

Klinika Chorób Zwyrodnieniowych CUN

CMDiK PAN/CSK MSWiA

**Szybkość narastania zespołu
otępiennego w chorobie Alzheimera
w zależności od dziedzicznego genotypu
apolipoproteiny E**

Rozprawa doktorska



2S 21A
H3048

lek. med. Anna Pfeffer - Baczuk

Promotor: doc. dr hab. n med. Maria Barcikowska

Kierownik Kliniki Neurologicznej CSK MSWiA

Warszawa 2000

Podziękowania

Pragnę złożyć najserdeczniejsze podziękowania: Pani Docent Marii Barcikowskiej, Pani Doktor Marii Styczyńskiej, Panu Doktorowi Krzysztofowi Czyżewskiemu, Panu Doktorowi Maciejowi Łałowskiemu oraz Pani Magister Annie Karwańskiej za okazaną pomoc w czasie wykonywania pracy.

SPIS TREŚCI

WSTĘP.....	7
1. Kliniczne kryteria rozpoznawania choroby Alzheimera.....	8
1.1. Kryteria kliniczne otępienia typu Alzheimerowskiego ICD –10.....	8
1.2. Kryteria diagnostyczne otępienia typu Alzheimerowskiego DSM – IV.....	9
1.3. Kryteria kliniczne rozpoznawania choroby Alzheimera NINCDS/ADRDA-.....	10
2. Diagnostyka kliniczna choroby Alzheimera.....	12
2.1. Wywiad dotyczący otępienia.....	13
2.2. Ocena stanu psychicznego.....	13
2.3. Badanie neuropsychologiczne.....	20
2.4. Badanie neurologiczne.....	21
2.5. Badanie internistyczne.....	21
2.6. Badania dodatkowe.....	21
3. Neuropatologia.....	22
4. Genetyka.....	26
5. Apolipoproteina E.....	29
5.1. Epidemiologia poszczególnych izoform apoE.....	32
5.2. Rola apoE w patogenezie chA.....	34
5.3. Rola apoE w innych mechanizmach zachodzących przy uszkodzeniu mózgu z różnych przyczyn.....	37

ZAŁOŻENIE I CEL PRACY	39
MATERIAŁ I METODY	40
1. Materiał	40
1.1. Kryteria włączające.....	40
1.2. Kryteria wyłączające	42
1.3. Charakterystyka badanej grupy.....	43
2. Metody.....	45
2.1. Ocena postępu choroby.....	45
2.2. Badane parametry.....	46
2.3. Ocena genotypu apoE.....	46
2.4. Analiza statystyczna.....	47
WYNIKI.....	48
1. Wiek początku choroby.....	48
2. Nasilenie otępienia, czas trwania choroby w czasie pierwszej wizyty.....	48
3. Występowanie poszczególnych czynników ryzyka w badanych grupach.....	49
4. Występowanie objawów klinicznych mogących mieć wpływ na przebieg choroby.....	50
5. Tempo progresji choroby.....	51
DYSKUSJA.....	54
1. Wpływ dziedzicznego genotypu apolipoproteiny E na tempo	

progresji choroby.....	54
1.1. Wpływ dziedzicznego genotypu apolipoproteiny E na tempo progresji w chorobie Alzheimera przy ocenie całej grupy.....	55
1.2. Wpływ dziedzicznego genotypu apolipoproteiny E na tempo progresji w chorobie Alzheimera w zależności od płci.....	63
1.3. Znaczenie heterogenności choroby Alzheimera przy ocenie wpływu genotypu apolipoproteiny E na jej przebieg.....	66
1.4. Przyczyny utrudniające prawidłową interpretację wyników.....	68
1.4.1. Osobnicza zmienność progresji choroby Alzheimera.....	68
1.4.2. Rezerwa neuronalna.....	69
1.4.3. Rodzaj wybranych do oceny genotypów.....	70
1.4.4. Zasady doboru grupy.....	71
2. Genotyp apolipoproteiny E a występowanie objawów klinicznych niekorzystnych prognostycznie dla choroby Alzheimera.....	78
2.1. Objawy parkinsonowskie.....	78
2.2. Objawy psychiatryczne.....	79
3. Genotyp apolipoproteiny E a wiek zachorowania w chorobie Alzheimera.....	80
4. Występowanie czynników środowiskowych mogących obniżyć wiek początku choroby Alzheimera, w zależności od dziedzicznego allelu $\epsilon 4$	82
4.1. Przebyty uraz głowy w wywiadzie.....	82

4.2. Obecność otępienia wśród krewnych pierwszego stopnia

(rodzice, rodzeństwo).....	84
WNIOSKI	86
PIŚMIENICTWO.....	87

WSTĘP

Główną cechą obrazu klinicznego choroby Alzheimera (chA) jest narastający w czasie zespół otępienny. Na jego obraz składają się zaburzenia pamięci i innych funkcji poznawczych, z towarzyszącymi zaburzeniami zachowania i osobowości, początkowo utrudniających, a następnie uniemożliwiających aktywność zawodową, społeczną jak również codzienną. W rezultacie chorzy w zaawansowanym stadium są niezdolni do samodzielnego życia i wymagają stałej opieki czy to w domu czy w odpowiednich instytucjach. Jednak poza występującym zawsze otępieniem obraz kliniczny chA może być bardzo zmienny. Dotyczy to między innymi także szybkości narastania zespołu otępiennego. Znajomość czynników mogących wpływać na tempo progresji choroby mogłaby być korzystna z wielu względów. Należy do nich chociażby dokładniejsza informacja dla chorego i opiekuna, czy też lepsza ocena skuteczności stosowanych leków. Jednak próby zdefiniowania tych czynników nie znalazły jak dotąd potwierdzenia. Izoforma E4 apolipoproteiny E, pewny genetyczny czynnik ryzyka, ze względu na postulowany mechanizm jej działania w patogenezie chA, wydaje się być bardzo obiecującym kandydatem.

1. Kliniczne kryteria rozpoznawania choroby Alzheimera

Do tej pory nie znaleziono specyficznego dla chA markera biologicznego, a przyczyn mogących wywoływać otępienie jest bardzo wiele. Dlatego wprowadzone zostały określone kryteria kliniczne mające ułatwić przyżyciowe rozpoznawanie choroby.

Trzy najbardziej znane to kryteria Międzynarodowej Statystycznej Klasyfikacji Chorób i Problemów Zdrowotnych - ICD-10 (1994), Amerykańskiej Klasyfikacji Diagnostycznej i Statystycznej - DSM-IV (APA 1994) i Narodowego Instytutu Chorób Neurologicznych i Udarów Mózgu dla Choroby Alzheimera i Chorób Pokrewnych - NINCDS/ADRDA (McKhann i wsp. 1984). Najistotniejszymi cechami, których obecność wymagana jest we wszystkich trzech kryteriach, są zaburzenia pamięci i innych funkcji intelektualnych, pogorszenie w stosunku do przedchorobowego poziomu funkcjonowania, brak danych klinicznych i laboratoryjnych stwierdzających inne przyczyny otępienia i brak zaburzeń świadomości.

1.1. Kryteria kliniczne otępienia typu Alzheimerowskiego ICD -10 - otępienie definiowane jest jako zespół spowodowany chorobą mózgu zwykle przewlekłą i postępującą, w którym przy zachowanej świadomości, dochodzi do zaburzeń licznych funkcji korowych takich jak: pamięć, myślenie, orientacja, rozumienie, liczenie, mowa, zdolność uczenia się i zdolność racjonalnego osądu w stopniu pogarszającym przedchorobowe funkcjonowanie chorego. Objawom tym może

towarzyszyć, lub niekiedy je wyprzedzać osłabienie kontroli nad reakcjami emocjonalnymi, zachowaniem społecznym czy motywacją. Wywiad chorobowy nie powinien być krótszy niż 6 miesięcy. Kryteria ICD-10 uwzględniają poza otępieniem, podstępny początek, powolny, postępujący przebieg, obraz kliniczny i wyniki badań wykluczające możliwość wystąpienia otępienia jako rezultatu innych chorób układowych lub chorób mózgu, brak nagłego, udarowego początku lub objawów ogniskowego uszkodzenia centralnego układu nerwowego. Wiek zachorowania może być wczesny (poniżej 65 roku życia) lub późny (powyżej 65 lat). Według tej klasyfikacji wyróżnić możemy także postać mieszaną w razie współistnienia chA z otępieniem naczyniopochodnym.

1.2. Kryteria diagnostyczne otępienia typu Alzheimerowskiego DSM – IV -

obejmują one stopniowy początek i postępujące upośledzenie licznych funkcji poznawczych: zarówno zaburzenia pamięci krótko i długoterminowej jak i przynajmniej jedną z pozostałych, takich jak: zaburzenia mowy (afazja), zaburzenia wykonywania złożonych czynności ruchowych przy nieobecności niedowładu (apraksja), nierozpoznanie osób i rzeczy mimo dobrego widzenia (agnozja) i zaburzenie działań wykonawczych (planowanie, organizowanie, abstrahowanie). Nasilenie występujących deficytów poznawczych powinno istotnie zaburzać funkcjonowanie społeczne lub zawodowe i znacząco obniżać poprzedni, przedchorobowy poziom funkcjonowania. Zaburzenia te muszą występować przy zachowanej świadomości i nie mogą być spowodowane ani innymi przyczynami

organicznymi (choroby ośrodkowego układu nerwowego, choroby ogólnoustrojowe, działanie substancji toksycznych), ani chorobami psychicznymi (wielka depresja, schizofrenia).

1.3. Kryteria kliniczne rozpoznawania choroby Alzheimera NINCDS/ADRDA -

wprowadzone w 1984 r. należą do najbardziej rozpowszechnionych i szczegółowych kryteriów klinicznych rozpoznawania chA. Według nich przyżyciowo można rozpoznać tylko prawdopodobną lub możliwą chorobę Alzheimera, natomiast rozpoznanie pewnej chA można postawić dopiero wtedy, gdy rozpoznanie kliniczne jest potwierdzone badaniem neuropatologicznym.

Prawdopodobna chA - aby postawić to rozpoznanie muszą być spełnione następujące warunki: otępienie ocenione na podstawie badania klinicznego przy użyciu odpowiednich standaryzowanych testów (np. MMSE lub Skala Otępienia Blesela) i potwierdzone badaniem neuropsychologicznym, deficyt poznawczy powoli postępujący i obejmujący przynajmniej dwie funkcje w tym pamięć, nieobce zaburzenia świadomości, początek między 40 a 90 rokiem życia, najczęściej powyżej 65 lat i brak innych chorób mózgu lub ogólnoustrojowych mogących dawać zaburzenia pamięci.

Objawy dodatkowo potwierdzające diagnozę, choć nie bezwzględnie konieczne to: afazja, apraksja i agnozja, pogorszenie aktywności życia codziennego, obecność podobnych zaburzeń w rodzinie, zwłaszcza potwierdzonych

badaniem neuropatologicznym, prawidłowe, lub z nieswoistymi zmianami wyniki badań dodatkowych.

Objawy mogące występować w przebiegu prawdopodobnej chA po wyłączeniu innych przyczyn otępienia to: depresja, bezsenność, nietrzymanie emocji, halucynacje, omamy, urojenia, pobudzenie psychoruchowe, zaburzenia seksualne, spadek wagi ciała; okresy stabilizacji w postępującym przebiegu choroby; prawidłowy obraz CT i w zaawansowanych stadiach zaburzenia neurologiczne, takie jak: wzrost napięcia mięśniowego, mioklonie, zaburzenia chodu i napady padaczkowe.

Możliwa chA - rozpoznanie takie stawiane jest przy obecności zespołu otępiennego, ale z nietypowym początkiem, objawami klinicznymi i przebiegiem choroby, lub, gdy istnieje stopniowo narastający deficyt tylko jednej funkcji poznawczej, bez ewidentnej innej przyczyny. Może być również przyjęte w obecności innych chorób mogących powodować otępienie, ale w danym wypadku uważanych za wtórne.

Do objawów w zasadzie wyłączających diagnozę chA zaliczono nagły udarowy początek, ogniskowe objawy neurologiczne, napady padaczkowe lub zaburzenia chodu występujące na początku lub we wczesnym okresie choroby.

Kryteria NINCDS/ADRDA okazały się bardzo pomocne. Przy ich stosowaniu prawidłowe rozpoznania kliniczne potwierdzone badaniem

neuropatologicznym stanowią ponad 85% (Gearing i wsp. 1995, Becker i wsp. 1994).

2. Diagnostyka kliniczna choroby Alzheimera

Obok kryteriów klinicznych opracowany został również ujednolicony system postępowania diagnostycznego mający za zadanie pomoc przy rozpoznawaniu i różnicowaniu chA (Corey-Bloom i wsp. 1995).

Przy różnicowaniu należy brać pod uwagę zwłaszcza otępienie naczyniopochodne (jako drugą co do częstości przyczynę otępień w tej grupie wiekowej), jak również otępienie mieszane alzheimerowsko-naczyniopochodne. Pamiętać trzeba również o możliwych innych otępieniach zwyrodnieniowych, takich jak między innymi: otępienie z ciałami Lewy`ego, otępienie czołowo-skroniowe, czy choroba Parkinsona przebiegająca z otępieniem. Przede wszystkim jednak powinno się wykluczyć grupę tzw. otępień potencjalnie odwracalnych. Mogą one wynikać z zaburzeń metabolicznych (choroby nerek, wątroby, stany hipoglikemiczne), hormonalnych (niedoczynność tarczycy), niedoborowych (witamina B12), elektrolitowych (hyponatremia lub hyperkalcemia). Podczas diagnozowania wyłączyć należy także ogniskowe zmiany w ośrodkowym układzie nerwowym (oun) [guz mózgu, przewlekły krwiał podwardówkowy] i zespół Hakima.

Rozpoznanie stawiamy na podstawie: wywiadu, oceny stanu psychicznego, badania neuropsychologicznego, badania neurologicznego, internistycznego i badań dodatkowych.

2.1. Wywiad dotyczący otępienia

Powinien być uzyskany zarówno od pacjenta jak i opiekuna. Prawidłowo zebrany pozwala na ujawnienie, bądź potwierdzenie istniejących we wczesnym okresie choroby zaburzeń pamięci, językowych, praktyki, wzrokowo-przestrzennych, sądu, czy zaburzeń zachowania. Zarówno przy rozpoznawaniu, jak i różnicowaniu istotna jest także ocena, jaki był początek choroby (powolny, czy nagły), tempo narastania zmian (wolne, podostre, czy ostre), przebieg (postępujący, skokowy, czy stacjonarny), oraz kolejność pojawiania się objawów. Z wywiadu uzyskujemy również dane na temat przebytych, bądź towarzyszących chorób zwłaszcza naczyniowych, rodzinności (zespół Downa, otępienie wśród krewnych pierwszego stopnia) i czynników ryzyka (wykształcenie, uraz głowy z utratą przytomności, zabiegi operacyjne w znieczuleniu ogólnym itp.).

2.2. Ocena stanu psychicznego

Przeprowadzana jest przy użyciu kilku standaryzowanych skal oceniających stopień głębokości i aktualne stadium zaawansowania procesu otępiennego, funkcjonowanie chorego w codziennych sytuacjach życiowych jak również zaburzenia pozapoznawcze. Ocena ta powtarzana regularnie pozwala między

innymi na weryfikację rozpoznania w przypadkach wątpliwych, a także na ocenę tempa narastania zmian.

Najczęściej używaną skalą przesiewową umożliwiającą przybliżoną ocenę głębokości procesu otępiennego jest skala MMSE (*Mini-Mental State Examination*) (Folstein i wsp. 1975). Składa się ona z dwu części: odpowiedzi słownych i wykonania polecenia badającego. Ocenia orientację, koncentrację, pamięć bezpośrednią i odroczoną, zaburzenia językowe i praksję. Maksymalna liczba punktów wynosi 30. Zazwyczaj 27 pkt. i więcej pozwala na wyłączenie zaburzeń pamięci, a 23 pkt. lub mniej wskazuje na istniejące zaburzenia poznawcze. Czułość skali MMSE zależy od wielu czynników takich jak np. wiek, wykształcenie, pozycja społeczna, aktualne miejsce pobytu badanego (dom, szpital, dom opieki, itp.) [Bleecker i wsp. 1988, Uhlmann i wsp. 1991, Cummings i wsp. 1993]. Pomimo to jest bardzo użyteczna, zarówno przy ocenie stopnia głębokości zmian jak i tempa ich narastania.

Skala Oceny Choroby Alzheimera (ADAS) (Rosen i wsp. 1984). Należy do często stosowanych skal oceniających zarówno funkcje poznawcze, jak i zaburzenia zachowania. Część poznawcza składa się z krótkiego testu neuropsychologicznego oceniającego pamięć, funkcje językowe i praksję. Część pozapoznawcza badająca między innymi nastrój, pobudzenie, obecność omamów i urojeń, zawiera ocenę zachowania chorego i wywiad z opiekunem. Skala ta, zwłaszcza jej część poznawcza często jest stosowana w badaniach oceniających działanie leków.

Do skal oceniających stadium zaawansowania otępienia należy między innymi Globalna Skala Deterioracji (GDS) (Reisberg 1983) i Skrócona Skala Oceny Możliwości Poznawczych (BCRS) (Reisberg 1983).

Globalna Skala Deterioracji opisuje siedem głównych faz choroby, zaczynając od stanu prawidłowego (1 i 2 faza) do najbardziej zaawansowanego (faza 7).

Faza 3. to początek choroby - zauważalne deficyty funkcji poznawczych, obniżenie sprawności zawodowej i gorsze funkcjonowanie w układach społecznych. Chory może mieć kłopoty z zapamiętaniem nazwisk nowo poznanych osób, treści przeczytanych artykułów lub książek, z przypominaniem sobie nazw i nazwisk, miejsca położonych przedmiotów, może się zgubić w czasie podróży do nieznanych miejsc. U wielu pacjentów mogą występować zmiany osobowości. Jest to najczęściej zmniejszenie inicjatywy, dotychczasowych zainteresowań, apatia, osłabienie kontroli emocjonalnej, drażliwość lub nadmierna wesołość w nieadekwatnych sytuacjach.

Faza 4 to umiarkowane otępienie - wyraźne osłabienie funkcji poznawczych. Wiedza na temat aktualnych i wcześniejszych wydarzeń jest już zubożona, mogą występować ubytki pamięciowe dotyczące życiorysu, zaburzenia koncentracji, ograniczenie możliwości samodzielnego podróżowania, prowadzenia spraw finansowych, wykonywania złożonych zadań (wypełnianie formularzy, robienie zakupów, planowanie posiłków, gotowanie itp.). Wyparcie staje się dominującym mechanizmem obronnym.

Faza 5 to średnio nasilone otępienie - deficyt poznawczy jest na tyle duży, że chory nie może już się obyć bez pomocy osób drugich. W czasie badania nie potrafi przypomnieć sobie większości istotnych danych dotyczących swego życia, np. adresu i numeru telefonu, imion wnuków, nazwy uczelni, którą ukończył. Występują zaburzenia orientacji w czasie i w miejscu. Nie potrzebuje pomocy przy toalecie i jedzeniu, ale może mieć kłopoty z doбором właściwego dla pogody ubioru.

Faza 6 to znaczne otępienie - chory jest w dużym stopniu nieświadomy wszystkich wydarzeń i doświadczeń swojego życia. Zanika umiejętność budowania zdania. Pacjent może zapomnieć imię najbliższego opiekuna, od którego jest całkowicie zależny. Wymaga pomocy w czynnościach codziennych (jedzenie, mycie, ubieranie, podróżowanie). Zaczynają się zaburzenia zwieraczowe. Pojawiają się różnego typu zaburzenia zachowania, chociaż mogą one także występować już wcześniej.

Faza 7 to bardzo ciężkie otępienie - chory traci zdolność chodzenia, potem siedzenia, pozostaje w łóżku, nie mówi, wymaga całkowitej opieki.

Skrócona Skala Oceny Możliwości Poznawczych jest rozwiniętą wersją skali GDS.

Jest również skalą siedmiostopniową z tym, że ocenia osobno koncentrację, pamięć krótkoterminową, długoterminową, orientację, zdolność do samoobsługi, zaburzenia językowe, psychomotoryczne, nastroju i zachowania, praksję, liczenie, zdolności przygotowywania posiłków i posługiwania się sztucami.

Skala Zaburzeń Zachowania Behave-AD (Reisberg i wsp. 1987) - jest jedną ze skal oceniających zaburzenia zachowania mogące występować w przebiegu chA. Urojenia opisywane są z różną częstością, 16 – 65% (Deutsch i wsp. 1991, Forstl i wsp. 1993), podobnie jak i halucynacje 10 – 49% (Mega i wsp. 1996, Cohen i wsp. 1993). Urojenia najczęściej dotyczą kradzieży, porzucenia, przekonania, że dom, w którym pacjent się znajduje nie jest jego domem, a opiekun nie jest tym, za kogo się podaje. Obecność objawów psychiatrycznych wiązana jest z głębszym uszkodzeniem i szybszym przebiegiem choroby (Rubin i wsp. 1993). Często, w około 23-49% (Rubin i wsp. 1988) obecny jest również tzw. zespół błędnego rozpoznawania. Do objawów tego zespołu należy: nierozpoznanie siebie w lustrze, traktowanie obrazu TV jako rzeczywistego, przekonanie, że obcy ludzie mieszkają z chorym. Zaburzenia aktywności ruchowej (błądzenie, bezcelowa aktywność, działania nieprawidłowe), pobudzenie, agresja słowna i fizyczna są również częste i narastają wraz z postępem choroby (Mega i wsp. 1996).

Skala Behave-AD jest oparta na wywiadzie od opiekuna i ocenia objawy psychopatologiczne występujące najczęściej w przebiegu chA i te, które są najbardziej kłopotliwe i stresujące dla opiekuna, a jednocześnie mogą być podatne na leczenie. W sumie jest ona użyteczną skalą do stosowania w badaniach perspektywnych, ponieważ pozwala na porównawczą, ilościową ocenę zaburzeń. Składa się z dwu części. Pierwsza zawiera 25 punktów oceniających zaburzenia zachowania zgrupowane w siedmiu kategoriach: wyobrażenia urojeniowe i

paranoidalne, halucynacje, zaburzenia aktywności ruchowej, agresywność, zaburzenia snu, zaburzenia nastroju, lęki i fobie. Każdy z tych 25 punktów oceniany jest w skali 4 punktowej, gdzie 0 oznacza brak występowania danego objawu, a 3 największy stopień nasilenia. Część druga jest to ogólna ocena nasilenia zaburzeń pozapoznawczych, również 4 punktowa oparta na wynikach z części pierwszej. Oceniana jest według stopnia, w jakim zaburzenia te są kłopotliwe dla opiekuna i niebezpieczne dla pacjenta.

Skala Oceny Depresji Hamiltona (Hamilton i wsp. 1969) - jest jedną ze skal służących do oceny objawów depresyjnych często pojawiających się w przebiegu choroby Alzheimera, chociaż częstość ich występowania oceniana jest w piśmiennictwie bardzo różnie, średnio u około 25% pacjentów (Borson i wsp. 1997 rev). Depresja towarzyszy z reguły wczesnej fazie otępienia, może także wyprzedzać pojawienie się, czy też rozpoznanie chA (Bergner i wsp. 1999). Natomiast w późniejszych stadiach choroby, wraz z narastaniem otępienia, objawy depresyjne stają się coraz rzadsze. Ocena w Skali Hamiltona obejmuje aktualny stan chorego w dniu badania. Uzyskanie od 8 do 17 punktów oznacza lekką, od 18 do 25 punktów umiarkowaną, a powyżej 26 punktów ciężką depresję.

Skala Ischemiczna Hachińskiego (Hachiński i wsp. 1974) – została zaproponowana jako narzędzie pomocne przy różnicowaniu pomiędzy otępieniem naczyniopochodnym a otępieniami zwyrodnieniowymi w tym chA. Tym samym nie mówi o obecności, bądź braku objawów charakterystycznych dla chA, ale

akcentuje cechy typowe dla otępienia naczyniopochodnego. Najistotniejsze z nich to: nagły początek, skokowe narastanie objawów, falujący przebieg choroby, obecność udaru w wywiadzie i objawów neurologicznych w badaniu zarówno podmiotowym jak i przedmiotowym. Interpretacja uzyskanych punktów w tej skali jest następująca: od 0 do 4 punktów – chA, powyżej 7 punktów to otępienie naczyniopochodne.

2.3. Badanie neuropsychologiczne

Jest bardzo ważnym elementem postępowania diagnostycznego przy rozpoznawaniu otępienia, a także przy jego różnicowaniu. Standaryzowane skale oceniające stopień głębokości otępienia, czy jego stadium, z których kilka było omówionych poprzednio, nie są w stanie wykryć bardzo delikatnych zaburzeń funkcji poznawczych, ani określić ich wzorca. Natomiast testy neuropsychologiczne mogą ujawnić istniejący deficyt poznawczy nawet na kilka lat przed klinicznym rozpoznaniem otępienia (Linn i wsp. 1995, Petersen i wsp. 1999). Pozwalają też na zobiektywizowanie skarg na kłopoty z pamięcią, które jak wiadomo nie zawsze idą w parze z rzeczywistymi jej zaburzeniami. Z tego powodu ocena neuropsychologiczna jest bardzo istotna przy różnicowaniu wczesnej fazy chA z łagodnymi zaburzeniami pamięci związanymi z wiekiem, czy z depresją. Badanie neuropsychologiczne umożliwia także ocenę każdej funkcji poznawczej oddzielnie, a tym samym określenie, czy zaburzenia dotyczą tylko jednej z nich, czy wielu i w jakim stopniu. Dlatego też, może być ono przydatne przy

różnicowaniu chA z otępieniem naczyniopochodnym lub z innymi otępieniami zwyrodnieniowymi, mającymi charakterystyczny dla siebie profil zaburzeń poznawczych, (np. otępienie czołowo-skroniowe). Jest to jednak możliwe jedynie w początkowej i we wczesnej fazie otępienia.

2.4. Badanie neurologiczne

Nie ma znaczenia przy rozpoznawaniu otępienia, natomiast może być użyteczne przy różnicowaniu. W obrazie klinicznym chA nie ma żadnego stałego objawu neurologicznego. Te, które są opisywane występują z niejednakową częstością w różnych badanych grupach chorych. Do najczęściej stwierdzanych należą obok objawów deliberacyjnych, objawy wchodzące w skład zespołu parkinsonowskiego i mioklonie.

W zespole parkinsonowskim opisywanym w chA, drżenie, jeden z głównych objawów w chorobie Parkinsona, występuje najrzadziej, najczęściej zaś bradykinezja i sztywność (Clark i wsp. 1997). Częstość występowania objawów parkinsonowskich w przebiegu chA podawana w piśmiennictwie jest różna i wynosi od 14% do 82%, średnio około 30% (Chui i wsp. 1985, Lopez i wsp. 1997). Mogą one wystąpić na każdym etapie choroby, chociaż stwierdzane są raczej w bardziej zaawansowanych jej stadiach. Ich obecność wiązana jest z większym nasileniem otępienia i/lub szybszym przebiegiem choroby (Chui i wsp. 1994, Stern i wsp. 1994, 1996).

Mioklonie występują w późnym okresie u około 10% pacjentów i podobnie jak objawy parkinsonowskie uważane są za czynnik zły rokowniczo (Chui i wsp. 1985). Późno mogą pojawić się także napady padaczkowe (Forstl i wsp. 1992).

2.5. Badanie internistyczne

Służy ocenie ogólnego stanu pacjenta, pomaga w wyłączeniu internistycznych przyczyn mogących powodować wystąpienie objawów otępiennych.

2.6. Badania dodatkowe

Wykonywane są przede wszystkim w celu wyłączenia innych niż alzheimerowskie przyczyn otępienia (głównie potencjalnie odwracalnych), ponieważ jak już wspomniano ciągle mimo licznych prób nie ma jeszcze żadnego przyżyciowego testu pozwalającego z całą pewnością rozpoznać chA. Badania biochemiczne obejmują podstawowe badania z surowicy krwi takie jak: morfologia, poziom glikemii, mocznika, kreatyniny, elektrolitów, transaminaz, USDR, ponadto lipidogram, poziom TSH i witaminy B12, oraz badanie ogólne moczu. Ich wykonanie daje możliwość wyłączenia wymienionych wcześniej metabolicznych, hormonalnych i niedoborowych przyczyn otępienia. Każdy chory powinien też mieć badanie rentgenowskie klatki piersiowej, EKG i EEG. Badania neuroobrazowania (tomografia komputerowa lub rezonans magnetyczny), pozwalają wykluczyć rozpoznanie guza, czy przewlekłego krwiaka, zwracają uwagę na możliwość zespołu Hakima i uwidaczniają patologię naczyniopochodną.

Natomiast ich przydatność w różnicowaniu pomiędzy chA, a innymi otępieniami zwyrodnieniowymi nie jest duża. Samo stwierdzenie korowego czy podkorowego zaniku przy braku danych klinicznych, nie jest wystarczające do rozpoznania chA. Pomocne natomiast okazało się przy diagnozowaniu otępienia w jego wczesnej fazie, określenie topografii zaniku. W chA najwcześniej dotyczy on struktur hipokampa, stąd możliwość różnicowania wczesnej fazy chA z osobami w wieku podeszłym bez cech otępienia (De Leon i wsp. 1989, Jack i wsp. 1998). Najbardziej czułe zarówno przy rozpoznawaniu jak i różnicowaniu chA są metody czynnościowe neuroobrazowania. Należy do nich niedostępna jeszcze w Polsce pozytronowa tomografia emisyjna (positron emission tomography - PET), badająca metabolizm mózgu przy użyciu glukozy i komputerowa tomografia emisyjna pojedynczego fotonu (single photon emission tomography- SPECT), oceniająca przepływ krwi w poszczególnych okolicach mózgu. Obniżenie perfuzji w chA stwierdzane jest w tylnych częściach płatów skroniowych i w płatach ciemieniowych (Read i wsp. 1995, Talbot i wsp. 1998). SPECT jest jednak w Polsce również mało dostępny i nie wchodzi w zakres rutynowego postępowania diagnostycznego.

3. Neuropatologia

Kluczowe zmiany neuropatologiczne stwierdzane w chA, to blaszki starcze i zwyrodnienie neurofibrylarne neuronów (NFT - neurofibrillary tangles). Dopiero

ich stwierdzenie w odpowiedniej liczbie i lokalizacji pozwala potwierdzić rozpoznanie kliniczne chA.

Błaszka starcza klasyczna zbudowana jest z położonego pozakomórkowo β -amyloidu (β A) tworzącego rdzeń i otaczających go dystroficznych neurytów, z których część zawiera obok wyrodniejących organelli podwójne helikalne filamenty (paired helical filaments) [PHF]. Wewnątrz i na zewnątrz blaszki znajdują się pobudzone astrocyty i mikroglej. Obok amyloidu w blaszce starczej znajdują się także inne białka między innymi α 1 antychymotrypsyna, białko τ , apolipoproteina E i J i poliaminoglikany.

Złogi β A ogniskowe i rozproszone są najbardziej charakterystyczną cechą w obrazie neuropatologicznym chA. β A stanowi jak powiedziano, główny komponent blaszek starczych, jak również odkładany jest w ścianach naczyń (kongofilna angiopatia) [Glennner i wsp. 1984, Masters i wsp. 1985]. Jest to niewielki peptyd złożony z 39 -43 aminokwasów, stanowiący fragment znacznie dłuższego białka zwanego białkiem prekursorowym amyloidu (Amyloid Precursor Protein) [APP].

APP występuje w kilku izoformach różniących się długością łańcucha aminokwasów (APP 695, APP 751 lub APP 770), z których w mózgu najczęściej występuje APP 695. Fizjologiczna rola APP nie jest jak dotąd znana, być może jest jednym z wielu komórkowych białek receptorowych. APP jest białkiem błonowym, złożonym z długiego łańcucha zewnątrz komórkowego N-końca, odcinka śródbłonowego i wewnątrzkomórkowego C-końca, leżącego w cytoplazmie i

sprzężonego z białkami cytoskeletonu (Kang i wsp. 1987). β -amyloid zawiera 28 aminokwasów zewnątrzkomórkowych i 11-15 aminokwasów śródbłonowych. Podczas prawidłowej przemiany APP przy pomocy nie poznanego jeszcze enzymu zwanego α sekretazą dochodzi do rozszczepienia w obszarze β A wewnątrzłonowego fragmentu APP (Sisodia i wsp. 1990), dzięki czemu powstają dwa rozpuszczalne fragmenty APP, które nie agregują. W chA natomiast dochodzi do rozszczepienia cząsteczki APP z uwolnieniem β A, przez również nieznaną jeszcze do niedawna enzymy zwane β i γ sekretazą (Beyreuther i wsp. 1991). Ostatnio β sekretaza została zidentyfikowana przez Vassara i wsp. (1999). Rozszczepienie to prowadzi do uwolnienia cząsteczki β A w całości. Dzięki swojej beta fałdowej konformacji polegającej na równoległym i przeciwrównoległym ułożeniu łańcuchów aminokwasowych względem siebie, β A jest nierozpuszczalny i odporny na działanie enzymów proteolitycznych. Następnie dochodzi do jego agregacji i odkładania się w postaci włókienkowej w neuropilu i ścianach naczyń.

Zwyrodnienie neurofibrylarne neuronów jest drugą typową zmianą neuropatologiczną w mózgu chorych z chA. Charakteryzuje się obecnością położonych wewnątrz komórkowo nierozpuszczalnych złogów utworzonych przez PHFy - patologiczne filamenty powstałe na skutek nieprawidłowej fosforylacji białka τ (Grundke-Iqbal i wsp. 1986). Białko τ w warunkach fizjologicznych działa jako czynnik wspomagający tworzenie i stabilizację mikrotubul, będących składnikiem prawidłowego cytoskeletonu (Goedert i wsp. 1993). W warunkach

patologicznych natomiast, nadmiernie ufosforylowane białko τ , nie będąc skutecznie katabolizowane przez komórkę, gromadzi się w cytoplazmie w postaci PHF, co zapoczątkowuje włókienkową degradację neuronu, prowadząc ostatecznie do jego śmierci. NFT, chociaż charakterystyczne, nie jest jednak zmianą patognomoniczną dla chA, występuje w wielu innych chorobach neurozwyrodnieniowych, jak np. postępujące otępienie nadjądrowe, czy otępienie bokserskie, co sugeruje, że może być wynikiem niespecyficznego uszkodzenia.

Większość badaczy uważa, że pierwszym krokiem w patogenezie chA jest właśnie odkładanie się β A. Według tej teorii ma on przez swoje działanie mechaniczne, bądź toksyczne na neuron doprowadzać do tworzenia NFT i rozpadu komórek. To, z kolei powoduje zniszczenie połączeń międzyneuronalnych i wtórnie niedobory transmiterów, w tym głównie acetylocholino.

Do charakterystycznych zmian w chA należy również znaczne zmniejszenie liczby połączeń synaptycznych. Wiadomo, że gęstość zakończeń presynaptycznych w przebiegu choroby zredukowana jest średnio o 45% (McGeer i wsp. 1994), zaś ubytek synaps lepiej koreluje ze stopniem nasilenia zaburzeń poznawczych, niż liczba blaszek i NFT (Terry i wsp. 1991). Najwyraźniejszy związek między spadkiem liczby synaps i nasileniem otępienia wykazano w przypadku zmian w korze czołowej (Masliah i wsp. 1992).

Zaburzenia neurotransmiterowe natomiast, jak było mówione, dotyczą głównie acetylocholiny. Pierwsze prace na ten temat, potwierdzone następnie przez wiele innych, ukazały się pod koniec lat siedemdziesiątych (Bowen i wsp. 1976, Davies i Maloney 1976, Perry i wsp. 1977). Acetylocholina jest syntetyzowana przez transferazę acetylocholiny, której głównym źródłem są komórki nerwowe jądra Meynerta. Ulega ono w przebiegu chA bardzo wczesnie zanikowi z powodu obecności blaszek starczych i zwyrodnienia neurofibrylarnego, co prowadzi do obniżenia zawartości transferazy acetylocholiny o 58-90% (Hansen i wsp. 1988). W efekcie obniżony zostaje poziom acetylocholiny dotyczący zwłaszcza płata skroniowego. Na tej podstawie została oparta tzw. teoria cholinergiczna, według której zaburzenia synaptyczne pojawiają się jako pierwsze i one są powodem otępienia (Bartus i wsp. 1982).

4. Genetyka

W chA, poza olbrzymią większością przypadków sporadycznych istnieje jak wiadomo postać rodzinna o wczesnym (<65 roku życia) lub późnym (>65 roku życia) początku choroby. W związku z tym trwały już od wielu lat i nadal są prowadzone poszukiwania genów odpowiedzialnych za wystąpienie chA. Okazało się bowiem, że jest ona genetycznie bardzo niejednorodna.

Do tej pory badania genetyczne wykryły już 4 pewne geny wciągnięte w rozwój chA. Trzy z nich to: APP na chromosomie 21, presenilina 1 (PS1) na chromosomie 14, presenilina 2 (PS2) na chromosomie 1 - odpowiedzialne w sumie

za około połowę przypadków wczesnej rodzinnej postaci chA. Czwartym genem jest znajdujący się na chromosomie 19 gen dla apolipoproteiny E (apoE) – jedyne, uznanego genetycznego czynnika ryzyka dla chA.

W ciągu ostatnich dwu lat przedmiotem zainteresowania w tej postaci choroby stały się też geny na chromosomie 12, chociaż nie wiadomo jeszcze, który z nich ma związek z chA. Jako czynnik zwiększający ryzyko wystąpienia chA proponowana była mutacja w obrębie genu kodującego α -2makroglobulinę (Liao i wsp. 1998), ale nie zostało to potwierdzone w kolejnych badaniach (Wavrant-DeVrieze i wsp. 1999).

Zmiany neuropatologiczne charakterystyczne dla chA stwierdzane są także u osób z zespołem Downa, które zginęły po 30 roku życia. Zespół Downa jest jak wiadomo spowodowany trisomią chromosomu 21. Z tego powodu rozpoczęto poszukiwania genu dla rodzinnej postaci chA na tym właśnie chromosomie. W 1987r. Goldgaber i wsp. sklonowali i zlokalizowali na nim gen dla prekursora amyloidu (APP). Pierwszą mutację w obrębie tego genu, polegającą na zamianie waliny na isoleucynę na kodonie 717 znaleziono w 1991 roku (Goate i wsp.), u dwóch rodzin z chA o wczesnym początku. Do tej pory zidentyfikowano 7 różnych mutacji w obrębie genu dla APP, prowadzących do wystąpienia rodzinnej postaci chA o wczesnym początku. Mechanizm patogenicznego działania tych mutacji, polega na ich wpływie na metabolizm APP, zwłaszcza na proces proteolizy, co doprowadza do nadprodukcji β A lub uwalniania dłuższej (42-43 aminokwasy)

bardziej toksycznej jego formy (Citron i wsp. 1992, Cai i wsp. 1993, Haass i wsp. 1994, Suzuki i wsp. 1994).

Kolejne badania doprowadziły do identyfikacji nowego genu na chromosomie 14 kodującego białko nazwane preseniliną 1 (Sherrington i wsp. 1995). W tym samym roku, wśród odrębnej etnicznie populacji tzw. Niemców Nadwożańskich, (których przodkowie wyemigrowali z Niemiec najpierw do Rosji a następnie do USA), sklonowano następny gen na chromosomie 1, kodujący białko nazwane preseniliną 2 (Levy-Lehad i wsp. 1995). Wysoka homologiczność obu genów sugeruje, że funkcje biologiczne kodowanych przez nie białek są bardzo podobne, chociaż jak dotąd nie poznane dokładnie. Być może, występowanie mutacji prowadzi podobnie jak w przypadku genu dla amyloidu, do nadprodukcji dłuższej i szybciej agregującej formy β A (Scheuner i wsp. 1996). Do tej pory odkryto już kilkadziesiąt (53), w większości różnych mutacji w obrębie PS1 i 2 mutacje w obrębie PS2 (Tanzi i wsp. 1996, De Silva i wsp. 1997, Hutton i wsp. 1997). Uważa się, że PS1 odpowiada za około 30-50% wszystkich przypadków rodzinnej postaci chA o wczesnym początku. Wszystkie mutacje w obrębie wymienionych wyżej genów charakteryzują się bardzo wysoką penetracją sięgającą prawie 100%, co oznacza, że wystąpienie takiej mutacji powoduje zachorowanie na chA.

Jednak znacznie częściej niż przypadki wczesnej, rodzinnej postaci chA, występuje postać chA o późnym, powyżej 65 roku życia początku, z czego

większość to przypadki sporadyczne. W tej postaci okazało się, że dziedziczenie określonej formy polimorficznego genu dla apoE (E4), nie wystarcza do rozwoju choroby, ale jest czynnikiem zwiększającym ryzyko zachorowania.

5. Apolipoproteina E

Apolipoproteiny (apo) są to białka wchodzące obok lipidów w skład lipoprotein. W zależności od sekwencji aminokwasowej i wielkości cząsteczki wyróżniamy: grupę apoA (apoA-I, apoA-II i apoA-IV), grupę apoB (apoB-48 i apoB-100), grupę apoC (apoC-I, apoC-II i apoC-III), apoD, apoE i apoJ. Do głównych zadań apolipoprotein należą: 1. Stabilizacja cząsteczek lipoprotein przez dostarczenie hydrofobowego miejsca do interakcji z tłuszczami i hydrofilnej powierzchni umożliwiającej interakcje z płynami fizjologicznymi. 2. Udział w transporcie i redystrybucji lipidów wśród różnych tkanek poprzez wiązanie się poszczególnych apo ze specyficznymi dla nich receptorami komórkowymi. 3. Działanie jako kofaktor dla odpowiednich enzymów biorących udział w metabolizmie lipoprotein.

Znajdujący się na chromosomie 19 gen dla apoE jest genem polimorficznym. W zależności od posiadanego allelu ($\epsilon 2$, $\epsilon 3$, $\epsilon 4$) koduje on trzy odpowiadające im izoformy apoE określone jako apoE2, apoE3 i apoE4. Są to białka składające się z 299 aminokwasów, różniące się między sobą położeniem argininy i cysteiny w pozycji 112 i 158. W apoE3 cysteina znajduje się w pozycji 112 a arginina w pozycji 158, w apoE4 w obydwu pozycjach znajduje się arginina, a w apoE2

cysteina. Polimorfizm genu dla apoE daje w rezultacie 6 różnych fenotypów: trzy (2/2, 3/3, 4/4) dla postaci homozygotycznych i trzy (2/3, 3/4, 2/4) dla heterozygot. Częstość występowania poszczególnych alleli w populacji ogólnej jest różna i wynosi dla apoE - $\epsilon 3 \sim 75\%$, dla $\epsilon 4 \sim 15\%$ i dla $\epsilon 2 \sim 8\%$ (Utermann i wsp. 1980).

ApoE była pierwotnie zidentyfikowana jako składnik chylomikronów, VLDL i HDL1 i początkowo zainteresowanie nią skupiało się głównie na jej roli w metabolizmie lipidów. Pośrednicząc w interakcji lipoprotein z receptorami komórkowymi zarówno LDL jak i LRP, apoE uczestniczy głównie w transporcie i przemianach cholesterolu i trójglicerydów. Wykazano, że apoE3 i apoE4 łatwiej łączą się z receptorami LDL i LRP niż apoE2 (Weisgraber i wsp. 1982, Kowal i wsp. 1990). U nosicieli $\epsilon 4$ stwierdzono wyższy poziom cholesterolu całkowitego i LDL cholesterolu, jak również zwiększone ryzyko wystąpienia choroby wieńcowej (Wilson i wsp. 1996) i wczesnego rozwoju miażdżycy (Hixon i wsp. 1991).

Natomiast do roku 1993 literatura dotycząca roli apoE w ośrodkowym układzie nerwowym była dość uboga. Sytuacja zmieniła się radykalnie po odkryciu zależności pomiędzy obecnością apoE4, a występowaniem chA.

Apo E jest podstawową apo występującą w ośrodkowym układzie nerwowym. W odróżnieniu od innych apo jest produkowana nie tylko w wątrobie, ale i w mózgu przez astrocyty i makrofagi. Fizjologicznie w ośrodkowym układzie nerwowym odgrywa istotną rolę w obrocie lipidów i rozpuszczalnych związków lipidowych. Bierze udział w transporcie lipidów z krwi do komórek mózgu i w usuwaniu nadmiaru lipidów z ośrodkowego układu nerwowego drogą płynu mózgowo-

rdzeniowego. Ponadto uczestniczy w mobilizacji i redystrybucji lipidów między komórkami w oun (Landen i wsp. 1996, Pitas i wsp. 1987).

Stwierdzono również, że synteza apoE wzrasta miejscowo po uszkodzeniu nerwów obwodowych. Uszkodzenie nerwu kulszowego szczura powoduje 100-200-krotny wzrost poziomu produkowanej przez makrofagi apoE (Ignatus i wsp. 1986). Utrzymuje się on około tygodnia i w ciągu następnych 8 tygodni opada stopniowo do poziomu wyjściowego, kiedy to regeneracja nerwu jest prawie kompletna (Boyles i wsp. 1989). Na tej podstawie wysunięta została hipoteza na temat roli apoE w aksonalnej regeneracji (Ignatus i wsp. 1987). ApoE produkowana w sąsiedztwie uszkodzenia, bierze udział w usuwaniu cholesterolu z uszkodzonych komórek i mieliny i dostarczaniu lipidów do makrofagów. Tam lipidy są gromadzone i następnie wykorzystywane ponownie przy regeneracji aksonów. W tym celu regenerujący nerw wysyła liczne stożki wzrostu lub neuryty posiadające bardzo wiele receptorów LDL. Dzięki temu, zmagazynowane lipidy mogą być dostarczone przez apoE i wykorzystane w procesie syntezy błonowej.

Synteza apoE zwiększa się również po eksperymentalnym uszkodzeniu płata skroniowego. Przejściowe niedokrwienie powoduje wzrost poziomu apoE, początkowo stwierdzany w astrocytach i neuropilu, a następnie po uwolnieniu apoE do przestrzeni pozakomórkowej i wychwyceniu jej przez zdegenerowane neurony również w nich (Kida i wsp. 1995). Wewnątrzneuronalne gromadzenie apoE stwierdzone zostało również u szczura, po uszkodzeniu mózgu spowodowanym

krwiakiem podtwardówkowym (Horsburgh i wsp. 1997). Znaczenie akumulacji apoE w uszkodzonych neuronach nie jest jasne, chociaż jak się przypuszcza, odzwierciedla jej rolę w procesach naprawczych błon neuronalnych, sproutingu i reaktywnej synaptogenezie, poprzez dostarczenie niezbędnego cholesterolu i lipidów.

5.1. Epidemiologia poszczególnych izoform apoE.

W 1993 roku Strittmatter i wsp. stwierdzili związek pomiędzy apoE4, a rodzinną postacią chA o późnym początku. W tym samym roku Saunders i wsp. potwierdzili tę zależność w grupie 176 pacjentów z neuropatologicznie potwierdzoną sporadyczną chA. Częstość występowania allelu $\epsilon 4$ wynosiła 40 % w porównaniu do 16% w grupie kontrolnej. Także w 1993 roku Corder i wsp. wykazali, badając grupę osób powyżej 60 roku życia pochodzącą z 42 rodzin z chA o późnym początku, że ryzyko zachorowania na chA jest większe u osób z obecnością homozygotycznej formy apoE4, niż heterozygotycznej. Chorobę Alzheimera stwierdzono u 20% osób nie posiadających allelu $\epsilon 4$, u 47% nosicieli jednego allelu $\epsilon 4$ i aż u 91% osób dziedziczących dwa allele $\epsilon 4$. Ponadto od ilości posiadanych alleli zależał również wiek początku choroby. Wynosił on dla pacjentów bez allelu $\epsilon 4$, z jednym lub z dwoma allelami odpowiednio: 84.3, 75.5 i 68.4 lat (Corder i wsp. 1993).

Wyniki tych pierwszych prac zostały szybko potwierdzone przez wiele innych badań (Jarvik i wsp. 1996, Tsai i wsp. 1994, Mayeux i wsp. 1993), również

tych, w których rozpoznanie chA potwierdzone było sekcyjnie (Nalbantoglu i wsp. 1994). Częstość występowania allelu $\epsilon 4$ u pacjentów z chA szacowana jest na tej podstawie między 33 a 40% w porównaniu do 5 -14% w grupach kontrolnych. Ryzyko zachorowania na chA wzrasta dwu - trzykrotnie przy obecności jednego allelu $\epsilon 4$, a pięć - dziesięć razy przy dziedziczeniu obu alleli $\epsilon 4$ w porównaniu do całej populacji.

Działanie apoE4 jako czynnika ryzyka wydaje się być zależne od wieku początku choroby, albowiem częstość występowania allelu $\epsilon 4$ zmniejsza się znacznie (do około 10%) w najstarszych grupach wiekowych, co wykazały badania osób powyżej 90 lat (Rebeck i wsp. 1994) i stulatków (Sobol i wsp. 1995).

Potwierdzona na ogół została również zależność pomiędzy apoE4, a wcześniejszym występowaniem objawów otępienia. Przybliżony wiek początku choroby wynosi dla apoE 4/4 - 68 lat, apoE 3/4 - 72lata apoE3/3 - 76lat i apoE 2/3 - 80 lat.

Określony genotyp apoE powinien wpływać również na tempo progresji choroby, jednak wyniki badań na ten temat są sprzeczne. Niektóre prace wykazują szybsze narastanie zaburzeń poznawczych u nosicieli $\epsilon 4$, w porównaniu do osób bez tego allelu (dal Forno i wsp. 1996, Craft i wsp. 1998), część nie stwierdza żadnej różnicy między obydwoma grupami (Kurz i wsp. 1996, Growdon i wsp. 1996), w innych zaś nosiciele $\epsilon 4$ chorują wolniej (Frisoni i wsp. 1995, Stern i wsp. 1997).

Zależność pomiędzy apoE4 a chA może być wyraźniejsza u kobiet. Pierwszy zwrócił na to uwagę Poirier i wsp. (1993). Wśród badanych przez niego 91 pacjentów ze sporadyczną chA (61 kobiet i 30 mężczyzn), 72% kobiet posiadało allel $\epsilon 4$, podczas gdy wśród mężczyzn tylko 46,6%. W innych pracach obserwowano podobną tendencję, ale różnice te nie były istotne statystycznie (Corder i wsp. 1995, Nalbantoglu i wsp. 1994).

Obecność allelu $\epsilon 4$, nie upoważnia jednak do rozpoznawania chA u osób bez objawów klinicznych, ponieważ jest to tylko czynnik ryzyka. Około 50% nosicieli przynajmniej jednego allelu $\epsilon 4$ nie choruje na chA (Farrer i wsp. 1995), jak również połowa chorych z chA nie dziedziczy tego allelu (Myers i wsp. 1996).

W przeciwieństwie do apoE4 uważa się, że apoE2 ma działanie protekcyjne i może opóźniać wiek zachorowania na chA. Przykładowo 2% populacji dziedziczącej dwa allele $\epsilon 4$ zaczyna chorować przed ukończeniem 70 lat, podczas gdy u 14% posiadających genotyp $\epsilon 2/3$ średni wiek początku choroby jest powyżej 90 roku życia (Corder i wsp. 1994). Natomiast Benjamin i wsp. (1994) stwierdzili znacznie mniejszą gęstość blaszek starczych w mózgach nosicieli allelu $\epsilon 2$ w porównaniu do nosicieli $\epsilon 3$ i $\epsilon 4$.

5.2. Rola apoE w patogenezie chA

Mechanizm, w jakim apoE miałyby działać z białkami wciągniętymi w patogenezę chA w sposób zależny od określonej izoformy, nie jest jeszcze do końca poznany.

Pierwszym dowodem na związek pomiędzy β A i apoE, były badania wykazujące obecność apoE w blaszkach starczych i naczyniach z kongofilną angiopatią (Wiśniewski i wsp. 1992, Rebeck i wsp. 1993, Strittmater i wsp. 1993). Wykazano również, w porównaniu do osób nie dziedziczących żadnego allelu ϵ 4, wyraźnie większą gęstość złogów amyloidowych w blaszkach starczych i naczyniach z kongofilną angiopatią u nosicieli allelu ϵ 4, w stopniu wprost proporcjonalnym do ilości posiadanych alleli (Rebeck i wsp. 1993, Schmechel i wsp. 1993, Ohm i wsp. 1994). W badaniach *in vitro* decydujące znaczenie miało doświadczenie Strittmatera i wsp. (1993), którzy badając wiązanie się β A z oczyszczonymi izoformami apoE3 i apoE4, wykazali, że obie formy różnią się szybkością wiązania z β A. Wiązanie β A z apoE4 trwało kilka minut, zaś z apoE3 wymagało godzin. Wykazano również (Ma i wsp. 1994, Sanan i wsp. 1994), że inkubacja β A z apoE powoduje wytrącanie się kompleksów β A/apoE ułatwiających tworzenie włókienkowego, nierozpuszczalnego amyloidu. Proces ten najłatwiej przebiega w obecności izoformy apoE4. Natomiast C-końcowy fragment apoE, będący miejscem jej związania z β A w blaszce starczej, dodatkowo bierze aktywny udział w jego agregacji (Wiśniewski i wsp. 1995). Na tej podstawie wysunięta została hipoteza, że apoE4 działa jako patologiczne białko towarzyszące, wiążąc rozpuszczalny β A, przekształcając go w formę nierozpuszczalną, przyspieszając jego sekwestrację w blaszkach i naczyniach i zabezpieczając przed proteolizą.

Poza oceną ewentualnych zależności między apoE4 a β A, przy badaniu roli apoE w patomechanizmie chA, badano również jej możliwy udział w tworzeniu NFT. W licznych pracach wykazana została obecność apoE w NFT (Rebeck i wsp. 1993, Strittmater i wsp. 1993, Wiśniewski i wsp. 1992, Namba i wsp. 1991), co sugerowało jej wewnątrzneuronalną lokalizację i możliwość wiązania się w sposób zależny od określonej izoformy z białkiem τ lub innymi cytoplazmatycznymi białkami towarzyszącymi mikrotubulom (Han i wsp. 1994, Strittmater i wsp. 1993, Roses i wsp. 1996). Strittmater i wsp. (1994) wykazał, że ani apoE3 ani apoE4 nie wiąże się z nadmiernie ufosforylowanym białkiem τ , natomiast apoE3 a nie apoE4 wiąże się z jego prawidłową formą. Stało się to podstawą hipotezy, według której apoE3 miałyby mieć działanie protekcyjne, stabilizując wewnątrzkomórkowe mikrotubule, zabezpieczając przed nadmierną fosforylacją białka τ i tworzeniem się zwyrodnienia neurofibrylarnego.

Wyniki prac oceniających zależność pomiędzy dziedziczeniem allelu ϵ 4, a liczbą tangli są sprzeczne. Większość prac nie potwierdziła takiej korelacji (Gomez-Isla i wsp. 1996, Landen i wsp. 1996, Oyama i wsp. 1995, Berr i wsp. 1994), co więcej apoE 4 stwierdzana jest częściej również w schorzeniach, dla których zwyrodnienie neurofibrylarne nie jest charakterystyczne, jak np. w otępieniu z ciałami Lewy`ego.

5.3. Rola apoE w innych mechanizmach zachodzących przy uszkodzeniu mózgu z różnych przyczyn

Poza rolę, jaką odgrywa apoE w patomechanizmie chA poprzez interakcje z β A i białkiem τ , rozważane są również inne potencjalne mechanizmy, w których może ona brać udział takie jak: działanie antyoksydacyjne, neurotroficzne, i modulujące odpowiedź zapalną mózgu. Zaobserwowano między innymi, że apoE chroni przed toksycznym działaniem nadtlenu wodoru ze skutecznością zależną od izoformy apoE: E2>E3>E4 (Miyata i wsp. 1996), że apoE3 przyspiesza, a apoE4 hamuje rozwój neuronów (Nathan i wsp. 1994, Bellosta i wsp. 1995) i, że apoE3 hamuje wydzielanie zapalnych cytokin przez komórki glejowe (Laskowitz i wsp. 1997).

Mechanizmy te są szczególnie interesujące, ponieważ mogą tłumaczyć związek apoE 4 nie tylko z chA, ale też i z nagłym uszkodzeniem mózgu różnego pochodzenia. Okazało się bowiem, że stopień powrotu do zdrowia po tego rodzaju uszkodzeniu może być zależny od posiadanego genotypu apoE. Wyniki badania Albertsa i wsp. (1995), pacjentów po przebytych samoistnym krwotoku mózgowym wykazały, że obecność apoE4 była związana ze znacznie większą śmiertelnością w porównaniu do innych genotypów apoE: E2/E3 lub E3/E3 (odpowiednio 68% i 19%). Wśród pacjentów zaś, którzy przeżyli, ci bez apoE4 mieli mniejszy deficyt neurologiczny. Inne badania (Teasdale i wsp. 1997, Sorbi i wsp. 1996, Seliger i wsp. 1997, Friedman i wsp. 1999) wykazały związek pomiędzy obecnością apoE4,

a gorszą prognozą po zamkniętym urazie głowy. Stwierdzono również, że wśród pacjentów po przebytych pomostowaniach sercowo-płucnych, u nosicieli $\epsilon 4$ występowały większe pooperacyjne zaburzenia poznawcze (Tardiff i wsp. 1997, Newman i wsp. 1995). Ryzyko wystąpienia zaburzeń poznawczych wzrastało również u nosicieli $\epsilon 4$ po przebytych udarach mózgu (Slooter i wsp. 1997), zaś w eksperymentalnym modelu ogniskowego niedokrwienia u myszy transgenicznym, u myszy z apoE4 obszar zawału był większy niż u zwierząt z apoE3 (Sheng i wsp. 1998).

ZAŁOŻENIE I CEL PRACY

Założenie pracy

Dziedziczenie allelu $\epsilon 4$ apoE jest wiązane z wcześniejszym ujawnieniem się chA. Jeżeli ten sam patogenetyczny proces powodujący wcześniejsze występowanie otępienia jest odpowiedzialny za tempo narastania zmian patofizjologicznych, osoby z chA posiadające genotyp apoE4 powinny charakteryzować się szybszym przebiegiem choroby

Cel pracy

Głównym celem tej pracy jest określenie czy:

1. Obecność allelu $\epsilon 4$ może wpływać na szybsze narastanie zaburzeń poznawczych w chA i czy wpływ ten może być zależny od płci.

Ponadto odpowiedzi na pytania:

2. Czy występowanie objawów klinicznych uważanych za czynniki niekorzystne prognostycznie dla chA związane jest z dziedziczeniem określonego genotypu apoE.

3. Czy stwierdza się zależność pomiędzy obecnością allelu $\epsilon 4$, a wcześniejszym wiekiem zachorowania w chA.

4. Czy występowanie innych czynników mogących wpływać na obniżenie wieku początku chA, ma związek z allelem $\epsilon 4$.

MATERIAŁ I METODY

1. Materiał

Badanie przeprowadzono analizując dane pacjentów Poradni dla Osób z chorobą Alzheimera przy Klinice Neurologicznej AM w Warszawie, przebadanych przeze mnie w latach 1991-1998 i mających w latach 1997-1998 oznaczony genotyp apoE w Zakładzie Neuropatologii CMDiK PAN.

1.1. Kryteria włączające:

Do badania zostali włączeni pacjenci, którzy:

1. Spełniali kliniczne kryteria choroby Alzheimera według DSM IV i ICD 10, i prawdopodobnej choroby Alzheimera według kryteriów NINCDS/ADRDA.
2. Pozostawali przynajmniej w rocznej obserwacji w poradni.

Rozpoznanie stawiane było według międzynarodowego schematu, na podstawie wywiadu, badania przy użyciu skal oceniających nasilenie zespołu otępiennego, badania neuropsychologicznego, badania neurologicznego i badań dodatkowych.

Wywiad zebrany został od najbliższych opiekunów pacjentów i dotyczył: czasu trwania choroby i początku wystąpienia objawów, a także kolejności ich pojawiania się, obecności zaburzeń zachowania (w tym objawów psychotycznych), znanych obciążeń naczyniowych (chorób serca, nadciśnienia tętniczego, cukrzycy, przebytego udaru mózgu), innych chorób występujących aktualnie bądź w przeszłości, między innymi neurologicznych, tarczycy, psychicznych,

przewlekłego alkoholizmu, przebytego urazu głowy z utratą przytomności, jak również obecności otępienia w rodzinie wśród krewnych pierwszego stopnia (rodzice, rodzeństwo) i zespołu Downa.

Ocena głębokości otępienia i stadium jego zawansowania, przeprowadzana była przy użyciu skal MMSE, BCRS i GDS. Skala Hachinskiego stosowana była przy różnicowaniu z otępieniem naczyniopochodnym.

Każdy z pacjentów miał przeprowadzone przez dr psychologii E. Łuczywek badanie neuropsychologiczne. Obejmowało ono ocenę pamięci krótkoterminowej i długoterminowej, uwagi, myślenia abstrakcyjnego, zdolności językowych, gnozji, prakcji i funkcji wykonawczych. W skład wykonywanych zadań wchodziły: zapamiętywanie krótkiej informacji słownej (bezpośrednie i odroczone po 5 minutach odtwarzanie), uczenie się materiału słownego i słuchowego (bezpośrednie odtwarzanie w I i w VIII próbie, odroczone odtwarzanie po 20 minutach), uczenie się dwóch sekwencji ruchowych (tzw. prakcja dynamiczna Lurii), zapamiętywanie układu wzrokowo-przestrzennego (złożona figura Rey'a), test fluencji słownej (wydobycie z pamięci słów w czterech różnych kategoriach, w ciągu jednej minuty każda), działanie werbalne w oparciu o bezpośrednie ślady pamięciowe (odliczanie wspak), działanie ruchowe w oparciu o odtwarzanie ułożenia palców (prakcja pozy) oraz różnych układów obu rąk (prakcja przestrzenna), test Poppellreutera (rozpoznawanie wzrokowe narysowanych przedmiotów w utrudnionych warunkach), skala wiadomości, uwagi i pamięci Blessed'a.

W badaniu neurologicznym oceniano obecność objawów deliberacyjnych, piramidowych, mózdkowych i pozapiramidowych. Brano pod uwagę objawy pozapiramidowe wchodzące w skład zespołu parkinsonowskiego. Określano je jako dodatnie, jeżeli obok innych występował przynajmniej jeden z trzech następujących: spowolnienie ruchowe, wzmożone napięcie mięśniowe o charakterze plastycznym, drżenie spoczynkowe.

Badania dodatkowe obejmowały podstawowe badania biochemiczne wykonywane w rejonowych laboratoriach (morfologia, glukoza, mocznik, kreatynina, elektrolity, transaminazy, USDR, badanie ogólne moczu) oraz hormony tarczycy i poziom vit. B12, badanie EKG, EEG, jak również badanie TK mózgu, wykonywane według metody de Leon (1989) pozwalającej na pośrednią ocenę stopnia zaniku hipokampa.

1.2. Kryteria wyłączające:

Pacjenci nie byli włączani do badania, jeżeli stwierdzano:

1. W wywiadzie

Obecność innych chorób mogących dawać otępienie, np. udar mózgu, padaczka, przewlekły alkoholizm, choroba Parkinsona, choroby psychiczne, niedoczynność tarczycy.

Nagły początek, przebieg inny niż postępujący, występowanie objawów parkinsonowskich wcześniej niż zaburzenia pamięci.

2. W badaniu neurologicznym

Obecność w początkowym okresie choroby zaburzeń chodu, zaburzeń zwieraczowych, napadów padaczkowych, istotne odchylenia w badaniu neurologicznym poza ewentualnie obecnością objawów deliberacyjnych, i pozapiramidowych.

3. W skali Hachińskiego

Uzyskaną sumę punktów powyżej 4.

4. W badaniach dodatkowych

Wyniki znacząco nieprawidłowe. W badaniu TK obecność innych zmian poza zanikowymi. Obecność niemych klinicznie, pojedynczych drobnych ognisk lakunarnych w istocie białej nie stanowiła kryterium wyłączonego.

1.3. Charakterystyka badanej grupy

Do badania włączonych zostało 100 osób odpowiadających określonym powyżej kryteriom (64 kobiety i 36 mężczyzn). Wiek początku choroby wynosił od 44 do 82 lat, średnio 65,7 ($\pm 7,4$), 36 osób zachorowało poniżej 65 roku życia. Czas trwania choroby przy pierwszej wizycie wynosił od 0,5 do 3 lat, średnio 3,3 ($\pm 1,2$), 90 osób chorowało nie dłużej niż 5 lat. Wykształcenie ponadpodstawowe miały 81 osoby, średnie 41, a wyższe 40 osób. Występowanie otępienia wśród krewnych pierwszego stopnia stwierdzane było u 39 osób, a przebyty uraz głowy z utratą przytomności u 15 osób (tab. 1).

Tabela 1. Częstość występowania ocenianych czynników ryzyka w badanej grupie

Czynnik ryzyka	Częstość występowania (%)
płeć kobiety/mężczyźni	64/36
wykształcenie podstawowe/ponadpodstawowe	19/81
występowanie otępienia w rodzinie	39
przebyty uraz głowy	15

Liczba punktów uzyskiwanych wyjściowo w skali MMSE wynosiła od 6 do 29, średnio 17,6 ($\pm 6,9$). Poziom zaawansowania otępienia w skali GDS wynosił od 3 do 6, średnio 4,4 ($\pm 0,9$) [tab. 2].

Tabela 2. Poziom otępienia w badanej grupie oceniany przy pomocy skal MMSE i GDS

Skala	Liczba punktów (wartość średnia)	(zakres)
MMSE	17,6 ($\pm 6,9$)	6 - 29
GDS	4,4 ($\pm 0,9$)	3 - 6

83 osoby miało w skali MMSE powyżej 10, a 42 powyżej 20 punktów. W trzecim stadium według skali GDS było 20 osób, w czwartym - 52, a w piątym - 26 osób.

Objawy psychotyczne występowały u 30 osób, a objawy parkinsonowskie stwierdzano u 22 osób (tab. 3)

Tabela 3. Częstość występowania ocenianych objawów klinicznych w badanej grupie

Objawy	Częstość występowania (%)
parkinsonowskie	22
psychotyczne	30

Rozkład genotypu apoE przedstawiał się następująco:

Genotyp apoE ϵ_4/ϵ_4 dziedziczyło 7 osób, ϵ_4/ϵ_3 - 52 osoby, ϵ_4/ϵ_2 - 3 osoby, ϵ_3/ϵ_3 - 34 osoby i ϵ_3/ϵ_2 - 4 osoby. Częstość występowania allelu ϵ_4 wynosiła 31%.

Ze względu na to, że liczba przebadanych osób wynosiła 100 wszystkie podawane wartości w liczbach bezwzględnych odpowiadają wartościom procentowym

2. Metody

2.1. Ocena postępu choroby

W całej grupie ocena głębokości otępienia i stadium jego zaawansowania przeprowadzana była u wszystkich dwukrotnie: wyjściowo i po 12 miesiącach, a u 51 osób trzykrotnie: wyjściowo, po 12 i po 24 miesiącach. Tempo narastania zaburzeń poznawczych oceniane było na podstawie różnicy w osiągniętych wynikach w skali MMSE i GDS, pomiędzy pierwszą wizytą i wizytą kontrolną po roku lub między pierwszą wizytą a wizytą kontrolną po 2 latach, u tych, którzy mieli dwuletnią obserwację.

.2. Badane parametry

Liczba osób homozygotycznych dla allelu $\epsilon 4$ (7) jak również posiadających allel $\epsilon 2$ (7) była zbyt mała do późniejszej analizy statystycznej. Z tego powodu, na podstawie dziedzicznego genotypu wyodrębniono do oceny prównawczej badanych parametrów jedynie dwie grupy pacjentów: 62 osoby dziedziczące przynajmniej jeden allel $\epsilon 4$ (grupa $\epsilon 4+$) i 38 osób nie posiadających tego allelu (grupa $\epsilon 4-$).

W obydwu grupach porównywano tempo progresji choroby i wiek zachorowania, poziom wykształcenia jak również częstość występowania otępienia w rodzinie i przebytych urazów głowy z utratą przytomności. Porównywane było także występowanie w obu grupach objawów parkinsonowskich i psychotycznych.

Oceniona została też częstość występowania allelu $\epsilon 4$ u kobiet i mężczyzn.

2.3. Ocena genotypu apoE

Oznaczenia form polimorficznych apo E dokonano za pomocą restrykcyjnego genotypowania DNA wyizolowanego z krwi obwodowej (Hixon i wsp.1990). Fragment genu apoE o długości 227 par zasad amplifikowano przy użyciu specyficznych starterów: I – 5' -ACAGAATTCGCCGGCCTGGTAC ACTGCCATGCCA-3', II –5' TCCAAGGAGCTGCAGGCGGCGCA-3'.

W skład mieszaniny reakcyjnej wchodziło: 1 μ g leukocytarnego DNA, 5pmol starterów, 10 mM Tris HCL, 50 mM KCL, 2 mM MgCl₂, 5 mM OINTPs, 1.5 μ Tag Polimeraze (Sigma), 10% diuretyl sulfoxide.

Reakcja PCR była przeprowadzana w następujących warunkach:

1 cykl denaturacji wstępnej 94°C – 5 min, a następnie 5 cykli :

denaturacja 94°C – 30 sekund

przyłączanie 65°C - 30 sekund

polimeryzacja 72°C – 1 min

końcowa polimeryzacja 72°C – 10 min.

Produkt amplifikacji trawiono następnie przy pomocy enzymu HhaI (New England Biolabs) w temperaturze 37°C przez 5 godzin. Produkty trawienia rozdzielano na 10% żelu poliakrylamidowym, uzyskując rozkład fragmentów DNA odpowiedni dla poszczególnych izoform $\epsilon 2$, $\epsilon 3$, $\epsilon 4$.

2.4. Analiza statystyczna

Dla zbadania związku między zmiennymi jakościowymi a dziedziczną isoformą apoE używano testu CHI², natomiast dla parametrów ilościowych używano testu Wilcoxon. Różnice uznawano za istotne statystycznie przy poziomie istotności $p < 0,05$. W celu wyboru spośród proponowanych parametrów tych, mających największy wpływ na postęp choroby (wyrażony różnicą wartości MMSE uzyskanych przy kolejnych wizytach) używano wielowymiarowej krokowej analizy regresji.

WYNIKI

1. Wiek początku choroby

Średni wiek zachorowania nie różnił się istotnie statystycznie pomiędzy obiema badanymi grupami. W grupie $\epsilon 4-$ wynosił 67,53 lat ($\pm 7,8$), w grupie $\epsilon 4+$ - 69,93 lat ($\pm 6,9$), $p > 0,05$ (tab.4).

2. Nasilenie otępienia, czas trwania choroby w czasie pierwszej wizyty

Liczba punktów uzyskiwanych wyjściowo w skali MMSE jak również poziom zaawansowania otępienia w skali GDS był podobny w obydwu grupach. Dla grupy $\epsilon 4-$ średnia wartość w MMSE wynosiła 17,6 ($\pm 6,6$), w GDS 4,4 ($\pm 0,9$), a w grupie $\epsilon 4+$ odpowiednio 17,6 ($\pm 7,2$) i 4,3 ($\pm 0,9$), $p > 0,05$ (tab.4).

Nie różnił się również istotnie statystycznie czas choroby przy pierwszej wizycie wynoszący dla grupy $\epsilon 4-$ 3,1 lat ($\pm 1,8$) i $\epsilon 4+$ 3,4 lat ($\pm 1,9$) [tab.4].

Tabela 4. Wiek zachorowania, czas trwania choroby, nasilenie otępienia w zależności od dziedziczonego genotypu apoE

Badany parametr	$\epsilon 4-$ l=38 (SD)	$\epsilon 4+$ l=62 (SD)	p
wiek zachorowania (średni)	67,5 ($\pm 7,8$)	69,9 ($\pm 6,9$)	>0,05
czas trwania choroby (średni)	3,1 ($\pm 1,8$)	3,4 ($\pm 1,9$)	
MMSE (wartość średnia)	17,6 ($\pm 6,6$)	17,6 ($\pm 7,2$)	
GDS (wartość średnia)	4,4 ($\pm 0,9$)	4,3 ($\pm 0,9$)	

$\epsilon 4-$ grupa osób nie dziedzicząca żadnego allelu $\epsilon 4$

$\epsilon 4+$ grupa osób posiadająca przynajmniej jeden allel $\epsilon 4$

l – liczba osób

3. Występowanie poszczególnych czynników ryzyka w badanych grupach

Płeć

Z spośród 62 osób z grupy $\epsilon 4+$ kobiety stanowiły 62,9 a mężczyźni 37,1%. W 38 osobowej grupie $\epsilon 4-$ było 65,79% kobiet i 34,21% mężczyzn. Różnice te nie były istotne statystycznie $p > 0,05$ (tab.5).

Częstość występowania allelu $\epsilon 4$ była podobna wśród kobiet (31%) i mężczyzn (32%) $p > 0,05$.

Wykształcenie

W grupie $\epsilon 4-$ wykształcenie podstawowe posiadało 23,7% pacjentów, wykształcenie średnie 31,6%, a wyższe 44,7%. W grupie $\epsilon 4+$ osoby z wyższym wykształceniem stanowiły 16,1%, ze średnim 46,8%, a z wyższym 57,5%. Różnice te nie były istotne statystycznie $p > 0,05$ (tab.5).

Uraz głowy z utratą przytomności

W grupie $\epsilon 4-$ uraz głowy w wywiadzie podawało 8 pacjentów (21,1%), podczas gdy w grupie $\epsilon 4+$ 7 osób (11,3%). Różnica ta jednak również nie osiągnęła znamienności statystycznej $p > 0,05$ (tab. 5).

Występowanie otępienia wśród krewnych pierwszego stopnia

Obecność otępienia w rodzinie stwierdzana była z podobną częstością w obu grupach. 31,6% (12 osób) w grupie $\epsilon 4-$ i 43,5% (27 osób) w grupie $\epsilon 4+$ (tab. 5).

Tabela 5. Występowanie poszczególnych czynników ryzyka w zależności od dziedziczonego allelu $\epsilon 4$

Czynnik ryzyka	$\epsilon 4-$ l=38	$\epsilon 4+$ l=62	p
płeć kobiety/mężczyźni (%)	65,8/34,2	62,9/37,1	> 0,05
wykształcenie (%)			
wyższe	44,7	57,5	
średnie	31,6	46,8	
podstawowe	23,7	16,1	
przebyty uraz głowy (%)	21,1	11,3	
obecność otępienia w rodzinie (%)	31,6	43,5	

$\epsilon 4-$ grupa osób nie dziedzicząca żadnego allelu $\epsilon 4$

$\epsilon 4+$ grupa osób posiadająca przynajmniej jeden allel $\epsilon 4$

l – liczba osób

4. Występowanie objawów klinicznych mogących mieć wpływ na przebieg choroby

Objawy psychotyczne

Objawy psychotyczne występowały z podobną częstością w obu grupach.

31,6% (12 osób) w grupie $\epsilon 4 -$ i 29,0% (18 osób) w grupie $\epsilon 4 +$ (tab.6).

Objawy parkinsonowskie

Objawy parkinsonowskie stwierdzone były u 8 pacjentów w grupie $\epsilon 4-$ – co stanowiło 21,5% i u 14 pacjentów (22,6%) w grupie $\epsilon 4+$. Wyniki te nie różniły się istotnie statystycznie $p > 0,05$ (tab.6).

Tabela 6. Występowanie objawów psychotycznych i parkinsonowskich w zależności od dziedziczonych alleli $\epsilon 4$

Objawy	$\epsilon 4-$ l=38	$\epsilon 4+$ l=62	p
parkinsonowskie (%)	21,5	22,6	>0,05
psychotyczne (%)	31,6	29,0	

$\epsilon 4-$ grupa osób nie dziedziczająca żadnego allelu $\epsilon 4$

$\epsilon 4+$ grupa osób posiadająca przynajmniej jeden allel $\epsilon 4$

l – liczba osób

5. Tempo progresji choroby

Różnica punktów uzyskiwanych w skali MMSE w odstępie 12 miesięcy była znamienne wyższa u kobiet nie posiadających allelu $\epsilon 4$ [4,6 ($\pm 2,6$)], w porównaniu do kobiet dziedziczających przynajmniej jeden allel $\epsilon 4$ [2,6 ($\pm 2,6$)] $p = 0,008$. Jeżeli kobiety i mężczyźni rozpatrywani byli razem tendencja była podobna, chociaż bez znamienności statystycznej. W grupie $\epsilon 4-$ wynosiła 3,9 ($\pm 2,8$), a w grupie $\epsilon 4+$ 2,8 ($\pm 2,8$) $p = 0,06$. W skali GDS uzyskane wartości nie różniły się istotnie statystycznie pomiędzy badanymi grupami $p > 0,05$ (tab.7).

Tabela 7. Tempo progresji choroby oceniane przy pomocy skal MMSE i GDS w zależności od dziedziczonego allelu $\epsilon 4$ i po podziale według płci

Użyte skale	Cała grupa		Kobiety		Mężczyźni	
	$\epsilon 4-$ l=38	$\epsilon 4+$ l=62	$\epsilon 4-$ l=25	$\epsilon 4+$ l=39	$\epsilon 4-$ l=13	$\epsilon 4+$ l=23
MMSE 1-2	3,9 ($\pm 2,8$)	2,8 ($\pm 2,8$)	4,6 ($\pm 2,6$)	2,6 * ($\pm 2,6$)	2,6 ($\pm 2,7$)	3,3 ($\pm 3,1$)
GDS 1-2	-0,6 ($\pm 0,4$)	-0,5 ($\pm 0,5$)	-0,6 ($\pm 0,4$)	-0,5 ($\pm 0,5$)	-0,6 ($\pm 0,5$)	-0,5 ($\pm 0,6$)

MMSE 1-2 różnica punktów uzyskanych w skali MMSE wyjściowo i po 12 miesiącach

GDS 1-2 różnica uzyskana w skali GDS wyjściowo i po 12 miesiącach

* $p = 0,008$; l – liczba osób

Natomiast tempo progresji choroby oceniane w odstępie 24 miesięcy przedstawia tabela 8.

Tabela 8. Tempo progresji choroby w zależności od dziedziczonego allelu $\epsilon 4$ i po podziale według płci u pacjentów z dwuletnią obserwacją

Użyte skale	Cała grupa		Kobiety		Mężczyźni	
	$\epsilon 4-$ l=19	$\epsilon 4+$ l=32	$\epsilon 4-$ l=11	$\epsilon 4+$ l=20	$\epsilon 4-$ l=8	$\epsilon 4+$ l=12
MMSE 1-3	8,4 ($\pm 4,9$)	5,4 • ($\pm 4,3$)	8,4 ($\pm 3,9$)	5,0 •• ($\pm 3,9$)	8,4 ($\pm 6,7$)	6 ($\pm 4,9$)
GDS 1-3	-1,2 ($\pm 0,8$)	-0,9 ($\pm 0,7$)	-1,1 ($\pm 0,5$)	-0,8 ($\pm 0,6$)	-1,4 ($\pm 1,0$)	-1,0 ($\pm 0,9$)

MMSE 1-3 różnica punktów uzyskanych w skali MMSE wyjściowo i po 24 miesiącach

GDS 1-3 różnica uzyskana w skali GDS wyjściowo i po 24 miesiącach

• $p = 0,02$; •• $p = 0,01$; l – liczba osób

Wśród 51 osób mających dwuletnią obserwację, stwierdzono istotnie statystyczną różnicę w liczbie punktów uzyskanych w skali MMSE wyjściowo i po 2 latach, pomiędzy grupą $\epsilon 4^-$ i $\epsilon 4^+$ przy ocenie całej grupy: [8,4 ($\pm 4,9$) i 5,4 ($\pm 4,3$) $p = 0,02$] i wśród kobiet: [8,4 ($\pm 3,9$) i 5,0 ($\pm 3,9$) $p = 0,01$]. W skali GDS różnice pozostały nieistotne

Dodatkowo w celu oceny, które z badanych parametrów mogą mieć najwyraźniejszy wpływ na tempo postępu choroby wyrażone różnicą wartości MMSE uzyskanych przy kolejnych wizytach (MMSE1-2), użyto wielowymiarowej krokowej analizy regresji. Wzięto pod uwagę następujące parametry: dziedziczenie allelu $\epsilon 4$, płeć, wykształcenie, wiek zachorowania, czas trwania choroby, liczbę punktów w MMSE uzyskanych przy pierwszej wizycie, występowanie otępienia w rodzinie, przebyty uraz głowy, obecność objawów pozapiramidowych i psychiatrycznych. Okazało się, że brak dziedziczonych allelu $\epsilon 4$ jest jednym z 4 parametrów mających stosunkowo największy wpływ na szybkość progresji choroby, obok obecności objawów parkinsonowskich, czasu choroby i liczby punktów uzyskanych wyjściowo w skali MMSE.

Od uzyskanych parametrów otrzymano równanie zależności liniowej w następującej postaci:

$$\text{MMSE1-2} = 10,01 - 0,92 \times \text{dziedziczenie allelu } \epsilon 4 - 0,12 \times \text{liczba punktów uzyskanych wyjściowo w skali MMSE} - 0,47 \times \text{czas trwania choroby} + 1,35 \times \text{obecność objawów parkinsonowskich.}$$

DYSKUSJA

1. Wpływ dziedzicznego genotypu apolipoproteiny E na tempo progresji choroby

Ze względu na istniejący związek pomiędzy obecnością apoE ϵ 4 a występowaniem chA, głównym celem mojej pracy była ocena, czy tempo progresji choroby również może być zależne od posiadanego genotypu apoE. Uzyskane wyniki sugerują istnienie takiej zależności. Postęp choroby wyrażony jako różnica wartości w skali MMSE uzyskanych przy kolejnych wizytach był wolniejszy u osób dziedziczących allel ϵ 4 niż w grupie pacjentów nie posiadających tego allelu. Co prawda przy ocenie całej grupy badanej dwukrotnie w odstępie 12 miesięcy różnica ta nie osiągnęła znamienności statystycznej, ujawniając się wyraźnie dopiero w grupie osób poddanych 24 miesięcznej obserwacji - ϵ 4+ 5,4 pkt., ϵ 4- 8,4 pkt., $p < 0,05$. Natomiast po podziale całej grupy według płci, okazało się, że wśród kobiet różnica ta stwierdzona była jednoznacznie zarówno po dwunastomiesięcznej (ϵ 4+ 2,6 pkt., ϵ 4- 4,6 pkt., $p < 0,01$) jak i dwudziestoczwieromiesięcznej (ϵ 4+ 5,0 pkt., ϵ 4- 8,4 pkt., $p < 0,02$) obserwacji.

Zastosowanie wielowymiarowej krokowej analizy regresji do oceny potencjalnego wpływu różnych czynników na tempo postępu choroby wykazało,

że stosunkowo największy wpływ może mieć brak dziedzicznego allelu $\epsilon 4$, obok obecności objawów parkinsonowskich, wyjściowego poziomu MMSE i czasu trwania choroby.

1.1. Wpływ dziedzicznego genotypu apolipoproteiny E na tempo progresji w chorobie Alzheimera przy ocenie całej grupy

Zagadnienie szybkości narastania zaburzeń poznawczych u pacjentów z chA z genotypem $\epsilon 4/4$ lub $\epsilon 4/-$ w porównaniu do tempa progresji u chorych z pozostałymi możliwymi genotypami pozostaje nadal nie rozstrzygnięte mimo wielu przeprowadzonych badań. Ich wyniki, bowiem, są bardzo różne, często sprzeczne ze sobą.

Na podstawie proponowanej roli poszczególnych izoform apoE w powstawaniu neuropatologicznych zmian w chA, można przyjąć, że obecność apoE4 sprzyja gromadzeniu się złogów amyloidowych w mózgach chorych. Jak wiadomo, sugerowany mechanizm działania apoE w patogenezie chA zależny od określonej jej izoformy można ująć w kilku punktach. Dla apoE4 obejmują one zarówno szybsze wiązanie β -amyloidu z apoE4 niż z apoE3 (Strimatter i wsp. 1993), jak i aktywny udział apoE4 w tworzeniu włókienkowego nierozpuszczalnego amyloidu i jego agregacji (Sanan i wsp. 1994, Wiśniewski i wsp. 1995). U nosicieli allelu $\epsilon 4$ stwierdzana jest także, w stopniu zależnym od ilości posiadanych alleli, większa gęstość złogów amyloidowych w blaszkach starczych i naczyniach z kongofilną angiopatią w porównaniu do osób w ogóle

nie dziedziczących tego allelu (Rebeck i wsp. 1993, Ohm i wsp. 1994). Natomiast apoE3 ma odgrywać protekcyjną rolę, polegającą na zabezpieczeniu przed tworzeniem zwyrodnienia neurofibrylarnego, poprzez stabilizację wewnątrzkomórkowych mikrotubuli i tym samym ochronę przed ich nadmierną fosforylacją.

Sugerowany jest również, proporcjonalnie wcześniejszy wiek występowania chA, w zależności od ilości posiadanych alleli $\epsilon 4$ (Corder i wsp. 1993). Można, więc także założyć, że obniżenie wieku zachorowania i wcześniejsze ujawnienie się kliniczne choroby u nosicieli allelu $\epsilon 4$ jest wynikiem szybszego gromadzenia się zmian amyloidowych.

Jeżeli więc mechanizm odpowiedzialny za rozwój choroby byłby zgodny z tym, który odpowiada za jej przebieg, należałoby przypuszczać, że zaburzenia poznawcze powinny narastać szybciej u nosicieli allelu $\epsilon 4$. Takie też było założenie mojej pracy.

Potwierdzeniem takiego rozumowania, mogłyby być wyniki badań sprawności poznawczej zdrowych osób w wieku podeszłym, w zależności od obecności allelu $\epsilon 4$. Bondi i wsp. (1995) w badaniu neuropsychologicznym 56 dorosłych bez cech otępienia, stwierdzili gorsze wyniki w testach u nosicieli allelu $\epsilon 4$. Zbliżone rezultaty opublikował Reed i wsp. (1994) u 20 par bliźniaków różniących się obecnością allelu $\epsilon 4$. W obydwu badaniach, ze względu na niewielką liczbę badanych nie były uwzględnione inne możliwe genotypy. Caselli

i wsp. (1999) w ocenianej grupie osób bez cech otępienia sugerował, że zaburzenia pamięci związane z wiekiem pojawiają się wcześniej u homozygot pod względem allelu $\epsilon 4$, w porównaniu do heterozygot i osób nie dziedziczących tego allelu. Feskens i wsp. (1994) z kolei, przebadali grupę kilkuset mężczyzn przy pomocy skali MMSE, uzyskując gorsze wyniki u nosicieli allelu $\epsilon 4$. Od liczby posiadanych alleli $\epsilon 4$ ($\epsilon 4/4 > \epsilon 4/- > \epsilon -/-$), zależał także stopień stwierdzanego pogorszenia w badaniu kontrolnym po trzech latach. Podobne wyniki uzyskała także Yaffe i wsp. (1997), badając z kolei populację około 1500 kobiet, przy pomocy zmodyfikowanej skali MMSE, dwukrotnie w odstępie sześciu lat. W innych prospektywnych badaniach, obejmujących osoby zdrowe, lub z łagodnymi zaburzeniami poznawczymi (będących być może w przedklinicznej fazie choroby), również stwierdzano bardziej nasilone zaburzenia badanych funkcji poznawczych, u nosicieli jednego lub dwu alleli apoE $\epsilon 4$. Także prawdopodobieństwo wystąpienia chA było u nich większe, niż u pozostałych osób (Petersen i wsp. 1995, Tierney i wsp. 1996, Evans i wsp. 1997, Staehlin i wsp. 1999). Podobne wyniki uzyskał też Jonker i wsp. (1998) w swej bardzo interesującej pracy. Poddał on trzyletniej obserwacji trzy grupy pacjentów jednocześnie: zdrowych (MMSE 27 – 30 pkt.), z niewielkimi zaburzeniami (MMSE 22 – 26pkt) i ze stwierdzanym otępieniem według DSM III (MMSE poniżej 22 punktów). Osoby z tych trzech grup podzielone zostały na nosicieli bądź nie allelu apoE $\epsilon 4$. Okazało się, że związek pomiędzy obecnością allelu $\epsilon 4$ a

większym obniżeniem sprawności intelektualnej istnieje jedynie u zdrowych osób. U chorych zaś z otępieniem stwierdzanym już przy pierwszej wizycie, szybkość narastania zaburzeń poznawczych wśród osób dziedziczących allel $\epsilon 4$ i tych nie posiadających tego allelu była podobna.

Jednak w przypadkach dotyczących osób ze stwierdzoną już chA, hipoteza oparta na proponowanym mechanizmie działania apoE w chA, dość nieoczekiwanie znalazła potwierdzenie zaledwie w pojedynczych pracach (Koivisto i wsp. 1995, Edland i wsp. 1995). W pracy Dal Forno i wsp. (1996) stwierdzono wprawdzie znamienne statystycznie szybszą progresję choroby (ocenianą w skali MMSE) w porównaniu do osób nie posiadających allelu $\epsilon 4$, ale dotyczyło to tylko heterozygot ($\epsilon 4/-$). Co więcej, po zastosowaniu wielowymiarowej analizy regresji i wprowadzeniu do modelu posiadania allelu $\epsilon 4$ jako jednej z wielu zmiennych mogących mieć wpływ na przebieg choroby, okazało się, że obecność allelu $\epsilon 4$ nie ma istotnego znaczenia. Craft i wsp. (1998) z kolei, używając do oceny postępu choroby skali DRS (Dementia Rating Scale), stwierdzili w badanej przez siebie grupie najszybszą progresję u nosicieli dwu alleli $\epsilon 4$, w porównaniu do osób dziedziczących inne genotypy. Najwolniejszy przebieg wykazywali chorzy posiadający przynajmniej jeden allel $\epsilon 2$. Natomiast stopień pogarszania się zaburzeń poznawczych u osób mających tylko jeden allel $\epsilon 4$ lub dwa allele $\epsilon 3$ był podobny.

Brak istotnych różnic w szybkości narastania zespołu otępiennego u chorych z chA w zależności od posiadanego genotypu apoE, wykazano w większości publikowanych badań (Basun i wsp. 1995, Gomez-Isla i wsp. 1996, Asada i wsp. 1996, Growdon i wsp. 1996, Kurz i wsp. 1996, Jonker i wsp. 1998). Takie rezultaty uzyskiwano bez względu na to czy pacjenci dzieleni byli tylko na dwie grupy: nosicieli, bądź nie allelu $\epsilon 4$ (Basun i wsp. 1996, Kurz i wsp. 1996, Jonker i wsp. 1998), czy dodatkowo wyodrębniona została grupa homozygot pod względem allelu $\epsilon 4$ (Growdon i wsp. 1996). Na wyniki te nie miał także wpływu rodzaj użytych do oceny otępienia narzędzi psychometrycznych. Część autorów opierała się przy ocenie na przesiewowych skalach takich jak MMSE (Basun i wsp. 1995), CDR (Asada i wsp. 1996), czy skala Blessed (Gomez-Isla i wsp. 1996). Inni, używając do oceny postępu choroby baterii dokładnych testów neuropsychologicznych, również nie stwierdzali istotnych różnic w tempie progresji pomiędzy osobami mającymi allel $\epsilon 4$, a chorymi z innymi genotypami (Kurz i wsp. 1996, Growdon i wsp. 1996).

Natomiast wyniki dwu innych prac są zbliżone do moich. Wykazują także, że obecność izoformy apoE4 u chorych z chA, powoduje wolniejsze narastanie zaburzeń poznawczych w porównaniu do pacjentów, u których stwierdzana była izoforma apoE3. Frisoni i wsp. (1995) oceniali grupę 62 pacjentów z chA o późnym początku (powyżej 70 roku życia), przy pomocy skali MMSE i CDR (Clinical Dementia Rating Scale). Postęp choroby określono, odejmując liczbę

uzyskanych przy badaniu punktów od wartości prawidłowej i dzieląc przez czas trwania choroby. Stwierdzono, że pacjenci nie mający allelu $\epsilon 4$ pogarszali się najszybciej, nieco wolniej ci, którzy posiadali jeden allel $\epsilon 4$, a najwolniej nosiciele dwu alleli $\epsilon 4$. Średni spadek punktów rocznie wynosił odpowiednio w skali MMSE: 4,7, 3,8 i 2,2, a w skali CDR 0,76, 0,67 i 0,42 punktów. Różnice te były znamienne statystycznie. Podobne wyniki uzyskano u 28 pacjentów ocenianych prospektywnie, chociaż w krótkim czasie. Tylko u 14 z nich okres obserwacji wynosił, co najmniej 12 miesięcy. Takie same wyniki uzyskał Stern i wsp. (1997) w grupie pacjentów, w której średni okres obserwacji wynosił cztery lata. Badał związek pomiędzy dwoma rodzajami genotypu apoE (nosicielami bądź nie allelu $\epsilon 4$), a tempem progresji choroby, jak również czasem przeżycia. Oceniał także częstość występowania objawów parkinsonowskich i mioklonii w obydwu grupach, jako wykładników postępu choroby. Wykazał, że u nosicieli przynajmniej jednego allelu $\epsilon 4$, objawy parkinsonowskie występują rzadziej, a mioklonie pojawiają się później. Osoby z tej grupy również chorują wolniej i żyją dłużej niż osoby bez tego allelu. Dłuższy czas przeżycia w chA związany z obecnością allelu $\epsilon 4$ stwierdzany był także w innych pracach, nawet przez tych autorów, którzy nie znaleźli różnic w szybkości narastania zaburzeń poznawczych w zależności od genotypu apoE (Basun i wsp. 1995).

Wyniki dotychczasowych publikacji wskazują wyraźnie, że przyjmowane początkowo przez wszystkich autorów założenie, że w chA u nosicieli allelu $\epsilon 4$

zaburzenia poznawcze powinny narastać szybciej, nie zawsze jest słuszne. Wydaje się, że hipoteza ta ma zastosowanie jedynie w przypadku osób bez stwierdzanego otępienia lub z łagodnymi zaburzeniami pamięci. Nie odnosi się zaś raczej do chorych już zdiagnozowanych klinicznie. W tych przypadkach postęp choroby był z reguły niezależny od genotypu apoE. Te obserwacje stały się podstawą wysunięcia hipotezy (Corder i wsp. 1995), że w chA istnieją dwa różne mechanizmy patofizjologiczne. Proces prowadzący do wystąpienia choroby jest różny od tego, który determinuje jej przebieg kliniczny. Oznacza to, że mechanizm patofizjologicznego działania izoformy E4 apoE, może mieć związek ze skróceniem okresu przedklinicznego chA i tym samym wcześniejszym ujawnieniem objawów klinicznych. Nie wywiera on natomiast istotnego wpływu na szybkość narastania zaburzeń poznawczych od momentu ich wystąpienia. Za hipotezą tą przemawia kilka faktów.

Po pierwsze: obecność allelu $\epsilon 4$ jest związana z bardziej nasilonym odkładaniem się amyloidu w mózgu, co może prowadzić do wcześniejszego ujawniania się chA. Dowodem na to jest bardzo wczesny początek kliniczny chA we wszystkich przypadkach genetycznie uwarunkowanej rodzinnej postaci chA, w których mutacje określonych genów związane są z nadprodukcją β amyloidu, w tym także w zespole Downa. Jednak ilość amyloidu nie zwiększa się proporcjonalnie do czasu trwania choroby, ani nie koreluje ze stopniem otępienia (Hyman i wsp. 1993, Berg i wsp. 1993, Gomez-Isla i wsp. 1996).

Po drugie: zmianą neuropatologiczną uważaną za bardziej powiązaną z nasileniem otępienia jest zwyrodnienie neurofibrylarne (Arriagada i wsp. 1992, Gomez-Isla i wsp. 1996). Z drugiej strony jednak, większość badaczy nie znalazła zależności pomiędzy dziedziczeniem allelu $\epsilon 4$ a liczbą neuronów z cechami zwyrodnienia neurofibrylarnego (Gomez-Isla i wsp. 1996, Landen i wsp. 1996). Ponadto izoforma apoE4 występuje też częściej w schorzeniach, w których zwyrodnienie neurofibrylarne nie jest obecne. Teoria ta może tłumaczyć, więc brak różnic w postępie choroby niezależnie od izoformy E4.

Jednak w mojej pracy podobnie jak w kilku innych (Frisoni i wsp. 1995, Stern i wsp. 1997), zaburzenia poznawcze u nosicieli allelu $\epsilon 4$ narastały wolniej. Mechanizm wyjaśniający, dlaczego miałyby on wywierać działanie protekcyjne jak dotąd pozostaje niejasny. Interesującą hipotezę wysunął Frisoni i wsp. (1995). Według niego, stwierdzane częstsze występowanie allelu $\epsilon 4$ pacjentów z chA jest spowodowane tym, że ci posiadający allel $\epsilon 3$ mają krótszy czas przeżycia. Także Stern i wsp. (1997) na podstawie stwierdzanego szybszego pogarszania sprawności poznawczej, krótszego czasu przeżycia i częściej występujących objawów parkinsonowskich sugerował, że obecność izoformy apoE3 jest związana z bardziej agresywną postacią chA.

Jak sądzę, tłumaczenie tego zjawiska mogłoby być następujące: po pierwsze wiadomo, że poziom progę, przy którym istniejące zmiany neuropatologiczne powodują objawy mogące być wykrywalne w testach jest

niejednaki dla różnych osób. Po drugie wiadomo także, że im mniejszy stopień uszkodzenia mózgu w momencie pojawienia się objawów klinicznych, tym łagodniejszy przebieg choroby (Stern i wsp. 1995). Jeżeli więc założymy, że hipotetyczny pacjent posiadający allel $\epsilon 4$ jest diagnozowany w nieco wcześniejszym okresie pod względem zaawansowania zmian biologicznych, wtedy tempo narastania zaburzeń poznawczych powinno być w jego przypadku wolniejsze.

1.2. Wpływ dziedzicznego genotypu apolipoproteiny E na tempo progresji w chorobie Alzheimera w zależności od płci

Z przedstawionej pracy wynika także druga jak się wydaje bardzo ciekawa obserwacja. Wprawdzie osoby z allelem $\epsilon 4$ pogarszały się wolniej niż te bez tego allelu, ale, podczas gdy w całej grupie różnica ta uwidoczniła się wyraźnie dopiero po dwóch latach, to u kobiet była wyraźna już po roku. Natomiast wśród mężczyzn tempo progresji choroby było podobne niezależnie od znajdującego genotypu apoE. Z drugiej strony, kobiety stanowiły w naszej grupie pacjentów ponad 60%, zarówno wśród nosicieli allelu $\epsilon 4$ jak i wśród osób go nie posiadających. Być może, więc wynik uzyskany w całej grupie w jakimś stopniu wynikał z przewagi liczebnej kobiet.

Częstsze występowanie kobiet w chA jest na ogół akceptowane (Molsa i wsp. 1982, Brayne i wsp. 1994, Yoshitake i wsp. 1995). Badania epidemiologiczne oceniające rozpowszechnienie otępienia i chA prowadzone

zarówno przez Jorma i wsp. (1987), jak i grupę europejską (Hoffman i wsp. 1991), także pokazywały tendencję do częstszego występowania chA wśród kobiet, podczas gdy rozpowszechnienie wszystkich zespołów otępiennych nie różniło się między płciami. Niektóre nowsze badania (Ott i wsp. 1998, Fratiglioni i wsp. 1997, Letenneur i wsp. 1999) wykazały natomiast, że różnice te odnoszą się tylko do populacji powyżej 75-80 roku życia, a w młodszych grupach albo nie występują, albo wręcz mężczyźni chorują częściej. Częstsze stwierdzane występowanie chA wśród kobiet tłumaczone jest tym, że kobiety żyją dłużej. Czy jest to rzeczywiście spowodowane przynajmniej w części, dłuższym przeżyciem, czy jest prawdziwym czynnikiem ryzyka, pozostaje nadal kwestią otwartą. Ze względu na to, że apoE stanowi pewny czynnik ryzyka, rozważano również kwestię wpływu genotypu apoE na ryzyko wystąpienia chA w zależności od płci. Farrer i wsp. (1995) u krewnych pacjentów z chA posiadających allel $\epsilon 4$ stwierdził dwukrotnie większe ryzyko wystąpienia chA u kobiet niż u mężczyzn. Podobne wyniki otrzymał Martinez i wsp. (1998). Poirer i wsp. (1993) wykazał w badanej grupie pacjentów ze sporadyczną chA, istotnie częstsze występowanie allelu $\epsilon 4$ u kobiet. Inne prace, chociaż nie wszystkie (Corder i wsp. 1993, 1995, Nalbantoglu i wsp. 1994, Combarros i wsp. 1998), również sugerowały, że ryzyko rozwoju chA jest większe u kobiet posiadających allel $\epsilon 4$ w porównaniu do mężczyzn (Payami i wsp. 1994, 1996, Duara i wsp. 1996, Gomez-Isla i wsp. 1996, Farrer i wsp. 1997). Breitner i wsp. (1999) stwierdzili, że płć żeńska

stanowi czynnik ryzyka tylko u nosicielek allelu $\epsilon 4$. Hyman i wsp. (1996) z kolei, badając populację osób powyżej 65 roku życia, wykazali silniejszy związek pomiędzy gorszą sprawnością poznawczą, a posiadaniem allelem $\epsilon 4$ u kobiet niż u mężczyzn.

Zakładając więc, że istnieje większa zależność pomiędzy dziedzicznym genotypem apoE, a kobietami niż mężczyznami, a jednocześnie, że wśród nosicieli allelu $\epsilon 4$ zaburzenia poznawcze narastają wolniej, wydaje się logiczne, że proces ten powinien przebiegać w sposób bardziej wyraźny wśród kobiet.

Być może ma tu jakiś wpływ stwierdzany związek pomiędzy chA i poziomem estrogenów. W ostatnich kilku latach, zwrócono bowiem uwagę, że estrogeny mogą poprawiać pamięć i inne funkcje poznawcze u kobiet. Korzystne działanie estrogenów w chA ma polegać na stymulacji neuronów cholinergicznym, poprawie funkcji synaps i wewnątrzneuronalnego metabolizmu glukozy, a także działaniu neuroprotekcijnym (McEwen i wsp. 1997, Ku i wsp. 1998). Jak się uważa, obniżenie poziomu estrogenów w okresie pomenopauzalnym jest związane ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na chA. Stosowana natomiast w tym czasie hormonalna terapia zastępcza stanowić może czynnik protekcyjny, zmniejszając prawdopodobieństwo wystąpienia choroby (Henderson i wsp. 1994, Tang i wsp. 1996, Kawas i wsp. 1997, Waring i wsp. 1999). U pacjentek ze stwierdzoną już chA, przyjmowanie estrogenów w ramach terapii zastępczej, powodowało z kolei wolniejsze narastanie zaburzeń

poznawczych w porównaniu do grupy kontrolnej (Henderson i wsp. 1994, Paganini-Hill i wsp.1994). Może więc u kobiet z izoformą apoE4, przebieg choroby jest łagodzony np. z powodu wyższego poziomu estrogenów?

Nie można niestety porównać wyników mojej pracy z innymi, ponieważ jak do tej pory, ocena wpływu poszczególnych rodzajów genotypu apoE na tempo narastania zaburzeń poznawczych u chorych z chA w zależności od płci, nie była przeprowadzana. Interesujące byłoby stwierdzenie, czy przynajmniej w części z tych prac, w których nie znaleziono żadnych różnic odnośnie całej grupy, uzyskano by podobne rezultaty po podziale według płci. Pewnym potwierdzeniem naszego spostrzeżenia może być jedynie praca Cordera i wsp. (1995). Oceniali oni czas przeżycia u osób z chA i wykazali, że kobiety z chA w ogóle, a zwłaszcza te z genotypem ϵ 3 / 4 żyją dłużej w porównaniu do mężczyzn

1.3. Znaczenie heterogenności choroby Alzheimera przy ocenie wpływu genotypu apolipoproteiny E na jej przebieg

Przy interpretacji wyników trzeba jednak pamiętać, że najprawdopodobniej obecność samego tylko allelu ϵ 4 jest po prostu niewystarczająca do ostatecznego określenia przebiegu choroby. Jak wiadomo, izoforma E4 apoE zwiększa ryzyko zachorowania na chA, ale nie jest czynnikiem wystarczającym do jej wystąpienia. Około 50% nosicieli allelu ϵ 4 nie choruje na chA (Farrer i wsp. 1995), a duża liczba osób homozygotycznych pod jego względem osiąga późny wiek (> 80 roku życia), bez cech otępienia (Hyman i wsp. 1996). To oznacza, że do rozwoju chA

obok apoE potrzebna jest obecność innych czynników. Proponowane są różne inne prawdopodobne genetyczne czynniki ryzyka, takie jak mutacje w obrębie genu dla $\alpha 2$ makroglobuliny, (Myllykangas i wsp. 1999), LRP (Lendon i wsp. 1997), VLRP (Okuizumi i wsp. 1995), $\alpha 1$ antychymotrypsyny (Kamboch i wsp. 1995) czy esterazy butylocholinowej (Lehman i wsp. 1997). Jednak jak dotąd, żadna z tych propozycji nie znalazła ostatecznego potwierdzenia w kolejnych badaniach. Znaczenie z kolei czynników zewnętrznych, potwierdza między innymi badanie homozygotycznych bliźniaków nie chorujących razem na chA, pomimo dziedziczenia izoformy E4 (Breitner i wsp. 1995, Gatz i wsp. 1997). Czynniki te, poza wiekiem nie zostały jeszcze dokładnie określone, pomimo sprawdzania różnych propozycji, takich jak między innymi płeć, wykształcenie, występowanie otępienia w rodzinie, przebyty uraz głowy i wiele innych.

Jest więc bardzo prawdopodobne, że podobnie jak na rozwój choroby, tak i na jej przebieg decydujący wpływ ma dopiero połączone działanie kilku współistniejących ze sobą czynników. Świadczy o tym także wynik przeprowadzonej przeze mnie analizy krokowej regresji. Wynika z niej, że chociaż dziedziczenie allelu $\epsilon 4$ może wywierać pewien wpływ na przebieg chA, to jest jednak tylko jedną z wielu możliwości.

1.4. Przyczyny utrudniające prawidłową interpretację wyników

Niezależnie od uzyskanych wyników trzeba jednak pamiętać, że istnieje, co najmniej kilka powodów sprawiających, że ich prawidłowa interpretacja nie jest łatwa.

1.4.1. Osobnicza zmienność progresji choroby Alzheimerera

Pierwszym poważnym utrudnieniem przy próbie oceny ewentualnego związku pomiędzy określonym genotypem apoE, a tempem narastania zmian po ujawnieniu się już objawów klinicznych, jest brak ciągłości liniowej i osobnicza zmienność progresji chA. Jej przebieg nie jest liniowy, ponieważ pierwsze zmiany neurofibrylarne stwierdzone są już na 40 – 50 lat przed początkiem klinicznym (Ohm i wsp. 1995), a czas trwania objawów chorobowych od początku do śmierci wynosi z reguły około 10 lat. Stąd też przebieg chA nie odpowiada linii prostej, ale raczej paraboli z zaostreniem narastającym od momentu pojawienia się pierwszych objawów klinicznych. Ponadto tempo narastania zaburzeń nie musi być jednoznacznie proporcjonalne do stopnia uszkodzenia, ani też nie jest stałe, co może powodować określone konsekwencje. Ocena spadku sprawności poznawczej mierzonego jako różnica wyników w testach, może być różna, chociaż przeprowadzana będzie w tym samym okresie choroby, a z drugiej strony, istniejące rzeczywiste różnice w tempie narastania zaburzeń poznawczych mogą być niewykrywalne w testach. Dotyczy to

zwłaszcza sytuacji, gdy ocena porównawcza przeprowadzana jest w krótkim okresie czasu.

1.4.2. Rezerwa neuronalna

Po drugie zbliżony, czy nawet taki sam wynik testów, nie oznacza automatycznie takiego samego stopnia zaawansowania procesu chorobowego. Jest to związane z niejednakową u różnych ludzi rezerwą poznawczą (neuronalną) i stanowi następną przyczynę trudności w rzeczywistej ocenie zarówno początku choroby jak i tempa jej postępu.

Na wielkość rezerwy neuronalnej mają wpływ zarówno czynniki genetyczne np.: gęstość synaps, wielkość i waga mózgu, jak i środowiskowe: wiek, wykształcenie, urazy głowy w wywiadzie. Jest to proces niezależny od rodzaju uszkodzenia i poza chA ma miejsce w różnych innych chorobach takich jak AIDS, otępienie naczyniopochodne, czy delirium (Stern i wsp. 1996, Gorelick i wsp. 1993, Reyes-Ortiz i wsp. 1997). Dzięki niemu, każdy ma indywidualny, charakterystyczny dla siebie poziom, którego przekroczenie powoduje, że proces chorobowy toczący się w mózgu zaczyna objawiać się klinicznie. Chorzy z większą rezerwą, mają w rezultacie większe uszkodzenie mózgu w momencie ujawnienia się choroby, podczas gdy u osób z niewielką rezerwą neuronalną objawy chorobowe pojawiają się już wcześniej. Katzman i wsp. (1988) w badaniu autopsyjnym pacjentów w wieku podeszłym, zauważyli, że osoby bez klinicznych cech otępienia, mający mimo to dużą liczbę blaszek starczych, mieli

też większą liczbę neuronów i większą wagę mózgu, w porównaniu z grupą kontrolną. Czyli, mimo neuropatologicznych cech wystarczających do rozpoznania chA, dzięki zwiększonej rezerwie neuronalnej, pozostawali klinicznie bezobjawowi.

Jak z tego wynika, w chA niezależnie od dziedziczonego genotypu apoE, u osobników z wyższą rezerwą neuronalną pierwsze objawy kliniczne pojawią się w późniejszym czasie, przy większym stopniu uszkodzenia, zaburzenia poznawcze narastać będą szybciej, a czas choroby będzie krótszy (Teri i wsp. 1995).

1.4.3. Rodzaj wybranych do oceny genotypów

Przy ocenie wyników może też mieć znaczenie, czy pacjenci dzieleni byli według genotypu tylko na dwie grupy, w zależności od posiadanego allelu $\epsilon 4$, czy też wyodrębniona została osobno grupa homozygot $\epsilon 4/4$ i nosicieli allelu $\epsilon 2$.

W przeciwieństwie do allelu $\epsilon 4$ allel $\epsilon 2$ ma mieć działanie protekcyjne, zmniejszając ryzyko wystąpienia chA (Hyman i wsp. 1996, Corder i wsp. 1995, Roses i wsp. 1997). Uważa się również, że jest on związany z późniejszym wiekiem początku choroby (Corder i wsp. 1994, Talbot i wsp. 1994, Slioter i wsp. 1998). U nosicieli allelu $\epsilon 2$ stwierdzana jest także mniejsza liczba blaszek starczych w badaniu neuropatologicznym (Benjamin i wsp. 1994). Wpływ allelu $\epsilon 2$ na narastanie zaburzeń poznawczych nie jest określony, ze względu na to, że występuje on w populacji bardzo rzadko. Stąd liczba nosicieli tego allelu w

badanych grupach jest zbyt mała by nadawać się do osobnych obliczeń statystycznych. Tak było też i w naszej pracy. Zaledwie u 4 osób stwierdzony został genotyp apoE ϵ 2/3. Jednak, zakładając nawet, że allel ϵ 2 wpływa na wolniejsze narastanie zaburzeń (Craft i wsp. 1998), brak osobnej podgrupy nosicieli allelu ϵ 2 jak się wydaje nie ma znaczenia dla otrzymanych przeze mnie wyników. W tym przypadku, bowiem, i tak cała grupa ϵ 3/3 i ϵ 2/3 pogarszała się szybciej.

Wyodrębnienie grupy ϵ 4/4 może być również istotne, ponieważ jak się uważa, zarówno działanie apoE4 na ryzyko wystąpienia, jak i wiek zachorowania, jest zależne prawdopodobnie od dawki tego allelu (Corder i wsp. 1993, Strittmatter i wsp. 1993). W moim badaniu ta grupa nie została uwzględniona również z powodu zbyt małej liczby osób posiadających ten genotyp (siedem osób). Jednak, jeżeli się weźmie pod uwagę, że zaburzenia poznawcze narastały wolniej w grupie pacjentów nawet z jednym allelem ϵ 4, to wydaje się, że brak osobnej podgrupy homozygot pod względem allelu ϵ 4 nie powinien wpłynąć na ostateczny wynik.

1.4.4. Zasady doboru grupy

Przy ocenie wyników istotne są także zasady doboru badanej grupy takie jak: wiek, wykształcenie i liczba pacjentów, długość czasu obserwacji, stadium otępienia, w jakim znajdują się chorzy zakwalifikowani do badania, oraz rodzaj testów użytych do oceny otępienia.

Wiek

Ocena pacjentów będących w podobnym wieku ma znaczenie, ponieważ jak wiadomo, rozpowszechnienie chA nie jest jednakowe we wszystkich grupach wiekowych. W 1987 roku Jorm i wsp. zanalizowali wyniki 22 badań epidemiologicznych dotyczących rozpowszechnienia otępienia. Okazało się, że częstość występowania otępienia jest podobna w różnych krajach. Określana w pięcioletnich przedziałach czasowych między 60 a 94 rokiem życia, wynosi odpowiednio 0,7, 1,4, 2,8, 5,6, 10,5, 20,8 i 38,6 %. Wskaźnik rozpowszechnienia otępienia podwajał się, co 5,1 lat, a choroby Alzheimera, co 4,5 roku. Podobne wyniki wykazały badania europejskie prowadzone w programie EURODERM w latach 1980 – 1990 (Rocca i wsp. 1991) Inne badania, oceniające rozpowszechnienie otępienia (Ritchie i wsp. 1995), czy samej choroby Alzheimera (Corrada i wsp. 1995), w populacji osób powyżej 60 roku życia, przeprowadzone przy pomocy meta-analizy, również potwierdziły wzrost wskaźnika rozpowszechnienia wraz z wiekiem. Także praca Jorma i wsp. z 1998 roku analizująca wyniki 23 badań oceniających nie rozpowszechnienie, a wskaźnik zapadalności otępienia i choroby Alzheimera, wykazała, że rośnie on wykładniczo wraz z wiekiem, co najmniej do 90 roku życia. Potwierdzenie związku pomiędzy wiekiem a występowaniem choroby Alzheimera uzyskał ostatnio też Launer i wsp. (1999) na podstawie analizy kilku badań europejskich z

programu EURODERM. Wskaźnik zapadalności otępienia wynosił 2,5 w 65 roku życia i 85,9 w wieku 90 lat, a dla choroby Alzheimera odpowiednio 1,2 i 63,5,

W Polsce przeprowadzone były 3 badania epidemiologiczne. W 1988 roku, Wender, badając populację województwa poznańskiego, określił częstość pojawiania się objawów otępiennych na 2,2% w grupie powyżej 45 roku życia i na 6% wśród osób powyżej 65 lat. W 1999 roku Gabryelewicz ocenił rozpowszechnienie otępienia w populacji osób zamieszkałych w dzielnicy Mokotów na: 1,9%, 5,8%, 8,6% i 16,5% w odpowiednich przedziałach wiekowych: 65 – 69 lat, 70 – 74 lata, 75 – 79 lat i 80 – 84 lata. Średnio rozpowszechnienie otępienia powyżej 65 roku życia wynosiło 5,7%. Podobne wyniki uzyskał Rossa (1997) we wcześniejszym badaniu przeprowadzonym na populacji Swiebodzina i okolic.

Wyniki wielu prac wskazują także, że ryzyko zachorowania na chA związane z dziedziczeniem allelu $\epsilon 4$ nie jest stałe i zależy od wieku. Jest największe pomiędzy 60 a 70 rokiem życia, a później wraz z wiekiem się zmniejsza (Rebeck i wsp. 1994, Corder i wsp. 1994, 1995, Maestre i wsp. 1995, Blacker i wsp. 1997, Farrer i wsp. 1997, Slooter i wsp. 1998).

Wykształcenie

Znaczenie wykształcenia badanych pacjentów wynika z omawianej poprzednio zależności pomiędzy nim a wielkością rezerwy neuronalnej. Dlatego istotne różnice w wykształceniu mogą wpływać na uzyskane wyniki. Jednak

badana przeze mnie grupa była jednolita pod tym względem. (Tylko 19% chorych miało wykształcenie podstawowe). Nie było także istotnych różnic w wykształceniu pomiędzy nosicielami allelu $\epsilon 4$, a osobami nie posiadającymi tego allelu. Ponadto wykształcenie może stanowić czynnik ryzyka w chA, chociaż wyniki badań nie są rozstrzygające. Liczne badania wykazały pozytywny związek pomiędzy chA, a niższym wykształceniem u kobiet i mężczyzn (Stern i wsp. 1994, Calahan i wsp. 1996, Letenneur i wsp. 1999), lub tylko u kobiet (Ott i wsp. 1999, Launer i wsp. 1999). Jednak wyniki te mogą nie być miarodajne. Po pierwsze uważa się, że niskie wykształcenie osób w badanych grupach odzwierciedla raczej status socjoekonomiczny niż możliwości intelektualne. Jest to zwłaszcza prawdopodobne w przypadku kobiet, które kilkadziesiąt lat temu raczej zajmowały się domem, niż zdobywały wykształcenie. Po drugie, w niektórych badaniach, wyniki te mogą być zafałszowane przez błędy metodologiczne, dotyczące doboru grupy lub diagnozy. Osoby z wyższym wykształceniem, będące w początkowej fazie choroby, mogą odmawiać udziału w badaniu, a z drugiej strony, osoby z niskim potencjałem intelektualnym, gorzej wypadają w mało czułych, przesiewowych testach i łatwiej może być u nich niesłusznie rozpoznawane otępienie.

Liczba osób

Liczba osób powinna być jak największa. Odpowiada to zasadom statystyki. Im większa liczba pacjentów, tym większa rzetelność uzyskanych

wyników znamiennej statystycznie. Liczebność grup, badanych przez innych autorów, oceniających zagadnienie szybkości narastania zaburzeń poznawczych w zależności od genotypu, wynosiła z reguły poniżej stu badanych. Dlatego stu chorych włączonych do mojego badania wydaje się być liczbą wystarczającą.

Czas obserwacji

Czas obserwacji, ze względu na wspomniany wcześniej brak ciągłości liniowej w przebiegu chA, nie może być za krótki. Zalecenia na temat długości okresu obserwacji potrzebnego do oceny tempa zmian poznawczych prowadzonych w systemie longitudinalnym, zostały sformułowane przez CERAD (Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease- Konsorcjum do Ustalenia Zasad Obowiązujących w Diagnostyce Choroby Alzheimera) [Morris i wsp. 1993]. Według nich, optymalny czas powinien być dłuższy niż jeden rok, ponieważ krótszy może powodować zafałszowanie wyników. W naszej pracy nie był on zbyt długi, (co być może było przyczyną braku różnic między badanymi grupami w ocenie tempa progresji za pomocą skali GDS), 49 osób miało tylko dwunastomiesięczny czas obserwacji, ale 51 osób dwudziestoczwemiesięczny. Tak, więc, średnio wynosił on osiemnaście miesięcy. Nadal jest to dość mało, ale mieści się w przyjętych granicach. Ponadto, co jest bardzo istotne, podstawowy kierunek zmian uchwycony w ciągu pierwszego roku nie zmienił się podczas następnego. Należy także podkreślić, że jest on też zgodny z wynikami pracy

Sterna i wsp. (1997), w której większość pacjentów obserwowana była ponad cztery lata.

Stadium otępienia

Stadium otępienia, w jakim znajdują się zakwalifikowani do badania pacjenci, jest istotne, ponieważ od niego między innymi zależy tempo progresji w chA (CERAD, Miller i wsp. 1993). Im mniejsze wyjściowe zaburzenia funkcji poznawczych, tym wolniejsze narastanie zmian. Ma to odbicie zarówno przy stosowaniu testów neuropsychologicznych, jak i skal przesiewowych, czy oceniających codzienne funkcjonowanie. Na przykład dla skali MMSE roczny spadek punktów przy 25 punktach uzyskanych wyjściowo wynosi około 1, podczas gdy już około 4 przy początkowo uzyskanych 15 punktach. Dlatego porównywani pacjenci powinni być w tej samej fazie zaawansowania choroby, ponieważ przy ocenie dwu odmiennych pod tym względem grup, można uzyskać zafałszowanie wyników. W mojej pracy obydwie porównywane przeze mnie grupy były w jednakowym stadium otępienia, (GDS 4, w MMSE 17 punktów). Średni roczny spadek punktów w skali MMSE wynoszący 3,9 dla chorych $\epsilon 4 -$, jest zgodny z oczekiwanym dla tego poziomu otępienia. Natomiast średnia różnica punktów w skali MMSE wynosząca 2,8 dla grupy $\epsilon 4+$, jest dodatkowym potwierdzeniem wolniejszego przebiegu choroby u posiadaczy tego allelu.

Rodzaj używanych testów

Rodzaj użytych testów do oceny otępienia ma znaczenie, ze względu na różny stopień ich czułości przy wykrywaniu zmian. Jak wiadomo, testy psychometryczne mają swoje ograniczenia. Na przykład, wszystkie są mniej czułe przy bardziej zaawansowanych stadiach choroby. W tych przypadkach, mimo dużego pogorszenia, liczba punktów uzyskana przy wyjściowej ocenie może być zbyt mała, aby ustalić rzeczywiste pogorszenie sprawności poznawczej badanej kontrolnie. Z drugiej strony, w bardzo wczesnej fazie chA, część testów może być zbyt mało czuła, aby wykryć istniejące zaburzenia. Te zastrzeżenia odnoszą się oczywiście także do skali MMSE. W moim badaniu, co prawda najmniejsza liczba punktów w skali MMSE wynosiła 6, jednak 84% pacjentów miało powyżej 10 punktów przy wyjściowej ocenie. Ponadto, u wszystkich włączanych pacjentów zaburzenia poznawcze zostały stwierdzone nie tylko na podstawie skali MMSE i GDS, ale również baterii testów neuropsychologicznych. Natomiast średni stopień zaawansowania klinicznego pacjentów włączonych do tego badania powodował, że ocena progresji choroby przy pomocy skali MMSE wydaje się być wystarczająca.

2. Genotyp apolipoproteiny E a występowanie objawów klinicznych niekorzystnych prognostycznie dla choroby Alzheimera

2.1. Objawy parkinsonowskie

Objawy parkinsonowskie należą do najczęściej opisywanych objawów neurologicznych w chA. Pojawiają się z reguły w bardziej zaawansowanych jej stadiach, chociaż stwierdzone mogą być na każdym etapie chA. W wielu badaniach ich autorzy wykazali, że obecność objawów parkinsonowskich w chA, powoduje zarówno szybsze narastanie zaburzeń poznawczych (Stern i wsp. 1994, Chui i wsp. 1994), pogorszenie codziennego funkcjonowania (Mayeux i wsp. 1985, Stern i wsp. 1994), jak i większe prawdopodobieństwo instytucjonalizacji (Stern i wsp. 1994, Lopez i wsp. 1997), czy krótszy czas przeżycia (Snowden i wsp. 1995, Samson i wsp. 1996). W części prac jednak, wyniki te nie znalazły potwierdzenia, przynajmniej w punkcie dotyczącym tempa narastania zaburzeń poznawczych (Drachman i wsp. 1990, Lopez i wsp. 1997). W związku z tym zaistniały w piśmiennictwie dwie koncepcje. Pierwsza bardziej rozpowszechniona, sugeruje, że obecność objawów parkinsonowskich związana jest z agresywniejszym wariantem chA i stanowi czynnik przyspieszający jej przebieg (Mayeux i wsp. 1985, Chui i wsp. 1985, Clark i wsp. 1997). Według drugiej, pojawienie się objawów parkinsonowskich zależy od stadium zaawansowania chA i jest wskaźnikiem postępu choroby, pojawiającym się w miarę jej rozwoju (Chen i wsp. 1991, Stern i wsp. 1994). Zagadnienie, która z

tych dwu teorii jest słuszna, pozostaje nadal, co prawda nie rozstrzygnięte, ale niezależnie od tego obecność objawów parkinsonowskich pozostaje czynnikiem niekorzystnym prognostycznie.

Można by się więc spodziewać, że będą one występować częściej w tej grupie pacjentów, w której narastanie zaburzeń poznawczych jest szybsze. Taki wynik uzyskał np., Stern i wsp. (1997) w cytowanej wcześniej pracy, oceniając częstość występowania objawów parkinsonowskich w zależności od posiadanego genotypu. Jednak w przeprowadzonym przeze mnie badaniu objawy parkinsonowskie stwierdzane były z podobną częstością zarówno wśród nosicieli allelu $\epsilon 4$, jak i osób nie posiadających tego allelu.

2.2. Objawy psychotyczne

Objawy psychotyczne (obejmujące urojenia, halucynacje, omamy, zespoły błędnego rozpoznawania) opisywane są u 25 –30% pacjentów z chA (Rubin i wsp. 1998). Występują podobnie jak objawy parkinsonowskie, z reguły w późniejszych jej stadiach. Podobnie także jak w przypadku objawów parkinsonowskich, obecność objawów psychotycznych wiązana jest z głębszym uszkodzeniem i szybszym przebiegiem choroby (Rubin i wsp. 1993, Chui i wsp. 1994, Lopez i wsp. 1999). Wśród ocenianych przez mnie pacjentów, objawy psychotyczne stwierdzane były jednak tak samo często, niezależnie od posiadanego genotypu.

Stwierdzony brak różnic w częstości występowania zarówno objawów parkinsonowskich, jak i psychotycznych w zależności od dziedzicznego genotypu oznacza, że przynajmniej w przypadku tego badania, brak dziedzicznego allelu $\epsilon 4$ apoE nie może być wiązany z bardziej agresywną formą chA tak jak sugerował Stern i wsp. (1997).

3. Genotyp apolipoproteiny E a wiek zachorowania w chorobie

Alzheimera

Zagadnienie ewentualnego związku pomiędzy dziedzicznym genotypem apoE, a wiekiem zachorowania w chA, również jest często dyskutowane w piśmiennictwie. Pierwszą pracę na ten temat opublikowali w 1993 roku Corder i wsp. Jej wyniki sugerowały, że wiek początku chA zależy od ilości posiadanych alleli $\epsilon 4$ (84,3 lata dla osób nie dziedziczących allelu $\epsilon 4$, 75,5 lat dla nosicieli jednego allelu $\epsilon 4$ i 64,8 lat dla osób homozygotycznych pod względem allelu $\epsilon 4$). Od tego czasu podobne rezultaty uzyskało wielu innych badaczy (Poirier i wsp. 1993, Tsai i wsp. 1994, Frisoni i wsp. 1995, Gomez-Isla i wsp. 1996, Farrer i wsp. 1997, Craft i wsp. 1998, Slioter i wsp. 1999). Dzięki temu, zapanował dość rozpowszechniony pogląd, że dziedziczenie allelu $\epsilon 4$ związane jest z obniżeniem wieku zachorowania w chA, szczególnie w odniesieniu do osób posiadających dwa te allele. Pogląd ten, jest zgodny z zakładaną rolą izoformy E4 apoE w patogenezie chA, według której prowadzi ona do zwiększonego odkładania się amyloidu w mózgach chorych.

Jednak wiek zachorowania badanych przez mnie pacjentów nie różnił się istotnie w zależności od posiadanego genotypu. Dla nosicieli przynajmniej jednego allelu $\epsilon 4$ średni wiek początku choroby wynosił 69,9 lat, podczas gdy dla osób nie posiadających tego allelu 67,5 lat ($p > 0,05$). Brak różnicy w wieku początku choroby pomiędzy ocenianymi grupami, może wynikać w tym przypadku ze zbyt małej liczby osób posiadających dwa allele $\epsilon 4$. Bowiemy tacy pacjenci, stanowili w moim badaniu tylko siedem procent wszystkich chorych, podczas gdy w grupach ocenianych przez innych autorów, procentowy udział homozygot pod względem allelu $\epsilon 4$ był około dwukrotnie wyższy. Zakładając więc, że wpływ allelu $\epsilon 4$ apoE na wiek zachorowania jest proporcjonalny do jego dawki, można przypuścić, że uzyskany przeze mnie rezultat wynika być może ze znacznie mniejszej reprezentacji genotypu apoE $\epsilon 4/4$. Być może też, zgodnie z wynikami Blackera i wsp. (1997), obniżenie wieku zachorowania wymaga obecności dwu kopii allelu $\epsilon 4$, podczas gdy posiadanie jednego allelu $\epsilon 4$ jest niewystarczające. Poza tym wpływ izoformy E4 apoE na wiek początku choroby nie był potwierdzony we wszystkich badaniach. Brak zależności pomiędzy obecnością allelu $\epsilon 4$ a wcześniejszym początkiem choroby stwierdzony został również, w co najmniej kilku innych pracach (Dal Forno i wsp. 1996, Growdon i wsp. 1996, Kurz i wsp. 1996, Combarros i wsp. 1999). Także Corder w swojej późniejszej o dwa lata pracy (Corder i wsp. 1995) zaobserwował zaledwie

tendencję do wcześniejszego występowania chA, ale bez znamienności statystycznej i tylko u homozygot pod względem allelu $\epsilon 4$.

Prawdopodobnie, więc wiek wystąpienia objawów klinicznych, podobnie jak rozwój choroby i jej przebieg (jak to było omówione już wcześniej), zależy tylko w pewnym stopniu od obecności allelu $\epsilon 4$, a decydujący wpływ ma dopiero połączone działanie innych, jeszcze nieokreślonych czynników, zarówno genetycznych jak i środowiskowych. Potwierdzeniem tej teorii mogą być wyniki uzyskane przez Sliemers i wsp. (1998). Na ich podstawie ocenili oni, że różnice w genotypie apoE tłumaczą zaledwie w 4% różnice w wieku zachorowania w chA.

4. Występowanie czynników środowiskowych mogących obniżyć wiek początku choroby Alzheimera, w zależności od dziedziczonego allelu $\epsilon 4$

Do proponowanych czynników mogących modyfikować wpływ apoE4 na wiek początku chA, należy przebyty uraz głowy w wywiadzie, oraz otępienie rozpoznawane wśród krewnych pierwszego stopnia. Stanowią one czynniki ryzyka dla chA, a ponadto wykazywany jest także w niektórych pracach ich związek z obecnością allelu $\epsilon 4$.

4.1. Przebyty uraz głowy z utratą przytomności w wywiadzie –

Wiadomo od dawna, że w rozwijającym się u bokserów zespole otępiennym (tzw. dementia pugilistica), stwierdzane są podobne do występujących w chA zmiany neuropatologiczne (Rudelli i wsp. 1972). Ten fakt,

zwrócił uwagę badaczy, na możliwy związek pomiędzy przebytym urazem głowy, a występowaniem chA. Obecność urazu głowy w wywiadzie należy do jednych z najczęściej rozważanych hipotetycznych czynników ryzyka dla chA, choć też i najbardziej kontrowersyjnych. W piśmiennictwie publikowano wyniki świadczące o znamienym statystycznie częstszym jego występowaniu u pacjentów w porównaniu z grupami kontrolnymi (Heyman, i wsp. 1984, Mayeux i wsp. 1993, Mortimer i wsp. 1991, Graves i wsp. 1990), bądź nie stwierdzano żadnej różnicy, lub uraz głowy występował częściej, ale różnice te nie były znamienne statystycznie (Chandra i wsp. 1989, Shalat i wsp. 1987, Paschalis i wsp. 1990, Broe i wsp. 1990, van Dujin i wsp. 1992, Nemetz i wsp. 1999, Launer i wsp. 1999).

Jak wykazało kilku autorów przebyty uraz głowy może także wpływać na szybsze ujawnienie się chA (Nemetz i wsp. 1999, Sullivan i wsp. 1987, Gedye i wsp. 1989). Z drugiej strony, zaobserwowano zależność pomiędzy obecnością allelu $\epsilon 4$, a gorszą prognozą po zamkniętym urazie głowy (Teasdale i wsp. 1997, Friedman i wsp. 1999), a co ważniejsze, Mayeux i wsp. (1995), stwierdzili w swojej pracy 10-krotnie większe prawdopodobieństwo zachorowania na chA u nosicieli allelu $\epsilon 4$ po przebytych urazach głowy, w porównaniu do pacjentów dziedziczących inne genotypy apoE. Na tej podstawie, została wysunięta możliwość, ewentualnego modyfikowania przez przebyty uraz głowy wpływu allelu $\epsilon 4$ na wiek zachorowania na chA. Jednak w moim badaniu, obecność

przebytego urazu głowy w wywiadzie stwierdzana była tak samo często w grupie pacjentów z allelem $\epsilon 4$, jak i bez tego allelu. Nie mogę więc potwierdzić synergistycznego działania obu tych czynników ryzyka na wiek zachorowania na chA.

4.2. Obecność otępienia wśród krewnych pierwszego stopnia (rodzice, rodzeństwo)

Jest ogólnie przyjętym czynnikiem ryzyka w chA. Częstsze występowanie otępienia wśród krewnych osób z chA w porównaniu z grupą kontrolną, bez względu na wiek początku choroby, zostało stwierdzone w licznych pracach (Breitner i wsp. 1988, Van Duijn i wsp. 1991, Amaduci i wsp. 1986, Broe i wsp. 1990, The Canadian Study of Health and Aging. 1994). Uważa się, że obecność otępienia w rodzinie zwiększa 2 –4 krotnie ryzyko wystąpienia choroby, w porównaniu do osób bez rodzinnego wywiadu i że ryzyko to nasila się wraz z liczbą chorujących krewnych (The Canadian Study of Health and Aging. 1994, Broe i wsp. 1990). Związek pomiędzy stwierdzanym otępieniem w rodzinie a częstszym występowaniem choroby Alzheimera, choć bez znamienności statystycznej, wykazał też ostatnio, na bardzo dużej grupie badanych osób Launer i wsp. (1999).

Omawiając związek pomiędzy dodatnim wywiadem rodzinnym a chA, trzeba oczywiście pamiętać, że rozpoznany zespół otępienny wśród krewnych, może być spowodowany inną chorobą niż chA, lub w ogóle innymi przyczynami,

np. wpływem tych samych czynników środowiskowych. Poza tym, zawsze istnieje możliwość błędu, wynikająca z niedoskonałości zbieranego wywiadu. Opiekunowie pacjentów z chA mogą mieć często znacznie większą wiedzę na temat obecności otępienia w rodzinie, niż osoby, które do tej pory nie stykały się z tym zagadnieniem. Jednak najprawdopodobniej, zwiększone ryzyko zachorowania na chA u osób z dodatnim wywiadem rodzinnym, jest wykładnikiem predyspozycji genetycznej, jaka niewątpliwie istnieje w chA. Potwierdzeniem tej hipotezy są wyniki prac oceniających związek pomiędzy obecnością otępienia w rodzinie, a izoformą E4 apoE. Wykazywane jest zarówno częstsze występowanie otępienia u krewnych nosicieli allelu $\epsilon 4$ (Jarvik i wsp. 1996, Duara i wsp. 1996), jak i większe prawdopodobieństwo występowania tego allelu u pacjentów z chA i dodatnim wywiadem rodzinnym (Zubenko i wsp. 1994, van Duijn i wsp. 1994).

Podobnie jak obecność izoformy E4 apoE, występowanie otępienia wśród krewnych pierwszego stopnia wiązana była przez niektórych badaczy również z wcześniejszym początkiem chA (Heston i wsp. 1981, Duara i wsp. 1993). Jednak w moim badaniu jak i w pracy Duara i wsp. (1996) nie potwierdzona została możliwość współdziałania obu tych czynników na wiek początku chA.

WNIOSKI

1. W badanej grupie pacjentów obecność allelu $\epsilon 4$ nie wpływała na szybsze narastanie zaburzeń poznawczych w chA, a nawet, zwłaszcza u kobiet była związana z wolniejszą progresją choroby
2. Występowanie niekorzystnych prognostycznie objawów parkinsonowskich i objawów psychiatrycznych nie było związane z dziedziczeniem określonego genotypu apoE
3. Nie została potwierdzona zależność pomiędzy obecnością allelu $\epsilon 4$, a wcześniejszym wiekiem zachorowania na chA wśród badanych chorych.
4. Nie stwierdzono związku pomiędzy występowaniem otępienia wśród krewnych pierwszego stopnia i przebytego urazu głowy z utratą przytomności w wywiadzie (czynników mogących wpływać na wcześniejsze pojawienie się objawów klinicznych chA), a dziedziczeniem allelu $\epsilon 4$.

PIŚMIENNICTWO

1. Alberts MJ, Draffagnino C, McClenny C, i wsp. ApoE genotype and survival from intracerebral hemorrhage. *Lancet* 1995,346,575
2. Amaducci LA, Fratiglioni L, Rocca WA, i wsp. Risk factors for clinically diagnosed Alzheimer`s disease: A case-control study of an Italian population. *Neurology* 1986,36,922-931
3. American Psychiatric Association, Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, wyd. 4, Washington 1994
4. Arriagda PV, Growdon JH, Hedley-Whyte ET, Hyman BT. Neurofibrillary tangles but not senile plaques parallel duration and severity of Alzheimer`s disease. *Neurology* 1992,42,631-639
5. Asada T, Kariya T, Yamagata Z, Kinoshita T, Asaka A. ApoE ϵ 4 allele and cognitive decline in patients with Alzheimer`s disease. *Neurology* 1996,47,603
6. Bartus R, Dean R, Beer B, Lippa A. The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science* 1982,217,408-417
7. Basun H, Grut M, Winblad B, Lannfeld L. Apolipoprotein ϵ 4 allele and disease progression in patients with late-onset Alzheimer`s disease. *Neuroscience Letters* 1995,183,32-34

8. Becker JT, Boller F, Lopez OL, Saxton J, McGonigle KL. The natural history of Alzheimer's disease. Description of study cohort and accuracy of diagnosis. *Arch Neurol* 1994,51,585-594
9. Bellosta S, Nathan BP, Orth M, Dong LM, Mahley W, Pitas RE. Stable expression and secretion of apolipoprotein E3 and E4 in mouse neuroblastoma cells produces differential effects on neurite outgrowth. *J Biol Chem* 1995,70,27063-27071
10. Benjamin R, Leake A, McArthur FK, i wsp. Protective effect of apoE ϵ 2 in Alzheimer's disease. [letter] *Lancet* 1994,344,473
11. Berg L, McKeel DW, Miller JP, i wsp. Neuropathological indexes of Alzheimer's disease in demented and nondemented persons aged 80 and older. *Arch Neurol* 1993,50,349-358
12. Berger AK, Fratiglioni L, Forsell Y, i wsp. The occurrence of depressive symptoms in the preclinical phase of AD. A population -based study. *Neurology* 1999,53,1998-2002
13. Berr C, Hauw JJ, Delaere P, Duyckaerts C, Amouyel P. Apolipoprotein E allele epsilon-4 is linked to increased deposition of amyloid beta-peptide (A-beta) in cases with or without Alzheimer's disease. *Neurosci. Lett.* 1994,178,221-224
14. Beyreuther K, Masters CL. Amyloid precursor protein (APP) and β A4 amyloid in the etiology of Alzheimer's disease: precursor-product

- relationships in the derangement of neuronal function. *Brain Pathol* 1991,1,241-251
15. Blacker D, Haines JL, Rodes L, i wsp. ApoE-4 and age at onset of Alzheimer's disease: The NIMH Genetics Initiative. *Neurology* 1997,48,139-147
16. Bleecker ML, Bolla-Wilson K, Karvas C, Agnew J. Age specific norms for Mini Mental State Examination. 1988,38,1565-1568
17. Bondi MW, Salmon DP, Monsch AU, i wsp. Episodic memory changes are associated with the apoE ϵ 4 allele in nondemented older adults. *Neurology* 1995,45,2203-2206
18. Borson S, Raskind MA. Clinical features and pharmacological treatment of behavioral symptoms of Alzheimer's disease. *Neurology* 1997,48(Suppl 6),S17-S24
19. Bowen DM, Smith CB, White P, Davison AN. Neurotransmitter-related enzymes and indices of hypoxia in senile dementia and other abiotrophies. *Brain*, 197,99,459-496
20. Boyles JK, Zoellner CD, Anderson LJ, i wsp. A role for apolipoprotein E, apolipoprotein A-1, and low-density lipoprotein receptors in cholesterol transport during regeneration and remyelination of the rat sciatic nerve. *J Clin Invest* 1989,83,1015-1031

21. Brayne C, Gill C, Huppert FA, i wsp. Incidence of clinically diagnosed subtypes of dementia in an elderly population. Cambridge project for later life. *Br J psychiatry* 1995,167,255-262
22. Breitner JCS, Silverman JM, Mohs RC, Davis KL. Familial aggregation in Alzheimer's disease: comparison of risk among relatives of early and late onset cases, and among male and female relatives in successive generations. *Neurology* 1988,38,27-212
23. Breitner JCS, Welsh KA, Gau BA, i wsp. Alzheimer's disease in the National Academy of Sciences-National Research Council Registry of aging twin veterans. III Detection of cases, longitudinal results, and observations on twin concordance. *Arch Neurol* 1995,52,763-771
24. Breitner JCS, Wyse BW, Anthony JC, i wsp. APOE – ϵ 4 count predicts age when prevalence of AD increases, then declines. The Cache County Study. *Neurology* 1999,53,321-331
25. Broe GA, Hendrson AS, Creasey H, i wsp. A case-control study of Alzheimer's disease in Australia. *Neurology* 1990,40,1698-1707
26. Cai D, Golde TE, Younkin GS. Release of excess amyloid beta protein from a mutant amyloid beta protein precursor. *Science* 1993,259,514-516
27. Calahan CM, Hall KS, Hui SL, i wsp. Relationship of age education and occupation with dementia among a community-based sample of African Americans. *Arch Neurol* 1996,53,134-140

28. Caselli RJ, Graff-Radford NR, Reman EM i wsp. Preclinical memory decline in cognitively normal apolipoprotein E ϵ 4 homozygotes. *Neurology* 1999,53,201-207
29. Chen J, Stern Y, Sano M, Mayeux R. Cumulative risks of developing EPS, psychosis, or myoclonus in the course of Alzheimer's disease. *Arch Neurol* 1991,48,1141-1143
30. Chui HC, Lyness SA, Sobel E, Schneider LS. Extrapyrarnidal signs and psychiatric symptoms predict faster cognitive decline in Alzheimer's disease. *Arch Neurol* 1994,51,676-681
31. Chui HC, Teng EL, Henderson VW, Moy AC. Clinical subtypes of dementia of the Alzheimer type. *Neurology* 1985,35,1544 -1550
32. Citron M, Oltrsdorf T, Haass C i wsp. Mutation of the β -amyloid precursor protein in familial Alzheimer's disease increases β -protein production. *Nature* 1992,360,672-674
33. Clark CM, Ewbank D, Lerner A, i wsp. The relationship between extrapyramidal signs and cognitive performance in patients with Alzheimer's disease enrolled in the CERAD study. *Neurology* 1997,49,70-75
34. Cohen D, Eisdorfer C, Gorelick P, i wsp. Psychopathology associated with Alzheimer's disease and related disorders. *J Gerontol* 1993,48,M255-M260

35. Combarros O, Leno C, Oterino A, i wsp. Gender effect on apolipoprotein E ϵ 4 allele-associated risk for sporadic Alzheimer's disease. *Acta Neurol Scand* 1998,97,68-71
36. Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, i wsp. The apolipoprotein E E4 allele and sex-specific risk of Alzheimer's disease. *JAMA* 1995,273,373-374
37. Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, i wsp. Apolipoprotein E survival in Alzheimer's disease patients, and the competing risks of death and Alzheimer's disease. *Neurology* 1995,45,1323-1328
38. Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, i wsp. Gene dose of apolipoprotein type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science* 1993,261,921-3
39. Corder EH, Saunders WJ, Risch NJ i wsp. Protective effect of apolipoprotein E type 2 allele for late onset Alzheimer's disease. *Nat Genet* 1994,7,180-184
40. Corey-Bloom J, Thal LJ, Galasko D, Folstein M i wsp. Diagnosis and evaluation of dementia. *Neurology* 1995,45,211-218
41. Corrada M, Brookmeyer R, Kawas C. Sources of variability in prevalence rates of Alzheimer's disease. *Int J Epidemiol* 1995,24,1000-1005
42. Craft S, Teri L, Edland SD, i wsp. Accelerated decline in apolipoprotein E ϵ 4 homozygotes with Alzheimer's disease. *Neurology* 1998,51,149-153

43. Cummings JL. Mini-mental State Examination. Norms, normals, and numbers. *JAMA* 1993,269,2420-2421
44. Dal Forno G, Rasmusson X, Brandt J, i wsp. Apolipoprotein E genotype and rate of decline in probable Alzheimer's disease. *Arch Neurol.* 1996,53,345-350
45. Davies P, Maloney AJF. Selective loss of central cholinergic neurons in Alzheimer's disease. *Lancet*, 1976,2,1403
46. De Leon MJ, George AE, Stylopoulos LA, Smith G, Miller DC. Early marker for Alzheimer's disease: the atrophic hippocampus. *Lancet* 1989,11,672-673
47. De Silva HAR, Patel AJ. Presenilis and early-onset familial Alzheimer's disease. *NeuroReport* 1997,8,8
48. Deutsch LH, Bylsma FW, Rovner BW, Steele C, Folstein MF. Psychosis and physical aggression in probable Alzheimer's disease. *Am. J. Psychiatry* 1991,148,1159-1163
49. Drachman DA, O'Donnell BF, Lew RA, Swearer JM. The prognosis of Alzheimer's disease: how far rather than how fast best predicts the course. *Arch Neurol* 1990,47,851-856
50. Duara R, Barker WW, Lopez-Alberola R i wsp. Alzheimer's disease: Interaction of apolipoprotein E genotype, family history of dementia, gender, education, ethnicity, and age of onset. *Neurology* 1996,46,1575-1579

51. Duara R, Lopez-Alberola RF, Barker WW, i wsp. A comparison of familial and sporadic Alzheimer's disease. *Neurology* 1993,43,1377-1384
52. Edland SD, Kukull WA, Schellenbegr GD. Apolipoprotein E and rate of cognitive decline in Alzheimer's disease. *Neurology* 1995,45,A213-214
Abstract 192S
53. Evans DE, Beckett LA, Field TS, i wsp. Apolipoprotein E ϵ 4 and incidence of Alzheimer's disease in a community population of older persons. *JAMA* 1997,277,822-824
54. Farrer LA, Cupples LA, Haines JL, i wsp. Effects of age sex and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer's disease: a meta – analysis. *JAMA* 1997,278,1349-1356
55. Farrer LA, Cupples LA, van Duijn CM, i wsp. Apolipoprotein E genotype in patients with Alzheimer's disease: implications for the risk of dementia among relatives. *Ann Neurol* 1995,38,797-808
56. Feskens EJM, Havekes LM, Kalmijn S, LaunerLJ, Kromhout D. Apolipoprotein E ϵ 4 allele and cognitive decline in elderly men. *BMJ*,1994,309,1202-1206
57. Folstein MF, Folstein SE, McHugh P. Mini-mental State: a practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J. Psychiatr. Res.* 1975,12,189-198

58. Forstl H, Besthorn C, Geiger-Kabisch C, i wsp. Psychotic features and the course of Alzheimer's disease: relationship to cognitive electroencephalographic and computerized tomography findings. *Acta Psychiatr. Scand.* 1993,87,395-399
59. Frattiglioni L, Viitanen M, von Strauss E, i wsp. Very old women at highest risk of dementia and Alzheimer's disease: incidence data from the Kungsholmen Project, Stockholm. *Neurology* 1997,48,132-138
60. Friedman G, Fromm P, Sazbon L i wsp. Apolipoprotein E- ϵ 4 genotype predicts a poor outcome in survivors of traumatic brain injury. *Neurology* 1999,52,244-248
61. Frisoni GB, Govoni S, Geroldi C. Gene dose of the ϵ 4 allele of apolipoprotein E and disease progression in sporadic late onset Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 1995,37,596-604
62. Gabryelewicz T. Rozpowszechnienie zespołów otępiennych wśród mieszkańców warszawskiej dzielnicy Mokotów w wieku 65 –84 lat. *Psychiatria Polska* 1999,3,353-366
63. Gatz M, Pedersen NL, Berg S, i wsp. Heritability for Alzheimer's disease: the study of dementia of Swedish twins. *J Gerontol* 1997,52A,M1117-M125
64. Gearing M, Mirra SS, Hedreen JC, Sumi SM, Hansen LA, Heyman A. The Consortium to establish a registry for Alzheimer's disease (CERAD) Part X.

72. Neuropathology confirmation of the clinical diagnosis of Alzheimer's disease. *Neurology* 1995,45,461-466
65. Gedye A, Beattie BL, Tuokko H, i wsp. Severe head injury hastens age of onset of Alzheimer's disease. *J AM Geriatr Soc* 1989,37,970-973
66. Glenner GG, Wong CW. Alzheimer's disease: initial report of purification and characterisation of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochem Biophys Res Commun* 1984,120,885-890
67. Goate A, Chartier-Harlin MC, Mullan M i wsp. Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature* 1991,349,704-706
68. Goedert M. Tau protein and the neurofibrillary pathology of Alzheimer's disease. *Trends Neurosci* 1993,16,460-465
69. Goerlick PB, Brody J, Cohen D i wsp. Risk factors for dementia associated with multiple cerebral infarcts: a case control analysis in predominantly African-American hospital-based patients. *Arch Neurol* 1993,50,714-720
70. Goldgaber D, Lerman MI, McBride OW, i wsp. Characterization and chromosomal localization of cDNA encoding brain amyloid of Alzheimer's disease. *Science* 1987,235,877-880
71. Gomez-Isla T, West HL, Rebeck GW, Harr SD i wsp. Clinical and pathological correlates of apolipoprotein E ϵ 4 in Alzheimer's disease. *Ann Neurol*. 1996,39,62-70

72. Graves AB, White E, Koepsell TD, i wsp. The association between head trauma and Alzheimer's disease. *Am J Epidemiol* 1990,131,491-501
73. Growdon JH, Locascio JJ, Corkin S, Gomez-Isla T, Hyman BT. Apolipoprotein E genotype does not influence rates of cognitive decline in Alzheimer's disease. *Neurology* 1996,47,444-448
74. Grundke-Iqbal I, Iqbal K, Tung YC, i wsp. Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein τ (tau) in Alzheimer cytoskeletal pathology. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986,83,4913-4917
75. Haass C, Hung AY, Selkoe DJ, Teplow DB. Mutations associated with a locus for familial Alzheimer's disease result in alternative processing of amyloid beta-protein precursor. *J Biol Chem* 1994,269,1741-1748
76. Hachinski VC, Iliff LD, Zihlka E, i wsp. Cerebral blood flow in dementia. *Arch Neurol* 1975,32,632-637
77. Hamilton M. A rating scale for depression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1960,23,56-62
78. Han SH, Einstein G, Weisgraber KH i wsp. Apolipoprotein E is localized to the cytoplasm of human cortical neurons: a light and electron microscopic study. *J Neuropathol Exp Neurol* 1994b,53,535-544
79. Hansen LA De Teresa R, Davies P, Terry RD. Neocortical morphometry, lesion counts, and choline acetyltransferase levels in the age spectrum of Alzheimer's disease. *Neurology* 1988,38,48-54

80. Henderson V, Paganini-Hill A, Emanuel CK, i wsp. Estrogen replacement therapy in older women. Comparison between Alzheimer's disease cases and nondemented control subjects. *Arch Neurol*. 1994,51,896-900
81. Heston LI, Mastri AR, Anderson E, White J. Dementia of the Alzheimer type: Clinical, genetics, natural history, and associated conditions. *Arch Gen Psychiatry* 1981,31,1085-1090
82. Heyman A, Wilkinson WE, Stadford JA, i wsp. Alzheimer's disease: a study of epidemiological aspects. *Ann Neurol* 1984,15,335-341
83. Hixon JE and Vernier DT. Restriction isotyping of human apolipoprotein E by gene amplification and cleavage with HhaI *J Lipid Res* 1990,31,545-548
84. Hixson JE. Apolipoprotein E polymorphisms affect atherosclerosis in young males. *Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth (PDAY) Research Group. Arterioscler Thromb* 1991,11,1237-1244
85. Hofman A, Ott A, Breteler MB, i wsp. Atherosclerosis, apolipoprotein E, and prevalence of dementia and Alzheimer's disease in the Rotterdam Study. *Lancet* 1997,349,1510-1514
86. Horsburgh K, Fitzpatrick M, Nilsen M, Nicoll JAR. Marked alterations in the cellular localization and levels of apolipoprotein E following acute subdural hematoma in rat. *Brain Res* 1997,763,103-110
87. Hutton M, Hardy J. The presenilis and Alzheimer's disease. *Human Molecular Genetics* 1997,6,1639-1646

88. Hyman BT, Gomez-Isla T, Briggs M, i wsp. Apolipoprotein E and cognitive change in an elderly population. *Ann Neurol* 1996,40,55-66
89. Hyman BT, Marzloff K, Arriagda PV. The lack of accumulation of senile plaques or amyloid burden in Alzheimer's disease suggest a dynamic balance between amyloid deposition and resolution. *J Neuropathol Exp Neurol* 1993,52,594-00
90. Ignatus MJ, Gebick-Harter PJ, Skene JH, Schilling JW, i wsp. Expression of apolipoproteinE during nerve degeneration and regeneration. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1986,83,1125-1129
91. Ignatus MJ, Shooter EM, Pitas RE, Mahley RW. Lipoprotein uptake by neuronal growth cones in vitro. *Science* 1987,236,959-962
92. Jack CR, Petersen RC, Xu Y, i wsp. Rate of medial temporal lobe atrophy in typical aging and Alzheimer's disease. *Neurology* 1998,51,993-999
93. Jarvik GP, Larson EB, Godard K, i wsp. Influence of apolipoprotein E genotype on the transmission of Alzheimer's disease in a community-based sample. *Am J Hum Genet* 1996,58,191-200
94. Jonker C, Schmand B, Lindeboom J, i wsp. Association between apolipoprotein E ϵ 4 and the rate of cognitive decline in community-dwelling elderly individuals with and without dementia. *Arch Neurol*. 1998,55,1065-169.

95. Jorm AF and Jolley D. The incidence of dementia. A meta-analysis. *Neurology* 1998,51,728-733
96. Jorm AF, Korten AE, Henderson AS. The prevalence of dementia: a quantitative integration of the literature. *Acta Psychiatr Scand* 1987,76,465-479
97. Kamboch M, Sanghera DK, Ferrer RE, De Kosky ST. APOE4-associated Alzheimer's disease risk is modified by α 1-antichymotrypsin polymorphism. *Nat Genet* 1995,10,486-488
98. Kang J, Lemaire HG, Unterbeck A i wsp. The precursor of Alzheimer's disease amyloid β A4 protein resembles a cell -surface receptor. *Nature* 1987,325,733-736
99. Katzman R, Terry R, De Teresa R, i wsp. Clinical, pathological, and neurochemical changes in dementia: a subgroup with preserved mental status and numerous neocortical plaques. *Ann Neurol* 1988,23,138-144
100. Kawas C, Resnick S, Morrison A, i wsp. A prospective study of estrogen replacement therapy and the risk of developing Alzheimer's disease: the Baltimore longitudinal study of aging. *Neurology* 1997,48,1517-1521
101. Kida E, Pluta R, Lossinsky AS, i wsp. Complete cerebral ischemia with short term survival in rat induced by cardiac arrest: extracellular and intracellular accumulation of apolipoprotein E and J in brain. *Brain Res* 1995,674,341-346

102. Koivisto K, Helkala EL, Haninen T, i wsp. The effect of apolipoprotein $\epsilon 4$ allele on clinical progression of Alzheimer's disease. *Neurology*, 1995,45,A373. Abstract 766S
103. Kowal RC, Herz KH, Weisgraber RW, i wsp. Opposing effects of apolipoprotein E and C on lipoprotein binding to low density lipoprotein receptor-related protein. *J Biol Chem* 1990,265,10771-10779
104. Ku H, Gouras GK, Greenfield JP, i wsp. Estrogen reduces neuronal generation of Alzheimer's beta-amyloid peptides. *Nat Med*. 1998,4,447-451
105. Kurz A, Egensperger R, Haupt M, i wsp. Apolipoprotein E $\epsilon 4$ allele, cognitive decline and deterioration of everyday performance in Alzheimer's disease. *Neurology* 1996,47,444-448
106. Landen M, Thorsell A, Wallin A, Blennow K. The apolipoprotein E allele epsilon-4 does not correlate with the number of senile plaques or neurofibrillary tangles in patients with Alzheimer's disease. *J Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 1996,61,352-356
107. Laskowitz DT, Goel S, Bennett ER, Mattew WD. Apolipoprotein E suppresses glial cell secretion of $\text{TNF}\alpha$. *J Neuroimmunol* 1997a,76,70-74
108. Launer LJ, Andersen K, Dewey ME, i wsp. Rates and risk factors for dementia and Alzheimer's disease. Results from EURODERM pooled analyses. *Neurology*, 1999,52,78-84

109. Launer LJ, Masaki K, Petrovitch H, i wsp. The association between mild blood pressure levels and late life cognitive function. *JAMA* 1995,2,1846-1851
110. Lehman DJ, Johnston C, Smith AD. Synergy between the genes for butylcholinesterase K variant and apolipoprotein E4 in late-onset confirmed Alzheimer's disease. *Hum Mol Genet* 1997,6,1933-1936
111. Lendon CL, Talbor CJ, Craddock NJ, i wsp. Genetic association studies between dementia of the Alzheimer's type and three receptors for apolipoprotein E in a caucasian population. *Neurosci Lett* 1997,222,187-190
112. Letenneur L, Gilleron V, Commenges D, i wsp. Are sex and educational level independent predictors of dementia and Alzheimer's disease? Incidence data from the PAQUID project. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999,66,177-183
113. Levy-Lehad E, Wasco W, Poorkaj P, i wsp. Candidate gene for the chromosome 1 familial Alzheimer's disease locus. *Science* 1995,269,973-977
114. Linn RT, Wolf PA, Bachman DL, i wsp. The „preclinical phase” of probable Alzheimer's disease. A 13-year prospective study of the Framingham Cohort. *Arch Neurol*. 1995,52,485-490
115. Lopez O L, Wisniewski S, Becker J T, i wsp. Psychiatric medication and abnormal behavior as predictors of progression in probable Alzheimer disease. *Arch Neurol* 1999,56,1266-1272

116. Lopez OL, Wisniewski SR, Becker JT, i wsp. Extrapiramidal signs in patients with probable Alzheimer's disease. *Arch Neurol* 1997,54,969-975
117. Ma J, Yee A, Brewer Jr HB, Das S, Potter H. Amyloid-associated proteins α 1-antichymotrypsin and apolipoprotein E promote assembly of Alzheimer's β -protein into filaments. *Nature* 1994,372,92-94
118. Maestre G, Ottman R, Stern Y, i wsp. Apolipoprotein E and Alzheimer's disease: ethnic variation in genotypic risks. *Ann Neurol* 1995,37,254-259
119. Martinez M, Campion D, Brice A, i wsp. Apolipoprotein E ϵ 4 allele and familial aggregation of Alzheimer's disease. *Arch Neurol* 1998,55,810-816
120. Masliah E, Ellisman M, Carragher B i wsp. Three-dimensional analysis of the relationship between synaptic pathology and neuropil threads in Alzheimer disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 1992,51,404-414
121. Masters CL, Simms G, Weinman NA. Amyloid plaque core protein in Alzheimer's disease and Down syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985,82,4245-4249
122. Mayeux R, Ottman R, Tang M, i wsp. Genetic susceptibility and head injury as risk factors for Alzheimer's disease among community-dwelling elderly persons and their first-degree relatives. *Ann Neurol* 1993,33,494-501
130. Molsa PK, Marttila R. ... population. *Acta Neurol*

123. Mayeux R, Ottman R, Maestre G, i wsp. Synergistic effects of traumatic head injury and apolipoprotein $\epsilon 4$ in patients with Alzheimer's disease. *Neurology* 1995,45,555-557
124. Mayeux R, Stern Y, Sano M i wsp. Heterogeneity in dementia of the Alzheimer type: evidence of subgroups. *Neurology* 1985,35,453-461
125. McEwen BS, Alves SE, Bullock K, Weiland NG. Ovarian steroids and the brain: implications for cognition and aging. *Neurology* 1997,48,S8-S15
126. McKhann G, Drachman D, Folstein M, Katzman R, Price D, Stadlan EM. 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* 1984,9,939-944
127. Mega MS, Cummings JL, Fiorello T, Gornbein J. The spectrum of behavioral changes in Alzheimer's disease. *Neurology* 1996,46,130-135
128. Międzynarodowa Statystyczna Klasyfikacja Chorób i Problemów Zdrowotnych. Rewizja dziesiąta. Rozdział V, Kraków, Uniwersyteckie Wydawnictwo Medyczne ;Vesalius; 1994
129. Miyata M, Smith JD. Apolipoprotein E allele-specific antioxidant activity and effects on cytotoxicity by oxidative insults and beta-amyloid peptides. *Nat Genet* 1996,14,55-61
130. Molsa PK, Marttila R, Rinne U. Epidemiology of dementia in a Finnish population. *Acta Neurol Scand* 1982,65,541-552

131. Morris JC, Edland S, Clark C i wsp. The Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease (CERAD). Part IV. Rates of cognitive change in the longitudinal assessment of probable Alzheimer's disease. *Neurology* 1993,43,2457-2465
132. Mortimer JA, Van Duijn CM, Chandra V i wsp. Head trauma as a risk factor for Alzheimer's disease: a collaborative re-analysis of case-control studies. *Int J Epidemiol* 1991,20(suppl),S28-35
133. Myers RH, Schaefer EJ, Wilson PW i wsp. Apolipoprotein E ϵ 4 association with dementia in a population-based study: the Framingham Study. *Neurology* 1996,46,673-677
134. Myllykangas L, Polvikoski T, Sulkava R, i wsp. Genetic association of α 2-macroglobulin with Alzheimer's disease in a Finnish elderly population. *Ann Neurol* 1999,46,382-390
135. Nalbantoglu J, Gilfix BM, Bertrand P i wsp. Predictive value of apolipoprotein E genotyping in Alzheimer's disease: results of an autopsy series and an analysis of several combined studies. *Ann Neurol* 1994,36,889-895
136. Nathan BP, Bellosta S, Sanan DA. Differential effects of apolipoproteins E3 and E4 on neuronal growth in vitro. *Science* 1994,264,850-852

137. Nemetz PN, Leibson C, Naessens JM, i wsp. Traumatic brain injury and time to onset of Alzheimer's disease: a population-based study. *Am J Epidemiol* 1999,14,32-40
138. Newman MF, Croughwell ND, Blumenthall JA Lowry E i wsp. Predictors of cardiac decline after cardiac operation. *Ann Thorac Surg* 1995,59,1326-1330
139. Ohm TG, Kirca C, Bohl J, Scarnagl H, Gro W, Marz W. Apolipoprotein E polymorphism influences not only cerebral senile plaque load but also Alzheimer-type neurofibrillary tangle formation. *Neuroscience* 1994,66,583-87
140. Ohm TG, Muller H, Bohl J. Close-meshed prevalence rates of different stages as a tool to uncover the rate of Alzheimer's disease-related neurofibrillary changes. *Neuroscience* 1995,64,209-217
141. Okuizumi K, Onodera O, Namba Y, i wsp. Genetic association of the very low density lipoprotein (VLDL) receptor gene with sporadic Alzheimer's disease. *Nat Genet* 1995,11,207-209
142. Ott A, Breteler MMB, VanHarskamo F, i wsp. The incidence and risk of dementia. The Rotterdam Study. *Am J Epidemiol* 1998,147,574-580
143. Ott A, van Rossum CTM, van Harskamp F, i wsp. Education and the incidence of dementia in a large population-based study: The Rotterdam Study. *Neurology* 1999,52,663-666

- 144.Oyama F, Shimada H, Oyama R, Ihara Y. Apolipoprotein E genotype, Alzheimer's pathologies and related gene expression in the aged population. *Mpl. Brain Res.*1995,29,92-98
- 145.Paganini-Hill A, Henderson VW. Estrogen deficiency and risk of Alzheimer's disease in women. *Am J Epidemiol* 1994,140,2213-2217
- 146.Paschalis C, Polychronopulos P, Lekka NP., i wsp. The role of head injury surgical anesthesia, and family history as etiological factors in dementia of Alzheimer type. *Dementia* 1990,1,52-55
- 147.Payami H, Montee KR, Kaye JA, i wsp. Alzheimer's disease, apolipoprotein E4, and gender. *JAMA* 1994,271,1316-1317
- 148.Payami H, Zareparsis S, Montee KR i wsp. Gender difference in apolipoprotein-E associated risk for familial Alzheimer's disease: a possible clue to higher incidence of Alzheimer disease in women. *Am J Hum Genet* 1996,58,803-811
- 149.Perry EK, Perry RH, Blessed G, Tomlinson BE. Necropsy evidence of central cholinergic deficits in senile dementia. *Lancet.* 1977
- 150.Petersen RC, Smith GE, Ivnik RJ, i wsp. Apolipoprotein status as a predictor of the development of Alzheimer's disease in memory-impaired individuals. *JAMA* 1995,273,1274-1278
- 151.Petersen RC, Smith GE, Waring S.C., i wsp. Mild Cognitive Impairment. Clinical characterization and outcome. *Arch Neurol.* 1999,56,303-308

152. Pitas RE, Boyles JK, Lee SH, Hui D, Weisgraber KH. Lipoproteins and their receptors in the central nervous system. *J Biol Chem* 1987,262,14352-14360
153. Poirier J, Davignon J, Bouthillier D i wsp. Apolipoprotein E polymorphism and Alzheimer's disease *Lancet* 1993,342,697-699
154. Read SL, Miller BL, Mena I, i wsp. SPECT in dementia: clinical and pathological correlation *Geriatr Soc* 1995,43,1243-1247
155. Rebeck GW, Reiter JS, Strickland DK, Hyman BT Apolipoprotein E in sporadic Alzheimer's disease allelic variation and receptor interactions. *Neuron* 1993,11,575-580
156. Rebeck GW, Perles TT, West HL,, i wsp. Reduced apolipoprotein E type 4 allele frequency in the oldest old Alzheimer's disease patients and cognitively normal individuals. *Neurology* 1994,44,1513-1516
157. Reed T, Carmelli D, Swan GE i wsp. Lower cognitive performance in normal older adult male twins currying the apolipoprotein E ϵ 4 allele. *Arch Neurol* 1994,51,1189-1192
158. Reisberg B, Borenstein J, Franssen E, i wsp. Remediable behavioral symptomatology in Alzheimer's disease. *Hosp Community Psychiatry* 1986a,37,1199-1202

159. Reisberg B, Ferris SH, Leon MJ, Crook T. The global deterioration scale for assessment of primary degenerative dementia. *Am. J. Psychiatry* 1982,139,1136-1139
160. Reisberg B, Schneck MK, Ferris SH, Schwartz GE, de Leon MJ. The brief cognitive rating scale (BCRS): Findings in primary degenerative dementia (PDD). *Psychopharmacol Bull* 1983a,19,47-50
161. Reyes-Oritz CA. Delirium, dementia and brain reserve. [letter] *J Am Geriatr Soc* 1997,45,778-783
162. Ritchie K, Kildea D. Is senile dementia "age-related" or aging -related?: Evidence from meta-analysis of dementia prevalence in the oldest old. *Lancet* 1995,346,931-934
163. Rocca WA, Hofman A, Brayne C, i wsp. Frequency and distribution of Alzheimer's disease in Europe: a collaborative study of 1980-1990 findings. *Ann Neurol* 1991,30,381-390
164. Rosen WG, Mohs RC, Davis KL. A new rating scale for Alzheimer's disease. *Am. J. Psychiatry* 1984,41,1356-1364
165. Roses AD, Einstein G, Gilbert J i wsp. Morphological, biochemical, and genetic support for an apolipoprotein E effect on microtubular metabolism. *Ann NY Acad Sci* 1996,777,146-157
166. Roses AD. A model for susceptibility polymorphism for complex diseases: Apolipoprotein E and Alzheimer's disease. *Neurogenetics* 1997,1,3-11

167. Roses AD. ApoE: genotype and survival from intracerebral hemorrhage. Lancet 1995,346,575
168. Rossa G. Rozpowszechnienie otępienia typu Alzheimera i otępienia naczyniowego na terenie miasta i gminy Swiebodzin. Psychiatr Pol 1997,31,121-134
169. Rubin EH, Drevets WC, Burke WJ. The nature of psychotic symptoms in senile dementia of the Alzheimer type. J Geriatr Psychiatry Neurol 1988,1,16-20
170. Rubin EH, Kinscherf DA, Morris JC. Psychopathology in younger versus older persons with very mild and mild dementia of the Alzheimer type. Am J Psychiatry 1993,150,639-642
171. Samson WN, vanDuijn CM, Hop WCJ, Hofman A. Clinical features and mortality in patients with early onset Alzheimer's disease. Eur Neurol 1996,6,103-106
172. Sanan DA, Weisgraber KH, Russel SJ i wsp. Apolipoprotein E associates with amyloid peptide of Alzheimer's disease to form novel monofibrils. J Clin Invest 1994,94,860-869
173. Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel D i wsp. Association of apolipoprotein E allele $\epsilon 4$ with late onset familial and sporadic Alzheimer's disease. Neurology 1993,43,1467-1472

174. Scheuner D, Eckman C, Jensen M i wsp. Secreted amyloid beta-protein similar to that in the senile plaques of Alzheimer's disease is increased in vivo by the presenilin 1 and 2 and APP mutations linked to familial Alzheimer's disease. *Nature* 1996,2,864-870
175. Schmechel D, Saunders AM, Strittmater WJ i wsp. Increased amyloid β -peptide deposition in cerebral cortex as a consequence of apolipoprotein E genotype in late -onset Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993,90,9649-9653
176. Seliger G, Lichtman SW, Polsky T, Riley J i wsp. The effect of apolipoprotein E on short term recovery from head injury. *Neurology* 1997,48,A213
177. Sheng H, Laskowitz DT, Bennett ER, Schmechel DE i wsp. Apolipoprotein E isoform - specific differences in outcome from focal ischemia in transgenic mice. *J cereb Blood Flow Metab* 1998,18,361-366
178. Sherrington R, Rogaev EI, Liang Y, i wsp. Cloning of a novel gene bearing missense mutations in early familial Alzheimer's disease. *Nature* 1995,375,754-760
179. Sisodia SS, Koo EH, Beyreuther K, et al. Evidence that β amyloid in Alzheimer's disease is not derived by normal processing. *Science* 1990,248,492-495

180. Slioter AJ, Cruts M, Kalmijn S, i wsp. Risk estimates of dementia by apolipoprotein E genotypes from a population-based incidence study: The Rotterdam Study. *Arch Neurol* 1998,55,964-968
181. Snowden MB, Bowen JD, Hughes J, Larson EB. Study of Alzheimer's dementia patients with parkinsonian features. *J Geriatr Psychiatry Neurol* 1995,8,154-158
182. Sobel E, Louhija J, Sulkava R, i wsp. Lack of association of apolipoprotein E allele $\epsilon 4$ with late-onset Alzheimer's disease among Finnish centerians. *Neurology* 1995,45,903-907
183. Sorbi S, Nacmias B, Piacentini S. Apolipoprotein E genotypes and outcome after post-traumatic coma. *Neurology* 1996,46,307
184. Stern RA, Silva SG, Chaisson N, Evans DL. Influence of cognitive reserve on neuropsychological functioning in asymptomatic human immunodeficiency virus-1 infection. *Arch Neurol* 1996,53,148-153
185. Stern Y, Albert M, Brandt J i wsp. Utility of extrapyramidal signs and psychosis as predictors of cognitive and functional decline, nursing home admission, and death in Alzheimer's disease: prospective analyses from the predictors study. *Neurology* 1994,44,2300-2307
186. Stern Y, Brangt J, Albert M, i wsp. The absence of an apolipoprotein $\epsilon 4$ allele is associated with a more aggressive form of Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 1997,41,615-620

187. Stern Y, Liu X, Albert M, i wsp. Modeling the influence of extrapyramidal signs on the progression of Alzheimer's disease. Arch Neurol. 1996,53,1121-1126
188. Strittmater WJ, Saunders AM, Goedert M, Weisgraber KH, i wsp. Isoform-specific interactions of apolipoprotein E with microtubule-associated protein tau: implications for Alzheimer's disease. Proc Natl Acad Sci USA 1994,91,13-186
189. Strittmater WJ, Saunders AM, Schmechel D i wsp. Apolipoprotein E: high-avidity binding to β -amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer's disease. Proc Natl Acad Sci USA 1993a,90,1977-1981
190. Strittmater WJ, Weisgraber KH, Huang DY i wsp. Binding of human apolipoprotein E to synthetic amyloid peptide: isoform-specific effects and implications for late-onset Alzheimer's disease. Proc Natl Acad Sci USA 1993b,90,8098-9002
191. Sullivan P, Petitti D, Barbaccia J. Head trauma and age of onset of dementia of the Alzheimer type. (Letter) JAMA 1987,257,2289-2290
192. Suzuki N, Cheng TT, Cai XD, i wsp. An increased percentage of long amyloid beta protein secreted by familial amyloid beta protein precursor (β -APP-717) mutants. Science 1994,264,1336-1340

193. Talbot C, Lendon C, Craddock N, Shears S, Morris JC, Goate A. Protection against Alzheimer's disease with apoE ϵ 2. *Lancet* 1994,343,1432-1433
194. Talbot PR, Lloyd JJ, Snowden JS, i wsp. A clinical role for ^{99m}Tc -HMPAO SPECT in the investigation of dementia. *J Neurol, Neurosurg Psychiatry*,1998,64,306-313
195. Tang M-X, Jacobs D, Stern Y, i wsp. Effect of estrogen during menopause on risk and age at onset of Alzheimer's disease. *Lancet* 1996,348,429-432
196. Tanzi RE, Kovacs DM, Kim TW, i wsp. The gene defect responsible for familial Alzheimer's disease. *Neurobiol Dis.* 1996,3,159-168
197. Tardiff BE, Newman MF, Saunders AM, Strittmater WJ i wsp. Preliminary report of genetic basis for cognitive decline after cardiac operations. *Ann Thorac Surg* 1997,64,715-720
198. Teasdale GM, Nicoll JAR, Murray G, Fiddes M. Association of apolipoprotein E polymorphism with outcome after head injury. *Lancet* 1997,350,1069 – 1071
199. Teri L, McCurry SM, Edland SD, Kukull WA, Larson EB. Cognitive decline in Alzheimer's disease: a longitudinal investigation of risk factors for accelerated decline. *J Gerontol* 1995,50A,M48-55
200. Terry RD, Masliah E, Salmon DP i wsp. Physical basis of cognitive alterations in Alzheimer's disease: synapse loss is the major correlate of cognitive impairment. *Ann Neurol* 1991,30,72-580

201. The Canadian Study of Health and Aging Risk factors for Alzheimer's disease in Canada. *Neurology* 1994,44,2073-2080
202. Tierney MC, Szalai JP, Snow WG, i wsp. A prospective study of the clinical utility of ApoE genotyping the prediction of outcome in patients with memory impairment. *Neurology* 1996,46,149-154
203. Tsai MS, Tangalos EG, Petrsen RC, i wsp. Apolipoprotein E: risk factor for Alzheimer's disease. *Am J Hum Genet* 1994,54,643-649
204. Uhlmann RF, Larson EB. Effects of education on the Mini-mental State examination test for dementia. *J Am Geriatr Soc* 1991,39,76-880
205. Utermann G, Langenbeck U, Beisiegel U, Weber W. Genetics of the apolipoprotein E system in man. *Am J Hum Genet* 1980,32,339-347
206. Van Duijn CM, Clayton D, Chandra V, i wsp. Familial aggregation of Alzheimer's disease and related disorders: a collaborative re-analysis case-control studies. *Int J Epidemiol* 1991,20,(Suppl2),S13-S20
207. Van Duijn CM, Tanja TA, Haaxma R, i wsp. Head trauma and the risk of Alzheimer's disease. *Am J Epidemiol* 1992,135,775-782
208. Van Duijn CM, de Knijff P, Cruts M, i wsp. Apolipoprotein E4 allele in a population-based study of early onset Alzheimer's disease. *Nat Genet* 1994,7,74-78

209. Vassar R, Bennett BD, Babu-Khan S, i wsp. β -secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by the transmembrane aspartic protease BACE. *Science* 1999,286,735-741
210. Waring S.C., Roca WA, Petersen RC, i wsp. Postmenopausal estrogen replacement therapy and risk of AD. A population-based study. *Neurology* 1999,52,965-970
211. Weisgraber KH, Innerarity TL, Mahley RW. Abnormal lipoprotein receptor-binding activity of the human E apoprotein due to cysteine-arginine interchange at a single site. *J Biol Chem* 1982,257,2518-2521
212. Wender M, Mularczyk J, Modestowicz R. Epidemiologia choroby Alzheimera w wybranym regionie Polski. *Przegląd Epidemiol* 1990,44,215-221
213. Wilson PW, Schaefer EJ, Larson MG, Ordovas JM. Apolipoprotein E alleles and risk of coronary disease. A meta-analysis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996,16,1250-1255
214. Wisniewski T, Frangione B. Apolipoprotein E: a pathological chaperone protein in patients with cerebral and systemic amyloid. *Neurosci Lett* 1992,135,235-238
215. Wiśniewski T, Lałowski M, Gołębek A i wsp. Is Alzheimer's disease an apolipoprotein E amyloidosis? *Lancet* 1995,345,956-958

216. Yaffe K, Cauley J, Sands L, Browner W. Apolipoprotein E phenotype and cognitive decline in a prospective study of elderly community women. *Arch Neurol* 1997,54,1110-1114
217. Yoshitake T, Kiyohara Y, Kato I, i wsp. Incidence and risk factors of vascular dementia and Alzheimer's disease in a defined elderly Japanese population: the Hisayama study. *Neurology* 1995,45,1161-8
218. Zubenko GS, Stiffler S, Stabler S, i wsp. Association of the apolipoprotein E ϵ 4 allele with clinical subtypes of autopsy-confirmed Alzheimer's disease. *Am J Med. Genet* 1994,54,199-205