

## Editorial

# Cercetarea bazata pe jocul ipotezelor, “era omica” și sinergismul lui Weinstein.

La cumpana dintre milenii, cantitatea imensă de date furnizată de cercetarea în domeniul genomicii, proteomicii, imagisticii medicale etc. a determinat o serie de oameni de știință să întrevadă un viitor în care conceptele și instrumentele specifice informaticii vor deveni probabil un rival nemilos al metodei științifice bazată pe jocul ipotezelor (hypothesis-driven research), metodă ce a dominat științele bio-medicale cel puțin de-a lungul secolului trecut. În pofida scepticismului unor personalități științifice de marcă (J.F. Allen, 2001), de cealaltă parte a baricadei Neil R. Smalheiser de exemplu consideră că instrumentele informaticii pot ajuta cercetătorii să-și formuleze, să-și verifice și să-și ierarhizeze ipotezele. Cercetarea bio-medicală a intrat în ,era omicii'. Departe de a fi o traducere a limbajului științific uzual în termeni ezoterici, domeniul recent născut și aflat în plină dezvoltare al ,omicii' și ,abordarea omica' sunt de fapt instrumente metodologice menite să pună o nouă ordine conceptuală în gândirea științifică, promovând o abordare integrativă, capabilă să pătrundă în miezul unei căutări, să-l releve și să-i netezească drumul către aplicarea în practică. În procesul integrativ prin care trec la ora actuală, bio-medicina (îndeosebi cea moleculară), și informatica adoptă pe scara din ce în ce mai largă, om’-urile (,omes’). Probabil că în Statele Unite se află cel mai mare număr de cercetători în domeniul bio-medical și bioinformaticieni care utilizează cu succes diferite ,omuri’ - fenomenul, fiziomul, metabolomul etc. În focul dezbaterilor(2001), John N. Weinstein atrage însă atenția asupra sinergiei care trebuie să existe între cele două metode științifice: abordarea omica recentă și cercetarea tradițională bazată pe jocul ipotezelor. Studiul omic al unei largi cohorte de molecule intracelulare nu poate răspunde unor întrebări esențiale fără a integra informația furnizată de cercetarea bazată pe jocul ipotezelor. Conceptele proprii omicii pun la îndemâna cercetătorilor o paradigma nouă, holistică, capabilă să-i ajute să elaboreze scheme euristice în domenii de cercetare în care încă se așteaptă definiții majore, constituind astfel una dintre cele mai convenabile și importante reforme în domeniul biologiei. La Academia Internațională Anti-Aging Ana Aslan echipa noastră de cercetare a elaborat și a pus deja în lucru două paradigme/proiecte de cercetare științifică de acest gen. Proiectul acronimat NERO-MCI, centrat pe abordarea omica (genomică/epigenomică, metabolomică/metilomică, nutriomică și sociomică) a Deficitului Cognitiv Lejer (Mild Cognitive Impairment – MCI), entitate de interes extrem ca stadiu patologic încă susceptibil la intervenții medicale și non-medicale, dar mai cu seamă la elaborarea unor algoritmi eficienți de prevenție, a fost primit cu interes în iulie anul acesta de către specialiștii participanți la Conferința Internațională asupra Bolii Alzheimer (ICAD – Chicago 2008), unde a luat ființă și un cadru internațional de cooperare în vederea realizării sale. Cel de-al doilea proiect vizează reconsiderarea unor „veterani” ai arsenalului farmacologic geriatric cu acțiune în domeniul întârzierii îmbătrânirii cerebrale și corectării patologiei cerebrale de vârstă. Definirea și studiul ,om’-urilor critice pentru îmbătrânirea cerebrală și patologia neurodegenerativă se profilează ca o abordare nouă, holistică și cu impact major, capabilă să răspundă la întrebări critice și să pună într-o nouă lumină teorii vechi, rezultate de cercetare și intervenții medicale și nemedicale.

Luiza Spuru MD, PhD

Ileana Turcu, Cercetător Științific Principal

# SCIENTIFIC BOARD



**LUIZA SPIRU**  
Editor



**BENGT WINBLAD**  
Editor in Chief



**KHALID IQBAL**  
Editor



◀ Agneta Nordberg  
Eva von Strauss  
Kaj Blennow  
Ove Almkvist



◀ Constantin Balaceanu Stolnici  
Rodica Ghiuru  
Ioan Romosan  
Alexandru Șerbănescu  
Leon Zagrean  
Roxana Deleanu

Eric Salmon  
Peter Paul De Deyn  
Rik Vandenberghe ▶



◀ Dave Morgan  
Eliezer Masliah  
George Alexopoulos  
John Morley  
Steven deKosky  
Peter J. Whitehouse

Lon Schneider  
Raj Kalaria  
John Hardy  
Steven Ferris



◀ Hilka Soininen  
Irina Alafuzoff

Amos D. Korczyn  
Youdim Moussa  
Michael Davidson  
Daniel Michaelson ▶



◀ Emma Reynish  
Alan Sinclair  
Emil Toescu  
Gordon Wilcock  
Martin Rossor

Roy Jones  
Roger Bullok  
David Wilkinson



◀ Howard Feldman  
Rémi Quirion  
Claudio Cuello

Natalia Batchinskaya ▶



◀ Robert Elsner

Gunhild Waldemar ▶  
Peter Johannsen  
Steen Hasselbalch  
Joergen Nielsen



◀ Jacques Touchon  
André Delacourte  
Bruno Vellas  
Françoise Forette  
Jean-Marc Orgogozo  
Pierre Jean Ousset



◀ Harald Hampel  
Lutz Frölich

Ezio Giacobini ▶  
Christoph Hock  
Thomas Dierks  
Jean-Pierre Michel



◀ José M. Ribera-Casado  
Merce Boada-Rovira  
Rafael Blesa  
Ulises Cortés  
David Riaño  
Abdu Adem ▶



◀ Maria Barcikowska

Philip Scheltens ▶  
Pieter Jelle Visser  
Frans Verhey  
Marcel Olde-Rikkert



◀ Giovanni Frisoni  
Patrizia Mecocci  
Sandro Sorbi

Prasert Boongird ▶



◀ Anthony Jorm  
Colin L. Masters  
Henry Brodaty

Alexey Olovnikov ▶  
Valeria Strelets



◀ Jianzhi Wang  
Li Lin

Masatoshi Takeda ▶  
Akihiko Takashima  
Takeshi Tabira



◀ Magda Tsolaki  
Paraskevi Sakka  
Sokratis Papageorgiou  
Ioannis Valavanis  
Dimosthenis Valavanis

Michal Novak ▶



◀ Barry Halliwell  
Ng Tze Pin

Vijay Chandra ▶



# CUPRINS

## EDITORIAL

- Cercetarea bazată pe jocul ipotezelor și ,era omica’.**  
**Sinergismul lui Weinstein.....1**  
Luiza Spiru, Ileana Turcu

## REVIEW

- Rivastigmina în boala Alzheimer:**  
**funcția cognitivă și calitatea vieții..... 5**  
Roberta Annicchiarico, Alessia Federici, Carla Pettinati, Carlo Caltagirone

## ARTICOLE

- Deficitul Cognitiv Lejer: Predictorii de ordin funcțional ai**  
**progresiei către boala Alzheimer..... 17**  
Michael Borrie, Matthew Smith, Jennie Wells

- Creșterea nivelului de 4-Hydroxy-2-Nonenal, produs final**  
**major al peroxidării lipidice, în creierul a două linii de**  
**șoareci cu îmbătrânire accelerată, SAMP8 și AMP10..... 22**  
Xuemin Ye, Jae Il Kim, Harry C. Meeker, Piotr B. Kozlowski,  
Yong Sun Kim, Richard Rubenstein, Richard I. Carp

- Antagonistul receptorului histaminic H2, Cimetidina,**  
**induce activare microglială la șoareci transgenici**  
**APP+PS1..... 29**  
Megha U. Ambegaonkar, Anand S. Nagle, John C. Breitner, Jason Deleon,  
Jennifer Alamed, Nedda Wilson, Dave Morgan, Marcia N. Gordon

- Activitatea complexului II-III al lanțului transportor**  
**de electroni este diminuată în mușchiul scheletic**  
**în contextul bolii Alzheimer..... 36**  
Rolf Wibom, Tor Ansved, Ulla Hamberg, Mari Blomberg, Kristian Borg,  
Hans Basun, Ulrica von Döbeln, Anita Garlind

- Evaluarea geriatrică standardizată**  
**a unui lot de pacienți cu demență**  
**de tip Alzheimer și patologii tirodiană..... 43**  
Ioana Ioancio, Luiza Spiru, Ion Gheorghe Totoianu,  
Alexandru Ioancio, Daniela Mitrache

- Scala Gottfries - Brane - Steen (GBS) ..... 46**

- Cum să ne activăm creierul ..... 51**

- Share it ..... 52**

- Comorbiditatea și importanța ei în**  
**starile predementiale..... 54**  
Pieter Jelle Visser, Ileana Turcu, Florina Cristescu,  
Ioana Ioancio, Costin Nuta, Luiza Spiru

- Conferința Internațională asupra Bolii Alzheimer**  
**– ICAD, Chicago, iulie 2008 ..... 55**



**BRAIN AGING**  
INTERNATIONAL JOURNAL

### Redacția:

„Ana Aslan“ International Academy  
of Anti Aging®  
Fundația „Ana Aslan International“®

Piața Kogălniceanu nr. 1, ap. 17  
Sector 5, București, România  
Telefon/Fax: (021) 312 46 96  
[office@brainaging.ro](mailto:office@brainaging.ro)  
[www.brainaging.ro](http://www.brainaging.ro)

Redactor coordonator:  
Dr. Ileana Turcu, Director Științific,  
[it@brainaging.ro](mailto:it@brainaging.ro)

© „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.**

## Bun venit în Academie

Împreună cu colegii mei sunt încântat să vă urez bun venit ca membri ai Academiei Internaționale Ana Aslan. Veți întâlni specialiști din peste 50 de țări, membri ai acestei instituții, dedicați științelor medicale, educației, culturii și artei.



*Prof. Bengt Winblad,  
MD, PhD*



*Ass. Prof. Luiza Spiru,  
MD, PhD*

Academia se dedică profund îmbătrânirii sănătoase și prevenției geriatrice, îndeosebi prin crearea unui cadru excelent de cercetare, învățământ și asistență medico-socială a vârstnicului, în acord cu prevederile Organizației Mondiale a Sănătății, Uniunii Europene, și în colaborare cu consorții europene puternice care desfășoară activități în domeniul îmbătrânirii.

Veți întâlni o societate de remarcabili oameni de știință care a luat ființă în anul 2000.

Vă invităm să participați la conferințe, simpozioane, organizate anual, care acoperă toate domeniile specifice de ordin medical, social și de învățământ.

Vă invităm să vizitați site-ul nostru și ediția on-line a revistei noastre. Vă așteptăm la Academia noastră!



*Prof. Khalid Iqbal, PhD*

# Rivastigmina în boala Alzheimer: funcția cognitivă și calitatea vieții.

Roberta Annicchiarico<sup>1, #</sup>, Alessia Federici<sup>1</sup>, Carla Pettenati<sup>2</sup>, Carlo Caltagirone<sup>1, 3</sup>

<sup>1</sup>I.R.C.C.S. Fondazione Santa Lucia, Rome, Italy

<sup>2</sup>Centro Alzheimer Ospedale di Passirana di Rho Rho, Milan, Italy

<sup>3</sup>Dipartimento Neurologia, Università "Tor Vergata" di Roma

## Rezumat

**Boala Alzheimer (Alzheimer's Disease - AD) este o maladie cronică neurodegenerativă caracterizată prin pierderea progresivă a capacităților cognitive și funcționale, cu impact devastator asupra pacientului și repercusiuni în domeniul sănătății publice și întreaga societate. Încetinirea procesului de deteriorare cognitivă, intervenția benefică asupra duratei bolii, prezervării autonomiei pacientului și asupra tulburărilor comportamentale reprezintă țintele majore ale terapiei farmacologice. Inhibitorii colinesterazei (ChE-I) și-au dovedit eficiența în tratamentul deficitelor cognitive, comportamentale și funcționale din cadrul AD. Rivastigmina este un inhibitor atât al acteilcolinesterazei (AChE) cât și al butiril-colinesterazei (BuChE), enzime implicate în hidroliza acetilcolinei (ACh). Acest medicament și-a dovedit acțiunea benefică pentru pacienții cu AD. Totuși, beneficiile sale sunt limitate, iar acțiunea sa pe termen lung nu este încă temeinic demonstrată.**

**Cuvinte cheie:** Alzheimer, medicamente, terapie

## Introducere

Dementa de tip Alzheimer (AD) (Mc Khann et al. 1984) este o boala cronică neurodegenerativă caracterizată de un debut insidios și deteriorare progresivă a capacităților cognitive și funcționale, la care se asociază tulburări comportamentale de diferite grade, ce conduc în cele din urmă la dependența totală.

Boala Alzheimer este cea mai comună formă de demență, cu o pondere de 50-60% din totalul cazurilor. Incidența de 1% în cazul indivizilor de 60-64 de ani înregistrează o creștere aproape exponențială cu vârsta, astfel ca atinge 24-33% la vârstele de peste 85 de ani în lumea vestică (Ferri et al. 2005). Datele privind situația în țările în curs de dezvoltare sunt mai puțin numeroase, dar se estimează ca 60% din pacienții cu demență trăiesc în aceste regiuni. Fiind foarte comună, boala Alzheimer constituie o problemă majoră de sănătate publică. În 2001 peste 24 de milioane de persoane sufereau de demență, și se estimează că acest număr se va dubla la fiecare 20 de ani, astfel ca, data fiind creșterea probabilă a speranței de viață, în 2040 se previzionează un număr de 81 de milioane de bolnavi (Ferri et al. 2005).

Intrucât AD a devenit o povară economică și de sănătate pentru societate, eforturile se îndreaptă către dezvoltarea unei strategii terapeutice în stare să modifice istoria naturală a acestei boli. În general, AD are o durată medie de 6-10 ani: pierderile cognitive anuale, măsurate cu ajutorul subscalei Alzheimer's Disease Assessment Scale Cognitive Subscale (ADAS Cog) (Rosen et al. 1984) sunt de

8-10 puncte, iar în cazul Mini Mental Status Examination (MMSE) (Folstein et al. 1975) de 2-4 puncte; Clinical Rating and Clinician's Interview-Based Impression of Change Plus Caregiver Input (CIBIC-Plus) (Schneider et al. 1997) raportează un declin de aproximativ 1,5% la fiecare 6 luni. Scalele enumerate mai sus constituie instrumentele cele mai utilizate în scopul aprecierii disfuncțiilor cognitive. Trecerea de la autonomia totală până la dependența funcțională totală se produce la pacienții AD în aproximativ 4-6 ani. Cel puțin 90% din pacienți prezintă tulburări comportamentale și în funcție de o serie de variabile ambientale, cu incidența diferită în diferite stadii, la diferiți indivizi, și la același pacient la timpi diferiți. Durata bolii, având ca final dependența totală, înseamnă un număr important de ani pentru pacienți, rudele și îngrijitorii acestora, cu o calitate a vieții nesatisfăcătoare; aceasta din urmă reprezintă, de aceea, una din țintele majore ale terapiei farmacologice.

La ora actuală, în tratamentul simptomatic al DA se recomandă două categorii de medicamente, inhibitorii colinesterazei și antagoniștii receptorului NMDA, fiecare țintind o componentă neurochimică diferită considerată ca bază a bolii. Inhibitorul colinesterazei este larg recomandat în tratamentul AD ușoare până la moderată (Doody et al. 2001; Davies et al. 1976; Ballard 2002). În 2004 a fost aprobat pentru tratamentul AD moderată până la severă primul antagonist al receptorului NMDA (memantina). Aceste medicamente pot spori și posibilitatea de prezervare a autonomiei, pot reduce probabilitatea nevoii

**# Corespondență:** Roberta Annicchiarico, I.R.C.C.S. Fondazione Santa Lucia, Via Ardeatina 306, 00179 - Rome, Italy  
Phone: +390651501516; Fax: +395032097; E-mail: r.annicchiarico@hsantalucia.it

de îngrijire rezidențială / medicalizată și pot crește calitatea vieții dependentă de îngrijire (carer health-related Quality of Life – QoL). Indicațiile terapeutice și ghidurile de tratament (Davies et al. 1976; Ballard 2002) deriva în principal din studiile clinice randomizate controlate (randomized controlled trials – RCT). În pofida îndoielilor metodologice privind utilizarea clinică largă a unor date provenite dintr-un context experimental, aceste indicații sunt bazate pe dovada unică a eficacității terapiei farmacologice în demență. Acest articol propune o privire generală asupra eficacității clinice a tratamentului simptomatic cu rivastigmina la pacienții suferind de boala Alzheimer în forma moderată până la severă.

## Evaluare

Pentru prognoza unei maladii cum este AD, în care evoluează continuu un proces neurodegenerativ, este necesară evaluarea rapidității cu care boala progresează sub aspect clinic și cât de sever este afectat pacientul la momentul actual. Istoric, severitatea AD a fost definită cel mai adesea de gradul de afectare cognitivă, a funcționalității globale și de prezenta tulburărilor comportamentale. Pentru obținerea de astfel de informații și pentru aprecierea progresiei bolii sunt folosite scale de evaluare standardizate. Instrumente ca ADAS-Cog și MMSE au fost utilizate pentru măsurarea disfuncțiilor cognitive. Totuși, s-a adevărit că gradul de afectare funcțională reflectă și el severitatea AD. Scala de Deteriorare Globală (Global Deterioration Scale – GDS) (Reisberg et al. 1997) a fost elaborată anume pentru evaluarea severității AD prin măsurarea performanțelor cognitive și funcționale. În plus, scorurile stabilite cu un instrument cum este Scala Deteriorării Progresive (Progressive Deterioration Scale – PDS) (Dejong et al. 1989) furnizează de asemenea indicii asupra severității bolii; ele reflectă capacitatea pacientului de a efectua diferite activități instrumentale și activități de bază ale vieții zilnice, capacitate ce devine din ce în ce mai compromisă pe măsura ce boala progresează.

### Funcția Cognitivă

ADAS-Cog este instrumentul primar specific elaborat pentru evaluarea funcției cognitive a pacienților cu AD, și care și-a dovedit valabilitatea și temeinicia. ADAS\_Cog investighează diferite capacități cognitive, cum ar fi atenția, memoria, orientarea și capacitățile de limbaj. Marja scorurilor merge de la 0 la 70, cu scorurile mai înalte desemnând o funcționalitate mai alterată. Scala MMSE este de asemenea utilizată pentru investigarea performanței cognitive, evaluând capacități cognitive multiple: orientarea, rememorarea imediată, atenția și capacitatea efectuării de calcule, rememorarea întârziată și limbajul. Scorurile merg de la 0 (afectare severă) până la 30 (normal).

### Evaluarea globală

CIBIC-Plus asigură o evaluare globală a funcționalității pacientului în patru domenii: general, cognitiv, comportamental și al activităților cotidiene. CIBIC-Plus se bazează pe interviuarea pacientului și deopotrivă a îngrijitorului acestuia. Scorurile merg de la 1 la 7, în care 1 semnifică o ameliorare notabilă, 7 – o înrăutățire evidentă, iar 4 – lipsa modificărilor. GDS permite o evaluare globală atotcuprinzătoare a severității demenței. Această scală a fost elaborată pentru evaluarea demenței degenerative primare și delimitarea stadiilor bolii. Stadiile sunt scorate de la 1 (absența declinului cognitiv) până la 7 (declin cognitiv sever).

### Activitățile cotidiene

PDS este un instrument specific bolii, ce permite măsurarea modificărilor a 29 de elemente ale activității cotidiene. Este o scală analogă vizuală bipolară de 100 de puncte care, bazată pe informații provenite de la îngrijitor. Evaluează capacitatea pacienților de a îndeplini diverse activități de complexitate diferită; un scor mai înalt denotă capacități funcționale mai bune. Interviuul se aplică îngrijitorului.

Scala Nurse's Observation Scale for Geriatric Patients (NOSGER) (Spiegel et al. 1991) este utilizată pentru evaluarea diferitelor funcții cognitive și a comportamentului în corelație cu activitățile cotidiene (îngrijirea autonomă, tulburările de comportament, activitățile cotidiene instrumentale, memoria, dispoziția, comportamentul social). Chestionarul NOSGER este completat de o rudă sau un îngrijitor care frecventează cel mai des pacientul.

## Boala Alzheimer și ipoteza colinergică

Odată propusă de către Davies și Maloney (Bartus et al. 1982), "ipoteza colinergică" a fost urmărită de acumularea dovezilor că perturbarea funcției colinergice are rol central în patogenizarea AD (Gallagher et al. 1995; Kasa et al. 1997; Whitehouse et al. 1982; Katzman 1986; O'Brian et al. 2001). La pacienții cu AD pierderea de neuroni colinergici este evidentă îndeosebi în neocortex și hipocamp. Aceste arii ale creierului sunt asociate cu învățarea și memorizarea, funcționalitatea executivă, comportamentul și răspunsurile emoționale (Cummings 2000). Consecutiv acestor studii, a fost dezvoltată o serie de abordări terapeutice în scopul îmbunătățirii funcției colinergice, între care utilizarea inhibitorilor colinesterazei s-a dovedit cea mai eficientă.

Diverse date experimentale evidențiază corelația dintre deficitul sistemului colinergic și formarea plăcilor de amiloid și pachetelor de neurofibrile caracteristice bolii. Date preliminare, provenite din studii pe celula umană și creier și celule de sobolan, susțin efectul neuroprotector al inhibitorilor de colinesterază. La pacienții AD, agonistii

muscarinici modifica continutul umoral de beta-amyloid (Borroni et al 2001). Studii in vitro demonstreaza ca ChE-I au capacitatea de a stimula agregarea beta-amyloidului si formarea fibrilelor: o alta posibilitate de interferenta cu formarea beta-amyloidului poate fi inhibarea asa numitei forme G1 a ChE, a carei aparitie pare a fi corelata pozitiv cu densitatea acestuia. Mai apoi, s-a observat ca administrarea ChE-I creste ponderea proteinei precursora a beta-amyloidului (amyloid precursor protein - APP) in trombocitele pacientilor cu AD. In trombocitele umane au fost detectate forme ale APP cu greutate moleculara aparenta de 130, 110 si 106 kd. S-a demonstrat ca AD se asociaza specific cu un continut plachetar scazut de APP de diferite forme. Aceste date reprezinta primele observatii la om, sugerand un efect potential al ChE-I asupra prelucrării si transportului APP in celulele periferice; tratamentul cu donepezil creste continutul izoformelor APP (Polinsky 1998; Corey-Bloom et al. 1998).

Date provenite din studii pe animale sugereaza ca rivastigmina este un inhibitor mai puternic al acetilcolinesterazei in cortex si hipocamp, regiuni ale creierului afectate in mod deosebit de AD (Tariot et al 2000). Studii multicentru extinse au fost efectuate in SUA, Canada, Europa, Australia si Africa de Sud.

Inhibitorii de colinesteraza (ChE-I) au fost folositi initial pentru a imbunatati memoria si cognitia; mai tarziu au fost testati in legatura cu alte obiective urmarite de tratamentul AD: imbunatatirea nivelului functional si cresterea calitatii vietii pacientilor si ingrijitorilor acestora; cu alte cuvinte, modificarea semnificativa clinic a starii cognitive si comportamentale (Doodi et al 2001; Davies et al 1976; Ballard 2002).

## Rivastigmina

Rivastigmin tartrat este un inhibitor carbatat pseudo-irreversibil al acetilcolinesterazei (AChE) si butirilcolineste-

razei (BuChE), cu actiune selectiva in sistemul nervos central demonstrata in studii care au investigat activitatea ChE in lichidul cefalorahidian. Caracteristicile farmacocinetice si farmacodinamice ale rivastigminei sunt prezentate in Tabelul 1. Rivastigmina este distribuita sub forma de capsule si solutii pentru administrare orala si este rapid absorbita in cazul adultilor sanatosi. La pacientii AD nu s-a gasit nici o diferenta de absorbtie legata de varsta. Administrarea odata cu hrana incetineste absorbtia si creste toleranta, intrucat efectele adverse gastrointestinale sunt asociate cu nivelele plasmatice ridicate. Rivastigmina se leaga de situsurile esterice si ionice ale AChE impiedicand-o sa metabolizeze acericolina, dar disociaza mult mai lent decat AChE (actiune "pseudo-irreversibila"). Este metabolizata de AChE si BuChE la nivelul sinapsei: eliminarea este aproape completa la 24 de ore dupa administrare, fiind cu predilectie renala (Williams et al 2003). Interactiunile medicament - medicament relevante farmacocinetic sunt prevenite de faptul ca rivastigmina are capacitate de legare de proteine scazuta si nu este metabolizata prin intermediul sistemului CYP hepatic ca in cazul altor doi inhibitori de colinesteraza, donepezilul si galantamina. Date RCT atesta absenta interactiunilor semnificative clinic cu diferiti reprezentanti proveniti din 22 de clase de medicamente (Grossberg et al 2000). Efectele adverse evidentiate experimental sunt indeosebi simptome gastrointestinale colinomimetice, evidente mai ales in faza dozarii volumetrica, si anume: greata (17-48%), voma (16-27%) si diaree (11-17%); acestea sunt minimizezate in practica clinica prin cresterea lenta a dozei (lunar) si administrarea odata cu hrana. Riscul colinomimetic teoretic de bradicardie, indeosebi la pacientii varstnici, nu a fost demonstrat in studiile clinice si nici vreun alt fel de afectare cardiaca semnificativa. Efectele adverse la nivelul sistemului nervos central includ durerea de cap (19%) si ameteala (20%). Efectele adverse se

Tabelul 1: caracteristicile farmacocinetice și farmacodinamice ale rivastigminei

Timp farmacocinetic de înjumătățire	1,5 h	Timp farmacocinetic de înjumătățire	10 h	T max	0,5- 2 h
Biodisponibilitate	36%	Legare de proteine	40%	metabolizare de către sistemul CYP	nu
Eliminare	renală	Doza de start	1,5 mg bid	doză maximă	6 mg bid
Interacțiuni medicamentoase	nu	AChE G1	da	AChE G4	da

manifesta mai cu seama la subiecții care iau doza mare, cu dozare volumetrică fortată și afectează mai cu seama sistemul G1: în general subiecții care manifestă efecte adverse sunt în proporție de 13%, cu o incidență mai scăzută în faza de menținere. Efectele adverse periferice G4 cum sunt fasciculațiile sau crampele musculare sunt rare (Desai et al 2005). O meta-analiză extinsă a 16 studii controlate randomizate a demonstrat toleranța la inhibitorii AChE (Lanctot KE et al 2003). Dacă incidența întreruperii tratamentului datorită efectelor adverse s-a dovedit a fi mai mare în cazul lotului tratat cu inhibitorul AChE față de cel tratat cu placebo, la pacienții tratați cu rivastigmina această incidență a fost de 14%; rata generală corespunzătoare a incidenței efectelor adverse a fost de 12%. Studii comparative directe ale donepezilului și rivastigminei (Wilkinson et al 2002) au furnizat date privind toleranța asemănătoare cu cele furnizate de meta-analiză de mai sus, și a fost realizat studiul comparativ randomizat dublu-orb cu ajutorul Exceed (Bullock R et al 2005). Între pacienții care au raportat “nici un efect advers” în faza de dozare volumetrică de 4-14 săptămâni, cei tratați cu rivastigmina au fost în număr mai mare decât cei tratați cu donepezil (respectiv 82,0% și 64,7%). Incidența mai mare a efectelor adverse la grupul tratat cu rivastigmina în timpul fazei de dozare volumetrică pare a fi determinat de o rată crescută, față de donepezil, a simptomelor de greață (32,9% față de 15,2%) și vomă (27,9% față de 5,8%). În săptămânile 17-104 ale fazei de menținere ratele de apariție a efectelor adverse între cele două grupuri au fost asemănătoare (78,7% pentru grupul cu rivastigmina și 76,9% pentru grupul cu donepezil). Întreruperile premature ale tratamentului datorate efectelor adverse au fost mai ridicate în grupul cu rivastigmina în cursul fazei de dozare volumetrică (14,1% față de 7,0% pentru donepezil), dar asemănătoare în faza de menținere (17,9% față de 14,1% pentru donepezil). Nu au existat diferențe între pacienții tratați cu rivastigmina și cei tratați cu donepezil în ceea ce privește numărul de efecte adverse serioase (EAS) și EAS care să conducă la întrerupere. Întrucât efectele adverse sunt asociate cu nivelele plasmatiche cele mai înalte, la ora actuală se află în dezvoltare plasturi transdermali cu rivastigmina cu toleranță mai bună și biodisponibilitate și eficacitate similare.

### Colinesterazele

Cu privire la colinesteraze, rivastigmina este singura moleculă care inhibă atât AChE cât și BuChE, prevenind degradarea Ach (Clegg et al 2001; Wolfson et al 2002), cu inhibarea izoformelor G1 și G4 ale enzimei (Eskander et al 2005). AChE este localizată îndeosebi în neuroni iar BuChE în celulele gliale: acțiunea BuChE este mai generală și mai puțin cunoscută decât activitatea AChE, care se adresează cu predilecție hidrolizării acetilcolinei. Ac-

tivitatea BuChE este detectată în toate ariile SNC care primesc inervație colinergică și, cu toate că reprezintă doar 10% din activitatea AChE în creierul normal, odată cu progresia bolii către AD BuChE cerebral crește cu 40-90%, și în același timp, AChE își diminuează activitatea cu până la 45%. AChE și BuChE sunt prezente în câteva izoforme moleculare. În creierul normal formele globulare G4, de câte 4 unități catalitice, sunt cele mai prezente, urmate de forma G1. În creierul pacienților cu AD forma globulară G1 devine predominantă pe măsura avansării bolii, în timp ce nivelele G4 scad. Există date care sugerează că acțiunea BuChE este mai relevantă decât cea a AChE la subiecții aflați în stadii moderat-severe ale demenței (Tasker et al 2005).

### Studii controlate randomizate

O seama de studii extinse, dublu-orb, controlate placebo, au demonstrat că terapia cu inhibitori de colinesterază conduce la ameliorări semnificative ale performanțelor cognitive, funcționale și globale la pacienții cu AD (Cummins et al 1996). Date preliminare atestă, de asemenea, eficacitatea în tratamentul simptomelor și tulburărilor comportamentale și psihiatrice (BPSD) (Minger et al 2000; Weinstein 1999; Giacobini 2000). În pofida evidentelor de ordin clinic dezbaterile privind eficacitatea ChEI continuă. Patru studii controlate dublu-orb comparativ cu placebo pe o durată de tratament între 13 și 26 de săptămâni (Tabel nr. 2) au inclus participanți clasificați ca având AD probabil de severitate lejeră până la moderată.

Toate aceste studii au avut trei variante de tratament în care diferite nivele de dozaj al rivastigminei au fost comparate cu placebo. Două studii (Corey-Bloom et al 1998, Rosler et al 1999) au inclus grupe de tratament cu doze de 1-4 și 6-16 mg/zi (studii doză-felxibila) și unul cu doze de 4 și 6 mg pe zi (Spiegel et al 1991). La sfârșit, dozele medii au fost asemănătoare în cazul celor două studii doză-felxibila: 3,7 și 10,4 mg/zi pentru cele două grupe într-unul (Rosler et al 1999) și 3,5 și 9,7 mg/zi pentru cele două grupe în celălalt (Corey – Bloom et al 1998). Ultimul studiu (Forette et al 1999) a comparat efectele unei administrări de două ori pe zi cu cele ale unei administrări de trei ori pe zi, utilizând doze de 9,6 și respectiv 10,1 mg pe zi. Toate studiile au fost studii de tip multicentru, cu număr total de subiecți între 114 – 725. Studiile au demonstrat o diferență statistic semnificativă între medicament și placebo evidențiată pe scările neuropsihologice Clinician Rated Global Clinical State și Activity of Daily Living. În studiul lui Corey-Bloom și colaboratorii (Corey-Bloom et al 1998) subiecții din grupul cu doză mare au înregistrat, pe scala ADAS-Cog, un declin mediu cu 3,78 puncte mai mic decât cel al participanților din grupul placebo. Pentru scala MMSE studiul a raportat o diferență semnificativă statistic între grupul tratat cu doză mare și placebo, cu o

Tabel 2 : Studii randomizate controlate asupra rivastigminei

Studiul	Număr pacienți	Timp/doze	Rezultate	Valoarea p raportat la placebo
Corey-Bloom et al., 1998(36)	699 (centre: 22)	26 săpt. 1-4 mg/zi	ADAS-Cog 2.36 (3.13 to -1.59) MMSE - 0.34 CIBIC -plus 0.23 (0.07 to 0.39) GDS - 0.16 (-0.25 to -0.07) PDS 5.15 (-6.52 to -3.86)	
		26 săpt. 6-11 mg/zi	ADAS-Cog 0.31 (1.08 to -0.46) MMSE 0.30 CIBIC-plus 0.20 (0.04 to 0.36) GDS -0.13 (-0.22 to -0.04)	<0.001 < 0.05 <0.01 <0.03
		26 săpt. placebo	PDS -1.52 (-2.85 to -0.19) ADAS-Cog 4.09 (4.86 to 3.32) MMSE - 0.79 CIBIC-plus 0.49 (0.33 to 0.65) GDS -0.32 (-0.41 to -0.23) PDS -4.90 (-6.22 to -3.58)	<0.001
Agid et al., 1998(xx)	402 (centre: 54)	13 săpt. 4 mg/day	MMSE 0.0 ± 3.3 NOSGER (memory) 0.7 ± 2.8 NOSGER (IADL) 0.0 ± 3.3	
		13 săpt. 6 mg/zi	MMSE 0.0 ± 3.1 NOSGER (memory) 0.2 ± 2.4 NOSGER (IADL) -0.7 ± 3.5	Neraportată
		13 săpt. placebo	MMSE -0.0 ± 2.6 NOSGER (memory) 0.0 ± 3.4 NOSGER (IADL) -0.2 ± 3.3	

Forette et al., 1999 (38)	114 (centre: 11)	18 săpt. de 2 ori/zi doza medie 9.6 mg/zi	ADAS-Cog - 2.6 NOSGER (memory) -0.7 ± 2.9	NS ( 0.054)  0.037
		18 săpt. de 2 ori/zi doza medie 10.1 mg/zi	ADAS-Cog 0.41 NOSGER (memory) -1.0 ± 2.7	NS  0.014
		18 săpt. placebo	ADAS-Cog 2.0 NOSGER (memory) 1.3 ± 3.7	
Rosler et al., 1999 (37)	725 (centre: 22)	26 săpt. 1-4 mg/zi	ADAS-Cog 1.37 (2.27 to 0.53) MMSE -0.62 (-1.05 to -0.15) CIBIC-plus 4.24 (4.02 to 4.38) GDS -0.22 (-0.3 to -0.1) PDS -3.37 (-4.99 to -1.61)	
		26 săpt. 6-11 mg/zi	ADAS-Cog -0.26 (0.66 to - 1.06) MMSE 0.21 (-0.24 to 0.64) CIBIC-plus 3.91 (3.71 to 4.09) GDS -0.06 (-0.2 to -0.0) PDS 0.05 (-1.57 to 1.77)	0.011  <0.05 <0.001 <0.05  0.07
		26 săpt. placebo	ADAS-Cog 1.34 (2.19 to 0.41) MMSE -0.47 (-0.96 to -0.04) CIBIC-plus 4.38 (4.22 to 4.58) GDS -0.26 (-0.4 to -0.2) PDS -2.18 (-3.91 to -0.49)	

imbunatatire in cazul grupului cu doza mare de 0,30 puncte, comparativ cu o scadere in grupul placebo de -0,79 puncte. Pe scala CIBIC – PLUS autorii au raportat o diferenta medie de 0,29 puncte intre participantii din grupul tratat cu doza mare si cel tratat cu placebo. In cazul aplicarii scalei GDS scorurile grupurilor cu doza mare s-au deteriorat cu 0,19 puncte mai putin decat grupul placebo. In fine, pentru PDS studiul a evidentiat o diferenta semnificativa statistic de 3, 38 de puncte intre participantii tratati cu 6-12 mg/zi rivastigmina fata de grupul placebo.

Studiul intreprins de Agid si colaboratorii (Agid et al 1998) a comparat doua grupe doza-fixa (4 si 6 mg/zi) si placebo,

fara sa detecteze vreo diferenta semnificativa statistic in ceea ce priveste evaluarile cognitive si functionale. Utilizand scala NOSGER acest studiu a comparat doua grupe de tratament cu doze diferite cu un grup placebo. Nu au fost raportate valori pentru p dar grupul cu doza mare de rivastigmina (6-12 mg/zi) pare a evidentia o imbunatatire medie a memoriei si performatei IADL (diferenta medie de -0,2 si respectiv -0,5).

In studiul lui Forette si colab (Forette et al 1999) pacientii tratati cu rivastigmina b.i.d. au inregistrat imbunatatiri evidente fata de placebo ale nivelului fuctional global evaluat cu ajutorul scalei CIBIC-Plus. In grupul rivastigmina b.i.d. au fost 57% respondenti fata de 16% in grupul

placebo. Scorurile ADAS-Cog au evidentiat si ele o imbunatatire la pacientii cu rivastigmina b.i.d comparativ cu placebo, dar fara semnificatie statistica ( $p=0,054$ ). In plus, rivastigmina a determinat o imbunatatire semnificativa a dimensiunii memorie pe scala NOSGER. Desi acest studiu sugereaza o imbunatatire functionala globala observata de catre medic (CIBIC – Plus), a functiei apreciate pe baza testelor psihometrice (ADAS-Cog) si a activitatilor cotidiene (ADL) evaluate de catre ingrijitori (NOSGER), totusi numarul de subiecti a fost foarte scazut (sub 30 de participanti in fiecare grup) si acest studiu nu furnizeaza date statistice semnificative.

In studiul lui Rosler et al (Rosler et al 1999) scorurile ADAS-Cog s-au imbunatatit la pacientii din grupul cu doza mare, comparativ cu pacientii placebo ( $p<0,05$ ). Un numar semnificativ mai mare de pacienti din grupul cu doza mare a inregistrat o imbunatatire cu 4 puncte sau mai mult fata de grupul placebo (24% , respectiv 57 din 242) fata de 16% (39/238). Functionalitatea globala apreciata cu scala CIBIC–Plus s-a imbunatatit semnificativ la grupul cu doza mare comparativ cu grupul placebo ( $p<0,001$ ), si semnificativ mai multi pacienti din grupul cu doza mare au prezentat imbunatatiri comparativ cu grupul placebo: 37% (80/219) fata de 20% (46/230). Scorurile medii pe scala deteriorarii progresive s-au imbunatatit fata de evaluarea initiala la pacientii din grupul cu doza mare, dar au scazut in grupul placebo.

Referitor la GDS si MMSE pacientii care au primit placebo au inregistrat deteriorari de 0,47 puncte fata de baseline pentru MMSE iar cei care au primit rivastigmina 6-12 g/zi au inregistrat o crestere de 0,21 puncte fata de evaluarea initiala in cadrul analizei ,intention to treat'. O deteriorare mai putin semnificativa a aparut in cadrul GDS la pacientii cu rivastigmina 6-12 mg/zi fata de placebo.

Pe scurt, diferente semnificative statistic evidentiate pe scalele ADAS-Cog si MMSE intre grupele de tratament cu 6-12 mg/zi (doza medie aproximativ 10 mg/zi) si grupul placebo au fost raportate de doua din cele trei studii publicate. Nu s-au remarcat efecte semnificativ statistice in grupele tratate cu doza mica. Ambele studii publicate (Corey-Bloom et al 1998; Rosler et al 1999) care au utilizat CIBIC–Plus ca instrument de evaluare globala au raportat o imbunatatire semnificativa statistic sub actiunea tratamentului cu doza mare (6-12 mg/zi) comparativ cu placebo.

Un studiu a raportat ca o proportie mai mare decat in cazul placebo de subiecti tratati cu doza mare de rivastigmina a inregistrat o evaluare CIBIC "cu succes", adica o scorare pe scala de 1 sau 2. Aceleasi studii (Corey-Bloom et al 1998; Rosler et al 1999), au gasit o crestere semnificativa statistic in cazul evaluarii GDS la pacientii cu 6-12 mg/zi rivastigmina fata de placebo. Aceste studii au atestat calitatea PDS (Progressive Deterioration Scale) de

instrument de evaluare functionala. Unul dintre acestea a evidentiat o crestere statistic semnificativa la pacientii tratati cu 6-12 mg/zi cu rivastigmina comparativ cu placebo, iar celalalt a raportat ca intr-un procent semnificativ mai mare comparativ cu placebo subiectii tratati cu doza mare au inregistrat o imbunatatire de cel putin 10%.

## Studii comparative

Trei studii randomizate au fost concepute pentru a compara cei doi inhibitori de colinesteraza, donepezilul si rivastigmina (Fuschillo et al 2001; Wilkinson et al 2002; Bullock et al 2005). In studiul lui Fuschillo si colab (Fuschillo et al 2001), un studiu monocentru de doar 27 de participanti, cei din grupul cu donepezil au primit 5 mg/zi iar cei din grupul cu rivastigmina 1,5 mg/zi timp de o saptamana, doza ce a fost crescuta cu pasul saptamanal de 1,5 mg pana la 6-9 mg/zi, durata tratamentului fiind de 30 de saptamani.

In studiul lui Wilkinson si colab (Wilkinson et al 2002), cei din grupul cu donepezil au primit 5 mg/zi timp de 28 de zile, continuand apoi cu 10 mg/zi; cei din grupul rivastigmina au primit initial 1,5mg de doua ori pe zi timp de 14 zile, apoi 3 mg de doua ori pe zi timp de 14 zile si mai apoi 4,5 mg de doua ori pe zi timp de 14 zile. Daca toleranta a fost buna, au primit 6 mg de 2 ori pe zi. Studiul a fost multicentru (19 centre participante) cu 112 participanti open-label, participantii stiind ce medicament li se administreaza; durata tratamentului a fost de 12 saptamani.

Evaluarea capacitatii cognitive a demonstrat in ambele studii ca tratamentul cu 1,5-12 mg/zi rivastigmina determina imbunatatiri mai insemnate decat tratamentul cu 5 mg/zi donepezil; totusi, aceste tendinte sunt slabe si nu au fost testate statistic, putand reflecta diferentele dintre dozele administrate. Rata aparitiei efectelor adverse tinde sa fie mai ridicata la grupul rivastigmina decat la grupul donepezil si in grupul cu rivastigmina numarul participantilor care au intrerupt tratamentul datorita efectelor adverse este mai mare. Aceste diferente pot reflecta efectele dozelor raportate.

Recent, Bullock et al. (Bullock et al 2005) au realizat un studiu international multicentru controlat randomizat dublu-orb pentru evaluarea eficacitatii si tolerantei la tratamentul cu inhibitori de colinesteraza la pacienti cu AD in stadiul moderat pana la moderat-sever pe o perioada de 2 ani. Numarul de participanti a fost de 994. Perioada de dozare volumetrica a fost de 16 saptamani. Grupul cu rivastigmina a pornit cu 3 mg/zi, doza ce a fost crescuta cu 3 mg/zi la intervale de cate 4 saptamani pana la un maxim 12 mg/zi. Grupul donepezil a primit 5 mg/zi in saptamanile 1-8 si 10 mg/zi dupa aceea. Dupa cele 16 saptamani de dozare volumetrica pacientii au fost mentinuti la doza cea mai inalta tolerata. Studiul a aratat ca tratamentul cu in-

Tabel 3: Studii de lungă durată cu rivastigmina

Studiul	Durata	Caracteristicile studiului	Rezultate
Farlow et al (e)	1 an	Extensie de 26-săptămâni a unui studiu de 26 săptămâni open-label controlat placebo (n = 533)	ADAS-cog: creștere semnificativă de 5.7-puncte comparativ cu declinul placebo proiectat la 52 de săptămâni (finalul extensiei open-label)
Grossberg et al (f)	2 ani	Meta-analiza a două extensii open-label a 4 studii controlate placebo, pe o durată totală de 104 săptămâni (n =2010)	ADAS-cog: scăzut cu 4–5 puncte față de valoarea scorului prognosticat; are pacienți "netratați".
Small et al (g)	5 ani	Meta-analiza a 2 studii open-label, continuare a 4 studii controlate placebo, durată totală 260 săptămâni (n = 2010)	ADAS-cog: scădere anuală medie de 3.9 puncte; pacienții menținuți pe rivastigmina timp de 5 ani au prezentat scoruri cu aprox. 20 de puncte mai mici decât valoarea modelată pentru subiecții "netratați". MMSE: declin mediu anual de 1.7 puncte; pacienții menținuți pe rivastigmina timp de 5 ani au prezentat scoruri cu 7 puncte mai scăzute decât valoarea modelată pentru pacienți "netratați".

hibitor de colinesteraza poate oferi beneficiu terapeutic continuu de pana la 2 ani la pacientii cu AD moderat si cu toate ca ambele medicamente au influentat in mod asemanator cognitia si comportamentul, rivastigmina poate conferi un beneficiu mai mare in ceea ce priveste activitatile cotidiene si functionalitatea globala.

### Studii de lungă durată

Exista si date furnizate de studii nerandomizate si dublu- orb - studiile tip open-label extention. Aceste studii includ pacienti care au participat in faza 3 a unui studiu randomizat dublu- orb controlat placebo pentru a continua un tratament open label (tabel nr. 3).

Farlow et al. (Farlow et al 2000) au raportat rezultatele unui studiu de 52 de saptmani pe un model de tratament cu rivastigmina initiat mai tarziu ("delayed start treatment") la pacienti cu AD in stadiu lejer pana la moderat. In

primele 26 de saptamani pacientii au primit placebo sau rivastigmina. Toti pacientii erau apoi eligibili pentru a intra in tratament open-label cu rivastigmina timp de alte 26 de saptamani. Rezultatele au evidentiat o diferenta semnificativa de 5,7 puncte pentru rivastigmina evaluata cu ADAS-Cog la pacientii care au ramas pe rivastigmina timp de 52 de saptamani ( $p < 0,001$ ), comparativ cu declinul proiectat daca ei ar fii ramas "netratați", calculat pe baza unui model statistic. In plus, pacientii care au primit placebo in primele 26 saptamani si au fost apoi trecuti pe rivastigmina in saptamanile 27-52 nu au tinut pasul cu cei care au fost tratati cu rivastigmina pe toata durata studiului (1,4 puncte diferenta pe ADAS-Cog).

Meta-analiza a 2010 pacienti cu AD cuprinsi in 4 studii controlate placebo cu durata de 26 de saptamani urmate de extensii open-label (Grossberg et al 2004) a evidentiat faptul ca efectele rivastigminei asupra cognitiei persista

timp de 2 ani. Pacientii care au ramas pe rivastigmina pentru mai mult de 2 ani au inregistrat un declin ADAS-Cog mai mic cu 4-5 puncte comparativ cu declinul proiectat daca acestia ar fi ramas "netratati". Aceste concluzii se bazeaza pe comparatia modificarilor clinice actuale la pacientii tratati cu rivastigmina in studii open-label, cu modificarile clinice ipotetice derivate din predictia scorurilor acelorasi pacienti daca ar fi ramas netratati, folosindu-se un model baseline-dependent provenit din date de la o populatie AD netratata (Grossberg et al 2004). Mai de curand, aceasta meta-analiza (Grossberg et al 2004) a fost "actualizata" cu pacienti care au ramas pe tratament pe o perioada de pana la 5 ani (Small et al 2005). Aceste date au furnizat informatii de eficacitate pe cel mai lung termen pentru inhibitorii de colinesteraza. Chiar daca 83 de pacienti au ramas timp de 5 ani in studiu aceste date pot fi considerate informative, deoarece ce multi pacienti tind sa intrerupa tratamentul cu ChEI (Bullock et al 2005). Scorurile medii baseline ale MMSE si ADAS-Cog la intrarea in studiile controlate placebo erau de 19,3 si respectiv 24,6. Scorurile MMSE si ADAS-Cog ale pacientilor ramasi pe rivastigmina timp de 5 ani au fost 12,7 si 36,8 (ambele indicand AD "moderata") (Small et al 2005). Scorurile MMSE ale pacientilor metinuti timp de 5 ani pe rivastigmina au scazut cu media anuala de 1,7 puncte in timp ce scorurile ADAS-Cog au scazut cu 3,9 puncte anual. Aceste scaderi cognitive au fost mai mici decat cele prognozate prin intermediul modelarii pacientilor "netratati" baseline-dependenta, si mai mici decat cele raportate de literatura pentru pacientii netratati. (Bullock et al 2005).

## Revizuri sistematice

In ultimii ani au fost publicate unele studii asupra tratamentului in Boala Alzheimer si indeosebi asupra rivastigminei. Noi am raportat revizuri sistematice de maxima relevanta datorita metodologiei standardizate utilizata pentru selectia studiilor supuse analizei. Recent, Programul Health Technology Assessment (HTA) (Loveman et al 2006) a publicat un studiu ce urmarea o trecere in revista adusa la zi referitoare la date de maxima evidenta privind eficienta clinica si cost-eficienta donepezilului, rivastigminei si galantaminei pentru boala Alzheimer in forma frusta pana la moderat-severa, si pentru memantina in forma moderat-severa pana la severa a acestei maladii. Concluzia autorilor a fost aceea ca studiile bazate pe scale cognitive si de masurare a efectului global certifica faptul ca rivastigmina poate avea efecte benefice in boala Alzheimer, mai cu seama la doze mai mari (6-12 mg). In ce priveste evaluarea globala, un beneficiu similar a fost evidentiat doar la doze mari de rivastigmina. De asemenea, dozele mari de rivastigmina si-au dovedit ac-

tiunea benefica, desi nu totdeauna statistic semnificativa, si in cazul evaluarii functionale. Incidenta efectelor adverse a fost si ea mai mare la doze mai ridicate, desi in general ameteala si vomă sunt atribute comune ale tratamentului.

Cochrane Collaboration (Birks et al 2002) a examinat lucrările publicate in anul 2000 in vederea determinarii eficacitatii clinice si sigurantei de administrare a rivastigminei la pacienti cu AD. Au fost identificate 7 studii care intrunesc criteriile de includere in aceasta trecere in revista si un numar total de 3370 de participanti. Utilizarea rivastigminei la doze mari (6 pana la 12 mg zilnic) a fost asociata cu o crestere a functiei cognitive de 2.1 puncte in cazul scorarii ADAS-cog comparativ cu placebo, si de 2.2 puncte in ceea ce priveste scorarea activitatilor zilnice curente cu ajutorul Scalei de deteriorare Progresiva aplicata la 26 de saptamani. La doze mai mici, de 4 mg zilnic sau mai putin, diferentele s-au manifestat in aceeasi directie, dar au prezentat semnificatie statistica doar in cazul functiei cognitive. Diferente semnificative in cazul aplicarii CIBIC-Plus au fost evidentiate dupa 26 de saptamani, dar nu si mai devreme.

Mai de curand, Cochrane Collaboration (Birks 2006) a evaluat efectele donepezilului, galantaminei si rivastigminei la subiecti cu dementa frusta, moderata sau severa datorata bolii Alzheimer. Rezultatele a 10 trialuri randomizate, dublu-orb si controlate cu placebo au demonstrat ca o durata de tratament de 6 luni cu donepezil, galantamina sau rivastigmina la doza recomandata pentru pacientii cu AD a determinat imbunatatiri ale functiei cognitive in medie cu 2.7 puncte (95%CI -3.0 to -2.3, p.0.00001) in zona medie a celor 70 de puncte de pe Scala ADAS-Cog. Investigatorii au inregistrat la pacienti o stare clinica globala imbunatatita. Beneficiile tratamentului au fost evidente si in cazul activitatilor curente cotidiene si comportamentului. Efecte similare s-au inregistrat si la pacientii cu dementa in forma severa, desi in acest caz evidentele sunt furnizate doar de 2 studii.

## Conclusions

De la descoperirea, in urma cu 25 de ani, a existentei unui deficit colinergic presinaptic substantial in creierul pacientilor suferinzi de AD, s-a adunat un volum mare de date care examineaza natura, dimensiunile si semnificatia acestui deficit. Cateva studii au evidentiat diferite anomalitati ale multora dintre sistemele de neurotransmatori (indeosebi glutamatergic) in creierul pacientilor cu AD, cea mai dramatica fiind insa perturbarea severa a sistemului colinergic, caracterizata prin pierderea selectiva a neuronilor colinergici presinaptici ce proiecteaza cortical si in hipocamp, si care constituie substanta asa numitei 'ipoteze colinergice'. Asadar, s-a admis ca unele din simptomele caracteristice AD se datoreaza deficitului coliner-

gic și această teorie a condus la câteva abordări terapeutice care urmăresc restaurarea activității colinergice normale în SNC. La ora actuală, abordarea terapeutică cea mai eficientă se bazează pe inhibitorii acetilcolinesterazei (AChE) capabili să crească conținutul de acetilcolină la nivelul fantei sinaptice prin inhibarea enzimei care guvernează degradarea acestui neurotransmitator și consecutiv să determine creșterea neurotransmisiei sinaptice; moleculele recent elaborate sunt selective, își exercită acțiunea la nivel central și au efecte adverse diminuate. Creierul pacienților cu AD se caracterizează și prin pierderea de neuroni piramidali glutamatergici, cu toate că numărul receptorilor glutamatergici este menținut (în deosebi receptorul N-metil-D-aspartat – NMDA). Bazat pe aceste evidente, a fost propusă introducerea în arsenalul terapeutic a moleculelor glutamatergic-blocante. Memantina, un astfel de blocant NMDA, beneficiază de rezultate pozitive raportate pentru AD în stadiu sever (Wilkinson et al 2002) și în asociere cu rivastigmina (Dantoin et al 2006) și alte molecule inhibitoare ale AChE. Inhibitorii colinesterazei și Memantina sunt singurele tratamente farmacologice aprobate de FDA pentru AD.

Ghidurile de practică clinică (Doody et al 2001; Davies et al 1976; Caltagirone et al 2005) cuprind indicatori de tratament derivați din RCTs. Multe probleme trenează încă spre rezolvare în ceea ce privește transferul în practică al informației obținute într-o paradigmă experimentală. (Scneider 2006). O limitare a RCTs în boala Alzheimer este determinată de durata îndelungată a bolii (de ordinul anilor) față de durata scurtă (cateva săptămâni) a studiilor clinice; este astfel compromisă furnizarea de informație pe termen lung asupra efectelor tratamentului.

Mai mult, urmarile RCTs estimate sunt urmări surogat (de exemplu îmbunătățirea cognitivă pe scala ADAS-Cog la 3 – 6 luni) considerate ca substitut valid al urmarilor reale (de exemplu la stabilizarea sau îmbunătățirea totală în timp îndelungat a funcțiilor la subiecții afectați).

În plus, apar dubii asupra criteriilor de includere/excludere în studiile clinice: selectarea unei populații mult prea diferită de cea întâlnită în practică clinică în deosebi în ceea ce privește aspectul de comorbiditate și cel legat de multi-terapie. Eficacitatea intervențiilor medicale rezidă în capacitatea acestora de a induce modificări pozitive în istoria naturală a bolilor. Istoria naturală a demenței este marcată de evenimente legate de declinul cognitiv și funcțional, a caror predictibilitate este anevoioasă datorită marii variabilități individuale de la un pacient la altul. Din această cauză este dificil ca eficacitatea modestă a intervențiilor disponibile pentru demențe, apreciată cu ajutorul scalelor de evaluare clinică, să fie percepută în practică clinică sau studiile observationale. Apoi, în studiile clinice randomizate efectul acestei variabilități, prin analogie cu clasificarea defectuoasă a riscului și/sau bolii în studiile

epidemiologice de control de caz sau de cohorta, este acela al subestimării eficacității reale a intervențiilor.

Rivastigmina s-a dovedit a fi eficientă în tratamentul deficiențelor cognitive, comportamentale și funcționale din cadrul AD (Birks et al 2002). Studiile RCT au demonstrat o diferență statistic semnificativă între medicament și placebo pe scalele neuropsihologice, în evaluarea globală a stării clinice efectuată de clinician, și în activitățile cotidiene. Beneficiile acestei medicații sunt totuși limitate, și efectele sale de lungă durată nu au fost încă bine documentate. Sunt necesare studii care să ofere date relevante privind efectele sale pe termen lung, privind progresul bolii prin stări relevante de sănătate, calitatea vieții și nivelul costurilor de tratament cu rivastigmina la pacienții cu AD. De fapt, cum în general AD progresează lent, și urmărirea clinică pe 5 sau 10 ani nu este uzuală, rezultatele trialurilor clinice cu durată de tratament de 6 până la 12 luni sunt de folosință limitată. Din păcate, evidentele privind efectele pe termen lung provenite din studii randomizate nu sunt disponibile la ora actuală și data fiind marea variabilitate care caracterizează rata progresiei AD de la un individ/grup de indivizi la altul, selecțat într-un mod sau altul, extrapolarea poate fi hazardată. În studiile incluse există rapoartări privind prelungirea întâmplătoare a duratei de tratament. Datele sugerează că pacienții care au rămas pe rivastigmina timp de peste 5 ani înregistrează o degradare cognitivă mai redusă decât cei care au ieșit de sub tratament. Rezultatele acestor studii extinse întâmplător trebuie interpretate cu grijă. Nu toți pacienții intra în cadrul acestor studii prelungite ci numai un grup selectat, comparațiile sunt făcute cu martori istorici sau cu un declin placebo ipotetic obținut prin extrapolarea fazei randomizate. Se impune cu necesitate efectuarea de studii randomizate, controlate placebo pe o durată de peste 1 an. La ora actuală există de fapt un singur studiu care acoperă 5 ani.

O altă problemă frecventă și nerezolvată este decizia asupra duratei de tratament și a criteriilor de întrerupere, și aici sunt de asemenea necesare studii care să permită definirea unei durate maxime de tratament și a unor indicatori capabili să discearnă momentul când tratamentul nu mai este benefic. Totuși, date recente sugerează că în ceea ce privește inhibarea colinesterazei trebuie avut în vedere un rastimp de până la 5 ani. Este important ca pacientul și cei care îl îngrijesc să înțeleagă că nu trebuie să se aștepte la îmbunătățiri majore și că efectul așteptat este mai degrabă cel de menținere a pacientului într-o stare în care evoluția bolii să nu scape de sub control medical și acesta să rămână el însuși. La ora actuală studiile clinice comparative rivastigmina – donepezil sunt destul de limitate, nu evidențiază diferențe semnificative de eficacitate și nu permit elaborarea unor ghiduri de tratament (Bullock et al 2005).

Cele doua medicamente actioneaza asemanator la nivel cognitiv si comportamental, rivastigmina putand induce imbunatatirea starii functionale globale si din cadrul ADL, dar trebuie tinut cont de diferenta de dozaj (Wilkinson et al 2002). Un studiu recent raporteaza date referitoare la eficacitatea rivastigminei ca inhibitor al ChE asupra cognitiei, autonomiei functionale si comportamentului la pacienti cu boala Alzheimer in stadiul lejer pana la moderat tratati in prealabil cu alti inhibitori de colinesteraza (switched patients - pacienti „macaz”). Autorii conchid ca la pacientii la care tratamentul a fost comutat de la inhibitori de colinesteraza la rivastigmina pot fi evidentiate efecte benefice cantificabile, dar mai reduse decat in cazul pacientilor tratati de la inceput cu rivastigmina (Gauthier 2006).

In fine, ghidurile de tratament publicate de National Institute for Clinical Excellence (NICE 2001)(www.nice.org.uk) evalueaza aceste medicamente la nivelul anului 2000 si conditiile de utilizare care trebuie respectate. Aceste ghiduri recomanda continuarea tratamentului cu inhibitori de colinesteraza numai daca se evidentiaza o crestere, sau in orice caz nu o scadere a scorurilor MMSE in decursul a 2-4 luni de la atingerea dozei potrivite. La momentul respectiv existau unele lacune in date, indeosebi referitoare la impactul asupra QoL si raportul eficienta-cost, ceea ce a condus la unele incertitudini privind calitatea de indrumar a acelor ghiduri. Intre timp volumul de informatie a sporit si la ora actuala NICE isi revizuieste aprecierile.

## Bibliografie

1. Agid Y, Dubois B, Anand R, et al. 1998 Efficacy and tolerability of rivastigmine in patients with dementia of the Alzheimer type. *Curr Ther Res Clin Exp*, 59:837-45.
2. Ballard CG. 2002 Advances in the treatment of Alzheimer's disease: benefits of dual cholinesterase inhibition. *Eur Neurol*, 47:64-70.
3. Bartus RT, Dean RL3rd, Beer B, et al. 1982 The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science*, 217: 408-414.
4. Birks J, Grimley Evans J, Iakovidou V, et al. 2002 Rivastigmine for Alzheimer's disease (Cochrane Review). In: The Cochrane Library, Issue 3. Oxford: Update Software.
5. Birks J. 2006 Cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, Issue 1. Art. No.: CD005593.DOI: 10.1002/14651858.CD005593.
6. Borroni B, Colciaghi F, Pastorino L, et al. 2001 Amyloid precursor protein in platelets of patients with Alzheimer's disease: effect of acetylcholinesterase inhibitor treatment. *Arch Neurol*, 58:442-448.
7. Bullock R, Touchon J, Bergman H, et al. 2005 Rivastigmine and donepezil treatment in moderate to moderately severe Alzheimer's disease over a 2-year period. *Current Medical Research and Opinions*, 21(8):1317-27.
8. Caltagirone C, Bianchetti A, Di Luca M, et al. 2005 Guidelines for the treatment of Alzheimer's disease from the Italian Association of Psychogeriatrics. *Drugs Aging*, 22 Suppl 1:-26.
9. Clegg A, Bryant J, Nicholson T, et al. 2001 Clinical and cost effectiveness of donepezil, rivastigmine and galantamine for Alzheimer's disease. NICE Report, January 2001 and the American Academy of Neurology (AAN) Corey-Bloom J, Anand R, Veach J. for the ENA 713 B352 StudyGroup. 1998 A randomized trial evaluating the efficacy and safety of ENA 713 rivastigmine tartrate, a new acetylcholinesterase inhibitor, in patients with mild to moderately severe Alzheimer's disease. *Int J Geriatr Psychopharmacol*, 1:55-65.
10. Cummings JL, Kaufer D. 1996 Neuropsychiatric aspects of Alzheimer's disease: the cholinergic hypothesis revisited. *Neurology*, 53(7):687-690.
11. Cummings JL. 2000 Cholinesterase inhibitors: A new class of psychotropic compounds. *Am J Psychiatry*, 157:4-15.
12. Dantoine T, Auriacombe S, Sarazin M, et al. 2006 Rivastigmine monotherapy and combination therapy with memantine in patients with moderately severe Alzheimer's disease who failed to benefit from previous cholinesterase inhibitor treatment. *Int J Clin Pract*, 60(1):110-8.
13. Davies KL, Maloney AJ. 1976 Selective loss of central cholinergic neurons in Alzheimer's disease. *Lancet*, 2:1403
14. Dejong R, Osterlund OW, Roy GW. 1989 Measurement of quality of life changes in patients with Alzheimer's disease. *Clin Ther*, 11:545-554.
15. Desai AK, Grossberg GT. 2005 Rivastigmine for Alzheimer's disease. *Expert Rev. neurotherapeutics*, 5(5):563-580.
16. Doody RS, Stevens JC, Beck C et al. 2001 Practice parameter : Management of dementia (an evidence based review). *Report of the quality standards subcommittee of the American Academy of Neurology. Neurology*, 56:1154-1166.
17. Eskander MF, Nagykerly NG, Leung EY, et al. 2005 Rivastigmine is a potent inhibitor of acetylcholinesterase in Alzheimer's plaques and tangles. *Brain Res*, 26;1060(1-2):144-52.
18. Farlow M, Anand R, Messina J, et al. 2000 A 52-week study of the efficacy of rivastigmine in patients with mild-to-moderate severe Alzheimer's disease. *Eur Neurol*, 44:236-241.
19. Ferri CP, Prince M, Brayne C, et al. 2005 Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. *Lancet*, 366:2112-17.
20. Folstein MF, Folstein SE et al. 1975 Mini Mentale State: a practical method for grading the cognitive state of patients for the clinicians. *J. Psychiatres*, 12:189-198.
21. Forette F, Anand R, Gharabawi G. 1999 A phase II study in patients with Alzheimer's disease to assess the preliminary efficacy and maximum tolerated dose of Rivastigmine (Exeloninfinity). *Eur J Neurol*, 6:423-429.
22. Fuschillo C, La Pia S, Campana F, et al. 2001 Cognitive deficits in Alzheimer's disease: Treatment with acetylcholinesterase inhibitor agents. *Arch Gerontol Geriatr*, 7:151-8.
23. Gallagher M, Colombo PJ. 1995 Ageing: The cholinergic hypothesis of cognitive decline. *Curr Opin Neurobiol*, 5:161-168.
24. Gauthier S, Juby A, Morelli L, et al. 2006 A large, naturalistic, community-based study of rivastigmine in mild-to-moderate AD: the EXTEND Study. *Curr Med Res Opin*, 22(11):2251-65.
25. Giacobini E. 2000 Cholinesterase inhibitors: from the calabar bean to Alzheimer therapy In: Cholinesterases and cholinesterase inhibitors: from molecular biology to therapy. *London 23 M.Dunitz (ed) pp.* 181-226.
26. Grossberg GT, Stahelin HB, Messina JC, et al. 2000 Lack of adverse pharmacodynamic drug interactions with rivastigmine and twenty-two classes of medications. *Int.J.Geriatr. Psychiatry*, 15:242-247.
27. Grossberg G, Irwin P, Satlin A et al. 2004 Rivastigmine in Alzheimer's disease: efficacy over two years. *Am J Geriatr Psychiatry*, 12:420-31.
28. Kasa P, Rakonczay Z, Gulya K. 1997 The cholinergic system in Alzheimer's disease. *Prog Neurobiol*, 52:511-535.
29. Katzman R. 1986 Alzheimer's disease. *New England J Med*, 314:964-973.
30. Lanctôt KL, Herrmann N, Yau KK, et al. 2003 Efficacy and safety of cholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease: a meta-analysis. *CMAJ*, 169(6): 557-64.
31. Loveman E, Green C, Kirby J, et al. 2006 The clinical and cost-effectiveness of donepezil, rivastigmine, galantamine and memantine for Alzheimer's disease. *Health Technol Assess*, 10(1).
32. Mc Khann G, Drachman D et al. 1984 Clinical diagnosis of Alzheimer's disease : report of the NINCDS ADRDA Work group, De-

- partment of Health and Human services Task force on Alzheimer's disease. *Neurology*, 34:939- 944.
33. Minger SL, Esiri NM, Mc Donald B et al. 2000 Cholinergic deficits contribute to behavioral disturbance in patients with dementia. *Neurology*, 55(10):1460-1467.
34. O'Brian JT, Ballard CG. 2001 Drugs for Alzheimer's disease. *Br Med J*, 323:123-124.
35. Polinsky RJ. 1998 Clinical pharmacology of rivastigmine: a new-generation acetylcholinesterase inhibitor for the treatment of Alzheimer's disease. *Clin Ther*, 20(4):634-647.
36. Reisberg B, Schneider L, Doody R, et al. 1997 Clinical global measure of dementia: position paper from the International Working Group on Harmonization of Dementia Drug Guidelines. *Alzheimer Dis Assoc Disorder*, 11(suppl3):8-18.
37. Rosen WG, Mohs R, Davis K. 1984 A new rating scale for Alzheimer's disease. *American Journal of Psychiatry*, 141:698- 679.
38. Rosler M, Anand R, Cicin-Sain A et al. 1999 Efficacy and safety of rivastigmine in patients with Alzheimer disease: international randomised controlled trial. *BMJ*, 318:633-640.
39. Schneider LS. 2006 The post-modern world of Alzheimer's disease trials: how much is an ADAScog point worth in central London? *Int J Geriatr Psychiatry*, 21(1):9-13.
40. Small G, Kaufer K, Mendiondo MS, et al 2005 Cognitive performance in Alzheimer's disease patients receiving rivastigmine for up to 5 years. *Int J Clin Pract*, 59: 473-7.
41. Spiegel R, Brunner C, Ermini-Funfschilling D, et al. 1991 A new behavioural assessment scale for geriatric out-and in-patients: the NOS-GER (Nurses' Observation Scale for Geriatric Patients). *J Am Geriatr Soc*, 39(4):339-47.
42. Tariot PN, Solomon P, Morris J, et al. and the Galantamine Study-Group. 2000 A 5-month, randomized, placebo-controlled trial of galantamine in AD. *Neurology*, 54(12):2269-2276.
43. The National Institute of Clinical Excellence (NICE) approves drugs for Alzheimer's disease. 2001 *BMJ*, 190: 322.
44. Tasker A, Perry EK, Ballard GC. 2005 Butyrylcholinesterase: impact on symptoms and progression of cognitive impairment. *Expert Rev. neurotherapeutics* 5(1):101-106.
45. Weinstock M. 1999 Selectivity of cholinesterase inhibition. *CNS Drugs*, 12:307-323.
46. Whitehouse PJ, Price DL, Struble RG, et al. 1982 Alzheimer's disease and senile dementia: Loss of neurons in the basal forebrain. *Science*, 215:1237-1239.
47. Wilkinson DG, Passmore AP, Bullock R, et al. 2002 A multinational, randomised, 12-week, comparative study of donepezil and rivastigmine in patients with mild to moderate Alzheimer's disease. *Int J Clin Pract*, 56:441-6.
48. Williams BR, Nazarians A., Gill MA. 2003 A review of rivastigmine: a reversible cholinesterase inhibitor. *Clin. Ther*, 25;6: 1634.
49. Wolfson C, Oremus M, Shukla V, et al. 2002 Donepezil and rivastigmine in the treatment of Alzheimer's disease: a best-evidence synthesis of the published data on their efficacy and costeffectiveness. *Clin Ther*, 24(6):862-866.

# Deficitul cognitiv lejer: factori funcționali predictorii ai progresiei către Boala Alzheimer

Michael Borrie, MB, ChB<sup>1,2,#</sup>, Matthew Smith, BA(H)<sup>2</sup>, Jennie Wells, MD<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Division of Geriatric Medicine, Department of Medicine, University of Western Ontario, London, Ontario, Canada

<sup>2</sup>Parkwood Hospital, St. Care, London, Ontario, Canada

## Rezumat

**Scopul acestei analize retrospective este acela de a determina dacă evaluarea capacităților de îndeplinire a sarcinilor cotidiene poate avea valoare predictivă pentru conversia Deficitului Cognitiv Lejer (Mild Cognitive Impairment - MCI) către Boala Alzheimer (Alzheimer's Disease - AD). Metoda: s-a efectuat o analiză a datelor longitudinale ale pacienților diagnosticați cu MCI. Au fost analizate scorurile totale realizate pe scala Mini-Mental Status Examination (MMSE) și scala activităților cotidiene Lawton-Brody (ADL) pentru a se estima capacitatea lor de prognoza privind progresia de la MCI la AD. Rezultate: nu au existat diferențe semnificative legate de vârstă ( $p > 0,5$ ), sex ( $p > 0,5$ ) sau scorurile MMSE la includere (Progresie = 27,0 față de Stabil = 27,4,  $p > 0,5$ ). Scorul total ADL nu poate prevedea acest tip de conversie. A fost detectată o diferență semnificativă între grupuri în ceea ce privește capacitatea de planificare și preparare a meselor ( $p > 0,5$ ), care nu depinde de sex.**

**Concluzii:** unii din itemii subscalei IADL, cum ar fi pregătirea meselor, pot prevedea evoluția clinică în cazul MCI.

**Cuvinte cheie:** deficit cognitiv lejer, Boala Alzheimer, activități cotidiene, funcționare, prognoza, instrumente de screening

## Introducere

Deficitul cognitiv lejer (MCI) este un concept în plină evoluție în câmpul de cercetare a dementei, cu o terminologie aflată în plină dezvoltare. Acest concept de referă la o fază intermediară între îmbătrânirea fiziologică și demența. Dezbaterile asupra MCI ca stare prodromală obligatorie a dementei sau ca o entitate independentă, care favorizează dezvoltarea acesteia sunt departe de fi finalizate în concluzii. Definiția și prognoza MCI rămâne și ea discutabilă. Persoanele cu deficite obiective de memorie care nu pot fi atribuite unor cauze reversibile, sunt de 10 ori mai predispușe să dezvolte demența, în special Boala Alzheimer (AD), decât cei fără MCI. Rata raportată a progresiei anuale a MCI la AD se încadrează între 6 și 25%, în timp ce pentru varșticii normali se încadrează între 1-2%. O examinare detaliată a nosologiei MCI a fost furnizată de Ritchie și Chertkow.

Deși MCI a fost inițial considerată ca o tulburare de memorie, acesteia i se asociază frecvent și alte simptome funcționale și cognitive. Întrucât deficitul de memorie este manifestarea aparentă clinică a bolii, faptul ar putea reflecta dificultățile de evaluare a acestei entități patologice, deoarece testele pentru MCI, elaborate de fapt pentru abordarea AD precoce, sunt proiectate pentru evaluările

memorie pe termen scurt. Abordarea pacientului cu MCI atestă că aceste deficite se manifestă adesea altfel atunci când pacientul trăiește în mediul familial. Așa cum arată Cherkow, detectarea clinică a deficitului de memorie de lucru poate semnifica că acea persoană are nevoie de o listă pentru cumpăraturile de la băncă de exemplu, în vreme ce alte persoane de vârșta lui se descurcă fără. Este vorba de o schimbare funcțională care poate fi atribuită tulburării de fond și care determină pacientii și/sau familiile lor să caute ajutor.

Pentru a îndeplini criteriile MCI de diagnostic, o persoană nu poate avea disfuncții majore de îndeplinire a activităților cotidiene. Marja acestor disfuncții în cadrul MCI este largă, mergând de la complet normal până la afectare relativă. Morris și-a împărțit grupul lui de pacienți MCI în 3 subgrupe, bazându-se pe performanța lor în 6 domenii de pe Scala de Incadrare Clinică a Dementei (CDR): memorie, orientare, judecarea și rezolvarea problemelor, relații de comunitate, casa și hobby-uri, îngrijire personală. Toți pacienții cu un scor total de 0,5 au fost clasificați ca având MCI. Participanții cu un deficit izolat de memorie (echivalent notiuunii de MCI amestic formulată de Petersen) au fost încadrați la „MCI-nesigur”, iar aceia cu tulburări de memorie și 3 sau mai multe criterii

# **Correspondență:** Michael Borrie Geriatric Medicine, Parkwood Hospital 801 Commissioners Road East London, Ontario, Canada, Phone: 01 519 685-4021, Fax: 01 519 685-4093, E-mail: [michael.borrie@sjhc.london.on.ca](mailto:michael.borrie@sjhc.london.on.ca)

din CDR au fost încadrați în „MCI-DAT (Dementia of Alzheimer's Type)”. Autorii sunt de părere că persoanele cu tulburări în mai multe arii cognitive prezintă o rată mai mare de progresie către boala Alzheimer. Adică, pacienții cu deficite de memorie plus deficite în alte domenii progresa mult mai repede spre demență decât pacienții marcați doar de deficit mnestic. Schimbările funcționale sunt markeri clinici valoroși, deoarece sunt bazate pe un nivel cunoscut de premorbiditate funcțională, în timp ce în evaluarea cognitivă nivelul funcțional premorbid este influențat de alte variabile (ex. vârsta, educația).

Tulburarea funcțională în MCI este în general trecută cu vederea, deși criteriile de definire sunt larg răspândite. Probabil confuzia care domnește în privința funcționalității în MCI rezidă în definirea ambiguă a acestei entități patologice. Este important să deosebim IADL (Instrumental Activities of Daily Living – Activitățile Instrumentale ale Existenței Cotidiene) și SCADL (Self-Care of Daily Living – SCADL cuprinde activități zilnice de bază învățate, cum sunt folosirea toaletei, îmbaiatul, pieptănatul, hrănirea, îmbrăcarea, diferite activități fizice. Activități care de obicei nu sunt afectate în MCI.

ADL instrumental (IADL) cuprinde activități care presupun nivele ridicate de elaborare cognitivă: folosirea telefonului, cumpărături, prepararea hranei, îngrijirea casei, spălarea rufelor, folosirea mijloacelor de transport, respectarea orărilor a medicației, gospodărirea banilor. IADL poate fi afectat în diverse grade în MCI, ca în exemplul lui Chertkow cu începerea folosirii listei de cumpărături.

Din cauza gradului de tulburare funcțională potențial limitat în MCI, scorurile totale ale testelor tind să dilueze orice efect semnificativ exercitat de tulburările în zona funcționalității. Modificările funcționale în MCI se manifestă mai degrabă în câteva activități mai complexe, diferite de la un individ la altul. Acestea sunt capacități învățate și abilitatea în îndeplinirea unei anumite sarcini va depinde de vocația, rolul, nevoia, de aptitudine, sau de măsura în care altcineva poate îndeplini acea activitate.

De exemplu, capacitatea de a se descurca financiar poate reprezenta măsura ideală pentru cineva care posedă această abilitate; totuși, dacă această abilitate a fost îndeplinită întotdeauna de altcineva, atunci poate reprezenta un indicator neadecvat pentru evaluarea tulburării.

O serie de articole arată că compromiterea funcțională a pacienților cu MCI este subtilă. Taber a demonstrat că deficitul auto-recunoscut și discrepanța dintre deficitul funcțional auto-recunoscut și cele informate au caracter predictiv pentru prognosticul evoluției AD în următorii 2 ani. A fost de asemenea demonstrat că o examinare atentă a capacității de a gospodări banii, care să includă testarea obiectivă, a evidențiat diferențe semnificative la nivelul performanței globale între pacienții cu MCI și pacienții de sănătate, martor.

Capacitatea funcțională are valoare clinică atât pentru inițierea educației și suportului adecvat, cât și pentru valoarea prognostică potențială. Am emis ipoteza că manifestarea deficitelor funcționale în MCI va afecta o abilitate care necesită elaborare mai complexă. Scopul acestui studiu a fost să stabilească măsura în care examinarea atentă a nivelelor funcționalității la pacienții cu MCI are capacitatea de predicție pentru progresia acesteia către boala Alzheimer.

## Metode

Subiecții au fost recrutați dintre pacienții din ambulatoriu ai Clinicii de Îmbătrânire Cerebrală (Brain Aging Clinic). Ambulatoriul acestei clinici de tulburări de memorie este amplasat într-un centru academic de 350.000 de oameni, care servește o regiune de 1,5 milioane de oameni (dintre care 200.000 au peste 65 de ani) din Ontario, Canada. Clinica are 2 medici geriatri, 2 asistente și o echipă de cercetare. Evaluarea efectuată la includere și la vizitele de monitorizare a inclus istoricul medical, examenul fizic (obiectiv), evaluarea funcționalității, afectivității, cognitivității și comportamentului. Pacienții au fost reevaluați anual pentru a aprecia eficiența educației legată de boală și a serviciilor de suport. Pot fi necesare și vizite mai frecvente datorate modificărilor bolii, simptomelor de depresie sau monitorizării medicației (răspuns și reacții adverse).

20 de pacienți din ambulatoriu diagnosticați cu MCI și la care au fost disponibile datele ultimilor 2 ani de urmărire, sau care au ajuns la capătul studiului (progresia la AD), au fost incluși pentru evaluare. Pacienții diagnosticați cu MCI au îndeplinit următoarele criterii:

- vârsta peste 50 de ani
- simptome subiective referitoare la pierderi de memorie
- tulburare cognitivă obiectivă
- debut treptat al tulburării de memorie
- tulburarea cognitivă nu este determinată de cauze reversibile
- nu există demență

Decizia de atingere a finalului studiului (diagnosticul de AD) s-a bazat pe criteriile NINCDS-ADRCS.

## Analiza

A fost efectuată o analiză t-test pe esanțioane independente pentru a determina dacă există vreo diferență între scorurile ADL la includere a pacienților care rămân stabili cu MCI și scorurile celor la care s-a produs progresia către AD într-o perioadă de 24 de luni. A fost efectuată o analiză pe fiecare item ADL pentru a determina dacă există diferențe în vreo anumită activitate care ar putea avea un grad de predicție mai înalt pentru progresia MCI către AD. A fost folosită scala ADL Lawton-Brody (IADL & SCADL), cu un scor de 1 ce reflectă independența și scoruri mai

mari care reflecta cresterea dependentei. Plaja scorurilor pentru testul ADL L-B a fost intre 8 si 30. Aceeasi abordare a fost realizata pentru scala SCADL L-B, cu scoruri intre 6 si 29, in care scorurile mai mari au reflectat o dependenta mai mare.

## Rezultate

12 pacienti (12 femei) au fost inclusi in analiza. Varsta medie a pacientilor diagnosticati cu MCI a fost de 71,8 ani (intre 54 si 87). Majoritatea subiectilor au cel putin 12 ani de educatie. Scorul MMSE la includere a fost de 27,3 (SD=2,1). Media scorului IADL L-B la includere a fost de 11,6 (SD=3,5) si scorul SCADL L-B la includere a fost de 6,4 (SD=0,6) (Tabelul 1). Opt subiecti (40%) au dezvoltat Boala Alzheimer la sfarsitul celor 24 de luni (rata medie de progresie fiind de 20% pe an).

**Tabelul 1.** Scorurile medii ale scalelor la includere

Scala (Scoruri potențiale)	Scorul total mediu la includere
MMSE (0-30)	27.3 (SD 2.1, limite 23-30)
L-B IADL (8-30)	11.6 (SD 3.5, limite 8-20)
L-B SCADL (6-29)	6.4 (SD 0.6, limite 6-8)

Nu a existat nici o diferenta semnificativa intre varsta, sex sau educatie la cei care au progresat catre AD fata de pacientii care au ramas stabili. Scorurile totale MMSE sau ADL L-B la includere nu au prezis cine va dezvolta boala Alzheimer in cele 24 de luni (Tabelul 2).

**Tabelul 2.** Caracteristicile la includere si statusul ulterior

Tipul evaluarii	Statusul pacientului ulterior	Media	SD
Vârsta la diagnostic	Progresat	72.42	5.4
	Stabil	71.20	10.1
Testul MMSE	Progresat	27.0	1.8
	Stabil	27.4	2.4
Scorul total ADL de autoîngrijire	Progresat	6.5	0.5
	Stabil	6.3	0.6
Scorul total ADL instrumental	Progresat	13.1	3.6
	Stabil	10.6	3.1

Examinarea scorurilor subscalelor a evidentiat ca doar una dintre cele 6 scale IADL a fost predictiva pentru schimbare, si niciuna dintre subscalele SCADL nu a etalat valori predictive (Tabelul 3 si Tabelul 4). Prepararea hranei a fost singurul item al subscalei pentru care scorurile au diferit fata de cele de la includere, cu diferente semnificative in cazul celor care au progresat catre Boala Alzheimer fata de cei care au ramas stabili in cele 24 de luni. Itemul acestei subscale a fost independent de varsta.

**Tabelul 3.** Scorul mediu al IADL pe durata studiului

IADL	Statusul pacientului ulterior	Media	SD	p
Abilitatea de a folosi telefonul	Progresat	1.4	0.5	0.38
	Stabil	1.5	0.9	
Cumpărături	Progresat	1.9	0.9	0.42
	Stabil	1.6	0.7	
Prepararea hranei*	Progresat	2.0	1.1	0.02
	Stabil	1.1	0.3	
Îngrijirea casei	Progresat	1.8	1.0	0.11
	Stabil	1.2	0.4	
Spălarea rufelor	Progresat	1.0	0.0	0.46
	Stabil	1.2	0.6	
Folosirea mijloacelor de transport	Progresat	2.1	1.4	0.24
	Stabil	1.5	1.0	
Responsabilitatea luării medicației	Progresat	1.8	0.7	0.19
	Stabil	1.3	0.7	
Finațe	Progresat	1.4	0.5	0.66
	Stabil	1.3	0.5	

\* p < 0.05

**Tabelul 4.** Scorul mediu ADL de bază în perioada de urmărire.

ADL de ADza	Statusul pacientului ulterior	Media	SD	p
Folosirea toaletei	Progresat	1.0	0.0	0.22
	Stabil	1.2	0.4	
Alimentația	Progresat	1.1	0.4	0.13
	Stabil	1.0	0.0	
Îmbrăcarea	Progresat	1.0	0.0	*
	Stabil	1.0	0.0	
Grooming	Progresat	1.3	0.5	0.09
	Stabil	1.0	0.0	
Ambulația fizică	Progresat	1.1	0.4	0.82
	Stabil	1.1	0.3	
ImADiere	Progresat	1.0	0.0	*
	Stabil	1.0	0.0	

\*Analiza nu a putut fi efectuată deoarece nu a existat variabilitate

A fost examinată distribuția esanționului pentru analiza itemului Prepararea Hranei ca variabilă binară care prezice progresia la AD, cu „orice tulburare în Prepararea Hranei” la includere față de „nici o tulburare în Prepararea Hranei” (Tabelul 5). Subiecții cu orice tulburare în Prepararea Hranei la includere au progresat către AD mai degrabă decât cei fără această tulburare (OR=8,33, Intervalul de Încredere=1,03-67,4).

**Tabelul 5.** Tulburarea pacientului referitoare la prepararea hranei la continuare.

	Progresie la 24 de luni	Stabilitate la 24 de luni
Orice tulburare în prepararea hranei	5	2
Nici o tulburare în prepararea hranei	3	10

## Discuții

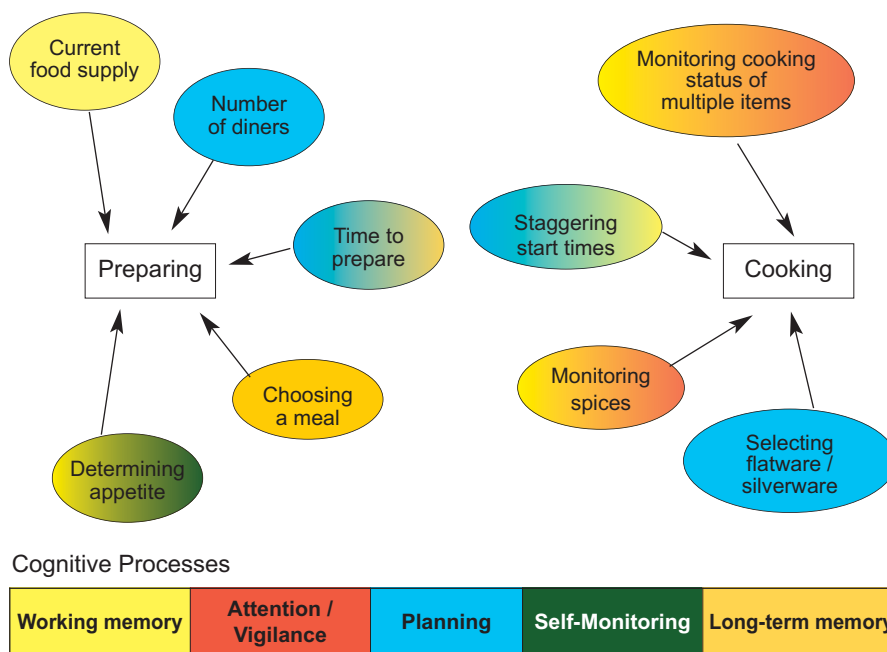
În acest studiu populațional restrâns al adulților cu MCI caracterizat de capacități funcționale înalt prezervate s-a observat că o abilitatea scăzută în activitatea de preparare a hranei la momentul diagnosticului MCI are valoare de predicție semnificativă pentru cei care vor fi di-

agnosticati cu Boala Alzheimer în următoarele 24 de luni. Rata medie a progresiei a fost de 20% pe an, care se situează în limitele evidențiate și de alte studii. Așa cum ne-am așteptat, având în vedere natura subtilă a tulburării, nu s-a demonstrat că scorul total MMSE la includere ar fi fost de ajutor în predicția progresiei către Boala Alzheimer în următorii 2 ani.

Deși gospodărirea banilor a fost citată anterior ca având putere de predicție, esanționul nostru nu e validat această aserțiune; totuși, întrebarea respectivă n-a avut același grad de complexitate ca aceea utilizată de autorii anteriori. Pentru esanționul este evidentă prevalența numerică a femeilor în cadrul acestuia, iar mărimea esanționului nu poate conferi semnificație și comparabilitate cu studii similare pe loturi asigurate statistic.

Datele semnificative obținute în acest studiu sunt valide și în opinia noastră ușor de utilizat în practica clinică și de îngrijire. Există ipoteza că manifestarea deficitelor funcționale din MCI vizează abilitățile cu grad de elaborare ridicat. Prepararea hranei se înserează bine în acest context, încorporând multe funcții cognitive complexe (atenția, vigilența, planificarea și organizarea). Figura 1 demonstrează grafic care stimuli și procese sunt implicate în planificare și prepararea hranei. O altă particularitate a

**Figura 1.** Procesele cognitive asociate cu prepararea hranei.



a itemului Preparării Hranei este faptul ca reprezinta ceva cu care ingrijitorul (de obicei sotul/sotia sau copilul adult) este familiar avand astfel posibilitatea sa furnizeze informatie comparativa privind nivelul anterior de performanta in acest sens al pacientului si nivelul actual. Bucataria este un mediu constant, care ajuta la reducerea numarului de variabile confuzionale. In plus, in timp ce sexul poate influenta nivelul de implicare sau de complexitate in Prepararea Hranei, nu s-a demonstrat ca este in sine o variabila semnificativa in predictia progresiei spre AD. S-a demonstrat ca fiecare pacient din esantion si-a preparat cel putin un element al micului dejun sau al pranzului pentru sine. Mai degraba, acei indivizi care nu au abilitati avansate pentru prepararea hranei nu petrec mult timp pentru aceste activitati, in consecinta pierzandu-si abilitatea practica si familiarizarea cu ele. Aceasta pierdere de practica va cauza si o mai mica scadere a functiei, sesizabila de catre membrii familiei.

Acest studiu, cu caracter explorator, trebuie repetat pe un esantion mai mare pentru a conferi datelor suguranta statistica necesara. Pledeaza pentru aceasta valorile obtinute in masurarea, individualizata, a modificarilor functionale gata masurate, si potentialul predictiv acolo unde a putut fi intrevazut. O limitare de ordin metodologic o reprezinta gradul de incredere cu care trebuie creditata colectarea datelor prin informare indirecta. Exista situatii cand pacientii izolati social si care nu au pe nimeni cu care sa-si „impartaseasca” istoricul nu isi pot evalua obiectiv modificarea nivelului functional intr-o activitate. Cercetarile viitoare vor trebui sa gaseasca teste sau markeri ai functiei executive care sa asigure prognosticul de incredere pentru evolutia catre MCI.

## Bibliografie

1. Ritchie K., Touchon J., Mild cognitive impairment: conceptual basis and current nosological status. *Lancet* 2000; 355: 225-228.
2. Saykin A.J., Wishart H.A. Mild Cognitive Impairment: Conceptual Issues and Structural and Functional Brain Correlates. *Semin Clin Neuropsychiatry* 2003; 8: 12-30.
3. Peterson R.C., Doody R., Kurz A., Mohs R.C., Morris J.C., Rabins P.V., Ritchie K., Rossor M., Thal, L., Winblad B.. Current Concepts in Mild Cognitive Impairment. *Arch Neurol* 2001; 58: 1985-1992.
4. Chertkow H. Mild cognitive impairment. *Curr Opin Neurol* 2002; 15: 401-407.
5. Petersen RC, Smith GE, Waring SC, Ivnik RJ, Tangalos EG, Kokmen E. Mild cognitive impairment: clinical characterization and outcome. *Arch Neurol* 1999 Mar; 56: 303-308.
6. Levy R. Aging-associated cognitive decline. Working Party of the International Psychogeriatric Association in collaboration with the World Health Organization. *Int Psychogeriatr* 1994; 6: 63-68.
7. Morris JC, Storandt M, Miller P, McKeel DW, Price JL, Rubin EU, Berg L. Mild cognitive impairment represents early-stage Alzheimer disease. *Arch Neurol* 2001; 58: 397-405.
8. Lawton M.P., Brody E.M., Assessment of older people: self-maintaining and instrumental activities of daily living. *Gerontologist* 1969; 9: 179-186.
9. Taber M.H., Albert S.M., Borukhova-Milow L., Camacho Y., Pelton G., Liu X., Stern Y., and Devanand D.P., Functional deficits in patients with mild cognitive impairment: prediction of AD. *Neurology* 2002; 58: 758-764.
10. Griffith H.R., Belue K., Sicola, A., Krzywanski S., Zamrini E., Harrell L., Marson D.C., Impaired financial abilities in mild cognitive impairment: A direct assessment approach. *Neurology* 2003; 60: 449-457.
11. Artero S., Touchon J., Ritchie K., Disability and mild cognitive impairment: a longitudinal population-based study. *Int J Geriatr Psychiatry* 2001; 16: 1092-1097.
12. Aguero-Torres H., Thomas V.S., Winblad B., Fratiglioni L., The impact of somatic and cognitive disorders on the functional status of the elderly. *J Clin Epidemiol.* 2002; 55: 1007-1012.
13. McKhann G., Drachman D., Folstein M., Katzman R., Price D., Stadlan E.M., Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA working group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's disease. *Neurology* 1984; 34: 939-944.
14. Folstein M.F., Folstein S.E., McHugh P.R., Mini-Mental State: a practical method for grading the cognitive state of patients for the clinicians. *J Psychiatr Res* 1975; 12: 189-198.

# Creșterea 4-Hidroxi-2-nonenalului, un produs final major al peroxidării lipidice, în creierul a două linii de șoareci cu îmbătrânire accelerată, SAMP8 și SAMP10.

Xuemin Ye, Ph.D.<sup>1#</sup>, Jae Il Kim, Ph.D.<sup>1</sup>, Harry C. Meeker, M.S.<sup>1</sup>, Piotr B. Kozlowski, M.D., Ph.D.<sup>1</sup>, Yong Sun Kim, M.D., Ph.D.<sup>2</sup>, Richard Rubenstein, Ph.D.<sup>1</sup>, Richard I. Carp, V.M.D., Ph.D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>NYS Institute for Basic Research in Developmental Disabilities, Staten Island, NY 10314 USA,

<sup>2</sup>Ilson Institute for Life Science, Hallym University, Anyang 431-060, South Korea.

## Rezumat

*Linile de șoareci cu senescența accelerată (SAMP8 și SAMP10) au fost create ca model animal pentru îmbătrânire. Spre deosebire, SAMR1 este o linie cu proces de îmbătrânire normal. 4-hidroxi-2-nonenalul (HNE), un produs final major al peroxidării lipidice, joacă un rol important în efectele citopatologice în timpul stresului oxidativ in vivo. Utilizând o metoda imunocitochimică, am detectat în creierul șoarecilor SAMP8 și SAMP10 nivele crescute de proteine HNE-modificate, comparativ cu creierul șoarecilor SAMR. Proteine HNE intens modificate de au fost detectate în citoplasma neuronilor, neuropil, vase de sânge, cortex, hipocamp, septum, zonele paraventriculare, thalamus, hipotalamus, trunchiul cerebral și în celulele Purkinje din cerebelul șoarecilor SAMP8 și SAMP10. Studiile noastre sugerează ca (1) stresul oxidativ este prezent la șoareci SAMP8 și SAMP10, și poate juca un rol important în procesul de îmbătrânire; (2) HNE poate contribui la modificările citopatologice în creierul acestor animale.*

**Cuvinte cheie:** SAMP8, SAMP10, SAMR1, HNE, Stress Oxidative, Peroxidarea Lipidelor.

## Introducere

Modele animale pentru senescența accelerată au fost create din linii de șoareci consangvinizate derivate din încrucișarea aleatorie între șoareci AKR și o linie sau linii necunoscute. Aceste linii sunt denumite șoareci predispuși la senescența accelerată (senescence-accelerated mouse prone) (SAMP) [1,2]. Unele din liniile consangvine din aceiași încrucișare sunt rezistente la senescența timpurie, și acestea au fost denumite SAMR. Sunt câteva linii predispușe la senescența accelerată și 4 linii rezistente la senescența accelerată. Linile SAMP au un număr general de semne comune, care includ balana cu aspect dezordonat al perilor, lordocifoza, leziuni ale pielii periorbitare, activitate redusă și o durată de viață diminuată. Pe lângă acestea, fiecare linie SAMP are aspect de linie clinică sau/si fenotipic patologic. Acesta include deficite timpurii de învățare - memorizare, cataracta, atrofia cerebrală senilă, osteoporoza senilă și degenerarea articulației temporomandibulare. În seriile SAMP8 și SAMP10 șoarecii suferă un debut precoce și o avansare rapidă a îmbătrânirii, demonstrată de analiza dinamicii îmbătrânirii, cum ar fi curbele de supraviețuire și un sistem gradual de modificări specifice acesteia [3]. De

asemenea există și o deteriorare legată de vârstă a memoriei și abilității de învățare în paradigme experimentale de evitare activă și pasivă, comparativ cu linia normală de referință SAMR1 [4]. Comparativ cu durata medie de viață a liniilor SAMR, la liniile SAMR aceasta este la 43-85% din cea a șoarecilor SAMR, cu 7 din cele 9 linii având o durată de viață medie mai scăzută cu 61% decât media SAMR [1,2].

Mecanismul de inducere a îmbătrânirii accelerate și deficitelor specifice de învățare și memorizare la liniile SAMP8 și SAMP10 rămâne încă neclar. Analizând expresia endogenă a antigenelor virusului leucemiei murine (MuLV) la șoareci cu îmbătrânire accelerată (SAMP8) și relația între această expresie și histopatologia cerebrală. Jeong și colab. (2005) sugerează că MuLV ar putea juca un rol important în procesul de îmbătrânire a sistemului nervos la șoarecii SAMP8. Mai multe categorii de date indică de altfel că stresul oxidativ poate juca un rol important în mai multe stări patologice, acestea incluzând cancerul, procesele neurodegenerative, [5] ateroscleroza, diabetul și artrita reumatoidă, ca și în toxicitatea unor medicamente, leziunile de reperfuție post-ischemică și procesul de îmbătrânire. A fost raportat și faptul că linia SAMP8 prezintă stres oxidativ în creier, inclusiv o

**# Corespondență:** Dr. Xuemin Ye, New York State Institute for Basic Research in Developmental Disabilities, Staten Island, New York 10314 USA, Phone: 718-494-5155; Fax: 718-698-0896; Email: [XYE@hotmail.com](mailto:XYE@hotmail.com)

scadere relevanta a rezonantei electronice paramagnetice (EPR), o scadere a glutamin sintetazei si o crestere a continutului de carbonil proteinic comparativ cu valorile liniei de referinta SAMR 7. S-a descoperit ca 4-hidroxi-2-nonenalul(HNE), un produs major final al peroxidarii lipidelor, joaca rol important in efectele citopatologice observate in timpul starilor de stress oxidativ in vivo 8. In studiul nostru am folosit o metoda imunocitochimica pentru a investiga prezenta si/sau localizarea proteinelor modificate de HNE la linile SAMP8, SAMP10 si SAMR1. Am pornit de la ipoteza ca HNE poate exista in creierul SAMP8 si SAMP10 si poate juca un rol important in procesul de imbatranire, si ca HNE poate contribui la stressul oxidativ in creierul animalelor cu imbatranire accelerata.

## Materiale și metode

### Animalele

Linile SAMP8/Ta, SAMP10/Ta si SAMR1/Ta au fost puse la dispozitie de catre Toshio Takeda (Kyoto University, Kyoto, Japonia), si au fost intretinute timp de 10 ani in colonia noastra de animale ca lini cosangvine. Liniile murine AKR/J si C57BL/6J au fost obtinute de la Jackson Laboratories (Bar Harbour, ME, USA). Linile patogen-free SAMP8 si SAMR1 au fost obtinute apoi de la Drs.J.F. Flood and J.E. Morley (1994)9 si au fost tinute in custi Thoren intr-o incinta de tip clean room, separat de colonia principala. Soarecilor patogen-free au fost verificata serologic prin intermediul serviciului de testare specifica de la Charles River Laboratories. Acesti soareci au ramas neinfectati. Toti soareci au fost mentinuti in regim lumina intuneric 12/12 si hranite ad libitum. Fiecare grup de studiu a inclus cel putin 7 animale. Experimentele au fost aprobate de comitetul de Comisia de Ingrijire Institucionalizata si Utilizare a Animalelor din institutului nostru.

### Pregătirea mostrelor de țesuturi

Toti soarecii (in varsta de 15 luni) au fost anesteziati prin injectare intraperitoneala cu solutie de pentobarbital de sodiu (Nembutal) si au fost perfuzati transcordial cu Tampon fosfat salin (TFS) si apoi cu paraformaldehida 4% in TFS. Creierul au fost disecat. Esantioanele de creier au fost fixate prin imersie peste noapte in acelasi fixator si sectionate la 7 nivele corespunzatoare nivelelor 180, 250, 340, si 500 din Sidman's Mouse Brain Atlas10. Esantioanele de tesut au fost incluse in blocuri de parafina si sectionate in sectiuni histologice de 7µm grosime. Sectiunile au fost montate pe lame acoperite cu poli-L-lizina si lasate sa se usuce peste noapte la 37 C.

### Imunocitochimie

Sectiunile au fost deparafinate in xilen, puse in etanol 100% si apoi rehidratate in bai succesive de etanol cu concentratii descrescatoare inainte de a fi clatite cu TFS.

Imunocoloratia a fost facuta cu un kit de imunodetectie pentru anticorpi primari murini pe tesut murin (M.O.M. kit si/sau Vectastain ABC kit, Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA). Peroxidaza endogena a fost inhibata cu o solutie de 3% peroxid de hidrogen in metanol 100% timp de 15 minute. Situsurile nespecifice au fost blocate prin incubare cu solutie de blocare a IgG murine in PBS, realizata timp de 30 de minute la temperatura camerei. Sectiunile au fost apoi incubate peste noapte la 40 C cu anticorpi monoclonali anti-proteina HNE murini (1:200) (daruiti de Koji Uchida, Nagoya University, Nagoya, Japonia). Pentru controlul negativ, anticorpii primari au fost inlocuiti cu ser nonimun de soarece sau iepure. Pentru testul cu fosfataza alcalina, dupa reactia cu anticorpii primari si spalare sectiunile au fost incubate secvential la temperatura camerei cu anticorpi secundari biotinilati (1:100) si apoi cu fosfataza alcalina cuplata cu streptavidina, si apoi cu substratul cromogen (BioGenex Laboratories, San Ramon, CA)11. Unele din lame au fost contracolorate cu violet cresyl.

### Rezultate

Tabelul 1 reda comparativ intensitatea imunocoloratiei HNE in diferite zone ale creierului la linile murine SAMR1, SAMP8 si SAMP10. Comparativ cu linia de control SAMR1, in creierul soarecilor SAMP8 si SAMP10 au fost detectate nivele crescute de de proteine modificate de HNE. Coloratia intens pozitiva a proteinelor modificate de HNE a fost detectata in citoplasma neuronilor, neuropil si vasele de sange din lobul olfactiv, cortex, hipocamp, septum, arile paraventriculare, thalamus, hipotalamus, trunchi si in celulele Purkinje ale cerebelului la soarecii SAMP8 si SAMP10.

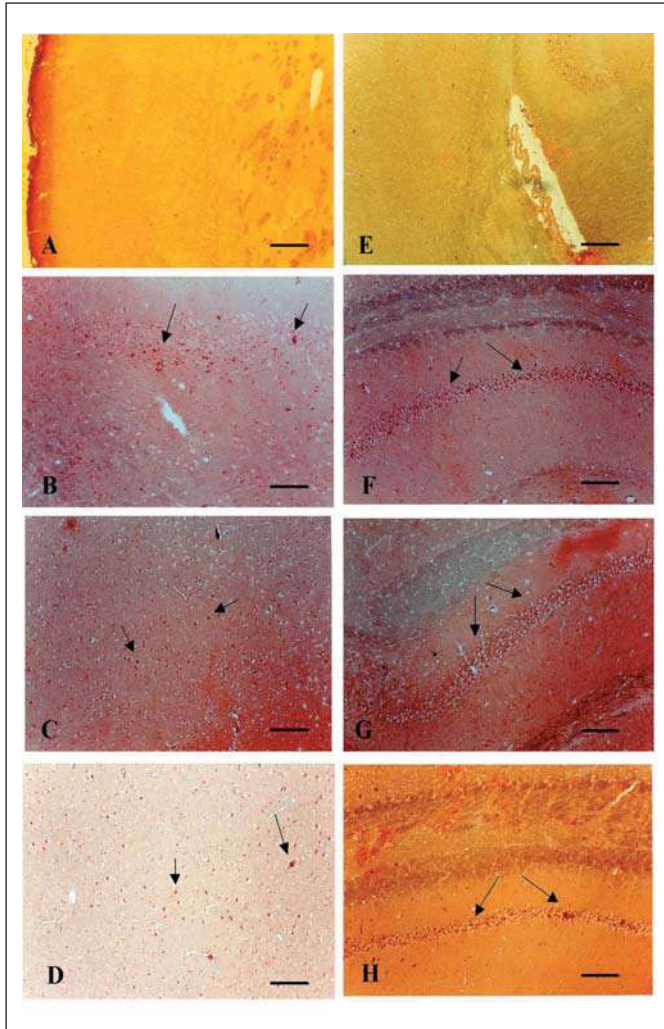
**Tabel 1.** Intensitatea HNE-imunocolorarii la liniile de șoareci studiate

Zone cerebrale	SAMR1	SAMP8	SAMP10
Cortex	+	+++	+++
Septum	+	++	++
Hippocamp	+	+++	+++
Talamus	+	+++	++
Hipotalamus	+	++	++
Trunchi cerebral	+	+++	++
Cerebel	+	+++	+++

Notă: +: colorație slabă, ++: colorație moderată, +++: colorație puternică

O colorare foarte slaba a fost detectata in cativa neuroni din cortexul soarecilor SAMR1 (Fig. 1A). Spre deosebire de cortexul linilor SAMP8 si SAMP10 unde exista o cantitate mai mare de cellule pozitive pentru HNE (Fig. 1B-1D). Neuroni cu incarcare mare in HNE au fost descoperiti in toate straturile creierului dar mai ales in straturile 1 si 2. (Fig. 1B).

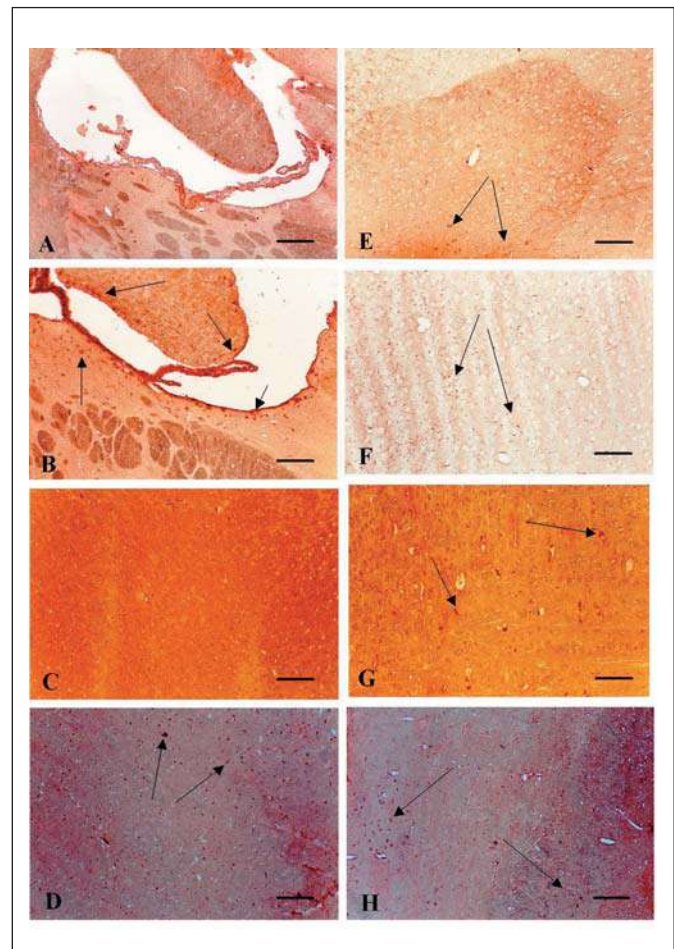
Imunoreactivitatea HNE a fost gasita in citoplasma si in apropierea nucleului neuronilor.(Fig. 1B-1D), ca si in vasele sanguine ale cortexului soarecilor SAMP8 si SAMP10 (Fig. 1B-1D). In hipocamp a fost gasita doar o incarcare slaba a neuronilor din arile paraventriculare si



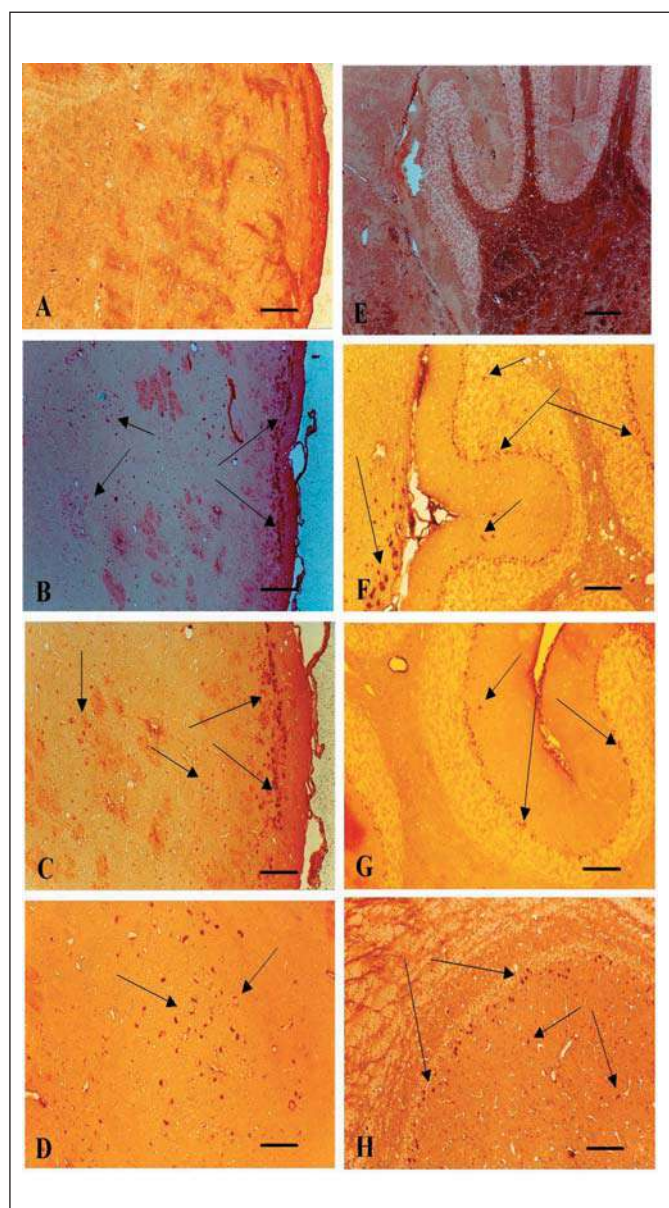
**Figur 1.**  
A - HNE-immunocolorare foarte slaba la nivelul neuronilor corticali (straturile I - VI) la soarecii din linia SAMR1. Bar: 200µm.  
B - Numar si intensitate crescuta a HNE-immunocolorării (sagetile) in neuronii corticali (cortexul frontoparietal, stratul II, aria motoara) la soarecii SAMP8. Bar: 100µm.  
C - Numar si intensitate crescuta a HNE-immunocolorării (sagetile) in neuronii si celulele vaselor de sange din cortex (strat III-VI) la soarecii SAMP8. Bar: 100µm.  
D - Increased number and intensity of HNE-immunostaining neurons (arrows) in the cortex (strat III-VI) of SAMP10 mice. Bar: 100µm.  
E - Neuronii extreme de putini si slab colorati au fost detectati in cortex, aria araventriculara si hipocampul soarecilor SAMR1. Bar: 200µm.  
F - Numar si intensitate de imunocolorare HNE crescute (sagetile), in neuronii si celule ale vaselor de sange din hipocamp (aria CA2) la soarecii SAMP8. Bar: 100µm.  
G - Numar si intensitate de imunocolorare HNE crescute (sagetile), in neuronii si celule ale vaselor de sange din hipocampul (CA1) soarecilor SAMP8 mice. Bar: 100µm.  
H - Numar si intensitate de imunocolorare HNE crescute (sagetile), in neuronii si celule hipocampice (aria CA2) la SAMP10 mice. Bar: 100µm.

hipocampul soarecilor SAMR1 (Fig. 1E). O crestere a imunoreactivitatii anti-HNE a fost gasita atat in neuronii cat si in vasele de sange ale hipocampului soarecilor SAMP8 (Fig. 1F si 1G) si SAMP10 (Fig. 1H). Cea mai insemnata imunocolorare a fost gasita in stratul granular si pyramidal al hipocampului si in girusul dentat. Au fost gasite comparativ mai multe celule din vase de sange cu reactie pozitiva la HNE in complexul hipocampic al soarecilor SAMP8 si SAMP10 decat in cel al soarecilor SAMR1.

O marcare mai intensa a fost descoperita la neuronii din fimbria hipocampica, stria terminala si stratul subependimial al ventriculului lateral al soarecilor SAMP8 decat la



**Figura 2.**  
A - Foarte putini neuroni si slab reactivi la HNE-immunocolorare in fimbria hipocampica, stria terminalis si stratul subependimial al ventriculului lateral la soarecii SAMR1. Bar: 200µm.  
B - Numar mare de neuroni cu imunocolorare semnificativa (sageti) in fimbria hipocampica, stria terminalis si stratul subependimial al ventriculului lateral la soarecii SAMP8. Bar: 200µm.  
C - Foarte putini neuroni si slab reactivi la HNE-immunocolorare in talamusu la soarecii SAMR1. Bar: 100µm.  
D - Numar mare de neuroni cu imunocolorare semnificativa (sageti) in talamusu la soarecii SAMP8. Bar: 100µm.  
E - H - Numar mare de neuroni cu imunocolorare semnificativa (sageti) in neuronii si celulele vaselor de sange din hipotalamus (E), putamen (F), trunchiul cerebral (G), si nucleii reticulari parocelulari (H) la soarecii SAMP8 mice. Bar: 100µm.



**Figura 3.**

A - Foarte putini neuroni si slab reactivi la HNE-immuno fotomarcaj in zone din trunchiul cerebral la soarecii SAMR1 mice. Bar: 100µm.

B - C - Numar mare de neuroni cu imunocolorare semnificativa (sageti) in zona nucleilor reticulati laterali giganto- si paragigantocelulari la soarecii SAMP8. B. Bar: 200µm. C. Bar: 100µm.

D - Numar mare de neuroni cu imunocolorare semnificativa (sageti) in aria nucleilor cerebelari interpusi, la soarecii SAMP8. Bar: 50µm.

E. Foarte putini neuroni si slab reactivi la HNE-immuno fotomarcaj in ariile cerebelare si paraventriculare la soarecii SAMR1 Bar: 200µm.

F - Numar mare de neuroni (sageti) cu imunocolorare semnificativa in zona paraventriculara si cerebeloasa la soarecii SAMP8. Bar: 100µm.

G - Numar mare de neuroni si celule Purkinje in cerebelul soarecilor SAMP10. Bar: 100µm.

H - Numar mare de neuroni si celule din vasele sanguine cu imunocolorare semnificativa (sageti) in bulbul olfactiv al soarecilor SAMP10. Bar: 100µm.

soarecii SAMR1 (Fig. 2A si 2B). O marcare HNE intensa in neuronii si vasele de sange a fost gasita in talamusul(Fig. 2D), hipotalamusul (Fig. 2E), putamenul (Fig. 2F), trunchiul cerebral(Fig. 2G) si nucleii reticulati parocelulari (fig. 2H) ai soarecilor SAMP8 comparativ cu soareci SAMR1. In thalamus, imunoreactivitatea-HNE a fost descoperita in mai multe zone, acestea incluzand nucleul habelunar lateral si nucleul thalamic paraventricular. Soarecii SAMP8 si SAMP10 au prezentat o imunoreactivitate HNE crescuta in hypothalamus, in special in hipotalamusul paraventricular si regiunea preoptica. In trunchiul cerebral al soarecilor SAMR1 au fost gasite putine zone si slab colorate (Fig. 3A). Spre deosebire de numarul si intensitatea inumoreactivitatii HNE a neuronilor din zonele din aria nucleilor cerebelari interpusi, nucleilor gigantocelulari si nucleii reticulati laterali paragigantocelulari de la soarecii SAMP8.(Fig. 3B-3D). Neuronii din cerebel si zonele paraventriculare, precum si celulele Purkinje (indicate prin sageti) au fost mai intens pozitive pentru HNE la soarecii SAMP8 si SAMP10 (Fig. 3F si 3G) decat la soarecii SAMR1 (Fig. 3E). In tuberculul olfactiv, remarcabila a fost colorarea intensa pentru HNE a neuronilor stratului intern plexiform al bulbului olfactiv la soarecii SAMP8 si SAMP 10. Colorarea intensa pentru HNE a fost gasita de asemenea si in vasele de sange (Fig. 3H).

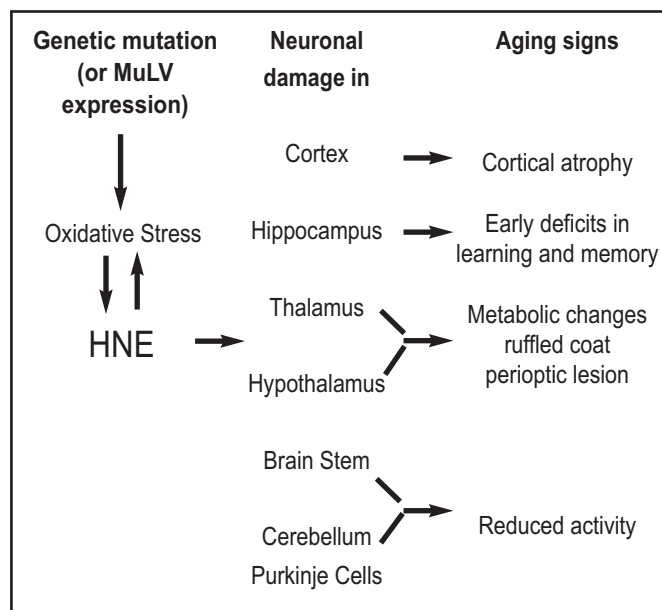
## Discuții

Mecanismele inducerii imbatranirii accelerate si a deficitelor legate de varsta in memorare si invatare la soarecii SAMP8 si SAMP10 raman inca necunoscute. Rezultatele noastre indica nivele foarte scazute de HNE in creierele soarecilor de control SAMR1 si nivele semnificativ crescute in creierele soarecilor SAMP8 si SAMP10. Rezultatele sugereaza ca nivelele crescute de HNE pot fi legate de afectarea memoriei si procesele de imbatranire accelerate observate la soarecii SAMP8 si SAMP10. Takemura si colab. 12 au raportat o crestere rapida cu varsta a proteinei beta amiloid-like (AP) la soarecii SAMP8 comparativ cu martorii de aceeasi varsta din linia SAMR1. Zonele cerebrale ale soarecilor SAMP8 cu cea mai mare incarcare cu AP au fost girusul cingulat, hipocampusul, septumul si trunchiul cerebral. Distributia proteinei proteinei beta amiloid la soarecii SAMP8 este aproape similara cu distributia proteinelor HNE-modificate descrise in acest studiu pe linile SAMP8 si SAMP10. Rezultatele noastre arata ca proteine intens modificate de HNE se situeaza in citoplasma neuronilor , neuropil si cea a vaselor de sange din lobul olfactiv, cortex, hipocampus, septum, ariile paraventriculare, thalamus, hipotalamus, trunchi si in celulele Purkinje ale cerebelului de la soarecii SAMP8 si SAMP10. De fapt, s-a sugerat ca, prin intermediul radicalilor liberi, peroxidarea lipidica

poate fi implicată în constituirea depozitelor de amiloid caracteristice bolii Alzheimer.[13] Rezultatele noastre pledează pentru ipoteza conform căreia peroxidarea lipidică poate apărea în orice tip de depozit de amiloid din cadrul amiloidozei localizate sau sistemice, așa cum au sugerat Ando și colab (1998). A fost raportat faptul că unele din celule perivasculare din creierul bolnavilor de Alzheimer sunt reactive la anticorpi anti-HNE.[13]. Cantitatea crescută de proteine modificate de HNE în celulele perivasculare din creierul soarecilor SAMP8 și SAMP10 pledează pentru faptul că aceste celule sunt supuse stresului oxidativ și pot contribui la formarea de amiloid, după cum au sugerat Ando și colab.(1998) [13]. Rezultate experimentale considerabile susțin ideea cum că îmbătrânirea în general, și în special cea a sistemului nervos central se poate datora în parte degradării prin acțiunea radicalilor liberi și a produsilor lor intermediari.[11,14-16]. A fost descoperit faptul că există o creștere cu vârsta a conținutului de substanțe reactive la acidul thiobarbituric(TBARS), ca și a conținutului de glutatation, la soarecii SAMP8.[17] De asemenea a fost raportat faptul că proteinele oxidate se acumulează mai repede în creierul soarecilor SAMP8 decât în cel al soarecilor SAMR1 [7]. Creierul este foarte vulnerabil la degradarea oxidativă din cauza utilizării crescute de oxigen, concentrației înalte de acizi grași polinesaturați și a metalelor de tranziție de cum ar fi fierul, toate acestea în combinație cu o concentrație scăzută a antioxidanților citosolici [18]. Peroxidarea lipidică a membranelor celulare ca și degradarea oxidativă a proteinelor și ADN-ului au fost propuse ca explicații pentru deficitul asociat cu vârsta în multe organe, inclusiv în creier [19]. Peroxidarea lipidică este consecința producerii și propagării reacțiilor radicalilor liberi, care implică în principal acizii grași polinesaturați membranari, și are răspuns în declanșarea a numeroase procese patologice [6]. Degradarea peroxidativă a acizilor grași polinesaturați a fost de asemenea implicată în patogenizarea multor tipuri de leziuni celulare, în special în agresiunea celulară prin substanțe toxice [20]. Printre aceste substanțe se află haloalcani, tetraclorura de carbon, triclorbrometanul, cloformul, dibrometanul și halotanul; în plus, paracetamolul, brombenzenul, fierul, compuşii bipiridilici, alcoolul alilic și în anumite situații etanolul au fost identificați ca stimulatori ai peroxidării lipidice [12]. S-a raportat că alchidele produse endogen în timpul procesului de peroxidare lipidică sunt cauza majorității efectelor fiziopatologice asociate cu stresul oxidativ în celule și țesuturi [22]. Dintre alchidele derivate în cursul peroxidării lipidice, se crede că HNE este răspunzătoare în mare măsură de efectele citopatologice consecutive stresului oxidativ în vivo [22] HNE joacă un rol în inhibarea sintezei proteinelor și ADN-ului, în inactivarea enzimelor, stimularea fosfolipazei C și reducerea comunicării prin joncțiuni gap.

HNE modulează expresia unor gene cum ar fi c-myc și genele pentru globina [23], procologen tip I [24], reductaza aldolaze [25], c-myb [26] și TGF 1 [27]. Tratamentul celulelor epiteliale hepatice de sobolan (RL34) cu HNE duce la depleția glutatationului intracelular (GSH) și în formarea de HNE legate de proteine din membranele celulare. Pe lângă aceasta, HNE induce puternic producția intracelulară de peroxizi și căile semnalizatoare de stress cum ar fi cea a N-terminal c-Jun kinazei (JNK) și protein kinazei mitogen activată p38 (MAPK) în aceste celule [8] HNE declanșează căile de semnalizare celulară, stimulând proteina activatoare 1(AP-1) [8,28]. De asemenea s-a descoperit faptul că HNE induce expresia glutatation-S-transferazei (GST-P), enzima care catalizează conjugarea compuşilor reactivi cu glutatationul și joacă un rol important în protecția celulară față de leziunile oxidative [29]. HNE este puternic neurotoxică și nivele crescute au fost descoperite în creierul bolnavilor cu Alzheimer, Parkinson și scleroza amiotrofică laterală (ALS)[13,30-32]. Nivelul de HNE este de asemenea crescut după criza ischemică [33]. Fiind înalt reactiv, HNE poate reacționa cu ținte celulare multiple și are capacitatea de a afecta proteazomul [34]. Acțiunea HNE asupra proteazomului poate duce la nivele crescute de proteine ubiquitinate dar neprocesate [35,36]. Dovezi în continuă acumulare sugerează faptul că nivelul crescut de proteine ubiquitinate sau neprocesate fac celula sensibilă la stresul oxidativ și moartea apoptotică [37,38]. Tratarea liniilor celulare NT-2 și SK-N-MC cu HNE a dus la apoptoză. Asocierea HNE cu proteazomul a dus la nivele crescute de carbonili proteici și proteine ubiquitinate, și la scăderea funcției proteazomului. De asemenea a fost descoperită o scădere a activității metabolice, eliberarea citocromului C și activarea caspazei 3, urmate de modificări apoptotice, inclusiv condensarea cromatinei, ratatinarea celulei și fragmentarea ADN-ului, culminând cu moartea celulară [39].

Există date care raportează creșterea expresiei endogene a MuLV în creierul soarecilor SAMP8 comparativ cu cele ale soarecilor SAMR1 [5,40,41]. Imunocitochimia și microscopia electronică arată colocalizarea MuLV cu aspectele de astrocitoză și vacuolizare. A fost sugerat faptul că MuLV joacă rol important în procesul de îmbătrânire cerebrală la soarecii SAMP8 [41,42]. Sunt necesare cercetări care să analizeze relația între MuLV și stresul oxidativ crescut la soarecii SAMP8. Este posibil ca expresia MuLV să fie cauza stresului oxidativ la aceștia. Figura 4 redă rezultatele posibile ale stresului oxidativ în creierul soarecilor SAMP8 și SAMP10. Rezultatele noastre sugerează că există o creștere generală a nivelului de proteine HNE-modificate în neuronii din creierul soarecilor SAMP8 și SAMP10 în comparație cu cel al soarecilor SAMR1, în particular în straturile corticale 1 și 2 ale și în stratul granular și piramidal hipocampic. Acest fapt se poate datora unei



**Figura 4.** Reda rezultatele posibile ale stressului oxidativ in creierul soarecilor SAMP8 si SAMP10

mutatii inca necunoscute la soarecii SAMP8 si SAMP10, sau supraexpresiei MuLV care cauzeaza stress oxidativ in creier. Cresterea stressului oxidativ duce la productia de proteine HNE-modificate, care induce un nivel crescut al stressului oxidativ. Cresterea proteinelor modificate de HNE in acesti neuroni determina alterarea functiei lor normale si este cauza atrofiei corticale evidentiata la aceste animale [43-46]. Deoarece neuronii hipocampicii joaca rol major in procesele de invatare-memorizare, cresterea proteinelor HNE-modificate in acesti neuroni joaca un rol important in deficitul de invatare si memorare caracteristice soarecilor SAMP8 si SAMP10. Degenerarea neuronală in thalamus si hipotalamus poate fi cauza a unor disfunctii neuroendocrine si modificari metabolice care dau aspectul de imbatranire, inclusiv blana alterata si leziunile dermatologice perioptice. De asemenea am observat o crestere a proteinelor HNE-modificate in neuronii din trunchiul cerebral si in celulele Purkinje din cerebelul soarecilor SAMP8 si SAMP10 in comparatie cu soarecii SAMR1. Cum celulele Purkinje joaca un rol important in activitatea motorie, este posibil ca degradarea acestor celule prin stressul oxidativ cauzat de HNE sa contribuie la reducerea activitatii motorii caracteristica soarecilor SAMP8 si SAMP10. Nivele crescute de proteine modificate de HNE in neuroni sunt cauza apoptozei neuronilor, neurodegenerarii si atrofiei creierului la soarecii SAMP8 si SAMP10. Studiile noastre sugereaza ca: (1) stressul oxidativ caracterizeaza liniile de

soarecii SAMP8 si SAMP10 si poate juca un rol important in procesul de imbatranire; (2) HNE contribuie la degradarea oxidativa in creierul animalelor cu imbatranire accelerata.

### Notă

Autorii doresc sa multumeasca Dr. Koji Uchida pentru furnizarea anticorpilor monoclonali anti-HNE. Autorii apreciaza asistenta acordata de dna. Sharon Mathier si dl. Daniel Klitnick pentru prelucrarea grafica, si a dnei. Joane Stocker pentru editarea si ajutorul in pregatirea acestui manuscris.

### Bibliografie

1. Takeda T., Senescence-accelerated mouse (SAM): a biogerontological resource in aging research. *Neurobiol Aging* 1999; 20: 105-10.
2. Takeda T., Hosokawa M., Higuchi K., Senescence-accelerated mouse (SAM): a novel murine model of accelerated senescence. *J Am Geriatr Soc* 1991; 59: 911-19.
3. Hosokawa M., Grading score system; a method of evaluation of the degree of senescence in Senescence-Accelerated Mouse (SAM). In: Takeda T., ed., *The SAM Model of Senescence*. Elsevier, Amsterdam, 1994: 23-8.
4. Flood J.F., Morley J.E., Learning and memory in the SAMP8 mouse. *Neurosci Biobehav Rev* 1998; 22: 1-20.
5. Jeong B.H., Jin J. K., Choi E.K., Lee Y.E., Meeker H.C., Kozak C.A., Carp R.I., Kim Y.S., Analysis of the expression of endogenous murine leukemia viruses in the brains of senescence-accelerated mice (SAMP8) and the relationship between expression and brain histopathology. *J Neuropathol Exp Neurol* 2002; 61(11): 1001-12.
6. Halliwell B., Gutteridge J.M.C., *Free Radicals in Biology and Medicine*, 2nd Ed., Oxford: Clarendon Press, 1989.
7. Butterfield A.B., Howard B.J., Yatin D., Allen K.L., Carney J.M., Free radical oxidation of brain proteins in accelerated senescence and its modification by N-tert-butyl—phenylnitron. *Proc Natl Acad Sci* 1997; 94: 674-8.
8. Uchida K., Shiraishi M., Naito Y., Torii Y., Nakamura Y., Osawa T., Activation of stress signaling pathways by the end product of lipid peroxidation. *J Biol Chem* 1999; 274(4): 2234-42.
9. Flood J.F., Morley J.E., Studies on genetic aspects of impaired learning, memory in SAMP8 mice. In: Takeda T., ed., *The SAM Model of Senescence*. Elsevier, Amsterdam, 1994: 405-8.
10. Sidman R.L., Angevine Jr. J.B., Pierce E.T., *Atlas of the Mouse Brain and Spinal Cord*. Harvard University Press, Harvard, 1971.
11. Ye X., Scallet A.C., Kasczak R.J., Carp R.I., Astrocytosis and amyloid deposition in scrapie-infected hamsters. *Brain Res* 1998; 809: 277-87.
12. Takemura M., Nakamura S., Akiguchi I., Ueno M., Oka N., Ishikawa S., Shimada A., Kimura J., Takeda T., Beta/A4 protein like immunoreactive granular structures in the brain of senescence-accelerated mouse. *Am J Pathol* 1993; 142: 1887-97.
13. Ando Y., Brännström T., Uchida K., Nyhlin N., Näsman B., Suhr O., Yamashita T., Olsson T., Salyh M.E., Uchino M., Ando M., Histochemical detection of 4-hydroxynonenal protein in Alzheimer amyloid. *J Neurol Sci* 1998; 156: 172-6.
14. Harman D., Free radical theory of aging: origin of life, evolution and aging. *Age* 1980; 3: 100-2.
15. Harman D., Free radical theory of aging. *Mutat Res* 1992; 275: 257-66.
16. Harman D., Free-radical theory of aging? Increasing the functional life span. *Ann NY Acad Sci* 1994; 717: 1-15.
17. Liu J., Mori A., Age-associated changes in superoxide dismutase activity, thiobarbituric acid reactivity, and reduced glutathione level in the brain and liver in senescence accelerated mice (SAM): a comparison with ddY mice. *Mech Aging Dev* 1993; 71: 23-30.

18. Reiter R.J., Oxidative processes and antioxidative defense mechanisms in the aging brain. *FASEB J* 1995; 9: 526-33.
19. Stadtman E.R., Protein oxidation and aging. *Science* 1992; 257: 1220-24.
20. Masaki N., Kyle M.E., Farber J.L., tert-Butyl Hydroperoxide kills cultured hepatocytes by peroxidizing membrane lipids. *Arch Biochem Biophys* 1989; 269: 390-9.
21. Poli G., Albano E., Dianzani M.U., The role of lipid peroxidation in liver damage. *Chem Phys Lipids* 1987; 45(2-4): 117-42.
22. Esterbauer H., Schauer R.J., Zollner H., Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radicals Biol Med* 1991; 11: 81-128.
23. Fazio V.M., Barrera G., Martinotti S., Farace M.G., Giglioni B., Frati L., Manzari V., Dianzani M.U., 4-Hydroxynonenal, a product of cellular lipid peroxidation, which modulates c-myc and globin gene expression in K562 erythroleukemic cells. *Cancer Res* 1992; 52(18): 4866-71.
24. Parola M., Pinzani M., Casini A., Albano E., Poli G., Gentilini A., Gentilini P., Dianzani M.U., Stimulation of lipid peroxidation or 4-hydroxynonenal treatment increases procollagen alpha 1 (I) gene expression in human liver fat-storing cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 194(3): 1044-50.
25. Spycher S., Tabataba-Vakili S., O'Donnell V.B., Palomba L., Azzi A., 4-hydroxy-2,3-trans-nonenal induces transcription and expression of aldose reductase. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 226(2): 512-16.
26. Barrera G., Pizzimenti S., Serra A., Ferretti C., Fazio V.M., Saglio G., Dianzani M.U., 4-hydroxynonenal specifically inhibits c-myc but does not affect c-fos expressions in HL-60 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 227(2): 589-93.
27. Leonarduzzi G., Scavazza A., Biasi F., Chiarotto E., Camandola S., Vogl S., Dargel R., Poli G., The lipid peroxidation end product 4-hydroxy-2,3-nonenal up-regulates transforming growth factor beta1 expression in the macrophage lineage: a link between oxidative injury and fibrosclerosis. *FASEB J* 1997; 11(11): 851-7.
28. Rao G., Glasgow W.C., Eling T.E., Runge M.S., Role of hydroperoxyicosatetraenoic acids in oxidative stress-induced activating protein 1 (AP-1) activity. *J Biol Chem* 1996; 271(44): 27760-4.
29. Fukuda A., Nakamura Y., Ohigashi H., Osawa T., Uchida K., Cellular response to the redox active lipid peroxidation products: induction of glutathione S-transferase P by 4-hydroxy-2-nonenal. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 236: 505-9.
30. Montine K.S., Olson S.J., Amarnath V., Whetsell Jr. W.O., Graham D.G., Montine T.J., Immunohistochemical detection of 4-hydroxy-2-nonenal adducts in Alzheimer's disease is associated with inheritance of APOE4. *Am J Pathol* 1997; 150: 437-43.
31. Pedersen W.A., Fu W., Keller J.N., Markesbery W.R., Appel S., Smith R.G., Kasarskis E., Mattson M.P., Protein modification by the lipid peroxidation product 4-hydroxynonenal in the spinal cords of amyotrophic lateral sclerosis patients. *Ann Neurol* 1998; 44: 819-24.
32. Yoritaka A., Hattori N., Uchida K., Tanaka M., Stadtman E.R., Mizuno Y., Immunohistochemical detection of 4-hydroxy-nonenal protein adducts in Parkinson disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 2696-701.
33. Yoshino H., Hattori N., Urabe T., Uchida K., Tanaka M., Mizuno Y., Postischemia accumulation of lipid peroxidation products in the rat brain: immunohistochemical detection of 4-hydroxy-2-nonenal modified proteins. *Brain Res* 1997; 767: 81-6.
34. Okada K., Wangpoengtrakul C., Osawa T., Toyokuni S., Tanaka K., Uchida K., 4-Hydroxy-2-nonenal-mediated impairment of intracellular proteolysis during oxidative stress. Identification of proteasomes as target molecules. *J Biol Chem* 1999; 274: 23787-93.
35. Grimm L.M., Osborne B.A. Apoptosis and the proteasome. *Results Probl Cell Differ* 1999; 23: 209-28.
36. Mezey E., Dehejia A., Harta G., Papp M.I., Polymeropoulos M.H., Brownstein M.J., Alpha-synuclein in neurodegenerative disorders, murderer or accomplice? *Nature Med* 1998; 4: 755-9.
37. Bence N.F., Sampat R.M., Kopito R.R., Impairment of the ubiquitin-proteasome system by protein aggregation. *Science* 2001; 292: 1552-5.
38. McNaught K.S., Olanow C.W., Halliwell B., Isacson O., Jenner P., Failure of the ubiquitin-proteasome system in Parkinson's disease. *Nat Rev Neurosci* 2001; 2: 589-94.
39. Hyun D.H., Lee M.H., Halliwell B., Jenner P., Proteasomal dysfunction induced by 4-hydroxy-2, 3-trans-nonenal, an end-product of lipid peroxidation: a mechanism contributing to neurodegeneration? *J Neurochem* 2002; 83: 360-70.
40. Carp R.I., Meeker H.C., Caruso V., Sersen E., Scrapie-strain-specific interactions with endogenous murine leukaemia virus. *J Gen Virol* 1999; 80: 5-10.
41. Meeker H.C., Carp R.I., Titers of murine leukemia virus are higher in brains of SAMP8 than SAMR1 mice. *Neurobiol Aging* 1997; 18: 543-7.
42. Carp R.I., Meeker H.C., Chung R., Kozak C.A., Hosokawa M., Fujisawa H., Murine leukemia virus in organs of senescence-prone and -resistant mouse strains. *Mech Ageing Dev* 2002; 123: 575-84.
43. Akiguchi I., Yagi H., Ueno M., Takemura M., Kitabayashi T., Seriu N., Kawamata T., Nakamura S., Shimada A., Takeda T., Age related morphological changes in the brain of senescence-accelerated mouse (SAMP8). In: Takeda T., ed., *The SAM Model of Senescence*. Elsevier Science B.V., 1994: 67-72.
44. Shimada A., Ohta A., Akiguchi A., Takeda T., Inbred SAMP10 as a mouse model of spontaneous, inherited brain atrophy. In: Takeda T., ed., *The SAM Model of Senescence*. Elsevier, Amsterdam, 1994: 95-9.
45. Halliwell B., Reactive oxygen species and central nervous system. *J Neurochem* 1992; 59: 1609-23.
46. McKracken E., Graham D.I., Nilsen M., Stewart J., Nicoll J.A., Horsburgh K., 4-Hydroxynonenal immunoreactivity is increased in human hippocampus after global ischemia. *Brain Pathol* 2001; 11: 414-21.

# Antagonistul receptorului histaminic H2, Cimetidina, induce activare microglială la șoareci transgenici APP+PS1.

Megha U. Ambegaonkar MD<sup>1</sup>, Anand S. Nagle, MS<sup>2</sup>, John C. Breitner, MD, MPH<sup>1</sup>, Jason Deleon, BS<sup>1</sup>, Jennifer Alamed, BS<sup>1</sup>, Nedda Wilson, BS<sup>1</sup>, Dave Morgan, PhD<sup>1</sup>, Marcia N. Gordon, PhD<sup>1, #</sup>

<sup>1</sup>Department of Pharmacology, Alzheimer's Research Laboratory, University of South Florida, Tampa, Florida, 33612.

<sup>2</sup>Geriatric Research Education and Clinical Center, VA Puget Sound Health Care System and Department of Psychiatry and Behavioral Sciences, University of Washington, Seattle, WA, 98108.

## Rezumat

*Studii epidemiologice au raportat existenta unei corelatii inverse intre utilizarea antagonistilor receptorului histaminic H2 si boala Alzheimer (Alzheimer's Disease – AD). Soarecii transgenici APP+PS1 depoziteaza amiloid si dezvolta deficite de memorie intr-o maniera asemanatoare cu ceea ce se produce in boala Alzheimer. De aceea am instituit o un regim de hrana ce continea cimetidina, un antagonist al receptorului histaminic H2, la soarecii transgenici si la congeneri netransgenici ai acestora in varsta de 3 pana la 15 luni. Cimetidina pare a nu influenta deficitele de memorie existente la soarecii transgenici, dar pare a induce o scadere frusta a activitatii animalelor in labirintul Y la ambele categorii de animale. De asemenea, cimetidina nu a modificat depozitarea amiloidului la animalele transgenice, masurata prin tehnici de imunohistochimie A-beta, colorare cu rosu de Congo sau thioflavina, dar a crescut semnificativ activarea microgliala indusa de depozitarea de amiloid apreciata cu tehnici imunohistochimice CD45 si CD11b. Toate acestea nu s-au regasit la animalele nontransgenice sub actiunea cimetidinei. Am concluzionat ca daca antagonistii receptorului histaminic H2 pot oferi o profilaxie eficienta impotriva dezvoltarii bolii Alzheimer, aceasta se poate produce printr-un mecanism independent de fenomenul depunerilor de amiloid.*

**Cuvinte cheie:** Cimetidina, amiloid, microglia, receptor H2, soareci APP- transgenici

## Introducere

Boala Alzheimer (AD) este caracterizata de neurodegenerescenta progresiva, cu aparitia de placi senile constituite din complexe de agregate fibrilare formatoare de beta-amiloid (A-beta) [1]. Pierderile de sinapse, manunchiurile de neurofibrile, neurite distrofice si moartea corpurilor neuronali sunt tot atatea elemente histopatologice caracteristice acestei boli [2]. Depozitele de A-beta par a declansa un raspuns inflamator, probabil prin activarea caii complementului [3]. Evidentele histologice ale raspunsului inflamator in AD includ activarea microgliilor asociata cu prezenta placilor senile. Studii epidemiologice [4,5] au raportat existenta unei corelatii inverse intre utilizarea antagonistilor receptorului histaminic H2 si riscul de a dezvolta AD. Cimetidina, un antagonist non-tioureic al receptorului histaminic H2, este o substanta larg utilizata in tratamentul hipersecretiei gastrice si patologiei duodenale [6]. Poate penetra bariera hemato-encefalica [7] si poate fi cantificata atat in creier (Kendall et al 1980, Smith et al 1980), cat si in lichidul cefalorahidian [8]. Mecanismul prin care blocantii H2 pot avea influenta protectoare fata de AD nu este clar. Una din posibilele lor actiuni este

aceea a scaderii ratei de formare a depozitelor de A-beta in sistemul nervos central. Soarelele transgenice APP+PS1 este unul din modelele cele mai adecvate pentru studiul fenomenului de depunere de amiloid [10]. Pe masura ce imbatranesc, aceste animale dezvolta placi senile, neurite distrofice, activare microgliala si deficite de memorie [10-12]. Studiul nostru arata ca tratamentul cu cimetidina administrat timp de 12 luni in apa de baut a soarecilor dublu transgenici APP+PS1 determina o crestere semnificativa a nivelului de activare microgliala neinsotita de modificari ale procesului de depunere de amiloid.

## Metode

### Tratarea animalelor

Soarecii transgenici Tg2576 APP<sup>13</sup> au fost incrucisati cu cativa ani inainte cu linia de soareci 5.1 PS1<sup>14</sup> pentru obtinerea unui model dublu transgenice APP+PS1 in vederea studiului depunerilor de amiloid<sup>15</sup>. Am utilizat aceste animale, precum si congeneri non-transgenici din doua grupuri de reproducere. Varsta animalelor la data initierii studiului a fost de 3 luni. Acestea au fost cazate in grup si li s-a oferit hrana ad libitum si apa deionizata ca vehicol

**# Corespondență:** Marcia N Gordon, 12901 Bruce B Downs, MDC 9, Tampa, FL 33612.  
Tel: 1-813-974-9931, Fax:1-813-974-2565. E-mail: mgordon@hsc.usf.edu

pentru administrarea de cimetidina hidroclorica solutie orala U.S.P. de 60 mg/ml (TEVA Pharmaceuticals, Sellersville, PA) timp de 12 luni. Consumul de apa de catre animale nu a fost afectat de prezenta cimetidinei si recipientele au fost primenite de doua ori pe saptamana. Doza de start de cimetidina a fost de aprox. 5 mg/kg in prima saptamana, si a fost crescuta cu cate 5 mg/kg saptamanal pana la atingerea dozei maxime de aprox. 40 mg/kg la femele si 50 mg/kg la masculi (pentru respectarea binecunoscutei diferente lagat de sex in ceea ce priveste metabolizarea cimetidinei. Animalele au fast cantarite initial de 2 ori pe saptamana pentru monitorizarea efectelor medicamentului, si apoi, dupa stabilizarea pe medicament, saptamanal. Nu s-au inregistrat diferente in privinta greutatii corporale fata de martor. La varsta de 14 luni animalele au fost testate pentru evidentierea efectelor comportamentale ale tratamentului cu cimetidina, apoi sacrificate in luna a 15-a de varsta. Cu toate eforturile facute in vederea asigurarii unui numar de 9-10 animale pe fiecare genotip si varianta de tratament, variatia randomica si uzura au limitat marimea loturilor la 7 indivizi in cazul soarecilor non-transgenici tratati cu apa deionizata, 7 pentru soarecii non-transgenici tratati cu cimetidina, 10 pentru soarecii transgenici martor (apa deionizata) si 5 pentru soarecii transgenici tratati cu cimetidina.

#### **Testarea comportamentală**

Au fost aplicate 2 teste de coordonare motorie (balance beam and coat hanger test), testarea in labirint Y pentru memoria de scurta durata si in labirint radial pentru memoria si explorarea spatiala. Descrierea detaliata a procedeelelor de testare a fost publicata de noi anterior [11,12,16,17]. In testele coat hanger si balance beam (agatare si balans pe franghie sau barna ingusta de lemn) se masoara timpul in care animalele raman suspendate (multi soareci se catara). Aceste teste au fost repetate de cate 3 ori pentru fiecare soarece, calculandu-se o valoare medie pentru timpul de agatare realizat. Labirintul Y a fost aracterizat de existenta a 3 unhiuri egale intre cele 3 brate ale sale. Initial plasati intr-unul din aceste brate, soarecilor li s-a inregistrat secventa si numarul de intrari de-a lungul bratelor labirintului timp de 8 minute de testare. A fost inregistrat procentajul de traide in care au fost abordate toate cele 3 brate (ABC, CAB or BCA but not BAB) ca o alternanta descriptiva pentru memoria de scurta durata (soarecii ar fi probabil motivati sa exploreze bratele mai noi, nevizitate in cele 2 sedinte anterioare). Numarul total de alternari posibile este egal cu numarul de intrari pe brate minus 2. In labirintul radial cu apa a oferit posibilitatea explorarii a 6 alei de inot. La capatul unei astfel de alei a fost plasata o platforma submersa chiar la nivelul apei. In fiecare zi animalul a fost antrenat pentru invatarea

locatiei platformei prin repetare de 5 ori, cate de 60 secunde de fiecare data (4 antrenari consecutive plus a 5-a intarziata cu 30 minute). Fiecare sedinta a pornit de la un alt brat al labirintului. Numarul de erori (abordare incorecta a unui brat) a fost inregistrat zilnic. Antrenamentul a durat 10 zile, timp in care s-a inregistrat o performanta constanta din partea soarecilor non-transgenici pana la sfarsitul perioadei de antrenament. In loc de considerarea scorurilor medii inregistrate in ultimele 3 zile de testare, nu a fost posibila decat includerea in calcul a zilelor 8 si 10 din cauza unor zgomote accidentale survenite in ziua a 9-a, la care s-a si renuntat.

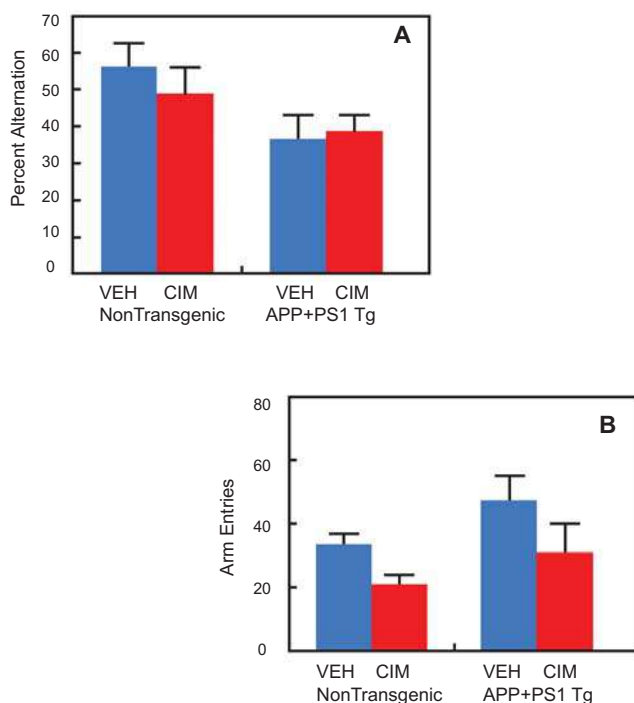
#### **Histopatologie**

In ziua sacrificarii soarecii au primit o supradoza de 100 mg/kg fenobarbital (solutie sodiu nembital, Abbott Laboratories, North Chicago IL) si perfuzati intracardiac cu 25 ml de solutie de clorura de sodiu 0.9%. Creierele, prelevate rapid, si imersate pentru fixare intr-o solutie proaspata de 4% paraformaldehyda tamponata cu phosphate pana la pH 7.4. Dupa 24 de ore post-fixare creierele au fost incubate secvential in 10%, 20% si 30% sucrose (cate 24 de ore pentru fiecare) in scopul asigurarii citoprotectiei. Sectiuni orizontale de 25  $\mu$ m grosime realizate cu ajutorul microtomului au fost stocate la 4°C in ser fiziologic Dulbecco's tamponat cu fosfat phosphate, cu azida de sodiu pentru a preveni dezvoltarea de colonii microbiene. Opt sectiuni, plasate cu interspatii de cate 600  $\mu$ m, au fost selectate si colorate imunohistochimic pentru evidentierea activarii microgliilor e cu ajutorul CD45 (Serotec, Raleigh, NC, 1:3000) si CD11b (Serotec, Raleigh NC, 1: 3000), si a A-beta (anticorpi poloclionali de iepure de la Paul Gottschall, USF, Tampa, FL, USA). Pentru imunocromo-marcare cateva sectiuni au foat lasate in afara tratamentului cu anticorpi pentru evaluarea reactiilor imunohistochimice nespecifice. Alte sectiuni au fost montate pe slide-uri si colorate cu rosu de Congo sau S Tioflavina in acord cu protocoalele standard specifice. Reactia histochimica la produs a fost masurata cu ajutorul unui software analizor de imagine (Image Pro Plus, MediaCybernetics, Silver Spring, MD), bilateral in cortexul frontal si hipocamp. Toate datele referitoare la sectiunile dintr-o regiun data obtinute de la acelasi soarece au fost raportate ca medie la acel soarece. Datele au fost raportate ca arie procentuala de colorare. In vederea evaluarii posibilelor diferente legate de tratament, scorurile la testele comportamentale sau masuratorile histochimice de la fiecare subiect au fost supuse testului ANOVA cu ajutorul Stat View software versiunea 5.0.1 (SAS Institute Inc, Cary, NC), urmata de comparatia mediilor Fischer' LSD.

## Rezultate

### Măsurători comportamentale

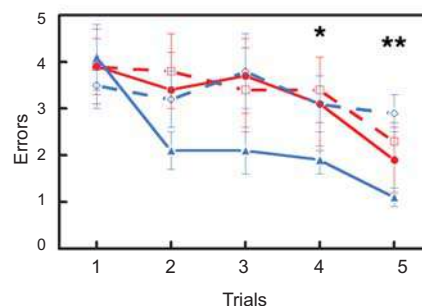
Efectele cimetidinei asupra itemilor experimentali urmăriti au fost extrem de reduse. În testul labirintului Y alterarea procentuala a memoriei de scurta durata a fost semnificativ scazuta la soarecii transgenici ( $F_{1,26} = 4.6$ ;  $P < 0.05$ ), dar nu s-a evidentiat vreun efect al cimetidinei si nici vreo interactiune semnificativa între cimetidina si genotip (Figura 1A).



**Figura 1.** Performanta în labirintul Y la soarecii transgenici si non-transgenici tratati cu cimetidina sau solutie vehicol. Soarecii au fost plasati în labirintul Y timp de 8 min., în care s-a înregistrat secventa si numarul de intrari pe brate. Triadele care au inclus toate cele trei brate sunt prezentate în graficul A sub forma alternarii procentuale. Numarul total al intrarilor este reprezentat în graficul B. VEH (coloanele albastre) descriu soarecii tratati cu solutie vehicol. CIM (coloanele rosii) redau situatia înregistrarilor la soarecii tratati cu cimetidina. Tg = soareci transgenici. Se remarca un efect semnificativ al genotipului în graficul A, si un efect semnificativ al tratamentului în graficul B (vezi rezultatele). Valorile prezentate reprezinta media + s.e.m.

În ce priveste numarul de intrari pe bratele labirintului Y, expresie a nivelului de activitate, se observa o reducere semnificativa sub actiunea tratamentului cu cimetidina ( $F_{1,26} = 4.5$ ,  $P < 0.05$ ), dar nici un efect al genotipului si

nici vreo interactiune între genotip si tratamentul cu cimetidina (Figura 1B). Aceeasi lipsa a efectului cimetidinei sau genotipului este valabila si în cazul labirintului cu apa cu 6 brate (Figura 2).



**Figura 2.** Performantele soarecii transgenici si nontransgenici tratati cu cimetidina sau solutie vehicol, în labirintul radial cu apa. Soarecii au fost testate într-un labirint radial cu apa. Datele prezinta media înregistrarilor din zilele a 8-a si a 10-a (cele din ziua a 9-a au fost excluse; vezi metode). Accesari incorecte ale bratelor labirintului sunt prezentate ca erori. Liniile continui si simbolurile descriu performantele soarecii non-transgenici, iar cele punctuate performantele soarecii transgenici. Performantele soarecii tratati cu vehicol sunt redade cu linii albastre, iar cele ale soarecii tratati cu cimetidina cu linii rosii. Valorile reprezentate sunt mediile + s.e.m. \*  $P < 0.05$  and \*\*  $P < 0.02$ , pentru performantele înregistrate la soarecii transgenici fata de cei nontransgenici, trait cu solutie vehicol (liniile albastre).

În cele 2 zile neinterupte de antrenare nu s-au remarcat efecte generale semnificative datorate fenotipului sau tratamentului cu cimetidina. Totusi, daca se considera numai soarecii tratati cu solutie vehicol, soarecii transgenici au comis semnificativ mai multe erori decât cei non-transgenici în cadrul sedintei 4 de antrenament ( $F_{1,15} = 4.8$ ;  $P < 0.05$ ) si sedintei 5 ( $F_{1,15} = 6.9$ ;  $P < 0.02$ ). Absenta vreunui efect al genotipului la soarecii tratati cu cimetidina se asociaza cu o performanta usor crescuta la soarecii transgenici si una usor mai scazuta la cei non-transgenici. Nu tragem nici o concluzie din observatia ca cimetidina a eliminat efectul transgenic gasit la soarecii tratati cu solutie vehicol. În testele de agatare de franghie si o bara de lemn în balans performanta soarecii transgenici este clar mai slaba comparativ cu cea a celor non-transgenici ( $P < 0.001$ ), tratamentul cu cimetidina nedovedindu-se a aduce vreun beneficiu (tabelul 1).

### Investigații histopatologice

La vârsta de 15 luni soarecii au fost sacrificati si tesuturile prelucrate pentru culegerea de date histopatologice. Pentru evaluarea amiloidului s-a procedat numai la investigarea soarecii transgenici. Nu s-a evidentiat vreun efect

**Tabel 1.** Motor coordination in mice treated with cimetidine or vehicle.

Sarcina	Nontransgenici		Transgenici	
	Vehicle	Cimetidina	Vehicle	Cimetidina
Agățare de frânghie	40.9 ± 4.8	34.7 ± 6.9	16.8 ± 3.1	15.9 ± 3.6
Balans pe bară	29.2 ± 9.8	24.8 ± 10.3	3.7 ± 0.5	3.0 ± 0.1

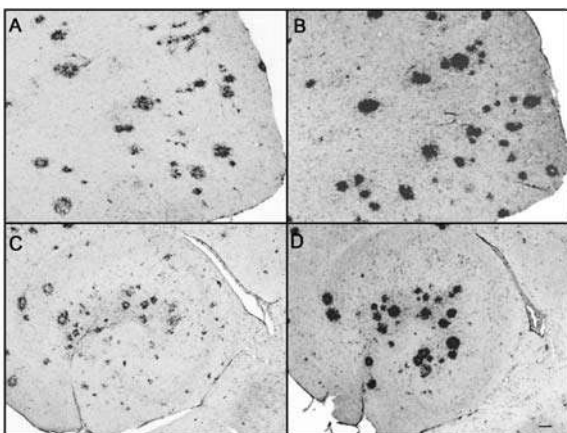
Valorile reprezintă timpul redat în secunde +S.E.M

al cimetidinei asupra supraîncărcării cu beta-amiloid nici în hipocamp și nici în cortexul anterior (tabel 2). La fel, colorația cu roșu de Congo sau Tioflavina S nu a evidențiat vreun efect (tabel 2). Cimetidina a indus însă o acți-

**Tabel 2.** Încărcarea cu amiloid și GFAP la șoareci transgenici tratați cu cimetidina sau vehicul

Parametrul	Cortex anterior		Hipocamp	
	Vehicle	Cimetidina	Vehicle	Cimetidina
AB	21.6 ± 1.6	23.7 ± 1.9	22.7 ± 1.9	26.6 ± 1.3
Rosu Congo	0.74 ± .08	0.86 ± .08	0.81 ± .08	1.14 ± .15
Thio S	0.98 ± .12	0.86 ± .02	0.93 ± .09	0.82 ± .22
GFAP	19.1 ± 1.5	23.7 ± 1.9	8.9 ± 1.6	11.2 ± 2.0

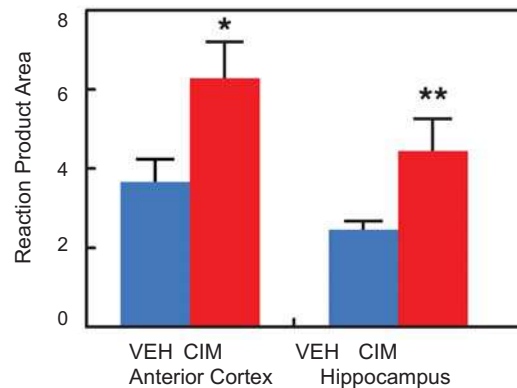
**Figura 3.** Imunohistochimia a microgliilor activate în cazul șoarecilor transgenici APP+PS1 după 12 luni de tratament cu cimetidina. Colorarea imunohistochimică cu CD45 este evidentă în cortexul anterior (A și B) și hipocamp (C și D). Paneurile A și C reprezintă șoarecii tratați cu vehicul, iar paneurile B și D pe cei tratați 12 luni cu cimetidina. Mărire: = 40X. Scala bar = 120mm.



vare semnificativă a microgliilor la șoarecii APP+PS1. O microfotografie care demonstrează acest efect cu ajutorul markerului microglial CD45 este redată în Fig.3, unde colorarea microgliilor la șoarecii tratați cu soluție vehicul (graficele 3A și C) este mai redusă decât cea evidențiată la șoarecii tratați cu cimetidina (graficele 3B, D), atât în cortexul anterior (graficele 3A, B) cât și în hipocamp (graficele 3C, D).

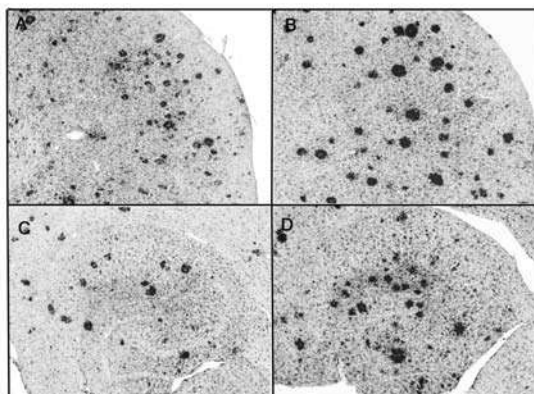
Măsurarea ariei ocupate de reacția cu produsul evidențiază o creștere de 80% în cortexul anterior ( $P < 0.03$ ) cât și în hipocamp ( $P < 0.01$ ) la șoarecii tratați cu cimetidina (Fig. 4). Această creștere este regăsită și în cazul utilizării celui alt marker pentru antigenul CD11b (mac-1 antibody; Fig. 5). Aria ocupată de produsul de reacție este de 2 ori mai mare în cortexul anterior ( $P < 0.001$ ).

**Figura 4.** Cimetidina induce creșterea colorării CD45 la șoarecii transgenici după 12 luni de tratament prin intermediul apei de băut. Datele sunt redată ca arie procentuală cu reacție pozitivă la produsul de colorare imunohistochimică în cadrul ariei totale măsurate. VEH (coloanele albastre) descriu șoarecii martor (vehicul) iar cele roșii – CIM, șoarecii tratați cu cimetidina. Valorile reprezintă media + s.e.m. \*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ .

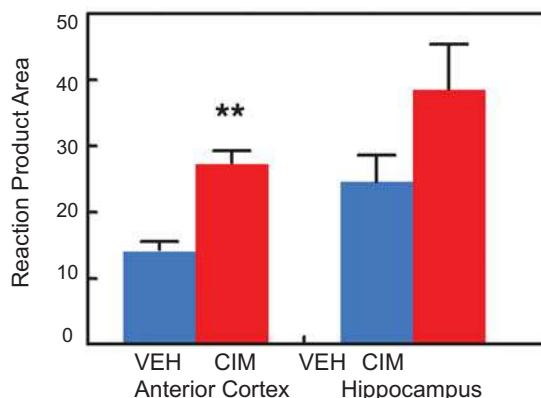


Dacă în hipocamp apare tendința de creștere în hipocampul șoarecilor tratați cu cimetidina în cazul acestui marker, aceasta nu prezintă semnificație statistică ( $P = 0.09$ ). Această creștere a colorației gliale se restrânge la cazul microgliilor, întrucât nici o tendință de colorare a astrocitelor (GFAP utilizat ca marker) nu se regăsește la șoarecii respectivi. (Tabel 2). Apoi, tratamentul cu cimetidina nu a modificat nici unul din markerii celulelor gliale în cazul șoarecilor nontransgenici tratați pe aceeași durată cu cimetidina (valorile pentru CD45 sunt: Cortex CTL=0.09 + 0.02, CIM=0.09 + 0.03; Hipocamp: CTL=0.11+ 0.02, CIM=0.08+0.0; valorile pentru CD11b sunt Cortex CTL=9.22+2.3, CIM=10.2+2.9; Hipocamp CTL=14.2+1.7, CIM=16.5+2.1; valorile pentru GFAP Cortex: CTL=0.05+0.01, CIM=0.04+0.01; Hipocamp CTL=1.6+0.13, CIM=1.7+0.23).

**Figure 5.** Imunohistochimia CD11b in microgliile soarecilor transgenici APP+PS1 supusi la tratament cu cimetidina timp de 12 luni. Colorarea imunohistochimica CD11b (mac-1 antibody). Este redata in cortexul anterior (graficele A,B) si hipocamp (C,D). Graficele A si C reprezinta soarecii care au primit solutie vehicol, iar B si D soarecii tratati cu cimetidina. Marire: 40X. Scale bar = 120 mm



**Figure 6.** Cimetidine results in increased CD11b immunohistochemistry in anterior cortex following 12 months of cimetidine treatment via drinking water. Data are expressed as the percentage of the measured area that is positively stained by immunohistochemical reaction product. "VEH" (blue bars) are vehicle treated mice. "CIM" (red bars) are cimetidine treated mice. Values are mean  $\pm$  s.e.m. \*\* P < 0.01.



## Discuții

Ratiunamentul de capatai al acestui studiu, acela ca blocantii H2 pot avea efecte protectoare asupra dezvoltării bolii Alzheimer prin modificarea metabolismului amiloidului nu este confirmata de rezultatele obtinute in acest studiu. Cu toate ca este posibil ca extinderea acestui studiu pe esantioane mai mari sa scoata la iveala un efect

modest, abaterile standard calculate la unele din masuratori au fost sub 10% din valoarea medie, sugerand ca ar fi putut fi detectate reduceri de 20-25%. Valorile medii sugereaza o crestere usoara a depozitelor de amiloid la soarecii tratati cu cimetidina.

Exista cateva explicatii posibile legate de faptul ca cimetidina nu reduce incarcarea amiloidica la soarecii transgenici. Una dintre ele se leaga de faptul ca beneficiul potential al blocantilor H2 in AD poate fi legat de alte evenimente patogenetice decat depozitarea de amiloid. Breitner et al.<sup>5</sup> argumenteaza ca antagonistii receptorilor H2 pot diminua excitotoxicitatea. Activarea de catre histamina a receptorilor H2 poate produce activitate de descarcare in hipocamp<sup>18</sup>, si poate activa cascada de semnalizare ERK2<sup>19</sup>. Histamina poate potentia excitotoxicitatea neuronală mediata de activarea receptorilor NMDA in vitro.<sup>20</sup> Dat fiind beneficiul aparent al tratamentului cu memantina, blocant al receptorului NMDA cu afinitate scazuta, la pacientii cu AD in stadii medii si severe de afectare<sup>21</sup> o actiune antihistaminica ce diminueaza functia receptorului NMDA poate contribui la beneficiul terapeutic al cimetidinei.

Dupa cunostintele noastre, nimeni pana acum nu a pus intrebarea daca blocarea receptorilor H2 ar putea diminua excitotoxicitatea neuronală in vivo.

Nivelele circulante de histamina sunt crescute in AD, si cresc si mai mult pe masura ce boala progreseaza; desi controversat, faptul ca aceasta crestere poate avea loc si la nivel central este de presupus.<sup>22</sup> Histamina sa dovedit a fi toxica si pentru celulele endoteliale in culturi<sup>23</sup>, sugerand ca acesta ar putea fi un alt situs de actiune la care activitatea antihistaminicelor ar putea contribui la protectia impotriva AD.

O a doua posibilitate tine de faptul ca nu toate substantele din categoria blocantilor receptorului H2 confera protectie fata de boala Alzheimer. Exista cercetatori care argumenteaza ca nu toate antiinflamatoarele nonsteroidice care actioneaza prin inhibarea ciclooxigenazei pot amenda riscul de a face boala Alzheimer, deoarece numai unii reprezentanti ai acestei clase de medicamente interfereaza cu prelucrarea gamma secretazei<sup>24</sup>. Prin analogie, blocarea receptorului H2 poate sa nu fie actiunea farmacologica a acestei clase de agenti care raspunde de actiunea protectoare fata de AD. Este posibil ca vreun al compus decat cimetidina, apartinand clasei blocantilor H2, sa aiba actiune amiloid modificatoare sau de alta natura, fara interferenta cu blocarea H2, si acest agent sa raspunda de noianul de date de ordin epidemiologic care pledeaza in literatura de specialitate pentru actiunea anti-AD. Daca alegem cimetidina, si aceasta se datoreaza in parte faptului ca e mai putin selectiva farmacologic decat alti antagonisti H2, aceasta nu eludeaza totusi asertiunea de mai inainte.

Cea de-a treia opțiune este ca utilizarea antagoniștilor H2 nu determină protecție față de AD. În timp ce 2 studii aduc argumente considerabile în favoarea acțiunii antagoniștilor H2 de diminuare a riscului de declanșare a demenței<sup>25,26</sup>, alte studii raportează că nu au găsit evidente în acest sens.<sup>27</sup>

Continuarea unui studiu mai vechi care raporta efecte benefice ale antagoniștilor H2 și antiinflamatoarelor non-steroidice (NSAIDs) asupra prevalenței AD, a evidențiat încă o dată că utilizarea NSAIDs se asociază cu reducerea apariției de noi cazuri de boală, în timp ce blocanții H2 nu au avut nici o influență<sup>28</sup>. În sfârșit, un studiu cu durată de 12 luni scoate în evidență faptul că nizatidina, un antagonist al receptorilor H2, nu are efecte de diminuare a pierderilor cognitive la pacienții cu AD<sup>29</sup>. Lamurirea acestor fapte necesită studii de prevenție viitoare controlate asupra antagoniștilor receptorilor H2.

În studiul nostru, efectul principal al cimetidinei a fost acela de creștere a activității microgliilor asociate depozitelor de amiloid în cazul șoarecilor transgenici. Această creștere a însemnat aproape dublarea activității respective și a fost identificată în ambele zone cerebrale studiate, hipocampusul și cortexul frontal. A fost o descoperire neașteptată, fiindcă studiile publicate referitoare la efectele histaminei sau ale antagoniștilor H2 asupra microgliilor sunt extrem de rare. Totuși, există date care atestă reglarea activității monocitelor / macrofagelor de sorginte periferică de către antagoniștii H2, asemănătoare celei observate în creier. De exemplu, histamina poate diminua creșterea indusă de lipopolizaharide a producției de TNF în celulele mononucleare din sângele periferic. Acest efect este blocat de antagoniștii receptorilor H2.<sup>30,31</sup>

Dacă o acțiune similară a cimetidinei a fost evidențiată de noi în creierul șoarecilor transgenici, aceasta poate crește producția de TNF-alfa în microgliile aflate în proximitatea plăcilor de amiloid. S-a raportat și că în culturi de macrofage peritoneale histamina scade sinteza componentei 5 a complementului de o manieră cimetidin-reversibilă.<sup>32</sup> Data fiind capacitatea amiloidului de a activa cascada complementului 3, efectul cimetidinei de abrogare a suprimării complementului de către histamina este de natură să stimuleze procesele inflamatoare la acești șoareci. În fine, cimetidina poate stimula transformarea monocitelor periferice în macrofage<sup>33</sup>, proces analog activării monocitelor rezidente, microgliile, în sistemul nervos central. Literatura referitoare la reglarea periferică a monocitelor de către histamina argumentează efectul activator al cimetidinei. Recent, noi și alții am argumentat că activarea microgliilor în sistemul nervos central poate fi benefică pentru bolile caracterizate de acumulare de amiloid, cel puțin la șoareci transgenici<sup>34,35</sup>. Dacă o activare microgliala excesivă poate fi daunătoare, faptul că

cimetidina exercită o activare microgliala benefică poate sugera unul din mecanismele prin care această substanță diminuează riscul de a dezvolta boala Alzheimer.

## Nota

Această lucrare a beneficiat de susținere din partea National Institutes of Aging în cadrul unui grant NIH: AG 15490 and AG 18478.

## Bibliografie

1. Halliday G, Robinson SR, Shepherd C, Kril J. Alzheimer's disease and inflammation: a review of cellular and therapeutic mechanisms. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2000; 27: 1-8.
2. Hull M, Lieb K, Fiebich BL. Pathways of inflammatory activation in Alzheimer's disease: potential targets for disease modifying drugs. *Curr Med Chem* 2002; 9: 83-8.
3. Akiyama H, Barger S, Barnum S, Bradt B, Bauer J, Cole GM, Cooper NR, Eikelenboom P, Emmerling M, Fiebich BL, Finch CE, Frautschy S, Griffin WS, Hampel H, Hull M, Landreth G, Lue L, Mucke R, Mackenzie IR, McGeer PL, O'Banion MK, Pachter J, Pasinetti G, Plata-Salamán C, Rogers J, Rydel R, Shen Y, Streit W, Strohmeyer R, Tooyama I, Van Muiswinkel FL, Veerhuis R, Walker D, Webster S, Wegrzyniak B, Wenk G, Wyss-Coray T. Inflammation and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2000; 21: 383-421.
4. Anthony JC, Breitner JC, Zandi PP, Meyer MR, Jurasova I, Norton MC, Stone SV. Reduced prevalence of AD in users of NSAIDs and H2 receptor antagonists: the Cache County study. *Neurology* 2000; 54: 2066-71.
5. Breitner JC, Welsh KA, Helms MJ, Gaskell PC, Gau BA, Roses AD, Pericak-Vance MA, Saunders AM. Delayed onset of Alzheimer's disease with non-steroidal anti-inflammatory and histamine H2 blocking drugs. *Neurobiol Aging* 1995; 16: 523-30.
6. Rampello L, Raffaele R, Nicoletti G, Le Pira F, Vecchio I, Malaguarnera M, Drago F. Neurobehavioral syndrome induced by H2-receptor blocker withdrawal: possible role of prolactin. *Clin Neuropharmacol* 1997; 20: 49-54.
7. Ziemniak JA, Shank RG, Schentag JJ. The partitioning of cimetidine into canine cerebrospinal fluid. *Drug Metab Dispos* 1984; 12: 217-21.
8. Schentag JJ, Cerra FB, Calleri GM, Leising ME, French MA, Bernhard H. Age, disease, and cimetidine disposition in healthy subjects and chronically ill patients. *Clin Pharmacol Ther* 1981; 29: 737-43.
9. Smith IR, Cleverley MT, Ganellin CR, Metters KM. Binding of [3H]cimetidine to rat brain tissue. *Agents Actions* 1980; 10: 422-6.
10. Gordon MN, Holcomb LA, Jantzen PT, DiCarlo G, Wilcock D, Boyett KL, Connor K, Melachroinou JO, O'Callaghan JP, Morgan D. Time course of the development of Alzheimer-like pathology in the doubly transgenic PS1+APP mouse. *Experimental Neurology* 2002; 173: 183-95.
11. Gordon MN, King DL, Diamond DM, Jantzen PT, Boyett KL, Hope CE, Hatcher JM, DiCarlo G, Gottschall P, Morgan D, Arendash GW. Correlation between cognitive deficits and Aβ deposits in transgenic APP+PS1 mice. *Neurobiology of Aging* 2001; 22: 377-85.
12. Morgan D, Diamond DM, Gottschall PE, Ugen KE, Dickey C, Hardy J, Duff K, Jantzen P, DiCarlo G, Wilcock D, Connor K, Hatcher J, Hope C, Gordon M, Arendash GW. A beta peptide vaccination prevents memory loss in an animal model of Alzheimer's disease. *Nature* 2000; 408: 982-5.
13. Hsiao K, Chapman P, Nilsen S, Eckman C, Harigaya Y, Younkin S, Yang F, Cole G. Correlative memory deficits, Aβ elevation, and amyloid plaques in transgenic mice. *Science* 1996; 274: 99-102.
14. Duff K, Eckman C, Zehr C, Yu X, Prada CM, Perez-tur J, Hutton M, Buee L, Harigaya Y, Yager D, Morgan D, Gordon MN, Holcomb L, Refolo L, Zenk B, Hardy J, Younkin S. Increased amyloid-beta42(43) in brains of mice expressing mutant presenilin 1. *Nature* 1996; 383: 710-3.
15. Holcomb LA, Gordon MN, McGowan E, Yu X, Benkovic S, Jantzen P, Wright K, Saad I, Mueller R, Morgan D, Sanders S, Zehr C, O'Campo K, Hardy J, Prada CM, Eckman C, Younkin S, Hsiao K, Duff K. Accelerated Alzheimer-

- type phenotype in transgenic mice carrying both mutant amyloid precursor protein and presenilin 1 transgenes. *Nat Med* 1998; 4: 97-100.
16. Austin LA, Arendash GW, Gordon MN, Diamond DM, DiCarlo G, Dickey CA, Ugen KE, Morgan D. Short-term A $\beta$  vaccines do not improve cognitive performance in cognitively impaired APP+PS1 mice. *Behav Neurosci* 2003; in press.
  17. Arendash GW, King DL, Gordon MN, Morgan D, Hatcher JM, Hope CE, Diamond DM. Progressive behavioral impairments in transgenic mice carrying both mutant APP and PS1 transgenes. *Brain Res* 2001; 891: 45-53.
  18. Yanovsky Y, Haas HL. Histamine increases the bursting activity of pyramidal cells in the CA3 region of mouse hippocampus. *Neurosci Lett* 1998; 240: 110-2.
  19. Giovannini MG, Efooudebe M, Passani MB, Baldi E, Bucherelli C, Giachi F, Corradetti R, Blandina P. Improvement in fear memory by histamine-elicited ERK2 activation in hippocampal CA3 cells. *J Neurosci* 2003; 23: 9016-23.
  20. Skaper SD, Facci L, Kee WJ, Strijbos PJ. Potentiation by histamine of synaptically mediated excitotoxicity in cultured hippocampal neurones: a possible role for mast cells. *J Neurochem* 2001; 76: 47-55.
  21. Reisberg B, Doody R, Stoffler A, Schmitt F, Ferris S, Mobius HJ. Memantine in moderate-to-severe Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 2003; 348: 1333-41.
  22. Fernandez-Novoa L, Cacabelos R. Histamine function in brain disorders. *Behav Brain Res* 2001; 124: 213-33.
  23. Maneiro E, Lombardi VR, Lagares R, Cacabelos R. An experimental model to study the cytotoxic effects induced by beta-amyloid, histamine, LPS and serum from Alzheimer patients on cultured rat endothelial cells. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 1997; 19: 5-12.
  24. Weggen S, Eriksen JL, Das P, Sagi SA, Wang R, Pietrzik CU, Findlay KA, Smith TE, Murphy MP, Bulter T, Kang DE, Marquez-Sterling N, Golde TE, Koo EH. A subset of NSAIDs lower amyloidogenic Abeta42 independently of cyclooxygenase activity. *Nature* 2001; 414: 212-6.
  25. Anthony JC, Breitner JC, Zandi PP, Meyer MR, Jurasova I, Norton MC, Stone SV. Reduced prevalence of AD in users of NSAIDs and H2 receptor antagonists: the Cache County study. *Neurology* 2000; 54: 2066-71.
  26. Breitner JC, Welsh KA, Helms MJ, Gaskell PC, Gau BA, Roses AD, Pericak-Vance MA, Saunders AM. Delayed onset of Alzheimer's disease with non-steroidal anti-inflammatory and histamine H2 blocking drugs. *Neurobiol Aging* 1995; 16: 523-30.
  27. Launer LJ, Jama JW, Ott A, Breteler MM, Hoes AW, Hofman A. Histamine H2 blocking drugs and the risk for Alzheimer's disease: the Rotterdam Study. *Neurobiol Aging* 1997; 18: 257-9.
  28. Zandi PP, Anthony JC, Hayden KM, Mehta K, Mayer L, Breitner JC. Reduced incidence of AD with NSAID but not H2 receptor antagonists: the Cache County Study. *Neurology* 2002; 59: 880-6.
  29. Carlson MC, Tschanz JT, Norton MC, Welsh-Bohmer K, Martin BK, Breitner JC. H2 histamine receptor blockade in the treatment of Alzheimer disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial of nizatidine. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 2002; 16: 24-30.
  30. Bissonnette EY. Histamine inhibits tumor necrosis factor alpha release by mast cells through H2 and H3 receptors. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1996; 14: 620-6.
  31. Wang KY, Arima N, Higuchi S, Shimajiri S, Tanimoto A, Murata Y, Hamada T, Sasaguri Y. Switch of histamine receptor expression from H2 to H1 during differentiation of monocytes into macrophages. *FEBS Lett* 2000; 473: 345-8.
  32. Ooi YM. Histamine suppresses in vitro synthesis of precursor (pro-C5) of the fifth complement component (C5) by mouse peritoneal macrophages. *J Immunol* 1982; 129: 200-5.
  33. Giulivi A, Cilano L, Roncoroni L, Petrella A, Perrone G, Visca U, Spina MP, Ventura M, Rossi F, Massari A. Effects of cimetidine on in vitro transformation of peripheral monocytes to macrophages in healthy volunteers and cancer patients. *Int J Immunopharmacol* 1986;
  34. Morgan D, Jantzen P, Wilcock D, DiCarlo G, Ugen K, Gordon M. The association of microglial activation and amyloid reduction in APP+PS1 transgenic mice. *Current Medicinal Chemistry- Immunologic, Endocrinologic and Metabolic Agents* 2003; 3: 233-43.
  35. Streit WJ. Microglia as neuroprotective, immunocompetent cells of the CNS. *Glia* 2002; 40: 133-9.

# Activitatea complexului enzimatic II-III al lanțului transportor de electroni este scăzută în mușchiul striat al pacienților cu boala Alzheimer

Rolf Wibom, PhD<sup>1</sup>, Tor Ansved, MD, PhD<sup>2</sup>, Ulla Hamberg, MD<sup>3</sup>, Mari Blomberg MD<sup>4</sup>, Kristian Borg, MD, PhD<sup>5</sup>, Hans Basun, MD, PhD<sup>6</sup>, Ulrica von Döbeln, MD, PhD<sup>1</sup>, Anita Garlind MD, PhD<sup>4#</sup>

<sup>1</sup>Department of Laboratory Medicine, Karolinska Institute, Karolinska University Hospital (Huddinge), S-141 86 Stockholm, Sweden.

<sup>2</sup>Department of Clinical Neuroscience, Division of Neurology & Division of Clinical Neurophysiology, Karolinska Institute, Karolinska University Hospital, S-171 76 Stockholm, Sweden.

<sup>3</sup>Department of Psychiatry, Växjö Hospital, Box 1223, S-351 12 Växjö, Sweden.

<sup>4</sup>Neurotec Department, Division of Clinical Geriatrics, Karolinska Institute, Karolinska University Hospital (Huddinge), S-141 86 Huddinge, Sweden.

<sup>5</sup>Department of Clinical Neuroscience, Division of Neurology, Karolinska Institute, Karolinska University Hospital (Solna), S-171 76 Stockholm, Sweden.

<sup>6</sup>Department of Public Health/Geriatrics, Uppsala University Hospital, Box 609, S-751 25 Uppsala, Sweden

## Rezumat

*Un număr din ce în ce mai mare de studii indică implicarea unei disfuncții mitocondriale în patogeneza bolii Alzheimer (BA). Mitocondriile conțin un lanț transportor de electroni format din patru complexe enzimatice diferite: complexul I, II, III și IV. În studii de față au fost efectuate cercetări biochimice asupra activității complexelor I+II, II+III și IV, corelate cu activitatea markerului enzimatic mitocondrial citrat sintetază (CS), în paralel cu studii morfologice mitocondriale și histochemice asupra unor eșantioane de țesut muscular striat provenite de la 10 pacienți cu BA și 9 subiecți martor.*

*Modificările neurogenice au fost prezente atât pe biopsiile pacienților cu BA cât și la martori, ca rezultat al unui proces de denervare-reinervare legat de vârstă, ce părea ușor mai pronunțat în grupul BA. Nu au putut fi observate diferențe intergrup convingătoare utilizând colorațiile histochemice enzimatice mitocondriale. În contrast, cu ocazia studiilor biochimice, am descoperit că activitatea complexului II+III a fost scăzută în mușchiul scheletic al subiecților cu BA comparativ cu martorii (0,49±0,03 unități/unitate CS [media±SEM] față de 0,59±0,03 unități/unitate CS, p<0,05). Nu au existat diferențe semnificative în activitatea complexelor I+III sau IV. Aceste rezultate indică o afectare mitocondrială în mușchiul scheletic din BA și subliniază că BA nu este o afecțiune strict limitată la creier.*

*Cuvinte cheie:* lanț transportor de electroni, mitocondrie, mușchi scheletic, boală Alzheimer, succinat-citocrom c reductază.

## Introducere

Degenerescenta mitocondrială este o componentă importantă a neuropatologiei din boala Alzheimer (BA) <sup>6,19,22,24,35,50,59</sup> ce survine precoce în evoluția bolii, anterior formării neurofibrilelor<sup>21</sup>. Disfuncția mitocondrială poate avea ca rezultat creșterea producției de radicali liberi, afectarea homeostaziei calciului intracelular și creșterea vulnerabilității la excitotoxine<sup>31,39</sup>, toate aceste mecanisme fiind implicate în patogeneza BA<sup>36,46,52</sup>. Mitocondria este principala sursă de energie celulară și conține lanțul transportor de electroni implicat în fosforilarea oxidativă. Lanțul transportor de electroni este localizat pe membrana mitocondrială internă și cuprinde patru complexe enzimatice diferite: Complexul I (NADH: ubiquinonă oxidoreductaza), complexul II (succinat: ubiquinonă oxidoreductaza), complexul III (ubiquinol: citocrom c reductaza) și complexul IV (citocrom c oxidaza, COX).

Aceste complexe, împreună cu un al cincilea complex enzimatic (complexul V [ATP-sintetaza]) sunt toate implicate în fosforilarea oxidativă celulară, adică transferul electronilor la oxigen cuplat cu sinteza ATP. Au fost raportate disfuncții ale lanțului mitocondrial transportor de electroni, modificările complexului IV fiind găsite cel mai constant. Astfel, s-a observat scăderea activității COX și a nivelurilor ARNm pentru subunitățile COX encodate mitocondrial, precum și modificări ale comportamentului cinetic și concentrațiilor COX<sup>8-9,12,25,33,38,51</sup>. În țesuturile periferice s-a descoperit o scădere a activității COX pe culturi de fibroblaști provenite de la pacienți cu BA sporadică<sup>16</sup> și plachete<sup>9,42-43</sup>. Pentru liniile celulare la care ADN-ul mitocondrial endogen a fost extras și înlocuit cu ADN mitocondrial plachetar de la pacienți cu boală Alzheimer, realizând astfel un model celular al bolii prin așa numiții „hibridi celulari”<sup>28</sup>, activitatea COX a fost redusă semnificativ<sup>54</sup>. Disfuncții ale complexelor II+III și I au

**#Corespondență:** Anita Garlind MD, PhD, Neurotec Department, Division of Clinical Geriatrics, Karolinska Institute, Karolinska University Hospital (Huddinge), S-141 86 Huddinge, Sweden.  
Phone: +46 8 686 51 00, +46 70 30 31 107; Fax: +46 8 686 5645, E-mail: Anita.Garlind@neurotec.ki.se

fost de asemenea raportate, activități scăzute fiind observate pe preparate mitocondriale din cortexul temporal<sup>20</sup> și cel occipital al indivizilor cu BA<sup>38</sup>, precum și o scădere a subunităților FeS din complexul III în hipocamp<sup>9</sup>. O scădere a expresiei genice a ND4, o subunitate a complexului I, encodat prin ADN mitocondrial, a fost raportată în cortexul temporal al bolnavilor de BA<sup>18</sup>.

Mai mult, funcțiile mitocondriale ar putea fi afectate de prezența peptidului amiloid  $\beta$  ( $A\beta$ )<sup>1,11,44-45,49</sup>.  $A\beta$  este un fragment proteolitic rezultat din proteina precursoră a amiloidului  $\beta$  ( $\beta$ APP) și se acumulează anormal în cortexul cerebral și pereții vaselor sanguine din creierul afectat de BA.  $A\beta$  a fost de asemenea identificat în fibrele musculare în *miozita cu incluzii citoplasmice* (MIC)<sup>3</sup> și, recent, în mușchiul temporal în BA, găsindu-se concentrații ridicate ale peptidelor amiloidogenetice  $A\beta$ 1-40 și  $A\beta$ 1-42 comparativ cu țesutul muscular al martorilor<sup>27</sup>. Deși semnele și simptomele clinice sunt diferite, a fost sugerat că BA și MIC au aceleași mecanisme patogenice<sup>4</sup>, ambele fiind afecțiuni lent progresive legate de vârstă, cu o asemănare remarcabilă a fenotipurilor moleculare, incluzând acumularea de  $A\beta$  și proteină tau fosforilată, inflamația și semnele de disfuncție mitocondrială și stres oxidativ, deși în organe diferite<sup>3</sup>. Creierul și mușchiul scheletic sunt țesuturi ce depind puternic de metabolismul oxidativ normal și funcționarea mitocondriei, și sunt sin-gurele țesuturi umane afectate de acumularea de  $A\beta$ . Ținând cont de aceste observații și căutând un posibil marker pentru BA, am cercetat funcția mitocondrială în țesutul muscular scheletic al pacienților cu BA studiind activitatea complexelor mitocondriale I+III, II+III și IV în paralel cu evaluarea caracteristicilor morfologice și histologice ale mitocondriilor în țesutul muscular striat al pacienților cu BA.

## Materiale și metode

### Materiale

Toți reactivii au fost obținuți de la Sigma Chemical Co., St Louis, Mo, USA.

### Selecția subiecților și prelevarea mostrelor tisulare

După aprobarea Comisiei locale de Etică și obținerea acordului informat de la subiecții martor și pacienți saurudele acestora, au fost prelevate percutanat 50-100 mg țesut muscular din mușchiul tibial anterior, utilizând tehnica de biopsie percutană Radner<sup>47</sup> de la 10 pacienți cu BA (8 femei și 2 bărbați, vârstă medie  $\pm$  DS 81 $\pm$ 1,6 ani, limite 70-86) și 9 subiecți martor (2 femei și 7 bărbați, vârstă medie  $\pm$  DS 75 $\pm$ 1,7 ani, limite 68-82). Toți pacienții aveau un diagnostic clinic de boală Alzheimer probabilă conform NINCDS/ADRDA<sup>34</sup>.

Persoanele martor fără ante-cedente heredo-colaterale de de-mentă au fost evaluate prin investi-gații complexe incluzând RMN, SPECT, EEG și teste neuropsihologice și de laborator, fără să sedescopere antecedente sau semneși simptome ale unor afecțiuni neurologice sau psihiatrice.

Subiecții ce prezentau infecții, consum excesiv de alcool, diabet, boli renale sau musculare sau orice altă afecțiune gravă au fost excluși. Toți subiecții aveau o stare de sănătate somatică bună, iar nivelul de activitate fizică a fost estimat ca fiind egal între cele două grupuri.

### Analizele histochemice și morfologice

#### Tehnica biopsiei musculare

Materialul biptic necesar examinării la microscopul optic, incluzând analize morfologice și histochemice, a fost înghețat rapid în freon-22, răcit cu azot lichid (-190°C) și apoi depozitat în congelator la -75°C până la procesarea ulterioară. Secțiuni de 10-15  $\mu$ m au fost tăiate la criostat la -20°C și colorate cu hematoxină-eozină, tehnica tricrom Gomori modificată<sup>17</sup>, dar și cu tehnici speciale pentru miozin-adenozin-trifosfatază (miozin-ATPază)<sup>10,40</sup>, NADH-TR<sup>48</sup>, COX, succinat dehidrogenază (SDH) și pentru evidențierea conținutului de lipide (ulei roșu O, negru de Sudan) și glicogen (PAS).

Nomenclatura fibrelor musculare a avut la bază colorabilitatea pentru miozin-ATPază. Astfel, fibrele cu conținut ridicat de miozin-ATPază stabilă în mediu acid și conținut redus de miozin-ATPază stabilă în mediu alcalin au fost denumite „tip I”, în timp ce fibrele cu caracteristici decolorabilitate inverse au fost denumite „tip II”<sup>10</sup>. Au fost clasificate toate fibrele dintr-o secțiune transversală din fragmentul de țesut muscular, estimându-se numărul total din fiecare tip.

Evaluarea morfologică a fost efectuată de doi specialiști în miologie (TA și KB), conform procedurilor de rutină, fără a cunoaște proveniența eșantioanelor.

### Analizele biochimice

Mitocondriile au fost izolate din țesut muscular proaspăt utilizând tehnici și proceduri deja descrise<sup>58</sup>. Activitatea enzimelor mitocondriale a fost determinată spectrofotometric la 25°C. O fracțiune din mitocondriile izolate a fost înghețată-dezghetată în mediu hipoton<sup>5</sup>, și activitatea NADH-citocrom c reductazei rote-non-sensibile (NCR) și a succinat-citocrom c reductazei (SCR) au fost determinate conform tehnicilor lui Sottocasa și colab.<sup>53</sup> și respectiv Cooperstein și colab.<sup>14</sup> Pentru determinarea activității COCS, izolatele mitocondriale au fost înghețate-dezghetate o dată, apoi tratate cu digitoxină 2 mg/ml imediat înainte de determinarea COX<sup>15</sup>.

Activitatea citrat sintetazei (CS) a fost determinat (a) pe

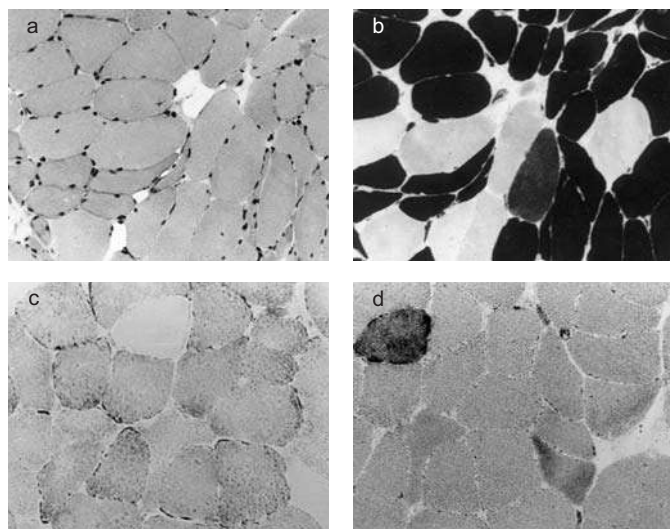
mușchi total după omogenizare în mediu cu Triton X 100 0,05%,  $K_2HPO_4$  50mmol/l și (b) pe mitocondrii izolate per-meabilizate în același mediu<sup>2</sup>.

Toate activitățile enzimatică (cu excepția activității CS în mușchiul total) au fost exprimate ca mmol/min/ml de sus-pensie mitocondrială.

Datele au fost analizate folosind testul U Mann-Whitney. Analiza regresivă a fost folosită pentru a cerceta posibile corelații între vârstă și activitatea enzimatică.

## Rezultate

La 9 dintre pacienții cu BA și 8 dintre martori au fost realizate analizele morfologice și histochimice enzimatică descrise (Tabelul 1). În grupul Alzheimer, biopsiile musculare au prezentat o ușoară variație a dimensiunilor fibrelor la 7 pacienți și variație moderată la 2 pacienți. Trei dintre



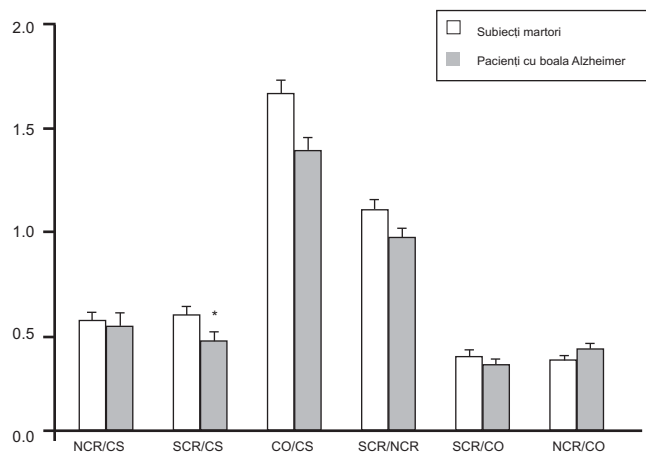
**Figura 1.** Biopsie musculară din m. tibial anterior de la un pacient cu boală Alzheimer. Secțiunile au fost colorate cu hematoxilina-eozină (a), pentru ATPază miofibrilară după preincubare la pH 4,6 (b), și pentru COX (c) și SDH (d). În (a) și (b) există mici grupuri de fibre atrofile angulate de același tip histochimic (tip I). În (c), se observă două fibre cu absența colorației pentru COX. Aceste fibre corespund fibrelor cu colorație crescută pentru SDH (d). Bara de scală = 0,05  $\mu$ m.

biopsiile musculare conțineau nuclei centrali. Fibre musculare atrofile, fie izolate, fie în grupuri, au fost observate la 8 pacienți (Figura 1), iar grupare în funcție de tip (definită ca apariția de grupuri formate atât din fibre de tip I cât și de tip II, în care fibrele de un tip histochimic sunt înconjurate doar de fibre de același tip) s-a observat la 5 pacienți.

La toți pacienții s-a remarcat o predominanță a fibrelor musculare de tip I. Colorația NADH-TR a fost normală cu excepția a doar 2 biopsii, în care unele fibre musculare

aveau un aspect „mâncat de molii”, ca semn al modificărilor structurale din interiorul fibrelor. Două biopsii au conținut rare fibre roșii neregulate, observate prin colorația tricrom Gomori și cea pentru SDH. Specimenele colorate COX au avut aspect normal cu excepția unui pacient la care s-a observat o pierdere de colorație la nivelul câtorva fibre musculare, ce a corespuns cu creșterea intensității colorației SDH (Figura 1). Intensitate crescută a colorației SDH a fost de asemenea observată pentru câteva fibre musculare izolate în biopsiile tuturor pacienților, cu excepția unuia. Nu au fost modificări la colorațiile pentru lipide sau glicogen în nici una dintre biopsiile musculare.

La martori, o variație ușoară a dimensiunilor fibrelor musculare a fost observată în 5 cazuri, nuclei centrali în 2 cazuri și fibre atrofile izolate sau în grupuri, pe 3 biopsii. Gruparea pe tipuri, după cum a fost definită mai sus, a fost observată pe 2 eșantioane musculare. Pentru toate biopsiile martor s-a remarcat o predominanță a fibrelor de tip I. Colorațiile pentru NADH-TR și pentru lipide și glicogen au fost normale la toți martorii. La unul dintre martori au fost observate puține fibre COX negative și fibre roșii neregulate. Colorația SDH a avut intensitate crescută pentru fibre musculare izolate la patru dintre martori. Figura 2 prezintă activitatea enzimelor lanțului respirator pe unitate de activitate CS în suspensie de mitocondrii izolate. O scădere semnificativă a activității complexului II+III a fost



**Figura 2.** Activitatea enzimatică pe mitocondrii izolate din țesut muscular. Toate activitățile enzimatică au fost exprimate în mmol/min/ml suspensie mitocondrială. Datele sunt media  $\pm$  DS, n=10 (pacienți cu boală Alzheimer) sau 9 (subiecți martor). \*p<0,05, test-U Mann-Whitney.

observată la pacienții cu BA (n=10), cu o reducere medie de 21,1% comparativ cu martorii (n=9). Activitatea SCR a fost de  $0,48 \pm 0,03$  (media  $\pm$  DS) și respectiv  $0,59 \pm 0,03$  unități/unități CS, p<0,05 (Figura 2). Considerând o valoare-prag de 0,58 sau mai puțin, sensibilitatea este 90% (9/10), specificitatea 77,8% (7/9), iar valoarea pre-

dictivă pozitivă 81,8%. Nu au fost diferențe semnificative între cele două grupuri în ceea ce privește activitatea enzimatică a complexelor I+III (NCR:  $0,56 \pm 0,06$  și, respectiv,  $0,57 \pm 0,03$  unități /unități CS, la pacienții cu BA și martori) și IV (COX:  $1,42 \pm 0,10$  și, respectiv,  $1,65 \pm 0,07$  unități /unități CS) sau activitatea enzimatică corelată 2 câte 2 (Figura 2).

Activitatea enzimei matricei mitocondriale citrat sintetază a fost de asemenea determinată pe mușchi total, fără a se descoperi diferențe semnificative între pacienții cu BA și martori ( $17,7 \pm 1,5$  mmol/min/kg de țesut muscular și, respectiv,  $16,8 \pm 1,1$  mmol/min/kg țesut muscular).

Deși pacienții cu BA și martorii aveau vârste similare, analiza statistică a arătat o diferență de vârstă semnificativă între cele două grupuri ( $p < 0,05$ ). Totuși, aceasta nu a fost considerată o limitare a acestui studiu, deoarece analiza regresivă pentru activitatea pe unitate de citrat sintetază pentru enzimele NCR, SCR și COX față de vârstă, la pacienții cu BA sau martori, separat sau împreună, nu a evidențiat un efect semnificativ al vârstei asupra acestor loturi ( $p > 0,13$ ). Același lucru este valabil și pentru activitatea citrat sintetazei în mușchi total sau în suspensia mitocondrială ( $p > 0,11$ ).

## Discuții

În acest studiu, am cercetat activitatea complexelor enzimatice I-IV din lanțul mitocondrial transportor de electroni pe mitocondrii izolate, împreună cu morfologia și histologia mitocondriilor din țesutul muscular al pacienților cu BA-comparativ cu martorii. S-a descoperit că activitatea SCR (complexul II+III) este semnificativ redusă în țesutul muscular la cei afectați de BA.

La 6 din cei 9 pacienți cu BA dar și la 4 din 8 martori au fost observate anomalii ale fibrei musculare de tip neuropatic. Modificări neuronale degenerative legate de vârstă precum și scăderea numărului de fibre nervoase mielinizate au fost observate în nervii periferici și rădăcinile spinale la multe specii, inclusiv la om<sup>29</sup>. Modificări neurogenice similare celor observate în acest studiu sunt deci de așteptat ca parte a unui proces de denerare-reinervare legat de vârstă. Nu am studiat în detaliu dacă gradul modificărilor neurogenice în sistemul nervos periferic la pacienții cu BA diferă față de martorii cu vârste similare. În acest studiu, modificările neurogenice par mai frecvente și mai pronunțate în grupul Alzheimer, dar nu se pot desprinde concluzii clare din aceste evaluări calitative din cauza numărului limitat de pacienți și martori.

A fost raportată o asociere între îmbătrânire și creșterea numărului de fibre musculare COX-deficiente<sup>37</sup>, ca și o scădere atât a ratei respiratorii cât și a activității enzimatice a complexelor I și IV în mușchiul scheletic uman<sup>53</sup>. Analiza enzimatică histochimică efectuată a evidențiat fibre sporadice cu o creștere a colorației SDH atât la pa-

cienții cu BA (8 din 9) cât și la martori (4 din 8). La prima vedere, această constatare ar fi în acord cu observațiile noastre biochimice ce evidențiază o activitate enzimatică anormală a complexului II+III în grupul Alzheimer. Totuși, încă o dată, observațiile histochimice enzimatică trebuie interpretate cu reținere din cauza numărului limitat de subiecți și deoarece doar foarte puține fibre din fiecare grup au prezentat colorabilitatea normală. Astfel, nu au putut fi stabilite cu certitudine diferențe intergrup în privința colorabilității SDH. Fibre cu colorabilitate anormală (negativă) pentru COX s-au găsit doar sporadic și doar la un singur individ din fiecare grup. Această descoperire concordă cu datele noastre biochimice ce nu au evidențiat diferențe semnificative statistic între grupuri pentru activitatea enzimatică a complexului IV.

Determinările biochimice asupra enzimelor lanțului respirator au fost efectuate într-o suspensie de mitocondrii purificate izolate din țesut muscular proaspăt, iar ulterior au fost raportate la activitatea CS, determinată de asemenea tot în suspensia mitocondrială. Deoarece CS este localizată specific în matricea mitocondrială, am ales această enzimă ca măsură de referință în favoarea conținutului proteic din suspensia mitocondrială ce ar putea conține reziduuri proteice de origine non-mitocondrială. Activitatea CS a fost de asemenea determinată pe țesut muscular proaspăt, fără a se găsi diferențe între pacienții cu BA și martori, așa cum afirmă și alte studii ce au folosit creier<sup>9,33,38</sup>, plachete<sup>9</sup> sau limfocite<sup>36</sup>. Rezultatele arată că scăderea activității SCR pe unitate de CS la cazurile cu BA observată în acest studiu nu se datorează doar unei pierderi de mitocondrii, ci reflectă o modificare specifică a activității SCR în mușchiul scheletic din BA.

O scădere semnificativă a activității SCR în paralel cu vârsta în țesutul muscular uman a fost raportată de Trouce și colab.<sup>56</sup>, cu toate că noi nu am descoperit nici o corelație. Rezultatele noastre sunt în acord cu alte studii<sup>7,13</sup>, incluzându-l pe cel condus de Brierley și colab., ce a descoperit o slabă corelare între vârstă și activitatea respiratorie mitocondrială la subiecți cu activitate fizică similară<sup>7</sup>. Selecția subiecților și metodele diferite ar putea sta la baza acestor diferențe, întrucât Trouce și colab. au obținut țesut muscular de la pacienți supuși unor intervenții chirurgicale sau suferind de sindroame de oboseală cronică sau dureri musculare, iar activitățile enzimatice evaluate nu au fost corelate cu activitatea CS în țesut muscular omogenizat. În studiul de față, s-a estimat că toți pacienții efectuau același volum de activitate fizică, inclusiv plimbări zilnice. În studiul lui Brierley și colab., activitatea fizică a afectat complexe I și IV, nu și complexul II și nu s-au găsit diferențe în activitatea lanțului transportor de electroni între sexe<sup>7</sup>. Aceasta indică faptul că scăderea activității complexului II+III constatată în urma cercetărilor noastre nu se datorează doar gradului diferit

de activitate fizică sau deosebiri de sex. Activitatea SCR scăzută raportată în prezentul studiu concordă cu descoperirile privind cortexul temporal<sup>20,38</sup> și cel occipital<sup>38</sup> din creierul cu BA, unde s-a descoperit scăderea cu 21-30% a activității complexului II+III. În contrast, într-un studiu anterior asupra țesutului muscular în BA, Mariani și colab. au arătat o creștere semnificativă a activității mai multor enzime oxidative incluzând SCR [+80%] și COX [+37%] în țesutul muscular în BA<sup>30</sup>. Totuși, acest lucru nu a fost confirmat convingător de analizele histologice efectuate, când activitatea COX și SDH a fost găsită crescută la trei din zece pacienți cu BA<sup>30</sup>. Din nou, diferențele metodologice, dar și subgroupurile diferite de pacienți cu BA ar putea explica rezultatele discrepante în ceea ce privește disfuncția lanțului transportor de electroni în BA, după cum au enunțat Kish și colab. într-o analiză privitoare la activitatea COX în creierul cu BA<sup>26</sup>.

Întrucât nu am descoperit diferențe în activitatea NCR (complexul I+III) și observațiile noastre histochemice evidențiază o posibilă modificare a activității SDH (complexul II) în grupul de pacienți cu BA, am fi tentați să sugerăm că scăderea activității SCR în mușchiul scheletic din BA se datorează unei disfuncții a complexului II și/sau unui transport de electroni deficitar între complexe II și III. Consecințele posibile ale unei disfuncții a complexului II în BA au fost demonstrate de Keller și colab. ce au raportat o creștere a concentrațiilor calciului intracelular, a poptoză și acumularea de specii reactive de oxigen după inhibarea complexului II în celule PC<sup>12</sup> ce exprimau prenilină-1 mutantă.<sup>23</sup>

Deși nu am găsit dovezi ale unei disfuncții a COX nici în experimentele morfologice, nici în cele biochimice, mai multe studii au raportat activitate COX deficitară în BA în țesuturi altele decât cel nervos, precum și în creierul cu BA. Totuși, datele sunt totuși contradictorii, deoarece nu toate studiile au reușit să evidențieze o disfuncție și este încă neclar ce regiuni cerebrale sunt implicate. Datele noastre sunt în acord cu cele ale lui Gu și colab. ce au descoperit o scădere a activității complexului II+III dar nu și a complexului IV în cortexul temporal din BA, o zonă de obicei afectată sever în BA<sup>20</sup>.

Descoperirea, atât în acest studiu cât și în altele a unor activități modificate ale complexelor enzimatice din lanțul respirator din afara creierului sugerează posibilitatea unui defect genetic, moștenit sau dobândit, ca factor determinant al disfuncțiilor mitocondriale din BA. Totuși, până în prezent nu a fost dovedit sau infirmat dacă un defect al ADN mitocondrial contribuie la patogeneza BA (pentru detalii vezi ref. 55). O altă explicație ar putea fi influența peptidelor Aβ. S-a dovedit că Aβ<sub>25-35</sub> și Aβ<sub>1-40</sub> influențează funcția mitocondrială, găsindu-se o scădere a activității complexelor II+III și IV în culturile de celule PC<sup>12</sup><sup>44-45</sup> și a complexului IV în mitocondriile din creier de șo-

bolan<sup>11</sup>. Întrucât mușchiul striat din BA conține niveluri semnificativ mai mari de Aβ<sub>1-40</sub> și Aβ<sub>1-42/27</sub>, o posibilă explicație pentru descoperirile noastre ar fi aceea că sunt consecința efectului Aβ asupra lanțului transportor de electroni, similar miozitei cu incluzii citoplasmice unde s-a sugerat că anomalii mitocondriale de tipul fibrelor musculare COX negative ar fi induse de Aβ și/sau βAPP<sup>4</sup>. Totuși, spre deosebire de pacienții cu MIC, pacienții cu BA nu suferă de slăbiciune musculară și atrofie, ci rămân relativ neafecțați pe plan musculo-scheletic până în stadiile avansate ale bolii. Un motiv pentru această diferență ar putea fi acela că modificările mușchilor scheletici în BA și ale activității complexului II+III descoperite de prezentul studiu au un grad relativ redus. Pe măsură ce boala progresează în timp, aceste modificări s-ar putea acumula și, împreună cu o producție crescută de specii de oxigen reactive, în final ar putea să apară simptome clinice.

*În concluzie*, în acest studiu au fost investigate masa și morfologia mitocondrială, precum și activitatea complexelor enzimatice I+III, II+III și IV din lanțul mitocondrial transportor de electroni în mușchiul scheletic din BA. Am descoperit că activitatea enzimatică a SCR (complexul II+III) este scăzută în BA. Scăderea a fost, totuși, prea mică pentru a putea reprezenta un marker biologic pentru BA. Descoperirile noastre susțin dovezile privind existența unei disfuncții mitocondriale în BA, care nu este o afecțiune strict limitată la creier.

## Mulțumiri

Acest studiu a fost susținut prin burse oferite cu generozitate de fundația *Stiftelsen Gamla Tjänarinnor*, *The Swedish Society for Medicine*, *The Swedish Medical Council (prog3875)*, *Loo and Hans Ostermans Foundation for Medical Research*, *The Clas Groschinsky Foundation*, *The Dementia Foundation*, *Gun and Bertil Stohne's Foundation* și *The Karolinska Institute*.

## Abrevieri

Boală Alzheimer	AD
Amiloid β	Aβ
Proteina precursoră a amiloidului β	βAPP
Citrat sintetază	CS
Citocrom c oxidază	COX
Miozită cu incluzii citoplasmice	MIC
NADH-citocrom c reductază	NCR
Succinat-citocrom c reductază	SCR
Succinat dehidrogenază	SDH

## Bibliografie

1. Abraham A.Y., Canevari L., Duchen M.R.,  $\beta$ -amyloid peptides induce mitochondrial dysfunction and oxidative stress in astrocytes and death of neurons through activation of NADPH oxidase. *J Neurosci* 2004; 24: 565-575.
2. Alp P., Newsholme E., Zammit V., Activities of citrate synthase and NAD<sup>+</sup>-linked and NADP<sup>+</sup>-linked isocitrate dehydrogenase in muscle from vertebrates and invertebrates. *Biochem J* 1976; 154: 689-700.
3. Askanas V., Engel W.K., Inclusion-body myositis: Newest concepts of pathogenesis and relation to aging and Alzheimer's disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 2001; 60: 1-14.
4. Askanas V., Engel W.K., Inclusion-body myositis and myopathies: different etiologies, possibly similar pathogenic mechanisms. *Curr Opin Neurol* 2002; 15: 525-531.
5. Machin M.A., Briggs H.L., Saborido A.A., Bindoff L.A., Turnbull D.M., An evaluation of the measurement of the activities of complexes I-IV in the respiratory chain of human muscle mitochondria. *Biochem Med Metab Biol* 1994; 51: 35-42.
6. Blass J.P., Sheu R.K.-F., Gibson G.E., Inherent abnormalities in energy metabolism in Alzheimer's disease. Interaction with cerebrovascular compromise. *Ann NY Acad Sci*, 2000, 903, 204-21.
7. Brierley E.J., Johnson M.A., James O.F.W., Turnbull D.M., Effects of physical activity and age on mitochondrial function. *Q J Med*. 89 (1996) 251-258.
8. Bonilla E., Tanji K., Hirano M., Vu T.H., DiMauro S., Schon E.A., Mitochondrial involvement in Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta* 1999;1410:171-182.
9. Bosetti F., Brizzi F., Barogi S., Mancuso M., Siciliano G., Tendi E.A., Murri L., Rapoport S.I., Solani G., Cytochrome c oxidase and mitochondrial F1F0-ATPase (ATP synthase) activities in platelets and brain from patients with Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2002; 23: 371-376.
10. Brooke M.H., Kaiser M.M., Muscle fibre types 1970. How many and of what kind? *Arch Neurol* 1970;23:369-370.
11. Casley C.S., Canevari L., Land J.M., Clark J.B., Sharpe M.A.,  $\beta$ -amyloid inhibits integrated mitochondrial respiration and key enzyme activities. *J Neurochem*. 2002; 80:91-100.
12. Chandrasekaran K., Giordano T., Brady D.R., Stoll J., Martin L.J., Rapoport S.I., Impairment in mitochondrial cytochrome oxidase gene expression in Alzheimer's disease. *Mol Brain Res* 1994;24:336-340.
13. Cooper J.M., Mann V.M., Schapira A.H.V., Analyses of mitochondrial respiratory chain function and mitochondrial DNA deletion in human skeletal muscle: effect of aging. *J Neurol Sci* 1992; 113:91-98.
14. Cooperstein S.J., Lazarow A., Kurfess N.J., A microspectrophotometric method for the determination of succinic dehydrogenase. *J Biol Chem* 1950;186:129-139.
15. Cooperstein S.J., Lazarow A., A microspectrophotometric method for the determination of cytochrome oxidase. *J Biol Chem* 1951;189:665-670.
16. Curti D., Rognoni F., Gasparini L., Cattaneo A., Paolillo M., Racchi M., Zani L., Bianchetti A., Trabucchi M., Bergamaschi S., Govoni S., Oxidative metabolism in cultured fibroblasts derived from sporadic Alzheimer's disease (AD) patients. *Neurosci Letts* 1997;236:13-16.
17. Engel W.K. and Cunningham G.C., Rapid examination of muscle tissue: an improved trichrome method for fresh-frozen biopsy sections. *Neurology* 1963;13:919.
18. Fukuyama R., Hatanpää K., Rapoport S.I., Chandrasekaran K., Gene expression of ND4, a subunit of complex I of oxidative phosphorylation in mitochondria, is decreased in temporal cortex of brains of Alzheimer's disease patients. *Brain Res* 1996;713:290-293.
19. Gibson G.E., Zhang H., Sheu K.F., Bogdanovich N., Lindsay J.G., Lannfelt L., Vestling M., Cowburn R.F.,  $\alpha$ -ketoglutarate dehydrogenase in Alzheimer brains bearing the APP670/671 mutation. *Ann Neurol* 1998;44: 676-81.
20. Gu M., Owen A.D., Toffa S.E., Cooper J.M., Dexter D.T., Jenner P., Marsden C.D., Schapira A.H., Mitochondrial function, GSH and iron in neurodegeneration and Lewy body diseases. *J Neurol Sci* 1998; 158:24-29.
21. Hirai K., Aliev G., Nunomura A., Fujioka H., Russell R.M., Atwood C.S., Johnson A.B., Kress Y., Vinters H.V., Tabaton M., Shimohama S., Cash A.D., Siedlak S.L., Harris P.L., Jones P.K., Petersen P.B., Perry G., Smith M.A., Mitochondrial abnormalities in Alzheimer's disease. *J Neurosci* 2001; 21: 3017-3023.
22. Kalaria R.N., Harik S.I., Carnitine acetyltransferase activity in the human brain and its microvessels is decreased in Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 1992; 32:583-586.
23. Keller J.N., Guo Q., Holtsberg F.W., Bruce-Keller A.J., Mattson M.P., Increased sensitivity to mitochondrial toxin-induced apoptosis in neural cells expressing mutant presenilin-1 is linked to perturbed calcium homeostasis and enhanced oxyradical production. *J Neurosci* 1998; 18:4439-4450.
24. Kish S.J., Bergeron C., Rajput A., Dozie S., Mastrogiacomo F., Chang L.J., Wilson J.M., DiStefano L.M., Nobrega J.N., Brain cytochrome oxidase in Alzheimer's disease. *J Neurochem* 1992;59:776-779.
25. Kish S.J., Mastrogiacomo F., Guttman M., Furukawa Y., Taanman J.W., Dozie S., Pandolfo M., Lamarche J., DiStefano L., Chang L.J., Decreased brain protein levels of cytochrome oxidase subunits in Alzheimer's disease and in hereditary spinocerebellar ataxia disorders:  $\alpha$  nonspecific change? *J Neurochem* 1999;72:700-707.
26. Kish S.J., Brain energy metabolizing enzymes in Alzheimer's disease: $\alpha$ -ketoglutarate dehydrogenase complex and cytochrome oxidase. *Ann NY Acad Sci* 1997;826:218-228.
27. Kuo Y.-M., Kokjohn T.A., Watson M.D., Woods A.S., Cotter R.J., Sue L.I., Kalback W.M., Emmerling M.R., Beach T.G., Roher A.E., Elevated A $\beta$ 42 in skeletal muscle from Alzheimer disease patients suggests peripheral alterations of A $\beta$ PP metabolism. *Am J Pathol* 2000; 156:797-805.
28. Lan Z., Fang L., Jian-Ping P., Lin L., Development of mtDNA-transfused cell model of Alzheimer's disease and application in pharmacological study on chinese herb components. *Brain Aging*, 2003; 3: 29-35.
29. Larsson L. and Ansved T., Effects of ageing on the motor unit. *Progr Neurobiol* 1995;45:397-458.
30. Mariani C., Bresolin N., Farina E., et al. Muscle biopsy in Alzheimer's disease: morphological and biochemical studies. *Clin Neuropathol* 1991;10:171-176.
31. Markesbury W.R., Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease, *Free Rad Biol Med* 1997; 23: 134-147.
32. Mattson M.P., Mark R.J., Furukawa K., Disruption of brain cell ion homeostasis in Alzheimer's disease by oxyradicals and signaling pathways that protect therefrom. *Chem Res Toxicol* 1997;10:507-17.
33. Maurer I., Zierz S., Möller H.-J., A selective defect of cytochrome c oxidase is present in brain of Alzheimer's disease. *Neurobiol Ag* 2000; 21:455-462.
34. McKhann G., Drachmann D., Folstein M., Katzman R., Price D., Stadlan E.M., Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA work group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology* 1984; 34:939-944.
35. Mecocci P., Cherubini A., Beal M.F., Cecchetti R., Chionne F., Polidori M.C., Romano G., Senin U., Altered mitochondrial membrane fluidity in AD brain. *Neurosci Letts* 1996; 207:129-132.
36. Molina J.A., de Bustos F., Jimenez-Jimenez F.J. Benito-Leon J., Gasalla T., Orti-Pareja M., Vela L., Bermejo F., Martin M.A., Campos Y., Arenas J., Respiratory chain enzyme activities in isolated mitochondria of lymphocytes from patients with Alzheimer's disease. *Neurology* 1997; 48:636-638
37. Mueller-Hocker J., Cytochrome c oxidase deficient fibres in the limb muscle and diaphragm of man without muscular disease: an age-related alteration. *J Neurol Sci* 1990; 100:14-21.
38. Mutisya E.M., Bowling A.C., Beal M.F., Cortical cytochrome oxidase activity is reduced in Alzheimer's disease. *J Neurochem* 1994; 63:2179-2184.
39. Orth M., Schapira A.H., Mitochondria and degenerative disorders. *Am J Med Genet* 2001; 106:27-36.
40. Padykula H.E., Herman E., The specificity of the histochemical method of adenosine triphosphatase. *J Histochem Cytochem* 1955;3:170-183.
41. Parker W.D., Parks J.K., Cytochrome c oxidase in Alzheimer's disease brain. *Neurology* 1995;45:482-486.
42. Parker W.D., Filley C.M., Parks J.K., Cytochrome oxidase deficiency in Alzheimer's disease. *Neurology* 1990;40:1302-1303.
43. Parker W.D. Jr, Mahr N.J., Filley C.M., Parks J.K., Hughes D., Young D.A., Cullum C.M., Reduced platelet cytochrome c oxidase activity in Alzheimer's disease. *Neurology* 1994;44:1086-1090.
44. Pereira C., Santos S.M., Oliveira C., Mitochondrial function impairment induced by amyloid  $\beta$ -peptide on PC12 cells. *Neuroreport* 1998;9:1749-1755.

45. Pereira C., Agostinho P., Oliveira C.R., Vincopocetine attenuates the metabolic dysfunction induced by amyloid  $\beta$ -peptides in PC12 cells. *Free Rad Res.* 2000; 33:497-506.
46. Perry G., Nunomura A., Hirai K., Zhu X., Perez M., Avila J., Castellani R.J., Atwood C.S., Aliev G., Sayre L.M., Takeda A., Smith M.A., Is oxidative damage the fundamental pathogenic mechanism of Alzheimer's disease and other neurodegenerative diseases? *Free Rad Biol Med* 2002; 33:1475-79.
47. Radner S., Knappnålsteknik för iterativ muskelbiopsi. *Trans Swed Soc Med Sci* 1962;19:94.
48. Scarpelli D.G., Hess R., Rears A.G.E., The cytochemical localization of oxidative enzymes. *J Biophys Biochem Cytol.* 1958;4:747-752.
49. Shearman M.S., Ragan C.I., Iversen L.L., Inhibition of PC12 cell redox activity is a specific, early indicator of the mechanism of  $\beta$ -amyloid-mediated cell death. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:1470-1474.
50. Sheu K.F.-R., Cooper A.J.L., Koike K., Koike M., Lindsay G., Blass J.P., Abnormality of the  $\alpha$ -ketoglutarate dehydrogenase complex in fibroblasts from Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 1994; 35:312-318.
51. Simonian N.A., Hyman B.T., Functional alterations in Alzheimer's disease: diminution of cytochrome oxidase in the hippocampal formation. *J Neuropathol Exp Neurol* 1993;52:580-585.
52. Smith M.A., Sayre L.M., Monnier V.M., Perry G., Radical AGEing in Alzheimer's disease. *Trends Neurosci* 1995;18:172-176.
53. Sottocasa G.L., Kuylentierna B., Ernster L., Bergstrand A., An electron-transport system associated with the outer membrane of liver mitochondria. A biochemical and morphological study. *J Cell Biol* 1967;32:415-438.
54. Swerdlow R.H., Parks J.K., Cassarino D.S., Maguire D.J., Maguire R.S., Bennett Jr J.P., Davis R.E., Parker D.W., Cybrids in Alzheimer's disease: a cellular model of the disease? *Neurology* 49 (1997) 918-925.
55. Swerdlow R.H., Kish S.J., Mitochondria in Alzheimer's Disease, *Int Rev Neurobiol* 2002;53:341-85.
56. Trounce I., Byrne E., Marzuki S., Decline in skeletal muscle mitochondrial respiratory chain function: possible factor in ageing. *Lancet* 1989;25:637-639.
57. Van Zeulen A.J., Bosman G.J.C.G.M., Ruitenbeek W., Van Kalmthout P.J.C., De Grip W.J., No evidence for reduced thrombocyte cytochrome oxidase activity in Alzheimer's disease. *Neurology* 1992;42:1246-47.
58. Wibom R., Hultman E., ATP production rate in mitochondria isolated from microsamples of human muscle. *Am J Physiol* 1990;259:E204-209.
59. Yates C.M., Butterworth J., Tennant M.C., Gordon A., Enzyme activities in relation to pH and lactate in postmortem brain in Alzheimer-type and other dementias. *J Neurochem* 1990;55:1624-1630.

# Evaluarea Geriatrică Standardizată pe un lot de pacienți cu Patologie Tiroidiană și demență de tip Alzheimer

Ioana Ioancio, Luiza Spiru, Ion Gheorghe Totoianu, Alexandru Ioancio, Daniela Mitrache

## Abstract

**Boala Alzheimer reprezintă la ora actuală cea mai importantă afecțiune neurodegenerativă. Prevalența bolii înregistrează o creștere cu 0,2% la persoanele cu vârste între 55 și 64 ani și cu 27% la varstnicii de 65 ani și peste. Primul simptom al bolii este deficitul cognitiv. Acesta devine din ce în ce mai sever pe măsura ce boala avansează. Deși patologia tiroidiană nu constituie factor de risc pentru boala Alzheimer, meritul diagnosticului precoce și al tratamentului prompt al unei afecțiuni tiroidiene constă în facilitarea prognosticului asupra deteriorării deficitului cognitiv. Nu se poate evalua cu acuratețe deficitul cognitiv la un pacient cu boala Alzheimer prin teste psihometrice dacă nu s-a exclus din diagnostic patologia tiroidiană. Studiul de față a fost realizat în perioada 8 martie 2004 - 31 mai 2005, în Clinica de Geriatrie și Gerontologie din cadrul Spitalului Elias București, pe un lot de 850 pacienți dintre care 327 (38,5%) au primit la externare diagnosticul de demență. Dintre cei 850 de pacienți internați în perioada amintită 41 au prezentat patologie tiroidiană asociată. Fiecarui caz i s-a efectuat evaluarea geriatrică standardizată.**

**Cuvinte cheie:** demență, deficit cognitiv, evaluare geriatrică standardizată

Termenul de demență a fost elaborat pentru a distinge pacienții cu afectare cognitivă multiplă de cei cu deficite focale sau stări confuzionale.

Diagnosticul precoce al tulburărilor de tip demențial a devenit o problemă de maximă importanță din cauza creșterii numărului de demențe în populația adultă, mai cu seama odată cu îmbătrânirea demografică, și implicit a efortului social și a sumelor alocate anual din bugetele de sănătate.

În perioada 8 martie 2004 – 31 mai 2005, în Clinica de Geriatrie și Gerontologie din cadrul Spitalului Universitar de Urgență "Elias" din București, s-au internat 850 de pacienți, din care 327 (38,5%) au primit diagnosticul de demență.

Distribuția procentuală a pacienților în funcție de tipul de demență, ilustrată în grafic, se caracterizează prin ponderea mare a bolnavilor cu demență de tip Alzheimer (demență degenerativă), respectiv 254 (77,7%). Un număr de 55 de pacienți (16,8%) au prezentat demență mixtă și 18 (5,5%) – demență vasculară (fig. 1).

Dintre cei 850 de pacienți internați în perioada în care s-a desfășurat studiul, 41 (4,8%) au prezentat patologie tiroidiană asociată. În urma examenului clinic și paraclinic la 10 din cei 41 de pacienți diagnosticul de demență a fost înfirmat, evidențiindu-se în schimb la aceștia un deficit cognitiv lejer (scor MMSE între 25 și 30 puncte) însoțit, la tulburări anxio-depresive la 6 dintre ei și depresie la unul. Având în vedere faptul că deficitul cognitiv lejer care apare în tulburările anxio-depresive și în boli tiroidiene reprezintă un capitol separat de trecere de la îmbătrânirea normală spre diferite tipuri de demență (cele mai multe de tip Alzheimer) și implică un algoritm de diagnosticare diferit, acești 10 bolnavi au fost excluși din lotul de studiu (rămânând însă sub asistența medicală). Prin urmare, lotul studiului de față a cuprins în cele din urmă un număr de 31 de pacienți cu demență și patologie tiroidiană asociată.

Pentru interpretarea rezultatelor obținute în urma prelucrării scorurilor obținute de fiecare pacient la testele de evaluare ale funcțiilor cognitive și comportamentale, s-au respectat instrucțiunile specifice testului. Valorilor cantitative li s-a conferit o interpretare calitativă (de exemplu, un scor MMSE cuprins între 28 și 30 semnifică un deficit cognitiv lejer).

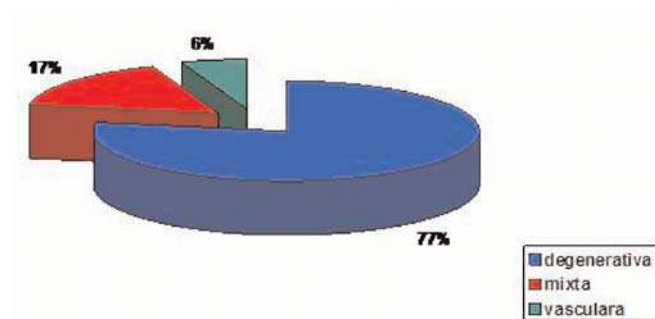


Fig.1 Distribuția procentuală a tipurilor de demență în cadrul lotului studiat.

## Evaluarea Geriatrică Standardizată (SGE)

### 1. Evaluarea deficitului cognitiv după Mini Mental Status Examination (MMSE).

Scorul MMSE a fost determinat la 30 din cei 31 de pacienți, deoarece la un pacient evaluarea deficitului cognitiv după MMSE nu a putut fi realizată. În acord cu practica clinicii noastre referitoare la criteriile de diagnostic, la un pacient deteriorat cognitiv cu un scor MMSE sub 10, adică scor ce indică un deficit cognitiv sever, se consideră aplicarea testului ca fiind inoportună. Conform rezultatelor obținute, la 20 de bolnavi (66.8%) a fost stabilit un deficit cognitiv lejer, cu scoruri cuprinse între 25 și 30 de puncte. Dintre pacienți, 6 (20.0%) au prezentat un deficit cognitiv moderat-lejer (scor între 20 – 24), 2 (6.6%) – deficit cognitiv moderat (scor între 15 și 19 puncte) și 2 (6.6%) – deficit cognitiv moderat-sever (scor MMSE între 10 și 14). Deficitul cognitiv sever nu a fost consemnat la niciun pacient (fig.2).

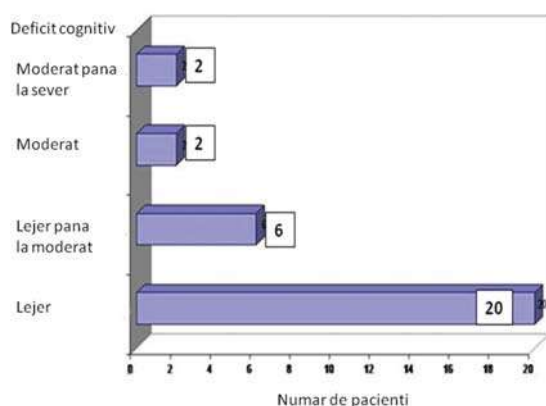


Fig. 2 – Distribuția pacienților în acord cu statusul cognitiv apreciat cu ajutorul scalei MMSE.

Indicatorii de caracterizare a distribuției scorurilor MMSE sunt prezentați în tabelul nr.1.

Tabel nr.1 - Indicatorii distribuției scorurilor MMSE

Indicator	Valoare
Scor mediu	25.5
Scor median	28
Scor modal	29
Interval de variație	13 – 30
Abaterea standard (sx)	± 5.0
Coeficient de variație	19.6% (dispersie medie)

### 2. Testul orologiului (ceasului)

La 22 (71.0%) dintre pacienți s-a aplicat testul ceasului. Opt dintre aceștia (36.4%) au avut un scor de 10, la 4 pa-

cienți (18.2%) s-a înregistrat un scor de 7 și la 3 (13.6%) un scor de 8. Un scor egal cu zero a fost determinat la 4 pacienți (18.2%), iar un scor de 1 la 2 pacienți (9.1%). Un singur bolnav din cei la care s-a aplicat testul orologiului a avut un scor de 6 (fig. 3).

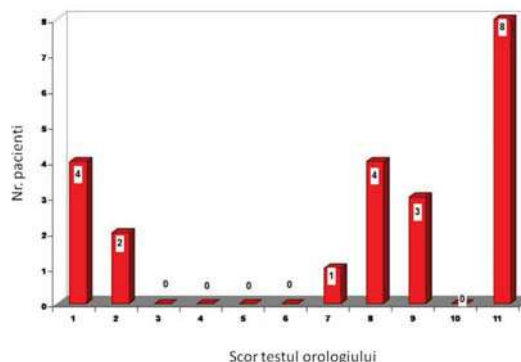


Fig. 3 – Distribuția în funcție de scor la pacienții cărora li s-a aplicat testul orologiului.

Indicatorii de caracterizare a distribuției scorurilor testului orologiului sunt prezentați în tabelul nr. 2.

Tabel nr. 2 - Indicatorii distribuției scorurilor testului orologiului

Indicator	Valoare
Scor mediu	6.4
Scor median	7.5
Scor modal	10
Interval de variație	0 - 10
Abaterea standard (sx)	± 4.0
Coeficient de variație	62.5% (dispersie mare).

### 3. Scala deteriorării globale (Global Deterioration Scale) – GDS

Din cei 25 de bolnavi la care s-a aplicat scala GDS, 20 (80.0%) s-au încadrat în stadiul 3 al scalei – “deficit cog-

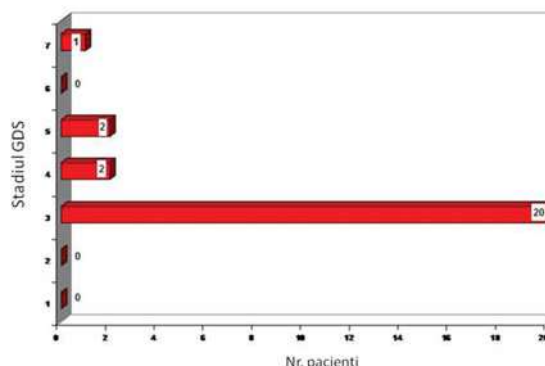


Fig. 4 – Distribuția pacienților în raport cu stadiul deteriorării globale investigat cu ajutorul scalei GDS.

nitiv ușor” și 4 (16.0%) în stadiile 4 și 5 – “deficit cognitiv moderat–mediu până la sever”. Un singur pacient s-a plasat în stadiul 7 al scalei GDS – “puține funcții cognitive aparente”. Acesta este pacientul la care scorul MMSE a fost imposibil de evaluat (fig. 4).

#### 4. Scala Clinică a Demențelor (SCD) - (Clinical Dementia Rating scale – CDR)

Distribuția celor 25 de pacienți a căror evaluare a deficitului cognitiv s-a făcut prin aplicarea scalei SCD prezintă, așa cum era de așteptat, aceeași alura cu cea a deficitului cognitiv stabilit cu ajutorul scalei de deteriorare globală (GDS). Astfel: scorul de 0.5, respectiv “suspiciune de demență”, a fost evidențiat la 20 de bolnavi; “demența ușoară”, și respectiv “moderată” (scor 1 și, respectiv 2) s-a consemnat la 4 pacienți. Pacientul la care MMSE a fost imposibil de evaluat s-a încadrat în stadiul 5 al scalei – “demență severă” (fig. 5).

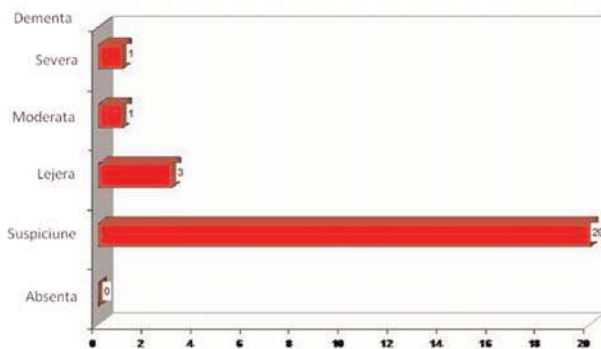


Fig. 5 – Patients distribution depending on the stage appreciated by means of the CDR scale.

Indicatorii de caracterizare a distribuției scorurilor SCD sunt prezentați în tabelul nr. 3.

Table Nr. 3 - indicators of SCD scores distribution.

Indicator	Valoare
Mean score	0.7
Median score	0.5
Modal score	0.5
Variation interval	0.5 - 3
Standard deviation (sx)	± 0.6
Variation coeficient	85.7% (large dispersion)

#### 5. Evaluarea nutrițională – testul Mini Nutritional Assessment (MNA))

La toți cei 31 de pacienți, scorurile obținute au avut valori mai mari de 23.5, ceea ce indică prezența unei stări de nutriție în limite normale.

#### 6. Evaluarea echilibrului static și dinamic - Proba Tinetti

Cu excepția unui singur pacient, la care scorurile obținute au indicat dificultăți în menținerea echilibrului static (scor test Tinetti Static = 39) și în menținerea echilibrului dinamic (scor test Tinetti Dinamic = 18), la toți ceilalți 30 de pacienți valorile s-au încadrat în limitele normalului.

#### 7. Scorul Norton pentru escare

La 30 de bolnavi scorul a fost mai mare de 14, ceea ce indică absența riscului de escare la acești pacienți. Un singur pacient a prezentat risc de escare, valoarea scorului la acesta fiind de 13.

În opinia noastră rezultatele obținute în acest studiu îndreptătesc concluzia ca evaluarea geriatrică standardizată este o metodă valoroasă în diagnosticul precoce al deficitului cognitiv la pacienți cu boala Alzheimer la care s-a asociat patologia tiroidiană.

#### Referințe

- Cockrell J.R. and Folstein M.F. : Mini Mental State Examination (MMSE), *Psychopharmacology* , 1988 ;24 : 689 – 692 .
- Cummings J.E. , Mega M. , Gray K. , et al : The Neuro-psychiatric Inventory: Comprehensive assessment of psychopathology in dementia . *Neurology* , 1994; 44; 2308-2314.
- McKhann G. , Drachman D., Folstein M., Katzman R., Price D., and Stadlan E.M.: Clinical diagnosis of Alzheimer ' s disease : report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human services task Force on Alzheimer's Disease., *Neurology* , 1984 ; 34 , 939-944.
- Reiber B., Fewrris S.H., de Leon M.J. , Crook T.: The Global Deterioration Scale, *American Journal of Psychiatry*, 1982 ; 139 : 1136-1139.
- Sheikh K., Smith D.S., Meade T.W., Goldenberg E., Brennan P.J., Kinsella G.: Repeatability and validity of a modified Activities of Daily Living (ADL). Index in studies of chronic disability . *International Rehabilitation Medicine* , 1979 ; 1 : 51-58.
- Schulman K., Shedletsky R., Silver I.: The challenge of time. Clock drawing and cognitive function in the elderly. *International Journal of Geriatric Psychiatry* , 1986 ; 1 : 135-140.
- Spiru L., Romosan I.: Geriatrie , vol.I , Editura Solness, Timisoara, 2002.
- Spiru L., Romosan I.: Geriatrie , vol.II , Editura Solness, Timisoara, 2002.
- Spiru L., Vellas B., Ousset P.J.: Scorul activitatilor cotidiene, *Brain Aging International Journal – editie in limba romana*, vol.I, Nr.2, 2003.
- Spiru L., Vellas B., Ousset P.J., Winblad B.: Testul MMSE (Mini Mental State Examination) si testul orologiului , *Brain Aging International Journal- editie in limba romana*, vol.I, Nr.1, 2003.
- Spiru L., Vellas B., Ousset P.J.: Scorul IADL al activitatilor curente, *Brain Aging International – editie in limba romana*, vol.II, Nr. , 2004.
- Spiru L., Vellas B., Ousset P.J.: Caiet de observatie pentru pacientii cu demența tip Alzheimer , Editia I , Editura Universitara “ Carol Davila ”, Bucuresti, 2000.
- Spiru L., Vellas B., Ousset P.J.: Caiet de observatie pentru pacientii cu boala Alzheimer, Editia II , Editura Universitara “ Carol Davila ”, Bucuresti, 2000.
- Spiru L., Vellas B., Ousset P.J.: Teste clinice pentru diagnosticul demenței de tip Alzheimer, Editura Universitara “ Carol Davila ”, Bucuresti, 2001.
- Tinetti M.E.: Performance – oriented assessment of mobility problems in elderly patients. *J Am Geriat. Soc.* 1986 ; 39 : 142-148.
- Zarit S.H., Reever K.E., Bach-Peterson J.: Relatives of impaired elderly: correlates of feeling of burden *Gerontologis* , 1980 ; 20 : 649-655.

# “Scala Gottfries-Brane-Steen (GBS)”

Toate drepturile rezervate pentru scala GBS, tradusa si adaptata in limbile engleza, suedeza, bosniaca/croata/sarba, ceha, daneza, olandeza, finlandeza, franceza, germana, greaca, islandeza, italiana, norvegiana, poloneza, romana, rusa si spaniola, publicate in Brain Aging International Journal, ISSN 1582-8352, 2002. Nici o parte a acestei publicații nu poate fi reproducă, stocată sau transmisă in nici o formă și prin nici un mijloc electronic, mecanic, fotografic etc. fără permisiunea “Ana Aslan International” Academy of Aging®, “Ana Aslan International” Foundation®, Brain Aging International Journal®.

## Introducere

Scala Gottfries-Brane-Steen (GBS) este o scala de evaluare pentru trei tipuri de functii (intelectuale, emotionale si de indeplinire a activitatilor zilnice (activities of daily living - ADL) precum si a unor simptome comportamentale si psihologice comune in demente. Scala este bine pusa la punct fiind utilizata de peste doua decade. Imbatranirea demografica globala progresteaza rapid si duce concomitent la cresterea procentului de pacienti cu dementa. In

multe tari se aloca sume considerabile pentru asistarea acestor pacienti, care trebuie de asemenea sporite in viitor. Cercetarile referitoare la dementa sporesc si ele si noi strategii terapeutice de ordin farmacologic si psihologic sunt testate in studii clinice, unele cu rezultate incurajatoare in sensul ca unii pacienti cu dementa evidentiaza imbunatatiri, sau nu inregistreaza deteriorari in cursul acestor testari. Pentru a putea compara rezultate obtinute in diverse tari este necesara utilizarea de

## Funcțiile intelectuale

	0	1	2	3	4	5	6
<b>Orientare raportata la propria persoana</b>	Își cunoaste numele, varsta, profesia si data nasterii <input type="checkbox"/>		Isi cunoaste numele dar poate avea deficit cognitiv in ceea ce priveste ocupatia, varsta si data nasterii <input type="checkbox"/>		Isi aminteste numele in mod acceptabil dar nu si ocupatia, varsta si data nasterii <input type="checkbox"/>		Complet dezorientat raportat la propria persoana <input type="checkbox"/>
<b>Orientare temporala</b>	Orientat temporal in totalitate <input type="checkbox"/>		Partial orientat temporal;cunoaste cel putin doua din variabilele temporale, an, luna zi din saptamana si data <input type="checkbox"/>		Cunoaste ce anotimp este dar nu si ziua din saptamana, data , luna sau anul <input type="checkbox"/>		Complet dezorientat temporal <input type="checkbox"/>
<b>Orientare spatiala</b>	Cunoaste in ce loc geografic se afla, de ex. spital, sectie, salaon sau camera <input type="checkbox"/>		Are unele deficite in orientarea spatiala dar isi gaseste drumul catre propriul salaon sau casa <input type="checkbox"/>		Dezorientat, adica are dificultati in gasirea drumului catre propriul salaon sau casa <input type="checkbox"/>		Complet dezorientat spatial <input type="checkbox"/>
<b>Memoria recenta</b>	Fara tulburari ale memoriei recente; stie ce s-a petrecut in ultimele zile <input type="checkbox"/>		Memoria recenta este deficitara, dar acest lucru este evident doar in conversatiile complexe <input type="checkbox"/>		Un deficit atat de sever al memoriei recente incat este evident in cadrul unei conversatii usoare <input type="checkbox"/>		Memoria recenta complet pierduta; nu-si poate aduce amainte un anumit lucru de la un moment la altul <input type="checkbox"/>
<b>Memoria de lunga durata</b>	Fara tulburari ale memoriei de lunga durata; in conversatiile complexe isi aminteste numele persoanelor care au avut un rol semnificativ pentru el/ea si cu rol important in viata politica si /sau alte evenimente din perioadele timpuri ale vietii lui/ei <input type="checkbox"/>		Dificultati in a-si aminte de persoanele care au avut un rol semnificativ pentru el/ea si important d.p.d.v. politic si /sau alte evenimente din perioadele timpuri ale lui/ei <input type="checkbox"/>		Un deficit atat de sever incat este evident in cadrul unei conversatii usoare de ex. nu-si aduce aminte numele membrilor de familie si nici numarul acestora sau unde locuiesc <input type="checkbox"/>		Pierderea completa a memoriei de lunga durata <input type="checkbox"/>

<b>Vigilenta</b>	Pastrata in intregime <input type="checkbox"/>	Uneori pare usor somnoros <input type="checkbox"/>	Prezinta seme de somnolenta dar poate fi mentinut constient cu o stimulare usoara <input type="checkbox"/>	Somnolent, poate fi trezit dar curand recade in somnolenta <input type="checkbox"/>
<b>Concentrarea</b>	Fara dificultati de concentrare : in cursul unui interviu, in urmarirea unui program la tv si/sau in citirea unui text <input type="checkbox"/>	Uneori pare ca isi pierde concentrarea : face digresiuni si unele dificultati in citirea sau urmarirea unui program la tv <input type="checkbox"/>	Tulburare marcata a concentrarii : se abate de subiect si dificultati in urmarirea coerentei programelor tv, articole de ziar. Etc <input type="checkbox"/>	Puterea de concentrare este atat de afectata, incat este imposibila purtarea unei conversatii cu inteles <input type="checkbox"/>
<b>Capacitatea de a creste ritmul</b>	Se poate grabi cand este necesar <input type="checkbox"/>	Reuseste sa faca ceea ce I se cere, chiar daca este grabit/grabita, dar actiunea este marcat deficitara. <input type="checkbox"/>	Cand este grabit/grabita actiunea este atat de sever afectata, incat nici chiar sarcinile simple nu pot fi indeplinite, iar persoana respectiva devine nervoasa sau confuza <input type="checkbox"/>	Reactii atat de greoaie incat persoana nu reactioneaza cand este grabita <input type="checkbox"/>
<b>Neatentia</b>	Atentia normala <input type="checkbox"/>	Ocazional neatent <input type="checkbox"/>	Moderat dar constant neatent <input type="checkbox"/>	Constant foarte neatent incapabil de a desfasura o activitate si de a o finaliza <input type="checkbox"/>
<b>Logoreea</b>	Se exprima normal; nu este vorbaret si converseaza la subiect <input type="checkbox"/>	Ocazional vorbaret, folosind exagerat detalii in diverse descrieri dar nu are nici un fel de dificultate de a conversa la subiect <input type="checkbox"/>	Este constant vorbaret si da detalii interminabile; are dificultati in pastrarea ideii si frecvent face digresiuni <input type="checkbox"/>	Incapabil de a exprima ce doreste si se pierde complet in detalii <input type="checkbox"/>
<b>Distractibilitatea</b>	Capabil de a-si mentine atentia; nu este distrasa de stimuli nerelevanti <input type="checkbox"/>	Atentia este uneori distrasa de stimuli nerelevanti <input type="checkbox"/>	Atentia semnificativ si constant distrasa de stimuli nerelevanti <input type="checkbox"/>	Distragere atat de severa de catre stimuli nerelevanti, incat este imposibila desfasurarea unei activitati cu un anumit sens( ex. sarcini usoare, sau conversatie obisnuita <input type="checkbox"/>
<b>Tulburari ale limbii</b>	Fara tulburari de limba, vorbește fara greșeala și fluent și înțelege ce I se spune <input type="checkbox"/>	Ocazional apar tulburari ale vorbirii, de exemplu, sub forma unui vocabular limitat, vorbire inceata, intermitenta, dar inteleasa in intregime sau vorbire care este fluenta, dar dificil de inteles, sau sub forma confuziei/cuvintelor sau capacitate redușă de a intelege vorbirea altor oameni. <input type="checkbox"/>	Tulburari frecvente de limba in cadrul unei conversatii obisnuite, de exemplu, un vocabular foarte limitat și vorbire lenta dar inteleasa, sau confuzie repetata a sunetelor/cuvintelor, vorbire fluenta fara sens, sau capacitate semnificativ redușă de a intelege vorbirea altor oameni <input type="checkbox"/>	Nu se poate face inteles cu mijloace verbale. Are constant o mare dificultate in intelegerea vorbirii altor persoane. <input type="checkbox"/>

\* - evenimente din trecut = evenimente politice și altele, persoane, care i-au marcat copilăria și adolescența

\*\* - de exemplu nu își aduce aminte nume, adrese ale membrilor familiei.

## Disfuncțiile emoționale

	0	1	2	3	4	5	6
<b>Funcțiile emoționale</b>	Fara tulburari ale functiilor emotionale;este capabil sa reactioneze cu durere, bucurie, ura, teama, furie etc. in diferite situatii <input type="checkbox"/>		Ocazional tulburari cu semne de durere, bucurie etc dar se pierd nuantele subtile caracteristice anterior persoanei respective <input type="checkbox"/>		Ocazional prezinta semne de durere, bucurie etc.,dar intr-o maniera brutala si invariabila <input type="checkbox"/>		Funcțiile emotionalecomplet pierdute incapabil de a arata semne de durere, bucurie, etc <input type="checkbox"/>
<b>Labilitatea emoțională</b>	Este capabil de a controla reacțiile emotionale <input type="checkbox"/>		Plange sau rade intr-o maniera dezinhibata sau exagerata la stimularea emotionala puternica <input type="checkbox"/>		Reactioneaza intr-o maniera dezinhibata la stimularea emotionala moderata <input type="checkbox"/>		Capacitatea de controlare a reacțiilor emotionale este complet pierduta <input type="checkbox"/>
<b>Motivatia</b>	Motivatie normala pentru activitati <input type="checkbox"/>		Necesita incurajare considerabila pentru icnepere unei activitati si de obicei arata doar un interes pasiv pentru ea <input type="checkbox"/>		In mod evident pierderea motivatiei;necesita o directionare ferma, continua pentru inceperea activitatii sau indeplinirea unei sarcini <input type="checkbox"/>		Lipsa completa a motivatiei; nu incepe niciodata o activitate spontan; nu poate fi determinat sa participe intr-o activitate nici chiar cu stimulare foarte puternica <input type="checkbox"/>

## Disfuncția ADL(activities of daily living)

	0	1	2	3	4	5	6
<b>Imbracarea si dezbracarea</b>	Se imbraca si se dezbraca fara ajutor <input type="checkbox"/>		Este ajutat la nasturi si fermoare <input type="checkbox"/>		Necesita ajutor de la un ingrijitor pentru a se imbraca si dezbraca, dar ia parte activa la acestea <input type="checkbox"/>		Este complet dependent de ingrijitor pentru a fi imbracat si dezbracat <input type="checkbox"/>
<b>Mesele</b>	Se hraneste fara ajutor <input type="checkbox"/>		Necesita supraveghere si ajutor ocazional in timpul mesei <input type="checkbox"/>		Necesita supraveghere constanta si ajutor dar este parte activa <input type="checkbox"/>		Este complet dependent de ingrijitor pentru a fi hranit <input type="checkbox"/>
<b>Activitate fizica</b>	Poate merge nestanjenit eventual cu un baston <input type="checkbox"/>		Necesita un ajutor la mers pentru a putea merge <input type="checkbox"/>		Necesita ajutor de la ingrijitor pentru a putea merge <input type="checkbox"/>		Este tintuit in scaun sau in pat <input type="checkbox"/>
<b>Activitati spontane</b>	Funcție motorie normala si activitate spontana <input type="checkbox"/>		Sta linistit mai des decat poate fi considerat normal, dar se activeaza sau se misca spontan la stimulare <input type="checkbox"/>		Se misca spontan numai cand este puternic stimulat, de exemplu, cand ii viziteaza rudele <input type="checkbox"/>		Fara activitate spontana; se mobilizeaza numai cu indemn direct, de exemplu cand I se spune sa mearga in sufragerie, in par etc. sau ca raspuns la nevoile bazale( de ex, cand are nevoie la toaleta) <input type="checkbox"/>

<b>Igiena personala</b>	Isi realizeaza igiena personala fara ajutor <input type="checkbox"/>	Necesita ajutor la baie sau dus, dar reuseste de exemplu, sa se spele, pieptene si sa se spele pe dinti <input type="checkbox"/>	Necesita ajutor la intreaga igiena personala, dar participa activ. <input type="checkbox"/>	Necesita ajutor pentru intraga igiena personala; nu participa activ <input type="checkbox"/>
<b>Controlul mictiunii si al defecatiei</b>	Poate controla mictiunea si defecatia <input type="checkbox"/>	Ocazional mictiune accidentala, dar altfel controlata: daca I se aminteste sau este ajutat prompt la toaleta sau la plosca <input type="checkbox"/>	Mictiuni accidentale de cateva ori/saptamana si/sau incontinenza ocazionala de fecale <input type="checkbox"/>	Incontinenza constanta de urina si fecale <input type="checkbox"/>

### Simptome comportamentale si psihologice in dementa

	0	1	2	3	4	5	6
<b>Confuzia</b>	Este capabil sa gandeasca limpede si stabileste relatii normale cu oamenii din mediul sau inconjurator <input type="checkbox"/>		Pare zapacit si intrebator <input type="checkbox"/>		Evident confuz; interviuarea este dificila si consumatoare de timp, iar raspunsurile adesea neadecvate, dar exista mici sclipiri de luciditate <input type="checkbox"/>		Complet confuz, nu poate fi stabilita o comunicare cu inteles <input type="checkbox"/>
<b>Iritabilitatea</b>	Fara semne de iritabilitate <input type="checkbox"/>		Ocazional arata semne de iritabilitate, in special cand I se pun intrebari indiscrete <input type="checkbox"/>		Relatii care nu intentionau sa fie provocate produc adesea iritabilitate, pe care subiectul n-o poate controla <input type="checkbox"/>		Toate relatiile produc iritabilitate crescuta, pe care subiectul n-o poate controla. <input type="checkbox"/>
<b>Anxietatea</b>	Fara anxietate excesiva <input type="checkbox"/>		Ocazional ingrijorat; inutil anxios cu privire la diverse lucruri, dar isi poate controla sentimentele <input type="checkbox"/>		Constant excesiv de anxios; se ingrijoreaza pentru nimicuri dar poate fi distras <input type="checkbox"/>		Este atat de anxios, incat nu poate realiza ce si-a propus; se ingrijoreaza pentru nimicuri si nu poate fi distras <input type="checkbox"/>
<b>Teama - atacul de panica</b>	Fara semne mentale sau fizice de teama sau panica <input type="checkbox"/>		Ocazional prezinta semne de vag disconfort mental, dar isi controleaza starea <input type="checkbox"/>		Continuu prezinta semne de disconfort mental difuz, care se poate transforma in panica; conditia se reflecta in postura corporala; pot aparea simptome vegetative, de exemplu transpiratia si palpitatiile; nu poate fi distras <input type="checkbox"/>		Prezinta semne de disconfort mental difuz marcat, cu atacuri prelungite de panica; apar sentimente de groaza si/sau agonie extrema a mortii; nu poate fi distras <input type="checkbox"/>
<b>Stare depresiva</b>	Nivel temperamental neutru <input type="checkbox"/>		Ocazional apar pesimism si auto-reprosuri, dar predomina intervale de dispozitie luminoasa <input type="checkbox"/>		Depresie marcata, care este evidenta in vorbire, expresia fetei si postura (de exemplu, se simte parasit de familie si prieteni si se plange de durere, oboseala, tulburari de somn) <input type="checkbox"/>		Extrem de deprimat, ceea ce il face incapabil sa functioneze in diverse situatii. <input type="checkbox"/>

<b>Agitatie</b>	Fara semne de agitatie. <input type="checkbox"/>	Unele semne de agitatie, de exemplu isi schimba pozitia de cateva ori in timpul conversatiei, are dificultati in tinutul mainilor si picioarelor nemiscate si adesea se joaca cu diverse obiecte. <input type="checkbox"/>	Pare agitat semnificativ, de exemplu nu poate sta nemiscat si face miscari repetate de ridicare in picioare in timpul conversatiei, isi frange mainile, intentia de a alege diverse obiecte. <input type="checkbox"/>	Ratacesta aproape fara odihna; nu poate fi determinat sa stea jos linistit nici chiar pentru un timp scurt. <input type="checkbox"/>
-----------------	---	---	--	---

Toate drepturile rezervate. Nici o parte a acestei publicatii nu poate fi reproducuta, stocata sau transmisa in nici o forma si prin nici un mijloc electronic, mecanic, fotografic etc. fara permisiunea ©, „Ana Aslan” International Academy of Aging®.

scaie de evaluare sensibile, capabile sa masoare simptome relevante intr-o abordare holistica, traduse in limba tarii respective. Este de asemenea necesar ca, in cadrul aceleiasi limbi, aceste scaie sa utilizeze un limbaj comun tuturor specialistilor implicati. Descrieri bine formulate ale simptomelor si etape de parcurgere a scaiei bine definite faciliteaza reducerea subiectivismului si sporirea cunostintelor rezultante. Asemenea scaie au importanta si in monitorizarea efectelor noilor droguri. Multe tari au la ora actuala caracter multi-cultural datorita imigratiei masive. Exista o categorie de pacienti cu dementa, rudele acestora si chiar personal care nu cunosc bine limba tarii gazda. Instrumentele de evaluare cu text tradus in diferite limbi pot facilita comunicarea necesara. Scala Gottfries-Brane-Steen (GBS) este o scala elaborata in Suedia si destinata evaluarii sindroamelor dementiale, care poate fi lesne utilizata de diferite categorii de personal profesional dupa o initiere de scurta durata. Este o scala comprehensiva, semi-structurata. Evaluarea consta intr-un interviu cu pacientul si observarea acestuia. Informatii oferite de catre ingrijitor sau alta persoana cheie pot fi necesare si incluse. Scala contine 27 de itemi si trei subscaie: intelectuala (12 itemi), emotionala (3 itemi) si de indeplinire a activitatilor cotidiene - ADL (6 itemi). Mai include si o sectiune pentru evaluarea unor simptome comportamentale si psihologice, comune pentru dementa (6 items). Fiecare item contine 7 trepte, dintre care 0,2,4 si 6 sunt definite. 0 descrie absenta tulburarii sau simptomului, iar 6 descrie intensitatea maxima de manifestare a acestora. Pentru oricare item, 0 indica normalitatea, 1-2 indica tulburare lejera, 3-4 – moderata si 5-6 severa, iar in cazul simptomelor, 0 indica absenta acestuia, 1-2 indica lejeritatea simptomului, 3-4 o manifestare moderata si 5-6 o manifestare severa a acestuia. Scorurile obtinute sunt integrate unui „profil GBS”, util in obtinerea unei aprecieri de ansamblu a severitatii dementei atat la pacientul evaluat cat si la grupul de studiu din care eventual face parte. Bolile dementiale determina in mod constant modificarea pattern-ului de dezabilitare/simptome in functie de stadiul acestora. La ora ac-

tuala atat simptomele emotionale cat si cele cognitive pot fi tratate farmacologic si scala GBS a fost frecvent utilizata in studii de acest gen.

### Diferite limbi

Dupa informatiile noastre Scala GBS a fost tradusa in 20 de limbi As far as we know, dar este posibil ca numarul acestora sa fie mai mare. In procedeul obisnuit de redactare a unei versiuni noi de limba, varianta in limba engleza este cea de baza si apoi retradusa in suedeza pentru verifica corectitudinea traducerii. Dintre versiunile in diverse limbi ale acestei scaie, unele au fost verificate astfel, iar altele au fost studiate din punctul de vedere al temeiniciei variantei traduse, rezultatele fiind publicate in literatura nationala. Unele din versiunile de limba imclud un item de limba, adaugat versiunii in engleza revazuta.

### Recomandari:

Scala GBS poate fi aplicata de medici, asistenti medicali, psihologi sau asistenti sociali, dupa o initiere prealabila. O evaluare GBS trebuie sa se bazeze si pe observarea pacientului, ce poate fi realizata in decursul sau dupa interviu, care dureaza aproximativ 20 de minute, si trebuie semi-structurata, adica trebuie sa i se ofere pacientului posibilitatea de a relata nestingherit asupra problemelor sale, dar evaluatorul trebuie sa-i puna intrebari structurate.

### Instructiuni:

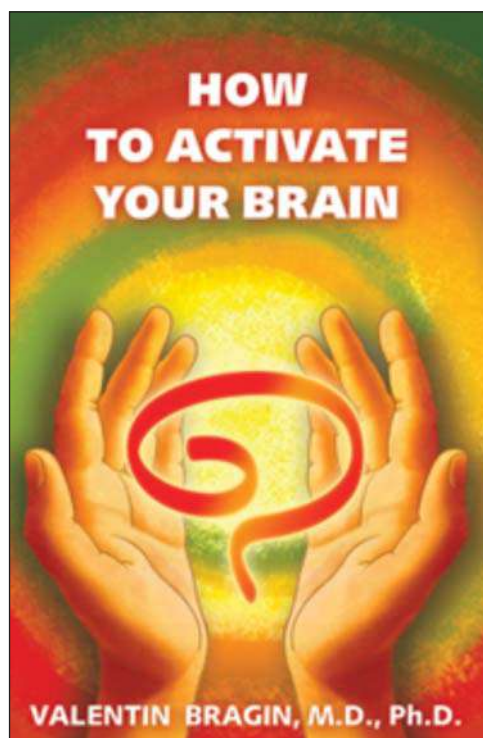
Pacientul se evalueaza pe baza formularului de mai jos, in care se bifeaza alternativa 0, 2, 4, 6, sau alternativele intermediare 1, 3, 5, daca acestea sunt mai semnificative.

### Referinta bibliografica:

Bråne G. Gottfries CG, Winblad B. The Gottfries- Bråne-Steen scale: validity, reliability and application in anti-dementia drug trials. Dement Geriatr Cogn Disord 2001; 12:1-14.

# CUM SĂ NE ACTIVĂM CREIERUL

de Valentin Bragin



Cum ne putem activa creierul este titlul unei prime cărți dintr-o serie menită să disemineze informație valoroasă privind stimularea performanțelor cerebrale cu ajutorul unor exerciții și tehnici la prima vedere simple, chiar amuzante, mai apoi captivante pentru pacient. Cartea este rodul unei îndelungate strădanii practice și unei tenace activități de cercetare științifică pe care autorul le-a desfășurat ca psihiatru, lucrând, alături de colegii săi deopotrivă de competenți și pasionați, cu peste 2000 de subiecți de-a lungul a 12 ani de activitate în Centrul de Exersare a Memoriei și Anti-Stress (Stress Relief and Memory Training Center - SRMTC) din Brooklyn, New York, pe care îl și conduce.

Structurată ca un ghid adresat persoanelor vârstnice cu disfuncții fizice și cognitive importante, cartea urmărește informarea pacientului și a celor interesați cu privire la uimitoarea capacitate de recuperare intrinsecă creierului și la principiile care stau la baza stimulării acesteia, în

vederea îmbunătățirii capacităților de coordonare motorie și a proceselor cognitive (memorie, atenție), a contracarării stressului și a prevenirii sau luptei împotriva depresiei și anxietății. Arsenalul de procedee descris în acest adevărat compendiu de fitness cerebral și mental elaborat pe baze solide, clinice și de cercetare, include tehnici de ajustare dietara, de exercițiu fizic, exercițiu mental și de ajustare emoțională, neocolind art-terapia și alte procedee mai puțin convenționale, definite într-o paradigma de intervenție medicală și non-medicală personalizată, al cărei principiu științific de bază este stimularea circuitului cerebral de recompensă.

Întregul demers în alcătuirea acestei cărți se întemeiază pe credința nestrămutată a autorului, izvorâtă din experiența și verificată tot acolo, ca la ora actuală recuperarea funcțiilor motorii, cerebrale și mentale este nu doar posibilă ci și reală chiar și pentru persoanele țintuite la pat, depresive sau marcate de disfuncții cognitive. Autorul aduce la înțelesul tuturor ideea că dezvoltarea și continua ajustare a sistemului nervos sunt intim legate de tipul de solicitare fizică și senzitiv-senzorială ambientală la care suntem supuși începând de la naștere. În timp, complexitatea extremă a circuitelor neuronale se ajustează într-o manieră sau alta ce va avea un determinism net asupra funcțiilor noastre fiziologice și trăsăturilor noastre de personalitate mai mult sau mai puțin izbutite la vârsta adultă, dar mai cu seamă asupra „stilului” nostru propriu de a îmbătrâni. Exercițiile complexe descrise în cuprinsul cărții sunt cheia, desigur mereu perfectibilă, prin care se poate încerca o remodelare, și care într-un număr îmbucurător de cazuri nu a dat greș. Relatările unor pacienți și cele ale unor colegi de breaslă, publicațiile științifice personale listate de însuși autorul cărții, sunt tot atâtea mărturii. La început un exercițiu poate părea epuizant sau imposibil chiar, și este talentul terapeutului să găsească argumente de ordin motivațional și mobilizator. O singură reușită poate răsturna însă radical tendința la non-compliance și asumarea fatalistă a bolii de către pacient, afirmă și documentează Valentin Bragin în cartea sa.



**Autonomie asistată în vederea recuperării și îmbunătățirii  
capacităților cognitive și motorii grație  
utilizării tehnologiei informaționale**



Project STREP, IST, Nr. FP6-045088, <http://www.ist-shareit.eu/shareit>  
lansat la 1 ianuarie 2007 și derulat, până în anul 2009 inclusiv,  
de 8 parteneri din 4 țări europene.



# SHARE-it

## PROIECT

**Proiectul SHARE-it și-a propus să dezvolte sisteme accesibile și adaptabile bazate pe senzori artificiali și tehnologie asistivă, susceptibile de integrare modulară într-un ambient inteligent, în scopul creșterii autonomiei persoanelor vârstnice cu disfuncții cognitive și/sau motorii.**

Sistemele ce urmează a fi realizate sunt capabile să informeze și să asiste utilizatorul și pe îngrijitorii săi grație capacității lor de monitorizare și sporire a mobilității. În același timp, Proiectul urmărește să contribuie la eforturile de dezvoltare a noii generații de tehnologii asistive dedicate persoanelor vârstnice cu disfuncții inclusiv cognitive, astfel încât acestea să-și poată prezerva cât mai mult și cât mai îndelung cu putință, independența. Se urmărește, de asemenea, integrarea adecvată și compatibilitatea cu tehnologiile existente, precum și ușurința manipulării sistemului de către utilizator. Adaptabilitatea vizează includerea/excluderea componentelor din sistem în funcție de profilul utilizatorului, într-o manieră intuitivă ușor de atins.

**Proiectul SHARE-it lucrează cu ultimele achiziții din domeniul senzorilor artificiali, dispozitivelor de mobilitate asistată, ingineriei informaționale și ambientului inteligent, urmărind să aducă contribuții importante la cercetarea fundamentală, pe termen lung, în următoarele domenii:**

- Percepția ambientului bazată pe senzori artificiali, achiziție/reprezentare a informației și raționament /configurare de scop, într-un mediu real și preferat.
- Evaluarea capacităților de adaptare a programelor software la modificarea condițiilor și normelor de operare, în vederea asigurării securității și a mecanismelor de autocorecție necesare asistării persoanelor cu nevoi speciale.
- Incorporarea autonomiei asistate, respectiv selectarea componentei sau grupelor de componente software capabile să opereze într-o ambianță inteligentă adaptându-se schimbărilor survenite în condiția utilizatorului sau în mediu.

**Obiectivele SHARE-it sunt:**

- Evaluarea impactului pe care conceptul de „inteligentă situată” (situated intelligence) îl poate avea în beneficiul creșterii autonomiei grupului ținta legată de îndeplinirea în mediul preferat a activităților cotidiene.
- Evaluarea și implementarea formelor inovative de autonomie asistată.
- Elaborarea de contribuții de valoare la îmbunătățirea tehnologiilor standardizate din domeniul senzorilor artificiali, procesării computerizate și asistenței inteligente.
- Realizarea de interfețe cu posibilități de adaptare la tipul de utilizator.
- Racordul înalt operant, eficient, cu diverse paradigme de asistență și îngrijire.

Proiectul și-a propus să reunească, grație efortului multidisciplinar, achizițiile existente în diferite arii specifice de cercetare, dedicându-se efortului de elaborare a unor paradigme de excelență în domeniul autonomiei asistate pentru persoane vârstnice cu disfuncții motorii și/sau cognitive. Să creeze repere în domeniile cu care lucrează, să catalizeze dezbateri și să contribuie la deschiderea de noi direcții de cercetare.

**Coordonatorul Proiectului: Universitatea Politehnică de Catalunya,  
Professor Ulises Cortés**



ANA ASLAN  
INTERNATIONAL  
ACADEMY OF ANTI-AGING



ANA ASLAN  
INTERNATIONAL  
FOUNDATION

## Contribuții ale Academiei Internaționale Ana Aslan în calitate de partener medical, în anul întâi de derulare a proiectului - 2007

Contribuții la alcătuirea cumulului de cunoștințe și împărtășirea experienței cu privire la:

- Echipamente de ultimă oră în domeniul asistării inteligente.
- Normele și recomandările de profil conținute în Planul Internațional de Acțiune în Domeniul Îmbătrânirii (Madrid 2002) și alte documente ONU și OMS.
- Probleme privind complianța persoanelor vârstnice cu funcții cognitive la utilizarea dispozitivelor de asistare inteligentă.
- Propunerea, prezentarea și selecția scalelor adecvate pentru definirea grupelor țintă de utilizatori, în cadrul Workshopului SHARE-it intitulat "Aging of the population, chronic conditions, disability and their assessment (Îmbătrânirea demografică, bolile cronice și dependența, metodologia de evaluare)" - Roma, Italia, 2007
- Particularitățile diferitelor funcții psiho-fiziologice în diferite tipuri de deficit cognitiv (deficitul cognitiv lejer, boala Alzheimer moderat-severă până la severă, tipuri de demență înrudite etc.)
- Informații privind modificările fiziopatologice corelate cu diferitele tipuri de deficit cognitiv, necesare definirii profilului utilizatorilor și a activităților cotidiene (ADLS) ce necesită asistare.
- Stabilirea unui set actual și adecvat de scale de investigare pentru întocmirea protocoalelor de evaluare a utilizatorului (examen clinic, GSE, MMSE, MNA, Tinetti Static&Tinetti Dynamic Scales, Yesavage Geriatric Depression Scale, GBS, IADL, SIB pentru pacienții cu demență cu scor MMSE <10, RUD, etc.) Contribuția la activitățile de diseminare a informației și a materialelor de promovare a proiectului în România, și la nivel internațional pe pagina web a Academiei Aslan, [www.brainaging.ro/pdf/RD1.pdf](http://www.brainaging.ro/pdf/RD1.pdf), ca și în cadrul unor evenimente științifice de top internațional.
- Traducerea în limba română a Rezumatului Informativ (Fact Sheet) și a comunicatelor de presă ale proiectului și publicarea lor în Brain Aging International Journal (Editor: Luiza Spiru, MD, PhD), Vol. 1, 12.11.2007.
- Prezentarea, la Ministerul Sănătății Publice, a informațiilor din zona publică a proiectului SHARE-it și a contribuției adusă de Academia Internațională Ana Aslan la realizarea acestuia.
- Promovarea proiectului cu ocazia Trainingului Internațional anual realizat de Academia Aslan, în cadrul workshopurilor „Memory Impairment” de la București, gazdite de Palatul Parlamentului (5 mai 2007) și Infoturism (22 septembrie 2007) <http://www.brainaging.ro/Training.htm>, precum și prin conferințele de presă care au avut loc la Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila" (6 octombrie 2007), Infoturism București (22 septembrie 2007) și Palatul Parlamentului (5 mai 2007), cu participarea reprezentanților unor posturi TV și ai Agenției Rompress, Jurnalul Național, Bussines Standard, Gândul, Ziua, Cotidianul, Newsin.

**Coordonatorul Partenerului Român: Academia Internațională Anti-Aging Ana Aslan, Luiza Spiru, MD, PhD**

### SHARE-it CONSORTIUM

8 partners from 4 countries



Universitat Politècnica de Catalunya, Spain



Universidad de Málaga, Spain

Deutsches Forschungszentrum fuer Kuenstliche Intelligenz GmbH, Germany



Telefónica Investigación + Desarrollo, Spain



Fondazione Santa Lucia, Italy

ANA ASLAN International Academy of Anti-Aging, Romania



University of Bremen, Germany

Azienda Unita Sanitaria Locale Roma B, Italy





## Comorbiditatea și importanța ei în stările predementiale. Un studiu neuroepidemiologic realizat în România.

Pieter Jelle Visser <sup>1</sup>, Ileana Turcu <sup>2</sup>, Florina Cristescu <sup>2</sup>, Ioana Ioancio <sup>2</sup>, Costin Nuta <sup>2</sup>, Luiza Spiru <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Univ. Hospital of Maastricht, Dept of Neuropsychiatry and Old Age Psychiatry, Maastricht, the Netherlands;

<sup>2</sup> Academia Internațională Anti-Aging Ana Aslan, București, România

Pe măsură ce populația globului îmbătrânește, boala Alzheimer și stările depresive suscită tot mai multă atenție din partea personalului medical angrenat în asistența primară. Comorbiditatea din cadrul acestor boli ridică probleme complexe de diagnostic și terapie. Cauzele de deces la persoanele cu demență Alzheimer depind în mare măsură de gradul de deteriorare cognitivă. În studii recente, la pacienți cu demență Alzheimer cu deteriorare cognitivă lejeră până la moderată cauzele de deces (accident cerebrovascular sau cardiovascular, hemoragie cerebrală, neoplasm) au fost diferite de cele constatate la pacienți care au decedat într-un stadiu mai avansat al bolii, la care bronhopneumonia a fost cauza prevalentă. În plus, stările comorbide pot rămâne nediagnosticate sau sunt adesea diagnosticate incorect datorită imposibilității de comunicare a simptomelor de către pacient.

Studiul pe care îl semnalăm a fost realizat pe 60 de pacienți cu deficit cognitiv lejer (75% cu vârsta cuprinsă între 60 – 75 de ani, 77% femei și 23 % bărbați, 37% aveau nivel universitar de pregătire și 90% locuiau în zona urbană), și s-a desfășurat la Spitalul Universitar de Urgență "Elias" din București, fiind primul studiu de acest gen în care au fost utilizate criteriile de diagnostic și monitorizare acreditate la nivel internațional. Obiectivele propuse au urmărit problemele majore cu care se confruntă medicina actuală în domeniul progresiei deficitului cognitiv lejer către boala Alzheimer:

- Dezvoltarea de criterii clinice pentru evaluarea cu acuratețe a pacienților cu stări predementiale,
- Evaluarea factorilor de risc (FR) și a tabloului comorbid al pacienților,
- Contribuția la validarea paternului de distribuție a factorilor de risc existent la nivel internațional.

În fine, studiul reprezintă aportul echipei române de cercetare la realizarea proiectului DESCRIPA -Development of Screening Guidelines and Clinical Criteria for Predementia Alzheimer's Disease", inițiat și realizat cu suport financiar european sub egida European Alzheimer Disease Consortium - EADC.

Rezultatele obținute au evidențiat o rată de conversie a deficitului cognitiv lejer către boala Alzheimer de 23,3% în cursul primului an de monitorizare, la care s-au adăugat până la sfârșitul celui de-al treilea an, și ultimul, 6,6 procente. Hipertensiunea arterială, angina pectorală și dislipidemia au fost comorbiditățile prevalente, urmate de diabetul tip II, osteoporoza, atacul ischemic tranzitoriu, hipotiroidismul și stenoza de arteră carotidiană. Prin alura lor similară cu cea din boala Alzheimer hipertensiunea și dislipidemia pot fi considerate factori de risc predominanți în conversia către boala Alzheimer la lotul studiat. Distribuția diferitelor stări comorbide înregistrate prezintă specificitate de sex, femeile fiind afectate în cea mai mare măsură de către acestea (cu excepția atacului ischemic tranzitoriu). De-a lungul celor trei ani de monitorizare numărul pacientelor cu hipertensiune, dislipidemie, angină pectorală, atac ischemic tranzitoriu și diabet tip II a scăzut, spre deosebire de numărul în creștere al pacientelor cu osteoporoză și hipotiroidism. Lipsa aproape totală a modificărilor de distribuție a comorbidității la bărbați, ca și tendința de creștere numerică a acestora la care s-a detectat hipertensiune și atac ischemic tranzitoriu necesită studii ulterioare pentru clarificare. Incidenta inițială a stărilor depresive s-a dovedit de asemenea prevalența la femei (13%) comparativ cu bărbații (3%). Pe parcursul duratei de monitorizare aceasta a crescut la 20% în cadrul lotului de femei, rămânând neschimbată la bărbați. Fiind o comorbiditate adesea prezentă la pacienții cu predemența Alzheimer, acest tip de depresie trebuie diferențiat de cel întâlnit la pacienții cu depresie indusă de deficitul cognitiv din boala Alzheimer. Procentul pacienților afectați de depresie în studiul nostru (23%) pledează pentru concluzia că subiecții cu depresie asociată deficitului cognitiv lejer nu trebuie excluși la alcătuirea loturilor în care se studiază conversia stărilor predementiale către boala Alzheimer.

---

*Incepand cu acest numar Brain Aging International Journal deschide o noua rubrica "At a Glance", dedicata trecerii in revista a noutatilor de ultima ora in domeniul imbatranirii cerebrale, normale si patologice.*

---

## Conferinta Internationala asupra Bolii Alzheimer – ICAD, Chicago, iulie 2008

[http://www.alz.org/icad/downloads/2008\\_ICADhighlights.pdf](http://www.alz.org/icad/downloads/2008_ICADhighlights.pdf)

Exista vreun mecanism legat de proteine care sa stea la baza formarii placilor si manunchiurilor de neurofibrile caracteristice bolii Alzheimer? Care dintre factorii de risc poate aproxima cel mai bine evolutia dementei? Cum se rasfrange stilul de comunicare al ingrijitorilor asupra persoanelor cu boala Alzheimer (Alzheimer's Disease - AD)? Conferinta Internationala asupra Bolii Alzheimer, organizata de Asociatia Alzheimer intre 26-31 iulie 2008 la Chicago (ICAD 2008), a cautat sa raspunda acestor intrebari, precum si altora din zone corelate: de la studii referitoare la diferite medicamente pana la genetica, neuroimaging, diagnostic, probleme de ordin social si comportamental, in AD si alte forme de dementa. Cea mai ampla reuniune mondiala, istoriceste, a cercetatorilor din domeniul AD si alte demente, ICAD 2008 a depasit recordurile precedente de participare, numarand mai mult de 5400 de participanti la peste 2000 de plenary, simpozioane, prezentari orale si prezentari de postere. Conferinta a atras deopotrivă atentia mijloacelor media din Statele Unite ale Americii si de pretutindeni: ABC, BBC, CBS, CNN, NBC, Presa Asociata, Reuters, The Wall Street Journal si USA Today.

Harry Johns, Presedinte si CEO al Asociatiei Alzheimer, a deschis conferinta multumind participantilor pentru munca de zi cu zi pe care o depun pentru dezlegarea necunoscutelor dementei si a adus in discutie unele din obiectivele strategice ale Asociatiei: reconsiderarea maladii Alzheimer in sensul abordarii acesteia nu doar ca o cauza medicala ci ca o adevarata cauza mondiala, cresterea aportului financiar acordat cercetarilor si a pledoariei pentru vigilenta in domeniul epidemiologiei AD. Costurile aferente asistarii persoanelor cu Dementia Alzheimer si alte forme de dementa se ridica in Statele Unite la peste 148 de miliarde de dolari anual, acoperind serviciile furnizate de Medicaid si Medicare, precum si costurile indirecte de pe piata furnizorilor de ingrijiri. Conform unui studiu, acordarea de ingrijiri pentru un numar

estimat de 29,3 milioane de bolnavi Alzheimer din intreaga lume a costat, in 2005, 315 miliarde de dolari. Pentru a accelera mersul cercetarilor si diseminarea achizitiilor din domeniul acesteia, Conferinta ICAD se va desfasura anual, a anuntat Harry Johns, si nu bianual ca pana acum. Urmatoarea conferinta va avea loc in 2009 la Viena, Austria, intre 11-16 Iulie.

### **Mecanisme patologice si strategii terapeutice.**

Stradania cercetatorilor si clinicienilor privind dezvoltarea de medicamente capabile sa incetineasca sau sa stopeze progresul AD a iesit in evidenta indeosebi in cea de-a doua zi a evenimentului, in cadrul simpozionului, desfasurat cu sala plina, in care cei sase vorbitori si-au centrat prezentarile pe medicamentele cu actiune evidenta in modificarea mersului bolii. Acestia au fost: Bruno Vellas, M.D., Ph.D., de la Purpan-Casselardit Hospital din Toulouse, Franta (Recommendations and Outcomes of Disease-Modifying Drugs / Recomandari si rezultate privind medicamentele care pot modifica mersul bolii); Eric Siemers, M.D. de la Ely Lilly and Company din Indianapolis, Indiana, Statele Unite ale Americii (Disease Modification: Will We Know It When We See it? / Modificarea mersului bolii: o vom intelege atunci cand o vom avea sub ochi?); Yasuro Ihara, M.D. Universitatea din Tokyo, Japonia (Why a Beta-Amyloid Vaccine?/De ce un vaccin beta-amiloid?); Colin Masters, M.D., Ph.D., de la Mental Health Research Institute, Universitatea din Melbourne, Parkville, Australia (Rational Therapeutic Strategies for Modifying AD: Beta-Amyloid Oligomers as Validated Targets / Strategii terapeutice judicioase capabile sa modifice mersul bolii Alzheimer: oligomerii beta-amiloidici, tinte confirmate); Roger Nitsch, M.D., de la Universitatea din Zurich, Elvetia (Beta-Amyloid Immunotherapy in AD / Imunoterapia beta-amiloidica in AD); si Bengt Winblad, M.D., Ph.D., de la Karolinska Institutet, Stockholm, Suedia (Safety, Tolerability and Immunogenicity of the Beta-Amyloid Immunotherapeutic Vaccine

CAD106 in a First-in-Man Study in AD Patients / Siguranta, tolerabilitatea si imunogenicitatea vaccinului beta-amiloid imunoterapeutic CAD106 intr-un prim studiu la om, pe bolnavi Alzheimer).

ICAD 2008 a furnizat participantilor informatii referitoare la studiile clinice asupra unui lung sir de medicamente adresate proceselor biologice de interes in AD. „Mesajul esential consta in aprecierea robustetii elaborarilor” a spus Sam Gandy, M.D., Ph.D., de la Mount Sinai School of Medicine in New York, New York, Statele Unite. „Cercetarea evolueaza pe toate fronturile si in directii neastep-tate”.

- Un studiu open-label extins, cu o durata de 6 luni, referitor la Dimebon, a furnizat rezultate asemanatoare celor dintr-un studiu clinic precedent desfasurat pe o durata de 12 luni. Pacientii cu AD bland pana la moderat tratati mai inainte cu Dimebon timp de 12 luni au evidentiat o prezervare functionala apropiata de cea de la includere in ceea ce priveste semnele si simptomele cheie ale AD. La pacientii tratati initial cu placebo si care au primit Dimebon in faza extinsa a studiului s-a evidentiat o stabilizare a tuturor parametrilor cheie studiati. Initial elaborat in Rusia ca antihistaminic, Dimebonul imbunatateste fiziologia mitocondriala, palierul principal al energeticii celulare. A fost demarata recrutarea pentru faza III a studiului.

- Tratamentul intravenos cu imunoglobulina (IVIg) pe o perioada de 9 luni a evidentiat imbunatatiri semnificative statistice atat ale parametrilor cognitivi cat si ai celor de evaluare clinica globala intr-un studiu de faza II realizat pe subiecti cu AD lejer pana la moderat. Aflat de peste 25 de ani pe piata medicamentelor adresate maladiilor autoimune, IVIg contine anticorpi care se leaga de agregatele de beta-amiloid, considerate a fi de importanta majora in AD. Un studiu clinic de faza III se afla in pregatire.

- Studiul in faza a 2-a al metiltioninei clorhidrat (MTC) urmata de un studiu de extensie de 60 de saptamani a scos la iveala ca in saptamana a 24-a MTC-ul a produs o imbunatatire semnificativa fata de placebo. Compusul a stabilizat progresia AD in decursul a 50 de saptamani atat in cazul formei AD lejere cat si al celei moderate. MTC, care dateaza din 1930, inhiba agreagarea proteinei tau, proteina care formeaza structurile neurofibrilare caracteristice AD. Una din intrebarile sale impurii a fost cea de antibiotic. Faza 3 a studiului este in curs de planificare. Paul Aisen, de la Universitatea din San Diego, California, a adus in dezbateri provocarile semnificative care ii asteapta pe cei care conduc testari clinice. Printre acestea se numara declinul lent etalat de loturile tratate cu placebo in testarile clinice. Ca un medicament sa fie

declarat activ in stoparea sau incetinirea progresiei AD, grupul care primeste medicamente placebo trebuie sa prezinte inrautari semnificative. Acesta cere studii mai lungi care pot dura chiar pana la 18 luni, respectiv durata in care poate interveni un declin in tratamentul persoanelor carora li s-au administrat tratamente placebo. Faza 3 a studiilor clinice, care pot costa intre 200 si 300 milioane USD, poate avea o sansa mare de esec datorita loturilor mai mari si duratei de studiu mai indelungata pentru a furniza rezultate semnificativ mai bune comparativ cu cele obtinute de Faza 2. Modificarile fizice din creierul bolnavilor cu dementa Alzheimer survin cu ani inaintea manifestarii simptomelor clinice ca de pilda pierderea memoriei. Medicamentele capabile sa schimbe cursul bolii vor fi mai eficiente daca sunt administrate inainte ca individul sa dezvolte simptomele clinice. O sarcina importanta a comunitatii stiintifice este ca abordarea unor biomarkeri AD puternici cum ar fi nivelul beta-amiloid-ului in lichidul cerebrospinal si pattern-urile diminuarii cerebrale detectate de testele imagistice ca rezonanta magnetica (RMN) sa poata imbunatati evaluarea clinica, astfel incat sa fie posibila crearea de modificari ale markerilor care sa dovedeasca succesul studiilor clinice. „Exista o miscare pentru a identifica boala din ce in ce mai devreme, si pentru aceasta avem nevoie de biomarkeri presimptomati, a subliniat Ronald Peterson de la Mayo Clinic, Rochester, Minnesota, Statele Unite.

**Biomarkerii.** Biomarkerii sunt un domeniu de cercetare intensa. Identificarea lor poate conduce la dezvoltarea de testelor simple precum cele de sange usor de realizat in clinici si mai lesne acceptate de pacient. Neuroimagingistica, capabila sa detecteze cele mai mici schimbari (1 milimetru) in structura creierului, poate detecta oricand gradul de pierdere de substanta si volum cerebral. O parte din participanti cred ca rata pierderilor cerebrale este mai importanta decat aprecierea doar a pierderile de volum pentru depistarea AD a altor demente.

- Cercetatorii au raportat ca nivelurile CD-69, o proteina implicata in producerea si cresterea leucocitelor sanguine are o acuratete de peste 80% in deosebirea celor cu AD de cei cu imbatranire normala si de peste 90% in deosebirea indivizilor cu AD de cei cu dementa parkinsoniana. Celulele sanatoase ale creierului nu se divizeaza / reproduc si asemanator altor celule din corp. Se intampla totusi ca in AD unele celule ale creierului sa se pregateasca sa reia ciclul celular, ceea ce poate creste probabilitatea mortii celulare. Acelasi defect este intalnit si in leucocitele din sangele recoltat de la persoane cu AD.

- Analiza computerizata a imaginilor MRI According to researchers, computer analysis of MRI poate detecta cu acuratete prezenta neurofibrilelor, astfel ca aceasta

evaluare poate stabili un scor in cadrul Indexului de Anormalitate Structurala (STAND). Un scor STAND este atribuit in urma compararii gradului de atrofie a creierului la pacient cu acela dat de pattern-uri atrofile stabilite prin compararea datelor a 160 de subiecti cu AD fata de 160 de subiecti normali din punct de vedere cognitive. In studii referitoare de pilda la compararea scorurilor STAND obtinute ante mortem la 101 indivizi cu scoruri BRAAK post-mortem au evidentiat ca scorurile STAND au o acuratete de 90 % in deosebirea imaginilor MRI de la pacienti cu AD fata de cele de la pacienti normali cognitivi.

**Factorii de risc si preventia.** La mijlocul anilor 90 au fost intreprinse studii epidemiologice extinse in vederea identificarii factorilor care favorizeaza sanatatea cerebrala or declinul cognitiv. Datele acestor studii arata ca inactivitatea fizica si mentala se asociaza cu riscul inalt de dezvoltare a declinului cognitiv. Totusi, aceste studii au fost efectuate pe indivizi de varsta inaintata si pe o durata de cativa ani. Studii mai recente debuteaza pe indivizi la varstele medii si merg pana varstele inaintate.

- Utilizand informatii despre factori de risc stocate intr-o baza de date europeana de peste 16.000 de pacienti sanatosi cognitivi de peste 55 de ani urmariti timp de 15 ani, cercetatorii au determinat factorii de risc cu cea mai mare acuratete pentru predictia dementei. In ordine, variabilele cu cea mai inalta putere de predictie au fost tulburarile de functie executiva (planificarea), disfunctiile de memorie masurate pe baza de scale, aprecierile subiective de perturbare a memoriei sau cognitive, genotipul ApoE4, utilizarea medicatiei psihotrope, traume severe in zona capului, atacul cerebral si dificultatile de limbaj.

- Studiul a 422 de batrani sanatosi in varsta de peste 60 de ani a aratat ca cei cu sindrom metabolic etaleaza o compromitere cognitiva superioara cu 35% celor fara acest sindrom, detectata pe baza utilizarii unei baterii de scale capabila sa evalueze capacitatile cognitive, depresia, capacitatile de planificare si indeplinirea activitatilor cotidiene. Indivizii cu sindrom metabolic au avut scoruri semnificativ mai scazute la toate testele neurofunctionale, reiterand importanta sanatatii fizice pentru reducerea

riscului de declin cognitiv. Stilul de comunicare si calitatea vietii. Calitatea vietii indivizilor cu AD si alte tipuri de dementa este afectata de numerosi factori, unii bine cunoscuti, cum ar fi capacitatea individului de a continua sa se implice in activitati placute si care pot crea un ambient fizic sigur. Mai putin cunoscut este efectul stilului de comunicare al ingrijitorului asupra calitatii vietii. Totusi, a fost evidentiat faptul ca impactul este semnificativ.

- „Elderspeak”, definit ca fiind comunicarea de tipul unei ingrijiri si supravegheri excesive cu efect infantilizant determina rezistenta fata de ingrijire la rezidentii caselor pentru batrani cu dementa medicalizate. Dorinta de cooperare a indivizilor cu dementa a fost mai ridicata pentru activitati ca imbaierea si imbracarea daca a fost utilizat un tip de comunicare ca pentru adulti. Probabilitatea rezistentei la ingrijire a fost .55 in cazul „elderspeak” fata de .26 in cazul comunicarii normale.

- Pe masura ce boala Alzheimer progresa, indivizii intampina dificultati din ce in ce mai mari de comunicare, legate de modificarile cognitive ca dificultatea de a-si gasi cuvintele, durata mai scazuta a atentiei si disfunctiile de memorie. Un studiu efectuat la Universitatea Los Angeles din California a aratat ca raspunsurile membrilor sanatosi ai familiei la comentarii neanticipate ale pacientului cu Alzheimer urmeaza modele predictive. Daca un raspuns intrerupe firul conversatiei, membrii sanatosi ai familiei adesea continua sa dialogheze ca si cum pacientul n-ar fi spus nimic, sau comportandu-se ca si cum ar fi auzit spusele acestuia dar nu considera necesar sa raspunda verbal. Asemenea raspunsuri plaseaza pacientul in afara conversatiei. Rezultatele acestui studiu vor fi utilizate pentru dezvoltarea unor programe de instruire familiala in scopul facilitarii comunicarii intre toti membrii familiei fara exceptie.

Mai multe informatii privind rezultatele de cercetare prezentate in cadrul ICAD 2008 pot fi gasite accesand [http://www.alz.org/media\\_12490.asp](http://www.alz.org/media_12490.asp). Pentru obtinerea CD-ului cu prezentarile din cadrul Conferintei se recomanda accesarea paginii principale de web [www.alz.org/icad](http://www.alz.org/icad).

# Distinguished International Organizations working in the Anti-Aging field





# Recomandări pentru autori

## Despre format

Manuscrisele pot fi trimise prin poștă, pe suport electronic (CD), în text ASCII sau cel puțin MS Word 6.0, ori prin e-mail. Pagina titlu trebuie să conțină titlul articolului, numele complet al autorilor, cel mai important grad academic al acestora, instituțiile la care fiecare dintre autori este afiliat și adresa completă a fiecărui autor; numele autorului desemnat pentru corespondență, adresa de e-mail a acestuia, numerele de telefon și fax. Vă rugăm să specificați în colțul din dreapta sus al paginii titlu dacă lucrarea dvs. este un „studiu original” sau o „recenzie” (review). Prima folosire a unei abrevieri neconvenționale trebuie precedată de numele complet. Este preferabil ca fișierele Word să nu conțină fotografii, desene sau grafice; acestea vor fi trimise ca fișiere separate, cu indicația în textul din fișierul Word a locului unde trebuie plasate. Desenele și graficele în format Word nu sunt acceptate. 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 listă 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 ale figurilor. 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.*

## Rezumatul

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

## Cuvinte cheie

Pentru indexare, este necesară specificarea a 3-10 cuvinte cheie.

## Bibliografia

Referințele bibliografice trebuie citate în text în ordine numerică crescătoare, numere arabe, superscript. Fiecare referință bibliografică trebuie să conțină numele tuturor autorilor. Numele revistelor trebuie abreviate conform „Index Medicus”. Numărul, numele autorilor, titlul articolului, Revista, Anul, Ediția, paginile (pentru articolele din re-

viste). Numărul, numele autorilor, titlul articolului. În: numele editorilor, Titlul cărții. Locul unde a fost publicată, Editura, Anul, paginile. (pentru cărți editate). Numărul, 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 corre-late 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).

## Revizuirea manuscriselor

Editorii vor decide dacă lucrarea este potrivită pentru profilul editorial al Revistei. Toate lucrările sunt pasibile de revizuire editorială. Revista își rezervă dreptul de a opera revizuirii de natură editorială înainte de publicare. Articolele conținând material original sunt acceptate pentru analiză cu presupunerea implicită că au fost trimise doar acestei reviste. 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.

## Reprinturi

Un număr de 20 de copii pentru fiecare articol publicat va fi expediat gratuit pe adresa autorului care a trimis articolul. Pentru copii suplimentare vă rugăm să contactați Biroul editorial al Brain Aging International Journal: office@brainaging.org

## 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 Eonia, 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, 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. 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.

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

**Expediere prin poștă sau curier:** Prof. Dr. Luiza Spiru, Brain Aging International Journal, Ana Aslan International Academy of Anti-Aging, Piața M. Kogălniceanu nr. 1, Sect. 5, Cod Poștal 050064, București, România

**Expediere electronică:** office@brainaging.ro. Vă rugăm ca volumul expediat să nu depășească 2 MB.