

Redacția:

„Ana Aslan“ International Academy of Aging®
Fundația „Ana Aslan International“®
L.S. Enia Publishing House®
Piața Kogălniceanu nr. 1, ap. 17
Sector 5, București, România
Telefon/Fax: (021) 312 46 96
aslan@brainaging.ro
www.brainaging.ro

Secretariat general:
Ligia Hogaș, office@brainaging.ro
Gunilla Johansson,
Gunilla.Johansson@neurotec.ki.se

Redactor:
Dr. Alina Cașcaval, M.D.,
office@brainaging.ro

©L.S. Enia Publishing House®
©„Ana Aslan“ International Academy of Aging®
©Fundația „Ana Aslan International“®

ISSN 1582-8352 (tipărită)
ISSN 1582-8360 (on-line)

Toate drepturile rezervate. Nici o parte a acestei publicații nu poate fi reprodusă, stocată sau transmisă în nici o formă și prin nici un mijloc, electronic, mecanic, fotografic etc. fără permisiunea editorilor.

Brain Aging International Journal®
— ediția în limba română

„Ana Aslan“ International Academy of Aging®

Abrevierea acceptată pentru **Brain Aging International Journal®** — ediția în limba română pentru referințele bibliografice este **Brain Aging RO.**

Editorial

Modificările stilului de viață la hipertensivii vârstnici3

Ioan Romoșan, Luiza Spiru, C. Dașcău

Recenzii

Cortexul cerebral și senescența - corelații structurale și funcționale5

A. C. Cuello, A. Ribeiro-da-Silva, Y. De Koninck, M. A. Bruno

Boala Alzheimer: o tauopatie reală alimentată de disfuncția APP15

Nicolas Sergeant, André Delacourte

Efectele fenotipice ale genotipului apoE la șoarecii transgenici 23

G. Ophir, O. Levi, G. Yacovlev, D.M. Michaelson

Scale de evaluare

Scorul IADL al activităților curente30

Prezentare de caz

Exercițiile fizice (de rezistență) pot ameliora funcția cognitivă și motorie la un pacient vârstnic cu demență?33

Vince S. Thomas, Janis B. Petzel

The 9th International Conference on Alzheimer's Disease and Related Disorders.38

Articole originale

Tratamentul cu memantin la trei pacienți cu boală Parkinson cu diskinezie și declin cognitiv. 41

J. Lökk, B. Winblad

Plombele dentare de amalgam și relația cu concentrația mercurului în sânge și funcția cognitivă într-o populație urbană vârstnică 44

Nina Johansson, Hans Basun, Poul Holm-Pedersen, Bengt Winblad, Monica Nordberg

Recomandări pentru autori51

Consiliul științific

 Luiza Spiru Editor	 Bengt Winblad Editor șef	 Khalid Iqbal Editor
Sweden  Agneta Nordberg Jan Hillert Jan Näslund Kaj Blennow	Lars Bäckman Lars Olson Lars-Olof Wahlund Laura Fratiglioni Richard Cowburn	Romania  Florina Cristescu Ion (Jan) Hurjul Ioan Romoșan Constantin Popa Alexandru Șerbănescu Constantin Bălăceanu Stoinici
US  Eliezer Masliah Steven deKosky Steven Ferris Dave Morgan	John Morley Lon Schneider Peter J. Whitehouse John Hardy	Finland  Hilikka Soininen Irina Alafuzoff
UK  Alan Sinclair Emil C Toescu Gordon Wilcock	Martin Rossor Raj Kalaria Simon Lovestone	Canada  Howard Feldman Remi Quirion Claudio Cuello
Ireland  Robert Elsner		France  André Delacourte Bruno Vellas Françoise Forette
Germany  Harald Hampel Lutz Frölich		Spain  Jesús Avila
Switzerland  Ezio Giacolini Thomas Dierks		Italy  Sandro Sorbi Patrizia Mecocci Gianluigi Forloni
Denmark  Gunhild Waldemar		Australia  Anthony Jorm Collin L. Masters Henry Brodaty
Netherlands  Philip Scheltens		Israel  Daniel Michaelson Hiliet Pratt Michael Davidson
Poland  Marla Barcikowska		United Arab Emirates  Abdu Adem
India  Vijay Chandra		Japan  Masatoshi Takeda Akihiko Takashima Takeshi Tabira
Slovakian Republic  Michal Novak		China  Jianzhi Wang Li Lin
Singapore  Barry Halliwell Ng Tzo Pin		Thailand  Prasert Boongird
Greece  John Mantas Magda Tsolaki		Russia  Alexej Olovnikov Valeria Strelots
		Ukraine  Natalia Batchinskaya

Modificările stilului de viață la hipertensivii vârstnici

Prof. Dr. Ioan Romoșan^{1#}, Dr. Luiza Spiru², Dr. C. Dașcău¹

¹Clinica Medicală, Spitalul Universitar, UMF Timișoara.

²UMF "Carol Davila" București.

În cursul senescentei apar modificări fiziologice multiple, precum reducerea contractilității miocardice, reducerea filtrării glomerulare, a fluxului sanguin hepatic și a masei hepatice, diminuarea funcțiilor cognitive. Se reduce fluxul sanguin splanhnic, apa totală a organismului, masa totală uscată, și crește grăsimea corporală totală. Astfel, volumul de distribuție al medicamentelor hidrosolubile poate fi redus la vârstnici, iar timpul de eliminare al medicamentelor liposolubile este alungit. În mod teoretic, aceste realități pot favoriza incidența mai mare a reacțiilor adverse medicamentoase la vârstnici.

Prevalența hipertensiunii arteriale (HTA) crește cu vârsta. Conform studiului National Health and Nutrition Examination Survey III, 1988-1991, distribuția populației în rândul hipertensivilor vârstnici, de peste 60 de ani, a fost de 49,6% pentru HTA stadiul 1 (140-159/90-99 mmHg) și de 24,7% pentru HTA stadiul 2 (>160/100 mmHg). În cursul decadelor 5 și 6 de viață, prevalența în rândul femeilor este mai mare decât la bărbați. Rata de control a HTA este definită ca TA sistolică 140 mmHg și TA diastolică < 90 mmHg. Se consideră că este foarte important controlul HTA la pacienții vârstnici, pentru a evita complicații precum accidentele vasculare cerebrale, insuficiența cardiacă sau insuficiența renală.

Un studiu din 1993 a arătat că TA sistolică este un factor predictiv al evenimentelor cardiovasculare mai bun decât TA diastolică. Această constatare a confirmat rezultatele obținute inițial în studiul Framingham, care arată că TA sistolică este factorul primar de risc cardiovascular. Astfel, atenția cercetătorilor s-a orientat din nou către tratamentul TA sistolice, în special la vârstnici.

Prevalența ridicată a HTA la vârstnici sugerează că recunoașterea și tratarea HTA la vârstnic trebuie să fie o prioritate a medicilor. Atenția față de HTA, precum și implicarea în tratamentul ei la vârstnici au căpătat o amploare tot mai mare, dar în ciuda acestor îmbunătățiri s-a constatat că totuși controlul HTA la această categorie de vârstă rămâne redus. Regimurile medicamentoase complexe pot duce la noncompliancea pacienților la tratament, iar dacă se utilizează un singur medicament în doze mari, efectele secundare pot fi numeroase. Societatea Americană de Cardiologie Geriatrică, în colaborare cu Joint National Committee of High Blood Pressure recomandă ca modificările stilului de viață să facă parte integrantă din tratamentul HTA, indiferent de vârsta pacientului. Aceste recomandări

#Adresa pentru corespondență: Prof. Dr. Ioan Romoșan, Str. Semenici nr. 1, 1900 Timișoara.

includ mai ales reducerea excesului ponderal, modificarea alimentației, cu o dietă săracă în proteine și grăsimi, activitatea fizică regulată și reducerea ingestiei de alcool, sodiu și a fumatului. Deseori se afirmă că vârstnicii nu își modifică modul de viață. Dar dacă ei aplică modificările sugerate atunci se pot constata beneficiile reducerii HTA, în concordanță cu rezultatele mai multor studii, inclusiv rezultatele studiului nostru.

Impactul dietei în cadrul populației este semnificativ. Deși factorii alimentari au un efect mai redus asupra TA, totuși se obțin modificări semnificative. Se știe că obiceiurile alimentare pot fi modificate, de aceea se consideră că manipularea dietei poate avea atât un efect clar asupra nivelurilor tensionale, dar și asupra creșterii TA odată cu vârsta.

Combi-națiile medicamentoase pot fi deseori necesare pentru a asigura o eficacitate suplimentară la vârstnici. Majoritatea datelor trialurilor efectuate pe această temă arată că rata de răspuns la implicarea în acest tratament este redusă. De aceea este necesar ca mai mulți vârstnici să beneficieze de sfaturi privind modificările stilului de viață, precum și de asocieri medicamentoase.

Tratamentul HTA la vârstnic necesită cunoașterea posibilelor efecte adverse medicamentoase. Este important ca tensiunea arterială să fie totuși controlată, pentru a evita complicațiile care reduc calitatea vieții în cazul vârstnicilor.

Cortexul cerebral și senescenta - corelații structurale și funcționale

A. C. Cuello^{1,2,3,#}, A. Ribeiro-da-Silva^{1,2}, Y. De Koninck^{1,4,5}, M. A. Bruno¹

¹ Dept of Pharmacology & Therapeutics, McGill University, Montreal, Canada.

² Dept of Anatomy & Cell Biology, McGill University, Montreal, Canada.

³ Dept of Neurology & Neurosurgery, McGill University, Montreal, Canada.

⁴ Division of Cellular Neurobiology, Centre de Recherche Université Laval Robert-Giffard, Québec, Canada.

⁵ Dept of Psychiatry, Université Laval, Québec, Canada.

Rezumat

În ultimii ani am investigat impactul îmbătrânirii asupra parametrilor structurali și funcționali ai cortexului cerebral la șoarece. Studiile noastre au presupus evaluări comportamentale, investigații prin microscopie optică și electronică și analiză electrofiziologică a neuronilor corticali din lamina V corticală (studiu individual, caracterizare completă pe preparate tisulare, cu marcarea intracelulară pentru analiza detaliată a morfologiei și organizării sinaptice). Aceste investigații au relevat că neuronii piramidali mari sunt vulnerabili la îmbătrânire, proces în care se remarcă o reducere importantă a dimensiunilor celulare precum și o scădere a numărului dendritelor, în special a ramificațiilor distale ale dendritelor bazale, asociată cu reducerea marcată a sinapselor. Această reducere are amploare maximă în sistemul colinergic, care stabilește preferențial sinapse pe traseul dendritelor neuronilor piramidali. Analiza noastră electrofiziologică a relevat reducerea frecvenței curenților postsinaptici excitatori și inhibitori (EPSC, IPSC), indicând existența unei activități sinaptice compensatorii în creierul senescent. Mai mult, la șoarecii bătrâni cu tulburare cognitivă, am observat o scădere marcată a numărului butonilor presinaptici colinergici din cortexul cerebral. Am descoperit de asemenea că administrarea unui agonist stabil proteolitic al receptorului TrkA, denumit D3, a fost capabilă să amelioreze percepția spațială a acestor șoareci bătrâni, ducând la salvarea pe termen lung a butonilor presinaptici colinergici la cote comparabile cu ale animalelor tinere și celor bătrâne fără tulburare. Acest compus cu greutate moleculară mică și activitate selectivă ar putea avea un potențial terapeutic considerabil.

Cuvinte cheie: colinergic, neuroni piramidali, sinapse corticale, factori trofici, tulburare cognitivă legată de vârstă, atrofiere dendritică.

Introducere

Există dovezi științifice covârșitoare care atestă că procesul de îmbătrânire umană este însoțit de modificări ale cortexului cerebral ce duc la deteriorarea funcțiilor superioare ale SNC. Se presupune că aceste schimbări stau la baza apariției unor bine cunoscute tulburări cognitive observate odată cu îmbătrânirea. Modificări similare au fost observate la animalele de laborator. Ne referim aici la dispariția unor dendrite, rami-

ficații dendritice și sinapse. Întrucât se pare că numărul neuronilor din cortexul cerebral îmbătrânit rămâne constant, se crede că pierderea unor structuri atât pre- cât și postsinaptice are un impact maxim în funcționarea conexiunilor interneuronale. Majoritatea datelor disponibile indică o pierdere a elementelor presinaptice odată cu avansarea în vârstă, fără a defini neurotransmițătorul implicat. Cu toate acestea, studii neurochimice ar sugera o implicare semnificativă a mecanismelor colinergice

în procesul de îmbătrânire¹⁻⁵. Această idee este susținută de elegantă demonstrație a faptului că tulburările cognitive asociate cu vârsta se corelează cu atrofia celulară a neuronilor colinergici din proencefal⁶⁻⁹. Un interes deosebit a fost acordat efectului îmbătrânirii asupra corpului celular al acestor neuroni colinergici, în timp ce mult mai puțină atenție a suscitat studierea terminațiilor acestora din cortexul cerebral și hipocamp, acolo unde acționează de fapt acetilcolina

#Adresa pentru corespondență: A. Claudio Cuello, Dept of Pharmacology & Therapeutics, McGill University, 3655 Promenade Sir-William-Osler, Montreal, QC, Canada, H3G 1Y6. Tel: 514-398-3618; Fax: 514-398-8317. Email: accuello@pharma.mcgill.ca

(ACh) asupra neuronilor țintă. În această lucrare, am sintetizat o parte din eforturile noastre de a încerca să corelăm modificările sinaptice din structurile corticale legate de vârstă cu schimbările funcționale.

Teoria pierderii neuronale

Cea mai evidentă trăsătură a creierului uman senescent este atrofia¹⁰⁻¹². Introducerea imagisticii prin rezonanță magnetică a furnizat o dovadă precisă și neinvazivă a atrofiei cerebrale legată de vârstă, mai evidentă la nivelul masei corticale^{13,14}.

De mai multă vreme s-a sugerat că pierderea neuronală masivă ar fi principalul factor ce ar explica atrofia cerebrală legată de vârstă. Mai multe studii au raportat că pierderea celulară în neocortexul senescent se datorează în principal pierderii neuronilor mari^{10,15,16}, deși a fost observată și pierderea de neuroni mici^{17,18}. Oricum, pierderea neuronală extensivă în creierul senescent a fost pusă la îndoială de Haug și colab.,¹⁹ sugerând că numărul neuronilor din creierul tânăr a fost supraestimat. După corecția pentru atrofi, Haug și Eggers²⁰ au observat nu o reducere, ci o creștere a densității neuronale acompaniată de o scădere a volumului cerebral în cortexul senescent. Un studiu independent făcut de Terry și colab.¹⁶ susține de asemenea teoria absenței pierderii celulare legate de vârstă în cortexul cerebral. După analiza atentă a creierelor unor pacienți ce au decedat din cauza unor boli neurodegenerative, Terry și colab.¹⁶ au arătat că numărul neuronilor mari s-a redus semnificativ, în timp ce numărul neuronilor mici a crescut în egală măsură. Această descoperire sugerează că un mare număr de neuroni mari își pot reduce dimensiunile cu vârsta, explicând astfel aparenta creștere a numărului neuronilor mici în creierul senescent. Alți cercetători nu au găsit pierdere de neuroni corticali legată de vârstă, nici la maimuțe²¹ și nici la oameni²². S-a raportat că numărul neuronilor

din cortexul cerebral la șoarece rămâne neschimbat de-a lungul vieții^{21,23}. În concordanță cu observațiile asupra creierului uman, noi am demonstrat recent o atrofi foarte importantă a neuronilor piramidali mari la șoarece²⁴.

În concluzie, nu există dovezi concludente în sprijinul pierderii semnificative de neuroni odată cu înaintarea în vârstă. În locul acesteia, atrofia a numeroși neuroni piramidali mari și pierderea de substanță albă ar putea constitui factori importanți implicați în reducerea semnificativă a dimensiunilor creierului uman legată de vârstă. În plus, atrofia celulară din boala Alzheimer este probabil mai marcată în rândul anumitor populații neuronale, cum ar fi neuronii colinergici din nucleul bazal Meynert²⁵.

Modificări cantitative ale dendritelor

Aproximativ 90% din totalul suprafeței receptoare a neuronilor corticali este constituită din dendrite^{26,27}. Butonii presinaptici stabilesc contacte sinaptice cu axurile dendritice și structuri dendritice specializate, mai exact spinii dendritici. Cele mai multe sinapse ce conțin neurotransmițători excitatori, cum ar fi glutamatul, stabilesc contact cu spinii dendritici^{28,29}.

În rândurile următoare vom sintetiza teoriile actuale asupra modificărilor dendritice legate de vârstă la nivelul neuronilor piramidali și non-piramidali din cortexul cerebral. Neuronii piramidali sunt principalii neuroni de proiecție din cortexul cerebral^{29,30}, sunt prezenți în toate straturile cerebrale cu excepția stratului I, și constituie aproximativ 70-80% din totalul populației neuronale din cortexul cerebral. Deși neuronii piramidali prezintă o oarecare heterogenitate, neuronul piramidal tipic are următoarele trei caracteristici structurale: (1) un arbore dendritic caracteristic, cu o dendrită apicală predominantă îndreptată radial spre suprafața creierului, din care se desprind dendrite oblice, și dendrite

bazale desprinse din corpul celular și îndreptate lateral sau în jos; (2) toate dendritele posedă numeroși spinii dendritici; și (3) un axon ce emerge din corpul celular și se proiectează în jos spre alte regiuni corticale sau subcorticale și care prezintă colaterale axonale locale. În afara acestor neuroni piramidali tipici, există și neuroni piramidali ce nu posedă toate caracteristicile morfologice menționate mai sus.

Întrucât neuronii piramidali reprezintă cea mai importantă populație neuronală din cortex, ne-am concentrat atenția asupra modificărilor structurale și funcționale ale acestora în procesul de îmbătrânire. Pierderea semnificativă de dendrite în rândul neuronilor piramidali din cortexul cerebral uman a fost raportată pentru prima dată de Scheibel și colab.^{31,32}. Între diferitele compartimente dendritice ale neuronilor piramidali, modificările legate de vârstă apar cel mai precoce și mai pregnant la nivelul dendritelor bazale. Reducerea semnificativă a numărului și scurtarea dendritelor bazale este cunoscută de mai mult timp^{31,33,34}. În plus față de scurtarea structurilor dendritice, dendritele bazale din creierul senescent al diferitelor specii au un număr mai mic de ramificații^{33,35-38}. În afara reducerii considerabile a numărului de dendrite bazale, s-a raportat și o pierdere legată de vârstă și în ceea ce privește dendritele oblice și cele apicale^{35,39}. Este important de reținut că pierderile dendritice în creierul senescent nu constituie un proces inevitabil. De exemplu, nu s-a observat o pierdere dendritică în rândul neuronilor piramidali din stratul II din cortexul entorhinal al șoarecilor bătrâni⁴⁰.

Pierderea de spinii dendritici, în special la dendritele bazale, este de asemenea o modificare caracteristică a neuronilor piramidali îmbătrâniți^{33,34,37,41,42}. Privite per ansamblu, aceste studii furnizează dovezi în favoarea unei reduceri substanțiale a suprafeței dendritice a neuronilor piramidali în creierul senescent. Întrucât dendritele

posedă cea mai receptivă membrană pentru impulsurile sinaptice^{26,43}, pierderea marcată de structuri dendritice ar trebui să limiteze substratul postsinaptic disponibil pentru conexiuni în cortexul cerebral senescent. Am prezentat schimbări semnificative produse la nivelul unui număr mare de elemente morfologice din lamina V piramidală în cortexul parietal al șoarecilor bătrâni. În ceea ce privește numărul total de ramificații ale dendritelor bazale, neuronii piramidali ai animalelor bătrâne posedă semnificativ mai puține ramuri comparativ cu animalele tinere²⁴. În consecință, lungimea totală a dendritelor bazale scade semnificativ la șoarecii bătrâni. Am descoperit de asemenea o scădere marcată legată de vârstă a numărului de ramificații dendritice bazale distale de ordin înalt. În paralel cu pierderea dendritelor bazale, densitatea spinilor dendritici la șoarecii bătrâni s-a dovedit semnificativ redusă²⁴.

Modificări sinaptice

În ultimele două decade au fost efectuate numeroase studii asupra reducerii numărului de sinapse în cadrul procesului normal de îmbătrânire.

Studii cantitative folosind microscopia electronică au relevat o reducere semnificativă a numărului sinapselor odată cu vârsta la animalele de laborator^{44,45} și oameni^{46,47}. Oricum, nu toate tipurile de sinapse sunt afectate în mod egal de vârstă. Grupul de cercetători conduși de Adams a raportat o pierdere legată de vârstă în rândul sinapselor asimetrice, nu și al celor simetrice, din stratul I al regiunii corticale somatosenzitive la oamenii în vârstă⁴⁶. În mod similar, o pierdere preferențială de sinapse asimetrice a fost observată și la nivelul hipocampului⁴⁸. Alternativ, sinapsele de pe spinii dendritici (majoritatea asimetrice) sunt mai susceptibile să fie afectate în timpul procesului de îmbătrânire în comparație cu sinapsele de pe axurile dendritice^{44,49}.

În afara modificărilor numerice ale sinapselor, au fost raportate și modificări ale structurii sinaptice legate de vârstă. Adams și Jones⁴⁴ au arătat că prelungirile terminale din cortexul parietal al șoarecilor bătrâni conțin mai puține mitocondrii, vezicule sinaptice, vacuole și cisterne tubulare și prezintă o suprafață presinaptică redusă. În același studiu a fost observată și reducerea numărului de mitocondrii în spinii dendritici postsinaptici. Pierderea acestor structuri intracelulare ar putea compromite metabolismul și funcția sinapselor în creierul îmbătrânit. Într-adevăr, numărul sinapselor ce nu conțin sau conțin foarte puține vezicule este mult crescut în creierul senescent⁴⁴. Cu toate acestea, au fost observate și modificări în structura sinapselor ce ar putea duce la ameliorarea funcției acestora. De exemplu, pierderea sinapselor și modificările structurilor presinaptice sunt acompaniate de o creștere a lungimii medii a zonei active postsinaptice⁵⁰. Creșteri similare ale dimensiunilor terminațiilor presinaptice după pierderea de sinapse legate de vârstă au fost observate în girusul dințat^{51,52}.

Aceste modificări structurale de la nivelul sinapselor remanente din creierul senescent pot reprezenta un fenomen compensator în încercarea de a menține o funcție sinaptică corticală normală. Au fost raportate și scăderi ale numărului sinapselor corticale^{45-47,53,54}. Este interesant că există suficiente dovezi ce susțin o reducere mai accentuată atât a dendritelor cât și a sinapselor în straturile corticale profunde (V, VI) la șoarecii bătrâni comparativ cu straturile superficiale^{55,56}. În grupul nostru de studiu, analiza ultrastructurală a cortexului cerebral murin a evidențiat o densitate mai mică de terminații presinaptice pe unitatea de lungime de membrană postsinaptică (caracterizată electrofiziologic) a neuronilor piramidali izolați din creierul senescent²⁴. Pierderea de elemente sinaptice în neuronii piramidali din stratul V neocortical se poate traduce printr-un declin al funcției

creierului îmbătrânit. Studii asupra utilizării glucozei și fluxului sanguin⁵⁸⁻⁶⁰ au evidențiat o reducere semnificativă a activității metabolice în cortexul cerebral senescent. În plus, fragmentarea profundă a spinilor dendritici în creierul senescent poate sugera o pierdere importantă de sinapse asimetrice²⁹. Ținând cont de faptul că aceste sinapse asimetrice ar putea fi excitatorii^{28,61,62}, pierderea sinaptică legată de vârstă poate duce la o reducere preferențială a aferențelor sinaptice excitatorii într-o mai mare măsură decât a celor inhibitorii ale neuronilor piramidali corticali.

Deși au fost observate diminuări ale activităților neuronale corticale^{63,64}, nu a fost demonstrată o scădere importantă a ratei de depolarizare spontană a neuronilor piramidali din stratul V^{63,65}. Interesant, o stabilitate similară a caracteristicilor celulare a fost observată și în hipocampusul senescent⁶⁶. Una dintre explicațiile posibile ale acestei discrepante este modificarea funcțională compensatorie a transmisiei sinaptice după reducerea numărului de sinapse. În lumina acestei teorii, observațiile noastre indică faptul că depolarizarea axonală spontană poate compensa reducerea contactelor sinaptice funcționale de la nivelul neuronilor piramidali la șoarecii bătrâni. Dată fiind scurtarea marcată a dendritelor și scăderea densității butonilor presinaptici în rândul neuronilor piramidali din stratul V, ar fi de așteptat o reducere comparabilă a impulsurilor sinaptice ce bombardează acești neuroni.

În pofida reducerii drastice a substratului sinaptic la șoarecii bătrâni, nu s-a găsit nici o diferență în ceea ce privește frecvența curenților dependenți de potențialele de acțiune spontane (spontaneous excitatory or inhibitory post-synaptic currents, sEPSC sau sIPSC) între șoarecii tineri și cei bătrâni (Figura 1). Oricum, dacă se adaugă tetrodotoxină (TTX), se poate observa o reducere clară în frecvența atât a mEPSC cât și a mIPSC, evidențind o componentă insensibilă la

TTX a bombardamentului sinaptic (Figura 2). Scăderea legată de vârstă a frecvenței mEPSC este concordantă cu reducerea suprafeței corpului celular, ce pare să fie ținta principală a sinapselor inhibitorii GABAergice^{29,67}. Deoarece cele mai multe sinapse excitatorii se pare că se realizează la nivelul spinilor dendritici⁶⁸, reducerea densității spinilor este de asemenea concordantă cu scăderea frecvenței mEPSC după cum am observat, întrucât am vorbit deja despre această pierdere preferențială a sinapselor asimetrice²⁹. Rezultatul net este menținerea echilibrului între cele două tipuri de impulsuri excitatorii și inhibitorii. Întrucât nu s-au observat schimbări legate de vârstă în frecvența PSC spontane (nici excitatorii, nici inhibitorii), în ciuda pierderii structurale de la nivelul structurilor presinaptice și a diminuării incidenței PSC miniaturali, se poate concluziona că menținerea acestor descărcări sinaptice la frecvențe normale reflectă un efort compensator al creierului senescent. Acest efort poate fi interpretat ca o creștere a impulsurilor dependente de potențialele de acțiune (creșterea raportului între frecvența sPSC și frecvența mPSC), deci o creștere a activității în neuronii situați presinaptic în raport cu neuronii piramidali la animalele bătrâne²⁴.

Sistemul colinergic cortico-bazal prozencefalic și senescența

De vreme ce numărul neuronilor rămâne aproximativ același în cortexul cerebral îmbătrânit, pierderea structurilor pre- și postsinaptice s-ar traduce printr-o scădere marcată a conexiunilor interneuronale cu vârsta. Inervarea colinergică a cortexului cerebral a fost investigată aprofundat datorită rolului său în trezire, învățare și memorie⁶⁹⁻⁷⁵. Neuronii colinergici din nucleul bazal magno-celular (NBM) și nucleii prozencefali asociati sunt cele mai importante surse de inervare colinergică extrinsecă a cortexului^{76,77}. La rozătoare,

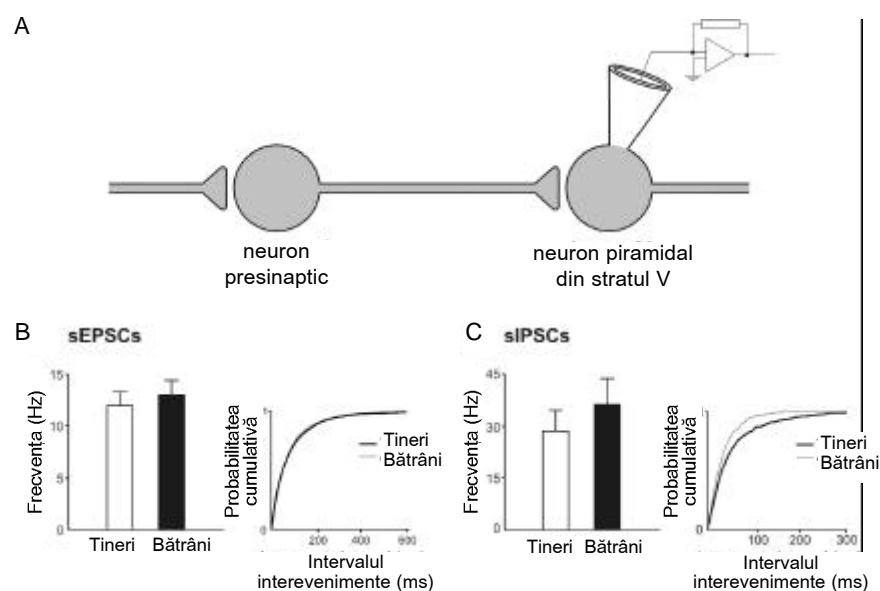
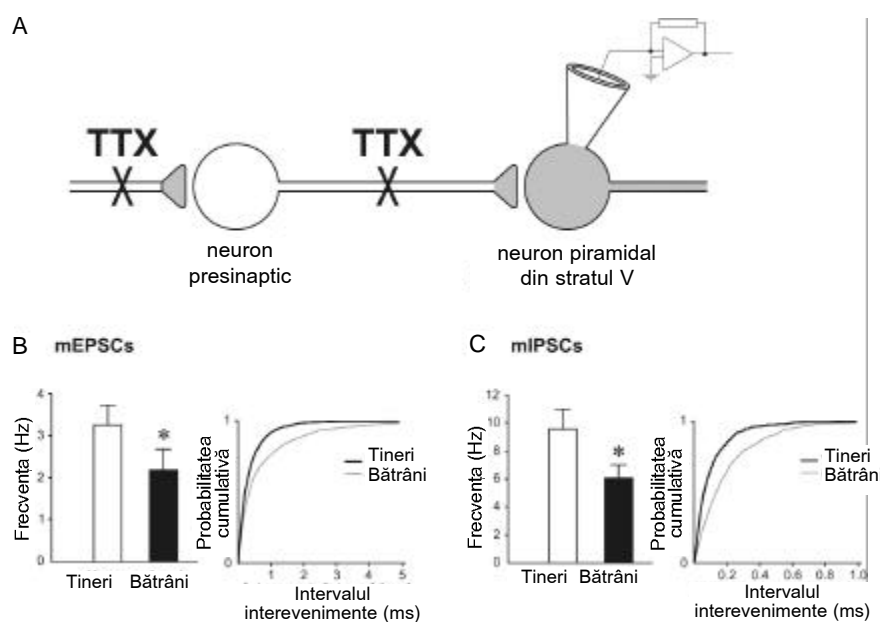


Figura 1. Nu se observă nici o modificare semnificativă în frecvența curenților EPSC și IPSC apăruți spontan în neuronii piramidali corticali la șoarecii bătrâni. A. Diagramă ce arată activitatea reflectată de înregistrările sPSC în neuronii piramidali din stratul V (spre deosebire de figura 2A.). Acești sPSC rezultă din însumarea atât a proprietăților de eliberare intrinsecă a terminalului sinaptic cât și a activității de declanșare a potențialelor de acțiune în neuronii situați presinaptic în raport cu celula monitorizată. B. C. Histograme ce arată frecvența sEPSC și sIPSC la șoarecii tineri și cei bătrâni. Graficele probabilităților cumulative figurate în dreapta fiecărei histograme arată încă o dată lipsa modificărilor în ceea ce privește distribuția frecvențelor atât a sEPSC cât și a sIPSC cu înaintarea în vârstă. Reprodus, cu permisiune, după Wong și colab²⁴.



doar o mică parte din inervația colinergică a cortexului derivă tot din neuronii intrinseci⁷⁸. Densitatea terminațiilor colinergice este mare mai ales în stratul cortical V⁷⁹, unde se găsesc neuronii piramidali, principala eferență a celulelor din această zonă^{28,79}.

Rolul ACh în memorie a început să prezinte interes de când deficitele de învățare și memorie asociate cu vârsta și boala Alzheimer au fost atribuite, cel puțin parțial, unui declin al integrității funcționale a sistemului colinergic prozencefalic⁸⁰⁻⁸⁵. Un suport puternic în favoarea rolului critic al ACh corticale în declinul cognitiv asociat cu vârsta și demența a fost furnizat de studii ce au demonstrat o corelație între scăderea markerilor ACh corticale și severitatea demenței⁸⁶⁻⁸⁸. Există mai multe studii ce susțin ipoteza că integritatea neuronilor colinergici din prozencefalul bazal ce se proiectează în diferite arii corticale se compromite în timpul îmbătrânirii normale și în cazul demenței. Cu vârsta, neuronii din prozencefalul bazal suferă un proces de atrofiere, apreciat în funcție de anumiți parametri morfologici și biochimici^{2,89}. În plus, date preliminare furnizate de laboratoarele noastre de cercetare au demonstrat că în cortexul parietal există o pierdere de butoni colinergici legată de vârstă, cu un declin mai pronunțat în straturile V și VI⁹⁰.

Interesant, lamina V este zona cu cea mai importantă pierdere la nivelul butonilor sinaptici⁵⁵.

În ultimii ani, terminațiile colinergice corticale au fost privite ca esențiale în abilitatea cortexului cerebral de a obține reprezentări adecvate ca răspuns la experiențele senzoriale⁹¹. Este ironic că, deși ACh a fost primul compus chimic din sistemul nervos ce a fost catalogat drept neurotransmițător⁹²⁻⁹⁴, doar la începutul anilor '80 am reușit să identificăm microscopic neuronii colinergici din SNC și căile de conducere colinergice, grație punerii la punct a unor markeri sensibili pentru neuronii colinergici, în speță anticorpi specifici capabili să detecteze enzima implicată în biosinteza ACh, colinacetiltransferaza (ChAT), prin imonohistochimie^{25,77,95,96}. Descrierea completă a acestui sistem de transmisie face astăzi parte din neurofarmacologia clasică.

Problema modului în care ACh acționează în cortexul cerebral a reprezentat mult timp subiectul unor controverse. Deși date electrofiziologice^{97,98} sugerează clar o acțiune sinaptică a ACh în SNC, opinia prevalentă a fost că acest transmitător acționează în cortexul cerebral într-un mod difuz, non-sinaptic⁹⁹⁻¹⁰¹ un concept ce se încadrează în tiparul așa zisei „transmisii volumice”¹⁰²⁻¹⁰⁴. Aceste puncte de vedere au câștigat mulți adepți în ultimii ani.

Descoperiri tehnologice recente și folosirea unor anticorpi mai sensibili pentru evidențierea neuronilor colinergici au făcut posibilă culegerea unor informații calitative și cantitative precise în ceea ce privește regiunile presinaptice colinergice. Studiile noastre¹⁰⁵ folosind anticorpi anti-transportor vezicular de Ach (VACHT) și tehnici imunohistochemice ameliorate au demonstrat univoc că butonii colinergici corticali (imunoreactivi la VACHT, VACHT-IR), stabilesc, majoritatea, sinapse clasice. Este vorba mai ales de sinapse simetrice pe axurile dendritice. Aceste descoperiri susțin cu tărie rolul ACh de transmitător sinaptic „clasic” (punct-la-punct), în opoziție cu modalitatea de acțiune non-sinaptică, prin eliberare difuză. Mai mult, aceleași studii indică o atrofiere severă legată de vârstă (demonstrată prin determinări bidimensionale și reconstrucții tridimensionale) a acestor butoni presinaptici colinergici corticali, cu o scădere concomitentă a suprafeței sinaptice (Figura 3)¹⁰⁵.

S-a arătat că neuronii colinergici localizați în NBM (la primate, nucleul Meynert) și nucleii prozencefali asociați sunt cele mai importante surse de inervație colinergică extrinsecă a neocortexului^{76,106}. Densitatea terminațiilor colinergice este mare în special în lamina V neocorticală⁷⁹, care reprezintă exact locul unde se

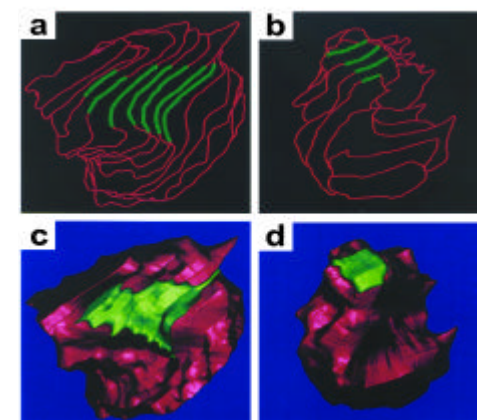


Figura 3. Reconstrucții ale secțiunilor seriate ale butonilor VACHT-IR din lamina V a cortexului parietal de la șoarecii tineri (a,c) și bătrâni (b,d), obținute cu ajutorul sistemului de analiză a imaginilor MCID-M4. Zonele marcate cu verde din butonii reconstruiți reprezintă regiuni de contact sinaptic. Se observă volumul și suprafața sinaptică mai mici la butonii senescenti în comparație cu cei tineri. Bara de scală, 0,5μm. Valorile din tabel reprezintă media fiecărui parametru per animal ± S.E.M. * $p < 0,05$; Student's t-test. Reprodus, cu permisiune, după Turrini și colab¹⁰⁵.

Trăsături morfometrice ale butonilor terminali din lamina V corticală la șoarecii tineri și bătrâni

	Tineri	Bătrâni
Secțiuni izolate		
Aria (μm ²)	0,313±0,005	0,241±0,004*
Perimetrul (μm)	2,404±0,060	2,052±0,017*
Reconstrucția secțiunilor seriate		
Volumul (μm ³)	0,252±0,046	0,129±0,015*
Aria suprafeței (μm ²)	2,239±0,326	1,441±0,118*
Aria sinaptică (μm ²)	0,090±0,020	0,040±0,004*

află neuronii piramidali mari²⁸. Interesant, cele mai recente descoperiri ale noastre și nu numai susțin o reducere de mai mare amploare atât a dendritelor⁵⁶ cât și a sinapselor⁵⁵ în straturile corticale profunde (V, VI) ale șoarecilor bătrâni, în comparație cu straturile superficiale. Cercetările noastre recente au arătat deci că, în fața procesului de îmbătrânire, componenta presinaptică colinergică este mai vulnerabilă decât populația presinaptică totală¹⁰⁷.

În plus, evidențierea neuronilor piramidali din stratul V prin marcarea intracelulară cu biocitină asociată cu detecția prin microscopie electronică a VAcHT a demonstrat asocierea preferențială a butonilor presinaptici colinergici cu neuronii piramidali, în particular cu segmentele distale ale dendritelor bazale (Figura 4)¹⁰⁷. În concluzie, aceste descoperiri privind proiecțiile colinergice bazalo-corticale reprezintă un progres în înțelegerea funcționării acestui sistem, prin inventarierea detaliată a terminațiilor neocorticale ale acestor neuroni la nivelul structurilor-țintă, neuronii piramidali, nivel unde, de fapt, acționează ACh.

Suportul trofic al circuitelor corticale senescente

După cum s-a discutat în secțiunea precedentă, sistemul colinergic se alterează odată cu înaintarea în vârstă, și chiar într-o măsură mai mare în BA^{81,83,108}.

Implicarea colinergică selectivă din BA a fost reprodusă recent de către noi la animale transgenice, în încercarea de a reda trăsăturile patologiei amiloide²⁴. Din cunoștințele noastre privind extraordinara dependență de NGF a fenotipului colinergic prozencefalic ar rezulta că atât în procesul normal de îmbătrânire cât și a BA eșecul mecanismului de feedback pentru un factor trofic este responsabil de declinul colinergic ce apare în astfel de circumstanțe. Oricum, dovezile în favoarea producției scăzute de NGF în senescență sau BA nu sunt convingătoare.

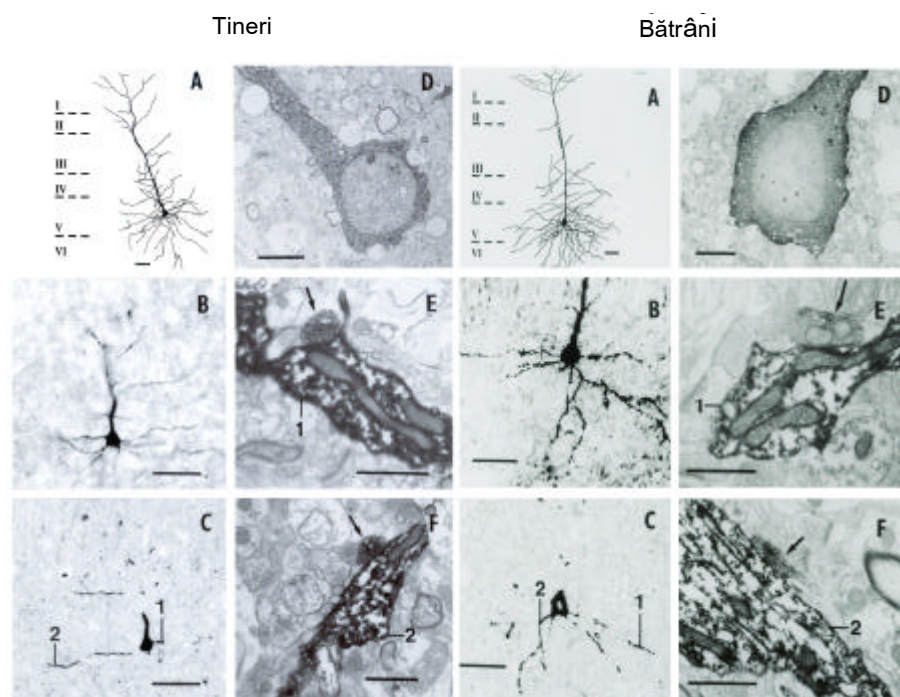


Figura 4. Proprietăți morfologice și imunocitochimice ale unui neuron piramidal din lamina V corticală marcat cu biocitină, provenit de la un șoarece tânăr (stânga, A-F) și unul bătrân (dreapta, A-F). (A) Reconstructie "camera lucida" a celulei. (B) Micrografie a unui segment din celulă obținută dintr-o secțiune cu o grosime de 50 μm. (C) Micrografie după o secțiune cu o grosime de 4 μm obținută după reincorporarea Epon a secțiunii de 50 μm de la B. (D) Electromicrografie a corpului celular obținută după reincorporarea ulterioară a secțiunii de 4 μm de la C. Notați absența butonilor VAcHT-IR de pe corpul celular sau oriunde pe neuropilii înconjurători. (E, F). Electromicrografii ale dendritelor proximale, respectiv distale; observați butonii VAcHT-IR aplicați pe dendrite (săgeți). Bara de scală în (A), (B) și (C) = 5 μm; (E) și (F) = 1 μm. Reprodus, cu permisiune, după Casu și colab¹⁰⁷.

Concluziile privind modificările nivelului NGF dependente de vârstă sau ale ARNm-ului corespunzător acestui factor trofic în cortexul cerebral și hipocamp variază între scădere, staționare sau creștere și, în repetate rânduri, nivelurile celor doi markeri s-au dovedit a avea variații distonante¹⁰⁹⁻¹¹³. Rezultate preliminare obținute de Gage, Bjorklund și Thoenen¹¹⁴ sugerează că șoarecii cu tulburări comportamentale prezintă nivele normale sau crescute de NGF în SNC, ceea ce, bazându-se pe informațiile disponibile, s-ar putea interpreta ca o posibilă creștere a Pro-NGF (NGF imatur) mai curând decât a NGF.

Modificările nivelului NGF în BA sunt de asemenea neclare întrucât se observă o aparentă disociație între markerii clasici ai acestei neurotrofine (peptidul și ARNm-ul său corespunzător) și expresia feno-

tipică a neuronilor colinergici din prozencefal.

Fahnestock și colab. au demonstrat elegant, utilizând mostre corticale recoltate post-mortem de la pacienți cu BA, că nivelul de NGF este crescut^{115,116} în timp ce nivelul ARNm corespunzător este nemodificat¹¹⁵. Această situație ar presupune o deficiență în procesarea și maturarea NGF. Existența unor nivele crescute de NGF alături de niveluri normale de ARNm NGF în creierul cu BA a fost confirmată și de alți cercetători^{117,118}. În plus, Fahnestock și colab.¹¹⁹ au arătat că NGF cuantificabil imunoenzimatic la șoarece, șobolan și om este reprezentat în principal de către precursor, forma imatură a NGF. Această creștere a nivelului Pro-NGF ar putea explica deconectarea de cauză trofică a neuronilor colinergici din prozencefal în BA.

În BA, pe lângă bine-cunoscuta pierdere de neuroni din nucleii bazali⁸⁴ sau atrofia acestora¹²⁰, mai mulți autori au descoperit o scădere a NGF transportat retrograd în această zonă (prin ELISA) sau în celulele nucleilor bazali (prin imunohistochimie)^{121,122}. Această situație a fost atribuită unei insuficiențe a sistemului de transport axonal retrograd din cortexul cerebral la nivelul corpurilor celulare¹²³⁻¹²⁵. Întrucât expresia receptorului TrkA pare să fie reglată printr-un mecanism de tip „down-regulation” în nucleii bazali ai pacienților cu BA și ai șoarecilor bătrâni,^{118,124,126,127} deconectarea de cauză trofică s-ar putea datora inabilității terminațiilor colinergice în a lega și internaliza complexe TrkA/NGF. Oricum, în aceeași măsură este posibil și ca aceste condiții (adică un deficit în transportul NGF și mecanismul „down-regulation” al expresiei receptorului TrkA) să fie consecutive unui singur factor: eșecul maturării Pro-NGF într-o moleculă trofică biologic activă.

Un factor în favoarea acestei interpretări este acela că deconectarea trofică indusă de leziuni ale nucleilor bazali¹²⁸ sau ale nucleului septal¹²⁹ declanșează mecanismul „down-regulation” asupra mesajului ARNm TrkA. Oricum, odată declanșat, acest mecanism răspunde încă pozitiv la administrarea exogenă de NGF, prin stimularea de tip „up-regulation” a mesajului ARNm TrkA în neuronii atrofiați din nucleii bazali sau nucleul septal^{129,130}.

O posibilă terapie trofică?

În lumina rezultatelor studiilor noastre, reiese că fie în urma imunoneutralizării NGF endogen, fie după blocarea receptorilor TrkA ai acestuia, are loc o pierdere de zone presinaptice colinergice corticale preexistente. Acesta este un argument puternic în favoarea rolului NGF endogen în menținerea numărului constant de conexiuni colinergice la animalele mature¹³¹.

Am arătat de asemenea că peptide ciclice sintetice ce mimează domeniul 92-96 (din subunitatea β) al moleculei de NGF acționează ca antagoniști ai moleculei receptorului TrkA, modulând fenotipul colinergic atât in vitro¹³² cât și in vivo¹³¹. Ca rezultat, am investigat capacitatea unui nou compus cu greutate moleculară mică, numit D3¹³³, de a modifica terminațiile presinaptice colinergice corticale atrofile la șoarecii cu tulburări cognitive legate de vârstă, în căutarea unui preparat terapeutic alternativ care să acționeze doar asupra receptorului TrkA pentru neurotrofină, fără a se lega încrucișat de receptorul ubiquitar cu afinitate scăzută p75^{L^{NTR}}. După administrarea intracerebroventriculară de D3 la șoarecii cu tulburare cognitivă, am remarcat o creștere marcată a numărului de butoni presinaptici colinergici în cortexul cerebral al acestora. Mai mult, tratamentul cu D3 timp de două săptămâni a fost capabil, la o mică parte dintre cei 344 șoarecii Fischer de 24 de luni, să inverseze deficitul de învățare spațială evidențiat prin testul „Morris water maze” (MWM, labirintul cu apă Morris, după Bruno și colab., publicat).

Rezultate contradictorii ar putea reieși și din faptul că indivizii vârstnici reprezintă un grup heterogen, cu grade diferite de tulburare cognitivă. Rezultatele noastre preliminare arată că separarea animalelor bătrâne în grupuri cu și fără tulburare de memorie evidențiază diferențe posibil dramatice în ceea ce privește elementele sinaptice la cele două grupuri. Mai mult, cercetările noastre nu doar indică un grad diferit de atrofile la nivelul sinapselor între cele două grupuri de animale bătrâne dar, de asemenea, și poate chiar mai important, un grad diferit de atrofile a sistemelor de neurotransmițători (colinergic vs. non-colinergic și excitator vs. inhibitor), deci o schimbare în balanța impulsurilor către anumite populații celulare, ce poate constitui un factor semnificativ pentru afectarea cognitivă la vârstnici.

Întrebarea care rămâne este dacă atrofia sistemului colinergic survenită cu înaintarea în vârstă este un fenomen universal sau este mai pronunțată sau selectivă la animalele cu tulburări legate de vârstă. Noi am emis ipoteza că deteriorarea structurală severă a sinapselor colinergice corticale înclină în sens negativ balanța funcției transmițătorilor SNC, ducând la tulburări cognitive legate de vârstă.

Concluzii

Cercetătorii noștri au evidențiat că, odată cu vârsta, survine o atrofile importantă a neuronilor piramidali mari. Mai mult, că există o corelație strânsă între această reducere a impulsurilor presinaptice și neuronii piramidali, caracterizați morfologic și electrofiziologic printr-un curent sinaptic (inhibitor și excitator) TTX insensibil.

În continuare, am demonstrat că în cortexul cerebral apare o activitate sinaptică compensatorie. Am remarcat și că majoritatea distrugerilor sinaptice apar în straturile corticale profunde și afectează preferențial impulsurile colinergice.

Butonii presinaptici colinergici se atașează în mare parte pe neuronii piramidali și suferă o atrofile legată de vârstă, la care se adaugă pierderea de contacte sinaptice. Aceste contacte sinaptice colinergice depind de secreția endogenă de NGF și pot fi salvate, la șoarecii bătrâni cu tulburări cognitive, prin administrarea de NGF sau derivate de NGF de origine exogenă.

Mulțumiri

Această lucrare a fost susținută prin burse CIHR (MOP-62735) și NIH (R01AG20529) pentru A.C.Cuello. Autorii doresc să recunoască contribuția la cercetarea originală ce stă la baza acestui articol adusă de Maria Antonietta Casu, Paolo Turrini, Uri Saragovi și Tak Pan Wing. De asemenea, autorii doresc să mulțumească lui Jean Emmanuel Tsang și lui Alan Forster pentru

supervizarea ilustrațiilor și lui Sid Parkinson pentru ajutorul dat în problemele editoriale.

Bibliografie

- Williams L.R., Rylett R.J., Ingram D.K., Joseph J.A., Moises H.C., Tang A.H., and Mervis R.F., NGF affects the cholinergic biochemistry and behaviour of aged rats. *Prog. Brain Res.* 1993; 98: 241-250.
- Rylett R.J. and Williams L.R., Role of neurotrophins in cholinergic-neurone function in the adult and aged CNS. *Trends Neurosci.* 1994; 17: 486-490.
- Michalek H., Fortuna S., and Pintor A., Age-related differences in brain choline acetyltransferase, cholinesterase and muscarinic receptor sites in two strains of rats. *Neurobiol. Aging* 1989; 10: 143-148.
- Meyer E.M., St Onge E., and Crews F.T., Effects of aging on rat cortical presynaptic cholinergic processes. *Neurobiol. Aging* 1984; 5: 315-317.
- Armstrong D.M., Hersh L.B., and Gage F.H., Morphologic alterations of cholinergic processes in the neocortex of aged rats. *Neurobiol. Aging* 1988; 9: 199-205.
- Fischer W., Chen K.S., Gage F.H., and Bjorklund A., Progressive decline in spatial learning and integrity of forebrain cholinergic neurons in rats during aging. *Neurobiol. Aging* 1992; 13: 9-23.
- Chen K.S., Masliah E., Mallory M., and Gage F.H., Synaptic loss in cognitively impaired aged rats is ameliorated by chronic human nerve growth factor infusion. *Neuroscience* 1995; 68: 19-27.
- Bigl V., Arendt T., Fischer S., Fischer S., Werner M., and Arendt A., The cholinergic system in aging. *Gerontology* 1987; 33: 172-180.
- Smith D.E., Roberts J., Gage F.H., and Tuszyński M.H., Age-associated neuronal atrophy occurs in the primate brain and is reversible by growth factor gene therapy. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1999; 96: 10893-10898.
- Brody H., Organization of the cerebral cortex. III. A study of aging in the human cerebral cortex. *J. Comp Neurol.* 1955; 102: 511-516.
- Dekaban A.S., Changes in brain weights during the span of human life: relation of brain weights to body heights and body weights. *Ann. Neurol.* 1978; 4: 345-356.
- Matsumae M., Kikinis R., Morocz I.A., Lorenzo A.V., Sandor T., Albert M.S., Black P.M., and Jolesz F.A., Age-related changes in intracranial compartment volumes in normal adults assessed by magnetic resonance imaging. *J. Neurosurg.* 1996; 84: 982-991.
- Raz N., Briggs S.D., Marks W., and Acker J.D., Age-related deficits in generation and manipulation of mental images: II. The role of dorsolateral prefrontal cortex. *Psychol. Aging* 1999; 14: 436-444.
- Raz N., Gunning-Dixon F.M., Head D., Dupuis J.H., and Acker J.D., Neuroanatomical correlates of cognitive aging: evidence from structural magnetic resonance imaging. *Neuropsychology.* 1998; 12: 95-114.
- Henderson G., Tomlinson B.E., and Gibson P.H., Cell counts in human cerebral cortex in normal adults throughout life using an image analysing computer. *J. Neurol. Sci.* 1980; 46: 113-136.
- Terry R.D., DeTeresa R., and Hansen L.A., Neocortical cell counts in normal human adult aging. *Ann. Neurol.* 1987; 21: 530-539.
- Brody H., Aging of the vertebrate brain. In: Rockstein M. and Sussman H.M., eds, *Development and aging in the nervous system.* New York: Academic Press, 1973: pp. 121-133.
- DeKosky S.T. and Bass N.H., Effects of aging and senile dementia on the microchemical pathology of human cerebral cortex. In: Amaducci L., Davison A.N., and Antuono P., eds, *Aging.* New York: Raven Press, 1980: pp. 33-37.
- Haug H., Knebel G., Mecke E., Orun C., and Sass N.L., The aging of cortical cytoarchitectonics in the light of stereological investigations. *Prog. Clin. Biol. Res.* 1981; 59B: 193-197.
- Haug H. and Eggers R., Morphometry of the human cortex cerebri and corpus striatum during aging. *Neurobiol. Aging* 1991; 12: 336-338.
- Peters A., The absence of significant neuronal loss from cerebral cortex with age. *Neurobiol. Aging* 1993; 14: 657-658.
- Gomez-Isla T., Price J.L., McKeel D.W., Jr., Morris J.C., Growdon J.H., and Hyman B.T., Profound loss of layer II entorhinal cortex neurons occurs in very mild Alzheimer's disease. *J. Neurosci.* 1996; 16: 4491-4500.
- Brizzee K.R., Sherwood N., and Timiras P.S., A comparison of cell populations at various depth levels in cerebral cortex of young adult and aged Long-Evans rats. *J. Gerontol.* 1968; 23: 289-297.
- Wong T.P., Marchese G., Casu M.A., Ribeiro-da-Silva A., Cuello A.C., and De Koninck Y., Loss of presynaptic and postsynaptic structures is accompanied by compensatory increase in action potential-dependent synaptic input to layer V neocortical pyramidal neurons in aged rats. *J. Neurosci.* 2000; 20: 8596-8606.
- Cuello A.C. and Sofroniew M.V., The anatomy of CNS cholinergic neurons. *Trends Neurosci.* 1984; 7: 74-78.
- Mungai J.M., Dendritic patterns in the somatic sensory cortex of the cat. *J. Anat.* 1967; 101: 403-418.
- Sholl D.A., The surface area of cortical neurons. *J. Anat.* 1955; 89: 571-572.
- DeFelipe J. and Farinas I., The pyramidal neuron of the cerebral cortex: morphological and chemical characteristics of the synaptic inputs. *Prog. Neurobiol.* 1992; 39: 563-607.
- White E.L., *Cortical circuits: synaptic organization of the cerebral cortex — structure, function and theory.* Boston: Birkhauser, 1989.
- Jones E.G., Laminar distribution of cortical efferent cells. In: Peters A. and Jones E.G., eds, *Cerebral cortex.* New York: Plenum Press, 1984: pp. 521-533.
- Scheibel M.E., Lindsay R.D., Tomiyasu U., and Scheibel A.B., Progressive dendritic changes in aging human cortex. *Exp. Neurol.* 1975; 47: 392-403.
- Scheibel M.E., Tomiyasu U., and Scheibel A.B., The aging human Betz cell. *Exp. Neurol.* 1977; 56: 598-609.
- Anderson B. and Rutledge V., Age and hemisphere effects on dendritic structure. *Brain* 1996; 119 (Pt 6): 1983-1990.
- Mervis R., Structural alterations in neurons of aged canine neocortex: a Golgi study. *Exp. Neurol.* 1978; 62: 417-432.
- Cupp C.J. and Uemura E., Age-related changes in prefrontal cortex of Macaca mulatta: quantitative analysis of dendritic branching patterns. *Exp. Neurol.* 1980; 69: 143-163.
- Jacobs B. and Scheibel A.B., A quantitative dendritic analysis of Wernicke's area in humans. I. Lifespan changes. *J. Comp Neurol.* 1993; 327: 83-96.
- Leuba G., Aging of dendrites in the cerebral cortex of the mouse. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 1983; 9: 467-475.
- Vaughan D.W., Age-related deterioration of pyramidal cell basal dendrites in rat auditory cortex. *J. Comp Neurol.* 1977; 171: 501-515.
- Feldman M.L., Dendritic changes in aging rat brain: pyramidal cell dendrite length and ultrastructure. In: Nandy K. and Sherwin I., eds, *The Aging Brain and Senile Dementia.* New York: Plenum Press, 1977: pp. 23-37.
- Coleman P.D. and Flood D.G., Net dendritic stability of layer II pyramidal neurons in F344 rat entorhinal cortex from 12 to 37 months. *Neurobiol. Aging* 1991; 12: 535-541.
- Jacobs B., Driscoll L., and Schall M., Lifespan dendritic and spine changes in areas 10 and 18 of human cortex: a quantitative Golgi study. *J. Comp Neurol.* 1997; 386: 661-680.
- Mervis R.F., Pope D., Lewis R., Dvorak R.M., and Williams L.R., Exogenous nerve growth factor reverses age-related structural changes in neocortical neurons in the aging rat. A quantitative Golgi study. *Ann. NY Acad. Sci.* 1991; 640: 95-101.
- Sholl D.A., The organization of the visual cortex in the cat. *J. Anat.* 1955; 89: 33-46.
- Adams I. and Jones D.G., Quantitative ultrastructural changes in rat cortical synapses during early-, mid- and late-adulthood. *Brain Res.* 1982; 239: 349-363.
- Zecevic N., Bourgeois J.P., and Rakic P., Changes in synaptic density in motor cortex of rhesus monkey during fetal and postnatal life. *Brain Res. Dev. Brain Res.* 1989; 50: 11-32.
- Adams I., Comparison of synaptic changes in the precentral and postcentral cerebral cortex of aging humans: a quantitative ultrastructural study. *Neurobiol. Aging* 1987; 8: 203-212.
- Huttenlocher P.R., Synaptic density in human frontal cortex - developmental changes and effects of aging. *Brain Res.* 1979; 163: 195-205.
- Geinisman Y., Toledo-Morrell L., Morrell F., Persina I.S., and Rossi M., Age-related loss of axospinous synapses formed by two afferent systems in the rat dentate gyrus as revealed by the unbiased stereological disector technique. *Hippocampus* 1992; 2: 437-444.
- Lolova I., Lolov V., Itsev D., and Petkov V.D., Changes in the synapses in the parietal cortex of senescent rats. *Acta Physiol Pharmacol. Bulg.* 1990; 16: 42-49.
- Adams I., Plasticity of the synaptic contact zone following loss of synapses in the cerebral cortex of aging humans. *Brain Res.* 1987; 424: 343-351.
- Bertoni-Freddari C., Giuli C., Pieri C., and Paci D., Age-related morphological rearrangements of synaptic junctions in the rat cerebellum and hippocampus. *Arch. Gerontol. Geriatr.* 1986; 5: 297-304.
- Bertoni-Freddari C., Fattoretti P., Paoloni R., Caselli U., Galeazzi L., and Meier-Ruge W., Synaptic structural dynamics and aging. *Gerontology* 1996; 42: 170-180.
- Markus E.J. and Petit T.L., Neocortical synaptogenesis, aging, and behavior: lifespan development in the motor-sensory system of the rat. *Exp. Neurol.* 1987; 96: 262-278.
- Bourgeois J.P. and Rakic P., Changes of synaptic density in the primary visual cortex of the macaque monkey from fetal to adult stage. *J. Neurosci.* 1993; 13: 2801-2820.
- Wong T.P., Campbell P.M., Ribeiro-da-Silva A., and Cuello A.C., Synaptic numbers across cortical laminae and cognitive performance of the rat during ageing. *Neuroscience* 1998; 84: 403-412.
- de Brabander J.M., Kramers R.J., and Uylings H.B., Layer-specific dendritic regression of pyramidal cells with ageing in the human prefrontal cortex. *Eur. J. Neurosci.* 1998; 10: 1261-1269.
- Leenders K.L., Perani D., Lammertsma A.A., Heather J.D., Buckingham P., Healy M.J., Gibbs J.M., Wise R.J., Hatazawa J., Herold S., and , Cerebral blood flow, blood volume and oxygen utilization. Normal values and effect of age. *Brain* 1990; 113 (Pt 1): 27-47.
- Gur R.C., Gur R.E., Obrist W.D., Skolnick B.E., and Reivich M., Age and regional cerebral blood flow at rest and during cognitive activity. *Arch. Gen. Psychiatry* 1987; 44: 617-621.
- Melamed E., Lavy S., Bentin S., Cooper G., and Rinot Y., Reduction in regional cerebral blood flow during normal aging in man. *Stroke* 1980; 11: 31-35.
- Shaw T.G., Mortel K.F., Meyer J.S., Rogers R.L., Hardenberg J., and Cutaia M.M., Cerebral blood flow changes in benign aging and cerebrovascular disease. *Neurology* 1984; 34: 855-862.
- Uchizono K., Characteristics of excitatory and inhibitory synapses in the central nervous system of the cat. *Nature* 1965; 207: 642-643.
- Gray E.G., Electron microscopy of excitatory and inhibitory synapses: a brief review. *Prog. Brain Res.* 1969; 31: 141-155.
- Stern W.C., Pugh W.W., and Morgane P.J., Single unit activity in frontal cortex and caudate nucleus of young and old rats. *Neurobiol. Aging* 1985; 6: 245-248.
- Roy D. and Singh R., Age-related change in the multiple unit activity of the rat brain parietal cortex and the effect of centropenoxone. *Exp. Gerontol.* 1988; 23: 161-174.
- Lamour Y., Dutar P., and Jobert A., Cerebral neocortical neurons in the aged rat: spontaneous activity, properties of pyramidal tract neurons and effect of acetylcholine and cholinergic drugs. *Neuroscience* 1985; 16: 835-844.
- Barnes C.A., Normal aging: regionally specific changes in hippocampal synaptic transmission. *Trends Neurosci.* 1994; 17: 13-18.
- Soltész I., Smetters D.K., and Mody I., Tonic inhibition originates from synapses close to the soma. *Neuron* 1995; 14: 1273-1283.
- Feldman M.L., Morphology of the neocortical pyramidal neuron. In: Peters A. and Jones E.G., eds, *Cerebral Cortex*, Vol. 1. Cellular Components of the Cerebral Cortex. New York: Plenum Press, 1984: pp. 123-200.
- Bartus R.T., Dean R.L., Pontecorvo M.J., and Flicker C., The cholinergic hypothesis: a historical overview, current perspective, and future directions. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1985; 444: 332-358.
- Hasselmo M.E., Neuromodulation: acetylcholine and memory consolidation. *Trends Cogn Sci.* 1999; 3: 351-359.
- McCormick D.A., Cholinergic and noradrenergic modulation of thalamocortical processing. *Trends Neurosci.* 1989; 12: 215-221.
- McCormick D.A., Neurotransmitter actions in the thalamus and cerebral cortex and their role in neuromodulation of thalamocortical activity. *Prog. Neurobiol.* 1992; 39: 337-388.
- Metherate R., Cox C.L., and Ashe J.H., Cellular bases of neocortical activation: modulation of neural oscillations by the nucleus basalis and endogenous acetylcholine. *J. Neurosci.* 1992; 12: 4701-4711.
- Olton D., Markowska A., Voytko M.L., Givens B., Gorman L., and Wenk G., Basal forebrain cholinergic system: A functional analysis. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1991; 295: 353-372.
- Voytko M.L., Olton D.S., Richardson R.T., Gorman L.K., Tobin J.R., and Price D.L., Basal forebrain lesions in monkeys disrupt attention but not learning and memory. *J. Neurosci.* 1994; 14: 167-186.
- Fibiger H.C., The organization and some projections of cholinergic neurons of the mammalian forebrain. *Brain Res. Rev.* 1982; 4: 327-388.
- Mesulam M.-M., Mufson E.J., Levey A.I., and Wainer B.H., Cholinergic innervation of cortex by the basal forebrain: cytochemistry and cortical connections of the septal area, diagonal band nuclei, nucleus basalis (substantia innominata), and hypothalamus in the rhesus monkey. *J. Comp. Neurol.* 1983; 214: 170-197.
- Eckenstein F. and Baughman R.W., Two types of cholinergic innervation in cortex, one co-localized with vasoactive intestinal polypeptide. *Nature* 1983; 309: 153-155.
- Houser C.R., Crawford G.D., Salvaterra P.M., and Vaughn J.E., Immunocytochemical localization of choline acetyltransferase in rat cerebral cortex: A study of cholinergic neurons and synapses. *J. Comp. Neurol.* 1985; 234: 17-34.
- Davies P. and Maloney A.J.F., Selective loss of central cholinergic neurons in Alzheimer's disease. *Lancet* 1976; 2 (8000): 1403.
- Bowen D.M., Smith C.B., White P., and Davison A.N., Neurotransmitter related enzymes and indices of hypoxia in senile dementia and other abiotrophies. *Brain* 1976; 99: 459-496.
- Bartus R.T., Dean R.L., Beer B., and Lippa A.S., The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science* 1982; 217: 408-417.
- Whitehouse P.J., Price D.L., Clark A.W., Coyle J.T., and DeLong M.R., Alzheimer disease: evidence for selective loss of cholinergic neurons in the nucleus basalis. *Ann. Neurol.* 1981; 10: 122-126.
- Whitehouse P.J., Price D.L., Struble R.G., Clark A.W., Coyle J.T., and DeLong M.R., Alzheimer's disease and senile dementia: loss of neurons in the basal forebrain. *Science* 1982; 215: 1237-1239.
- Coyle J.T., Price D.L., and DeLong M.R., Alzheimer's disease: a disorder of cortical cholinergic innervation. *Science* 1983; 219: 1184-1190.
- McGeer P.L., McGeer E.G., Suzuki J., Dolman C.E., and Nagai T., Aging, Alzheimer's disease, and the cholinergic system of the basal forebrain. *Neurology* 1984; 34: 741-745.
- Sparks D.L., Hunsaker J.C., III, Slevin J.T., DeKosky S.T., Kryscio R.J., and Markesbery W.R., Monoaminergic and cholinergic synaptic markers in the nucleus basalis of Meynert (nbM): Normal age-related changes and the effect of heart disease and Alzheimer's disease. *Ann. Neurol.* 1992; 31: 611-620.
- Etienne P., Robitaille Y., Wood P., Gauthier S., Nair N.P., and Quirion R., Nucleus basalis neuronal loss, neuritic plaques and choline acetyltransferase activity in advanced Alzheimer's disease. *Neuroscience* 1986; 19: 1279-1291.
- Fischer W., Bjorklund A., Chen K., and Gage F.H., NGF improves spatial memory in aged rodents as a function of age. *J. Neurosci.* 1991; 11: 1889-1906.
- Marchese G., Wong T. P., Ribeiro-da-Silva, A., and Cuello, A. C., *Age-related depletion of cholinergic synapses in the rat cerebral cortex.* Society for Neuroscience abstracts. 1998; 24: 1493.
- Kilgard M.P. and Merzenich M.M., Cortical map reorganization enabled by nucleus basalis activity. *Science* 1998; 279: 1714-1718.
- Feldberg W., The chemical transmitter at synapses in a sympathetic ganglion. *J. Physiol* 1976; 263: 89P-91P.
- Feldberg W., Recent views on the mode of action of acetylcholine in the central nervous system. *Physiol. Rev.* 1945; 25: 596-542.
- Vogt M., Physiological aspects of cholinergic and monoaminergic neurones. *J. Physiol* 1969; 201: 3P.
- Eckenstein F., Barde Y.A., and Thoenen H., Production of specific antibodies to choline acetyltransferase purified from pig brain. *Neuroscience* 1981; 6: 993-1000.
- Sofroniew M.V., Eckenstein F., Thoenen H., and Cuello A.C., Topography of choline

- acetyltransferase-containing neurons in the forebrain of the rat. *Neurosci. Lett.* 1982; 33: 7-12.
97. McCormick D.A., Cellular mechanisms underlying cholinergic and noradrenergic modulation of neuronal firing mode in the cat and guinea pig dorsal lateral geniculate nucleus. *J. Neurosci.* 1992; 12: 278-289.
 98. Krnjevic K., Central cholinergic mechanisms and function. *Prog. Brain Res.* 1993; 98: 285-292.
 99. Descarries L., The hypothesis of an ambient level of acetylcholine in the central nervous system. *J. Physiol Paris* 1998; 92: 215-220.
 100. Descarries L., Gisiger V., and Steriade M., Diffuse transmission by acetylcholine in the CNS. *Prog. Neurobiol.* 1997; 53: 603-625.
 101. Mechawar N., Cozzari C., and Descarries L., Cholinergic innervation in adult rat cerebral cortex: a quantitative immunocytochemical description. *J. Comp Neurol.* 2000; 428: 305-318.
 102. Jansson A., Tinner B., Bancila M., Verge D., Steinbusch H.W., Agnati L.F., and Fuxe K., Relationships of 5-hydroxytryptamine immunoreactive terminal-like varicosities to 5-hydroxytryptamine-2A receptor immuno-reactive neuronal processes in the rat forebrain. *J. Chem. Neuroanat.* 2001; 22: 185-203.
 103. Zoli M., Torri C., Ferrari R., Jansson A., Zini I., Fuxe K., and Agnati L.F., The emergence of the volume transmission concept. *Brain Res. Rev.* 1998; 26: 136-147.
 104. Agnati L.F., Zoli M., Stromberg I., and Fuxe K., Intercellular communication in the brain: wiring versus volume transmission. *Neuroscience* 1995; 69: 711-726.
 105. Turrini P., Casu M.A., Wong T.P., De Koninck Y., Ribeiro-da-Silva A., and Cuello A.C., Cholinergic nerve terminals establish classical synapses in the rat cerebral cortex: synaptic pattern and age-related atrophy. *Neuroscience* 2001; 105: 277-285.
 106. Mesulam M.-M., Mufson E.J., Wainer B.H., and Levey A.I., Central cholinergic pathways in the rat: an overview based on an alternative nomenclature (Ch1-Ch6). *Neuroscience* 1983; 10: 1185-1201.
 107. Casu M.A., Wong T.P., De Koninck Y., Ribeiro-da-Silva A., and Cuello A.C., Aging causes a preferential loss of cholinergic innervation of characterized neocortical pyramidal neurons. *Cereb. Cortex* 2002; 12: 329-337.
 108. Davies P. and Maloney A., A selective loss of central cholinergic neurons in Alzheimer's disease. *Lancet* 1976; 2: 1403.
 109. Alberch J., Pérez-Navarro E., Arenas E., and Marsal J., Involvement of nerve growth factor and its receptor in the regulation of the cholinergic function in aged rats. *J. Neurochem.* 1991; 57: 1483-1487.
 110. Henriksson B.G., Soderstrom S., Gower A.J., Ebendal T., Winblad B., and Mohammed A.H., Hippocampal nerve growth factor levels are related to spatial learning ability in aged rats. *Behav. Brain Res.* 1992; 48: 15-20.
 111. Kato-Semba R., Semba R., Takeuchi I.K., and Kato K., Age-related changes in levels of brain-derived neurotrophic factor in selected brain regions of rats, normal mice and senescence-accelerated mice: a comparison to those of nerve growth factor and neurotrophin-3. *Neurosci. Res.* 1998; 31: 227-234.
 112. Larkfors L., Ebendal T., Whittemore S.R., Persson H., Hoffer B., and Olson L., Decreased level of nerve growth factor (NGF) and its messenger RNA in the aged rat brain. *Brain Res.* 1987; 427: 55-60.
 113. Larkfors L., Ebendal T., Whittemore S.R., Persson H., Hoffer B., and Olson L., Developmental appearance of nerve growth factor in the rat brain: significant deficits in the aged forebrain. *Prog. Brain Res.* 1988; 78: 27-31.
 114. Hellweg R., Fischer W., Hock C., Gage F.H., Björklund A., and Thoenen H., Nerve growth factor levels and choline acetyltransferase activity in the brain of aged rats with spatial memory impairments. *Brain Res.* 1990; 537: 123-130.
 115. Jette N., Cole M.S., and Fahnestock M., NGF mRNA is not decreased in frontal cortex from Alzheimer's disease patients. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 1994; 25: 242-250.
 116. Fahnestock M., Scott S.A., Jette N., Weingartner J.A., and Crutcher K.A., Nerve growth factor mRNA and protein levels measured in the same tissue from normal and Alzheimer's disease parietal cortex. *Brain Res Mol Brain Res* 1996; 42: 175-178.
 117. Hock C., Heese K., Hulette C., Rosenberg C., and Otten U., Region-specific neurotrophin imbalances in Alzheimer disease: decreased levels of brain-derived neurotrophic factor and increased levels of nerve growth factor in hippocampus and cortical areas. *Arch. Neurol.* 2000; 57: 846-851.
 118. Hock C., Heese K., Muller-Spahn F., Hulette C., Rosenberg C., and Otten U., Decreased trkA neurotrophin receptor expression in the parietal cortex of patients with Alzheimer's disease. *Neurosci. Lett.* 1998; 241: 151-154.
 119. Fahnestock M., Michalski B., Xu B., and Coughlin M.D., The precursor pro-nerve growth factor is the predominant form of nerve growth factor in brain and is increased in Alzheimer's disease. *Mol. Cell Neurosci.* 2001; 18: 210-220.
 120. Pearson R.C., Sofroniew M.V., Cuello A.C., Powell T.P., Eckenstein F., Esiri M.M., and Wilcock G.K., Persistence of cholinergic neurons in the basal nucleus in a brain with senile dementia of the Alzheimer's type demonstrated by immunohistochemical staining for choline acetyltransferase. *Brain Res.* 1983; 289: 375-379.
 121. Scott S.A., Mufson E.J., Weingartner J.A., Skau K.A., and Crutcher K.A., Nerve growth factor in alzheimer's disease - increased levels throughout the brain coupled with declines in nucleus basalis. *J. Neurosci.* 1995; 15: 6213-6221.
 122. Siegel G.J. and Chauhan N.B., Neurotrophic factors in Alzheimer's and Parkinson's disease brain. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 2000; 33: 199-227.
 123. De Lacalle S., Cooper J.D., Svendsen C.N., Dunnett S.B., and Sofroniew M.V., Reduced retrograde labelling with fluorescent tracer accompanies neuronal atrophy of basal forebrain cholinergic neurons in aged rats. *Neuroscience* 1996; 75: 19-27.
 124. Mufson E.J., Conner J.M., and Kordower J.H., Nerve growth factor in Alzheimer's disease: Defective retrograde transport to nucleus basalis. *NeuroReport* 1995; 6: 1063-1066.
 125. Mufson E.J., Kroin J.S., Sendera T.J., and Sobreviela T., Distribution and retrograde transport of trophic factors in the central nervous system: functional implications for the treatment of neurodegenerative diseases. *Prog. Neurobiol.* 1999; 57: 451-484.
 126. Cooper J.D., Lindholm D., and Sofroniew M.V., Reduced transport of [125I]nerve growth factor by cholinergic neurons and down-regulated TrkA expression in the medial septum of aged rats. *Neuroscience* 1994; 62: 625-629.
 127. Mufson E.J., Lavine N., Jaffar S., Kordower J.H., Quirion R., and Saragovi H.U., Reduction in p140-TrkA receptor protein within the nucleus basalis and cortex in Alzheimer's disease. *Exp. Neurol.* 1997; 146: 91-103.
 128. Figueiredo B.C., Pluss K., Skup M., Otten U., and Cuello A.C., Acidic FGF induces and its mRNA in the injured neocortex of adult animals. *Mol Brain Res* 1995; 33: 1-6.
 129. Venero J.L., Knüsel B., Beck K.D., and Hefti F., Expression of neurotrophin and trk receptor genes in adult rats with fimbria transections: Effect of intraventricular nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor administration. *Neuroscience* 1994; 59: 797-815.
 130. Figueiredo B.C., Skup M., Bedard A.M., Tetzlaff W., and Cuello A.C., Differential expression of p140trk, p75NGFR and growth-associated phosphoprotein-43 genes in nucleus basalis magnocellularis, thalamus and adjacent cortex following neocortical infarction and nerve growth factor treatment. *Neuroscience* 1995; 68: 29-45.
 131. Debeir T., Saragovi H.U., and Cuello A.C., A nerve growth factor mimetic TrkA antagonist causes withdrawal of cortical cholinergic boutons in the adult rat. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 1999; 96: 4067-4072.
 132. Debeir T., Saragovi H.U., and Cuello A.C., TrkA antagonists decrease NGF-induced ChAT activity in vitro and modulate cholinergic synaptic number in vivo. *J. Physiol. (Paris)* 1998; 92: 205-208.
 133. Maliartchouk S., Feng Y., Ivanisevic L., Debeir T., Cuello A.C., Burgess K., and Saragovi H.U., A designed peptidomimetic agonistic ligand of TrkA nerve growth factor receptors. *Mol. Pharmacol.* 2000; 57: 385-391.

Boala Alzheimer: o tauopatie reală alimentată de disfuncția APP

Nicolas Sergeant, M.D.#, André Delacourte, M.D.
INSERM U422, VCDN, Proteomic Group, Lille, France.

Rezumat

La ora actuală, cauza inițială a procesului de neurodegenerescență din boala Alzheimer (BA) este, încă, un subiect de dezbatere. Au fost luate în discuție mai multe ipoteze, inclusiv neurotoxicitatea extracelulară a A β sau a oligomerilor, neurotoxicitatea intracelulară sau un deficit al funcției APP. Oricum, ipoteza cascadei amiloide reprezintă cea mai importantă tendință în cercetările din ultima decadă, considerând patologia tau ca o posibilă consecință tardivă. Ne-am propus o investigație biochimică spațiotemporală a patologiei tau la pacienți vârstnici fără demență, într-o abordare prospectivă și multidisciplinară ce coroborează descoperirile neuropatologice. Într-adevăr, patologia tau se extinde progresiv, invariabil, ierarhic, de la cortexul transentorhinal spre tot neocortexul, de-a lungul conexiunilor cortico-corticale. Am demonstrat că patologia tau evoluează în paralel cu depunerea de A β , uneori fiind prezentă chiar în absența depozitelor de A β . Faptul că patologia tau este un fenomen ce se propagă de la neuron la neuron, și că implicarea neocorticală apare întotdeauna în asociere cu depozitele de A β demonstrează că (1) BA este o tauopatie reală (2) Există o sinergie între amiloidoză și tauopatie (3) Transformarea precoce și scăderea fragmentelor APP carboxi-terminale (APP-CTF), în paralel cu patologia tau, vin în favoarea disfuncției APP ca o cauză centrală a BA. O explicație posibilă ar fi scăderea activităților trofice ale APP-CTF, ce duce la extinderea patologiei tau. Cealaltă ipoteză susține un efect neurotoxic al speciilor de A β amino-truncate, care se agregă înainte de finalizarea sintezei lanțului A β de lungime completă.

Boala Alzheimer: asocierea a două procese degenerative

Chiar de la începutul secolului trecut, s-a cristalizat ideea că BA se caracterizează prin prezența a două trăsături neuropatologice tipice, adică depozitele de amiloid și aglomerările neurofibrilare¹. Aceste leziuni sunt distribuite în tot cortexul neuropatologic². Substratul molecular al acestor leziuni patologice a fost descoperit la jumătatea anilor 1980.

S-a demonstrat că depozitele extracelulare de amiloid se formează

prin agregarea unor peptide de mici dimensiuni denumite beta-amiloid (β A4 sau A β)³. Peptidul A β apare în urma catabolismului complex al unui precursor mai voluminos numit proteina precursoră a amiloidului (Amyloid Precursor Protein, APP)⁴.

S-a dovedit că structurile fibrilare intraneuronale patologice ce constituie aglomerările neurofibrilare rezultă prin agregarea unor proteine anormale, tau microtubul- asociate modificate⁵⁻¹⁰.

Într-adevăr, aceste două tipuri de molecule nu sunt înrudite și, din punct de vedere patogen, BA poate fi considerată o asociere a două procese neurodegenerative independente, reprezentate de tau

patologic și APP patologic, a căror relație patofiziologică rămâne a fi stabilită.

2. Etiologia bolii Alzheimer

Marea majoritate a cazurilor de BA apar izolate în populație, așa numita BA „sporadică”. Un număr restrâns de familii suferă de o formă moștenită de BA (FAD, Familial Alzheimer Disease), în cazul cărora au fost descoperite mutații la nivelul genelor APP și presenilinei¹¹. În consecință, de la descoperirea mutațiilor și a relațiilor lor directe cu procesul fiziopatologic centrat pe amiloid, a fost enunțată “ipoteza cascadei

amiloidă”, ipoteză ce conduce majoritatea cercetărilor actuale și strategiilor terapeutice în BA^{12,13}. Această ipoteză susține că mutațiile amplifică producția de peptid Aβ-42 înalt fibrilogen, ce se agregă în oligomeri și apoi plăci. În consecință, se presupune că oligomerii Aβ au efecte adverse neurotoxice și inflamatorii, inducând leziuni sinaptice și neuritice precum și activare astrocitară și microglială. Se desprinde astfel o legătură între procesul de amiloidogeneză și pașii inițiali pe calea degenerării neurofibrilare. Deși eforturile de cercetare au fost invers proporționale cu prevalența BA familiale, această ipoteză trebuie evaluată în cea mai frecventă formă de BA, cea sporadică.

3. Patologia tau se corelează cu expresia clinică a BA

Am studiat patologia tau folosind diverse metode biochimice pe eșantioane de creier uman provenind de la peste 60 de pacienți fără demență și 70 cu BA confirmată¹⁴. Toți indivizii au fost investigați clinic și neuropatologic atât în ceea ce privește depozitele de amiloid cât și aglomerările neurofibrilare. Acest studiu prospectiv a făcut posibilă clasificarea pacienților în funcție de distribuția patologiei tau în diferite arii corticale. Această clasificare cuprinde 10 stadii ce corespund progresiei secvențiale și invariabile a patologiei tau în 10 arii cerebrale afectate. Astfel, patologia tau poate fi observată mai întâi în formațiunile transentorhinale, entorhinale și în hipocamp (Stadiile S1-S3). Aceste regiuni cerebrale sunt interesate întotdeauna la indivizii în vârstă de peste 75 de ani. Structurile cerebrale neocortice vor fi afectate ulterior, începând cu cortexul temporal (Stadiile S4-S6) și apoi ariile corticale de asociere polimodală (Stadiile S7 și S8). Până la interesarea acelor regiuni, patologia tau rămâne silențioasă clinic. Mai mult, depozitele de amiloid nu sunt asociate sistematic cu patologia tau.

Ultima observație ar sugera că patologia tau nu este în mod necesar asociată cu patologia APP; deci, în absența unor mutații tau spontane sau transmise ereditar, mecanismul fiziopatologic responsabil pentru prezența și progresia acestei patologii rămâne necunoscut. Pe de altă parte, acest proces ar putea fi legat de îmbătrânirea cerebrală normală. Oricum, în baza acestei ipoteze, ar fi de așteptat ca la indivizii în vârstă patologia tau să fie mai extinsă decât la tineri. În lotul nostru de studiu, progresia patologiei tau nu s-a dovedit strâns legată de vârstă, în ciuda faptului că vârsta este în mod cert un factor de risc.

Declinul cognitiv se corelează cu progresia patologiei tau în ariile corticale de asociere polimodală și reprezintă pragul pentru demență. Patologia tau își continuă apoi progresia către ariile corticale primare vizuale și motorii (Stadiile 9 și 10). Rezultatele noastre sunt în acord cu studiile neuropatologice¹⁵⁻¹⁹ și arată că patologia tau urmează o progresie stereotipă, respectând anatomia creierului prin urmărirea conexiunilor cortico-corticele; este invariabilă și ierarhică, de-a lungul unor rețele neuronale^{14,20}.

4. Patologia APP se corelează cu progresia patologiei tau

4.1. Producții finali ai căii de sinteză a Aβ fragmentele APP carboxi-terminale

În prezent, cauza declanșatoare a BA are la bază descoperirea unor mutații la nivelul genelor APP și presenilinei. Cu toate acestea, nici o mutație sau chiar un polimorfism al genelor tau, APP sau presenilinei nu au fost asociate cu BAS²¹⁻²⁷. Cel mai important factor de risc este vârsta, urmat la mică distanță de polimorfismul genei ApoE^{28,29}.

Evenimentele inițiatorie ale BAS rămân deci în discuție. În BAS, metabolismul APP a fost puțin investigat. Astfel, cunoașterea în detaliu a progresiei patologiei tau la indivizii

din banca noastră de creiere și a corelației cu expresia APP și a produșilor săi catabolici ce duc, în final, la Aβ este de importantă majoră.

Producții de catabolism ai APP, așa-numitele fragmente carboxi-terminale (CTF) sau “resturi”, rezultă prin activitatea unor proteaze numite secretaze (pentru detalii, vezi Suh și Checler, 2002³⁰). Au fost identificate trei secretaze, și anume α, β și γ-secretaza. α-secretaza clivează APP la mijlocul secvenței Aβ (în poziția 17) și generează restul-α. Precursorul CTF al Aβ rezultă în urma acțiunii β-secretazei, ce eliberează capătul amino-terminal al Aβ. β-Secretaza poate cliva alternativ și în poziția 11 a Aβ ducând la restul-β'. APP-CTF β este procesat în continuare de către γ-secretază, rezultând peptidul Aβ și fragmente citosolice C57. Pentru a fi diferențiată de activitatea γ-secretazei ce duce la producția de Aβ, ε-secretaza (ce poate în mod evident procesa toate CTF-APP) eliberează domeniul citosolic al APP, așa-numitul AICD sau C51 (Domeniul intracelular al proteinei precursora a amiloidului)³¹.

În BA, depozitele de Aβ-42 sugerează că metabolismul APP este alterat iar CTF-APP ar trebui să fie modificate. Am studiat expresia CTF-APP atât la pacienți fără demență cât și la cei cu BA³². Am descoperit că CTF-APP scad semnificativ în cursul evoluției BA și, mai mult, scăderea CTF-APP s-a corelat cu progresia patologiei tau. În plus, în țesutul cerebral al indivizilor cu o formă moștenită de BA (în relație cu mutații ale presenilinei 1) s-a remarcat de asemenea a scădere a cantității de CTF-APP. Rezultatele noastre au arătat deci pentru prima dată o relație între procesele patologice tau și APP, relație observată încă din primele stadii ale BA.

4.2. Depunerea de amiloid se corelează cu patologia tau, dar fără o relație spațiotemporală

Scăderea CTF-APP ar trebui să se coreleze cu modificări ale produșilor

ulteriori, adică peptidele Aβ. Peptidele Aβ au fost investigate cantitativ și calitativ, folosind extracția în acid formic pur aplicată tuturor mostrelor din banca noastră de creiere. S-au efectuat mai multe analize imunologice și în plus o analiză proteomică. Speciile Aβ-42 și 40 insolubile au fost solubilizate complet și apoi cuantificate în principalele arii corticale²⁰. Cantitățile din ambele specii au fost comparate cu extensia patologiei tau, precum și cu gradul tulburării cognitive existente.

În BA există o constelație de fenotipuri în ceea ce privește amiloidul, de la cazuri cu Aβ-42 exclusiv agregat până la cazuri ce prezintă, în plus, mari cantități de Aβ-40 insolubil. Nu e mai puțin adevărat că Aβ-40 insolubil a fost detectat adesea tardiv în procesul depunerii amiloidului (începând cu stadiile tau 4-5). Am observat că nu există o suprapunere evidentă spațială și temporală în distribuția acestor două specii de Aβ insolubil în ariile cerebrale. Astfel, ariile cu Aβ-42 nu s-au asociat sistematic cu depunerea de Aβ-40 și mai mult, cantitățile de Aβ-40 măsurate nu au fost direct legate de cele de Aβ-42. Proprietățile fizice au fost de asemenea diferite. Agregatele de Aβ-40 solubilizate în acid formic erau compuse în principal din monomeri și dimeri, în timp ce Aβ-42 solubilizat era format în esență din monomeri, dimeri și oligomeri. Mai important, agregatele de Aβ-42 au fost observate încă din stadiile timpurii ale patologiei tau, la pacienții fără demență.

În ansamblu, a fost interesant de remarcat că în timpul progresiei bolii, agregatele de Aβ cresc atât cantitativ cât și în heterogenitate, în paralel cu extensia patologiei tau. Dar, în mod oarecum neașteptat, nu a existat o suprapunere spațială între agregatele Aβ (ce sunt larg și heterogen răspândite în ariile corticale) și patologia tau ce progresează secvențial, stereotip și ierarhic²⁰. Astfel, aceste observații demonstrează că agregarea Aβ-42 (și nu Aβ-40) este markerul cel mai apropiat

de etiologia BA. Ca urmare, metodele de diagnostic biologic precoce al BA ar trebui direcționate spre evidențierea acestui marker. Mai mult, nepotrivirea spațială între Aβ și patologia tau în regiunile corticale a fost evidentă. Mai întâi, ariile neocortice unde au loc primele sau cele mai importante depuneri de Aβ nu sunt întotdeauna aceleași. În general, cortexul occipital este mai predispus la formarea depozitelor de amiloid²⁰. Aceste depozite de Aβ-42 observate neuropatologic nu au fost legate de angiopatia amiloidă. Mai mult, regiunea occipitală este ultima afectată de patologia tau^{14,20}. Dimpotrivă, regiunea hipocampală afectată precoce de patologia tau nu reprezintă în mod deosebit o localizare țintă pentru depunerea de amiloid. Aceste observații confirmă descoperirile lui Braak și Braak^{15,16}. În ansamblu, această nepotrivire Aβ/tau demonstrează că neurodegeneresența nu este o consecință directă a neurotoxicității Aβ extracelular (considerând că toxicitatea sa este mediată prin corpul celular). Astfel, disfuncția APP potentează propagarea patologiei tau de la un neuron la altul. Această concluzie este demonstrată de faptul că patologia tau poate fi identificată în structurile hipocampale în absența depozitelor de Aβ³³. Nu mai puțin adevărat, diminuarea CTF-APP este probabil mai extinsă în diferite regiuni ale creierului, după cum s-a observat în cortexul temporal și occipital, susținând încă o dată relația între disfuncția APP și patologia tau³². În contrast, extensia patologiei tau în ariile de asociație polimodală este întotdeauna acompaniată de depozite de Aβ, ca și cum aceste specii, direct sau indirect, ar fi fost necesare pentru a stimula progresia patologiei tau³³.

4.3. Depunerea de amiloid pornește de la Aβ-42 aminotruncat

Depunerea de amiloid este pasul următor secreției de Aβ în BA. Mecanismele de agregare și depunere sunt incerte în BAS.

Observații recente sugerează că agregarea ar apărea în corpul celular sau Aβ ar fi secretat ca oligomeri³⁴⁻⁴⁶. De ce acești oligomeri apar doar în BA este o întrebare ce încă așteaptă răspuns. La nivel molecular, peptidul Aβ este un produs catabolic heterogen al APP ce variază în lungime atât în ceea ce privește capătul amino- cât și cel carboxi-terminal³⁷⁻⁴⁰. Ulterior, peptidul Aβ poate suferi mai multe transformări post-translaționale ulterioare, ca piroglutaminări, metilări, fosforilări, oxidări și îmbogățiri cu resturi izoaspartil^{37,41,42}. Toate aceste procese biochimice vor modifica proprietățile biologice ale Aβ atât în procesul de îmbătrânire cât și în cele patologice. Peptidele Aβ amino-truncate au fost adesea observate în BA constituită; s-a sugerat că potentează fibrilizarea amiloidă, depunerea de amiloid, toxicitatea și, în plus, că ar putea să anticipeze procesul de depunere în BAF^{40,43,44}. Truncarea în pozițiile 2 până la 19, inclusiv locurile de clivaj β' și α se regăsește în depozitele de amiloid la indivizii cu BA; a fost observată și în cazul speciilor Aβ-42³⁷. Oxidarea ce are loc la nivelul restului de metionină s-a sugerat recent că facilitează eliberarea Aβ de la nivelul membranei plasmatică⁴⁵. Pentru a fi relevante fiziopatologic pentru BA, truncarea sau alte modificări post-translaționale ar trebui să apară cât mai precoce în timpul progresiei BA, chiar înaintea simptomelor clinice.

Am adaptat electroforeza bidimensională în gel pentru studiul speciilor de agregate Aβ solubilizate în acid formic pur⁴⁶. Analiza agregatelor Aβ la indivizii cu BA complet constituită demonstrează acuratețea abordării noastre. Astfel, au fost observate majoritatea peptidelor Aβ truncate. Electroforeza bidimensională în gel cuplată cu un test de tip western blott a făcut posibilă cuantificarea fiecărei specii Aβ-42. În acest mod, am demonstrat că mai mult de 60% din Aβ-42 au fost amino-truncate începând cu poziția 2 până la 10 și piroglutamate în poziția 3, iar unele au fost oxidate

sau metilate⁴⁶.

Am folosit apoi metoda proteomică pentru caracterizarea A β -42 din depozitele de amiloid observate în stadiile preclinice de BA. Surprinzător, toate speciile de A β -42 amino-truncate au fost descoperite în cel mai precoce stadiu de BA și într-o proporție similară comparativ cu BA complet constituită. Dintre toate speciile amino-truncate, o atenție deosebită a fost acordată variantei piroglutamate în poziția 3. Această formă a fost observată în primele etape ale depunerii amiloidului în sindromul Down cu boală Alzheimer, precum și în BAF. S-a sugerat și că ar avea un efect neurotoxic mai intens⁴⁰. S-a arătat că și alte peptide A β amino-truncate sunt produse și secretate în modele celulare, sugerând astfel că truncarea nu survine neapărat după depunere⁴⁸⁻⁵¹.

Privite în ansamblu, datele noastre sugerează că speciile de A β -42 amino-truncate stau la baza depunerii de amiloid în BAS. Acest lucru este susținut și de faptul că în BAF aceste variante patologice de A β sunt crescute. În plus, se crede că potentează procesul depunerii amiloidului și, în consecință, anticiparea debutului⁴⁴. Pe lângă faptul că au fost identificate încă din 1985, importanța variantelor modificate de A β nu a fost foarte bine investigată. Studiile noastre recente pornite de la unele descoperiri anterioare evidențiază relevanța fiziopatologică a acestora în BA și potențialul lor rol în scop diagnostic și terapeutic.

5. BA este o tauopatie reală alimentată de disfuncția APP

În mare, cercetarea noastră prospectivă și multidisciplinară a istoriei naturale a bolii Alzheimer sporadice arată că BA este o tauopatie reală. Această observație concluzivă este argumentată prin faptul că în absența tauopatiei, BA nu poate fi explicată clinic, neuropatologic și molecular. Pentru a deveni manifestă clinic, tauopatia trebuie să fie prezentă, să progreseze în arii

corticale și să fie alimentată de mai mulți parametri. Astfel, tauopatiile stau la baza tuturor bolilor neurodegenerative în care funcțiile biologice ale proteinei tau sunt alterate. Mai mulți parametri pot modifica funcțiile tau, începând cu mutațiile genei tau (descoperite în demența fronto-temporală cu parkinsonism legată de cromozomul 17) până la loviturile repetate responsabile de demența pugilistică⁵². Astfel, patologia APP ar trebui considerată mai degrabă un factor adițional ce amplifică și potentează deja existentă tauopatie umană, din această asocieră rezultând răspândirea corticală dinamică a tauopatiei specifice BA.

Această ipoteză cu siguranță nu exclude faptul că patologia APP are o poziție centrală în etiologia BA. Spre deosebire de „ipoteza cascadei amiloide”, A β -42 nu poate fi considerat singurul inițiator al proceselor patologice din BA. Per ansamblu, scăderea APP-CTF și sinteza precoce de A β -42 amino-truncat sugerează o disfuncție timpurie a activității γ/ϵ -secretazelor. Scăderea APP-CTF a fost decrișă pe un model celular⁵³. Sinteza de A β amino-truncat în cantități crescute a fost observată în BAF cu mutații ale presenilinei⁴⁴ sau în modele celulare ce supraexprimă APP uman cu mutații în apropierea locului de clivaj al γ/ϵ -secretazelor⁵¹.

Recent, cercetarea unor modele animale (șoareci transgenici) a venit în sprijinul ipotezei că disfuncția APP potentează extensia patologiei tau^{53,54}. Dimpotrivă, la nici un model animal pentru amiloidoză nu au apărut aglomerările neurofibrilare tipice, de unde reiese clar că boala Alzheimer rezultă din asocierea a două procese degenerative distincte, patologicele tau și APP.

6. Posibilități diagnostice și terapeutice de perspectivă

6.1. Peptidele A β -42 amino-truncate în scop diagnostic

În lumina cercetărilor noastre multidisciplinare, confirmate de observațiile neuropatologice, instalarea manifestărilor clinice în boala Alzheimer

este deja un eveniment tardiv în evoluția bolii. Înainte de apariția tulburărilor cognitive, numeroase arii cerebrale sunt afectate de depunerea de amiloid și de patologia tau. Astfel, pentru un tratament precoce și adecvat al BA este necesar un diagnostic biologic precoce, specific și sensibil. Cei mai importanți markeri biologici pe care îi avem la dispoziție rămân proteina tau și A β . În ultimii ani, aplicabilitatea acestor markeri s-a lărgit semnificativ, un exemplu fiind detecția în lichidul cefalorahidian a fosfo-tau (pentru detalii vezi Blennow și Hampel, 2003⁵⁵). Pentru ameliorarea specificității diagnosticului BA, au fost introduse în practică metode de cuantificare a diverselor variante ale peptidului A β ^{56,57}. Astfel, raportul A β carboxi-terminal poate face diferența între BA și boala Creutzfeldt-Jacob⁵⁸. Creșterea peptidului A β amino-truncat în poziția 2 semnifică prezența BAS sau BAF. Rezultă că deja existentele kituri diagnostice ELISA sau EIA pot fi îmbunătățite odată cu înțelegerea mai aprofundată a variantelor A β și a implicării acestora în patogenia BA. Folosirea combinată a fosfo-tau și A β -42 ar asigura o creștere spectaculoasă a specificității diagnosticului biologic^{55,59,60}. Mai mult, un astfel de kit diagnostic ar fi util pentru excluderea altor boli neurodegenerative dar și pentru supravegherea evoluției sub tratament a indivizilor cu tulburare cognitivă.

Dacă se demonstrează eficiența unui astfel de kit este eficient, s-ar elimina necesitatea efectuării puncției lombare, împreună cu dezavantajele aferente. În același timp, dacă o astfel de metodă diagnostică s-ar dovedi suficient de eficientă pentru investigarea procesului degenerativ din BA, cu siguranță că neurologii o vor adopta, alături de evaluarea cognitivă.

6.2. Peptidele A β -42 amino-truncate în scop terapeutic

Inhibarea depunerii de A β și/sau producerii de A β constituie principalul obiectiv terapeutic în BA. Astfel, inhibitorii β -secretazei sau γ -secretazei

(calea proteolitică ce duce la producerea de A β), moleculele antiagregante („spărgători” ai stratului β), scăderea colesterolului seric, chelatorii pentru metale și imunizarea împotriva A β sunt principalele direcții în cercetarea terapeutică³⁰.

Imunizarea ce are ca scop eradicarea depozitelor cerebrale de A β a avut succes pe modele animale. La șoarecii transgenici la care s-a indus sinteza de plăci amiloide, imunizarea activă sau pasivă împotriva moleculelor de A β uman duce la reducerea depozitelor de amiloid și refacerea funcției cognitive⁶⁴⁻⁶⁶. La oameni, vaccinarea are ca rezultat sinteza de anticorpi împotriva depozitelor de amiloid, urmată de reducerea semnificativă a depozitelor de amiloid și, consecutiv, de reducerea declinului cognitiv la pacienții ce au dezvoltat anticorpi împotriva A β ^{67,68}. Aceste rezultate, deși obținute pe un lot restrâns, format din doar 30 de indivizi sunt, totuși, foarte promițătoare. Din păcate, acest studiu clinic a fost sistat deoarece un număr de indivizi vaccinați au dezvoltat encefalită inflamatorie, cu siguranță de cauză autoimună.

Pentru a elimina riscul de reacții autoimune, astfel ca vaccinul să devină o modalitate profilactică lipsită de riscuri majore, se impune selecționarea unui antigen legat strict de procesul patologic. O posibilă perspectivă ar fi deci identificarea produșilor A β ce sunt direct implicați în primele stadii ale depunerii de amiloid și care nu există la indivizii normali. Peptidele A β -42 amino-truncate respectă aceste condiții.

Din datele existente până în prezent, acestea nu au fost găsite la indivizii control și apar încă din primele stadii de BA, deci sunt legate direct de procesul patologic. Specificitatea acestora ar trebui confirmată în raport cu alte boli neurodegenerative, cum ar fi demența cu corpi Lewy. Însă rolul de marker molecular al A β -42 amino-truncat s-ar putea dovedi de o importanță excepțională pentru diagnostic și tratament.

Cercetarea recentă a imunogenității A β a arătat că regiunea amino-terminală a A β ar determina mai degrabă un răspuns umoral, în timp ce regiunea carboxi-terminală ar genera un răspuns din partea limfocitelor T, deci citotoxic⁶⁹. Imunizarea pasivă cu anticorpi specifici anti-A β -42 amino-truncat ar putea reduce riscul de reacții autoimune. La fel de bine, nu este exclus nici ca limfocitele T activate, fenotip Th2, să se dovedească eficiente în încercările de imunizare.

În concluzie, imunizarea anti-A β -42 amino-truncat ar putea fi benefică în mai multe privințe: o dată că este direcționată împotriva speciilor de A β implicate precoce în procesul amiloidogenetic din BA și apoi că, așa cum reiese din literatura de specialitate, secvențele țintite sunt capabile să genereze un răspuns umoral și, în ansamblu, riscul de reacții autoimune și efecte adverse citotoxice s-ar reduce considerabil.

Mulțumiri

Această lucrare a fost sprijinită de INSERM și Innogenetics (Ghent, Belgia), IMPRT din Lille și AFRT.

Bibliografie

1. Alzheimer, A., R.A. Stelzmann, H.N. Schnitzlein, and F.R. Murtagh, An English translation of Alzheimer's 1907 paper, "Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde". *Clin Anat*, 1995. 8(6): p. 429-31.
2. Hyman, B.T. and J.Q. Trojanowski, Consensus recommendations for the post-mortem diagnosis of Alzheimer disease from the National Institute on Aging and the Reagan Institute Working Group on diagnostic criteria for the neuropathological assessment of Alzheimer disease. *J Neuropathol Exp Neurol*, 1997. 56(10): p. 1095-7.
3. Glenner, G.G. and C.W. Wong, Alzheimer's disease: initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochem Biophys Res Commun*, 1984. 120(3): p. 885-90.
4. Kang, J., H.G. Lemaire, A. Unterbeck, J.M. Salbaum, C.L. Masters, K.H. Grzeschik, G. Multhaup, K. Beyreuther, and B. Muller-Hill, The precursor of Alzheimer's disease amyloid A4 protein resembles a cell-surface receptor. *Nature*, 1987. 325(6106): p. 733-6.
5. Brion, J.P., J. Flament-Durand, and P. Dustin, Alzheimer's disease and tau proteins. *Lancet*, 1986. 2(8515): p. 1098.

6. Delacourte, A. and A. Defossez, Alzheimer's disease: Tau proteins, the promoting factors of microtubule assembly, are major components of paired helical filaments. *J Neurol Sci*, 1986. 76(2-3): p. 173-86.
7. Grundke-Iqbal, I., K. Iqbal, M. Quinlan, Y.C. Tung, M.S. Zaidi, and H.M. Wisniewski, Microtubule-associated protein tau. A component of Alzheimer paired helical filaments. *J Biol Chem*, 1986. 261(13): p. 6084-9.
8. Ihara, Y., N. Nukina, R. Miura, and M. Ogawara, Phosphorylated tau protein is integrated into paired helical filaments in Alzheimer's disease. *J Biochem (Tokyo)*, 1986. 99(6): p. 1807-10.
9. Kosik, K.S., C.L. Joachim, and D.J. Selkoe, Microtubule-associated protein tau (tau) is a major antigenic component of paired helical filaments in Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1986. 83(11): p. 4044-8.
10. Nukina, N. and Y. Ihara, One of the antigenic determinants of paired helical filaments is related to tau protein. *J Biochem (Tokyo)*, 1986. 99(5): p. 1541-4.
11. Marechal, L., D. Campion, and D. Hannequin, [Familial forms of Alzheimer's disease]. *Presse Med*, 2003. 32(16): p. 756-63.
12. Hardy, J. and D.J. Selkoe, The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science*, 2002. 297(5580): p. 353-6.
13. Hardy, J.A. and G.A. Higgins, Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. *Science*, 1992. 256(5054): p. 184-5.
14. Delacourte, A., J.P. David, N. Sergeant, L. Buee, A. Wattez, P. Vermersch, F. Ghoozali, C. Fallet-Bianco, F. Pasquier, F. Lebert, H. Petit, and C. Di Menza, The biochemical pathway of neurofibrillary degeneration in aging and Alzheimer's disease. *Neurology*, 1999. 52(6): p. 1158-65.
15. Braak, H. and E. Braak, Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol (Berl)*, 1991. 82(4): p. 239-59.
16. Braak, H. and E. Braak, Staging of Alzheimer's disease-related neurofibrillary changes. *Neurobiol Aging*, 1995. 16(3): p. 271-8; discussion 278-84.
17. Duyckaerts, C., M.A. Colle, F. Dessi, Y. Grignon, F. Piette, and J.J. Hauw, The progression of the lesions in Alzheimer disease: insights from a prospective clinicopathological study. *J Neural Transm Suppl*, 1998. 53: p. 119-26.
18. Duyckaerts, C. and J.J. Hauw, Diagnosis and staging of Alzheimer disease. *Neurobiol Aging*, 1997. 18(4 Suppl): p. S33-42.
19. Mesulam, M.M., Neuroplasticity failure in Alzheimer's disease: bridging the gap between plaques and tangles. *Neuron*, 1999. 24(3): p. 521-9.
20. Delacourte, A., N. Sergeant, D. Champain, A. Wattez, C.A. Maurice, F. Lebert, F. Pasquier, and J.P. David, Nonoverlapping but synergetic tau and APP pathologies in sporadic Alzheimer's disease. *Neurology*, 2002. 59(3): p. 398-407.
21. Roks, G., B. Dermaut, P. Heutink, A. Julliams, H. Backhovens, M. Van de Broeck, S. Serneels, A. Hofman, C. Van Broeckhoven,

- C.M. van Duijn, and M. Cruts, Mutation screening of the tau gene in patients with early-onset Alzheimer's disease. *Neurosci Lett*, 1999. 277(2): p. 137-9.
22. Delacourte, A. and L. Buee, Tau pathology: a marker of neurodegenerative disorders. *Curr Opin Neurol*, 2000. 13(4): p. 371-6.
23. Crawford, F., M. Freeman, T. Town, D. Fallin, M. Gold, R. Duara, and M. Mullan, No genetic association between polymorphisms in the Tau gene and Alzheimer's disease in clinic or population based samples. *Neurosci Lett*, 1999. 266(3): p. 193-6.
24. Russ, C., J.F. Powell, J. Zhao, M. Baker, M. Hutton, F. Crawford, M. Mullan, G. Roks, M. Cruts, and S. Lovestone, The microtubule associated protein Tau gene and Alzheimer's disease-an association study and meta-analysis. *Neurosci Lett*, 2001. 314(1-2): p. 92-6.
25. Athan, E.S., J.H. Lee, A. Arriaga, R.P. Mayeux, and B. Tycko, Polymorphisms in the promoter of the human APP gene: functional evaluation and allele frequencies in Alzheimer disease. *Arch Neurol*, 2002. 59(11): p. 1793-9.
26. Rocchi, A., S. Pellegrini, G. Siciliano, and L. Murri, Causative and susceptibility genes for Alzheimer's disease: a review. *Brain Res Bull*, 2003. 61(1): p. 1-24.
27. Sorbi, S., B. Nacmias, A. Tedde, P. Forleo, S. Piacentini, S. Latorraca, and L. Amaducci, Presenilin-1 gene intronic polymorphism in sporadic and familial Alzheimer's disease. *Neurosci Lett*, 1997. 222(2): p. 132-4.
28. Lambert, J.C., J. Perez-Tur, M.J. Dupire, D. Galasko, D. Mann, P. Amouyel, J. Hardy, A. Delacourte, and M.C. Chartier-Harlin, Distortion of allelic expression of apolipoprotein E in Alzheimer's disease. *Hum Mol Genet*, 1997. 6(12): p. 2151-4.
29. Lambert, J.C., C. Berr, F. Pasquier, A. Delacourte, B. Frigard, D. Cottel, J. Perez-Tur, V. Mouroux, M. Mohr, D. Cecyre, D. Galasko, C. Lendon, J. Poirier, J. Hardy, D. Mann, P. Amouyel, and M.C. Chartier-Harlin, Pronounced impact of Th1/E47cs mutation compared with -491 AT mutation on neural APOE gene expression and risk of developing Alzheimer's disease. *Hum Mol Genet*, 1998. 7(9): p. 1511-6.
30. Suh, Y.H. and F. Checler, Amyloid precursor protein, presenilins, and alphasynuclein: molecular pathogenesis and pharmacological applications in Alzheimer's disease. *Pharmacol Rev*, 2002. 54(3): p. 469-525.
31. Chen, F., Y. Gu, H. Hasegawa, X. Ruan, S. Arawaka, P. Fraser, D. Westaway, H. Mount, and P. St George-Hyslop, Presenilin 1 mutations activate gamma 42-secretase but reciprocally inhibit epsilon-secretase cleavage of amyloid precursor protein (APP) and S3-cleavage of notch. *J Biol Chem*, 2002. 277(39): p. 36521-6.
32. Sergeant, N., J.P. David, D. Champain, A. Ghestem, A. Wattez, and A. Delacourte, Progressive decrease of amyloid precursor protein carboxy terminal fragments (APPCTFs), associated with tau pathology stages, in Alzheimer's disease. *J Neurochem*, 2002. 81(4): p. 663-72.
33. Delacourte, A., N. Sergeant, A. Wattez, C.A. Maurage, F. Lebert, F. Pasquier, and J.P. David, Tau aggregation in the hippocampal formation: an ageing or a pathological process? *Exp Gerontol*, 2002. 37(10-11): p. 1291-6.
34. Walsh, D.M., I. Klyubin, J.V. Fadeeva, W.K. Cullen, R. Anwyl, M.S. Wolfe, M.J. Rowan, and D.J. Selkoe, Naturally secreted oligomers of amyloid beta protein potently inhibit hippocampal long-term potentiation in vivo. *Nature*, 2002. 416(6880): p. 535-9.
35. Wirths, O., G. Multhaup, C. Czech, V. Blanchard, S. Moussaoui, G. Tremp, L. Pradier, K. Beyreuther, and T.A. Bayer, Intraneuronal Abeta accumulation precedes plaque formation in beta-amyloid precursor protein and presenilin-1 double-transgenic mice. *Neurosci Lett*, 2001. 306(1-2): p. 116-20.
36. Tabira, T., D.H. Chui, and S. Kuroda, Significance of intracellular Abeta42 accumulation in Alzheimer's disease. *Front Biosci*, 2002. 7: p. a44-9.
37. Kalback, W., M.D. Watson, T.A. Kokjohn, Y.M. Kuo, N. Weiss, D.C. Luehrs, J. Lopez, D. Brune, S.S. Sisodia, M. Staufenbiel, M. Emmerling, and A.E. Roher, APP transgenic mice Tg2576 accumulate Abeta peptides that are distinct from the chemically modified and insoluble peptides deposited in Alzheimer's disease senile plaques. *Biochemistry*, 2002. 41(3): p. 922-8.
38. Masters, C.L., G. Simms, N.A. Weinman, G. Multhaup, B.L. McDonald, and K. Beyreuther, Amyloid plaque core protein in Alzheimer disease and Down syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1985. 82(12): p. 4245-9.
39. Saido, T.C., W. Yamao-Harigaya, T. Iwatsubo, and S. Kawashima, Amino- and carboxyl-terminal heterogeneity of beta-amyloid peptides deposited in human brain. *Neurosci Lett*, 1996. 215(3): p. 173-6.
40. Russo, C., E. Violani, S. Salis, V. Venezia, V. Dolcini, G. Damonte, U. Benatti, C. D'Arrigo, E. Patrone, P. Carlo, and G. Schettini, Pyroglutamate-modified amyloid beta-peptides--AbetaN3(pE)--strongly affect cultured neuron and astrocyte survival. *J Neurochem*, 2002. 82(6): p. 1480-9.
41. Roher, A.E., J.D. Lowenson, S. Clarke, C. Wolkow, R. Wang, R.J. Cotter, I.M. Reardon, H.A. Zurcher-Neely, R.L. Heinrikson, M.J. Ball, and et al., Structural alterations in the peptide backbone of beta-amyloid core protein may account for its deposition and stability in Alzheimer's disease. *J Biol Chem*, 1993. 268(5): p. 3072-83.
42. Milton, N.G., Phosphorylation of amyloid-beta at the serine 26 residue by human cdc2 kinase. *Neuroreport*, 2001. 12(17): p. 3839-44.
43. Pike, C.J., M.J. Overman, and C.W. Cotman, Amino-terminal deletions enhance aggregation of beta-amyloid peptides in vitro. *J Biol Chem*, 1995. 270(41): p. 23895-8.
44. Russo, C., G. Schettini, T.C. Saido, C. Hulette, C. Lippa, L. Lannfelt, B. Ghetti, P. Gambetti, M. Tabaton, and J.K. Teller, Presenilin-1 mutations in Alzheimer's disease. *Nature*, 2000. 405(6786): p. 531-2.
45. Barnham, K.J., G.D. Ciccostoto, A.K. Tickler, F.E. Ali, D.G. Smith, N.A. Williams, Y.H. Lam, D. Carrington, D. Tew, G. Kocak, I. Volitakis, F. Separovic, C.J. Barrow, J.D. Wade, C.L. Masters, R.A. Cherny, C.C. Curtain, A.I. Bush, and R. Cappai, Neurotoxic, redox-competent Alzheimer's beta-amyloid is released from lipid membrane by methionine oxidation. *J Biol Chem*, 2003.
46. Sergeant, N., S. Bombois, A. Ghestem, H. Drobecq, V. Kostanjevecki, C. Missiaen, A. Wattez, J.P. David, E. Vanmechelen, C. Sergheraert, and A. Delacourte, Truncated beta-amyloid peptide species in pre-clinical Alzheimer's disease as new targets for the vaccination approach. *J Neurochem*, 2003. 85(6): p. 1581-1591.
47. Saido, T.C., T. Iwatsubo, D.M. Mann, H. Shimada, Y. Ihara, and S. Kawashima, Dominant and differential deposition of distinct beta-amyloid peptide species, A beta N3(pE), in senile plaques. *Neuron*, 1995. 14(2): p. 457-66.
48. Greenfield, J.P., J. Tsai, G.K. Gouras, B. Hai, G. Thinakaran, F. Checler, S.S. Sisodia, P. Greengard, and H. Xu, Endoplasmic reticulum and trans-Golgi network generate distinct populations of Alzheimer beta-amyloid peptides. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999. 96(2): p. 742-7.
49. Wang, R., D. Sweeney, S.E. Gandy, and S.S. Sisodia, The profile of soluble amyloid beta protein in cultured cell media. Detection and quantification of amyloid beta ein and variants by immunoprecipitation-mass spectrometry. *J Biol Chem*, 1996. 271(50): p. 31894-902.
50. Ancolio, K., C. Dumanchin, H. Barelli, J.M. Warter, A. Brice, D. Campion, T. Frebourg, and F. Checler, Unusual phenotypic alteration of beta amyloid precursor protein (betaAPP) maturation by a new Val-715 Met betaAPP-770 mutation responsible for probable early-onset Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999. 96(7): p. 4119-24.
51. De Jonghe, C., C. Esselens, S. Kumar-Singh, K. Craessaerts, S. Serneels, F. Checler, W. Annaert, C. Van Broeckhoven, and B. De Strooper, Pathogenic APP mutations near the gamma-secretase cleavage site differentially affect Abeta secretion and APP C-terminal fragment stability. *Hum Mol Genet*, 2001. 10(16): p. 1665-71.
52. Delacourte, A., The molecular parameters of tau pathology. Tau as a killer and a witness. *Adv Exp Med Biol*, 2001. 487: p. 5-19.
53. Gotz, J., F. Chen, J. van Dorpe, and R.M. Nitsch, Formation of neurofibrillary tangles in P3011 tau transgenic mice induced by Abeta 42 fibrils. *Science*, 2001. 293(5534): p. 1491-5.
54. Lewis, J., D.W. Dickson, W.L. Lin, L. Chisholm, A. Corral, G. Jones, S.H. Yen, N. Sahara, L. Skipper, D. Yager, C. Eckman, J. Hardy, M. Hutton, and E. McGowan, Enhanced neurofibrillary degeneration in transgenic mice expressing mutant tau and APP. *Science*, 2001. 293(5534): p. 1487-91.
55. Blennow, K. and H. Hampel, CSF markers for incipient Alzheimer's disease. *Lancet Neurol*, 2003. 2(10): p. 605-13.
56. Wiltfang, J., H. Esselmann, M. Bibl, A. Smirnov, M. Otto, S. Paul, B. Schmidt, H.W. Klafki, M. Maler, T. Dyrks, M. Bienert, M. Beyermann, E. Ruther, and J. Kornhuber, Highly conserved and disease-specific patterns of carboxyterminally truncated Abeta peptides 1-37/38/39 in addition to 1-40/42 in Alzheimer's disease and in patients with chronic neuroinflammation. *J Neurochem*, 2002. 81(3): p. 481-96.
57. Wiltfang, J., H. Esselmann, P. Cupers, M. Neumann, H. Kretschmar, M. Beyermann, D. Schleuder, H. Jahn, E. Ruther, J. Kornhuber, W. Annaert, B. De Strooper, and P. Saftig, Elevation of beta-amyloid peptide 2-42 in sporadic and familial Alzheimer's disease and its generation in PS1 knockout cells. *J Biol Chem*, 2001. 276(46): p. 42645-57.
58. Wiltfang, J., H. Esselmann, A. Smirnov, M. Bibl, L. Cepek, P. Steinacker, B. Mollenhauer, K. Buerger, H. Hampel, S. Paul, M. Neumann, M. Maler, I. Zerr, J. Kornhuber, H.A. Kretschmar, S. Poser, and M. Otto, Beta-amyloid peptides in cerebrospinal fluid of patients with Creutzfeldt-Jakob disease. *Ann Neurol*, 2003. 54(2): p. 263-7.
59. Andreasen, N., E. Vanmechelen, H. Vanderstichele, P. Davidsson, and K. Blennow, Cerebrospinal fluid levels of total-tau, phospho-tau and A beta 42 predicts development of Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment. *Acta Neurol Scand Suppl*, 2003. 179: p. 47-51.
60. Nagga, K., J. Gottfries, K. Blennow, and J. Marcusson, Cerebrospinal fluid phosphotau, total tau and beta-amyloid(1-42) in the differentiation between Alzheimer's disease and vascular dementia. *Dement Geriatr Cogn Disord*, 2002. 14(4): p. 183-90.
61. DeMattos, R.B., K.R. Bales, D.J. Cummins, J.C. Dodart, S.M. Paul, and D.M. Holtzman, Peripheral anti-A beta antibody alters CNS and plasma A beta clearance and decreases brain A beta burden in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001. 98(15): p. 8850-5.
62. Schenk, D., R. Barbour, W. Dunn, G. Gordon, H. Grajeda, T. Guido, K. Hu, J. Huang, K. Johnson-Wood, K. Khan, D. Kholodenko, M. Lee, Z. Liao, I. Lieberburg, R. Motter, L. Mutter, F. Soriano, G. Shopp, N. Vasquez, C. Vandeventer, S. Walker, M. Wogulis, T. Yednock, D. Games, and P. Seubert, Immunization with amyloid-beta attenuates Alzheimer-disease-like pathology in the PDAPP mouse. *Nature*, 1999. 400(6740): p. 173-7.
63. Schenk, D., P. Seubert, and R.B. Ciccarelli, Immunotherapy with beta-amyloid for Alzheimer's disease: a new frontier. *DNA Cell Biol*, 2001. 20(11): p. 679-81.
64. Janus, C., J. Pearson, J. McLaurin, P.M. Mathews, Y. Jiang, S.D. Schmidt, M.A. Chishti, P. Horne, D. Heslin, J. French, H.T. Mount, R.A. Nixon, M. Mercken, C. Bergeron, P.E. Fraser, P. St George-Hyslop, and D. Westaway, A beta peptide immunization reduces behavioural impairment and plaques in a model of Alzheimer's disease. *Nature*, 2000. 408(6815): p. 979-82.
65. Janus, C., Vaccines for Alzheimer's disease: how close are we? *CNS Drugs*, 2003. 17(7): p. 457-74.
66. Dodart, J.C., K.R. Bales, and S.M. Paul, Immunotherapy for Alzheimer's disease: will vaccination work? *Trends Mol Med*, 2003. 9(3): p. 85-7.
67. Hock, C., U. Konietzko, A. Papassotiropoulos, A. Wollmer, J. Streffer, R.C. von Rotz, G. Davey, E. Moritz, and R.M. Nitsch, Generation of antibodies specific for betaamyloid by vaccination of patients with Alzheimer disease. *Nat Med*, 2002. 8(11): p. 1270-5.
68. Hock, C., U. Konietzko, J.R. Streffer, J. Tracy, A. Signorell, B. Muller-Tillmanns, U. Lemke, K. Henke, E. Moritz, E. Garcia, M.A. Wollmer, D. Umbricht, D.J. de Quervain, M. Hofmann, A. Maddalena, A. Papassotiropoulos, and R.M. Nitsch, Antibodies against beta-Amyloid Slow Cognitive Decline in Alzheimer's Disease. *Neuron*, 2003. 38(4): p. 547-54.
69. Monsonego, A., V. Zota, A. Karni, J.I. Krieger, A. Bar-Or, G. Bitan, A.E. Budson, R. Sperling, D.J. Selkoe, and H.L. Weiner, Increased T cell reactivity to amyloid beta protein in older humans and patients with Alzheimer disease. *J Clin Invest*, 2003. 112(3): p. 415-22.



Tratamentul de primă intenție pentru eficiență în peste 90% dintre demențe, de la boala Alzheimer la demența vasculară.

ARICEPT®
Comprimate filmate conținând 5 mg sau 10 mg clorhidrat de donepezil și ingrediente inactivi: monohidrat de lactoză, amidon de porumb, celuloză microcristalină, hipromeloză și stearat de magneziu, talc, polietilenglicol, hidroxipropilmetilceluloză, dioxid de titan, oxid galben de fier (comprimatele de 10 mg). **Indicații:** tratamentul simptomatic al bolii Alzheimer, forma ușoară sau moderată. **Doze și mod de administrare:** 5 mg/zi, seara, înainte de culcare. După o lună, doza poate fi crescută la 10 mg/zi, ca doză unică zilnică (maximă recomandată). Pentru pacienții cu insuficiență renală sau hepatică ușoară sau moderată se folosește aceeași schemă de dozaj. ARICEPT® nu este recomandat la copii. **Contraindicații:** Hipersensibilitate la clorhidratul de donepezil sau la excipienți. **Atenționări și precauții speciale:** Tratamentul se face sub supraveghere medicală de specialitate, cu reevaluare periodică a beneficiilor. În timpul anesteziilor, există posibilitatea accentuării relaxării musculare de tip succinilcolinic. Posibile efecte vagotonice pe alura ventriculară (de exemplu, bradicardie). Pacienții cu risc de ulcer trebuie monitorizați clinic. Colinomimeticele pot produce retenție urinară, convulsii, exacerbare a simptomelor extrapiramidale. Trebuie evitată administrarea concomitentă cu alți inhibitori de acetilcolinesterază, agonisți sau antagoniști ai sistemului colinergic. **Interacțiuni:** Deoarece nu se cunoaște semnificația clinică a interacțiunilor in vitro cu ketoconazolul, chinidina, itraconazolul, eritromicina, fluoxetina, rifampicina, fenitoina, carbamazepina, alcoolul, medicamentele anticolinergice, succinilcolină, alți blocanți neuromusculari sau agonisți colinergici, sau beta-blocante, administrarea acestora concomitent cu donepezilul trebuie evitată. **Sarcina și alăptarea:** Nu se administrează în cursul sarcinii și alăptării. **Efecte asupra capacității de a conduce vehicule sau de a folosi utilaje:** Donepezilul poate induce oboseală, amețeli și crampe musculare, mai ales la inițierea terapiei sau în cazul creșterii dozei. **Reacții adverse:** diaree, crampe musculare, oboseală, greață, vărsături, insomnie, cefalee, dureri, rinită banală, tulburări abdominale, amețeli, sincoapă, bradicardie și rare cazuri de bloc sinoatrial, atrioventricular, convulsii, tulburări psihice, inclusiv halucinații, agitație și comportament agresiv, creșteri minore ale concentrației serice de creatinină, hemoragie gastro-intestinală, simptome extrapiramidale. **Supradoză:** Posibile crize colinergice, scădere marcată a tonusului muscular. Se utilizează măsurile generale de resuscitare și atropina ca antidot. Acest medicament se eliberează pe bază de prescripție medicală. Pentru informații detaliate de prescriere, consultați rezumatul caracteristicilor produsului.



Pfizer HCP Corporation

Reprezentanța pentru România

Splaiul Independenței nr. 178, Sector 5, 050099, București, România
Tel.: +40-21-212 72 20, Fax: +40-21-212 72 20

Efectele fenotipice ale genotipului apoE la șoarecii transgenici

Ophir, G., M.Sc., Levi, O., M.Sc., Yacovlev, G., M.Sc., Michaelson, D.M., Ph.D.#

Departamentul de Neurobiochimie, The George S. Wise Faculty of Life Sciences, Tel Aviv University, Israel.

Rezumat

Izoforma E4 a apolipoproteinei E (apoE4) este un factor de risc major pentru boala Alzheimer (BA) și este implicată în patogenizarea altor boli neurodegenerative, fiind asociată și cu o susceptibilitate crescută pentru trauma cerebrală. Încă nu se știe dacă efectele patogenetice asociate genotipului apoE4 se datorează amplificării expresiei patologice dominante a apoE4 sau scăderii funcției neuroprotectoare a altor alele apoE (cum ar fi apoE3 și apoE2). În vederea soluționării acestei probleme, acest articol reprezintă o sinteză a unor experimente în care au fost studiați șoareci transgenici pentru apoE3 sau apoE4 umane pe un fond nul pentru apoE murin și șoareci control, înainte și după expunerea la diferite tipuri de stres și lezare neuronală. Experimentele studiate au arătat că, în funcție de tiparul folosit, efectele patologice ale apoE4 se datorează fie exacerbării unei funcții patologice izoform specifice (de ex. creșterea mortalității după traumatisme craniene și scăderea plasticității neuronale) fie diminuării unei funcții (de ex. afectarea astrogliozei). Aceste descoperiri sugerează că posibilele terapii viitoare având drept țintă apoE ar putea fi atât de tip anti-apoE4 cât și apoE3-mimetice, variante aplicabile în diferite condiții patologice.

Introducere

Apolipoproteina E (apoE), cea mai importantă lipoproteină cerebrală, este exprimată la oameni sub forma a trei izoforme comune denumite apoE2, apoE3 și apoE4¹. Un volum apreciabil de date epidemiologice și genetice relevă faptul că apoE4 este puternic corelată atât cu boala Alzheimer (BA) sporadică cât și cu forma familială cu debut tardiv și că apoE4 influențează vârsta instalării bolii, într-un mod dependent de doză genică, chiar cu 7-9 ani²⁻⁴. ApoE4 este de asemenea asociată cu patogenizarea altor boli neurodegenerative cum ar fi scleroza multiplă și boala neuronului motor⁵ și cu o susceptibilitate crescută la trauma cerebrală⁶⁻⁹. Rezultă că apoE4 influențează în sens negativ întreținerea neuronală generală și mecanismele reparatorii

comune multor maladii neurodegenerative.

Mecanismele celulare și moleculare ce stau la baza afectării întreținerii neuronale și reparării din BA și alte boli neurodegenerative legate de apoE4 nu sunt complet elucidate. Mai mult, nu se știe încă dacă efectele patologice asociate cu genotipul apoE4 se datorează exacerbării expresiei patologice dominante a apoE4 sau scăderii funcției neuroprotectoare a altor alele apoE (de ex. apoE2 și apoE3). Șoarecii transgenici ce exprimă diferite alele apoE umane pe un fond apoE murin nul și șoarecii cu deficit de apoE reprezintă un model animal important pentru investigarea mecanismelor ce stau la baza efectelor fenotipice ale genotipului apoE și pentru determinarea gradului de asociere cu patologia specifică

apoE4 și/sau diminuarea funcției neuroprotectoare a altor alele apoE. Această sinteză urmărește clarificarea acestor dileme și se concentrează pe rezultatele experimentelor efectuate de grupul nostru, care urmărit efectele stresului neuronal asupra fenotipului unor șoareci transgenici ce exprimau secvențe reglatorii și codificau fie apoE3 fie apoE4 umane, pe un fond apoE murin nul.

Susceptibilitatea la trauma cerebrală: apoE3 este neuroprotectoare în timp ce apoE4 crește mortalitatea

La om, genotipul apoE4 este asociat cu creșterea susceptibilității la trauma cerebrală⁶⁻⁹. Ca urmare, am examinat gradul în care acest efect

#Adresa pentru corespondență: Daniel M. Michaelson, Department of Neurobiochemistry, The George S. Wise Faculty of Life Sciences, Tel Aviv University, Ramat Aviv 69978, Israel. Tel: 972-3-6409624; Fax: 972-3-6407643
E-mail: dmichael@post.tau.ac.il

www.brainaging.ro

poate fi reprodus la șoarecii apoE transgenici supuși unui traumatism cerebral și dacă evenimentele asociate traumei cerebrale, cum ar fi mortalitatea și recuperarea după traumă, sunt influențate de genotipul apoE⁹. Studiul a relevat că mai mult de 50% din șoarecii apoE4 mor după un traumatism cerebral închis în timp ce nici jumătate dintre șoarecii care exprimă apoE3, cei din lotul control și șoarecii cu deficit de apoE mor după expunerea la același traumatism cerebral (Figura 1A). În contrast, evaluarea clinică a șoarecilor supraviețuitori⁹ a evidențiat că, deși toate grupurile de șoareci prezentau afectare neurologică de severitate similară imediat după traumatism, în zilele următoare tulburările neurologice ale șoarecilor transgenici apoE3 au fost semnificativ mai ușoare în comparație cu cele observate la șoarecii transgenici apoE4 sau la cei cu deficiență de apoE, ale căror scoruri au fost similare (Figura 1B). Aceasta sugerează că recuperarea neurologică a șoarecilor transgenici apoE3 este superioară a șoarecilor transgenici apoE4 se asociază cu creșterea funcției neuroprotectoare (gradul de recuperare este apoE3 > apoE4 ~ control ~ deficit apoE).

În ansamblu, aceste descoperiri arată că șoarecii transgenici apoE4

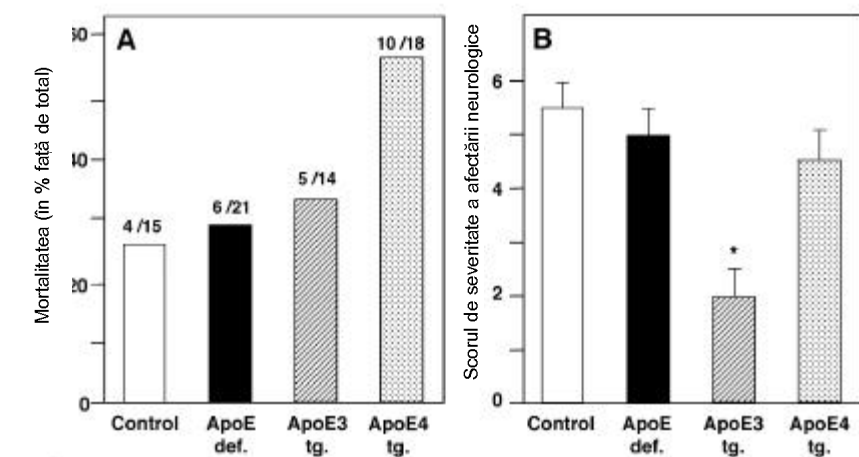


Figura 1. Efectele traumatismului cranian închis asupra mortalității (A) și recuperării neurologice (B) la șoarecii transgenici apoE3 și apoE4, la cei cu deficit de apoE și la șoarecii din lotul de control. Rezultatele corespund numărului de șoareci din fiecare lot studiat care au murit în intervalul 24 de ore – 11 zile de la producerea traumatismului cerebral închis (A) și numărului de cazuri de recuperare neurologică în rândul șoarecilor care au supraviețuit (B), în funcție de o scală de evaluare a severității afectării neurologice (în care, cu 0 erau catalogați șoarecii fără afectare neurologică), la 12 zile de la producerea traumatismului cerebral închis.

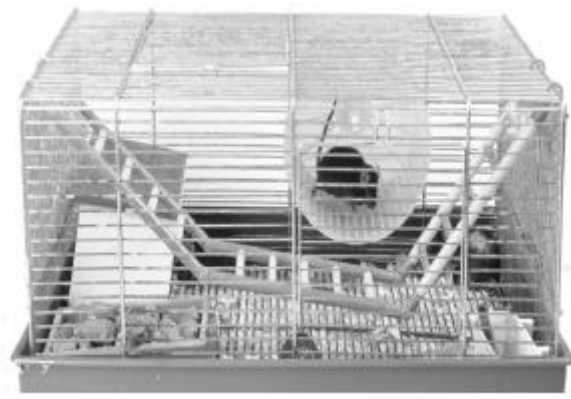


Figura 2. Cușca cu un mediu ambient stimulativ.

sunt mai susceptibili la traumatismele cerebrale închise decât cei apoE3 și că aceasta se datorează atât efectului protector al apoE3 cât și mortalității crescute legate de apoE4. Analiza detaliată a acestor rezultate relevă asocierea creșterii fatalității după traumatismul cerebral închis dependentă de apoE4 cu exacerbarea funcțiilor patologice (mortalitatea este, în ordine: apoE4 > apoE3 ~ control ~ deficit apoE); recuperarea superioară a șoarecilor transgenici apoE3 se asociază cu creșterea funcției neuroprotectoare (gradul de recuperare este apoE3 > apoE4 ~ control ~ deficit apoE).

Efectele genotipului apoE asupra plasticității hipocampului

Plasarea șoarecilor într-un mediu ambiental bogat în interacțiuni sociale și jucării (cum ar fi tunelele și roata pentru alergat, figura 2), stimulează comportamentul explorator și motor și are consecințe plastice pronunțate. Acestea includ activarea sinaptogenezei și ameliorarea proceselor mnezice și de învățare¹⁰. Efectele fenotipice ale diferitelor genotipuri apoE au fost evaluate prin măsurarea efectelor genotipului apoE asupra răspunsului plastic neuronal și celui cognitiv obținute prin stimularea produsă de condițiile de mediu. Cuantificarea funcțiilor mnezice și de învățare, utilizând un labirint în T, a evidențiat creșterea capacității de învățare la șoarecii control și la cei transgenici pentru apoE3 (apoE3 tg.) în paralel cu expunerea la mediul ambiental stimulat, în timp ce performanțele șoarecilor transgenici pentru apoE4 (apoE4 tg.) nu au fost influențate¹¹. Mai mult decât atât, la șoarecii din lotul de control și la cei transgenici pentru apoE3, s-a observat o îmbunătățire marcată a memoriei de lucru datorită expunerii la condițiile ambientale stimulante, spre deosebire de șoarecii transgenici pentru apoE4 care, ca și cei transgenici apoE3 nestimulați sau șoarecii de control nestimulați, nu au fost influențați¹¹. Șoarecii cu deficiență de apoE (apoE def.) au avut probleme de rezistență la înot și, în con-

secință, nu au fost supuși la testul cu labirintul în T.

Gradul în care deficitul cognitiv al șoarecilor transgenici apoE4 este legat de tulburarea plasticității sinaptice a fost investigat prin determinarea de tip imunoblot a nivelurilor sinaptosinei, o proteină presinaptică¹². Măsurătorile au relevat că stimularea ambientală induce o creștere marcată a nivelurilor de sinaptosină în hipocamp la șoarecii transgenici apoE3, la cei control și șoarecii apoE deficienți, în timp ce șoarecii transgenici apoE4 nu sunt influențați (Figura 3). În contrast, nivelurile corticale de sinaptosină la șoarecii transgenici apoE3 și apoE4, la cei de control precum și la cei cu deficit de apoE cresc similar după stimularea ambientală. Aceste efecte ale apoE4 sunt neuron-specifice, întrucât nivelurile markerului astrocitar GFAP (glial acid fibrilary protein, proteina fibrilară acidă glială) nu sunt afectate nici de genotipul apoE și nici de stimularea ambientală. Mai mult, NGF, al cărui nivel este crescut de stimularea ambientală¹⁰, este dependent de genotipul apoE și de ariile cerebrale, similar cu sinaptosina¹¹ atât înainte cât și după stimularea ambientală.

Examinarea în detaliu a efectelor cognitive și neuronale ale apoE relevă că ordinea intensității proceselor de sinaptogeneză indusă ambiental și de ameliorare a învățării și memoriei pentru diferitele grupuri de șoareci este apoE4-tg. << apoE3-tg. ~ control ~ apoE def. Această relație sugerează că răspunsul defectuos al șoarecilor transgenici apoE4 la stimularea ambientală se datorează exacerbării unei funcții patologice dependente de apoE4, funcție care reduce plasticitatea neuronală.

Aceste descoperiri făcute pe modele animale sunt în acord cu constatarea că genotipul apoE4 în boala Alzheimer este asociat cu afectarea plasticității¹³ și că educația în prima parte a vieții scade riscul de BA la subiecții apoE3 dar nu și la cei apoE4¹³⁻¹⁷.

Efecte izoform-specifice ale apoE asupra astroglizei

BA presupune existența unui proces inflamator cerebral cronic, în care sunt activate microgliile și astrocitele și creșterea nivelului anumitor proteine inflamatorii, cum ar fi 1-antichimotripsina și sistemul complementului¹⁸⁻²⁰.

Mai mult, inflamația cerebrală și activarea astrocitelor sunt mai importante la pacienții cu BA apoE4 pozitiv²¹. ApoE, sintetizată și secre-

tată de către astrocite, poate modula activarea microgliilor și astrocitelor²²⁻²⁴. Am examinat deci posibilitatea ca efectele inflamatorii genotip-specifice ale apoE să fie legate de efecte izoform-specifice asupra activării microgliale și astrocitare.

Injecția de lipopolizaharide (LPZ) în ventriculii cerebrali ai șoarecilor control determină activare astrocitară și microglială²⁵ ce poate fi vizualizată imunohistochimic cu anticorpi anti GFAP și anti F4/80 (Figura 4). Deoarece răspunsul microglial și

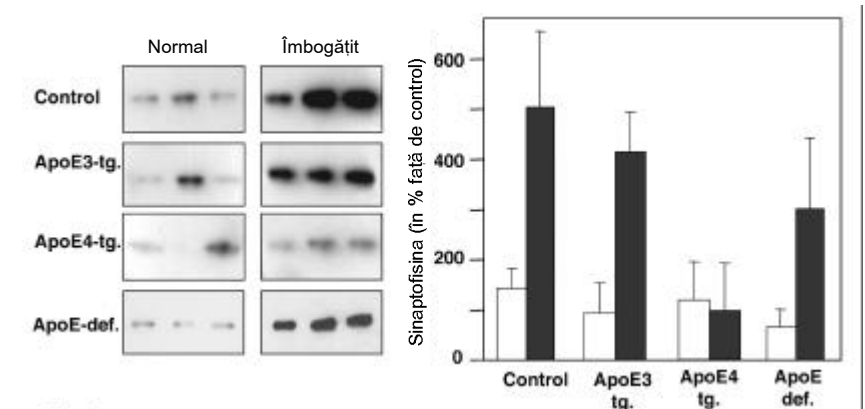


Figura 3. Efectele stimulării ambientale asupra nivelului proteinei presinaptice sinaptosină în hipocampul șoarecilor transgenici apoE3 (apoE3 tg.), apoE4 (apoE4 tg.), al șoarecilor cu deficit de apoE (apoE def.) și al celor din lotul de control. În stânga, rezultate reprezentative la analiza de tip imunoblot efectuată la câte 3 șoareci din fiecare grup de studiu, rezultatul cantitativ pentru 4-5 șoareci per grup fiind ilustrat în partea dreaptă.

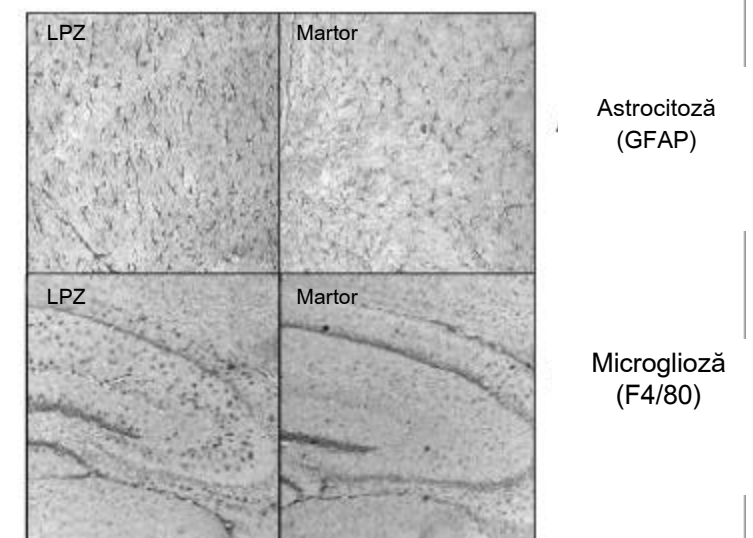


Figura 4. Activarea astrocitelor și microgliilor hipocampale mediată de LPZ. Secțiuni coronale la nivelul hipocampului preparate din material prelevat de la șoareci la 3 zile de la injectarea intraventriculară de LPZ și de la șoareci tratați cu substanță-martor, colorate atât cu anticorpi anti-GFAP (astrocite) cât și cu anticorpi anti-F4/80 (microglii activate). Pe preparatele tratate cu anticorpi anti-F4/80, nucleii celulelor au fost evidențiați prin colorație cu hematoxilina.

astrocitar la LPZ al șoarecilor control scade progresiv cu vârsta²⁵, efectele apoE au fost monitorizate pe două grupe de vârstă. Infuzia de LPZ la șoarecii de 6 luni apoE transgenici și control activează astrocitele cerebrale la șoarecii de control și la cei transgenici apoE3 dar nu are nici un efect asupra astrogliozei la șoarecii de aceeași vârstă apoE deficienți și transgenici apoE4 (Figura 5). La șoarecii de 12 luni se observă un

cel puțin 3 zile, în timp ce răspunsul echivalent al șoarecilor apoE4 și apoE deficienți este prea lent, și deci nedetectabil²⁵. La 12 luni, răspunsul global la LPZ al tuturor grupelor este mai rapid, astfel că la șoarecii control și apoE3 este tranzitoriu și revine la normal după aprox. 3 zile, în timp ce la șoarecii apoE4 și apoE deficienți răspunsul are un caracter progresiv, cu un efect marcat specific LPZ în ziua 3.

pe activarea astrocitară sunt asociate cu o pierdere de funcție.

Concluzii

Expresia fenotipică a genotipului apoE depinde de scenariul experimental la care sunt supuși șoarecii. Astfel, plasticitatea neuronală diminuată a șoarecilor transgenici apoE4 după stimularea ambientală și mortalitatea crescută a acestora după trauma cerebrală se datorează exacerbării unei funcții patologice. În contrast, specificitatea de izoformă a efectelor apoE pe astroglioză se datorează pierderii unei funcții a apoE4.

Aceste concluzii se bazează pe compararea fenotipurilor corespunzătoare șoarecilor transgenici apoE3, apoE4 și apoE deficienți, și mai puțin pe a șoarecilor control, al căror răspuns la ambianța stimulativă, trauma cerebrală și infuzia intraventriculară de LPZ este similar șoarecilor transgenici apoE3. Oricum, câștigul în capacitatea de recuperare a șoarecilor transgenici apoE3 după trauma cerebrală reflectă diferențe între apoE murină și apoE3 umană. Acest fenotip ar putea fi deci specific modelului murin. Rezultatele prezentate până acum au fost obținute utilizând șoareci transgenici la care exprimarea apoE3 și apoE4 a fost reglată de secvențe reglatorii umane²⁶. Studii paralele pe șoareci transgenici apoE la care expresia apoE este realizată cu un promotor specific fie astrocitar, fie neuronal au relevat că, în funcție de scenariul experimental, expresia fenotipică a apoE4 la acești șoareci constă tot în pierderea unei funcții sau exacerbarea unei funcții patologice apoE4²⁷⁻³⁰.

Extrapolarea rezultatelor studiului acestui model animal la oameni sugerează că efectele apoE4 în BA și alte boli pot fi mediate atât prin exacerbare cât și prin pierdere funcțională. Această concluzie are ramificații terapeutice importante, întrucât tratamentele de perspectivă ale bolilor a căror patogeneză este legată de exacerbarea funcției patologice a apoE4 ar trebui să se

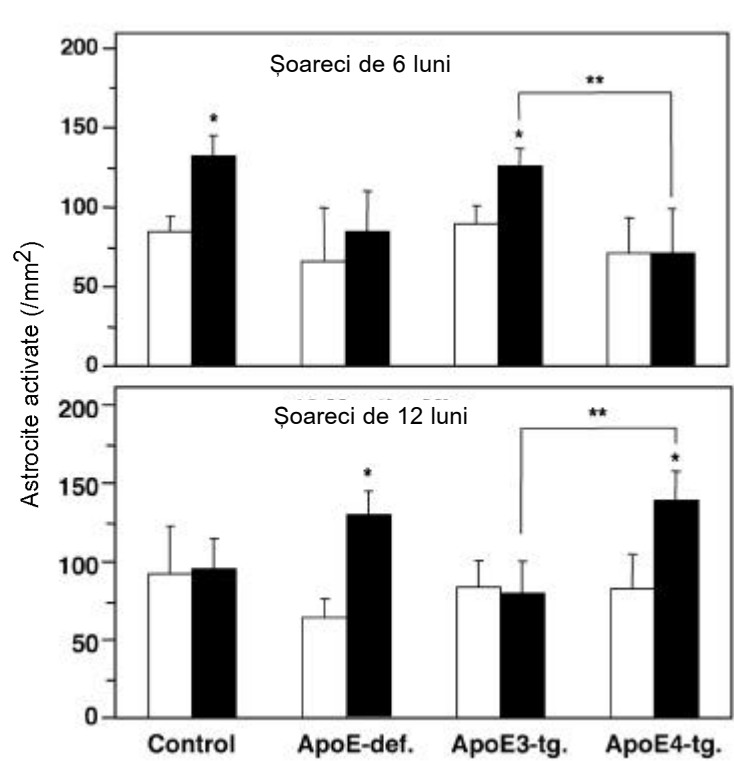


Figura 5. Activarea astrocitelor hipocampale mediată de LPZ în creierul șoarecilor transgenici apoE3 (apoE3 tg.), apoE4 (apoE4 tg.), al șoarecilor cu deficit de apoE (apoE def.) și al celor din lotul de control în vârstă de 6 și 12 luni. Astrocitele au fost evaluate imunohistochimic cu anticorpi anti-GFAP iar rezultatele din figură reprezintă numărul de astrocite activate/mm².

efect opus: LPZ, în condiții similare (infuzie intraventriculară timp de 72 de ore), activează astrocitele cerebrale la șoarecii apoE deficienți și transgenici apoE4, dar nu la cei de control și transgenici apoE3. LPZ induce de asemenea activare microglială, neafectată însă de deficitul de apoE sau genotipul apoE.

Dependența de vârstă a efectului apoE asupra astrogliozei pare a se datoră diferențelor kinetice. În consecință, la șoarecii de 6 luni control și transgenici apoE3, LPZ produce un răspuns ce crește progresiv timp de

Mecanismele ce stau la baza dependenței de vârstă a efectelor apoE asupra kineticii astrogliozei induse de LPZ nu sunt cunoscute. Oricum, rezultatele arată clar că apoE joacă un rol reglator în activarea astrocitelor cerebrale și că acest efect este reprodus de genotipul uman apoE3 dar nu și de cel apoE4 ce determină un fenotip asemănător șoarecilor apoE deficienți.

Concluzionând, spre deosebire de traumatismul cerebral și mediul ambiant stimulant, efectele apoE4

bazează pe o abordare „anti apoE4”, în timp ce tratamentul bolilor asociate cu pierderea unei funcții va presupune o abordare „apoE3 mimetică”. La aceasta se adaugă un plus de diversitate și complexitate conferit de mecanismele moleculare care mediază efectele fenotipice ale apoE4. Acestea includ efecte izoform-specifice ale apoE asupra APP și amiloidogenezei, precum și asupra metabolismului lipidic cerebral și funcției neuronale¹. Sunt necesare studii viitoare asupra rolului acestor mecanisme în expresia caracteristicilor fenotipice distincte ale diferitelor genotipuri apoE pentru dezvăluirea rolului lor distinct în diferite boli și pentru elaborarea de strategii terapeutice adecvate.

Mulțumiri

Această lucrare a fost finanțată parțial prin burse, pentru D. M. Michaelson, acordate de Comunitatea Europeană (Bursa # 2001/00972), „The Fund for Basic Research” sponsorizat de „The Israel Academy of Sciences and Humanities” (Bursa # 43/00-1), „The Harry Stern National Center of Alzheimer's Disease and Related Disorders”, din cadrul „The Eichenbaum Foundation”. D. M. Michaelson deține „The Miriam Lebach Chair” pentru neurodegenerare moleculară. Figurile 2 și 5 au fost adaptate după referințe bibliografice 11 și 25, cu permisiunea Elsevier.

Bibliografie

- Mahley R.W., Rall S.C., Apolipoprotein E: far more than a lipid transport protein. *Ann Rev Genom Hum Genet* 2001; 1: 505-37.
- Corder E.H., Saunders A.M., Strittmatter W.J., Schmechel D.E., Gaskell P.C., Small G.W., Roses A.D., Haines J.L., Pericak-Vance M.A., Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science* 1993; 261: 921-3.
- Saunders A.M., Strittmatter W.J., Schmechel D., George-Hyslop P.H., Pericak-Vance M.A., Joo S.H., Rosi B.L., Gusella J.F., Crapper-MacLachlan D.R., Alberts M.J., et al., Association of apolipoprotein E allele epsilon 4 with late-onset familial and sporadic Alzheimer's disease. *Neurology* 1993; 43: 1467-72.

- Roses A.D., Apolipoprotein E alleles as risk factors in Alzheimer's disease. *Ann Rev Med* 1996; 47: 378-400.
- Chapman J., Korszyn A.D., Karussis K., Michaelson D.M., The effects of APOE genotype on age at onset and progression of neurodegenerative diseases. *Neurology* 2001; 57: 1482-5.
- Roses A.D., Saunders A.M., Head injury, amyloid beta and Alzheimer's disease. *Nat Med* 1995; 1: 603-4.
- Sorbi S., Nacmias B., Piacentini S., Apolipoprotein E genotypes and outcome after post-traumatic coma. *Neurology* 1996; 46: A307.
- Lichtman S.W., Seliger G., Tycko J., Marder K., Apolipoprotein E and functional recovery from brain injury following postacute rehabilitation. *Neurology* 2000; 55(10): 1536-9.
- Sabo T., Lomnitski L., Nyska A., Beri S., Maronpot R.R., Shohami E., Roses A.D., Michaelson, D.M., Susceptibility of transgenic mice expressing human apolipoprotein E to closed head injury: the allele E3 is neuroprotective whereas E4 increases fatalities. *Neuroscience* 2000; 101: 879-84.
- Van Praag H., Kempermann G., Gage F.H., Neural consequences of environmental enrichment. *Nat Rev Neurosci* 2000; 1: 191-8.
- Levi O, Jongen-Relo A.L., Feldon J., Roses A.D., Michaelson D.M., ApoE4 impairs hippocampal plasticity isoform-specifically and blocks the environmental stimulation of synaptogenesis and memory. *Neurobiol Dis* 2002; 13: 273-82.
- Saito S., Kobayashi Y., Igarashi M., Komiya Y., Ando S., Decreased synaptic density in aged brains and its prevention by rearing under enriched environment as revealed by synaptophysin contents. *J Neurosci Res* 1994; 39: 57-62.
- Arendt T., Schindler C., Bruckner M.K., Eschrich K., Bigl V., Zedlick D., Marcova, L., Plastic neuronal remodeling is impaired in patients with Alzheimer's disease carrying apolipoprotein E4 allele. *J Neurosci* 1997; 17: 516-29.
- Kalmijn S., Feskens E.J., Launer L.J., Kromhout D., Longitudinal study of the effects of apolipoprotein E4 allele on the association between education and cognitive decline in elderly men. *Br Med J* 1997; 314: 34-5.
- Katzman R., Education and the prevalence of dementia and Alzheimer's disease. *Neurology* 1993; 43: 13-20.
- Kawas C.H., Katzman R., Epidemiology of dementia and Alzheimer's disease. In: Terry R.D., Bick K.L. and Sisodia S.S., eds., *Alzheimer's Disease 2nd ed.*, Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, 1999.
- Moceri V.M., Kukull W.A., Emanuel I., Van Belle G., Starr J.R., Schellenberg G.D., McCormick W.C., Bowen J.D., Teri L., Larson E.B., Using census data and birth certificates to reconstruct the early life socioeconomic environment and the relation to the development of Alzheimer's disease. *Epidemiology* 2001; 12: 383-9.
- Rogers J., Webster S., Lue L. F., Civin W.H., Emmerling M., Shivers B., Walker D., McGeer P., Inflammation and Alzheimer's

- diseasepathogenesis. *Neurobiol. Aging* 1996; 17: 681-6.
- McGeer P.L., McGeer E.G., Inflammation of the brain in Alzheimer's disease: implications for therapy. *J Leukoc Biol* 1999; 65(4): 409-15.
- Halliday G., Robinson S.R., Shepherd C., Kril J., Alzheimer's disease and inflammation: a review of cellular and therapeutic mechanisms. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2000; 27(1-2): 1-8.
- Licastro F., Mallory M., Hansan L.A., Masliah E., Increased levels of alpha-1-antichymotrypsin in brains of patients with Alzheimer's disease correlate with activated astrocytes and are affected by apoE4 genotype. *J Neuroimmunol* 1998; 88: 105-10.
- Vitek M., Snell J., Dawson H., Colton. C.A., Modulation of nitric oxide production in human macrophages by apolipoprotein-E and amyloid-beta-peptide. *Biochem Biophys Acta* 1997; 240: 391-4.
- Laskowitz D.T., Matthew W.D., Bennett E.R., Schmechel D., Herbstreith M.H., Goel S., McMillian M.K., Endogenous apolipoprotein E suppresses LPS-stimulated microglial nitric oxide production. *Neuroreport* 1998; 9(4): 615-8.
- Muller W., Meske V., Berlin K., Scharnagel H., Marz W., Ohm T.G., ApolipoproteinE isoforms increase intracellular Ca²⁺ differentially through an omega-agatoxin sensitive Ca²⁺ channel. *Brain Pathol* 1998; 8: 641-53.
- Ophir G., Meilin S., Efrati M., Chapman J., Karussis R., Roses A., Michaelson D.M., Human apoE3 but not apoE4 increases impaired astrocyte activation in apoE null mice. *Neurobiol Dis* 2003; 12: 56-64.
- Xu P.T., Schmechel D., Rothrock-Christian T., Burjharth D.S., Lin H.L., Popko B., Sullivan P., Maeda N., Saunders A.M., Roses A.D., Gilbert J.R., Human apolipoprotein E2, E3 and E4 isoform specific transgenic mice: human like-patterns of glial and neuronal immunoreactivity in central nervous system not observed in wild-type. *Neurol Dis* 1996; 3: 229-45.
- Fagan A.M., Murphy B.A., Patel S.N., Kilbridge J.F., Mobley W.C., Bu G., Holtzman D.M., Evidence for normal aging of the septo-hippocampal cholinergic system apoE (-/-) mice but impaired clearance of axonal degeneration products following injury. *Exp Neurol* 1998; 151: 314-25.
- Raber J., Wong D., Buttini M., Orth M., Bellosta S., Pitas R.E., Mahley R.W., Mucke L., Isoform specific effects of human apolipoproteinE on brain function revealed in apoE knockout mice: increased susceptibility of females. *Proc Nat. Acad Sci* 1998; 96: 10914-19.
- Buttini M., Orth M., Bellosta S., Akeefe H., Pitas R.E., Wyss-Corcy T., Mucke L., Mahley R.W., Expression of human apolipoprotein E3 or E4 in the brains of ApoE^{-/-} mice: isoform-specific effects on neurodegeneration. *J Neurosci* 1999; 19: 4867-80.
- White F., Nicoll J.A., Roses A.D., Horsburgh K., Impaired neuronal plasticity in transgenic mice expressing human apolipoprotein E4 compared to E3 in a model of entorhinal cortex lesion. *Neurobiol Dis* 2001; 8: 611-25.

Scorul IADL al activităților curente

(Instrumental Activities of Daily Living)

Durata testului: 5 minute.

Interpretare: de către examinator (în acest sens, este necesară o pregătire de specialitate).

Indicații principale: aprecierea capacității de îndeplinire a activităților curente ale vieții cotidiene la persoanele vârstnice cu dizabilități cronice.

Indexul IADL sau ADL instrumental este de fapt o scală ce cuprinde 8 itemi, de fapt diverse activități curente, „instrumentale” specifice traiului zilnic. Pentru fiecare acțiune, pacientul este punctat în funcție de performanța în realizarea cerinței.

Indexul IADL – Activități curente

A. Aptitudinea de a utiliza telefonul

Se folosește normal de telefon	1
Formează câteva numere foarte cunoscute	1
Răspunde la telefon dar nu-l utilizează în mod spontan	1
Nu folosește deloc telefonul în mod spontan	0
Incapabil să utilizeze telefonul	0
Scor	

B. Cumpărături

Merge la cumpărături	1
Face numai cumpărăturile curente (număr limitat)	0
Trebuie să fie însoțit la cumpărături	0
Este complet incapabil de a face cumpărături	0
Scor	

C. Prepararea alimentelor

A. Nu se aplică, nu a preparat niciodată masa	
B.1. Face meniul, prepară și servește masa în mod normal	1
B.2. Pregătește masa în mod normal, dacă îi sunt aduse ingredientele	0
B.3. Încălzește și servește masa preparată de altcineva, sau își pregătește singur mâncarea, dar într-un mod neadecvat	0
B.4. Trebuie să i se pregătească masa și să fie servit	0
Scor	

D. Întreținerea casei

A. Nu se aplică, nu a avut niciodată activități gospodărești	
B.1. Își întreține casa singur sau cu un ajutor ocazional	1
B.2. Efectuează câteva activități cotidiene ușoare, de exemplu face paturile, spală vasele	1
B.3. Efectuează câteva activități cotidiene de întreținere, dar nu poate menține o stare de curățenie normală	1
B.4. Are nevoie de ajutor pentru toate activitățile menajere	1
B.5. Este incapabil să participe la vreo sarcină gospodărească	0
Scor	

E. Spălatul hainelor

A. Nu se aplică, nu a spălat niciodată rufe	
B.1. Își spală în totalitate hainele personale	1
B.2. Spală numai articole de îmbrăcăminte mici (șosete, lenjerie intimă)	1
B.3. Toate hainele trebuie spălate de către alții	0
Scor	

F. Mijloace de transport

A. Folosește mijloacele de transport în mod independent și își conduce propria mașină	1
B.1. Se deplasează cu taxiul sau nu folosește mijloace de transport în comun	1
B.2. Folosește mijloacele de transport în comun cu ajutorul cuiva	1
B.3. Deplasări limitate cu taxiul sau cu mașina, dar ajutat	0
Scor	

G. Responsabilitate față de tratamentul pe care îl urmează

Își ia medicamentele cu responsabilitate (în dozele și la orele corecte)	1
Își ia medicamentele singur dacă dozajul a fost pregătit dinainte	0
Este incapabil să-și ia singur medicamentele, chiar dacă i-au fost pregătite dinainte	0
Scor	

H. Aptitudini pentru folosirea banilor

A. Nu se aplică, nu a umblat niciodată cu banii	
B.1. Își gestionează banii în mod independent	1
B.2. Se descurcă în cazul cumpărăturilor cotidiene, dar are nevoie de ajutor pentru operațiile bancare și pentru cumpărăturile importante	1
B.3. Este incapabil să folosească banii	0
Scor	
Scor IADL – Activități curente	
Scor IADL - Total	

Bibliografie

1. Luiza Spiru, Bruno Vellas, Pierre Jean Ousset - *Caiet de observație pentru pacienții cu demență tip Alzheimer*, Ediția I, Editura Universitară "Carol Davila", București, 2000.
2. Luiza Spiru, Bruno Vellas, Pierre Jean Ousset - *Caiet de observație pentru pacienții cu demență tip Alzheimer*, Ediția II, Editura Universitară "Carol Davila", București, 2000.
3. Luiza Spiru, Bruno Vellas, Pierre Jean Ousset - *Teste clinice pentru diagnosticul demenței de tip Alzheimer*, Editura Universitară "Carol Davila", București, 2001.
4. Luiza Spiru, Ioan Romoșan - *Geriatric*, Vol. I, Editura Solness, Timișoara, 2002.
5. Luiza Spiru, Ioan Romoșan - *Geriatric*, Vol. II, Editura Solness, Timișoara, 2002.
6. Lawton MP, Brody EM, Assessment of older people: self-maintaining and instrumental activities of daily living. *The Gerontologist* 9: 179-89, 1969.

Exercițiile fizice (de rezistență) pot ameliora funcția cognitivă și motorie la un pacient vârstnic cu demență?

Prezentare de caz

Vince S. Thomas^{1,2,3}, Janis B. Petzel^{3,4,5}

¹Center for the Aging, Dartmouth Medical School, Hanover, New Hampshire.

²Department of Medicine, Dartmouth Medical School, Hanover, New Hampshire.

³Department of Community & Family Medicine, Dartmouth Medical School, Hanover, New Hampshire.

⁴Department of Psychiatry, Maine General Medical Center, Augusta, Maine.

⁵Department of Geriatric Psychiatry, Maine General Medical Center, Augusta, Maine.

Premise

Deși adesea neglijate, funcția cognitivă și cea motorie sunt importante în egală măsură și reprezintă domenii interconectate ale funcționalității în cadrul sindromului demențial¹. Neurodegenerența caracteristică demenței se manifestă tipic prin deteriorare progresivă a memoriei, limbajului și altor capacități intelectuale, precum și a funcționării normale pe plan social, ocupațional și fizic². Opțiunile terapeutice farmacologice actuale (în principal AChI) destinate amendării declinului cognitiv din demență sunt limitate și, în orice caz, abordează inadecvat declinul intrinsec al funcției motorii. Terapiile alternative ce s-ar putea adresa atât funcției cognitive cât și celei motorii devin astfel o necesitate.

Dovezi recente furnizate de studii epidemiologice de anvergură sugerează un efect protector al exercițiilor fizice împotriva declinului cognitiv, acestea reușind totodată întârzierea instalării demenței³⁻⁷.

Intervențiile ce au la bază exerciții fizice au un potențial pozitiv semnificativ pentru persoanele cu demență. Chiar înainte de instalarea declinului cognitiv, limitarea activităților bătrânilor în mediu comunitar este recunoscută ca un factor de risc pentru instalarea incapacității în ceea ce privește îndeplinirea activităților cotidiene⁸. Diminuarea forței și masei musculare poate fi de asemenea un factor de risc major pentru pierderea abilităților funcționale, în special la pacienții cu declin cognitiv⁹. Reducerea masei musculare și a forței sunt asociate cu tulburarea echilibrului postural și afectarea mersului, intoleranță la glucoză, demineralizare osoasă, predispunând individul la traumatisme grave, de exemplu prin cădere, și crescând limitările funcționale și frecvența tulburărilor metabolice.

Din ce în ce mai mulți cercetători au demonstrat că exercițiul fizic este o metodă utilă pentru menținerea și recuperarea funcțională la pacienții vârstnici. Primele studii în acest domeniu au exclus indivizii cu

demență, dar au dovedit că exercițiul fizic, sub diferite forme (de rezistență, aerobic) ar putea contribui la ameliorarea performanțelor fizice precum și la reducerea riscului de depresie¹⁰. (Singh și colab., *J of Gerontology*, 2001). Studii mai recente ce au inclus pacienți cu demență au arătat un efect pozitiv al practicării exercițiilor fizice sau antrenării funcțiilor motorii¹¹⁻¹⁷. Deși un studiu recent indică, de asemenea, potențialul exercițiilor fizice combinate cu terapia comportamentală în ameliorarea stării fizice și depresiei la pacienții cu boală Alzheimer (BA)¹⁸, întrebarea dacă exercițiile fizice pot îmbunătăți atât capacitatea cognitivă cât și funcția motorie la pacienții cu demență manifestă rămâne încă fără răspuns.

Acest studiu de caz descrie beneficiile motorii și cognitive ale unui program de antrenament fizic de rezistență recomandat unei femei de 85 de ani, internată într-o instituție de îngrijire destinată bolnavilor de BA situată în nord-estul Statelor Unite.

Istoricul cazului

Context clinic: D-na D. [vârsta = 84 ani, 1,51 m, 67,27 kg, IMC = 29,5, raport talie/șold = 0,77, fără scădere în greutate în ultimele 3 luni, MNA-SF = 12, nivelul vitaminei B₁₂ = 286], trăiește singură în propria locuință de când a rămas văduvă la aproape 70 de ani. Nu a avut alte probleme de sănătate cu excepția unei histerectomii totale pe cale abdominală și a unei colecistectomii în trecutul îndepărtat și, după 10 ani, unei intervenții chirurgicale pentru incontinență urinară și rezolvarea unui cistocel. A suferit de asemenea de cataractă și hipercolesterolemie. Urma tratament cu nadolol pentru hipertensiune (valori de 140-150/60-80 mmHg sub tratament). Nu avea antecedente psihiatrice și consuma alcool cu moderație. În prezent nu mai era fumătoare, renunțând imediat după moartea soțului. Avea o viață socială activă și relații bune cu vecinii, fiii și nepoții săi. Nu prezenta antecedente heredocolaterale de demență sau boli psihice și avea chiar o soră în vârstă de 90 de ani ce trăia singură în aceeași comunitate.

Cu toate acestea, la puțin timp după împlinirea vârstei de 81 de ani a început să frecventeze cantinele publice deoarece era convinsă (eronat) că nu are bani suficienți. Adesea nu își putea recunoaște casa și părea, din relatările fiilor, că a uitat faptul că soțul ei murise. Prezenta incontinență urinară dar consultul urologic de specialitate nu a evidențiat cistocel iar examinarea vezicii urinare nu a decelat anomalii la nivelul colului vezical care să explice incontinența urinară. A continuat să locuiască acasă, ajutată fiind de fiii săi.

Un an mai târziu, survine un declin marcat al capacității de autoîngrijire. Se putea îmbrăca singură dar avea tendința de a purta aceleași haine în fiecare zi. Era convinsă ca are două locuințe și își împacheta haine pentru a merge de la o casă la alta, dar în realitate se rătăcea cu mașina și nu își recunoștea casa când reușea, în

cele din urmă, să o găsească. Familia a observat că este confuză, irascibilă cu vecinii și, deși o fostă contabilă, nu mai era capabilă să execute calcule aritmetice simple. A suferit de asemenea mai multe traumatisme prin cădere, deși examenul clinic efectuat în acea perioadă nu a evidențiat tulburări de mers, tremor sau rigiditate. Un examen IRM solicitat de către medicul de familie a arătat moderată atrofiere corticală difuză și modificări periventriculare și subcorticale sugestive pentru boală ocluzivă a vaselor mici. Înregistrările medicale mai vechi nu evidențiau anomalii de laborator. În acest moment, au fost solicitate o hemo-leucogramă, sumarul de urină, nivelul TSH, al vitaminei B₁₂ și biochimia serului.

Coroborând toate aceste date, a fost diagnosticată cu „demență subcorticală” și a început tratamentul cu rivastigmină. După 2 luni de administrare a inhibitorului de acetilcolinesterază (AChI), statusul său funcțional s-a deteriorat. Familia a fost foarte îngrijorată atunci când, rătăcindu-se cu mașina, a lipsit de acasă o zi întreagă. Era dezorientată în ceea ce privește evenimentele reale comparativ cu cele văzute la televizor și credea că persoanele văzute la TV se află în aceeași cameră cu ea. Era convinsă că cineva intra prin efracție în locuința ei. În continuare se îmbrăca și se spăla singură, dar igiena personală se deteriorase.

În acel moment fiii săi au hotărât că nu mai poate locui acasă în siguranță. Astfel a fost internată în primul azil, unde s-a oprit administrarea rivastigminei. Începuse să fie agresivă față de ceilalți pacienți. I s-a administrat zyprexa (nu se cunoaște doza) și în cele din urmă a fost dusă la camera de gardă a spitalului din localitate atunci când violența sa a depășit nivelul acceptat în respectiva instituție de îngrijire. Atunci s-a căutat o nouă casă de îngrijire unde a fost mutată și unde am întâlnit-o în noiembrie 2002.

Din documentele de internare în actuala instituție reiese că avea

tendința să hoinărească, era agitată și opunea rezistență la îngrijire uneori agresând personalul, iar adesea era nevoie să fie ghidată. Prezenta în continuare incontinență urinară. Nu prezenta nici un semn de depresie. Examenul clinic de la internare a evidențiat o înclinare spre dreapta atunci când stătea pe scaun și o ușoară pareză facială. Nu prezenta rigiditate extrapiramidală, tremor de repaus și se putea deplasa fără ajutor. Tratamentul urmat includea nadolol 120 mg pe zi și ativan 0,5 mg la nevoie, rar folosit. La două săptămâni după internare a început să primească ambien 5 mg seara (pentru somn). În acea perioadă diagnosticul a fost modificat în demență vasculară.

D-na D. a fost inclusă în grupul experimental de studiu privind rolul exercițiilor fizice la persoanele neinstituționalizate cu demență (după ce a fost obținută permisiunea aparținătorilor).

Intervenția terapeutică prin exerciții fizice

Programul de antrenament pe bază de exerciții fizice de rezistență (AER) cuprinde 16 săptămâni de exerciții în care se utilizează Theraband®, o bandă elastică rezistivă. Fiecare subiect a fost încurajat să efectueze (un maxim de) trei sesiuni de antrenament pe săptămână, fiind supravegheat individual de-a lungul perioadei de antrenament. Antrenamentul a fost efectuat de personalul instituției, sub supravegherea coordonatorului de activitate ce a fost instruit atent pentru a efectua și preda exercițiile și a măsura performanța subiecților pentru a putea fi înregistrată.

După o scurtă încălzire, fiecare subiect a efectuat 12 exerciții solicitând flexorii coapsei, extensorii coapsei, abductorii coapsei, adductorii coapsei, flexorii genunchiului, extensorii genunchiului, dorsiflexorii piciorului și flexorii plantari ai piciorului. Exercițiile au fost concepute pentru a fi efectuate din șezând și din stând în picioare. Pentru fiecare

exercițiu s-a executat un set de câte 15 repetări. Benzile Theraband® erau colorate diferit, în ordinea creșterii rezistenței: roșu, verde, albastru, negru și argintiu. Fiecare subiect începea programul folosind banda roșie. Dacă un subiect era capabil să execute 15 repetări fără dificultate, avansa la banda din următoarea culoare. Gradul câștigului de forță la subiecții vârstnici este dependent de intensitatea stimulului folosit. Astfel, pentru a menține intensitatea stimulului, solicitarea pentru un anumit mușchi era crescută la următoarea culoare a benzii Theraband® atunci când subiectul era capabil să efectueze corect 15 repetări, fără un efort exagerat. Fiecare sesiune de exerciții începea cu zece minute de încălzire concentrată pe flexibilitate și coordonare și, după terminarea exercițiilor de rezistență, se încheia cu cinci minute de activități de relaxare. Subiecții au fost instruiți și supravegheați ca fiecare repetare să dureze între șase și nouă secunde, separate de o pauză de două secunde. A fost notată prezența la exerciții pentru a verifica aderența la program. S-a înregistrat de asemenea orice progres privind rezistența (culoarea benzii Theraband®).

Participarea la programul de exerciții

D-na D. a efectuat 30 dintr-un total de 48 de sesiuni de antrenament posibile, refuzând să participe cu alte 10 ocazii. De-a lungul celor 16 săptămâni a progresat în ceea ce privește nivelul de rezistență pe care o putea tolera.

Răspunsul la antrenamentul pe bază de exerciții fizice

(vezi Tabelul 1)

Motor: Timpul la testul ridicat-mers („Timed-Up-and-Go Test”) a scăzut cu 11,22 secunde, de la 24,16 la 12,94. Similar, timpul de parcurgere a 6 m la pas normal a scăzut cu 3,97 secunde, de la 11,53

(în 20 de pași) la 7,56 (14 pași) iar cel de mers rapid în siguranță a scăzut cu 1,75 secunde, de la 9,97 (18 pași) la 8,22 (14 pași). Timpul de ridicare din șezut (1 repetare) a scăzut de la 5,06 la 2,09. Forța de strângere a mâinii (media celor două mâini) a crescut de la 9 kg/m la 12 kg/m. Timpul de întoarcere la 360° a scăzut de la 8,78 secunde (în 13 pași) la 5,85 (10 pași).

Afectivitate: Pe baza tuturor măsurătorilor, starea sa psihică a rămas stabilă de-a lungul intervalului de 6 luni dintre evaluări. Scorul inițial pe scala de evaluare a depresiei geriatrice a fost 5 iar cel final 8; scorul pe scala Cornell de depresie în demență a fost 4 în decembrie 2002 și 5 în iunie 2003.

Cogniție: Staționar sau ameliorat la toate testele, cu excepția Scalei de Evaluare în Demență Mattis-2 care a evidențiat o ameliorare de 2 puncte pentru memorie la sfârșitul celor 6 luni, de la 10 la 12 (maxim 20), dar o scădere de 8 puncte la testele pentru atenție (maxim 37), cu o scădere per total de 6 puncte, la scorul 95 (maxim posibil 139). Scorul MMSE a crescut cu 11 puncte, de la o valoare inițială de 18 la 29. Testul orologiului a arătat o ameliorare de 1 punct, de la 3 la valoarea maximă de 4.

Performanța neuropsihologică: S-a înregistrat o ameliorare la testul „Trails making” forma de viteză motorie, de la 150 la 125 secunde. „Hopkins Delayed Recall” (inițial 0, ca și la final) a fost staționar, în timp ce „Hopkins Recognition – True Positive” s-a ameliorat de la 9/12 la 10/12. La testele de fluentă verbală, testul cu scrisoarea s-a ameliorat cu 14 puncte. Scorul la testul Stroop 90 de secunde a crescut de asemenea, de la 43 și 37 secunde. La numirea culorilor și citirea cuvintelor la 35, respectiv 26 secunde. Scorurile pentru fluentă verbală au crescut de asemenea uniform.

Funcționalitate per ansamblu: Scorul „Clinical Dementia Rating

Scale” ce evaluează 6 domenii funcționale cu scor 0 pentru fără afectare și 3 pentru tulburare severă, a crescut de la o valoare inițială de 2 (suma căsuțelor 12) la 1 (suma căsuțelor 7) 6 luni mai târziu.

Discuții

Această prezentare de caz descrie beneficiile potențiale ale antrenamentului pe bază de exerciții fizice susținute situația unei femei de 85 de ani cu demență funcțională netratată cu antidepresive sau inhibitori de acetilcolinesterază. Ameliorarea dramatică observată pe plan cognitiv și mai ales motor sugerează că aceste modificări pot fi atribuite fie programului de exerciții, fie schimbării de mediu, fie unei asocieri a acestor factori.

Fiatarone și Evan¹⁹, iar ulterior și alți cercetători, au evidențiat beneficiul considerabil al exercițiilor fizice rezistive de intensitate moderată asupra funcției motorii și vitalității, chiar și în cazul nonagenarilor slăbiți și anterior inactivi. Deși s-a arătat că exercițiile aerobice de lungă durată nu au efect asupra funcției psihologice la adulții vârstnici²⁰, dovezi recente indică faptul că activitatea fizică induce expresia unor factori trofici în anumite regiuni cerebrale legate de funcțiile cognitive superioare. Este posibil ca aceste valori crescute ale factorilor trofici să faciliteze dezvoltarea cognitivă²¹. Ca parte a protocolului de studiu pentru acest pacient, s-au măsurat și nivelurile serice ale BDNF și IGF-1. Compararea acestora pre- și post-exercițiu arată creșterea IGF-1 (cu 0,23 ng/ml) dar scăderea BDNF (cu 1,8 ng/ml). Stilul de viață sedentar și stimularea mentală uzuală sunt asociate cu valori scăzute ale BDNF și IGF-1 și creșterea incidenței BA²². Multe dintre simptomele neurologice și comportamentale par secundare disfuncției sau morții neuronale/gliale, datorită alterării procesului de transducție a semnalului²³. Există multe dovezi ce indică faptul că neuronii necesită diverși factori trofici pentru menținerea funcției nor-

Tabelul 1. Rezultate pre- și post-intervenție pentru d-na D.

	Pre-intervenție	Post-intervenție	Direcția de schimbare	Intensitatea schimbării
Adipozitate corporală %	31%	33,4%		↑ 2,4%
GDS	7	8	↓	↑ 1 punct
Pittsburgh Agitație	0	0		—
CDT	3	4	↑	↑ 1 punct
MMSE	18	29	↑	↑ 11 puncte
Mattis Total	101	95	↑	↓ 6 puncte
Mattis Atenție	35	27	↑	- 8 puncte
Mattis Inițiat/Persev	17	17	↑	—
Mattis Construcție	6	6	↑	—
Mattis Conceptualizare	33	33	↑	—
Mattis Memorie	10	12	↑	2 puncte
Hopkins Del Recal	0	0	↑	—
Hopkins True Positive	9	10	↑	1 cuvânt
Stroop 90 sec Numirea culorilor	43	35	↓	↓ 8 sec
Stroop 90 sec Recunoașterea cuvintelor	37	26	↓	↓ 11 sec
Trails Viteză motorie	—	125 sec	↓	a fost executat
Trails Vedere	150 sec	42 sec	↓	↓ 108 sec
Trails Numere în ordine	150 sec	128 sec	↓	↓ 22 sec
Trails Litere în ordine	150 sec	150 sec	↓	—
Trails Alternativ	—	—	?	—
Fluență Verbală Scrisoare	4	18	↑	↑ 14 puncte
Fluență Verbală Categorie	8	14	↑	↑ 6 puncte
Fluență Verbală Alternativ	2	6	↑	↑ 4 puncte
Strângere mână stângă (kg forță)	7	8	↑	↑ 1 kg forță
Ridicat din sezând (sec)	5,06	2,09	↓	↓ 2,97 sec
6 m Mers normal (sec)	11,53	7,56	↓	↓ 3,97 sec
6 m Mers normal pași	20	14	↓	↓ 6 pași
6 m Mers rapid (sec)	9,97	8,22	↓	↓ 1,75 sec
6 m Mers rapid pași	18	14	↓	↓ 4 pași
TUG (secs)	24,16	12,94	↓	↓ 11,22 sec
Întoarcere 360°(sec)	18,78	5,85	↓	↓ 2,93 sec
Întoarcere 360°(pași)	13	10	↓	↓ 3 pași
Scorul pentru echilibru Tinetti	12	15	↑	↑ 3 puncte
Scorul pentru mers Tinetti	10	10	↑	—

male, deși studiile clinice pe acest subiect lipsesc.

Boala Alzheimer este una dintre cele mai costisitoare maladii ce afectează oamenii în vârstă. Costurile de îngrijire pentru bolnavii cu demență depășesc aproape toate celelalte boli²⁴⁻²⁵. Principalul factor care determină aceste costuri este necesitatea îngrijirii pe termen lung în cadru instituționalizat²⁶⁻²⁷. Apariția

unor tratamente pentru demență capabile să prevină dependența în oricare dintre aspectele acesteia ar reduce presiunea financiară asupra familiilor și societății, atât prin întârzierea progresiei către demență severă ce necesită de obicei instituționalizare, cu costurile ridicate asociate, cât și prin ușurarea poverii celor care îngrijesc pacienții cu demență ușoară sau moderată ce

continuă să locuiască în comunitate. Exercițiile fizice aduc beneficii bine stabilite pentru sănătate, inclusiv protecție în fața multor cauze de mortalitate, inclusiv bolile cardiovasculare, și mențin starea de sănătate globală. Acumularea de probe sugestive în favoarea efectului protector al exercițiilor fizice față de declinul cognitiv și demență nu poate fi decât salutară.

Mulțumiri

Fondurile pentru programul de antrenament au fost furnizate pentru VS Thomas de către Alzheimer's Association of America (IIRG-01-3132) și Thera-Band: The Hygienic Corporation.

Bibliografie

1. Thomas VS. Excess functional disability among demented subjects?: Findings from the Canadian Study of Health & Aging. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2001; 12(3):206-210.
2. APA. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, 4th ed., Wash,DC, 1994.
3. Yaffe K, Barnes D, Nevitt M, Lui LY, Covinsky K. A prospective study of physical activity and cognitive decline in elderly women. *Arch Intern Med* 2001; 161:1703-1708.
4. Laurin D, Verreault R, Lindsay J, MacPherson K, Rockwood K. Physical activity and risk of cognitive impairment and dementia in elderly persons *Arch Neurol* 2001; 58:498-504.
5. Fabrigoule C, Letenneur L, Dartigues JF, et al. Social and leisure activities and risk of dementia: A prospective longitudinal study. *J Am Geriatr Soc* 1995; 43:485-490.
6. Wang H-X, Karp A, Winblad B, Fratiglioni L. Late-life engagement in social and leisure activities decreases the risk of dementia: A longitudinal study from the Kungsholmen Project. *Am J Epidemiol* 2002.
7. Verghese J, Lipton RB, Katz MJ, et al. Leisure activities and the risk of dementia in the elderly. *N Engl J Med* 2003; 348(25):2508-2516.
8. TM, Allore H, Guo Z. Restricted activity and functional decline among community-living older persons. *Arch Intern Med* 2003; 163:1317-1322.
9. Dvorak RV, Poehlman ET. Appendicular skeletal muscle mass, physical activity and cognitive status in patients with Alzheimer's disease. *Neurology* 1998; 51:1386-1390.
10. Singh NA, Clements, KM, Singh MAF. The efficacy of exercise as a long-term antidepressant in elderly subjects: A randomized, controlled study. *J of Gerontology* 2001; 56A(8): M497-M504.
11. Brill PA, Drimmer AM, Morgan LA, Gordon NF. The feasibility of conducting strength and flexibility programs for elderly nursing home residents with dementia. *Gerontologist* 1995; 35:2:263-266.
12. Teri L, McCurry SM, Buchner DM, et al. Exercise and activity level in Alzheimer's disease: a potential treatment focus. *J Rehabil Res Dev* 1998; Oct;35(4):411-9.
13. Arkin SM. Elder rehab: a student-supervised exercise program for Alzheimer's patients. *Gerontologist* 1999; Dec;39(6):729-35.
14. Rolland Y, Rival L, Pillard F et al. Feasibility of regular physical exercise for patients with moderate to severe Alzheimer's disease. *J Nutr Health Aging* 2000; 4(2):109-113.
15. Thomas VS, Hageman PA. Reliability of physical performance measures in elderly day-care center clients with dementia. *Int Psychogeriatr* 2002; 14:1:17-24.
16. Hageman, PA, Thomas VS. Gait performance in dementia: The effects of a 6-week resistance training program in an adult day-care setting. *Int J Geriatr Psychiatry* 2002; 17(4): 329-334.
17. Thomas VS, Hageman PA. Can neuromuscular weakness in people with dementia be rehabilitated using resistance exercise training? Results from a preliminary intervention study. *J Gerontol: Med Sci* 2003; 58A:746-751
18. Teri L, Gibbons LE, McCurry SM, Logsdon RG, Buchner DM et al. Exercise plus behavioral management in patients with Alzheimer Disease. *JAMA* 2003; 290(15):2015-2022.
19. See Fiatarone MA, Evans WJ. The etiology and reversibility of muscle dysfunction in the aged. *J Gerontol* 1993; 48(Special Issue):77-83.
20. Hill RD, Storandt M, Malley M. The impact of long-term exercise training on psychological function in older adults. *J Gerontol* 1993; 48:12-1
21. Gomez-Pinilla F, So V, Kesslak JP. Spatial learning and physical activity contribute to the induction of fibroblast growth factor: Neural substrates for increased cognition associated with exercise. *Neuroscience* 1998; 85:1:53-61.
22. Gomez-Pinilla F, Ying Z, Roy RR, Molteni R, Edgerton VR. Voluntary exercise induces a BDNF-mediated mechanism that promotes neuroplasticity. *J Neurophysiol.* 2002. Nov; 88(5):2187-95.
23. Cotter RL, Burke WJ, Thomas VS, et al. New insights into the neurodegenerative process of Alzheimer's disease: mononuclear phagocyte-associated inflammation and neurotoxicity. *J Leukocyte Biology* 1999; 65:4:416-427.
24. Canadian Study of Health and Aging Working Group. Canadian study of health and aging: study methods and prevalence of dementia. *Can Med Assoc J* 1994; 150 (6): 899-913.
25. Ostbye T, Crosse E. Net economic costs of dementia in Canada. *Can Med Assoc J* 1994; 151(10): 1457-1464
26. Coughlin TA, Liu K. Health care costs of older persons with cognitive impairments. *Gerontologist* 1989;29(2) 173-182.
27. Ernst RL, Hay JW, Fenn C, Tinkleberg J, Yesavage JA. Cognitive function and the costs of Alzheimer disease. *Arch Neurol* 1997; 54:687-693.

The 9th International Conference on Alzheimer's Disease and Related Disorders

Presented by the Alzheimer's Association

July 17-22, 2004

Plenary Speakers

Join your colleagues in Philadelphia and take advantage of this exciting opportunity to learn from leading experts in Alzheimer research. The Scientific Program Committee has selected 15 seminal plenary topics and invited the following not-to-be missed plenary speakers.

Sunday, July 18, 2004

Epidemiology of Alzheimer's Disease:
Lessons from Cardiovascular Studies
Lenore Launer, PhD

National Institute on Aging, Bethesda, Maryland U.S.A.

Genetics of Alzheimer's Disease

Gerald Schellenberg, PhD
University of Washington, Seattle, Washington, U.S.A.

ApoE and Alzheimer's Disease: A 10-Year Update

Karl Weisgraber, PhD
University of California, San Francisco, California, U.S.A.

Monday, July 19, 2004

Oxidative Mechanisms, Inflammation,
and Alzheimer's Disease Pathogenesis

Flint Beal, MD
Cornell University, Ithaca, New York, U.S.A.

Biological Function of APP

Edward Koo, MD
University of California, La Jolla, California, U.S.A.

Tau and Tauopathies

Eva-Maria Mandelkow, MD, PhD
Max Planck Institute, Hamburg, Germany

Tuesday, July 20, 2004

Behavioral and Psychological Symptoms
of Dementia: Nature and Treatment

Constantine Lyketsos, MD
Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore,
Maryland, U.S.A.

Pharmacological and Non-Pharmacological
Treatments in Alzheimer's Disease

Rachelle Doody, MD, PhD
Baylor College of Medicine, Houston, Texas, U.S.A.

Therapeutic Strategies for Alzheimer's Disease

Steve Paul, MD
Eli Lilly and Company, Indianapolis, Indiana, U.S.A.

Wednesday, July 21, 2004

Cellular Models of Alzheimer's Disease

Nikolaos Robakis, PhD
Mount Sinai School of Medicine, New York, U.S.A.

Animal Models of Alzheimer's Disease

Karen Hsiao Ashe, PhD
University of Minnesota, Minneapolis, Minnesota, U.S.A.

Biology of Gamma Secretase

Takeshi Iwatsubo, MD
University of Tokyo, Tokyo, Japan

Thursday, July 22, 2004

Molecular Pathology/Histopathology of Alzheimer's
Disease

John Q. Trojanowski, MD, PhD
University of Pennsylvania, Philadelphia, Pennsylvania, U.S.A.

Imaging in Prediction and Longitudinal
Assessment of Alzheimer's Disease

Clifford R. Jack, MD
Mayo Clinic, Rochester, Minnesota, U.S.A.

Biomarkers in Alzheimer's Disease

Kaj Blennow, MD, PhD
University of Goteborg, Molndal, Sweden

Experts Unite for World's Largest Alzheimer Research Conference

Come to a meeting of the world's best scientific minds - the leading international research forum on dementia. Join your colleagues at hundreds of sessions exploring scientific solutions to one of the gravest public health challenges facing our global community.

The scientific program will include more than 2,000 recognized experts and new voices representing a wide spectrum of fields in dementia research.

Together we will explore:

- Epidemiology and risk factors
- Established and experimental therapeutics
- Genetics and genetic testing
- Brain-behavioral relationships
- Diagnosis and biomarkers
- Evidence-based patient management and social-behavioral research
- Neuropathology and imaging
- Ethical issues in dementia care
- Molecular and cellular biology
- In vivo and vitro models system

Mark your calendars for July 17-22, 2004,
and don't miss this premier conference!

Join Us in Philadelphia

Philadelphia brims with history, big-city activity, and hometown charm. You will discover award-winning restaurants and taverns, 18th century architecture, museums shopping, entertainment, boating, and world-renowned performing companies.

The 9th International Conference will be held at the Pennsylvania Convention Center, a sophisticated, centrally located modern facility that incorporates the renovated 19th century Reading Railroad Terminal. Hotel accommodation are within easy walking distance of the Convention Center and near Philadelphia's historic waterfront district.

In your free time, study U.S. history at Independence National Park, home to the Liberty Bell and Independence Hall. Tempt your senses with a stroll through the Reading Terminal Market or the Italian Market. Enjoy a trolley or carriage ride, cruise the Delaware River on a scenic boat tour, or take one of the many available walking tours for an overview of this hospitable city.

Sunday, July 18, 2004

Welcome Reception

Join us at the brand-new National Constitution Center as the Alzheimer's Association welcomes you to Philadelphia and the research conference. This new museum holds over 100 interactive and multimedia exhibits and offers spectacular views of Independence Hall.

For More Information
Independence Visitor Center
1.800.537.7676
www.gpphila.com

Important Details

Abstract Submission

Beginning in September 2003, information about submitting abstracts will be available on-line. Abstract will be solicited for both oral and poster presentation on all aspects of Alzheimer's disease and related disorders, including epidemiology, genetics, molecular and cellular biology, pathology, neuroimaging, experimental therapeutics and evidence-based patient management and social-behavioral research.

Important Dates

On-line submission: November 1, 2003 to February 2, 2004. Submit abstracts electronically at: www.alz.org/internationalconference
Notification date: March 2004
Registration book available: January 2004

General Information

Detailed registration, hotel, and travel information for the 9th International Conference will be available in January 2004.

Registration fee is (U.S.) \$595.

Continuing medical education credit will be available.

For More Information

1.312.335.5813

www.alz.org/internationalconference
internationalconference@alz.org

Exhibitors

Exhibitors will include pharmaceutical companies displaying information about current and investigational therapies; print and electronic publishers of scientific resources; and governmental and non-governmental agencies.

The Alzheimer's Association invites you to generate new and untapped leads, meet your customers face-to-face, and establish your brand to a qualified scientific market of more than 5,000 Alzheimer researchers.

For More Information:

A.Fassano & Company
1.856.251.0236
Warren_Plank@afassanoco.com

Sponsors

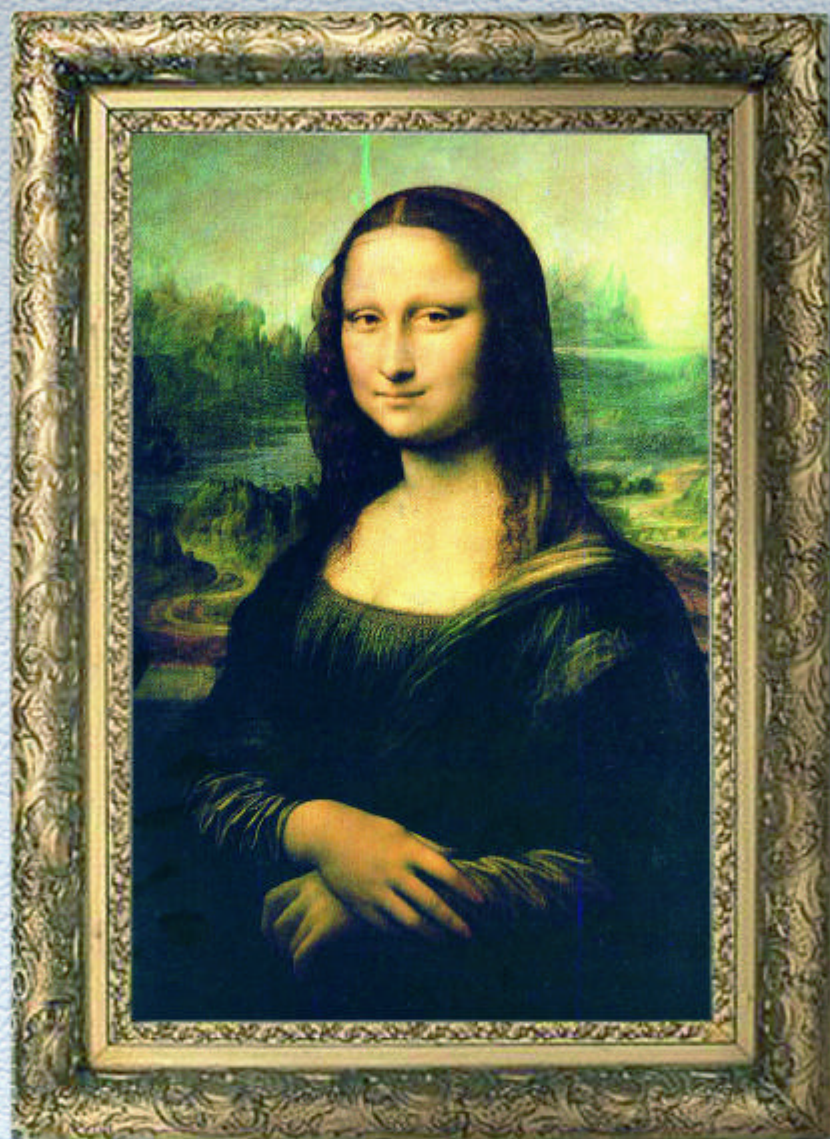
The Alzheimer's Association gratefully acknowledges the generous support of our sponsors.

Premier Level Sponsor



For More Information
Christopher Wieland
1.312.335.5778
Christopher.Wieland@alz.org

Preserving the smile
throughout the ages.
The Original.



Gerovital® H3
Aslavital®

THE ORIGINAL

SICOMED S.A.
Theodor Pallady 50, 3rd district,
Bucharest, ROMANIA
Phone/Fax: +4021 345 5674
www.sicomed.ro
www.romaniangerovital.ro

Tratamentul cu memantin la trei pacienți cu boală Parkinson cu diskinezie și declin cognitiv

J. Lökk, MD, ass. Professor[#], B. Winblad, MD, Professor.
NEUROTEC, Karolinska Institutet, Huddinge University Hospital, Stockholm, Suedia.

Introducere

Boala Parkinson (BP) este o maladie neurodegenerativă cronică, progresivă caracterizată prin degenerarea neuronilor dopaminergici din ganglionii bazali¹, ce conduce la apariția simptomelor motorii caracteristice: tremor, hipokinezie, rigiditate și disfuncție posturală². Terapiile moderne de substituție dopaminergică cu levodopa și agoniști dopaminergici pot compensa deficitul de dopamină, având ca urmare o ameliorare semnificativă a simptomatologiei în primii ani de tratament³. În cele mai fericite cazuri pacienții remarcă o dispariție totală a simptomelor, dezvoltând însă complicații motorii după 5-10 ani de tratament cu levodopa. După alți 5-10 ani pot apărea simptome neuropsihiatrice de tipul coșmarurilor, halucinațiilor, tulburărilor cognitive, ajungându-se, în cele din urmă, într-o fază paliativă, refractară la tratament, cu simptomatologie pronunțată⁴.

Complicațiile motorii se prezintă sub forma unor efecte insuficiente ale tratamentului, schimbări bruște

între hipo- și hiperkinezie (fenomenul on-off), precum și ca blocări motorii sau mișcări involuntare, diskinezie^{5,6}. Diskinezia reprezintă cel mai frecvent efect advers al tratamentului cronic cu levodopa și constituie o problemă terapeutică întrucât fereastra terapeutică se îngustează cu trecerea timpului. Într-o sinteză a 74 de articole și comunicări ce conțineau date semnificative referitoare la frecvența diskineziilor induse de levodopa, Ahlskog și Muenten au raportat că după 5 ani de terapie cu levodopa, aproximativ 40% din pacienții parkinsonieni prezentau diskinezie⁷. Se pare că modul în care receptorii dopaminergici sunt stimulați de levodopa este un factor cheie în dezvoltarea complicațiilor motorii⁸. Inducerea diskineziilor de către levodopa este legată probabil de gradul de denerare nigrală, de dozele de levodopa folosite, de frecvența administrării drogului și de expunerea creierului la levodopa⁹. Oricum, cauza nu este numai metabolismului levodopa ci și existența unei disfuncții în absorbția periferică a acesteia.

Fereastra terapeutică a medicamentelor antiparkinsoniene se îngustează odată cu trecerea timpului, crescând astfel tendința la apariția hipo- și hiperkineziei¹⁰. Se consideră că pacienții tratați cu levodopa au un risc de 10% pe an de a dezvolta astfel de fluctuații motorii¹¹. În plus, complicațiile non-motorii de tipul tulburărilor de somn, halucinațiilor, depresiei sau tulburărilor cognitive apar frecvent în timpul tratamentului farmacologic al bolii¹².

Tratamentul diskineziei constituie în același timp o problemă cât și o provocare pentru clinician, scopul principal fiind obținerea unei concentrații de dopamină cât mai constante posibil pentru a evita acțiunea pulsatilă asupra receptorilor dopaminergici¹³. Acest deziderat se poate obține prin administrarea levodopa sub mai multe forme, inclusiv fracționarea în doze multiple, preparatele retard, adăugarea de inhibitori enzimatici (COMT și MAO-B) sau administrarea pe sondă gastrică¹⁴. Oricum, diskinezia poate persista și în ciuda acestor strategii, chiar dacă se adaugă un tratament

#Adresa pentru corespondență: Johan Lökk, Ger. Dept., Huddinge University Hospital, SE-14186 Stockholm, Sweden.
E-mail: johan.lokk@hs.se

complementar cu agonisti dopaminergici¹⁵.

S-a postulat că prezența unei hiperactivități a neurotransmisiei glutaminergice poate fi importantă în dezvoltarea diskineziei¹⁶. Se crede de asemenea că stimularea pulsatilă sau anormală a receptorilor dopaminergici de către agenți cu acțiune de scurtă durată afectează indirect receptorii NMDA, provocând o sensibilitate crescută la activarea prin glutamat.

Aceste interacțiuni s-ar putea manifesta clinic prin diskinezie¹⁷. În consecință, se creează o bază rațională pentru administrarea antagonistului receptorului NMDA, amantadina, ca o potențială, deși adesea subutilizată, posibilitate terapeutică¹⁸. Amantadina este folosită de multă vreme ca antiparkinsonian; în plus, poate suprima diskineziile instalate induse de levodopa, sugerând o legătură între sistemul glutaminergic și procesul ce stă la baza genezei mișcărilor involuntare^{19, 20}.

Memantinul este un alt antagonist interesant al receptorului NMDA. În Suedia, memantinul a fost de curând introdus în tratamentul bolii Alzheimer în stadiu moderat până la sever²¹. Mai multe studii randomizate, placebo-controlate, dublu orb, au indicat că memantin este eficient în boala Alzheimer moderată până la severă^{22, 23}. S-a raportat că memantin îmbunătățește semnificativ funcționarea globală precum și capacitatea cognitivă. Pentru tratamentul bolnavilor cu boală Parkinson idiopatică s-au efectuat doar câteva studii mici, dar nici unul nu a evidențiat declin cognitiv^{24, 25}. Simptomele bolii Parkinson s-au ameliorat semnificativ la jumătate din pacienții (n = 10) tratați cu memantin într-un studiu²⁴, iar în altul au fost efecte semnificative atât în faza „on” cât și în cea „off” (n = 12)²⁵. Oricum, nu s-au observat efecte anti-diskinetice.

Profilul farmacologic al memantinului este similar cu cel al amantadinei, memantin fiind un antagonist necompetitiv al receptorului NMDA cu afinitate moderată. Memantin blochează efectele nivelurilor patolo-

gic crescute de glutamat care ar duce altfel la disfuncție neuronală²⁶. Disfuncția neurotransmisiei glutaminergice prin receptorii NMDA contribuie la simptomatologia diskinetică asociată cu boala Parkinson și la apariția simptomelor și progresiei dementelor neurodegenerative^{16, 21, 27}.

Pornind de la aceste considerente teoretice²⁷, am testat memantin ca medicație complementară la trei bolnavi parkinsonieni diskinetici și cu afectare cognitivă pentru a evalua posibilele efecte anti-diskinetice, în afara celor asupra capacității cognitive. Pacienții au fost evaluați în ambulator în timpul fazei „on”. Severitatea simptomelor parkinsoniene a fost măsurată utilizând scala Hoehn & Yahr²⁸ iar starea cognitivă cu MMT (Mini Mental State)²⁹. Diskinezia (DK) a fost evaluată pe o scală cu 5 grade, de la 0 (fără DK) până la 4 (DK severă), similară UPDRS - IV (Unified Parkinson's Disease Rating Scale)³⁰. Nici unul dintre pacienți nu primise medicație neuroleptică în ultimele șase luni.

Descrierea cazurilor

Cazul 1

Pacientă de 79 de ani, care locuiește singură, cu boală Parkinson de 12 ani, în ultimii 9 ani tratată cu levodopa, aflată actualmente în stadiul Hoehn-Yahr IV. Pacienta prezenta diskinezie de 4 ani care nu s-a ameliorat la adăugarea de selegilină, după fracționarea dozei de levodopa (150 mg x 6) sau după adăugarea de inhibitor COMT (de 6 ori pe zi). S-au încercat, de asemenea, doi agonisti dopaminici diferiți (pramipexol și cabergolină), fără efect antidiskinetic dar cu efecte adverse ca amețeala și greața. Pacienta necesita ajutor în gospodărie de trei ori pe zi și avea un scor MMT de 18/30. S-a încercat reducerea dozelor de L-dopa dar această schimbare a condus la exacerbarea simptomelor parkinsoniene. Ca urmare, s-a revenit la dozele inițiale.

Memantin 10 mg x 1 timp de 6 săptămâni nu a avut nici un efect asupra testelor mnezice, scorului ADL sau diskineziei. Dublarea dozei a determinat ameliorarea diskineziei (de la 2/4 la 1/4) și a cogniției (MMT 20/30) după o lună, deși fără efect pe scala Hoehn & Yahr.

Cazul 2

Bărbat în vârstă de 82 de ani cu boală Parkinson de 5 ani, Hoehn-Yahr III, și diskinezie în ultimii 2 ani. Pacientul este tratat în prezent cu 800 mg de levodopa în 8 prize plus un inhibitor COMT la fiecare priză de levodopa la care se adaugă și agonistul dopaminergic pramipexol (1 mg x 3). Pacientul locuiește împreună cu soția sa și nu necesită ajutor în gospodărie. În ceea ce privește capacitatea cognitivă, scorul MMT a fost de 20/30.

S-a introdus memantin (10 mg x 1 timp de o lună), fără efect pe scorul MMT dar cu efect antidiskinetic (de la 3/4 la 2/4). Creșterea dozei la 10 mg x 2 a ameliorat și mai mult diskinezia (de la 2/4 la 1/4) precum și scorul Hoehn & Yahr (de la 3 la 2,5) după o altă lună dar fără nici un efect asupra stării cognitive.

Cazul 3

Pacientă în vârstă de de 75 de ani cu istoric de boală Parkinson de 8 ani, actualmente Hoehn & Yahr IV și diskinezie (3/4) în ultimul an. Pacienta suferă și de demență Alzheimer, cu un scor MMT de 14/30, pentru care i se administrează 10 mg dintr-un inhibitor de colinesterază (donepezil) într-o singură priză, seara la culcare, pentru tulburarea cognitivă³¹. Pentru boala Parkinson primea preparate retard de levodopa, de 4 ori pe zi, în combinație cu levodopa cu acțiune rapidă (tablete de 50 mg, tot de 4 ori pe zi). S-a încercat reducerea dozelor dar cu prețul exacerbării simptomelor parkinsoniene. S-au încercat și inhibitori COMT, dar au fost abandonați deoarece au provocat agravarea diskineziei ce a

persistat chiar după o încercare de reducere a dozelor de levodopa. Agonistul dopaminergic pramipexol a provocat scăderea tensiunii arteriale precum și halucinații. Amantadina (100 mg x 2) a ameliorat diskinezia (de la 3/4 la 2/4) dar a avut ca efecte adverse insomnia și halucinațiile, fiind deci abandonată.

Memantin 10 mg administrat seara a determinat insomnia, în timp ce aceeași doză administrată dimineața nu a provocat efecte adverse, dar nu a avut nici efect antidiskinetic după 5 săptămâni de tratament. Creșterea dozei la 10 mg x 2 a avut un efect activator general și a dus la o creștere a scorului MMT (de la 14/30 la 16/30) după trei luni de tratament, deși, în continuare, fără efect antidiskinetic sau anti-Parkinsonian.

Discuții

Doi dintre acești pacienți reprezintă exemple pentru efectul antidiskinetic al memantinului la pacienții parkinsonieni cu tulburare cognitivă, efect adăugat indicației originale, aprobate, de boală Alzheimer în stadiu moderat până la sever. Întrucât efectele antidiskinetice și de ameliorare cognitivă au fost foarte importante, s-a considerat că întreruperea medicației (pentru a stabili dacă efectele acesteia ar înceta, întărind astfel relația de cauzalitate) ar fi neetică și ar putea fi considerată ca malpraxis. Bazele teoretice farmacologice ale afectării funcției glutaminergice și nu a sistemului dopaminergic disfuncțional de către un antagonist de receptor NMDA par a fi confirmate de efectul clinic antidiskinetic în două dintre aceste trei cazuri.

În viitor, ar trebui încurajată efectuarea de studii randomizate, controlate, dublu orb cu acest tip de antagonist de receptor NMDA, memantin, la pacienți cu boală Parkinson cu diskinezie și tulburare cognitivă, cu

dificultăți de ordin farmacologic în depășirea disfuncției motorii. Întrucât diskinezia este una din marile probleme ale bolii Parkinson, orice remediu ce ar putea ameliora această complicație ar fi de mare ajutor atât pentru pacient cât și pentru medic.

Bibliografie

1. Agid Y. Dopaminergic systems in Parkinson's disease. In: Quininn N and Jenner P(Eds). *Disorders of movement: clinical, pharmacological and physiological aspects*. London: Academic Press, 1989: 85-107
2. Marsden CD. Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1994;57:672-81
3. Calne DB. Treatment of Parkinson's disease. *N Engl J Med* 1993;329:1021-27
4. Jankovic J. Pathophysiology and clinical assessment of motor symptoms in Parkinson's disease. In: Koller W (Ed.). *Handbook of Parkinson's Disease* (pp 99-126). New York: Marcel Dekker Inc.
5. Mouradian MM et al. Motor fluctuations in Parkinson's disease: pathogenetic and therapeutic studies. *Ann Neurol* 1987;22:475-79
6. Martignoni E et al. Motor complications in Parkinson's disease. *Neurol Sci* 2003;24(Suppl 1):S27-9
7. Ahlskog JE, Muenter MD. Frequency of levodopa-related dyskinesias and motor fluctuations as estimated from the cumulated literature. *Mov Disord* 2001;16:448-58
8. Agid Y, Chase T, Marsden D. Adverse reactions to levodopa: drug toxicity or progression of the disease? *Lancet* 1998;351:851-52
9. Pearce RKB, Heikkila M, Lindén I-B et al. L-dopa induces dyskinesia in normal monkeys: behavioural and pharmacokinetic observations. *Psychopharmacology* 2001;156: 402-09
10. Olanow CW, Obeso JA. Pulsatile stimulation of dopamine receptors and levodopa-induced motor complications in Parkinson's disease: implications for the early use of COMT inhibitors. *Neurology* 2000;55(Suppl 4):S72-S77
11. Van Laar T. Levodopa-induced response fluctuations in patients with Parkinson's disease: strategies for management. *CNS Drugs* 2003;17:475-89
12. Witjas T et al. Nonmotor fluctuations in Parkinson's disease: frequent and disabling. *Neurology* 2002;59:408-13
13. Chase TN. The significance of continuous dopaminergic stimulation in the treatment of Parkinson's disease. *Drugs* 1998;55(Suppl 1):1-9
14. Nyholm D. Pharmacotherapy for Parkinson's Disease - Observations and Innovations.

Academic thesis, Uppsala University, *Acta Universitatis Upsaliensis*, Sweden, 2003

15. Marsden CD. Clinical experience with cabergoline in patients with advanced Parkinson's disease treated with levodopa. *Drugs* 1998;55(Suppl 1):17-22
16. Merims D et al. The role of glutamatergic transmission in the pathogenesis of levodopa-induced dyskinesias. Potential therapeutic approach. *Neurol Neurochir Pol.* 2001;35 (Suppl 3):65-8
17. Verhagen Metman L et al. Pathophysiology of motor response complications in Parkinson's disease: hypotheses on the why, where, and what. *Mov Disord* 2000;15:3-8
18. Blanchet PJ et al. Renaissance of amantadine in the treatment of Parkinson's disease. *Adv Neurol* 2003;91:251-57
19. Del Dotto P et al. Intravenous amantadine improves levodopa-induced dyskinesias: an acute double-blind placebo-controlled study. *Mov Disord* 2001;56:1239-42
20. Paci C et al. Amantadine for dyskinesia in patients affected by severe Parkinson's disease. *Neurol Sci* 2001;22:75-6
21. Jarvis B, Figgitt D. Memantine. *Drugs Aging* 2003;20:465-76
22. Winblad B et al. Memantine in severe dementia: results of the 9M-Best Study. Benefit and Efficacy in severely demented patients during treatment with memantine. *Int J Geriatr Psychiatry*. 1999;14:135-46
23. Reisberg B et al. Memantine in moderate to severe Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 2003;348:1333-41
24. Rabey JM, Nissipeanu P, Korczyn AD. Efficacy of memantine, an NMDA receptor antagonist, in the treatment of Parkinson's disease. *J Neural Transm* 1992;4:277-82
25. Merello M, Nouzeilles MI, Cammarota A, Leiguarda R. Effect of Memantine (NMDA antagonist) on Parkinson's disease: A double-blind crossover randomized study. *Clin Neuropharmacology* 1999;22(3): 273-76
26. FASS (Pharmacological Specialities in Sweden). 2003; pp 518-19. Elanders, Kungsbacka, Sweden
27. Peeters M et al. Distinct effects of amantadine and memantine on dopaminergic transmission in the rat striatum. *Neurosci Lett* 2003;343:205-9
28. Hoehn MM, Yahr MD. Parkinsonism: onset, progression and mortality. *Neurology* 1967;17:427-42
29. Folstein MF et al. "Mini-Mental-State". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 1975;12:189-98
30. Martinez-Martin P, Gil-Nagel A, Gracia LM et al. Unified Parkinson's Disease Rating Scale characteristics and structure. The Cooperative Multicentric Group. *Mov Disord* 1994;9:76-83
31. FASS (Pharmacological Specialities in Sweden). 2003; pp 181-82. Elanders, Kungsbacka, Sweden

Plombele dentare de amalgam și relația cu concentrația mercurului în sânge și funcția cognitivă într-o populație urbană vârstnică

Nina Johansson¹, Hans Basun^{2,3}, Poul Holm-Pedersen⁴, Bengt Winblad², Monica Nordberg^{1,*}

¹Institute of Environmental Medicine, Karolinska Institutet, Stockholm, Suedia.

²Department of Public Health / Geriatrics, Uppsala University Hospital, Suedia.

³AstraZeneca, Clinical Science, Södertälje, Suedia.

⁴Copenhagen Gerontological Oral Health Research Center, University of Copenhagen School of Dentistry, Danemarca.

Rezumat

Premise: Există unele păreri care susțin existența unui risc potențial asupra sănătății asociat cu folosirea plombelor dentare pe bază de mercur.

Scop: Scopul acestui studiu a fost dublu, (1) evaluarea posibilei relații între numărul plombelor dentare de amalgam și concentrația mercurului în sângele total (B-[Hg]) și (2) evaluarea încrucișată a relației între funcția cognitivă la vârstnici (definită prin scorul MMSE) și numărul plombelor dentare de amalgam și B-[Hg].

Participanții la studiu: Persoane cu vârste de peste 81 de ani ce locuiau într-un sector din Stockholm (n = 84), recrutate cu ocazia celei de-a doua vizite din cadrul proiectului Kungsholmen, un amplu studiu prospectiv privind îmbătrânirea și demența. Au fost adunate informații privind numărul de plombe dentare de amalgam, B-[Hg] și scorul MMSE.

Metode: S-a folosit coeficientul de corelație Spearman Rank pentru a studia relația între numărul de plombe dentare de amalgam, B-[Hg] și scorul MMSE. Ulterior, s-au efectuat comparații între grupuri folosind testele t-Student și χ^2 .

Rezultate: S-a evidențiat o corelație semnificativă între numărul de plombe dentare de amalgam și B-[Hg] în cazul femeilor, dar nu și al bărbaților. Nu a fost observată nici o corelație semnificativă între scorul MMSE și numărul de plombe dentare de amalgam sau B-[Hg].

Factorul de conversie: 1 nmol Hg/L = 0,2 μ g Hg/L

Cuvinte cheie: mercur, amalgam dentar, cogniție, vârstnici, sănătate publică.

Introducere

Efectele expunerii la metale toxice asupra stării de sănătate a vârstnicilor sunt puțin cunoscute. La mamifere, mercurul (Hg) are efecte toxice bine stabilite la nivelul sistemului nervos și rinichilor. Există mai multe surse ce pot contribui la încărcarea

indivizilor cu mercur, printre care alimentația, apa potabilă și poluarea atmosferică. Expunerea la aceste surse poate varia considerabil, dar se estimează a fi de aproximativ 10-100 nmol Me-Hg/zi, 5 nmol Hg²⁺/zi și 1 nmol Hg⁰/zi (excluzând amalgamul dentar) în absența expunerii profesionale¹. Vaporii de

Hg⁰, eliberați din plombele de amalgam dentar, sunt o altă posibilă sursă² și sunt considerați, cu excepția anumitor expuneri profesionale, cea mai importantă sursă de expunere umană la Hg⁰.

Cantitatea de Hg eliberată din amalgam este discutabilă, dar pentru un individ obișnuit³ se acceptă în

general o ingestie zilnică 10-100 nmol Hg⁰. Principala cale de absorbție a Hg⁰ este cea pulmonară. Circa 75-85% din doza inhalată de om este absorbită⁴. Hg⁰ este slab absorbit în tractul digestiv⁵. Hg⁰ care ajunge în torentul sanguin este oxidat rapid la Hg²⁺ în eritrocite⁶. Ionii Hg²⁺ nu traversează cu ușurință bariera reprezentată de membranele celulare, distribuția lor fiind limitată. Totuși, această cale oxidativă este saturabilă, iar Hg⁰ ce ajunge să atace alte tipuri de celule, cum ar fi celulele cerebrale, este în cele din urmă oxidat, rezultând o acumulare intracelulară de Hg²⁺. Întrucât Hg⁰ este oxidat la Hg²⁺, fecalele și urina devin principalele căi de excreție.

Forma organică, Me-Hg, are un profil cinetic oarecum diferit de Hg⁰. Me-Hg este absorbit eficient și se distribuie rapid în tot organismul. El traversează ușor barierele hematoencefalică și placentară unde este demetilată și va fi acumulat ca Hg²⁺.⁷ Aceste caracteristici, împreună cu capacitatea sa de bioacumulare în lumea animală, cum ar fi în pești, au dus în atenția cercetătorilor problema expunerii umane mercurului organic (excluzând expunerea profesională la Hg anorganic). Aproximativ 80% din mercurul acumulat în organism este în cele din urmă excretat ca Hg²⁺. În funcție de nivelul anterior și de tipul de expunere, precum și de unele caracteristici individuale, timpul de înjumătățire al Hg în sânge variază între 50 și 120 de zile^{8,9}, cu o medie estimată de 65 de zile¹⁰.

Amalgamul pe bază de mercur a fost folosit ca material pentru plombele dentare chiar de la începutul secolului XIX și încă este cel mai folosit în lume. Datorită binecunoscutelor efecte toxice ale mercurului, au apărut unele semne de îngrijorare în legătură cu potențialul risc pentru sănătate asociat cu folosirea plombelor dentare ce conțin mercur. S-a arătat de asemenea că amalgamul produce o varietate de reacții adverse¹¹, și este încă vie controversa dacă oamenii prezintă aceste efecte adverse din

cauza cantităților de mercur eliberate din plombele de amalgam¹²⁻¹⁴ sau nu. În ciuda mai multor cercetări anterioare, nici un studiu nu a demonstrat o relație clară între plombele de amalgam și efectele adverse asupra sănătății^{11,15-18}.

Anumite studii indică faptul că Hg inhalat sub formă de vapori emiși de amalgamul dentar contribuie la încărcarea totală cu Hg a organismului, deoarece numărul și cantitatea plombelor se corelează cu nivelul Hg în anumite lichide biologice la indivizii fără expunere ocupațională^{2,11,19-21}.

În ultimii ani, s-au efectuat trei mari studii epidemiologice ce au avut ca țintă efectele neurotoxice ale expunerii cronice prenatale la doze mici de metil-Hg. Două dintre acestea²²⁻²⁶ au descoperit asocieri între consumul matern de pește și prezența semnelor de neurotoxicitate la copilul expus intrauterin, observație ce vine în contradicție cu rezultatele altor studii^{27,28}.

Dat fiind faptul că doze de Hg anterior considerate sigure ar putea contribui la afectarea sistemului nervos, această afectare toxică ar putea rămâne silențioasă din punct de vedere clinic până în a doua jumătate a vieții. Nivelul Hg cerebral la persoanele diagnosticate cu boala Alzheimer (BA) a fost raportat ca fiind crescut^{29,30} dar aceste rezultate nu au fost confirmate de alte studii³¹. Basun și colab.³² și Hock și colab.³³ au găsit nivele crescute de Hg în sângele persoanelor cu BA probabilă. Ultimul studiu citat a raportat de asemenea că nivelul Hg sanguin crescut nu era legat de statusul dentar al indivizilor cu BA.

Studiile privind numărul de plombe de amalgam dentar și nivelul sanguin al Hg la persoanele în vârstă sunt rare în literatură. Scopul principal al acestei lucrări este evaluarea posibilei relații între numărul de plombe de amalgam și nivelul mercurului în sângele total (B-[Hg]), pe un lot de persoane în vârstă, din mediul urban, care nu sunt edentate, participante la proiectul Kungsholmen, un studiu de cohortă

prospectiv aflat în desfășurare, ce are ca țintă cercetarea procesului de îmbătrânire și demența^{34,35}. Ca obiectiv secundar, am evaluat și relația între fiecare dintre acești parametri (numărul de plombe dentare de amalgam și B-[Hg]) și funcția cognitivă.

Materiale și metodă

Subiecții studiului

În acest studiu au fost incluși 84 de pacienți (46 de femei [F] și 38 de bărbați [B]) care au fost evaluați din punct de vedere al statusului dentar și al concentrației mercurului în sângele total (B-[Hg]). Participanții la studiu reprezintă un sub-lot al indivizilor incluși în proiectul Kungsholmen. Proiectul Kungsholmen a început în 1987. A doua vizită de urmărire a avut loc în perioada 1994-1996. În această fază s-au colectat probe de sânge pentru analiza metalelor; în plus, tot cu această ocazie s-a adăugat și componenta de igienă orală "Kungsholmen Elders Oral Health Study" (KEOHS)³⁶. KEOHS s-a adresat doar indivizilor aparent sănătoși, ce locuiau în comunitatea respectivă și participai la proiectul Kungsholmen. Persoanele aparent sănătoase au fost definite ca indivizi al căror status fizic, medical și mental le permitea să se deplaseze și să participe la o examinare stomatologică amănunțită ce avea loc în cadrul comunității Kungsholmen. Persoanele care locuiau într-o instituție de îngrijire, cele care nu-și puteau părăsi domiciliul, sau a căror neputință împiedica deplasarea în vederea examinării stomatologice au fost excluse. Toți subiecții potențial eligibili identificați au fost invitați să participe la KEOHS, inițial prin poștă, iar ulterior prin telefon.

Tuturor subiecților potențiali li s-au decontat costurile necesare deplasării. Cei care au fost de acord au fost programați pentru o întâlnire inițială ce a fost confirmată prin poștă.

*Adresa pentru corespondență: Monica Nordberg, Institute of Environmental Medicine, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden. Tel: +46 8 52487400; Fax: +46 8 314124; E-mail: monica.nordberg@imm.ki.se

Din cei 296 de subiecți potențial eligibili, 159 au fost incluși în KOEHS. Motivele neincluzerii celorlalți au fost: refuzul (n = 71), diversele boli (n = 44), decesul (n = 6), imposibilitatea de a fi contactați (n = 5), neprezentarea la vizite (n = 4) și alte diverse motive (n = 7). Cel mai frecvent motiv exprimat pentru refuz a fost oboseala potențialului subiect din cauza evaluărilor anterioare. Examinarea inițială a fost efectuată din mers după ce subiecții au făcut cea de-a doua vizită din cadrul studiului-mamă. Dintre cei 159 de pacienți, 129 aveau cel puțin un dinte. În cazul a 84 dintre acești 129 de subiecți B-[Hg] era cunoscută dintr-un studiu paralel privind nivelul sanguin al metalelor toxice din cadrul proiectului Kungsholmen.

A existat un acord în cunoștință de cauză și aprobarea Comitetului de Etică din cadrul Karolinska Institutet (KI):94:122 privitor la a doua vizită din proiectul Kungsholmen. Formularul de acord a fost aprobat de comisiile de supraveghere în cauză.

Determinarea mercurului

Probele de sânge

În timpul celei de-a doua vizite din cadrul proiectului Kungsholmen s-au colectat, după un protocol strict³⁷⁻³⁹, 10 ml de sânge de la fiecare pacient în vederea cuantificării metalelor sanguine. Fiecare probă de sânge a fost distribuită în mod egal în trei tuburi de polietilenă spălate cu acid și heparinizate, congelate la -20°C timp de o săptămână și apoi transferate la -80°C și păstrate până la analizarea ulterioară.

Analizele pentru mercur

În două etape, noiembrie 1997 și iulie 1998, Analytica AB¹¹ (în prezent SGAB, Stockholm, Suedia, acreditată de Biroul de Acreditare și Control Tehnic [SWEDAC], în concordanță cu legislația suedeză și în conformitate cu recomandările cuprinse în SS-EN 45001 [1989] și

180/IEC Guide 25[1990:E]) a analizat 84 de probe de sânge congelate provenite de la 84 de subiecți (care efectuaseră și examinarea stomatologică în cadrul KEOHS) pentru Hg total.

Probele de sânge au fost păstrate în permanență la congelator, după un protocol descris în detaliu în altă lucrare⁴⁰, până la analizare. Pentru determinarea concentrației B-Hg s-a folosit spectrometria de absorbție atomică în vapori la rece (unitatea Milton Roy AAS-CV). După tratarea cu SnCl₂, 0,5 ml de sânge a fost analizat în duplicat. „Seronom Trace Element” a fost utilizată ca matrice pentru controlul calitativ. Concentrația Hg pentru standardul de calibrare a fost de 500 nmol/L, fiind adăugată la fiecare a cincea mostră. Limita inferioară a fost considerată 10 nmol/L pentru ambele analize (1997, 1998). În 1997, coeficientul de varianță (CV) a fost 8% la 40 nmol/L și 17% la 15 nmol/L, iar în 1998 CV a fost 10% la 40 nmol/L. În 1997 limita de cuantificare (LOQ = 10 x SD-blank) a fost 8,2 nmol/L, iar limita de detecție (LOD = 3 x SC-blank) a fost 2,5 nmol/L.

Evaluarea cognitivă, diagnosticul demenței

Subiecții au fost evaluați folosind un scurt test cognitiv, Mini-Mental State Examination (MMSE)⁴¹. Limita de 23/24 este folosită de obicei pentru separarea indivizilor suspecți de demență. Diagnosticul demenței s-a bazat pe criteriile DSM-III-R (American Psychiatric Association, Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, ediția a III-a revizuită, 1987), cu unele modificări³⁴.

Evaluarea statusului dentar

Examenul inițial KEOHS a inclus anamneza și un examen al cavității bucale ce au fost efectuate la „Stockholm Long-term Care Facility” sau „Stockholm Gerontology Research Centre”. Anamneza a con-

stat de fapt din completarea unui chestionar structurat pentru a obține informații despre obiceiurile demografice, alimentare, de igienă orală și stilul de viață al subiecților. Examinarea stomatologică a strâns informații despre o gamă largă de parametri clinici, incluzând cariile dentare și statusul periodontal, ocluzia și funcționalitatea, eventualele proteze dentare, detectarea gustului și pragurile de recunoaștere. Cuantificarea cariilor, ce a identificat dinții cariati și plombați precum și dinții lipsă, a fost efectuată de unul dintre cei trei examinatori folosind criteriile vizuale și tactile anterior stabilite pentru definirea cariilor coronale și de rădăcină⁴². În acest studiu cantitatea de amalgam dentar a fost evaluată prin însumarea numărului total de suprafețe coronale (mesiale, ocluzale, distale, faciale, linguale) și de rădăcină (mesiale, distale, faciale, linguale) ce au fost refăcute utilizând amalgam. Coroanele cu structură interioară de amalgam și suprafețe dentare restaurate cu alte materiale decât amalgamul (cum ar fi aurul, rășinile compozite) nu au fost luate în considerare la calcularea numărului de plombe de amalgam. A fost inclus și molarul III.

S-a folosit echipament dentar portabil și nu s-au efectuat radiografiile. Examinatorii au fost standardizați înainte și după perioada de colectare a datelor. Dată fiind vârsta participanților la studiul KEOHS și durata examinării, nu au fost efectuate examinări repetate pentru stabilirea calității examenului.

Analiza datelor

Comparația între grupuri s-a făcut utilizând Student's t-test (nepereche, cu două limite) sau testul χ^2 .

S-a folosit coeficientul de corelație Spearman Rank pentru studierea relației între numărul de plombe de amalgam dentar și variabilele B-[Hg] și scorul MMSE. Subiecții ce au avut B-[Hg] peste 28 nmol/L sau sub 5 nmol/L (RDL = 6 x SD pt. standard) au fost considerați

drept extreme. Extremele nu au fost incluse în analiza statistică. O valoare a P < 0,05 a fost considerată semnificativă statistic.

Rezultate

Un total de 84 subiecți, 46 F și 38 B, toți având cel puțin un dinte, au fost evaluați în ceea ce privește numărul de plombe dentare pe bază de amalgam și B-[Hg]. Din cei 84 subiecți, 80 au avut B-[Hg] ≤ 28 nmol/L; ceilalți 4 subiecți, toți bărbați, au prezentat valori extreme ale B-[Hg] comparativ cu restul populației (42, 55, 60 și 80 nmol/L). Aceștia au fost excluși din analiza statistică împreună cu doi subiecți femei ce aveau B-[Hg] < 5 nmol/L, valori corespunzătoare cu aproximativ 6 x SD a standardului (RDL). Cu excepția B-[Hg], excluderea extremelor nu a modificat valorile medii ale variabilelor de studiu.

Din cei 84 subiecți, cinci femei au fost diagnosticate ca afectate de BA, iar un bărbat ca având demență mixtă. Toți cei șase subiecți diagnosticați cu demență erau nefumători. B-[Hg] pentru acești pacienți a fost între 7 și 17 nmol/L, neexistând legătură între scorul MMSE scăzut și B-[Hg] crescută. Una dintre extreme (femeie) a fost diagnosticată cu BA probabilă. Valorile medii ale variabilelor studiate sunt prezentate în tabelul 1.

Nu au existat diferențe statistice semnificative între grupul de bărbați și cel de femei pentru nici una dintre variabilele studiate: vârsta (P = 0,34), B-[Hg] (P = 0,80), numărul de plombe de amalgam (P = 0,85), scorul MMSE (P = 0,42), numărul de plombe ocluzale (P = 0,47) și de dinți rămași (P = 0,15) sau fumat ($\chi^2 = 2,02$, df. = 2, P = 5,99). Valorile medii ale B-[Hg] și ale numărului de suprafețe cu plombe de amalgam în fiecare grup MMSE sunt reprezentate în Figura 1.

O corelație moderat semnificativă statistic între numărul de plombe de amalgam și B-[Hg] a fost găsită

Figura 1. Valorile medii ale B-[Hg] și ale numărului de suprafețe plombate cu amalgam în fiecare grup MMSE (n = 78).

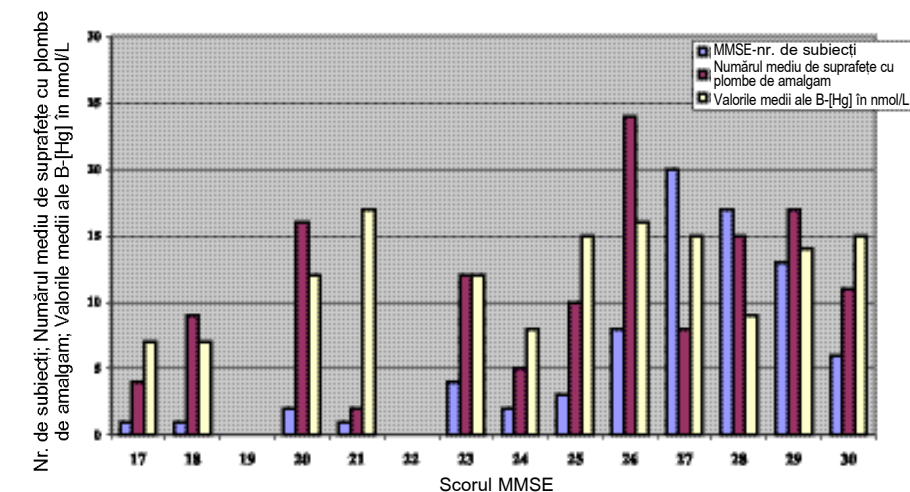
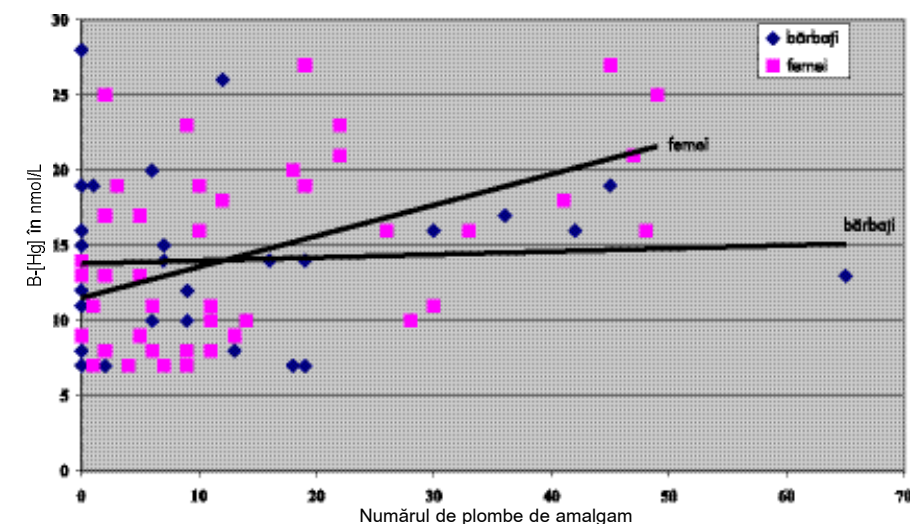


Figura 2. Relația între numărul de plombe de amalgam și B-[Hg] la bărbați (n = 34) și femei (n = 44).



pentru femeii (r = 0,42, P = 0,005), dar nu și pentru bărbați (r = 0,02, P = 0,911) (Figura 2).

Această diferență pe sexe s-a păstrat și când s-a raportat numărul de plombe ocluzale la B-[Hg], femeii (r = 0,41, P = 0,006), bărbați (r = 0,10, P = 0,57). Nu s-a găsit nici o corelație semnificativă între scorul MMSE și numărul de plombe de amalgam sau B-[Hg] (Tabelul 2). Nu s-a observat nici o creștere sau scădere evidentă a numărului de dinți sau de plombe de amalgam odată cu înaintarea în vârstă.

Discuții

În acest studiu, la femeii (n = 44) s-a evidențiat o corelație moderată din punct de vedere statistic între numărul de plombe dentare de amalgam și B-[Hg], relație ce nu a fost observată la bărbați (n = 34). Nu s-a găsit nici o relație între scorul MMSE și numărul de plombe dentare de amalgam sau B-[Hg].

Expunerea umană la mercur se referă în principal la forma Me-Hg, care ajunge în organism prin consumul de alimente marine contami-

Tabelul 1. Caracteristici demografice ale lotului studiat (n = 78; media aritmetică ± DS [limite]).

Variabila	media ± DS (limite)
Vârsta (ani)	86 ± 3 (81-93)
B-[Hg] (nmol/L)	14 ± 6 (6-28)
Scorul MMSE*	27 ± 3 (17-30)
Fumatul**	59 / 14 / 5
Plombele de amalgam***	13 ± 15 (1-65)
Nr. de dinți	17 ± 7 (1-28)

* 9 subiecți au avut scorul MMSE < 24 (3 bărbați; 6 femei)

** Nr. de nefumători / foști fumători / fumători

*** Nr. total de suprafețe plombate cu amalgam (din care 21,4% au fost plombe ocluzale).

nate. Valorile de referință raportate pentru B-[Hg] total sunt de 5-40 nmol/L¹⁰, 10 nmol/L⁴³ și, în cazul consumatorilor de pește, 10-220 nmol/L⁴⁴. La oameni, expunerea la niveluri crescute de Hg a fost asociată cu deficite neurologice și de dezvoltare severe. În funcție de doză, efectele pot varia de la un discret deficit senzitiv sau o tulburare cognitivă ușoară și până la moarte. Înțelegerea riscului potențial ce decurge din expunerea la amalgam depinde de cunoștințele noastre privind toxicologia vaporilor de mercur inhalați și cantitățile eliberate și inhalate din plombele de amalgam. Unele condiții genetice și de mediu pot influența cinetica Hg și efectele neurocomportamentale, făcând dificilă evaluarea riscului asociat cu Hg, ca în cazul studiului de față (media B-[Hg] = 14 nmol/L), mai ales în prima porțiune a curbei doză-răspuns.

Tabelul 2. Coeficienții de corelație (tip Spearman Rank) între numărul plombelor dentare de amalgam, numărul plombelor ocluzale și variabilele B-[Hg] și scorul MMSE.

Subiecți	Plombe de amalgam* vs. B-[Hg].	Nr. plombe ocluzale* vs. B-[Hg].	Plombe de amalgam* vs. score MMSE.	Nr. de plombe ocluzale vs. scorul MMSE.	B-[Hg] vs. scorul MMSE.
Femei (n=44)	0,42 (P=0,005)	0,41 (P=0,006)			0,06 (P=0,691)
Bărbați (n=34)	0,02 (P=0,911)	0,10 (P=0,573)			0,24 (P=0,179)
Total (n=78)	0,24 (P=0,032)	0,27 (P=0,016)	0,02 (P=0,869)	0,04 (P=0,74)	0,12 (P=0,290)

* Nr. total de suprafețe plombate cu amalgam

Acest studiu are totuși anumite limite, ce trebuie evidențiate. Numărarea suprafețelor dentare refăcute utilizând plombe de amalgam este o metodă indirectă și imprecisă de estimare a expunerii la vaporii de Hg⁰ eliberați din plombele dentare de amalgam. Mai mulți factori ar fi putut afecta nivelul B-[Hg] la populația studiată, adică factori genetici, obiceiuri alimentare, tratamente dentare recente, statusul igienei orale, tipul și localizarea plombelor de amalgam, precum și starea generală de sănătate. Mai mult, estimarea B-[Hg] reflectă în primul rând expunerea recentă la Hg (de toate tipurile).

Amalgamul dentar plasat cu ani de zile în urmă ar putea fi mai important decât numărul de plombe de amalgam la vârste de peste 81 de ani raportat la scorul MMSE la bătrâni. Plombele de amalgam pot suferi schimbări în timp; unii dinți plombați cu amalgam pot fi extrași ulterior, alții acoperiți cu coroane din alte materiale. Este posibil ca dinții din segmentul posterior al cavității orale îmbrăcați în coroane, precum și premolari sau molarii lipsă să fi avut plombe de amalgam. Indivizii din acest grup de studiu aveau dinți îmbrăcați în coroane pe bază de alte materiale⁴⁵ iar molarii și premolari au fost dinții ce lipseau cel mai frecvent. În medie, mai puțin de jumătate din molari erau încă păstrați.

Faptul că nu a fost găsită nici o relație între scorul MMSE și numărul

de plombe dentare de amalgam sau B-[Hg] nu este o surpriză întrucât design-ul studiului de tip analiză încrucișată oferă informații asupra expunerii recente la Hg. Recrutarea selectivă a subiecților în general sănătoși, lucru semnificativ pentru subiecții KEOHS, exclude de asemenea în mare măsură subiecții ce ar prezenta interes pentru studiu (prevalența BA în această sub-populație a fost de 5% iar pentru toți participanții la a doua vizită din cadrul proiectului Kungsholmen de 27%).

Întrucât am descoperit oricum o relație semnificativă între numărul de plombe dentare de amalgam și B-[Hg] la femei, există posibilitatea ca o expunere cronică la doze mici de Hg emanat din amalgamul dentar să contribuie la acumularea totală de Hg; această expunere ar putea deci juca un rol în apariția efectelor negative asupra stării de sănătate, de tipul neurotoxicității.

Nu dispunem de nici o explicație evidentă pentru faptul că relația între numărul de plombe dentare de amalgam și B-[Hg] a fost observată numai în cazul femeilor, în acest studiu, întrucât nu au existat diferențe legate de sex în ceea ce privește variabilele studiate. Oricum, toate extremele cu B-[Hg] ≤ 28nmol/L au fost bărbați. Dacă aceasta indică faptul că bărbații, în medie, consumă mai mult pește (adică sunt expuși la Me-Hg) decât femeile, originea B-[Hg] ar fi oarecum diferită între sexe. Prezența amalgamului dentar

ar explica în mai mare măsură B-[Hg] la femei decât la bărbați. Diferențele de cinetică ar putea de asemenea fi o explicație plauzibilă pentru faptul că relația între B-[Hg] și numărul de plombe dentare de amalgam diferă în funcție de sex.

Rezultatele trebuie oricum interpretate cu mare grijă deoarece populația studiată a fost atât restrânsă numeric cât și recrutată selectiv.

Concluzii

Rezultatele noastre arată că numărul plombelor dentare de amalgam ar putea explica, măcar în parte, nivelul B-[Hg]. Astfel, nu poate fi exclusă posibilitatea ca o expunere cronică la doze mici de mercur, cauzată de amalgam, să contribuie la acumularea totală de Hg.

Cercetarea și cuantificarea riscului de expunere la Hg este dificilă, mai ales în partea inferioară a curbei doză-răspuns. Luând în considerare studiile care au raportat existența unor valori crescute ale B-[Hg] la pacienții cu BA și efectele toxice bine cunoscute ale expunerii la Hg, este nevoie de cercetări ulterioare pentru a identifica consecințele expunerii îndelungate la doze mici de Hg asupra sănătății, precum și grupurile populaționale aflate la risc.

Până acum nici un studiu nu a dovedit existența unei relații între plombele de amalgam și efectele adverse asupra stării de sănătate.

Aceasta înseamnă că pentru evaluarea riscului este nevoie de noi markeri biologici, atât pentru expunere cât și pentru efectele Hg. Pentru a înțelege mai bine interacțiunea dintre îmbătrânire și expunerea la diverse substanțe chimice, și aici ne referim la instalarea diferitelor probleme de sănătate, este necesară o cercetare mai aprofundată a cineticii și parametrilor biologici la bătrâni⁴⁶. Privit din această perspectivă, acest studiu vine în sprijinul acestei cerințe și are meritul de a raporta nivelul B-[Hg] la numărul de plombe dentare de amalgam în cazul unei populații urbane în vârstă bine definite.

Mulțumiri

Prof. Laura Fratiglioni și Prof. Douglas E. Morse pentru susținerea proiectului. Mulțumim tuturor membrilor Kungsholmen Study Group pentru colaborare și Karolinska Institutet și Alzheimer Foundation din Suedia pentru susținerea financiară.

Bibliografie

- WHO, Guidelines for drinking water quality, Mercury 2nd ed. Vol.2 *Health criteria and other supporting information*. World Health Organisation, Geneva 1996.
- Aronsson A.M., Lind B., Nylander N., Nordberg M., Dental amalgam and mercury. *BioMetals* 1989; 2: 25-30.
- Begerow J., Zander D., Freier I., Dunemann L., Long-term mercury excretion in urine after removal of amalgam fillings. *Int Arch Occup Environ Health* 1994; 66(3): 209-212.
- Hursh J.B., Partition coefficients of mercury (²⁰³Hg) vapour between air and biological fluids. *J Appl Toxicol* 1985; 5(5): 327-332.
- Bornman G., Henke G., Alfes H. et al., Concerning the enteral absorption of metallic mercury. *Arch Toxicol* 1970; 26: 203-209.
- Halbach S., Clarkson T.W., Enzymatic oxidation of mercury vapor by erythrocytes. *Biochem Biophys Acta* 1978; 522-531.
- NRC-National Research Council, *Toxicological Effects of Methylmercury*. National Academy Press Washington, DC. USA 2000.
- Birke G., Johnels A.G., Plantin L.O., Sjostrand, Skerfving S., Westermark T., Studies on humans exposed to methyl mercury through fish consumption. *Arch Environ Health* 1972; 25: 77-91.
- Scherlock J., Hislop J., Newton D., Topping G., Whittle K., Elevation of mercury in human blood from controlled chronic ingestion of methylmercury in fish. *Hum Toxicol* 1984; 3: 127-131.
- WHO/IPCS, Methylmercury. *Environ Health Criteria* 101, I PCS, World Health Organisation, Geneva 1990.
- WHO/IPCS, Inorganic Mercury. *Environ Health Criteria* 118, IPCS, World Health Organisation, Geneva 1991.
- Echeverria D., Aposhian H.V., Woods J.S., Heyer N.J., Aposhian M.M., Bittner A.C. Jr. et al., Neurobehavioral effects from exposure to dental amalgam Hg (0): new distinctions between recent exposure and Hg body burden. *FASEB J* 1998; 129: 971-80.
- Eley B.M., The future of dental amalgam: a review of the literature. Part 5: mercury in the urine, blood and body organs from amalgam fillings. *Br Dent J* 1997; 182: 413-417
- Jones D.W., Exposure and absorption and crucial question of limits for mercury. *J Can Dent Assoc* 1999; 65: 42-46.
- U.S. Public Health Service, Dep of Health and Human Services, *Dental amalgam: A Scientific Review and Recommended Public Health Service Strategy for Research, Education, and Regulation*. Washington: US DHHS 1993.
- SoS-Socialstyrelsen (The National Board of Health and Welfare) redovisar 1994:21 (in Swedish, summary in English) ISBN 91-38-11407-0.
- Forskningsrådsnämnden 1998 (in Swedish).
- ADA- American Dental Association, Dental Amalgam: update on safety concerns. ADA Council of Scientific Affairs. *J Am Dental Assoc* 1998; 129: 494-503.
- Langworth S., Elinder C.G., Gothe C. J., Vesterberg, Biological Monitoring of Environmental and Occupational Exposure to Mercury. *Arch Occup Environ Health* 1991; 63: 161-167.
- Olstad M.L., Hooland R.I., Wandel N., Hengsten P A., Correlation between Amalgam Restorations and Mercury Concentrations in Urine. *J Dent Res* 1987; 66: 1179-1182.
- Snapp K.R., Boyer D.B., Peterson L.C., Svare C.W., The Contribution of Dental Amalgams to Mercury in Blood. *J Dent Res* 1989; 68: 780-785.
- Kjellström T., Kennedy P., Wallis S., Mantell C., Physical and mental development of children with prenatal exposure to mercury from fish. National Swedish Environmental Protection Board report 3080, Stockholm, Sweden 1986.
- Kjellström T., Kennedy P., Wallis S. et al., Physical and Mental Development of children with Prenatal Exposure to Mercury from Fish. Stage II: Interviews and psychological tests at age 6. *National Swedish Environmental Protection Board report* 3080, Stockholm, Sweden 1989.
- Grandjean P., Weihe P., White R.F. et al., Cognitive deficit in 7-year-old children with prenatal exposure to methylmercury. *Neurotoxicol Teratol* 1997; 19(6): 417-428.
- Grandjean P., Weihe P., White R.F., et al., Prenatal exposure to methylmercury in the Faroe Islands and neurobehavioral performance at age seven years. Response to workgroup questions for presentation on 18-20 Nov. 1998. *In Scientific Issues Relevant to Assessment of Health Effects from Exposure to Methylmercury*. Appendix II-B, Faroe Islands Studies. National Institute for Environmental Health Sciences 1998. Available: http://ntp-server.niehs.nih.gov/main_pages/PUBS/MethMercWshpRpt.html
- Grandjean P., Budtz-Jorgensen E., White R.F., Weihe P., Debes F., Keiding N., Methylmercury exposure biomarkers as indicators of neurotoxicity in children age 7 years. *Am J Epidemiol* 1999; 150(3): 301-305.
- Davidson P.W., Myers G.J., Cox C., et al., Longitudinal neurodevelopmental study of Seychellois children following in utero exposure to methylmercury from maternal fish ingestion: outcomes at 19 and 29 months. *Neurotoxicol* 1995; 16(4): 677-688.
- Davidson P.W., Myers G.J., Cox C. et al., Effects of prenatal and postnatal methylmercury exposure from fish consumption on neurodevelopment: Outcomes at 66 months of age in the Seychelles Child Development Study. *JAMA* 1998; 280(8): 701-707.

29. Ehmann W.D., Markesbery W.R., Alauddin M., Hossain T.I., Brubaker E.H., Brain trace elements in Alzheimer's disease. *Neurotoxicol* 1986; 7(1): 195-206.
30. Thompson C.M., Markesbery W.R., Ehmann W.D., Mao Y.X., Vance D.E., Regional brain trace-elements studies in Alzheimer's disease. *Neurotoxicol* 1988; 9(1):1-7
31. Ward N.I., Mason J.A., Neutron activation analysis for identifying elemental status in Alzheimer's disease. *J Radiol Nucl Chem* 1987; 113: 515-526.
32. Basun H., Forsell G.L., Wetterberg L., Winblad B. Metals and trace elements in plasma and cerebrospinal fluid in normal ageing and Alzheimer's disease. *J Neural Transm* 1991; 4: 231-258.
33. Hock C., Drasch G., Golombowski et al., Increased blood mercury levels in patients with Alzheimer's disease *J Neural Transm* 1998; 105: 59-68.
34. Fratiglioni L., Grut M., Forsell Y., et al., Prevalence of Alzheimer's disease and other dementias in an elderly population: Relationship with age, sex, and education. *Neurol* 1991; 41: 1886-1892.
35. Fratiglioni L., Viitanen M., Bäckman L., Sandman P.O., Winblad B., Occurrence of Dementia in Advanced Age: The Study Design of the Kungsholmen Project. *Neuroepidemiol* 1992; 11(suppl 1): 29-30.
36. Morse D.E., Holm-Pedersen P., Holm-Pedersen J., et al., Dental caries in persons over the age of 80 living in Kungsholmen, Sweden: Findings from the KEOHS Project. *Community Dental Health* 2002a; 19: 261-267.
37. Basun H., Lind B., Nordberg M., Nordström M., Sparring-Bjorksten K., Winblad B., Cadmium in blood in Alzheimer's disease and non-demented subjects. *BioMetals* 1994; 7: 130-134.
38. Nordberg M., Winblad B., Fratiglioni L., Basun H., Lead Concentrations in Elderly Urban People Related to Blood Pressure and Mental Performance: Results From a Population Based Study. *Am J of Industrial Medicine* 2000a; 38: 290-294.
39. Nordberg M., Winblad B., Basun H., Cadmium concentration in Blood in An Elderly Urban Population. *BioMetals* 2000b; 13: 311-317.
40. Johansson N., Basun H., Winblad B., Nordberg M., Relationship between mercury concentration in blood, cognitive performance, and blood pressure, in an elderly population. *BioMetals* 2002; 15: 189-195.
41. Folstein M.F., Folstein S.E., Mc Hugh P.R., 'Mini-Mental State': a practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 1975; 12: 189.
42. U.S. Dep of Health and Human Services (USDHHS), PHS, National Institutes of Health (1987) Oral Health of United States Adults. *The national survey of oral health in U.S. employed adults and seniors: 1985-1986, National Findings*. Bethesda, MD, NIH Publication No. 87-2868.
43. Nordberg G.F., Brune D., Gerhardsson L. et al., The ICOH and IUPAC international program for establishing reference values of metals. *Sci Total Environ* 1992; 120(1-2): 17-21.
44. Brune D., Nordberg Gr., Vesterberg et al., A review of normal concentration of mercury in human blood. *Sci Total Environ* 1991; 100: 235-282.
45. Morse D.E., Holm-Pedersen P., Holm-Pedersen J., et al., Prosthetic crowns and other clinical risk indicators of caries among old-old Swedish adults: Findings from the KEOHS Project. *Gerodontology*, 2002b; 19(2): 73-79.
46. WHO/IPCS, Principles for Evaluating Chemical Effects on the Aged Population. *Environmental Health Criteria* 144, IPCS, World Health Organisation, Geneva 1993.

Recomandări pentru autori

Vă rugăm să specificați în colțul din dreapta sus al paginii titlu dacă lucrarea dvs. este un „studiu original” sau o „recenzie” (review). Toate articolele vor fi atent revizuite înainte de acceptare și publicare.

Aveți posibilitatea de a expedia prin poștă trei exemplare ale articolului împreună cu toate fișierele pentru text și imagini pe floppy disk sau CD, sau de a trimite articolul utilizând poșta electronică, la următoarea adresă:

Mail/Courier Service:

Prof. Dr. Luiza Spiru
Brain Aging International Journal
“Ana Aslan” International Academy of Aging
Piața M. Kogălniceanu nr. 1, Sect. 5
Bucharest, Romania

Electronic Submission:

Trimiteti fișiere în format PDF care să nu depășească 2 MB la următoarea adresă de mail: office@brainaging.ro

Manuscrisele trebuie să fie în format MS Word 6.0 sau superior.

Prima pagină va conține titlul articolului, numele complet al autorilor, cel mai important grad academic relevant, instituțiile la care fiecare dintre autori este afiliat și adresa completă a fiecărui autor, autorul însărcinat cu corespondența, adresa de e-mail, numerele de telefon și fax și, dacă manuscrisul a fost prezentat oral sau sub formă de poster în cadrul unei întruniri, numele organizației, locul și data când a fost prezentat.

Prima folosire a unei abrevieri neconvenționale trebuie precedată de numele complet. Sunt preferate denumirile generice ale medicamentelor. Dacă se folosește o denumire comercială, aceasta trebuie scrisă între paranteze după numele generic, iar în subsolul paginii va apărea o notă cu numele și adresa furnizorului.

La intervale potrivite trebuie inserate subtitluri.

Fișierele MS Word nu trebuie să conțină fotografii, figuri sau grafice; acestea trebuie expediate ca fișiere separate, indicând în fișierul MS Word locul unde trebuie inserate. Figurile sau graficele nu sunt acceptate în format MS Word.

Nu folosiți rând liber între paragrafe. Nu folosiți indentare („tabs”) sau spațiu suplimentar la începutul paragrafelor sau pentru elementele unei liste. Nu indentați rândurile suplimentare la bibliografie. Dezactivați spațiul dintre rânduri. Dezactivați despărțirea în silabe. Nu specificați împărțirea paginilor, numerotarea sau notele din partea superioară a paginii. Nu specificați formatarea caracterelor. Este necesară atenție la introducerea corectă a cifrei „unu” (1) și literei „el” mic (l), precum și la „zero” (0) și „o” litera mare (O).

Caracterele non-standard (litere grecești, simboluri matematice etc.) trebuie codificate corespunzător de-a lungul textului. Sunteți rugați să faceți o lista cu aceste caractere împreună cu codul folosit.

Figuri și tabele

Este încurajată folosirea figurilor color. Graficele trebuie intitulate și numerotate crescător conform referirilor din text. Tabelele trebuie să fie explicate în text. Pe o pagină separată trebuie furnizate scurte legende descriptive. Legenda figurilor publicate anterior trebuie să includă informații complete referitoare la publicația originală, cu precizarea dreptului de autor. În acest sens, vă rugăm să ne anexați copii după permisiunea editorului și autorului pentru folosirea figurilor.

Tabelele, fotografiile și figurile trebuie expediate în unul din următoarele formate: TIF, EPS sau AI. Nu sunt acceptate fișiere JPEG sau GIF. Tabelele pot fi trimise și ca fișiere MS Word sau MS Excell. Acceptăm de asemenea și fișiere Corel Draw.

Rezoluția ilustrațiilor, graficelor și fotografiilor trebuie să fie de cel puțin 300 dpi.

Revizuirea manuscriselor

Toate lucrările sunt pasibile de revizuire editorială. Editorii vor decide dacă lucrarea este potrivită pentru profilul editorial al Revistei.

Articolele conținând material original sunt acceptate pentru analiză cu presupunerea implicită că au fost trimise doar acestei reviste. Autorii trebuie să obțină toate accepturile și aprobările necesare înainte să expedieze articolele.

Revista își rezervă dreptul de a opera revizuirii de natură editorială înainte de publicare.

Toate manuscrisele sunt luate la cunoștință imediat și nu se va precupeți nici un efort pentru a informa autorii despre situația lor în maxim 60 de zile.

Cuvintele cheie

Pentru a putea realiza un index, este esențială existența unei liste de 3-10 cuvinte cheie.

Rezumatul

Autorii trebuie să furnizeze un rezumat constând dintr-un paragraf (100-150 de cuvinte) ce concentrează principalele idei din articol. În rezumat trebuie punctate clar obiectivele, metodele folosite, rezultatele principale și concluziile studiului.

Bibliografia

Referințele bibliografice trebuie citate în text prin numere crescătoare, prin numere arabe superscript. Fiecare referire trebuie să conțină numele tuturor autorilor. Numele revistelor trebuie abreviate conform „Index Medicus”.

Nr., numele autorilor, titlul articolului. Revista, Anul; ediția: paginile. [pentru articolele din reviste]

Nr., numele autorilor, titlul articolului. În: numele editorilor, titlul cărții. Locul unde a fost publicată: Editura, Anul: paginile. [pentru cărți editate]

Nr., numele autorilor, titlul cărții. Locul unde a fost publicată: Editura, Anul. [pentru monografii]

Exemple:

5. Bierer L.M., Hof P.R., Purohit D.P., Carlin L., Schmeidler J., Davis K.L., Perl D.P., Neocortical neurofibrillary tangles correlate with dementia severity in Alzheimer's disease. Arch Neurol 1995; 52: 81-8. [pentru articole din reviste]

6. Benton A., Tranel D., Visuoperceptual, Visuospatial, and Visuoconstructive Disorders. In: Heilman K.M. and Valenstein E., eds., Clinical Neuropsychology. Oxford University Press, 1993: 195-212 [pentru cărți editate]

7. Luria A., The Working Brain. New York: Basic Books, 1973.[pentru monografii]

Drepturile de autor

Autorii ce trimit lucrări o fac înțelegând că dacă manuscrisul este acceptat pentru publicare drepturile de autor pentru articol, inclusiv dreptul de a reproduce articolul sub orice formă și pe orice suport, va aparține exclusiv Editurii. Trimiterea articolului de către autor implică acordul automat al acestuia pentru atribuirea exclusivă a drepturilor de autor Editurii LSEnia dacă și când manuscrisul este acceptat pentru publicare. Lucrarea nu va fi publicată în altă parte, indiferent de limbă, fără acceptul scris al Editurii. Nici un fel de material publicat în revistă nu poate fi stocat pe microfilm sau casete video sau baze de date electronice fără acceptul prealabil, în scris, al Editurii.

Varia

Este necesar ca Revista să primească manuscrisele cu cât mai mult timp înainte de termenul limită. Este nevoie de timp pentru ca manuscrisele să fie revizuite, returnate editorului, corectate, tehnoredactate și tipărite. Toate manuscrisele vor fi trimise cât mai curând posibil. Vom informa autorul asupra datei de publicare a articolului.

Revista se așteaptă ca autorii să dezvăluie orice asociere comercială sau financiară ce ar putea cauza un conflict de interese legat de articolul publicat. Toate resursele financiare folosite pentru susținerea lucrării trebuie menționate în pagina titlu.