



CHOROBA ALZHEIMERA, MECHANIZM POWSTAWANIA ZMIAN NEUROPATOLOGICZNYCH

MARIA BARCIKOWSKA

Zakład Neuropatologii. Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej, PAN, ul. Dworkowa 3, Warszawa

Pewne rozpoznanie choroby Alzheimera jest możliwe tylko wtedy, kiedy w mózgu chorego z otępieniem, w badaniu neuropatologicznym stwierdzi się amyloidowe blaszki starcze (BS) i zwyrodnienie włókienkowe neuronów. Zsekwencjonowanie przez Glennera i Wonga w 1984 roku beta-amyloidu wytyczyło biologom molekularnym drogę dla dalszych poszukiwań. Gen dla beta-amyloidu, będącego fragmentem prekursora (APP), znaleziono pierwotnie na chromosomie 21 dla wrodzonej, wczesnej postaci choroby Alzheimera i potem na 19, dla postaci o późniejszym początku. Lokalizacja genu dla APP w przypadkach sporadycznych choroby Alzheimera nie jest znana. Nie wiadomo także, która z komórek CUN jest źródłem APP albo czy nie jest to jedno z białek surowicy krwi. Nie jest też jasne, co doprowadza do odkładania się amyloidu w neuropilu. APP jest białkiem błonowym. Nieprawidłowa proteoliza APP (w łańcuchu APP znajduje się wstawka odpowiadająca białku Kunitza, tzn. inhibitorowi proteiny) odbywa się być może przy udziale mikrogleju. Po uwolnieniu beta-amyloidu z uszkodzonej błony dochodzi ostatecznie do odkładania się w mózgu amyloidu włókienkowego w formie BS lub złogów rozproszonych. Wtórnie do obecności amyloidu, jak się wydaje z powodu jego działania toksycznego, odkładają się w cytoplazmie neuronu patologicznie ufosforylowane białka cytoskeletonu sprzężone pierwotnie z białkiem tau, a potem ubiquitynizowane. Zwyrodniała komórka nerwowa ginie, a wraz z nią jej połączenia synaptyczne. Prowadzi to także do deficytu neurotransmiterów, w tym acetylocholino. Proponowany scenariusz wydarzeń nie wyjaśnia jednak, gdzie jest źródło białka prekursorowego, jaki błąd genetyczny jest przyczyną najczęstszej, sporadycznej postaci choroby Alzheimera, i co najważniejsze czy amyloid, spotykany także w mózгах ludzi starych bez cech otępienia, jest istotnie przyczyną demencji w chorobie Alzheimera.

1. Wstęp

Choroba Alzheimera (chA) stanowi z roku na rok coraz większy problem dla społeczeństw wielu państw, z powodu rosnącej liczby pacjentów cierpiących na to schorzenie. Nie oznacza to jednak, że wraz z rozwojem cywilizacji pojawiła się nowa epidemia. Przyczyną tego zjawiska jest ogólnie coraz większa w populacji liczba ludzi starych, a w tym cierpiących z powodu otępienia. Dzięki rozwojowi medycyny oraz systematycznie poprawiającym się warunkom ekonomicznym, w wielu krajach wydłuża się bowiem przeciętna długość życia, a tym samym przybywa coraz więcej chorych z cechami degradacji. Otępienie spowodowane jest w 55% przez proces zwyrodnieniowy, jakim jest chA; w 25% przyczyną otępienia są zmiany naczyniowe typu *multi infarct dementia* (MID), w 15% są to przypadki mieszane – wynikające z nałożenia się obu procesów, a w 8% – przyczyną degradacji są inne czynniki: metaboliczne, hormonalne, toksyczne [58].

2. Definicja choroby Alzheimera

Pewne rozpoznanie chA jest możliwe wyłącznie u pacjentów, u których zaistniały dwa czynniki: po pierwsze klinicznie, na podstawie badania neurologicznego, psychiatrycznego i oceny neuropsychologicznej rozpoznano otępienie, a po drugie w badaniu neuropatologicznym stwierdzono w mózgu pacjentów blaszki starcze (BS), niekiedy też kongofilną angiopatię (KA) i zwyrodnienie włóknikowe neuronów (ZW) w liczbie i lokalizacji charakterystycznej dla chA.

2.1. Historia badań histopatologicznych w chorobie Alzheimera

Blaszki starcze i zwyrodnienie włóknikowe neuronów w mózgu zostały zauważone na przełomie wieku XIX i XX. BS była opisana po raz pierwszy przez Block i Marinescou w 1892 roku [17] a ZW w roku 1907 przez Alojza Alzheimera (dzięki użyciu przez niego impregnacji srebrzej). Pierwszy przypadek Alzheimera ((1907) [5]) – 51-letnia kobieta, u której stwierdzono otępienie, wykazywał obecność obu tych zmian w badaniu histopatologicznym. Mimo, że w roku 1991 opublikowano pracę, której autorzy sugerują, iż pierwszy przypadek choroby Alzheimera był w istocie przypadkiem leukodystrofii metachromatycznej [6], nazwisko Alzheimera na zawsze będzie związane z tym schorzeniem. W 1911 roku Simchowicz opisał trzecią zmianę patologiczną, uważaną potem także przez innych za istotny przejaw uszkodzenia komórki nerwowej – zwyrodnienie ziarnisto-wodniczkowe neuronów warstwy piramidowej hipokampa [11, 12, 100, 138]. Dopiero jednak po latach Divry (1927) [34] określił amyloid jako podstawową substancję, której pojawienie się w neuropilu prowadzi w efekcie do wytworzenia BS.

2.2. Starzenie się "fizjologiczne" a choroba Alzheimera

Dalszy rozwój badań naukowych udowodnił, że BS i ZW, nie występują wyłącznie w mózgu chorych z otępieniem. Są one bowiem także obserwowane w innych chorobach zwyrodnieniowych [151] bez cech otępienia, a także w przebiegu tzw. starzenia się fizjologicznego – w liczbie rosnącej z wiekiem i bez wyraźnej zależności od pojawiania się demencji, szczególnie po 80 roku życia [25]. Samo występowanie w mózgu starym amyloidu lub jego prekursora nie pozwala odpowiedzieć na pytanie, czy jest to amyloid typowy dla wieku starczego, czy też jest to amyloid charakterystyczny dla chA [131]. Wszystko bowiem wskazuje, że jest to związek w obu przypadkach identyczny także pod względem immunohistochemicznym. Wyprodukowane przez Daviesa [35, 64, 83, 84] przeciwciała Alz 50 traktowane jako różnicujące amyloid starczy od alzheimerowskiego, jak dowiedziono później [80, 81, 107] nie jest przeciwciałem przeciw swoistemu dla chA amyloidowi a przeciw patologicznemu białku cytoskeletonu – tau sprzężonemu tylko z amyloidem. Trzeba przy tym zwrócić uwagę, że amyloid występuje także w mózgu innych starych ssaków: u psów, po raz pierwszy jako złogi ogniskowe (BS) opisany przez Osetowską w 1966 roku [109] i potem przez innych [66, 144], u niedźwiedzi [26] i małp naczelnych [125]. Dlatego też ciągle jeszcze do końca nie rozstrzygnięto sporu, czy obecność neuropatologicznych zmian typu alzheimerowskiego jest przejawem starzenia się mózgu tzw. fizjologicznego [137], czy też pojawienie się tych zmian jest zjawiskiem chorobowym [4, 90]. I jak się wydaje, zjawiskiem chorobowym uzależnionym tylko od czasu, w którym dochodzi do przekroczenia progu tolerowanej przez Ośrodkowy Układ Nerwowy (OUN), liczby zmian w stopniu, który spowoduje, że przejawia się to klinicznie otępieniem [16, 21, 29, 101, 103, 104].

Według wielu autorów zagadnienie topografii występowania BS i ZW jest oceniane jako znacznie istotniejsze od liczby samych zmian [20, 57, 91]. Ciągle jednak jeszcze pomimo wielu prób nie udało się z całą pewnością określić jednoznacznej mapy BS i ZW, która byłaby charakterystyczna wyłącznie dla mózgu chorego z demencją. Najczęściej uważa się, że zajęcie przez proces patologiczny hipokampa [2, 72] jako części składowej układu limbicznego (UL) jest odpowiedzialne za zaburzenia pamięci i postępującą degradację (ryc. 1) [9, 11, 13, 14, 28, 30, 60, 61, 62, 63]. Znalazło to potwierdzenie w badaniach metodą hybrydyzacji in situ. W 1988 roku udowodniono, że w przypadku chA stwierdza się znacznie więcej sygnałów mRNA dla beta-peptydu w neuronach hipokampa niż w innych okolicach mózgu [59, 106]. Wiadomo jednak, że uszkodzenie kory nowej czasem wyprzedza pojawienie się zmian w hipokampie [89], a niekiedy wydaje się, że samo zajęcie UL, bez uszkodzenia kory nowej, nie może być wystarczające aby przejawiało się to klinicznie otępieniem. Przypadki

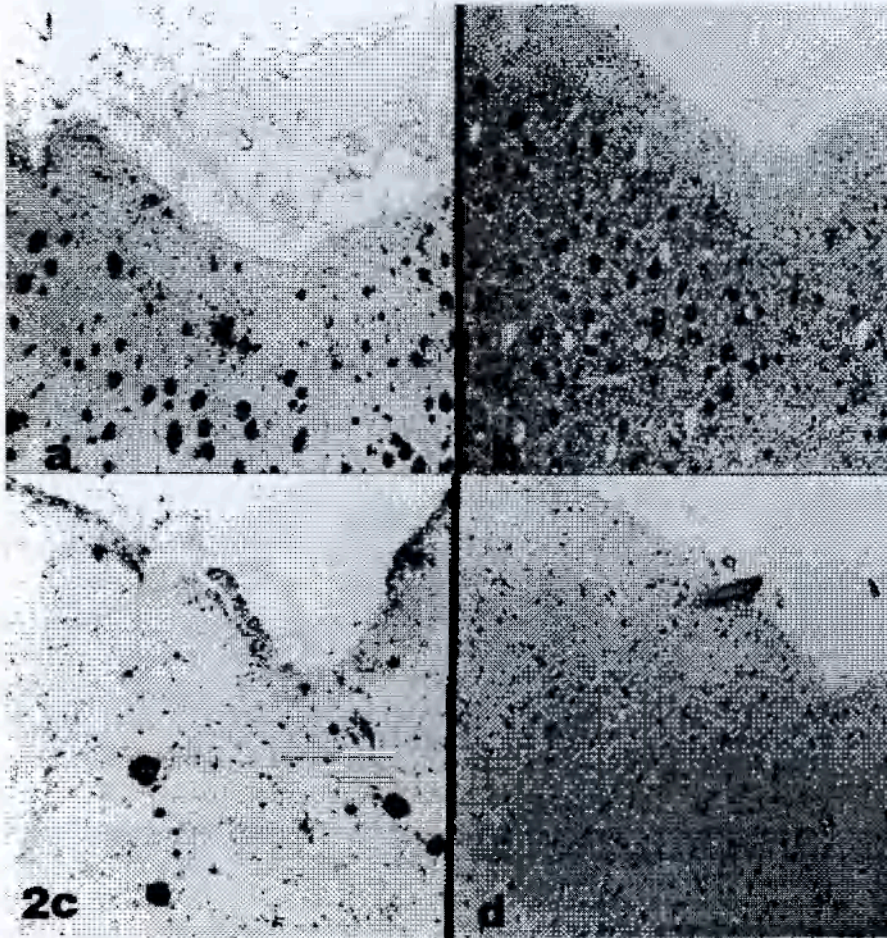


Ryc. 1. Przypadek chA. Barwienie immunohistochemiczne (ABC) z monoklonalnym przeciwciałem (mab) przeciw β -amyloidowi. Liczne klasyczne i prymitywne BS a także amyloid rozlany (strzałka) w korze wężowej. Zakręt hipokampa oznaczony gwiazdką.

demencji przy zaistnieniu wybiórczego zajęcia płatów czołowych [41, 42], potylicznych lub też wyłącznie jąder podkorowych, opisywane wielokrotnie [19], również budzą wątpliwość czy rzeczywiście UL, hipokamp i kora wężowa [63] są na pewno najważniejszą strukturą, której uszkodzenie prowadzi do zaburzeń pamięci. W związku z tym ze względu na bardzo częste występowanie amyloidu w tkankach mózgu w przypadkach fizjologicznego starzenia, wydaje się, że istnieje bezwzględna potrzeba ustalenia charakterystycznej topografii zmian w przypadku chA. Pozwoli to bowiem w przyszłości wyciągnąć najprawdopodobniej wnioski diagnostyczne nawet co do istoty i stopnia zaawansowania procesu.

Przedmiotem dyskusji jest także różne nasilenie zmian w obrębie samej kory nowej ze względu na krótkie połączenia międzyneuronalne. Wiadomo, że najwięcej zmian amyloidowych grupuje się w rowkach, a znacznie mniej na szczycie zakrętów kory mózgowej [44]. Obok nieustalonej jeszcze typowej topografii dla zmian starczych prowadzącej w efekcie do otępienia, nie jest także jasne, jakie musi być ilościowe nasilenie występowania BS i ZW aby przejawiało się to wyraźnym klinicznym deficytem pamięci. Od 1985 roku obowiązują dane liczbowe, tzw. neuropatologiczne kryteria Khachaturiana [76], pozwalające na postawienie rozpoznania chA. W zależności od wieku definiują one liczbę zmian graniczną pomiędzy patologią a fizjologią [58]. Według Khachaturiana liczba BS na 1 mm^2 powinna być większa niż: w grupie poniżej 50 roku życia – 2 do 5, w wieku 50–65 lat – 8, pomiędzy 66 do 75 roku życia – 10, powyżej 75 rokiem życia – 15. Kryteria te, przyjęte przy stosowaniu impregnacji srebrowej, nie mogą być stosowane jako wyłącznie obowiązujące w chwili obecnej wobec rozwoju znacznie czulszych technik immunohistochemicznych. Oprócz kryteriów

Khachaturiana obowiązują także inne, oparte na wartościach liczbowych dotyczących BS: kryteria CERAD (*The Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease*) [104], których wadą jest jednak także ścisłe powiązanie definicji z samą tylko obecnością zmian amyloidowych w mózgu. Podejmowane są także inne próby powiązania definicji chA z wynikami badań immunohistochemicznych [112].



Ryc. 2. a – To samo barwienie. Przypadek chA, kora czołowa. Liczne blaszki starcze, na całej szerokości kory; b – immunohistochemiczne barwienie anty tau-1, sąsiedni skrawek z tej samej okolicy. Widoczne wybarwione części neurtyczne BS; c – przypadek starczy bez cech otępienia, kora czołowa. BS zabarwione przeciwciałem przeciw β -amyloidowi; d – ten sam przypadek, sąsiedni skrawek. Barwienie anty tau-1. Brak zabarwienia koron BS widocznych w barwieniu anty- β .

Ostatecznego wyjaśnienia wymaga też podstawowe zagadnienie, czy rzeczywiście przyczyną otępienia jest pierwotne występowanie amyloidu [74] w tkankach mózgu, czy też otępienie pojawia się tylko wtedy, kiedy amyloidowi towarzyszy ZW [142] (ryc. 2 abcd). Nie wiadomo czy BS i ZW mogą występować oddzielnie w chA [132] czy też istnieje między nimi zależność manifestująca się klinicznie otępieniem.

Wobec powszechności zjawiska, można też założyć, że białko amyloidowe jest substancją "ze zużycia", zbędną w komórce lub niemożliwą do przetworzenia [39, 110] i usuwaną do neuropilu.

Być może jest również tak, że liczne przypadki, w których stwierdza się dużą liczbę BS bez klinicznych cech demencji

[27, 29, 139], mogą być po prostu przypadkami przedklinicznymi, u których objawy kliniczne otępienia nie zdążyły się pojawić przed śmiercią wywołaną inną przyczyną.

Powstało wiele hipotetycznych scenariuszy zmian prowadzących w efekcie do stwierdzanego klinicznie otępienia. Jedna z hipotez zakłada, że amyloid odkłada się pierwotnie w tkankach mózgu [46, 148] a następnie wtórnie, tylko przez jego mechaniczną obecność w neuropilu, lub poprzez działanie toksyczne [156] dochodzi do śmierci neuronu, poprzedzonej patologicznym wyrodnieniem białek cytoskeletonu (ZW). Równocześnie zakładano odwrotny przebieg wydarzeń. To znaczy patologiczny proces zaczynałby się od pojawienia się ZW, a efektem uszkodzenia neuronu byłoby odkładanie się amyloidu w neuropilu.

Grupa Terrego lansuje w ostatnim okresie teorię utrzymującą, że powodem otępienia jest nie zanik neuronów, będący wynikiem działania amyloidu i zmian cytoskeletonu komórki [7], a tylko znaczne ilościowe zmniejszenie neuronalnych połączeń synaptycznych [82, 94, 95].

Być może należy także wrócić do tzw. teorii transmitterowej. Wiadomo od 15 lat, że w chA spada poziom acetyltransferazy cholinowej na skutek między innymi alzheimerowskich zmian w neuronach jądra Maynerta, ale także innych substancji, noradrenaliny, serotoniny, dopaminy, GABA, somatostatyny, neuropeptydu Y, substancji P, CRF. Dotychczasowe próby leczenia substytucyjnego przynosiły jednak nikłe wyniki w przeciwieństwie np. do choroby Parkinsona, w której defekt jest głównie (choć także nie wyłącznie) ograniczony do dopaminy.

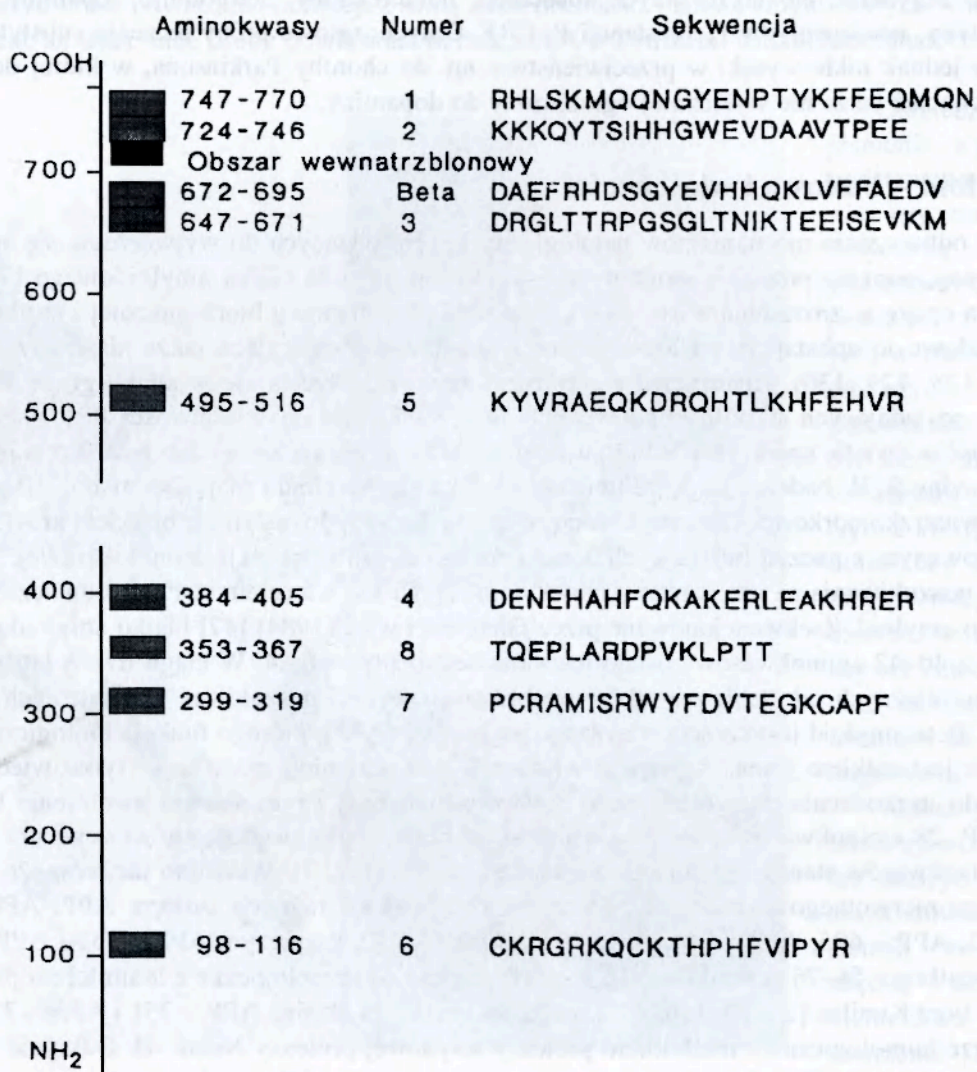
3. Amyloid – budowa i właściwości

Próby odtworzenia mechanizmów patologicznych, prowadzących do wytworzenia się amyloidozy mózgowej, poprzez poznanie struktury cząsteczki mózgowego białka amyloidowego [78] otworzyły nową epokę w zrozumieniu istoty chA. Pod względem budowy biochemicznej i struktury białko amyloidowe to substancja wielowęglodanowo-białkowa, zawierająca także siarczany heparyny [37, 123, 128, 129, 130]. Historycznym terminem amyloidu określa się w sumie grupę złożonych peptydów posiadających wspólną budowę beta-łańdową i wspólne właściwości histochemiczne – dwułomność w świetle spolaryzowanym po zabarwieniu czerwienią kongo lub fluorescencją po użyciu Thioflawiny S. W badaniu ultrastrukturalnym włókienka amyloidu mają średnicę 8–10 nm i występują zewnątrzkomórkowo. Glenner i Wong w 1984 roku [47] posłużyli się białkiem amyloidowym wyekstrahowanym z naczyń mózgowych w celu poznania jego sekwencji aminokwasowej. Ukierunkowało to poszukiwania na mechanizmy molekularne zjawiska. Ich celem stało się odnalezienie genu kodującego amyloid. Zsekwencjonowane przez Glennera i wsp. (1984) [47] białko amyloidowe składające się z 40–42 aminokwasów zostało nazwane beta-peptydem A4. W ciągu trzech lat badacze z czterech niezależnych od siebie ośrodków opublikowali wyniki poszukiwań genetycznych [51, 73, 121, 133]. Beta-amyloid jest częścią większego prekursora (APP), którego funkcja biologiczna ciągle jeszcze nie jest całkiem jasna. Agregacja włókienek beta-amyloidu może zajść tylko wtedy, kiedy dochodzi do uszkodzenia podwójnej błony lipidowo-białkowej i tym samym uwolnienia błonowej części APP. 28 aminokwasów wchodzących w skład beta-peptydu znajduje się na zewnątrz błony, a 11–14 aminokwasów stanowi jego część wewnątrz błonową (ryc. 3). Wiadomo już teraz, że w wyniku splicingu pierwotnego transkryptu powstaje przynajmniej 6 różnych izoform APP; APP – 365, APP – 563, APP – 695, APP – 714, APP – 751, i APP – 770. Przy czym APP – 751 i APP 770 zawierają dodatkowo 56–76 aminokwasowe wstawki częściowo homologiczne z inhibitorem proteiny serynowej typu Kunitza [22, 79, 116, 135], zaś duża część NH₂-końca APP – 751 i APP – 770 jest w dużej mierze homologiczna z inhibitorem proteazy serynowej proteazy Nexin -II. Odkrycie to zwróciło uwagę na rolę inhibitorów proteaz seryny w przetwarzaniu białka prekursorowego oraz udziału tych inhibitorów w uwalnianiu z błony beta-amyloidu, co prowadzi do odkładania jego włókienkowej formy w neuropilu. Już przedtem immunohistochemicznie oznaczono obecność alfa antychymotrypsyny w BS a także w komórce nerwowej i glejowej [1, 49, 69, 99, 115, 127].

3.1. Białko prekursorowe dla amyloidu (APP). Pochodzenie i przetwarzanie

Gen związany z produkcją amyloidu początkowo lokalizowano na chromosomie 21 [73]. Okazało się jednak, że tylko forma chA o wczesnym początku wiąże się z występowaniem genu na długim ramieniu chromosomu 21 i dziedziczy się w sposób autosomalnie-dominujący [37, 45, 133, 134, 140]. W dalszych badaniach wykazano, że w niektórych przypadkach gen dla APP znajduje się na chromosomie 19. Dla innych, bez porównania częstszych, sporadycznych przypadków chA nie znaleziono genu odpowiadającego za pojawienie się cech choroby [133, 134]. Poza chA o wczesnym początku dziedziczność amyloidozy udowodniono w przypadku choroby Downa (trisomii 21), a także dla wrodzonego krwotoku mózgowego z amyloidozą typu holenderskiego i islandzkiego. Istotą tych jednostek jest odkładanie się złogów amyloidu w ścianach naczyń. Prowadzi to do wylewów krwawych z naczyń mózgowych. W amyloidozie typu holenderskiego znana jest mutacja genu dla APP, w efekcie której zachodzi zamiana glutaminy na kwas glutaminowy na pozycji 22 beta-amyloidu. We wrodzonej amyloidozie typu islandzkiego złogi amyloidowe tworzy cystatyna C, białko stanowiące inhibitor lizosomalnych proteinaz cysteinowych (błąd genetyczny polega na zamianie leucyny przez glutaminę, co odpowiada mutacji kodonu 68 genu normalnej cystatyny).

Antygeny syntetycznego peptydu



Ryc. 3. Białko prekursorowe dla amyloidu (APP) z zaznaczonymi peptydami dla których wyprodukowano przeciwciała mające służyć poszukiwaniu komórki-źródła APP.

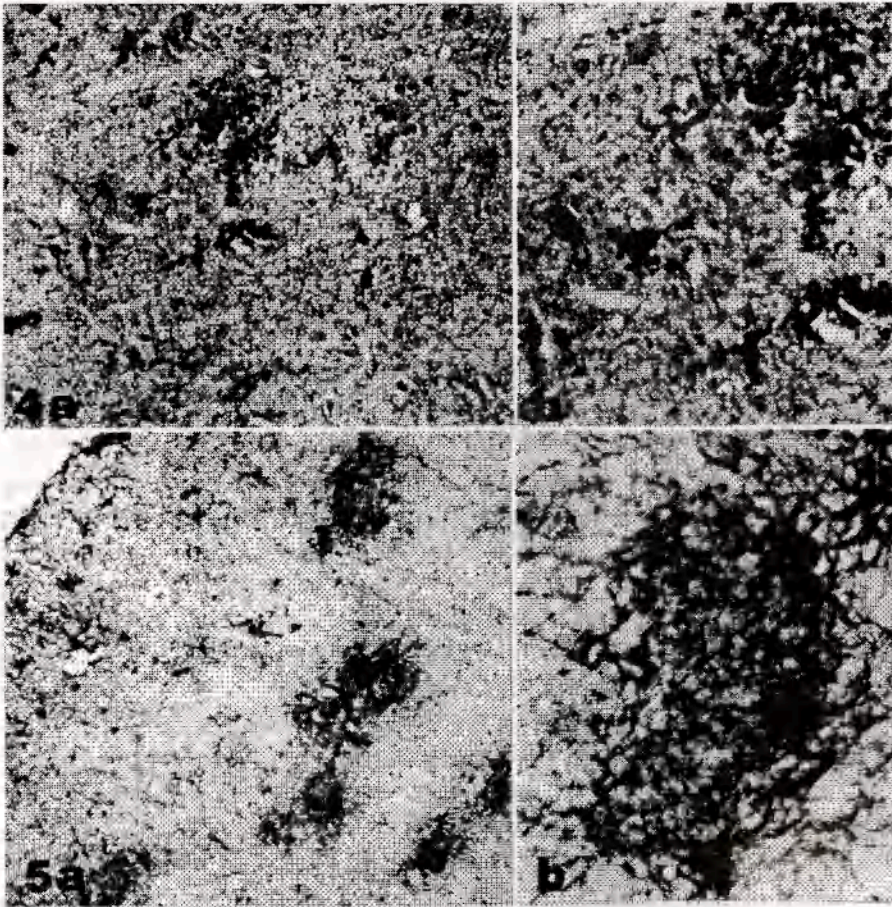
W ostatnim okresie poznano dalsze mutacje genu APP na chromosomie 21: APP (kodon 717), zamiana waliny na izoleucynę, FAD 1 (*Familial Alzheimer Disease*) – opisana przez Goate i wsp. 1991 [50], APP (kodon 717), zamiana waliny na fenyloalaninę [105] – FAD 2, APP (kodon 717), walina zastąpiona glicyną [23] – FAD 3. Dalsze poszukiwania mRNA dla beta-amyloidu (hybrydyzacja in situ) prowadzone przez Ponte i wsp. 1988 [116], a także przez innych [24, 79, 135], pozwoliły określić występowanie mRNA we wszystkich niemalże komórkach OUN, w neuronach i komórkach glejowych a także w komórkach ściany naczyniowej. Badania immunohistochemiczne przy użyciu przeciwciał przeciw różnym fragmentom prekursora nie pozwoliły na jednoznaczne określenie komórki, która byłaby odpowiedzialna pośrednio lub bezpośrednio za pojawianie się amyloidu. W badaniach tych używano licznych przeciwciał wykazując związek amyloidu zarówno z komórką nerwową, jak i glejem [71, 98]. Przypuszczano, że białko prekursorowe dla beta-amyloidu występuje powszechnie w OUN, a także w innych tkankach [70]. Szczytowym osiągnięciem badań genetycznych nad patomechanizmem mózgowej amyloidozą było wyhodowanie myszki transgenicznej z genem amyloidu na chromosomie 16 [119]. Wyniki badań przeprowadzonych w tym modelu wskazują neu-

ron jako źródło prekursora [75, 92]. Należy jednak zachować pewien sceptycyzm wobec tych badań, ponieważ niektórzy autorzy kwestionują ich rzetelność [93, 120].

Dzięki osiągnięciom biologii molekularnej i tym samym inżynierii genetycznej, będzie zapewne możliwe w przyszłości odtworzenie drogi od genu do pojawienia się włóknkowego amyloidu w neuropilu. Jest wiele rozważań teoretycznych na ten temat. Od lat trwa nierozstrzygnięty spór pomiędzy zwolennikami teorii pochodzenia białka prekursorowego amyloidu z surowicy krwi [47], neuronu [96, 106], a tymi którzy uważają, że źródłem włókien amyloidowych jest komórka mikroglejowa [97, 149, 150]. A jeżeli nie źródłem włókien amyloidowych to na pewno źródłem enzymów proteolitycznych, których działanie może rozpocząć ciąg zdarzeń prowadzących do odkładania się włóknkowego amyloidu w neuropilu poprzez jego uwolnienie z błony.

3.2. Rola gleju w patogenezie choroby Alzheimera

Komórka mikroglejowa jako przedstawiciel gleju mezodermalnego często była rozpatrywana jako odpowiadająca być może za pojawianie się włókien amyloidu w neuropilu [33, 149]. Koncepcja ta powstała przez analogię do znanego już od dawna mechanizmu powstawania zmian we wrodzonej amyloidozie obwodowej, w przypadku której, jak wiadomo [24, 124, 126] komórki układu siateczkowo-śródbłonkowego (USŚ) są odpowiedzialne za patologiczne gromadzenie się amyloidu w narządach wewnętrznych. Prawdopodobieństwo tej koncepcji podbudowuje fakt, że w OUN rolę USŚ odgrywa mikroglej. Włókna amyloidowe stwierdza się wewnątrz różnych organelli komórki mikroglejowej, w siateczce szorstkiej, lizozymach a także w pęcherzykach aparatu Golgiego. Obecność jednak włókien amyloidowych wewnątrz komórki nie dowodzi, że są one przez nią produkowane. Charakterystyczne jest, że komórki mikroglejowe zawsze znajdują się w centrum BS (ryc. 4) w przeciwieństwie do komórek astrogleju znajdujących się na obwodzie zmiany amyloidowej (ryc. 5). Z drugiej strony udowodniono, że beta-amyloid może wpływać na proliferację i wydzielanie czynnika wzrostu przez komórkę mikroglejową [8]. Beta amyloid stymuluje i wzmacniając wydzielanie przez mikroglej czynników wzrostu (IL 1 i FGF) wtórnie stymuluje proliferację astrocytów [40].



Ryc. 4. Barwienie z użyciem surowicy przeciw ferrynie jako markera dla mikrogleju. W centrum blaszki amyloidowej widoczne komórki mikroglejowe, a – $\times 200$, b – $\times 400$.

Ryc. 5. BS otoczone wieńcem wypustek astrocytów. Barwienie anti-GFAP. a – $\times 200$, b – $\times 400$

Rola astrogleju wydaje się bardziej oczywista. Wiadomo, że rola gleju włóknistego w tkankach mózgu zawierających złogi amyloidowe, ogranicza się do fagocytowania amyloidu [36, 55, 87, 88] a także neuronów z cecha-

mi ZW. Podobną reakcję astrogleju stwierdzono także wokół naczyń z kongofilną angiopatią [89]. Komórki astroglejowe znajdują się zawsze na obwodzie BS otaczając ją pierścieniem wypustek [33]. Udowodniono także, że ZW w fazie końcowej także podlega penetracji GFAP [117, 152]. W komórce gleju włóknistego w bezpośredniej bliskości amyloidu stwierdzono również obecność alfa 1 antychymotrypsyny [111], która jako inhibitor proteazy seryny bierze najprawdopodobniej bliżej niesprecyzowany udział w amyloidogenezie.

Niektórzy badacze sugerują, że w przeciwieństwie do ogniskowych form występowania amyloidu, w rozproszonym amyloidzie nie stwierdza się ani proliferacji astrocytów [154] ani mikrogleju [108]. Brano również pod uwagę udział komórki astroglejowej w amyloidogenezie [54]. Wiadomo, że wyniki hybrydyzacji *in situ* dowodzą obecności mRNA dla prekursora amyloidu w komórce astroglejowej.

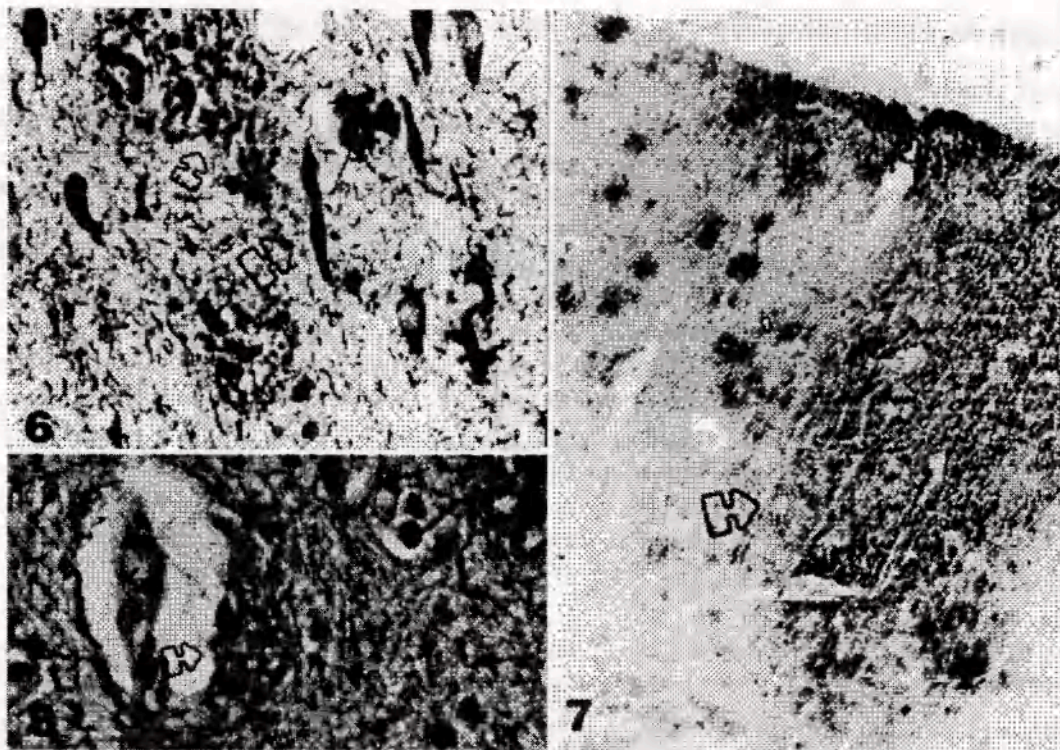
Szereg autorów uwzględnia możliwą rolę naczyń w amyloidogenezie. Rozważano możliwość [3, 145], że uszkodzenie ściany naczynia i tym samym bariery krew-mózg (BBB) prowadzi do uaktywnienia się prekursora z surowicy [48, 71, 99, 85, 86, 113, 141], albo też, że włókna amyloidu są wytwarzane przez komórkę ściany naczynia, błonę podstawną, komórkę mięśniówki gładkiej, komórki śródbłonka lub pericyty. Uwzględniane jest również hematogenne pochodzenie prekursora amyloidu przez analogię do amyloidoz układowych.

3.3. Spektrum zmian amyloidowych spotykanych w chorobie Alzheimera

Niewątpliwym chociaż ubocznym sukcesem rozwoju badań immunohistochemicznych w cHA była możliwość wysoce swoistego opisanie wszystkich form pojawiania się amyloidu w tkankach mózgu. Klasyczny podział [147] oparty na metodach impregnacyjnych srebrowych zakładał następujący scenariusz wydarzeń: najpierw pojawia się w neuropilu BS zwana "pierwotną", będąca skupiskiem luźnych włókien amyloidu, potem zmiana pierwotna przekształcać się miała w BS klasyczną. Tworzyło się serce blaszki – amyloidowy trzon, a wokół niego część neurytyczna zwana koroną. Ostatnim etapem wydawała się być blaszka wypalona, będąca tylko grudką amyloidu bez cech obecności korony neurytycznej. Poza neuropilową lokalizacją zmian amyloidowych białko to stwierdzono w ścianie naczyń różnego kalibru. Rozwój technik immunohistochemicznych, a tym samym szerokie użycie przeciwciał przeciw beta-amyloidowi, pozwolił opisać formy obecności amyloidu w OUN [153] nieznane do tej pory. Zjawiskiem zupełnie nowym, uważanym często na podstawie barwień klasycznych za artefaktyczne, było stwierdzenie amyloidu rozproszonego (ryc. 7). Nie ma on uformowanego kształtu BS a jest nieograniczonym, rozlanym ogniskiem amyloidu, w którym zawieszono są pozornie niezmienione neurony. Według Probst (1987) [118] i innych [99, 122, 153, 154, 155] jest to faza początkowa, potem dochodzi do ograniczenia jej do BS. Inni autorzy [Węgiel, Wiśniewski doniesienie własne] są zdania, że ta forma istnienia amyloidu jest ostateczną fazą jego obecności w mózgu po zfagocytowaniu ogniskowych blaszek amyloidowych.

4. Formy występowania patologicznych białek cytoskeletonu w chorobie Alzheimera

BS jest, jak to wynika z powyższego opisu, formą morfologiczną łączącą dwa główne procesy patologiczne toczące się w starczym mózgu – obecność amyloidu i zwyrodnienie włóknienkowe. Okazało się bowiem już na podstawie barwień klasycznych, że część neurytyczna blaszek jest utworzona poza włóknienkami amyloidowymi także przez neuryty zwyrodniałych włóknienkowo komórek nerwowych [38]. Już impregnacja srebrowa pozwoliła dość wiernie opisać zmiany patologiczne w obrębie cytoskeletonu. Zmiany te to głównie zwyrodnienie wewnątrzkomórkowe, ale także i zewnątrzkomórkowe. ZW zostało opisane szczegółowo już w latach sześćdziesiątych i siedemdziesiątych na podstawie badań w mikroskopie elektronowym prowadzonych przez Kidda (1963) [77] i Wiśniewskiego i wsp. (1970) [147]. Wykazali oni po raz pierwszy, że obserwowane w mikroskopie świetlnym zmiany włóknienkowe NFT (*neurofibrillary tangles*) w badaniu na poziomie ultrastrukturalnym odpowiadają w dużej części PHF (*paired helical filaments*). Wydawało się początkowo, że te parzyste włókna są wyłącznie lewoskrętne [77, 136], potem okazało się, iż mogą być prawoskrętne i proste [146].



Ryc. 6. Barwienie przy użyciu przeciwciała anti tau-1. Przypadek chA. Mała strzałka wskazuje wybarwioną koronę BS, duża zwyrodnienie włóknikowe neuronów. Widoczne liczne nitki neuropilowe pokrywają całe pole widzenia.

Ryc. 7. ChA. Rozlany amyloid w korze drobinowej mózdzku. Barwienie anti- β .

Ryc. 8. Włóknikowe zmiany dodatnie dla anti tau-1 w złogu amyloidowym otaczającym naczynie.

Badania immunohistochemiczne struktury PHF prowadzone są przy użyciu przeciwciał skierowanych przeciw białkom z nimi sprzężonym lub wchodzącym w ich skład, białku tau-1 [31, 52, 53, 143] i ubikwitynie [83, 102, 114]. Wiadomo przy tym, że epitopy tau są patologicznie fosforylowane. Według Banchera i wsp. (1987) [15] pojawienie się ZW poprzedza faza "0", która charakteryzuje się homogennym barwieniem komórki nerwowej surowicą przeciw białku tau-1. Następnie dochodzi do ukształtowania się ZW w kształcie płomykowato układających się włókienek, wypełniających cytoplazmę komórki nerwowej. W tym okresie włóknikowy charakter zmian jest także widoczny w barwieniu anti tau-1. Dodatkowo dla tau-1 barwią się również neurytyczne korony BS a także część tzw. *ghost tangles* (cieni ZW) – PHF występującego pozakomórkowo po rozpadzie błon komórkowych. Charakterystyczne jest także występowanie w tym okresie licznych tzw. nitek neuropilowych (ryc. 6) [18]. Dystroficzne neuryty zawierające PHF pojawiają się niekiedy wokół naczyń [31] (ryc. 8). W okresie późniejszym dochodzi do sprzężenia ZW z ubikwityną, która jak się przypuszcza, wypiera białko tau-1. Sugerowana rola ubikwityny jako białka biorącego czynny udział w syntezie DNA nie jest wyjaśniona do końca [43, 56, 68]. Ubikwityna jest być może jednym z inhibitorów proteaz i występuje powszechnie w OUN biorąc udział w procesach proteolitycznych. Przeciwciała przeciw ubikwitynie barwią ZW, także cienie ZW i nitki neuropilowe [65], w stopniu zbliżonym w 60% tego obrazu, który uzyskuje się barwiąc przy użyciu surowicy przeciw białku tau-1.

Wydaje się, że otępienie pojawia się częściej w przypadku współwystępowania BS i ZW [10, 27, 32]. Znane są także prace [137] mówiące o tym, że w wieku starczym powyżej 80 roku życia znacznie częściej spotyka się amyloidozę niż ZW. Topograficznie strukturami szczególnie predysponowanymi do występowania ZW są; hipokamp [14], jądra miejsca sinawego [67] i jądra Maynerta a także neurony istoty białej przy nasileniu patologii [148].

5. Proponowany hipotetyczny ciąg zdarzeń w chorobie Alzheimerera

Defekt genetyczny chromosomu 21 prowadzi do przeładowania nieznannej komórki stanowiącej źródło prekursora amyloidu (neuron, komórka astroglejowa, mikroglej, komórka ściany naczynia, lub nawet surowica krwi) APP. Następnie na skutek patologicznej proteolizy – (ponowny błąd genetyczny lub jedyny błąd genetyczny), lub z powodu niewydolności komórki glejowej dochodzi do odkładania się włóknkowej formy amyloidu w neuropilu w postaci rozproszonej. Z czasem depozyty amyloidu ulegają ograniczeniu. Ogranicza je astroglej, izolując BS wypustkami tworzącymi bliznę glejową na obwodzie, i komórki mikrogleju zlokalizowane wewnątrz BS. W tym czasie poprzez toksyczne działanie pewnych fragmentów amyloidu na neuryty dochodzi do patologicznych przemian białek cytoskeletonu, zaburzeń fosforylacji także białka tau, zwolnienia przepływu aksonalnego. W efekcie prowadzi to do odkładania się NFT wewnątrzkomórkowo i wtórnie, do pojawiania się patologicznych białek cytoskeletonu w neuropilu pozabłonowo. Białka te są następnie ubikwitynowane, a ubikwityna ma między innymi działanie stymulujące wytwarzanie się amyloidu (*amyloid enhancing factor*). Śmierć licznych neuronów pociąga za sobą dramatyczny spadek połączeń międzyneuronalnych, a także wtórnie deficyt neurotransmiterów między innymi acetylcholinę. W tym okresie zanik mózgu jest już widoczny w badaniach radiologicznych, a klinicznie chory jest otępiaty.

Piśmiennictwo

1. Abraham C., Selkoe D. J., Potter H.: Immunochemical identification of the serine protease inhibitor alpha-antichymotrypsin in the brain amyloid deposits of Alzheimer's disease. *Cell* 1988, 52, 487–501.
2. Akiyama H., Tago H., Itagaki S., Mc Geer P. L.: Occurrence of diffuse amyloid deposits in the presubicular parvocortical layer in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 1990, 79, 537–544.
3. Alafuzoff I., Adolfsson R., Grundke-Iqbal I., Winblad B.: Perivascular deposits of serum proteins in cerebral cortex in vascular dementia. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 1985, 66, 292–298.
4. Alafuzoff I., Iqbal K., Friden H., Adolfsson R., Winblad B.: Histopathological criteria for progressive dementia disorders: clinical-pathological correlation and classification by multivariate data analysis. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 1987, 74, 209–225.
5. Alzheimer A.: Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde. *Allgemeine Z. Psychiatr.-Gerichtl. Med.* 1907, 64, 146–148.
6. Amaducci L., Sorbi S., Piacentini S., Bick K.: The first Alzheimer disease case: A metachromatic leukodystrophy? *Dev. Neurosci.* 1991, 13, 186–187.
7. Anderson J. M., Hubbard B. M., Coghill G. R., Slidders W.: The effect of advanced old age the neurone content of the cerebral cortex. *J. Neurol. Sci.* 1983, 58, 233–244.
8. Araujo D. M., Cotman C. W.: Beta amyloid stimulates glial cells in vitro to produce growth factors that accumulate in senile plaques in Alzheimer's disease. *Brain Res.* 1992, 569, 141–145.
9. Armstrong R. A., Myers D., Smith C. U. M.: The distribution of senile plaques neurofibrillary tangles and beta/A4 deposits in the hippocampus in Alzheimer's disease. *Neurosci. Res. Comm.* 1992, 10, 87–94.
10. Arriagada P. V., Growdon J. H., Hedley-Whyte E., Hyman T.: Neurofibrillary tangles but not senile plaques parallel duration and severity of Alzheimer's disease. *Neurol.* 1992, 42, 631–639.
11. Ball M. J.: Neuronal loss, neurofibrillary tangles and granulovacuolar degeneration in the hippocampus with ageing and dementia. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 1977, 111, 111–119.
12. Ball M. J., Lo P.: Granulovacuolar degeneration in the ageing brain and in dementia. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 1977, 36, 474–487.
13. Ball M., Mac Gregor J., Fyfe I. M., Rapoport S. I., London E. D.: Paucity of morphological changes in the brains of ageing Beagle dogs: Further evidence that Alzheimer lesions are unique for primate Central Nervous System. *Neurobiol. Aging.* 1983, 4, 127–131.
14. Ball M., Hachinski V., Fox A., Kirshen A. J., Fisman M., Blume W., Kral V. A., Fox H., Merskey H.: A new definition of Alzheimer's disease: A hippocampal dementia. *Lancet* 1985, 14–16.
15. Baner C., Lassmann H., Budka H., Grundke-Iqbal I., Iqbal K., Wiehe G., Seitelberger I., Wisniewski H. M.: Neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease and progressive supranuclear palsy: antigenic similarities and differences. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 1987, 74, 39–46.
16. Blessed G., Tomlinson B. E., Roth M.: The association between quantitative measures of dementia and of senile change in the cerebral grey matter of elderly subjects. *Brit. J. Psychiatr.* 1968, 114, 797–811.
17. Block R., Marinescu I.: Sur les lésions et la pathogenie de l'épilepsie dite essentielle. *Semm. Med.* 1892, 445.
18. Braak H., Braak E., Grundke-Iqbal I., Iqbal K.: Occurrence of neuropil threads in the senile human brain and in Alzheimer's disease; a third location of paired helical filaments outside of neurofibrillary tangles and neuritic plaques. *Neurosci. Lett.* 1986, 65, 351–355.

19. Braak H., Braak E.: Alzheimer's disease; Striatial amyloid deposits and neurofibrillary changes. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 1990, 49, 215–224.
20. Braak H., Braak E.: Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 1991, 82, 239–259.
21. Bruce C. V., Clinton J., Gentleman S. M., Roberts G. W., Royston M. C.: Quantifying the pattern of beta-amyloid protein distribution in Alzheimer's disease by image analysis. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 1992, 18, 125–136.
22. Castano E. M., Frangione B.: Human amyloidosis, Alzheimer disease and related disorders. *Lab. Invest.* 1988, 58, 122–132.
23. Chartier-Harlin M. C., Crawford F., Houlden H., Warren A., Hughes D., Fidani L., Goate A., Rossor M., Roques P., Hardy J., Mullan M.: Early onset Alzheimer's disease caused by mutations of codon 717 of the beta-amyloid precursor protein gene. *Nature* 1991, 353, 844–846.
24. Cohen M. L., Golde T. E., Usiak L. H., Younkin L. H., Younkin S. G.: In situ hybridization of nucleus basalis neurons shows increased beta-amyloid mRNA in Alzheimer disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1988, 85, 1227–1231.
25. Coria F., Prelli F., Castano E. M., Larrondo-Lillo M., Fernandez-Gonzales J., van Duinen F. S. G., Bots G. T. A. M., Luyendijk W., Shelanski M. L., Frangione B.: Beta-protein deposition: a pathogenetic link between Alzheimer's disease and cerebral amyloid angiopathies. *Brain Res.* 1988, 463, 187–191.
26. Cork L. C., Powers R. E., Selkoe D. J., Davies P., Geyer J. J., Price D. L.: Neurofibrillary tangles and senile plaques in aged bears. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 1988, 47, 629–641.
27. Crystal H., Dickson D., Fuld P., Masur D., Scott R., Mehler M., Masdeu J., Kawas C., Aronson M., Wolfson L.: Clinico-pathologic studies in dementia: nondemented subjects with pathologically confirmed Alzheimer's disease. *Neurology* 1988, 38, 162–168.
28. Davies D. C., Horwood N., Isaacs S. L., Mann D. M. A.: The effect of age and Alzheimer's disease on pyramidal neuron density in the individual fields of the hippocampal formation. *Acta Neuropathol. (Berl.)*, 1992, 83, 510–517.
29. Dayan A. D.: Quantitative histological studies on the aged human brain. I. Senile plaques and neurofibrillary tangles in "normal" patients. *Acta Neuropath. (Berl.)* 1970, 16, 85–94.
30. de Jong R., Itabashi H. H., Olson J. R.: Memory loss due to hippocampal lesions. *Arch Neurol.* 1969, 20, 339–348.
31. Delacourte A., Defossez A.: Alzheimer's disease: tau proteins, the promoting factors of microtubulae assembly, are major components of paired helical filaments. *J. Neurol. Sci.* 1986, 76, 173–186.
32. Dickson D. W., Farlo J., Davies P., Crystal H., Fuld P., Yen S. H. C.: Alzheimer's disease. A double-labeling immunocytochemical study of senile plaques. *Am. J. Pathol.* 1988, 132, 86–101.
33. Dickson D. W., Mattiace L.: Astrocytes and microglia in human brain share an epitope recognized by a B Lymphocyte specific monoclonal antibody (LN 1). *Am. J. Pathol.* 1989, 135, 135–147.
34. Divry P.: Etude histochimique des plaques seniles. *J. Belg. Neurol.* 1927, 27, 643–657.
35. Doebler J. A., Markesbery W. R., Anthony A., Schef S. W., Rhoads R. E.: Astrocyte RNA in relation to neuronal RNA depletion in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 1988, 75, 272–276.
36. Duffy P. E., Rapport M., Graf L.: Glial fibrillary acidic protein and Alzheimer-type senile dementia. *Neurology* 1980, 30, 778–782.
37. Dyrks T., Weidemann A., Multhaup G., Salbaum J. M., Lemaire H. G., Kang J., Muller-Hill B., Masters C. L., Beyreuther K.: Identification, transmembrane orientation and biogenesis of the amyloid A4 precursor of Alzheimer's disease. *EMBO J.* 1988, 7, 949–957.
38. Duyckaerts C., Delaere P., Poulain V., Brion J. P., Hauw J. J.: Does amyloid precede paired helical filaments in the senile plaque? A study of 15 cases with graded intellectual status in aging and Alzheimer disease. *Neurosci. Lett.* 1988, 91, 354–359.
39. Esch F. S., Keim P., Beattie E. C., Blacher R. W., Culwell A. R., Oltersdorf T., Mc Clure D., Ward P.: Cleavage of amyloid beta-peptide during constitutive processing of its precursor. *Science* 1990, 248, 1122–1128.
40. Ferrara N., Ousley F., Gospodarowicz D.: Bovine brain astrocytes express basic fibroblast growth factor, a neurotropic and angiogenic mitogen. *Brain Res.* 1988, 462, 223–232.
41. Foster N. L., Chase T. N., Fedio P., Patronas N. J., Brooks R. A., Di Chirio G.: Alzheimer's disease: focal cortical changes shown by positron emission tomography. *Neurology* 1983, 33, 961–965.
42. Foster N. L., Chase T. N., Mansi L.: Cortical abnormalities in Alzheimer's disease. *Ann. Neurol.* 1984, 16, 649–654.
43. Fried V. A., Smith H. T., Hilderbrandt E., and Weiner K.: Ubiquitin has intrinsic proteolytic activity: implications for cellular regulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1987, 84, 3685–3689.
44. Gentleman S. M., Allsop D., Bruton C. J., Jagoe R., Polak J. M., Roberts G. W.: Quantitative differences in the deposition of beta/A4 protein in the sulci and gyri of frontal and temporal isocortex in Alzheimer's disease. *Neurosci. Lett.* 1992, 136, 27–30.
45. George-Hyslop P. H., Tanzi R. E., Polinsky R. J., Haines J., Nee L., Watkins P. C., Myers R. H., Feldman R. G., Pollen D., Drachman D., Growdon J., Bruni A., Foncin J. F., Salmon D., Frommelt P., Amaducci L., Sorbi S., Piacentini S., Stewart G. D., Hobbs W., Conneally M., Gusella J. F.: The genetic defect causing familial Alzheimer's disease maps on chromosome 21, *Science* 1987, 235, 885–890.
46. Gibson P. H.: Ultrastructural abnormalities in the cerebral neocortex and hippocampus associated with Alzheimer's disease and aging. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 1987, 73, 86–91.
47. Glenner G. G., Wong C. W.: Initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1984, 120, 885–890.
48. Glenner G. G.: On causative theories in Alzheimer's disease. *Hum. Pathol.* 1985, 16, 433.

49. Gloor S., Odink K., Guenther J., Nicck H., Monard D.: A glia-derived neurite promoting factor with protease inhibitory activity belongs to the protease nexins. *Cell* 1986, 47, 687–693.
50. Goate A., Chartier-Harlin M. C., Mullan M., Brown J., Crawford F., Fidani L., Giuffra L., Haynes A., Irving N., James L., Mant R., Newton P., Rooke K., Roques P., Talbot C., Pericak-Vance M., Roses A., Williamson R., Rossor M., Owen M., Hardy J.: Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature* 1991, 349, 704–706.
51. Goldgaber D., Lerman M. L., Mc Bridge O. W., Saffiotti U., Gajdusek D. C.: Characterization and chromosomal localization of a cDNA encoding brain amyloid of Alzheimer's disease. *Science* 1987, 235, 877–880.
52. Grundke-Iqbal I., Wang G. P., Iqbal K., Tung Y. C., Wisniewski H. M.: Alzheimer paired helical filaments: identification of polypeptides with monoclonal antibodies, *Acta Neuropathol. (Berl.)* 1985, 68, 279–283.
53. Grundke-Iqbal I., Iqbal K., Quinlan M., Tung Y. C., Zaidi M. S., Wisniewski H. M.: Microtubule-associated protein tau. *J. Biol. Chem.* 1986a, 261, 684–689.
54. Haass C., Hung A. Y., Selkoe D. J.: Processing of beta amyloid precursor protein in microglia and astrocytes favors an internal localization over constitutive secretion. *J. Neurosci.* 1991, 11, 3783–3793.
55. Haass C., Koo H., Mellon A., Hung A. Y., Selkoe D.: Targeting of cell-surface beta-amyloid precursor protein to lysosomes: alternative processing into amyloid-bearing fragments. *Nature* 1992, 357, 500–503.
56. Herschko A., Ciechanower A.: The ubiquitin pathway for the degradation of intracellular proteins. [w:] *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology* 1986, 33, 19–56.
57. Hirano A., Zimmerman H. M.: Alzheimer's neurofibrillary changes. *Arch. Neurol.* 1962, 7, 227–242.
58. Heston L. L., Mastri A. R., Anderson V. E., White I.: Dementia of the Alzheimer type: clinical genetics, natural history, and associated conditions. *Arch. Gen. Psychiat.* 1982, 38, 1085–1090.
59. Higgins G. A., Lewis D. A., Bahnamyar S., Goldgaber D., Gajdusek D. C., Young W. G., Morrison J. H., Wilson M. C.: Differential regulation of amyloid-beta protein mRNA expression within hippocampal neuronal subpopulations in Alzheimer disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1988, 85, 1297–1301.
60. Hooper M. W., Vogel F. S.: The limbic system in Alzheimer's disease. *Am. J. Path.* 1976, 85, 1–13.
61. Hyman B. T., Van Hoesen G. W., Damasio A. R., Barnes C. L.: Alzheimer's disease: cell-specific pathology isolates the hippocampal formation, *Science* 1984, 225, 1168–1170.
62. Hyman B. T., Van Hoesen G. W., Kromer L. J., Damasio A. R.: Perforant pathway changes and the memory impairment of Alzheimer's disease. *Ann Neurol.* 1986, 20, 472–481.
63. Hyman B. T., Kromer B. A., Van Hoesen G. W.: Reinnervation of the hippocampal perforant pathway zone in Alzheimer's disease. *Ann Neurol.* 1987, 21, 259–267.
64. Hyman B. T., Van Hoesen G. W., Wolozin B. L., Davies P., Kromer I. L., Damasio A. R.: Alz 50 antibodies recognize Alzheimer related neuronal changes. *Ann Neurol.* 1988, 23, 371–379.
65. Ikeda K., Haga C., Oyanagi S., Iritani S., Kosaka K.: Ultrastructural and immunohistochemical study of degenerate neurite-bearing ghost tangles. *J. Neurol.* 1992, 239, 191–194.
66. Ishihara T., Gondo T., Takahashi M., Uchino F., Ikeda S. I., Allsop D., Imai K.: Immunohistochemical and immunoelectron microscopical characterization of cerebrovascular and senile plaque amyloid in aged dogs' brains. *Brain Res.* 1991, 548, 196–205.
67. Ishino H., Otsuki S.: Frequency of Alzheimer's neurofibrillary tangles in the basal ganglia and brain-stem in Alzheimer's disease, senile dementia and the aged. *Folia Psych. Neurobiol. Jap.* 1975, 29, 279–287.
68. Jentsch S., Seufert W., Sommer T., Reims H. A.: Ubiquitin conjugating enzymes: novel regulators of eucaryotic cells. *Trends Biochem. Sci.* 1990, 15, 195–198.
69. Justice D. L., Rhodes R. H., Tokes Z. A.: Immunohistochemical demonstration of protease inhibitor alpha-1-antichymotrypsin in normal human central nervous system. *J. Cell Biochem.* 1987, 34, 227–238.
70. Joachim C. J., Moris J. H., Selkoe D. J.: Amyloid beta-protein deposition in tissues other than brain in Alzheimer's disease. *Nature* 1989, 341, 226–230.
71. Joachim C. J., Games D., Morris J., Ward P., Frenkel D., Selkoe D.: Antibodies to non-beta regions of the beta-amyloid precursor protein detect a subset of senile plaques. *Am. J. Path.* 1991, 138, 373–384.
72. Kalus P., Braak H., Braak E., Bohl J.: The presubicular region in Alzheimer's disease: topography of amyloid deposits and neurofibrillary changes. *Brain Res.* 1989, 494, 198–203.
73. Kang J., Lemaire H. G., Unterbeck A., Salbaum J. M., Masters C. L., Grzeschik K. H., Multhaup G., Beyreuther K., Muller-Hill B.: The precursor of Alzheimer's disease amyloid A4 protein resembles a cell-surface receptor. *Nature* 1987, 325, 733–736.
74. Katzman R., Terry R., De Teresa R., Brown T., Davies P., Fuld P., Renbing X., Peck A.: Clinical Pathological, and Neurochemical changes in dementia: A subgroup with preserved mental status and numerous neocortical plaques. *Ann. Neurol.* 1988, 23, 38–144.
75. Kawabata S., Higgins G. A., Gordon J. W.: Amyloid plaques, neurofibrillary tangles and neuronal loss in brains of transgenic mice over expressing a C-terminal fragment of human amyloid precursor protein. *Nature* 1991, 354, 476–478.
76. Khachaturian Z. S.: Diagnosis of Alzheimer's Disease. *Arch. Neurol.* 1985, 42, 1097–1105.
77. Kidd M.: Paired helical filaments in electron microscopy of Alzheimer's disease. *Nature* 1963, 197, 192–193.
78. Kidd M., Allsop D., Landon M.: Senile plaque amyloid. *Interdiscipl. Topics Geront.* 1985, 19, 114–126.
79. Kitaguchi N., Takahashi Y., Tokushima Y., Shiojiri S., Ito H.: Novel precursor of Alzheimer's disease amyloid protein shows protease inhibitory activity. *Nature* 1988, 331, 530–532.

80. Książak-Reding H., Binder L., Yen S. H.: Immunochemical and biochemical characterization of tau proteins in normal and Alzheimer's disease brains with Alz 50 and Tau-1. *J. Biol. Chem.* 1988a, 263, 7948–7953.
81. Książak-Reding H., Davies P., Yen S. H.: Alz 50, a monoclonal antibody to Alzheimer's disease antigen, cross-reacts with tau proteins from bovine and normal human brain. *J. Biol. Chem.* 1988b, 263, 7943–7947.
82. Lassmann H., Weiler R., Fischer P., Bancher C., Jellinger K., Floor E., Danielczyk W., Seitelberger F., Winkler H.: Synaptic pathology in Alzheimer's disease immunological data for markers of synaptic and large dense-core vesicles. *Neuroscience* 1992, 46, 1–8.
83. Love S., Saitoh I., Quijada S., Cole G. M., Tery R. D.: Alz-50, ubiquitin and tau immunoreactivity of neurofibrillary tangles, Pick bodies and Lewy bodies. *J. Neuropath. Exp. Neurol.* 1988, 47, 393–405.
84. Hyman B. T., Van Hoesen G. W., Wolozin B. L., Davies P., Kromer I. L., Damasio A. R.: Alz 50 antibodies recognizes Alzheimer related neuronal changes. *Ann. Neurol.* 1988, 23, 371–379.
85. Mandybur T. I.: The incidence of cerebral amyloid angiopathy in Alzheimer's disease. *Neurology* 1975, 25, 120–126.
86. Mandybur T. I.: Cerebral amyloid angiopathy: The vascular pathology and complications. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 1986, 45, 79–90.
87. Mandybur T. I.: Cerebral amyloid angiopathy and astrocytic gliosis in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 1989, 78, 329–331.
88. Mandybur T. I.: Chuirazzi CC; Astrocytes and the plaques of Alzheimer's disease. *Neurol.* 1990, 40, 635–639.
89. Mann D. M. A., Yates P. O., Marcyniuk B.: Some morphometric observations on the cerebral cortex and hippocampus in presenile Alzheimer's disease, senile dementia of Alzheimer type and Down's syndrome in middle age. *J. Neurol. Sci.* 1985, 69, 139–159.
90. Mann D. M. A., Tucker C. M., Yates P. O.: The topographic distribution of senile plaques and neurofibrillary tangles in the brains of non-demented persons of different ages. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 1987, 13, 123–139.
91. Mann D. M. A.: The topographic distribution of brain atrophy in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 1991, 83, 81–86.
92. Mann D. M. A., Jones D., South P. W., Snowden J. S., Neary D.: Deposition of amyloid beta-protein in non-Alzheimer dementias: Evidence for a neuronal origin of parenchymal deposits of beta-protein in neurodegenerative disease. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 1992, 83, 415–419.
93. Marx J.: Major setback for Alzheimer's models. *Science* 1992, 255, 1200–1202.
94. Masliah E., Iimoto D. S., Saitoh T., Hansen L. A., Terry R. D.: Increased immunoreactivity of brain spectrin in Alzheimer disease: a marker for synapse loss? *Brain Res.* 1990, 531, 36–44.
95. Masliah E., Hansen L., Albright T., Mallory M., Terry R. D.: Immunoelectron microscopic study of synaptic pathology in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 1991, 81, 428–433.
96. Masters C. L., Multhaup G., Simms G., Pottgiesser J., Martins R. N., Beyreuther K.: Neuronal origin of a cerebral amyloid: neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease contain the same protein as the amyloid of plaque cores and blood vessels. *EMBO J.* 1985, 11, 2757–2763.
97. Mc Geer P. L., Itagaki S., Boyes B. E., Mc Geer E. G.: Reactive microglia are positive for HLA-DR in the substantia nigra of Parkinson's and Alzheimer's disease brains. *Neurology* 1988, 38, 1285–1291.
98. Mc Geer P. L., Akiyama H., Kawamata T., Yamada T., Walker D. G., Ishii T.: Immunohistochemical localization of beta-amyloid precursor protein sequences in Alzheimer and normal brain tissue by light and electron microscopy. *J. Neurosci. Res.* 1992, 31, 428–442.
99. Miyakawa T., Katsuragi S., Yamashita K., Ohuchi K.: Morphological study of amyloid fibrils and preamyloid deposits in the brain with Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 1992, 83, 340–346.
100. Mizutani T., Amano N., Sasaki H., Morimatsu Y., Mori H., Yoshimura M., Neary D., Snowden J. S., Northern B., Couilding P.: Dementia of frontal lobe type. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatr.* 1988, 51, 353–361.
101. Molsa P. K., Sako E., Paljarvi L., Rinne J. O., Rinne U. K.: Alzheimer's disease: neuropathological correlates of cognitive and motor disorders. *Acta Neurol. Scand.* 1987, 75, 376–384.
102. Mori H., Kondo J., Ihara Y.: Ubiquitin is a component of paired helical filaments in Alzheimer's disease. *Science* 1987, 235, 1641–1644.
103. Morris J. C., Mc Keel D. W., Fulling K., Torack R. M., Berg L.: Validation of clinical diagnostic criteria for Alzheimer's disease. *Ann Neurol.* 1988, 24, 17–22.
104. Morris J. C., Heyman A., Mohs R. C., Hughes J. P., van Belle M. S. G., Fillenbaum G., Mellits E. D., Clark C., CERAD investigators; The consortium to establish a registry for Alzheimer's disease (CERAD). *Neurol.* 1989, 39, 1159–1165.
105. Murrell J., Farlow M., Ghetti B., Benson M.: A mutation in the amyloid precursor protein associated with hereditary Alzheimer's disease. *Science* 1991, 254, 97–99.
106. Neve R. L., Finch E. A., Dawes L. R.: Expression of the Alzheimer amyloid precursor gene transcripts in the human Brain. *Neuron.* 1988, 1, 669–677.
107. Nukina N., Kosik K. S., Selkoe D. J.: The monoclonal antibody Alz 50 recognizes tau proteins in Alzheimer's disease brain. *Neurosci. Lett.* 1989, 87, 240–246.
108. Ohgami T., Kitamoto T., Shin R. W., Kaneko Y., Ogomori K., Tateishi J.: Increased senile plaques without microglia in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 1991, 81, 242–247.
109. Osetowska E.: Etude anatomopathologique sur le cerveau de chiens senile. [w:] Proceedings of the Fifth International Congress of Neuropathology, wyd. Luthy F. i Bischoff A., Amsterdam, Excerpta medica Foundation 1966, 497–502.

110. Palmert M. R., Usiak M., Mayeux R., Raskind M., Tourtellotte W. W., Younkin S. G.: Soluble derivatives of the beta amyloid protein precursor in cerebrospinal fluid: alterations in normal aging and in Alzheimer's disease. *Neurol.* 1990, 40, 1028–1034.
111. Pasternack J. M., Abraham C. R., Van Dyke B. J., Potter H., Younkin S. G.: Astrocytes in Alzheimer's disease gray matter express alpha 1-antichymotrypsin mRNA. *Am. J. Pathol.* 1989, 135, 827–834.
112. Paulus W., Bancher C., Jellinger K.: Interrater reliability in the neuropathologic diagnosis of Alzheimer's disease. *Neurol.* 1992, 42, 329–332.
113. Peers M. C., Lenders M. B., Defosses A., Delacourte A., Mazzuca M.: Cortical angiopathy in Alzheimer's disease: the formation of dystrophic perivascular neurites is related to the exudation of amyloid fibrils from the pathological vessels. *Virchows Arch. Pathol. Anat.* 1988, 414, 15–20.
114. Perry G., Friedman R., Shaw G., Chau V.: Ubiquitin is detected in neurofibrillary tangles and senile plaque neurites of Alzheimer disease brains. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1987, 84, 3033–3036.
115. Picken M. M., Larrondo-Lillo M., Coria F., Gallo G. R., Shelanski M., Frangine B.: Distribution of the protease inhibitor alfa Antichymotrypsin in cerebral and systematic amyloid. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 1990, 49, 41–48.
116. Ponte P., Gonzales de Whitt P., Schilling J., Miller J., Hsu D., Greenberg B., Davis K., Wallace W., Lieberburg I., Fuller F., Cordell B.: A new A 4 Amyloid mRNA contains a domain homologous to serine proteinase inhibitors. *Nature* 1988, 331, 525–527.
117. Probst A., Ulrich J., Heitz U.: Senile dementia of Alzheimer type: Astroglial reaction to extracellular neurofibrillary tangles in the hippocampus. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 1982, 57, 75–79.
118. Probst A., Brunnschweiler H., Lautenschlager C., Ulrich J.: A special type of senile plaque, possibly an initial stage. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 1987, 74, 133–141.
119. Reeves R. H., Robakis N. K., Oster-Granite M. L., Wiśniewski H. M., Coyle J. T., Gearhart J. D.: Genetic linkage in the mouse of genes involved in Down syndrome and Alzheimer disease in man. *Molec. Brain Res.* 1987, 215–221.
120. Robertson M.: Alzheimer's disease and amyloid. *Nature* 1992, 356, 103.
121. Robakis N. K., Wiśniewski H. M., Jenkins E. C., Devine-Gage E., Houck G. E., Yao X. L., Ramakrishna N., Wolfe G., Silverman W. P., Brown W. T.: Chromosome 21q21 sublocalisation of gene encoding beta-amyloid peptide in cerebral vessels and neuritic (senile) plaques of people with Alzheimer disease and Down syndrome. *Lancet* 1987, 384–385.
122. Rozemuller J. M., Eikelenboom P., Stam F. C., Beyreuther K., Masters C. L.: A4 protein in Alzheimer's disease: primary and secondary cellular events in extracellular amyloid deposition. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 1989, 48, 674–691.
123. Schubert D., Schroeder R., La Corbiere M., Saitoh T., Cole G.: Amyloid beta-protein precursor is possibly a heparan sulfate proteoglycan core protein. *Science* 1989, 241, 223–241.
124. Selinger M. J., Mc Adam K. P., Kaplan M. M., Sipes J. D., Vogel S. N., Rosenstreich D. L.: Monokine-induced synthesis of serum amyloid A protein by hepatocytes. *Nature* 1980, 285, 498–500.
125. Selkoe D. J., Bell D. S., Podlisny M. B., Price D. L., Cork L. C.: Conservation of brain amyloid proteins in aged mammals and humans with Alzheimer's disease. *Science* 1987, 235, 873–877.
126. Shirama T., Cohen A. S.: An analysis of the close relationship of lysosomes to early deposits of amyloid. *Am. J. Pathol.* 1973, 73, 97–114.
127. Shoji M., Hirai S., Yamaguchi H., Harigaya Y., Ishiguro K., Matsubara E.: Alpha 1-antichymotrypsin is present in diffuse senile plaques. *Am. J. Path.* 1991, 138, 247–257.
128. Snow A. D., Kisilevsky R.: Temporal relationship between glycosaminoglycan accumulation and amyloid deposition during experimental amyloidosis. *Laborat. Invest.* 1985, 53, 37–44.
129. Snow A. D., Willmer J., Kisilevsky R.: Sulfated glycosaminoglycans: A common constituent of all amyloids? *Laborat. Invest.* 1987, 56, 120–123.
130. Snow A. D., Mar H., Nochlin D., Kimata K., Kato M., Suzuki S., Hassel J., Wright T. N.: The presence of heparan sulfate proteoglycans in the neuritic plaques and congophilic angiopathy in Alzheimer's disease. *Am. J. Pathol.* 1988, 133, 456–463.
131. Spillantini M. G., Hunt J., Ulrich J., Goedert M.: Expression and cellular localization of amyloid beta-protein precursor transcripts in normal human brain and in Alzheimer's disease. *Molec. Brain Res.* 1989, 6, 143–150.
132. Sumi S. M., Bird T. D., Nochlin D., Raskind M. A.: Familial presenile dementia with psychosis associated with cortical neurofibrillary tangles and degeneration of the amygdala. *Neurology* 1992, 42, 120–127.
133. Tanzi R. E., George-Hyslop P. H., Haines J. L., Polinsky R. J., Nee L., Foncin J. F., Neve R. L., Mc Clatchey A. I., Coneally P. M., Gusella J. F.: The genetic defect in familial Alzheimer's disease is not tightly linked to the amyloid-beta protein gene. *Nature* 1987, 329, 156–159.
134. Tanzi R. E., Gusella J. F., Watkins P. C., Bruns G. A., George-Hyslop P., Van Keuren M., Patterson D., Pagan S., Kurnit D. M., Neve R.: Amyloid beta-protein gene: cDNA, mRNA distribution and genetic linkage near the Alzheimer locus. *Science* 1987, 235, 880–884.
135. Tanzi R. E., Mc Clatchey A. I., Lamperti E. D., Villa-Komaroff L., Gusella J. F., Neve R. L.: Protease inhibitor domain encoded by an amyloid protein precursor mRNA associated with Alzheimer's disease. *Nature* 1988, 331, 528–530.
136. Terry R. D.: The fine structure of neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 1963, 22, 629–641.

137. Terry R. D., Hansen L. A., De Teresa R., Davies P., Tobias H., Katzman R.: Senile dementia of the Alzheimer type without neocortical neurofibrillary tangles. *J. Neuropath. Exp. Neurol.* 1987, 46, 262–268.
138. Tomlinson B. E., Kitchener D.: Granulovacuolar degeneration of hippocampal pyramidal cells. *J. Path.* 1982, 106, 165–185.
139. Ulrich J.: Senile plaques and neurofibrillary tangles of the Alzheimer type in nondemented individuals at presenile age. *Gerontol.* 1982, 28, 86–90.
140. Van Broeckhoven C., Genthe A. M., Vandenberghe A., Horsthemke B., Backhovens H., Raeymaekers P., Van Hul W., Wehnert A., Gheuens J., Cras P., Bruyland M., Martin J. J., Salbaum M., Multhaup G., Masters C. L., Beyreuther K., Gurling H. M. D., Mulian C. L., Holland A., Barton A., Irving N., Williamson S. J., Richards S. J., Hardy J. A.: Failure of familial Alzheimer's disease to segregate with the A 4-amyloid gene in several European families. *Nature* 1987, 329, 153–155.
141. Vinters H. V., Pardridge W. M.: The blood-brain barrier in Alzheimer's disease. *Can. J. Neurol. Sci.* 1986, 13, 446.
142. Wilcock G. K., Esiri M. M.: Plaques, tangles and dementia. *J. Neurol. Sci.* 1982, 56, 343–356.
143. Wischik C. M., Novak M., Edwards P. C., Klug A., Tichelaar W., Crowther I.: Structural characterization of the core of the paired helical filament of Alzheimer disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1988, 85, 4884–4888.
144. Wiśniewski H., Johnson A. B., Raine C. S., Kay W. J., Terry R. D.: Senile plaques and cerebral amyloidosis in aged dogs. *Lab. Invest.* 1970, 23, 287–296.
145. Wiśniewski H. M., Kozłowski P. B.: Evidence for blood-brain barrier changes in senile dementia of the Alzheimer type (SDAT). *Ann. New York Acad. Sci.* 1982, 119–129.
146. Wiśniewski H. M., Wen G. Y., Wang K. C., Iqbal K., Rubenstein R., W: Metuzals J., wyd.; *Electron microscopy and Alzheimer's disease*, San Francisco: San Francisco Press 1986, 21–24.
147. Wiśniewski H. M., Iqbal K., Grundke-Iqbal I., Rubinstein R.: The solubility controversy of paired helical filaments: a commentary. *Neurochem. Res.* 1987, 12, 93–95.
148. Wiśniewski H. M., Iqbal K., Bancher C., Miller D., Currie J.: Cytoskeletal protein pathology and the formation of beta-amyloid fibers in Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging.* 1989, 44, 13–16.
149. Wiśniewski H. M., Vorbrod A. W., Węgiel J., Moryś J., Lossinsky A.: Ultrastructure of cells forming amyloid fibers in Alzheimer disease and scrapie. *Am. J. Med. Genetics, Suppl.* 1990, 7, 287–297.
150. Wiśniewski H. M., Wegiel J.: Spatial relationship between astrocytes and classical plaque components. *Neurobiol. Aging.* 1991, 12, 593–600.
151. Wiśniewski K., Jervis G. A., Moretz R. C., Wiśniewski H. M.: Alzheimer neurofibrillary tangles in diseases other than senile and presenile dementia. *Ann. Neurol.* 1979, 5, 288–294.
152. Yamaguchi H., Morimatsu M., Hirai S., Takahashi K.: Alzheimer's neurofibrillary tangles are penetrated by astroglial processes and appear eosinophilic in their final stages. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 1987, 72, 214–217.
153. Yamaguchi H., Hirai S., Morimatsu M., Shoji M., Ihara Y.: A variety of cerebral amyloid deposits in the brains of the Alzheimer-type dementia demonstrated by beta protein immunostaining. *Acta Neuropath. (Berl.)* 1988, 76, 541–549.
154. Yamaguchi H., Nakazato Y., Hirai S., Shoji M.: Immunoelectron microscopic localization of amyloid beta-protein in the diffuse plaques of Alzheimer-type dementia. *Brain Res.* 1990, 508, 320–324.
155. Yamazaki T., Yamaguchi H., Okamoto K., Hirai S.: Ultrastructural localization of argyrophylic substances in diffuse plaques of Alzheimer-type dementia demonstrated by methenamine silver staining. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 1991, 81, 540–545.
156. Yanker B. A., Dawes L., Fisher S., Villa-Komaroff L., Oster-Granite M. L., Neve R. L.: Neurotoxicity of a fragment of the amyloid precursor associated with Alzheimer's disease. *Science* 1989, 245, 417–420.