



Interakcje układu cholinergicznego i amyloidu w patogenezie i leczeniu choroby Alzheimera: czy inhibitory cholinesterazy wpływają na naturalny przebieg choroby?

Interactions between the cholinergic system and amyloid in the pathogenesis and treatment of Alzheimer's disease: do cholinesterase inhibitors affect the natural course of the disease?

TOMASZ SOBÓW

Klinika Psychiatrii Wieku Podeszłego i Zaburzeń Psychotycznych,
Centralny Szpital Kliniczny, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

STRESZCZENIE

Cel. Przedstawienie dowodów z badań naukowych wskazujących na możliwość cholinergicznego modulacji metabolizmu β -APP i teoretycznych implikacji dla terapii choroby Alzheimera.

Poglądy. Główne hipotezy dotyczące choroby Alzheimera wskazują na dysfunkcję metabolizmu β -APP jako na podstawowy mechanizm patogenetyczny (hipoteza kaskady amyloidowej) oraz na zaburzenia neurotransmisji cholinergicznego jako podłoża neurochemicznego deficytów funkcji poznawczych oraz objawów neuropsychiatrycznych (hipoteza cholinergiczna). Badania molekularne i kliniczne wskazują na istnienie złożonych, wzajemnych interakcji między produktami metabolizmu β -APP a układem cholinergicznym. Amyloid β może być w sposób szczególnie toksyczny dla neuronów cholinergicznym oraz zaburzać biosyntezę acetylocholiny. Z drugiej strony dysfunkcja układu cholinergicznego może prowadzić do takiej modulacji metabolizmu β -APP, która zmaga syntezę i odkładanie się w mózgu $A\beta$.

Wnioski. Inhibitory cholinesterazy, usprawniając neurotransmisję w obrębie synapsy cholinergicznego, mogą, poprzez pośredni wpływ na modulację metabolizmu β -APP, dawać efekt wykraczający poza objawowy. Choć gromadzone w ostatnich latach dane wspierają pogląd o potencjalnym wpływie inhibitorów cholinesterazy na naturalny przebieg choroby Alzheimera, są jednak nadal niewystarczające aby jednoznacznie takie działanie tych leków potwierdzić.

SUMMARY

Objectives. To present available research evidence suggesting a possibility of cholinergic modulation of β -APP metabolism and its theoretical implications for Alzheimer's disease treatment.

Views. Leading hypotheses concerning Alzheimer's disease (AD) consider dysfunction of β -APP metabolism as the basic pathogenic mechanism (the amyloid cascade hypothesis), and a cholinergic neurotransmission disorder as a neurochemical background for clinically observed cognitive and behavioral pathology (the cholinergic hypothesis). Molecular and clinical studies support the idea that β -APP metabolism products interact with the cholinergic system in a quite complicated manner. Beta-amyloid may be particularly toxic to cholinergic neurons, and may lead to a deficiency of acetylcholine biosynthesis. On the other hand, cholinergic dysfunction may lead to an overproduction and cerebral deposition of amyloid β .

Conclusions. Cholinesterase inhibitors facilitating neurotransmission within the cholinergic synapse may produce a more than symptomatic effect, possibly via modulation of β -APP metabolism. Although data obtained in recent years support the view about a possible effect of cholinesterase inhibitors on the natural course of AD, they are not conclusive yet.

Słowa kluczowe: choroba Alzheimera / amyloid / układ cholinergiczny / inhibitory cholinesterazy / naturalny przebieg choroby

Key words: Alzheimer's disease / amyloid / cholinergic system / cholinesterase inhibitors / natural course of disease

Selektywna utrata neuronów poprzedzona zaburzeniami funkcji synaps jest uważana za jeden z podstawowych neuropatologicznych wykładników choroby Alzheimera (AD). Badania pokazują, że degeneracja neuronów i synaps dotyczy głównie regionów mózgu o największej liczbie i gęstości klasycznych dla AD zmian, blaszek starczych i NFT; są to, przede wszystkim, hipokamp, ciało migdałowate i kora mózgu oraz niektóre regiony podkorowe, takie jak neurony cholinergiczne podstawnej części przodomózgowia (jądra podstawne Meynerta), neurony

serotonergiczne grzbietowej części szwu (jądra szwu) oraz neurony noradrenergiczne istoty czarnej [1-3]. Choć badania neurochemiczne mózgow chorych z AD wskazują na zaburzenia przekaźnictwa w obrębie licznych systemów (cholinergicznego, serotonergicznego, noradrenergicznego, glutaminianergicznego czy też somatostynergicznego), to jednak tylko w przypadku układu cholinergicznego wyniki badań są spójne i pozwoliły na sformułowanie cholinergicznego hipotezy zaburzeń funkcji poznawczych w AD.

KLASYCZNA HIPOTEZA CHOLINERGICZNA

Hipoteza ta zakłada, że deficyt przekaźnictwa cholinergicznego związany z selektywną śmiercią neuronów jądra podstawnego Meynerta i innych jąder przodomózgowia (jąder przegrody, jądra pasma przekątnego) wysyłających aksony do hipokampa i kory skroniowej jest neurochemicznym podłożem zaburzeń funkcji poznawczych w AD [4-5]. Systematyczne badania neurochemiczne mózgów chorych z AD rozpoczęto na przełomie lat 60. i 70. XX wieku. Oczekiwano, że wraz z określeniem profilu zmian neurochemicznych w AD uda się odpowiedzieć na większość nurtujących pytań i co więcej znaleźć skuteczne leczenie. Przypuszczano, poprzez analogię do choroby Parkinsona i leczenia lewodopą, że substytucja odpowiedniego neuroprzekaźnika znacząco zmieni przebieg kliniczny choroby. Wyniki dalszych badań i wprowadzenie do lecznictwa inhibitorów cholinesterazy tylko częściowo spełniły te oczekiwania. W połowie lat siedemdziesiątych stwierdzono deficyty w korze nowej enzymu odpowiedzialnego za syntezę acetylocholin – acetylotransferazy cholinowej (*choline acetyltransferase*, ChAT). W jednym z pierwszych badań tego typu Bowen i wsp. (1976) [6] oceniali aktywność trzech enzymów, ChAT, GAD (*glutamic acid decarboxylase*) i AAD (*aromatic aminoacid decarboxylase*) jako markerów trzech systemów neuroprzekaźnictwa, układów, odpowiednio, cholinergicznego, GABA-ergicznego i monoaminergicznego w materiale autopsyjnym składającym się z 56 mózgów, w tym 12 osób zdiagnozowanych klinicznie jako otępienie starcze typu Alzheimerera. Badacze ci stwierdzili nie tylko istotną redukcję aktywności ChAT w mózgach zmarłych z powodu AD, ale także pólnościową zależność między aktywnością ChAT a liczbą typowych dla AD cech neuropatologicznych, blaszek starczych i NFT [6]. Badania Bowena zostały potwierdzone w dwóch innych seriach autopsyjnych, w których zwrócono ponadto uwagę na związek deficytu aktywności ChAT z selektywną utratą neuronów [7] oraz na jego swoistość dla AD a nie innych otępień [8]. Kolejne badania potwierdziły istotny, głównie presynaptyczny deficyt przekaźnictwa cholinergicznego wskazując na takie zjawiska jak redukcja doneuronalnego wychwyty cholin, spadek uwalniania acetylocholin oraz zanik neuronów cholinergicznego jądra Meynerta (*nucleus basalis Meynerti*), jako na typowe dla AD [9-10]. Powyższe badania, wraz z eksperymentalnymi dowodami na udział acetylocholin w procesach związanych z pamięcią oraz wynikami badań wskazujących na korelacje między presynaptyczną dysfunkcją cholinergiczną a nasileniem cech otępienia [11], stały się argumentami za sformułowaniem hipotezy cholinergicznego AD [4]. Późniejsze badania pokazały charakterystyczną sekwencję zdarzeń w rozwoju AD: początkowo patologia w układzie cholinergicznym jest głównie „presynaptyczna” i dotyczy redukcji syntezy acetylotransferazy cholinowej (ChAT) oraz spadku wydzielania acetylocholin; wraz z progresją choroby dochodzi do coraz to znaczącej patologii „synaptycznej” [zaburzenia syntezy transportera i wychwyty acetylocholin, później spadku syntezy acetylocholinesterazy (AChE), enzymu degradującego acetylocholinę w szczelinie synaptycz-

nej] i wreszcie, w końcowym etapie, „postsynaptycznej” z uszkodzeniem wiązania acetylocholin z receptorami i „zdysocjowaniem” receptorów (najpierw muskarynowych, potem także nikotynowych) z ich przekaźnikami drugiego rzędu [5]. Na poziomie klinicznym rozszerzono hipotezę cholinergiczną wskazując, że deficyt neurotransmisji cholinergicznego ma znaczenie nie tylko dla zaburzeń funkcji poznawczych, ale także dla pojawienia się towarzyszących otępieniu zaburzeń zachowania i objawów psychotycznych [12]. Potwierdzenie roli układu cholinergicznego w rozwoju klinicznych objawów AD przyniosły badania kliniczne z lekami z grupy inhibitorów cholinesterazy, które, choć do pewnego stopnia rozczarowujące, to jednak pokazały korzystny wpływ tych leków na pamięć i inne zaburzenia funkcji poznawczych, ogólne funkcjonowanie oraz jakość życia chorych z AD [13], a także na objawy psychotyczne i niektóre inne zaburzenia zachowania towarzyszące otępieniu, takie jak pobudzenie, apatia czy zaburzenia snu [14]. Co wydaje się niemniej istotne, stosowanie tych leków w praktyce klinicznej, choć daje tylko częściowy i raczej umiarkowany efekt, to jednak istotnie poprawia jakość życia, nie tylko pacjentów, ale także ich opiekunów [15].

NOWSZE BADANIA NAD DEFICYTEM CHOLINERGICZNYM W CHOROBIE ALZHEIMERA I ŁAGODNYCH ZABURZENIACH POZNAWCZYCH

Badania ostatnich lat pokazały, że hipoteza cholinergiczna zaburzeń funkcji poznawczych ma szereg słabości. Przede wszystkim podważono pogląd jakoby zaburzenia funkcjonowania układu cholinergicznego były wczesnym zjawiskiem w rozwoju AD [16-17]. W starannie przygotowanym badaniu autopsyjnym na 81 mózgach, Davis i wsp. w 1999 r. pokazali, że aktywność ChAT koreluje negatywnie z nasileniem patologii Alzheimerowskiej (gęstość depozytów amyloidowych i NFT) i to niezależnie od klinicznego rozpoznania otępienia (czyli także u osób klinicznie zdrowych), ale, co stoi w wyraźnej opozycji do wcześniejszych prac, wyraźny deficyt w układzie cholinergicznym (mierzony aktywnością ChAT oraz cholinesterazy) stwierdzili oni dopiero w znacznie nasilonym otępieniu; grupa z lekkim nasileniem otępienia nie różniła się pod tym względem istotnie od osób z łagodnymi zaburzeniami poznawczymi ani od bezobjawowych kontroli [18]. W innym, podobnie zaprojektowanym badaniu, potwierdzono korelację (wyraźniejszą w bardziej nasilonych stadiach otępienia) między deficytem cholinergicznym a nasileniem zmian neuropatologicznych, ale wykazano względnie niezmienną liczbę neuronów immunopozytywnych dla ChAT oraz synaptycznego transportera acetylocholin (*vesicular acetylcholine transporter*, VAChT) w mózgach osób z łagodnymi zaburzeniami poznawczymi i otępieniem typu AD o lekkim nasileniu [19]. Jeszcze bardziej prowokujące okazały się być wyniki badań nad mózgiami osób z łagodnymi zaburzeniami poznawczymi (*mild cognitive impairment*, MCI). MCI, choć prawdopodobnie obejmuje bardzo heterogenną grupę chorych, jest

uważane powszechnie za bardzo wczesne stadium AD (lub, rzadziej, innych otępień), na co wskazują zwłaszcza wyniki poprawnie przeprowadzonych badań kliniczno-neuropatologicznych [20-21]. Badacze z grupy Stevena DeKosky badali 58 mózgów pobranych od osób starszych bez klinicznych objawów zaburzeń poznawczych, z łagodnymi zaburzeniami poznawczymi oraz z otępieniem w AD w stadium lekkim. Wykazali oni, że aktywność ChAT jest wyższa w niektórych regionach mózgu (kora czołowa, hipokampy) osób z MCI w porównaniu do zarówno chorych z lekkim otępieniem w AD, jak i osób zdrowych. Zwrócili oni ponadto uwagę na obecność zależności między aktywnością ChAT a progresją patologii typu blaszek amyloidowych w korze węchowej i hipokampach. Co więcej, obserwowany w MCI wzrost aktywności ChAT dotyczył w sposób selektywny obszarów układu limbicznego typowo zajętego w III/IV stadium AD według Braaków [22]. Na podstawie powyższych informacji sformułowano dwie hipotezy badawcze: po pierwsze, obserwowany w MCI wzrost aktywności ChAT w hipokampach może być kompensacyjną zmianą wywołaną przez postępującą denerwację hipokampów związaną z utratą połączeń z korą węchową; po drugie zaburzenia pamięci obserwowane w MCI nie są związane z deficytem cholinergicznym [23]. Na możliwość znaczenia innych niż dysfunkcja cholinergiczna i bardziej subtelnych zmian w rozwoju objawów MCI i lekko nasilonego otępienia w AD wskazuje kilka nowszych obserwacji. Utrata synaps (mierzona immunoreaktywnością synaptofizyny) w płatach czołowych wydaje się być wcześniejszym zjawiskiem od spadku aktywności ChAT w tych regionach mózgu, a wyraźna zależność między utratą synaps a aktywnością ChAT obserwuje się dopiero w bardziej zaawansowanych stadiach AD [24]. Wyprzedzającym deficyt cholinergicznym zjawiskiem w MCI i lekkim otępieniu w AD mogą być zmiany dotyczące neurotrofin, czynnika wzrostu neuronów (NGF), mózgowo pochodnego czynnika neurotroficznego (BDNF), neurotrofiny 3 i neurotrofiny 4; w MCI i wczesnym AD zaobserwowano down-regulację trkA (receptora o wysokim powinowactwie do NGF), wzrost ekspresji prekursora NGF (pro-NGF) a spadek ekspresji zarówno prekursora (pro-BDNF), jak i dojrzałego BDNF [25-27]. Powyższe obserwacje przeprowadzone na mózgach osób z MCI i lekkim otępieniem w AD doprowadziły niektórych badaczy do wniosku, że stosowanie inhibitorów cholinesterazy powinno mieć miejsce dopiero w bardziej nasilonych stadiach AD, zaś w przypadku MCI może doprowadzić do zaburzenia naturalnych (i skutecznych na tym etapie) mechanizmów kompensacyjnych [28]. Pogląd ten znajduje przynajmniej częściowe wsparcie w wynikach badań klinicznych nad inhibitorami cholinesterazy w MCI; leki wpływały bardzo słabo i krótkotrwale na funkcje poznawcze i nie zapobiegały rozwojowi pełnoobjawowego otępienia w dwuletniej obserwacji. Co więcej, tolerancja leczenia okazała się być niesatysfakcjonująca, z wysokim odsetkiem chorych przerywających leczenie z powodu objawów niepożądanych, a nawet z sugestią wyższej śmiertelności w grupie leczonej w porównaniu do grupy przyjmującej placebo [29].

A β A UKŁAD CHOLINERGICZNY W CHOROBIE ALZHEIMERA

Wpływ peptydów A β na układ cholinergiczny

Jak już podkreślono wcześniej, układ cholinergiczny jest szczególnie wrażliwy na proces patologiczny odpowiedzialny za AD. Liczne badania potwierdziły specyficzną rolę w modulowaniu uszkodzenia układu cholinergicznego, które jest odpowiedzialne za znaczny odsetek objawów klinicznych AD, w tym zaburzeń pamięci i uwagi oraz niektórych zaburzeń zachowania (zaburzenia snu, pobudzenia, apatia) i objawów psychotycznych (omamy i halucynacje). Badania eksperymentalne, głównie na hodowlach komórkowych, wykazały, że peptydy A β wpływają między innymi na takie procesy patogenetycznie związane z AD jak, bezpośrednia toksyczność wobec neuronów cholinergicznym, indukowanie fosforylacji niektórych białek, w tym τ , zmniejszenie wychwyty choliny, syntezy acetylocholino (poprzez spadek aktywności transferazy cholinowej) oraz uwalniania acetylocholino do szczeliny synaptycznej, wreszcie bezpośrednie działanie na receptory układu cholinergicznego, zarówno nikotynowe, jak i muskarynowe, w tym ostatnim przypadku ma dochodzić do dysocjowania błonowej części receptora z białkami odpowiedzialnymi za wewnątrzkomórkową transmisję sygnału. Te różnorodne działania A β na układ cholinergiczny potwierdzają kluczową rolę tego peptydu w patogenezie AD i wspierają koncepcje strategii leczenia AD opartych o paradygmat usuwania amyloidu z mózgu [30].

Cholinergiczna regulacja metabolizmu β APP

Badania ostatnich kilkunastu lat pozwoliły na zgromadzenie licznych dowodów na istnienie cholinergicznym regulacji metabolizmu β APP a zatem na możliwość, że najpowszechniej stosowane w leczeniu otępienia w AD leki, inhibitory cholinesterazy, mogą mieć działanie nie tylko objawowe, ale także pośrednio wpływać na neurobiologię choroby i, być może, modyfikować w ten sposób jej naturalny przebieg. Pierwszym badaczem, który zwrócił uwagę na możliwość cholinergicznym regulacji metabolizmu β APP był Roger Nitsch z Uniwersytetu w Zurychu. Wykazał on, że stosowanie karbacholu (nieselektywny agonista receptorów muskarynowych) w sposób istotny zwiększa produkcję APP α_s przez komórki HEK (komórki embrionalne nerki człowieka), w których uzyskano stabilną ekspresję receptorów muskarynowych typu m_1 i m_3 , ale nie wpływa na komórki, w których uzyskano ekspresję receptorów typu m_2 i m_4 . Taki wpływ na metabolizm β APP był blokowany przez atropinę, oraz staurosporynę, co razem wskazywało na rolę wewnątrzkomórkowych kinaz w aktywowaniu wydzielania rozpuszczalnej formy β APP, APP α_s [31]. Co ciekawe, obserwowano nie tylko zwiększenie wydzielania APP α_s , ale także redukcję ilości produkowanego przez komórki A β , co sugeruje, że poprzez aktywację receptorów muskarynowych (typu m_1 i m_2) uzyskano wzrost aktywności typu α -sekreazy, co potwierdziły późniejsze, podobne obserwacje na mózgach szczurów,

jak i hodowlach neuronów [32, 33]. Dokładny mechanizm, za pośrednictwem którego stymulacja dwóch podtypów receptora muskarynowego moduluje metabolizm β APP nie został dotąd poznany. Najwięcej zwolenników ma propozycja, że chodzi tu o pobudzanie dwóch kaskad przekazywania sygnału wewnątrzkomórkowego, za pośrednictwem kinazy białkowej C (PKC) lub kinazy aktywowanej miogenem (MAPK). Taki pogląd wspierają wyniki badań nad innymi substancjami (między innymi, wazopresyną, serotoniną, agonistami metabotropowych receptorów glutaminianergicznymi czy estrogenami), które działając (pośrednio lub bezpośrednio) na wymienione powyżej kinazy wywołują podobny wpływ na metabolizm β APP [34]. Odmienny wpływ na metabolizm β APP ma aktywowanie cholinergicznymi receptorami nikotynowymi; obserwowano wprawdzie wzrost sekrecji APP_{α_s} , ale brak wpływu na $A\beta$, co sugeruje, że nie może tu chodzić o stymulację α -sekreazy. Blokowanie tego efektu przez EGTA (chelator jonów wapniowych) wraz z wcześniejszymi obserwacjami wskazującymi na rolę influsu Ca^{2+} na sekrecję APP_{α_s} , wskazuje na taki właśnie, nieswoisty mechanizm. Nie wyjaśnia jednak do końca, braku wydzielania $A\beta$; istnieją sugestie, że może tu chodzić o zaburzenie transportu $A\beta$ na zewnątrz komórki [35, 36].

W kilku badaniach oceniano wpływ inhibitorów cholinesterazy na metabolizm β APP. Wyniki tych badań nie są jednoznaczne i, jak się wydaje, sugerują, że może tu chodzić o działanie plejotropowe, jako, że nie w przypadku wszystkich badanych inhibitorów potwierdzono ich wpływ na β APP. Efekty mogą zależeć też od typu badanych komórek, dla przykładu metrifonat, nieodwracalny inhibitor cholinesterazy, nie wykazywał aktywności w hodowlach ludzkich komórek neuroblastoma SK-N-SH, ale zwiększał sekrecję APP_{α_s} w innej linii neuroblastoma, SH-SY5Y [33, 37]. Donepezil, odwracalny inhibitor cholinesterazy (najpowszechniej stosowany w klinice) zwiększał sekrecję APP_{α_s} w linii komórkowej neuroblastoma (SH-SY5Y). Nie wykazano wzrostu aktywności typu α -sekreazy, ale wzrost stężenia ADAM-10 (jednego z enzymów o możliwej aktywności typu α -sekreazy) w kompartmentcie błonowym oraz blokowanie efektu przez środki blokujące transport białek (tunikamycyny i brefeldyny), co sugeruje wpływ donepezilu na przemieszczanie się lub maturację enzymu [38]. Inny efekt obserwowano w przypadku takryny, leku blokującego nie tylko neuronalną acetylocholinesterazę, ale także glejową butyrylocholinesterazę. Takryna zmniejszała sekrecję zarówno APP_{α_s} , jak i całkowitego $A\beta$, a także obu jego podtypów ($A\beta_{1-40}$ i $A\beta_{1-42}$), co sugeruje brak wpływu na proteolizę, lecz raczej działanie na wewnątrzkomórkowe przemieszczanie się i/lub dojrzewanie β APP. Niestety nie dokonano dotąd długoterminowych obserwacji linii komórkowej traktowanych takryną, nie można zatem wykluczyć możliwości, że działanie leku może być szkodliwe, poprzez wewnątrzkomórkowe gromadzenie się β APP lub produktów jego metabolizmu powstałych w drodze aktywowania alternatywnych, nie-błonowych dróg metabolizmu [33, 39]. W przypadku innych inhibitorów cholinesterazy uzyskiwano wyniki sprzeczne (fizostygmina), wskazywano na hamowanie sekrecji APP_{α_s} (fenseryna,

cymseryna, tolseryna) lub na brak wpływu na metabolizm β APP (3,4-diaminopirydyna) [37]. Podsumowując, wydaje się, że przynajmniej niektóre inhibitory cholinesterazy mogą wpływać na metabolizm β APP, choć z większości badań wynika, że w przeciwieństwie do agonistów receptorów muskarynowych, mechanizm takiego działania raczej nie jest związany z bezpośrednim wpływem na enzymy katabolizujące β APP, lecz chodzi tu o inne mechanizmy, takie jak możliwy wpływ na syntezę, ekspresję i, zwłaszcza wewnątrzkomórkowe przemieszczanie się β APP [33, 34, 37].

W zaledwie pojedynczych badaniach oceniano możliwy wpływ inhibitorów cholinesterazy na obwodowe poziomy peptydów $A\beta$ u leczonych chorych z AD. W trzech badaniach oceniano wpływ leczenia różnymi inhibitorami cholinesterazy na poziomy peptydów $A\beta$ (i także białka τ) w płynie mózgowo-rdzeniowym; oceniano wpływ metrifonatu [40], donepezilu, riwastygminy i galantaminy [41] oraz takryny i riwastygminy [42], generalnie nie stwierdzając istotnego wpływu leczenia na markery w CSF. Nieco odmiennie wyniki przyniosły dwa badania oceniające osoczowe poziomy peptydów $A\beta$, w tym jedno badanie własne [43, 44]. W pierwszym z badań oceniano poziomy badanych peptydów na początku terapii oraz po 2 i 6 tygodniach leczenia takryną i wprawdzie nie stwierdzono istotnych różnic, to zaobserwowano wyraźną zależność między stężeniami $A\beta_{1-40}$ i $A\beta_{1-42}$ a stężeniem takryny w osoczu po 2 tygodniach leczenia. Wynik ten badacze interpretowali ostrożnie jako możliwy sygnał wpływu takryny na aktywność α -sekreazy, który jest atenuowany poprzez mechanizmy kompensacyjne po dłuższym okresie leczenia [43]. W pilotowym badaniu własnym ocenialiśmy wpływ riwastygmina na osoczowe poziomy peptydów $A\beta$ i stwierdziliśmy zwiększenie stężenia $A\beta_{1-42}$ (ale nie $A\beta_{1-40}$) po 2 tygodniach leczenia [44]. Wreszcie, w bardzo nielicznych badaniach, w tym jednym własnym, oceniano znaczenie oceny poziomów osoczowych peptydów $A\beta$ jako potencjalnych predyktorów odpowiedzi klinicznej na leczenie inhibitorem cholinesterazy. W badaniu własnym wykazaliśmy, że wyjściowy poziom peptydu $A\beta_{1-42}$ oraz jego zmiana po 2-tygodniowym leczeniu riwastygminą mogą być użyteczne jako predyktor odpowiedzi klinicznej po 6, 12 i 24 miesiącach terapii [45]. Analogicznie, Modrego i wsp. w 2008 r. pokazali, że wyjściowy poziom $A\beta_{1-40}$ pozwalał przewidywać odpowiedź kliniczną na galantaminę po 6 miesiącach terapii. Te prace wymagają niezależnych potwierdzeń zanim znajdą zastosowanie w praktyce klinicznej [46].

Do wyników cytowanych powyżej badań na ludziach należy podchodzić z dużą ostrożnością. Przede wszystkim, w badaniach tych grupy badane były relatywnie nieliczne i obserwowano znaczną heterogeniczność odpowiedzi. Poza tym w cytowanych badaniach w CSF oceniano zmiany po co najmniej kilkumiesięcznym leczeniu, podczas gdy wyniki dwóch badań w osoczu sugerują istnienie krótkotrwałej odpowiedzi i uruchamianie się mechanizmów kompensacyjnych. Różnice między wynikami badań w CSF i osoczu mogą ponadto odzwierciedlać odmiennie, przynajmniej częściowo, pochodzenie pul peptydów $A\beta$ w tych płynach ustrojowych, na co wskazują wyraźnie badania pokazujące

ce brak zależności między stężeniami A β w CSF i osoczu u ludzi [47]. Z drugiej jednak strony badania na myszach transgenicznym modelujących AD wykazały, że zależność między stężeniami A β w CSF i osoczu może być bardziej złożona, wyraźna u myszy młodych i wrażliwa u starych (z ciężką amyloidozą) sugerując możliwość istnienia dynamicznej równowagi między mózgową a obwodowymi pulami amyloidu [48, 49].

Znaczenie wzajemnych interakcji A β -układ cholinergiczny w patogenezie choroby Alzheimera: ku leczeniu modyfikującym przebieg choroby?

Klasyczne już dziś badania pokazały, że piko- do nanomolarnych ilości A β są produkowane stale przez prawidłowe komórki nerwowe, że można je wykryć w płynach ustrojowych oraz, że nie jest to element żadnego procesu patologicznego [50]. Wiele wskazuje na to, że takie niewielkie ilości A β pełnią funkcje neuromodulacyjną wobec prawidłowego układu cholinergicznego, prawdopodobnie głównie poprzez hamowanie syntezy i wydzielania acetylocholino. Z drugiej strony, acetylocholina reguluje syntezę i proteolityczne procesowanie β APP. A zatem mamy do czynienia z wzajemnym działaniem regulacyjnym: układ cholinergiczny partycypuje w nie-amyloidogennym procesowaniu i dojrzewaniu β APP, głównie poprzez bezpośrednie lub pośrednie działanie na aktywność typu α -sekreazy, podczas gdy A β zwrótnie hamują aktywność neuronów cholinergicznym. Czynniki uszkodzające układ cholinergiczny, zwiększają zatem produkcję A β lub jego usuwanie, co w efekcie daje dalsze toksyczne działanie A β na układ cholinergiczny i zmniejsza jego aktywność; w ten sposób powstaje samonapędzający się mechanizm patogenetyczny AD. Jeśli patomechanizm AD choćby częściowo odpowiada opisanemu powyżej, to wówczas każde działanie polegające na aktywacji układu cholinergicznego i/lub usuwaniu A β z mózgu może przerywać krąg patogenetyczny i być w istocie działaniem wpływającym na naturalny przebieg choroby. W takiej sytuacji obecnie wykorzystywane w leczeniu inhibitory cholinesterazy również mogłyby wykazywać takie działanie. Wyniki niektórych badań klinicznych wspierają takie hipotetyczne, modyfikujące przebieg choroby, działanie inhibitorów cholinesterazy. W badaniu nad riwastygminą, analizując stan funkcji poznawczych u chorych, którzy przegrali leczenie w jednym z 3 kluczowych, randomizowanych, kontrolowanych placebo badań nad lekiem (analiza tak zwanych *retrieved drop-outs*), wykazano, że po 26 tygodniach choroby, którzy byli wcześniej leczeni riwastygminą wypadali w testach oceniających funkcje poznawcze lepiej niż chorzy, którzy uprzednio przyjmowali placebo [51]. Długoterminowe (zwykle otwarte kontynuacje badań randomizowanych i zaślepionych), 3-5 letnie badania nad inhibitorami pokazują ponadto, że efekt objawowy może utrzymywać się przez wiele miesięcy (mierzony zwykle skalą ADAS-cog), co jest zwykle interpretowane jako argument za efektem wykraczającym poza objawowy [52, 53]. Co więcej, chorzy, u których leczenie wdraża się później wypadają w długoterminowych ocenach gorzej niż chorzy, leczeni dłużej, od wcześniejszych stadiów choroby

[54, 55]. Istnieją wreszcie pierwsze doniesienia próbujące udowodnić efekt modyfikujący przebieg choroby z wykorzystaniem potencjalnych biomarkerów progresji choroby: leczenie donepezilem zmniejsza tempo zaniku hipokampów oceniane ilościowym badaniem MRI [56, 57].

POSUMOWANIE

Hipoteza amyloidowa, przypisująca A β kluczowe znaczenie w patogenezie AD [58, 59], niesie ze sobą istotne implikacje terapeutyczne. Zakłada się, że zmiana metabolizmu prekursora A β (białko β -APP) w taki sposób, aby zmniejszyć syntezę A β 1-42 (43), usprawnienie katabolizmu A β oraz jego usuwania z mózgu mogą prowadzić do zmiany naturalnego przebiegu choroby. Obecnie w fazie testowania jest wiele metod leczniczych opartych o tę hipotezę, między innymi, immunoterapeutycznych (aktywna i pasywna immunizacja A β) czy też wpływających modulująco na enzymy istotne w obrocie β -APP. Z przedstawionego powyżej omówienia złożonych zależności między układem cholinergicznym a metabolizmem A β może wynikać sugestia, że stosowanie inhibitorów cholinesterazy może w istocie wykraczać poza ich bezpośredni efekt objawowy i, poprzez modulację metabolizmu i usuwania A β , wpływać na naturalny przebieg choroby. Dla potwierdzenia tej hipotezy niezbędne są długoterminowe obserwacje kliniczne, najlepiej z uwzględnieniem zwalidowanych biomarkerów progresji choroby [60].

PIŚMIENNICTWO

1. DeKosky ST, Scheff SW, Styren SD. Structural correlates of cognition in dementia: quantification and assessment of synapse change. *Neurodegeneration*. 1996; 5: 417-21.
2. Morris JC, Price AL. Pathologic correlates of nondemented aging, mild cognitive impairment, and early-stage Alzheimer's disease. *J Mol Neurosci*. 2001; 17: 101-18.
3. Sobów T. An ultrastructural and molecular perspective of the pathological hallmarks of Alzheimer's disease. *Fol. Neuropathol*. 1996; 34: 55-62.
4. Bartus RT, Dean RL 3rd, Beer B, Lippa AS. The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science*. 1982; 217: 408-14.
5. Francis PT, Palmer AM, Snape M, Wilcock GK. The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: a review of progress. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1999; 66: 137-47.
6. Bowen DM, Smith CB, White P, Davison AN. Neurotransmitter-related enzymes and indices of hypoxia in senile dementia and other abiotrophies. *Brain*. 1976; 99: 459-96.
7. Davies P, Maloney AJF. Selective loss of central cholinergic neurones in Alzheimer's disease. *Lancet*. 1976; 2: 1403.
8. Perry EK, Gibson PH, Blessed G, Perry RH, Tomlinson BE. Neurotransmitter enzyme abnormalities in senile dementia. Choline acetyltransferase and glutamic acid decarboxylase activities in necropsy brain tissue. *J Neurol Sci*. 1977; 34: 247-65.
9. Nilsson L, Nordberg A, Hardy JA. Physostigmine restores [3H]-acetylcholine efflux from Alzheimer brain slices to normal level. *J Neural Transm*. 1986; 67: 275-285.

10. Whitehouse PJ, Price DL, Struble RG, Clark AW, Coyle JT, Delon MR. Alzheimer's disease and senile dementia: loss of neurones in basal forebrain. *Science*. 1982; 215: 1237-1239.
11. Perry EK, Tomlinson BE, Blessed G, Bergmann K, Gibson PH, Perry RH. Correlation of cholinergic abnormalities with senile plaques and mental test scores in senile dementia. *Br Med J*. 1978; 2: 1457-9.
12. Cummings JL, Back C. The cholinergic hypothesis of neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's disease. *Am J Geriatr Psychiatry*. 1998; 6 (2 supplement 1): S64-78.
13. Takeda A, Loveman E, Clegg A, Kirby J, Picot J, Payne E, Green C. A systematic review of the clinical effectiveness of donepezil, rivastigmine and galantamine on cognition, quality of life and adverse events in Alzheimer's disease. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2006; 21: 17-28.
14. Trinh NH, Hoblyn J, Mohanty S, Yaffe K. Efficacy of cholinesterase inhibitors in the treatment of neuropsychiatric symptoms and functional impairment in Alzheimer disease: a meta-analysis. *JAMA*. 2003; 289: 210-6.
15. Lingler JH, Martire LM, Schulz R. Caregiver-specific outcomes in antedementia clinical drug trials: a systematic review and meta-analysis. *J Am Geriatr Soc*. 2005; 53: 983-90.
16. Morris JC. Challenging assumptions about Alzheimer's disease: mild cognitive impairment and the cholinergic hypothesis. *Ann Neurol*. 2002; 51: 143-4.
17. Terry AV Jr, Buccafusco JJ. The cholinergic hypothesis of age and Alzheimer's disease-related cognitive deficits: recent challenges and their implications for novel drug development. *J Pharmacol Exp Ther*. 2003; 306: 821-7.
18. Davis KL, Mohs RC, Marin D, Purohit DP, Perl DP, Lantz M, Austin G, Haroutunian V. Cholinergic markers in elderly patients with early signs of Alzheimer disease. *JAMA*. 1999; 281: 1401-6.
19. Gilmor ML, Erickson JD, Varoqui H, Hersh LB, Bennett DA, Cochran EJ, Mufson EJ, Levey AI. Preservation of nucleus basalis neurons containing choline acetyltransferase and the vesicular acetylcholine transporter in the elderly with mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease. *J Comp Neurol*. 1999; 411: 693-704.
20. Bennett DA, Schneider JA, Bienias JL, Evans DA, Wilson RS. Mild cognitive impairment is related to Alzheimer disease pathology and cerebral infarctions. *Neurology*. 2005; 64: 834-41.
21. Markesbery WR, Schmitt FA, Kryscio RJ, Davis DG, Smith CD, Wekstein DR. Neuropathologic substrate of mild cognitive impairment. *Arch Neurol*. 2006; 63: 38-46.
22. DeKosky ST, Ikonomic MD, Styren SD, Beckett L, Wisniewski S, Bennett DA, Cochran EJ, Kordower JH, Mufson EJ. Upregulation of choline acetyltransferase activity in hippocampus and frontal cortex of elderly subjects with mild cognitive impairment. *Ann Neurol*. 2002; 51: 145-55.
23. Ikonomic MD, Mufson EJ, Wu J, Cochran EJ, Bennett DA, DeKosky ST. Cholinergic plasticity in hippocampus of individuals with mild cognitive impairment: correlation with Alzheimer's neuropathology. *J Alzheimers Dis*. 2003; 5: 39-48.
24. Tiraboschi P, Hansen LA, Alford M, Masliah E, Thal LJ, Corey-Bloom J. The decline in synapses and cholinergic activity is asynchronous in Alzheimer's disease. *Neurology*. 2000; 55: 1278-83.
25. Counts SE, Nadeem M, Wu J, Ginsberg SD, Saragovi HU, Mufson EJ. Reduction of cortical TrkA but not p75 (NTR) protein in early-stage Alzheimer's disease. *Ann Neurol*. 2004; 56: 520-31.
26. Peng S, Wu J, Mufson EJ, Fahnstock M. Increased proNGF levels in subjects with mild cognitive impairment and mild Alzheimer disease. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2004; 63: 641-9.
27. Peng S, Wu J, Mufson EJ, Fahnstock M. Precursor form of brain-derived neurotrophic factor and mature brain-derived neurotrophic factor are decreased in the pre-clinical stages of Alzheimer's disease. *J Neurochem*. 2005; 93: 1412-21.
28. Frolich L. The cholinergic pathology in Alzheimer's disease--discrepancies between clinical experience and pathophysiological findings. *J Neural Transm*. 2002; 109: 1003-13.
29. Sobów T, Kłoszewska I. Cholinesterase inhibitors in mild cognitive impairment: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Neurol Neurochir Pol*. 2007; 41: 13-21.
30. Kar S, Wei Z, MacTavish D, Kabogo D, Song M-S, Jhamandas JH. Amyloid β -peptide and central cholinergic neurons: Involvement in normal brain function and Alzheimer's Disease pathology. W: Barrow CJ, Small DH. red. *Abeta Peptide and Alzheimer's disease*. London: Springer-Verlag Limited; 2007. s.159-178.
31. Nitsch RM, Slack BE, Wurtman RJ, Growdon JH. Release of Alzheimer amyloid precursor derivatives stimulated by activation of muscarinic acetylcholine receptors. *Science*. 1992; 258: 304-7.
32. Pittel Z, Heldman E, Barg J, Haring R, Fisher A. Muscarinic control of amyloid precursor protein secretion in rat cerebral cortex and cerebellum. *Brain Res*. 1996; 742: 299-304.
33. Racchi M, Mazzucchelli M, Porrello E, Lanni C, Govoni S. Acetylcholinesterase inhibitors: novel activities of old molecules. *Pharmacol Res*. 2004; 50: 441-51.
34. Hellstrom-Lindahl E. Modulation of beta-amyloid precursor protein processing and tau phosphorylation by acetylcholine receptors. *Eur J Pharmacol*. 2000; 393: 255-63.
35. Kim SH, Kim YK, Jeong SJ, Haass C, Kim YH, Suh YH. Enhanced release of secreted form of Alzheimer's amyloid precursor protein from PC12 cells by nicotine. *Mol Pharmacol*. 1997; 52: 430-6.
36. Lahiri DK, Utsuki T, Chen D, Farlow MR, Shoaib M, Ingram DK, Greig NH. Nicotine reduces the secretion of Alzheimer's beta-amyloid precursor protein containing beta-amyloid peptide in the rat without altering synaptic proteins. *Ann N Y Acad Sci*. 2002; 965: 364-72.
37. Lahiri DK, Farlow MR, Hintz N, Utsuki T, Greig NH. Cholinesterase inhibitors, beta-amyloid precursor protein and amyloid beta-peptides in Alzheimer's disease. *Acta Neurol Scand Suppl*. 2000; 176: 60-7.
38. Zimmermann M, Gardoni F, Marcello E, Colciaghi F, Borroni B, Padovani A, Cattabeni F, Di Luca M. Acetylcholinesterase inhibitors increase ADAM10 activity by promoting its trafficking in neuroblastoma cell lines. *J Neurochem*. 2004; 90: 1489-99.
39. Lahiri DK, Farlow MR, Sambamurti K. The secretion of amyloid beta-peptides is inhibited in the tacrine-treated human neuroblastoma cells. *Brain Res Mol Brain Res*. 1998; 62: 131-40.
40. Moriearty PL, Seubert P, Galasko D, Markwell S, Unni L, Vicari S, Becker RE. Effects of time and cholinesterase inhibitor treatment on multiple cerebrospinal fluid parameters in Alzheimer's disease. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*. 1999; 21: 549-54.
41. Parnetti L, Amici S, Lanari A, Romani C, Antognelli C, Andreasen N, Minthon L, Davidsson P, Pottel H, Blennow K, Gallai V. Cerebrospinal fluid levels of biomarkers and activity of acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase in AD patients before and after treatment with different AChE inhibitors. *Neurol Sci*. 2002; 23 (supplement 2): S95-6.
42. Stefanova E, Blennow K, Almkvist O, Hellstrom-Lindahl E, Nordberg A. Cerebral glucose metabolism, cerebrospinal fluid-beta-amyloid1-42 (CSF-Abeta42), tau and apolipoprotein E

- genotype in long-term rivastigmine and tacrine treated Alzheimer disease (AD) patients. *Neurosci Lett.* 2003; 338: 159-63.
43. Basun H, Nilserth C, Eckman C, Lannfelt L, Younkin S. Plasma levels of Abeta42 and Abeta40 in Alzheimer patients during treatment with the acetylcholinesterase inhibitor tacrine. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2002; 14: 156-60.
44. Sobów T, Kłoszewska I. Short-term treatment with rivastigmine and plasma levels of Abeta peptides in Alzheimer's disease. *Folia Neuropathol.* 2005; 43: 340-4.
45. Sobów T, Flirski M, Liberski P, Kłoszewska I. Plasma Abeta levels as predictors of response to rivastigmine treatment in Alzheimer's disease. *Acta Neurobiol Exp (Wars).* 2007; 67: 131-9.
46. Modrego PJ, Monleon I, Sarasa M. The clinical significance of plasma amyloid A β -40 peptide levels in Alzheimer's disease patients treated with galantamine. *Am J Alzheimers Dis Other Dement.* 2008; 23: 286-90.
47. Mehta PD, Pirttila T, Barshatzky M, Mehta SP. Amyloid beta protein 1-40 and 1-42 levels in matched cerebrospinal fluid and plasma from patients with Alzheimer disease. *Neurosci Lett.* 2001; 304: 102-6.
48. Kawarabayashi T, Younkin LH, Saido TC, Shoji M, Ashe KH, Younkin SG. Age-dependent changes in brain, CSF, and plasma amyloid (beta) protein in the Tg2576 transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *J Neurosci.* 2001; 21: 372-81.
49. DeMattos RB, Bales KR, Parsadanian M, O'Dell MA, Foss EM, Paul SM, Holtzman DM. Plaque-associated disruption of CSF and plasma amyloid-beta (Abeta) equilibrium in a mouse model of Alzheimer's disease. *J Neurochem.* 2002; 81: 229-36.
50. Haass C, Schlossmacher MG, Hung AY, Vigo-Pelfrey C, Mellon A, Ostaszewski BL, Lieberburg I, Koo EH, Schenk D, Teplow DB. Amyloid beta-peptide is produced by cultured cells during normal metabolism. *Nature.* 1992; 359: 322-5.
51. Farlow M, Potkin S, Koumaras B, Veach J, Mirski D. Analysis of outcome in retrieved dropout patients in a rivastigmine vs placebo, 26-week, Alzheimer disease trial. *Arch Neurol.* 2003; 60: 843-8.
52. Doody RS, Dunn JK, Clark CM, Farlow M, Foster NL, Liao T, Gonzales N, Lai E, Massman P. Chronic donepezil treatment is associated with slowed cognitive decline in Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2001; 12: 295-300.
53. Raskind MA, Peskind ER, Truyen L, Kershaw P, Damaraju CV. The cognitive benefits of galantamine are sustained for at least 36 months: a long-term extension trial. *Arch Neurol.* 2004; 61: 252-6.
54. Farlow M, Anand R, Messina J Jr, Hartman R, Veach J. A 52-week study of the efficacy of rivastigmine in patients with mild to moderately severe Alzheimer's disease. *Eur Neurol.* 2000; 44: 236-41.
55. Winblad B, Wimo A, Engedal K, Soininen H, Verhey F, Waldemar G, Wetterholm AL, Haglund A, Zhang R, Schindler R. 3-year study of donepezil therapy in Alzheimer's disease: effects of early and continuous therapy. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2006; 21: 353-63.
56. Krishnan KR, Charles HC, Doraiswamy PM, Mintzer J, Weisler R, Yu X, Perdomo C, Ieni JR, Rogers S. Randomized, placebo-controlled trial of the effects of donepezil on neuronal markers and hippocampal volumes in Alzheimer's disease. *Am J Psychiatry.* 2003; 160: 2003-11.
57. Hashimoto M, Kazui H, Matsumoto K, Nakano Y, Yasuda M, Mori E. Does donepezil treatment slow the progression of hippocampal atrophy in patients with Alzheimer's disease? *Am J Psychiatry.* 2005; 162: 676-82.
58. Hardy JA, Higgins GA. Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. *Science.* 1992; 256: 184-5.
59. Pimplikar SW. Reassessing the amyloid cascade hypothesis of Alzheimer's disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2009; 41: 1261-8.
60. Flirski M, Sobów T. Biochemical markers and risk factors of Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res.* 2005; 2: 47-64.

Wpłynęło: 08.06.2009. Zrecenzowano: 09.10.2009. Przyjęto: 13.10.2009.

Adres: dr hab. n. med. Tomasz Sobów, Klinika Psychiatrii Wieku Podeszłego i Zaburzeń Psychotycznych UM, ul. Czechosłowacka 8/10, 92-216 Łódź, tel. 0-42-6757372, fax: 0-42-6757729, e-mail: tmsobow@csk.umed.lodz.pl