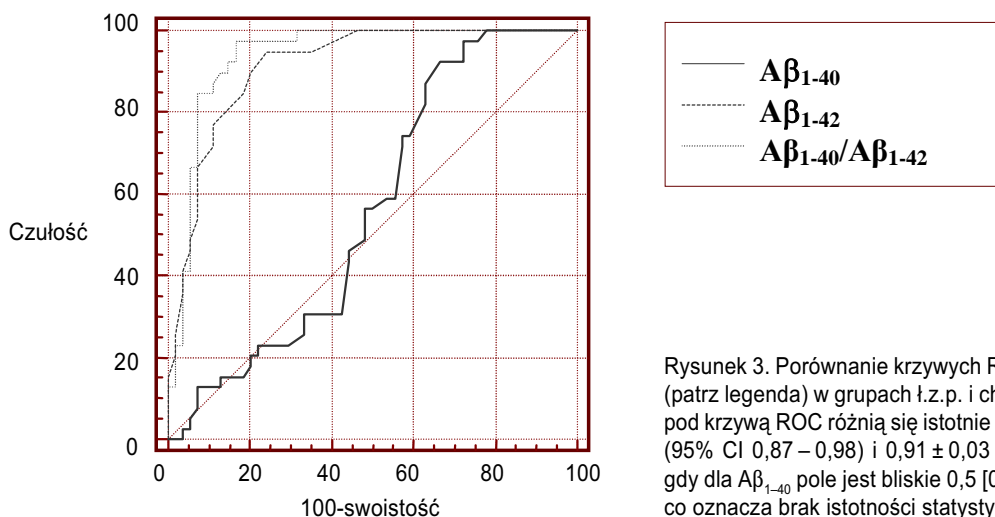
Tablica 2. Zestawienie średnich wartości stężeń peptydów A β oraz wskaźnika A β_{1-40} /A β_{1-42} w badanych grupach

Grupa badana	A β_{1-40}	A β_{1-42}	A β_{1-40} /A β_{1-42}
Choroba Alzheimerera (N = 54)	168,7 \pm 32,2	37,8 \pm 10,2	4,6 \pm 0,9
Łagodne zaburzenia poznawcze (N = 39)	160,1 \pm 20,2	56,8 \pm 9,2*	2,9 \pm 0,6*
Osoby zdrowe, grupa kontrolna (N = 35)	160,1 \pm 15,2	36,2 \pm 6,3	4,1 \pm 1,1

* Różnica istotna statystycznie ($p < 0,001$)



Rysunek 2. Porównanie krzywych ROC dla ocenianych parametrów (patrz legenda) w grupach ł.z.p. i kontrolnej. Dla $A\beta_{1-40}/A\beta_{1-42}$ i $A\beta_{1-42}$ pola pod krzywą ROC różnią się istotnie od 0,5 [odpowiednio: $0,96 \pm 0,02$ (95% CI 0,89 – 0,99) i $0,96 \pm 0,03$ (95% CI 0,89 – 0,99)], podczas gdy dla $A\beta_{1-40}$ pole jest bliskie 0,5 [$0,53 \pm 0,07$ (95% CI 0,41 – 0,65)], co oznacza brak istotności statystycznej



Rysunek 3. Porównanie krzywych ROC dla ocenianych parametrów (patrz legenda) w grupach ł.z.p. i ch.A.. Dla $A\beta_{1-40}/A\beta_{1-42}$ i $A\beta_{1-42}$ pola pod krzywą ROC różnią się istotnie od 0,5 [odpowiednio: $0,94 \pm 0,04$ (95% CI 0,87 – 0,98) i $0,91 \pm 0,03$ (95% CI 0,84 – 0,96)], podczas gdy dla $A\beta_{1-40}$ pole jest bliskie 0,5 [$0,58 \pm 0,07$ (95% CI 0,47 – 0,69)], co oznacza brak istotności statystycznej

Stwierdzone przez nas podwyższone poziomy $A\beta_{1-42}$ w osoczu chorych z ł.z.p. w porównaniu zarówno z chorymi z ch.A. jak i grupą kontrolną, sugerują, że zmiany stężeń peptydów A β mogą być potencjalnie czułym markerem biochemicznym w tej grupie osób [22, 27]. Można postawić hipotezę, że podwyższenie poziomu $A\beta_{1-42}$ w osoczu chorych z ł.z.p. jest przejawem prób usunięcia z ośrodkowego układu nerwowego patologicznego peptydu poprzez ogólnie jeszcze sprawnie funkcjonującą barierę krew–mózg. W późniejszej fazie choroby, kiedy dochodzi do uszkodzenia bariery krew–mózg usuwanie $A\beta_{1-42}$ z mózgu stawałoby się nieskuteczne, co prowadzi do jego akumulacji, toksycznego działania na neurony i postępującej śmierci komórek. Na modelach zwierzęcych ch.A. wykazano pośrednio, że usuwanie peptydów A β jest wydolnym mechanizmem we wcześniejszych stadiach rozwoju choroby rozumianej jako nasilenie amyloidozy [30] oraz, że może być odpowiedzialne za skuteczność aktywnej i pasywnej immunizacji w zmniejszaniu liczby

złogów amyloidowych w mózгах zwierząt doświadczalnych [31, 32]. Istnieją ponadto dowody na postępujące uszkodzenie bariery krew–mózg w przebiegu procesu zwyrodnieniowego w ch.A. [33, 34]. Niektórzy badacze wskazują ponadto na możliwości zmian funkcjonalnych bariery krew–mózg związanych z przechodzeniem przez nią peptydów A β oraz ich prawdopodobnie pośrednim działaniem na jej przepuszczalność [35, 36, 37]. Jest zatem prawdopodobne, że w bardzo wczesnej fazie choroby dochodzi (z różnych powodów) do zmian w katabolizmie prekursora amyloidu β APP w kierunku preferencyjnej syntezy dłuższej, bardziej amyloidogennej izoformy peptydu A β ($A\beta_{1-42}$), który początkowo jest wydajnie usuwany przez barierę krew–mózg (przy udziale mechanizmów związanych z receptorem LRP-1 oraz białek wpływających na metabolizm lipidów, takich jak α_2 -makroglobulina i apolipoproteina E [37]), co skutkuje w stopniowym podwyższaniu stężenia $A\beta_{1-42}$ w osoczu, ale nie peptydu $A\beta_{1-40}$, który jest cały czas sprawnie transportowany wstecznie [35].

Potwierdzałyby to wyniki naszego badania wskazujące na wyższe stężenia $A\beta_{1-42}$, ale nie $A\beta_{1-40}$ w osoczu chorych z ł.z.p. W późniejszej fazie choroby, na skutek postępującego uszkodzenia bariery krew-mózg oraz zmian w równowadze amyloid w mózgu/amyloid w osoczu dochodziłoby do niewydolności usuwania $A\beta_{1-42}$ z mózgu (i jego nasilonego odkładania się w postaci blaszek amyloidowych) [38] oraz wstecznego transportu peptydów $A\beta$ z osocza do mózgu, który prawdopodobnie jest odpowiedzialny głównie za amyloidozę naczyniową [39]. W ten sposób można wyjaśnić niestwierdzanie zmian w stężeniach peptydów $A\beta$ w jawnej klinicznie ch.A.

Stwierdzenie, że stężenie $A\beta_{1-42}$ i/lub wartość wskaźnika $A\beta_{1-40}/A\beta_{1-42}$ pozwalają, z wysokimi, rzędu 95% czułością i co najmniej 75% swoistością, na odróżnienie ł.z.p. od osób zdrowych oraz chorych z ch.A. nie oznacza, niestety, że można dzięki temu ustalić, którzy chorzy będą ewoluować w kierunku otępienia typu ch.A. Aby to ustalić niezbędna jest długoterminowa obserwacja osób z ł.z.p., co rozpoczęliśmy na opisywanej grupie. Możliwe jest, że podwyższenie stężeń peptydów $A\beta$ w osoczu stanowić będzie osobniczy wskaźnik ryzyka „konwersji” do ch.A.

WNIOSKI

1. Poziomy osoczowych peptydów $A\beta$ nie różnią się u chorych z ch.A. w porównaniu do grupy kontrolnej bez otępienia.
2. Stężenie $A\beta_{1-42}$ w osoczu pozwala z wysoką czułością (>90%) i nieco niższą swoistością odróżniać osoby z ł.z.p. od zarówno chorych z ch.A., jak i od grupy kontrolnej bez zaburzeń poznawczych. Poprawę siły dyskryminacyjnej można uzyskać posługując się wskaźnikiem $A\beta_{1-40}/A\beta_{1-42}$.
3. Jest prawdopodobne, że wzrost stężenia $A\beta_{1-42}$ w osoczu jest odzwierciedleniem naturalnego przebiegu ch.A., a ich podwyższenie może być „osobniczym” markerem rozwoju choroby, co mogą wyjaśnić badania podłużne.

PIŚMIENNICTWO

1. Wolfson C, Wolfson CB, Asgharian M, M'Lan CM, Ostbye T, Rockwood K, Hogan DB & the Clinical Progression of Dementia Study Group. A reevaluation of the duration of survival after the onset of dementia. *N Engl J Med* 2001; 344: 1111–6.
2. Rozzini R, Sabatini T, Barbisoni P, Bellelli G, Trabucchi M. Dementia is a major predictor of death among the Italian elderly. *Neurology* 2000; 54: 1014–9.
3. Evans DA, Funkenstein HH, Albert MS, Scherr PA, Cook NR, Chown MJ, Hebert LE, Hennekens CH, Taylor JO. Prevalence of the Alzheimer's disease in a community population of older persons: higher than previously reported. *J Am Med Assoc* 1989; 262: 2551–6.

4. Bachman DL, Wolf PA, Linn R, Knoefel JE, Cobb J, Belanger A, D'Agostino RB, White LR. Prevalence of dementia and probable senile dementia of the Alzheimer type in the Framingham study. *Neurology* 1992; 42: 115–9.
5. Katzman R, Kawas C. Epidemiology of dementia and Alzheimer's disease. W: Terry RD, Katzman R, Bick KL, red. *Alzheimer's disease*. New York: Raven Press; 1994: 105–22.
6. Gabryelewicz T. The prevalence of dementia in the population of the Warsaw district of Mokotow from 65 to 84 years of age. *Psychiatr Pol* 1999; 33 (3): 353–66.
7. Andreasen N, Minthon L, Clarberg A, Davidsson P, Gottfries J, Vanmechelen E, Vanderstichele H, Winblad B, Blennow K. Sensitivity, specificity, and stability of CSF-tau in AD in a community-based patient sample. *Neurology* 1999; 57: 1488–94.
8. Shah Y, Tangalos EG, Petersen RC. Mild cognitive impairment. When is it a precursor to Alzheimer's disease? *Geriatrics* 2000; 55 (9): 62–8.
9. Gabryelewicz T, Wasiak B. Łagodne zaburzenia poznawcze. *Psychiatr Pol* 2001; 35 (4): 647–56.
10. Petersen RC, Smith GE, Waring SC, Ivnik RJ, Tangalos EG, Kokmen E. Mild cognitive impairment: clinical characterization and outcome. *Arch Neurol* 1999; 56 (3): 303–8.
11. Larrieu S, Letenneur L, Orgogozo JM, Fabrigoule C, Amieva H, Barberger-Gateau P, Dartigues JF. Incidence and outcome of mild cognitive impairment in a population-based prospective cohort. *Neurology* 2002; 59 (10): 1594–9.
12. Petersen RC, Doody R, Kurz A, Mohs RC, Morris JC, Rabins PV, Ritchie K, Rossor M, Thal L, Winblad B. Current concepts in mild cognitive impairment. *Arch Neurol* 2001; 58: 1985–92.
13. Petersen RC, Stevens JC, Ganguli M, Tangalos EG, Cummings JL, DeKosky ST. Practice parameter: early detection of dementia: mild cognitive impairment (an evidence-based review). Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 2001; 56 (9): 1133–42.
14. Hardy JA, Higgins GA. Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. *Science* 1992; 256: 184–5.
15. Selkoe DJ. Alzheimer disease: mechanistic understanding predicts novel therapies. *Ann Intern Med* 2004; 140 (8): 627–38.
16. Shoji M. Cerebrospinal fluid Abeta40 and Abeta42: natural course and clinical usefulness. *Front Biosci* 2002; 7: 997–1006.
17. Andreasen N, Hesse C, Davidsson P, Minthon L, Wallin A, Winblad B, Vanderstichele H, Vanmechelen E, Blennow K. Cerebrospinal fluid β -amyloid₍₁₋₄₂₎ in Alzheimer disease. *Arch Neurol* 1999; 56: 673–80.
18. Motter R, Vigo-Pelfrey C, Kholodenko D, Barbour R, Johnson-Wood K, Galasko D, Chang L, Miller B, Clark C, Green R. Reduction of β -amyloid peptide 42 in the cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 1995; 38: 643–8.
19. Riemenschneider M, Lautenschlager N, Wagenpfeil S, Diehl J, Drzezga A, Kurz A. Cerebrospinal fluid tau and β -amyloid 42 proteins identify Alzheimer disease in subjects with mild cognitive impairment. *Arch Neurol* 2002; 59: 1729–34.
20. Scheuner D, Eckman C, Jensen M, Song X, Citron M, Suzuki N, Bird TD, Hardy J, Hutton M, Kukull W, Larson E, Levy-Lahad E, Viitanen M, Peskind E, Poorkaj P, Schellenberg G, Tanzi R, Wasco W, Lannfelt L, Selkoe D, Younkin S. Secreted amyloid beta-protein similar to that in the senile plaques of Alzheimer's disease is increased in vivo by the presenilin 1 and 2 and APP mutations linked to familial Alzheimer's disease. *Nat Med* 1996; 2 (8): 864–70.

21. Kosaka T, Imagawa M, Seki K, Arai H, Sasaki H, Tsuji S, Asami-Odaka A, Fukushima T, Imai K, Iwatsubo T. The beta APP717 Alzheimer mutation increases the percentage of plasma amyloid-beta protein ending at A beta42(43). *Neurology* 1997; 48 (3): 741–5.
22. Mayeux R, Tang MX, Jacobs DM, Manly J, Bell K, Merchant C, Small SA, Stern Y, Wisniewski HM, Mehta PD. Plasma amyloid beta-peptide 1–42 and incipient Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 1999; 46 (3): 412–6.
23. Mehta PD, Pirttila T, Mehta SP, Sersen EA, Aisen PS, Wisniewski HM. Plasma and cerebrospinal fluid levels of amyloid beta proteins 1–40 and 1–42 in Alzheimer disease. *Arch Neurol* 2000; 57 (1): 100–5.
24. Tamaoka A, Fukushima T, Sawamura N, Ishikawa K, Oguni E, Komatsuzaki Y, Shoji S. Amyloid beta protein in plasma from patients with sporadic Alzheimer's disease. *J Neurol Sci* 1996; 141 (1–2): 65–8.
25. Vanderstichele H, Van Kerschaver E, Hesse C, Davidsson P, Buyse MA, Andreasen N, Minthon L, Wallin A, Blennow K, Vanmechelen E. Standardization of measurement of beta-amyloid(1–42) in cerebrospinal fluid and plasma. *Amyloid* 2000; 7 (4): 245–58.
26. Fukumoto H, Tennis M, Locascio JJ, Hyman BT, Growdon JH, Irizarry MC. Age but not diagnosis is the main predictor of plasma amyloid beta-protein levels. *Arch Neurol* 2003; 60 (7): 958–64.
27. Graff-Radford N, Ertekin-Taner N, Jadeja N, Younkin L, Younkin S. evidence that plasma amyloid beta protein may be useful as a premorbid biomarker for Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2002; 23 (S1): S384.
28. Olsson A, Vanmechelen E, Vanderstichele H, Davidsson P, Blennow K. Unaltered plasma levels of beta-amyloid(1–40) and beta-amyloid(1–42) upon stimulation of human platelets. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2003; 16 (2): 93–7.
29. Högglund K, Wiklund O, Vanderstichele H, Eikenberg O, Vanmechelen E, Blennow K. Plasma levels of beta-amyloid(1–40), beta-amyloid(1–42), and total beta-amyloid remain unaffected in adult patients with hypercholesterolemia after treatment with statins. *Arch Neurol* 2004; 61 (3): 333–7.
30. Das P, Murphy MP, Younkin LH, Younkin SG, Golde TE. Reduced effectiveness of Abeta1-42 immunization in APP transgenic mice with significant amyloid deposition. *Neurobiol Aging* 2001; 22 (5): 721–7.
31. DeMattos RB, Bales KR, Cummins DJ, Dodart JC, Paul SM, Holtzman DM. Peripheral anti-A beta antibody alters CNS and plasma A beta clearance and decreases brain A beta burden in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98 (15): 8850–5.
32. DeMattos RB, Bales KR, Cummins DJ, Paul SM, Holtzman DM. Brain to plasma amyloid-beta efflux: a measure of brain amyloid burden in a mouse model of Alzheimer's disease. *Science* 2002; 295 (5563): 2264–7.
33. Claudio L. Ultrastructural features of the blood-brain barrier in biopsy tissue from Alzheimer's disease patients. *Acta Neuropathol (Berl)* 1996; 91 (1): 6–14.
34. Kalaria RN. The blood-brain barrier and cerebrovascular pathology in Alzheimer's disease. *Ann N Y Acad Sci* 1999; 893: 113–25.
35. Strazielle N, Ghersi-Egea JF, Ghiso J, Dehouck MP, Frangione B, Patlak C, Fenstermacher J, Gorevic P. In vitro evidence that beta-amyloid peptide 1–40 diffuses across the blood-brain barrier and affects its permeability. *J Neuropathol Exp Neurol* 2000; 59 (1): 29–38.
36. Pluta R, Barcikowska M, Januszewski S, Misicka A, Lipkowski AW. Evidence of blood-brain barrier permeability/leakage for circulating human Alzheimer's beta-amyloid(1–42)-peptide. *Neuroreport* 1996; 7 (7): 1261–5.
37. Shibata M, Yamada S, Kumar SR, Calero M, Bading J, Frangione B, Holtzman DM, Miller CA, Strickland DK, Ghiso J, Zlokovic BV. 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 (12): 1489–99.
38. Bading JR, Yamada S, Mackic JB, Kirkman L, Miller C, Calero M, Ghiso J, Frangione B, Zlokovic BV. Brain clearance of Alzheimer's amyloid-beta40 in the squirrel monkey: a SPECT study in a primate model of cerebral amyloid angiopathy. *J Drug Target* 2002; 10 (4): 359–68.
39. Mackic JB, Bading J, Ghiso J, Walker L, Wisniewski T, Frangione B, Zlokovic BV. Circulating amyloid-beta peptide crosses the blood-brain barrier in aged monkeys and contributes to Alzheimer's disease lesions. *Vascul Pharmacol* 2002; 38 (6): 303–13.

Adres: Dr Tomasz Sobów, Klinika Psychiatrii Wieku Podeszłego i Zaburzeń Psychotycznych Uniwersytetu Medycznego, ul. Czechosłowacka 8/10, 92-216 Łódź, e-mail: tmsobow@csk.am.lodz.pl