

Terapia przeciwamyloidowa w leczeniu choroby Alzheimera: od szczepionek do inhibitorów sekretaz

William J. Burke, MD, Prasad R. Padala, MD, Daniel L. Murman, MD, MS

- Akumulacja białka β -amyloidu ($A\beta$) jest główną cechą neuropatologiczną choroby Alzheimera.
- Dokonał się istotny postęp w wiedzy o powstawaniu $A\beta$ i etapach prowadzących do jego akumulacji.
- Są już dostępne metody leczenia zapobiegające akumulacji $A\beta$ lub usuwające go z tkanki mózgowej.
- Ocena skuteczności metod leczenia nakierowanych na $A\beta$ spowoduje znaczny postęp w zakresie rozumienia roli, jaką pełni $A\beta$ w chorobie Alzheimera oraz dostarczy odpowiedzi na pytanie czy wpływanie na stężenie $A\beta$ wiąże się ze stworzeniem skutecznej klinicznie metody leczenia.

Streszczenie

Gromadzenie β -amyloidu ($A\beta$) w mózgu jest jedną z głównych cech neuropatologicznych choroby Alzheimera. Chociaż obecnie zrozumienie mechanizmu powstawania $A\beta$ jest coraz lepsze, to jednak nadal nie ma uznanej metody leczenia polegającej na zapobieganiu tworzenia $A\beta$ lub jego usuwaniu $A\beta$ z mózgu. Mimo to, przedmiotem badań są obecnie liczne metody terapeutyczne, wpływające na każdy z etapów metabolizmu amyloidu - począwszy od momentu jego uwalniania, przez wczesne etapy agregacji aż do etapu, w którym może dochodzić do formowania się nierozpuszczalnej β -harmonijki. Obecnie $A\beta$ wydaje się być najbardziej obiecującym celem terapeutycznym w leczeniu choroby Alzheimera. Rozwój metod leczenia opartych na modyfikacji $A\beta$, daje możliwość poszerzenia wiedzy nie tylko na temat samej choroby Alzheimera, ale także na temat prawidłowego funkcjonowania mózgu. W niniejszym artykule omówiono stan różnych metod leczenia, opartych na zmniejszaniu ilości amyloidu w mózgu.

Wprowadzenie

Choroba Alzheimera jest główną przyczyną otępienia w populacji osób w podeszłym wieku. W Stanach Zjednoczonych jej szacowane rozpowszechnienie mieści się w przedziale od 5,7 do 10% w grupie osób między 65 a 85 r.ż. oraz między 25 a 45% wśród osób ≥ 85 r.ż.¹ Ocenia się, że w Stanach Zjednoczonych około 5,2 miliona osób cierpi na chorobę Alzheimera.

Rozpoznanie kliniczne choroby Alzheimera uzależnione jest od stwierdzenia typowych deficytów poznawczych oraz zaburzeń behawioralnych, natomiast aby można był stwierdzić, że obraz neuropatologiczny jest charakterystyczny dla tej choroby konieczne jest wykazanie obecności w mózgu wewnątrzkomórkowego zwyrodnienia włóknkowego oraz zewnątrzkomórkowych blaszek amyloidowych.² Hipoteza amyloidowa jest najbardziej rozpowszechnioną teorią dotyczącą przyczyn powstawania choroby Alzheimera. Zakłada ona, że pojawienie się depozytów amyloidu jest

wczesną i decydującą przyczyną choroby, prowadzącą do kaskady zaburzeń neuropatologicznych, których kulminacją przypada na końcowy etap schorzenia. Implikacją tej teorii jest przypuszczenie, że hamowanie powstawania amyloidu lub usuwanie jego depozytów stanowiłoby swoiste leczenie choroby.

Kluczowe z punktu widzenia zrozumienia tajemnicy choroby Alzheimera jest wyjaśnienie roli β -amyloidu ($A\beta$). W ciągu ostatnich 25 lat dokonał się postęp - od identyfikacji $A\beta$ jako istotnego składnika blaszek starczych u chorych do dokładnego zrozumienia przebiegu wielu szlaków metabolicznych, które kontrolują jego przemianę. W tym artykule przeprowadzono krótki przegląd aktualnych danych na temat $A\beta$ jako markera diagnostycznego, przedyskutowano dane dotyczące metabolizmu $A\beta$ w mózgu oraz dokonano przeglądu wielu potencjalnych strategii terapeutycznych opartych na ograniczeniu albo zapobieganiu gromadzeniu się $A\beta$ w mózgu.

Dr Burke, Anna O. Stake professor of psychiatry, vice chair for research, Department of Psychiatry, dr Padala, assistant professor, Department of Psychiatry, dr Murman, associate professor, Department of Neurological Sciences, University of Nebraska Medical Center, Omaha.

Dr Burke otrzymuje granty od Eli Lilly, Forest, National Institute of Mental Health, Novartis. Dr Padala otrzymuje granty od Alzheimer's Association i Veterans Health Administration oraz współpracuje z biurem prasowym firmy Forest. Dr Murman jest konsultantem Elan Pharmaceuticals, Inc i korzysta z grantów od Elan Pharmaceuticals, Inc i Wyeth.

W artykule omówiono nieuznawane/eksperymentalne sposoby leczenia choroby Alzheimera.

Adres do korespondencji: William J. Burke, MD, Vice Chair for Research, Department of Psychiatry, University of Nebraska Medical Center, 985580 Nebraska Medical Center, Omaha, NE

68198-5580, Stany Zjednoczone; e-mail: wjburke@unmc.edu.

Rola amyloidu w chorobie Alzheimera

Ostateczne rozpoznanie choroby Alzheimera opiera się na stwierdzeniu charakterystycznych zmian neuropatologicznych, z których główną jest nadmierne gromadzenie się A β . Charakter tych zmian zależy po części od takich czynników jak: zależne od wieku występowanie pewnych typów blaszek zawierających amyloid (neurytyczne *vs* dyfuzyjne) w wybranych obszarach mózgu.^{3,5} Chociaż ilościowa ocena A β odgrywa istotną rolę w procesie diagnostycznym, to jednak jego gromadzenie się nie jest swoiste dla choroby Alzheimera, a jego depozyty pojawiają się także podczas starzenia. Poza tym występuje tylko niewielka korelacja między ilością nagromadzonego A β a nasileniem zaburzeń funkcji poznawczych obserwowanych u poszczególnych chorych.^{6,7} Gromadzenie A β obserwuje się także w ścianach tętnic i tętniczek opony miękkiej i kory mózgowej pod postacią angiopatii amyloidowej (cerebral amyloid angiopathy, CAA) w przebiegu zarówno choroby Alzheimera, jak i w procesie starzenia.⁸

Najmocniejszym dowodem na to, że A β odgrywa kluczową, patologiczną rolę w procesie chorobowym jest rzadkie występowanie rodzinnej postaci choroby Alzheimera.⁹⁻¹³ Zidentyfikowano trzy geny, które są odpowiedzialne za wystąpienie autosomalnie dominującej postaci choroby Alzheimera o wczesnym początku, a obecność każdego z nich prowadzi do istotnego wzrostu produkcji A β . Dodatkowo, u osób z zespołem Downa występuje dodatkowa kopia genu dla białka prekursora amyloidu (APP) na chromosomie 21 i bardzo często obserwuje się u nich narastające wraz z wiekiem zmiany w mózgu, podobne do obserwowanych w chorobie Alzheimera. W omawianych przypadkach, nadprodukcja amyloidu albo zaburzenia jego metabolizmu wydają się wystarczające do wywołania objawów otępienia. Rola jaką odgrywa amyloid w typowej chorobie Alzheimera o późnym początku jest jednak znacznie mniej jasna.

Na niepewną rolę amyloidu w typowej postaci choroby Alzheimera o późnym początku, wskazują także wyniki badań, w których stwierdzono obecność amyloidu w mózgach osób bez zaburzeń poznawczych. Zwrócono również uwagę, że w pewnej grupie chorych, u których nie występowały wcześniej zaburzenia funkcji poznawczych, podczas badania sekcyjnego stwierdza się wysokie stężenie A β w mózgu.¹⁴ Ponadto wytworzenie związków chemicznych takich, jak Pittsburgh Compound-B (PIB), które wiążą z włóknami depozytów A β w blaszkach oraz w naczyniowych złożach amyloidu¹⁵⁻¹⁷ pozwoliło na wykrywanie amyloidu *in vivo*. Badania wykazały obecność A β nie tylko w mózgach osób z klinicznie rozpoznaną chorobą Alzheimera, ale także u osób zdrowych.^{15,18,20}

Z obecności amyloidu w mózgach osób bez objawów otępienia wynika, że albo amyloid może występować u chorych bez ewidentnych zaburzeń funkcji poznawczych, albo też jest on obecny u osób, które znajdują się w przedklinicznym okresie choroby Alzheimera. Do rozstrzygnięcia tego problemu konieczna jest długookresowa obserwacja osób PIB+ bez deficytów poznawczych.²⁰ Chociaż interpretacja omawianych danych jest obecnie przedmiotem dyskusji, to jednak wydaje się, że obecność A β , nawet jeżeli jest konieczna, to jest raczej niewystarczająca do odgrywania bezpośredniej roli przyczynowej w patogenezie choroby Alzheimera.

Mimo uwzględnienia wszystkich wyżej przedstawionych faktów, to A β nadal pozostaje najbardziej obiecującym celem działań terapeutycznych. Nie jest także zaskakujące, że olbrzymia uwaga, którą przykładają się do roli A β , powoduje powstawanie nowych strategii terapeutycznych. W artykule omawiono niektóre spośród nich, próbując jednocześnie odnieść je do hipotezy amyloidowej (tabela).

Formowanie A β

A β jest produktem końcowym dwóch kolejnych cięć enzymatycznych integralnego

białka błonowego APP (rycina).^{21,22} Powstawanie A β z APP jest wynikiem działania dwóch enzymów: β - i γ -sekreazy. APP musi być pierwotnie przetworzony przez β -sekreazę BACE (inaczej BACE1, enzym trawiący białko APP w pozycji β) zlokalizowaną na zewnątrzkomórkowej domenie białka APP, 28 reszt od miejsca połączenia APP z błoną komórkową. Kolejnym krokiem na drodze do uwolnienia A β jest działanie kompleksu enzymatycznego γ -sekreazy, który zawiera cztery integralne białka błonowe (jednym z nich jest presenilina). Znany powodem występowania rodzinnej postaci choroby Alzheimera jest mutacja w obrębie APP lub jednego z dwóch genów dla preseniliny.¹³ Skutkiem końcowym wszystkich znanych mutacji prowadzących do rodzinnej postaci choroby Alzheimera jest wzrost wytwarzania A β 1-42. Dlatego wpływające na aktywność β - i γ -sekreazy skutkujące ostatecznie zmniejszeniem tworzenia A β jest obiecującym kierunkiem rozwoju leków.

Strategie terapeutyczne mające na celu ograniczenie ilości albo eliminację A β

Immunoterapia

Jednym z najbardziej pasjonujących kierunków terapeutycznych polegających na eliminacji nadmiaru A β z mózgu osób z chorobą Alzheimera jest próba zastosowania szczepionek przeciw A β albo jego składnikom. Badania nad tym zagadnieniem rozpoczęły się od wykazania, że ludzkie zagregowane białko amyloidu - A β 42 (AN1792) podane transgenicznym myszom skutecznie zmniejsza liczbę blaszek A β w mózgu.²³ Sukces ten był przyczynkiem do przeprowadzenia pierwszego badania z udziałem ludzi. W tym badaniu zastosowano AN1792 (wraz z adjuwantem) u 80 pacjentów z Wielkiej Brytanii z chorobą Alzheimera o łagodnym lub umiarkowanym nasileniu.²⁴ U 59% immunizowanych pacjentów powstały przeciwciała przeciwko A β przy akceptowalnym poziomie zdarzeń niepożądanych, jednak u jednego z badanych wystąpiło zapalenie opon mózgowych i mózgu, które zostało rozpoznane po jego śmierci, 219 dni od momentu przerwania badania.²⁴ Drugie z przeprowadzonych badań zostało zawieszono przed jego zakończeniem, ponieważ u około 6% jego uczestników zaobserwowano zapalenie opon mózgowych i mózgu.²⁵ Z powodu wcześniejszego przerwania tego badania, możliwy okres obserwacji badanej kohorty był ograniczony; mimo to stwierdzono, że po roku u 19,7% badanych doszło do wytworzenia przeciwciał.²⁶ Osoby te nie różni-

TABELA

Terapia przeciwapłydkowa w leczeniu choroby Alzheimera

Proponowany mechanizm działania	Substancje o charakterze eksperymentalnym
1. Immunizacja	
a) Aktywna	AN1792
b) Pasywna	Bapineuzumab, IVIg
2. Zapobieganie fibrylizacji amyloidu	Tramiprosat
3. Inhibitory sekreazy	LY450139
4. Modyfikacja γ -sekreazy	Tarenflurbil
5. Związki osłabiające interakcję metal – białko	Klioichinol, PBT2
IVIg – immunoglobulina w postaci dożylniej.	

Burke WJ, Padala PR, Murman DL. *Primary Psychiatry*. Vol 16, No 6. 2009.

ły się od osób, które nie wytworzyły odpowiedzi immunologicznej pod względem funkcji poznawczych, funkcjonowania i całkowitej poprawy, natomiast uzyskały lepsze wyniki w baterii złożonych testów neuropsychologicznych. Ponadto, u pacjentów, którzy zareagowali na leczenie, niespodziewanie stwierdzono za pomocą rezonansu magnetycznego, że objętość mózgu zmniejszyła się bardziej niż u pacjentów, którzy nie odpowiedzieli na leczenie.²⁷ Zaproponowano wiele hipotez dotyczących przyczyn takiego zjawiska, włączając w to: redukcję objętości tkanki mózgowej wynikającą z usuwania płytek amyloidowych, przemieszczanie płynu mózgowo-rdzeniowego związane z mobilizacją amyloidu, czy nawet zmniejszenie liczby neuronów.²⁷ Chociaż każdy z tych mechanizmów przynajmniej częściowo mógłby tłumaczyć przyczyny zmniejszenia objętości mózgu, to przy odpowiednio długiej perspektywie czasowej obserwacji odnotowano wyłącznie zmniejszenie ilości amyloidu. Sześcioletni okres obserwacji ośmiu uczestników badania, którzy zostali poddani immunizacji i u których dodatkowo przeprowadzono badania neuropsychologiczne, pozwolił na stwierdzenie, że ilość A β w korze była mniejsza w porównaniu z osobami niepoddanymi immunizacji.²⁸ Szybkość usuwania płytek w trakcie badania, zmienił się istotnie wraz z średnią odpowiedzią ze strony przeciwciał. U siedmiu spośród ośmiu uczestników badania, włącznie z osobami, u których zaobserwowano całkowite usunięcie płytek tuż przed śmiercią stwierdzano objawy bardzo nasilonego otępienia. Nie wykazano żadnego dowodu potwierdzającego poprawę przeżywalności lub wskazującego na wydłużenie czasu do rozwinięcia się nasilonych objawów otępienia, w grupie pacjentów poddanych immunizacji. Chociaż dane te pochodzą z badań przeprowadzonych z udziałem bardzo małej grupy to wskazują one, że immunizacja może prowadzić do usuwania amyloidu natomiast nie sugerują, żeby fakt ten był klinicznie korzystny.

Przeprowadzona w ostatnim czasie ocena²⁹ mózgowego układu naczyniowego u tych samych pacjentów wykazała uderzający wzrost liczby naczyń krwionośnych zawierających A β 42 w korze mózgowej i oponie miękkiej (odpowiednio 14- i 7-krotny) w porównaniu z niepoddanymi immunizacji pacjentami z chorobą Alzheimera. Dodatkowo, wśród pacjentów żyjących najdłużej po immunizacji, obserwowano całkowity brak CAA, co jak wyżej wspomniano, odzwierciedla brak obecności blaszek amyloidowych. Zdaniem autorów obserwacje te wspierają hipotezę, która zakłada, że proces immunizacji przeciwko A β prowadzi do przejścia płytki A β 42 w postać rozpuszczalną a następnie jej transport, przynajmniej w części, przez naczynia krwionośne ośrodkowego układu nerwowego,

powodując przejściowy wzrost CAA. Ponadto, obserwowane działania wiązały się z występowaniem mikrokrwotoków w korze oraz uszkodzeniami mikronaczyniowymi, natomiast nie miały związku z krwotokami śródmózgowymi, które związane są z CAA.²⁹

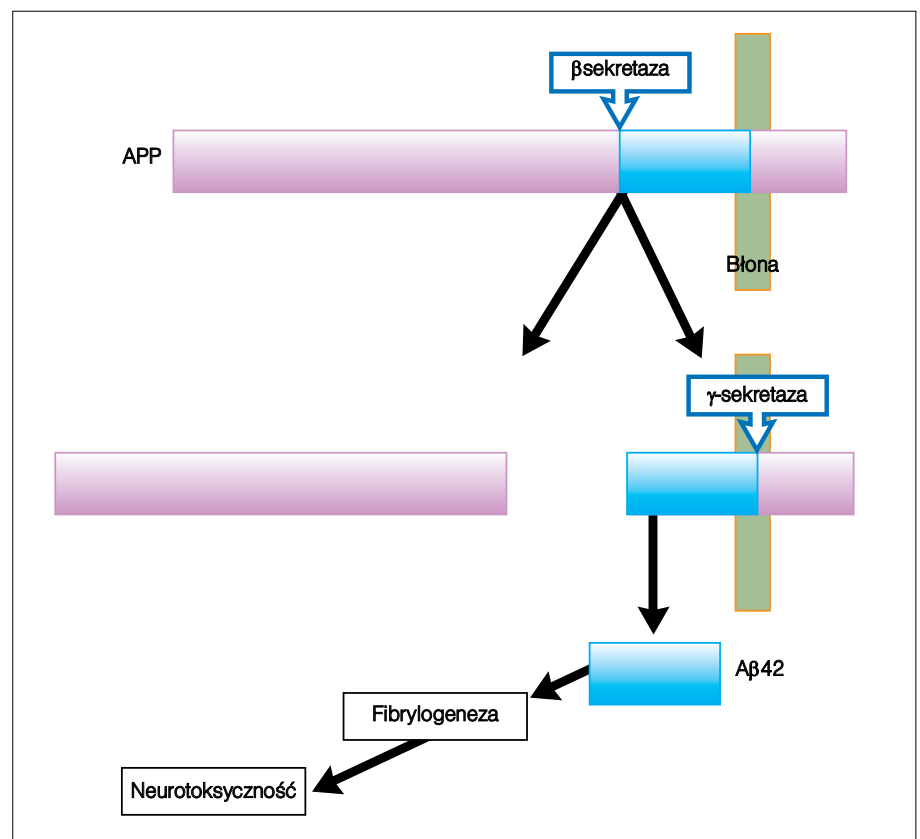
Jednym z problemów wynikających z analizy tych wyników jest relacja czasowa, w jakiej pozostają względem siebie procesy neuropatologiczne pojawiające się w przebiegu choroby Alzheimera. Zaproponowano, że objawy toksyczne związane z obecnością A β stanowią wczesny etap zmian patofizjologicznych związanych z chorobą Alzheimera, przy czym równocześnie rozpoczynają się procesy neurodegeneracyjne o innym charakterze, które mogą trwać nadal, nawet jeśli A β został usunięty. Omawiane rezultaty badań dotyczących immunoterapii są szczególnie istotne, w kontekście pytania, czy można wiązać nadzieje na zastosowanie kliniczne takiej strategii terapeutycznej w przyszłości?

Usuwanie amyloidu indukowane przez szczepionkę AN1792 uważa się, za wynik aktywności przeciwciał, natomiast przypadki zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu wydają się wynikiem działania układu odporności komórkowej.

Inną metodą terapeutyczną, która jest przedmiotem intensywnych badań jest próba zastosowania przeciwciał monoklonalnych skierowanych bezpośrednio przeciwko A β (bierna immunizacja). Bierna immunizacja ma kilka zalet w porównaniu z aktywną immunizacją. Przeciwciała monoklonalne mogą być zbudowane w taki sposób, ażeby wiązać A β w określonym miejscu, ograniczając przez to odpowiedź komórkową, ponadto, ilość przeciwciał podawanych pacjentowi może być standaryzowana i regulowana a ich stosowanie może być wstrzymane, jeżeli dojdzie do pojawienia się działań niepożądanych. Bapineuzumab jest humanizowanym przeciwciałem monoklonalnym skierowanym przeciwko A β , znajdującym się obecnie w badaniach klinicznych III fazy. Wyniki pochodzące z badania II fazy, w którym udział wzięło 234 pacjentów, przedstawione na International Conference on Alzheimer's Disease w 2008 roku okazały się negatywne. Natomiast analiza *post-hoc* wykazała istotną statystycznie korzyść uzyskaną w grupie pacjentów, którzy ukończyli badanie i otrzymali wszystkie sześć zaplanowanych podań, a także u 33% pacjentów, którzy nie mieli

RYCINA

Aktywność sekretaz wobec białka prekursora amyloidu



APP – białko prekursor amyloidu, Ab – białko b-amyloidu.

Burke WJ, Padala PR, Murman DL. *Primary Psychiatry*. Vol 16, No 6. 2009.

allelu ApoE4 („noncarriers”). U dwunastu badanych wystąpił obrzęk naczyń pochodny, Wszystkie przypadki obserwowano w grupie otrzymującej leczenie i we wszystkich przypadkach nastąpiło wycofanie się objawów (u jednego z chorych zastosowano leczenie steroidami). Dziesięciu spośród 12 badanych, u których wystąpił obrzęk naczyń pochodny było nosicielami allelu ApoE4, a ośmiu spośród nich należało do grupy otrzymującej najwyższą dawkę przeciwciała monoklonalnego.³¹ Obrzęk naczyń pochodny może być zaobserwowany w MRI pod postacią obszarów podwyższonego sygnału w istocie białej przy zastosowaniu opcji obrazowania z tłumieniem sygnału wolnego płynu (FLAIR). Mechanizm, w jakim dochodzi w omawianych przypadkach do powstania obrzęku naczyń pochodnego nie jest całkowicie jasny, chociaż prawdopodobne wydają się zmiany w przepuszczalności naczyń (tj. nasilona przepuszczalność naczyń włosowatych w obrębie mózgu) związane z oddziaływaniem pomiędzy przeciwciałami a antygenami. Obrzęk naczyń pochodny ma często przebieg bezobjawowy lub wiązać się może z występowaniem objawów przejściowych, takich jak nasilone splątanie, senność, bóle i zawroty głowy. Sekwencyjnie wykonywane badania MRI wykazały, że wraz z upływem czasu, cechy obrzęku naczyń pochodnego zwykle ustępowały. W celu ograniczenia ryzyka rozwoju obrzęku naczyń pochodnego, badania III fazy, w grupach nosicieli allelu ApoE4, prowadzone są oddzielnie i przy zastosowaniu mniejszych dawek leku, przetestowanych wcześniej w badaniach II fazy.

Inną metodą immunoterapii, która początkowo charakteryzowała się niewielką skutecznością było zastosowanie dożylnie immunoglobulin (IVIg), będących mieszaniną ludzkich przeciwciał klasy IgG, która zawiera 90% wszystkich przeciwciał klasy i podklasy IgG.³² Pośród tych przeciwciał znajdują się również te skierowane przeciwko Aβ. Wyniki pochodzące z małego badania II fazy³³ przeprowadzonego z udziałem 24 badanych z chorobą Alzheimera o łagodnym lub umiarkowanym nasileniu wykazały skuteczność 9-miesięcznej terapii w odniesieniu do pierwotnych punktów końcowych badania. Badanie III fazy jest w toku.

Zapobieganie tworzeniu się włókien

Wykazano, że nie wszystkie formy amyloidu są jednakowo toksyczne. Aβ powstaje w wyniku obróbki APP a jego pierwotna postać występująca w formie rozpuszczalnej, wydaje się stosunkowo nietoksyczna. Kiedy Aβ grupuje się tworząc oligomery (rozpuszczalne postacie kilku cząsteczek amyloidu połączone razem) przyjmuje postać fibrylarną, która nabiera cech toksyczności. Stąd też badaniom podano także metody, które zapo-

biegają fibrylizacji Aβ do nierozpuszczalnej postaci o strukturze β-harmonijki. Jeden ze związków chemicznych sklasyfikowany jako inhibitor fibrylogenezy, tramiprosat (zmodyfikowana postać tauryny),³⁴ nie wykazał jednak żadnej skuteczności klinicznej ocenianej w badaniu klinicznym III fazy, dlatego zaprzestano rozwoju tej substancji jako leku, natomiast producent homotauryny promuje go jako suplement diety.³⁵

Hamowanie aktywności sekretaz

Hamowanie BACE jawi się jako obiecująca strategia postępowania leczniczego, ponieważ APP wydaje się pojedynczym substratem tego enzymu. U myszy z wyłączonym genem *BACE* stężenie Aβ jest nieoznaczalne i równocześnie nie stwierdza się żadnych istotnych deficytów. Połączenie tych faktów sugeruje, że związki, których działanie byłoby nastawione na hamowanie *BACE*, powodujące obniżenie poziomu Aβ mogłyby być dobrze tolerowane klinicznie.³⁶ Niestety, badania kliniczne pozostają opóźnione w eksplorowaniu tego tematu z powodu problemów z przenikalnością bariery krew-mózg oraz biodostępnością substancji, których działanie jest skierowane wobec *BACE*.

Alternatywnym sposobem postępowania leczniczego może być hamowanie γ-sekretazy. Taka strategia terapeutyczna stanowi jednak duże wyzwanie, ponieważ struktura tego enzymu jest znacznie bardziej złożona niż struktura *BACE* oraz dlatego, że jest ona odpowiedzialna za metabolizm innych, ważnych białek przezłonowych włączając w to białko Notch, odgrywające istotną rolę w różnicowaniu komórek wielu narządów.³⁷ Zidentyfikowano liczne i silne inhibitory γ-sekretazy, które nie są jednak swoiste w hamowaniu trawienia APP i działają także na inne substraty. Tak więc, hamowanie aktywności γ-sekretazy wobec APP musi być albo wysoce swoiste albo mniej swoiste natomiast trwające wystarczająco krótko, żeby zmniejszyć stężenie Aβ przy równoczesnym zachowaniu fizjologicznych funkcji białka Notch. Inhibitory γ-sekretazy weszły w fazę badań klinicznych, a co najmniej jeden spośród badanych związków prowadził do zmniejszenia osoczowego stężenia Aβ przy akceptowalnej tolerancji.³⁸ LY450139, będący inhibitorem γ-sekretazy znajduje się obecnie w badaniach III fazy. W badaniach II fazy, po okresie 20 tygodni leczenia zmniejszył on, osoczowe stężenia zarówno Aβ40 jak i Aβ42.³⁸

Hamowanie aktywności sekretaz APP jest szybko rozwijającym się obszarem badań i jest prawdopodobne, że wiele związków o takim profilu działania będzie poddanych badaniom. Związki te, nie tylko dają nadzieje na uzyskanie nowych metod leczenia choroby Alzheimera, ale dostarczają także dodat-

kowych danych, co do rzeczywistej wartości Aβ jako celu działań terapeutycznych.

Modyfikacja aktywności γ-sekretazy

Biorąc pod uwagę potencjalne problemy z hamowaniem aktywności γ-sekretaz, alternatywnym podejściem było działanie na substrat tego enzymu, w tym przypadku na miejsce APP, na które bezpośrednio działa γ-sekretaza.³⁹ Intencją takiego sposobu postępowania było zastosowanie związku blokującego miejsce cięcia przez enzym, w taki sposób, aby nie było one dostępne dla γ-sekretazy, niedopuszczając w ten sposób do powstania Aβ. Związki takie określane mianem molekularnie maskujących są odzwierciedleniem nowego podejścia do terapii.⁴⁰ Opisany mechanizm działania przypisywano tarenflurbilowi, który był badany jako związek selektywnie obniżający poziom amyloidu w leczeniu choroby Alzheimera.⁴¹ Niewielkie korzyści wynikające z zastosowania tarenflurbilu, obserwowane podczas badań II fazy, nie zostały jednak potwierdzone w trwających 18-miesięcy badaniach III fazy, gdzie nie zaobserwowano skuteczności tego związku dla któregośkolwiek z pierwszorzędowych punktów końcowych badania.⁴³ Związek ten nie jest więc przedmiotem dalszych badań chociaż wiele innych potencjalnych modulatorów o tym charakterze działania pozostaje do przetestowania.

Terapie oparte na zastosowaniu cynku i miedzi

Stwierdzenie, że zarówno miedź, jak i cynk odgrywają rolę w procesie przechodzenia rozpuszczalnej formy Aβ w formę oligomerów, doprowadziło do podjęcia badań nad związkami, które mogą hamować ten proces. Toksyczna postać oligomerów Aβ składa się z dimerów i trimerów powstałych z monomerów Aβ. Proces ten jest częściowo zależny od cynku i miedzi, które to metale, jak wykazano, znajdują się w dużych stężeniach w otoczeniu synaps zawierających pobudzające receptory dla N-metylo-D-asparagianu.⁴⁴⁻⁴⁶ Przypuszczano, że kliochoinol oraz nowszy PBT2, jako związki zdolne do tworzenia kompleksów z metalami, stwarzają możliwość wykorzystania ich w terapii. Z powodu ich małego powinowactwa do jonów metali, nie powinny także powodować zakłóceń w ich homeostazie.⁴⁴ Zaobserwowano ponadto, że osłabiają one także interakcje metal-białko nie mając przy tym cech chelatorów metali.

W niedawno przeprowadzonym badaniu dotyczącym bezpieczeństwa stosowania, PBT2 był testowany w grupie 78 osób.⁴⁴ Badani przyjmujący 250 mg PBT2 wykazywali, w odróżnieniu od otrzymujących placebo, istotne i zależne od dawki zmniejszenie stężenia Aβ42 w płynie mózgowo-rdzeniowym.

Uczestnicy badania przyjmujący 250 mg PBT2 przejawiali również istotną w porównaniu z grupą placebo poprawę w teście fluencji słownej i teście łączenia punktów w części B. Wśród uczestników badania przyjmujących PBT2, nie odnotowano w czasie jego trwania żadnych poważnych działań niepożądanych. Planuje się dalsze prowadzenie badań, zakrojonych tym razem na szerszą skalę.

Podsumowanie

A β pozostaje celem wielu metod terapeutycznych, zaprojektowanych w celu leczenia pacjentów z chorobą Alzheimera. Chociaż badania oparte na zastosowaniu aktywnej immunizacji zakończyły się przedwcześnie z przyczyn bezpieczeństwa, to jednak wyniki obserwacji wykazały korzyści płynące z usuwania blaszek amyloidowych. Nadzieje związane z immunoterapią oceniane są w badaniach klinicznych z zastosowaniem immunizacji biernej oraz IVIg. Hamowanie aktywności sekretaz jest obiecującą strategią postępowania, która jest intensywnie badana. Także związki modyfikujące γ -sekretazę oraz związki osłabiające oddziaływanie metali z białkami są oceniane, co do ich zdolności zmniejszenia gromadzenia amyloidu w mózgu. Kluczowym problemem pozostającym do rozwiązania jest ustalenie momentu, w którym należy zastosować opisywane środki. Być może, usunięcie złogów amyloidu w chwili, kiedy klinicznie rozpoznaje się objawy otępienia jest momentem zbyt późnym. Stąd też konieczne może być zastosowanie metod wymagających ich wdrożenia w okresie przed wystąpieniem objawów klinicznych, wymuszając tym samym potrzebę lepszej diagnostyki. Jak do tej pory jednak amyloid pozostaje nadal istotnym celem interwencji terapeutycznej.

Piśmiennictwo

- Hebert LE, Scherr PA, Bienias JL, Bennett DA, Evans DA. Alzheimer disease in the US population: prevalence estimates using the 2000 census. *Arch Neurol*. 2003;60(8):1119-1122.
- Perl DP. Neuropathology of alzheimer's disease and related disorders. *Neurol Clin*. 2000;18(4):847-864.
- Mirra SS, Heyman A, McKeel D, et al. The consortium to establish a registry for alzheimer's disease (CERAD). part II. standardization of the neuropathologic assessment of alzheimer's disease. *Neurology*. 1991;41(4):479-486.
- Newell KL, Hyman BT, Growdon JH, Hedley-Whyte ET. Application of the national institute on aging (NIA)-reagan institute criteria for the neuropathological diagnosis of alzheimer disease. *J Neuropathol Exp Neurol*. 1999;58(11):1147-1155.
- Braak H, Braak E. Neuropathological staging of alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol*. 1991;82(4):239-259.
- Braak H, Braak E. Evolution of neuronal changes in the course of alzheimer's disease. *J Neural Transm Suppl*. 1998;53:127-140.
- Terry RD, Masliah E, Salmon DP, et al. Physical basis of cognitive alterations in alzheimer's disease: Synapse loss is the major correlate of cognitive impairment. *Ann Neurol*. 1991;30(4):572-580.
- Thal DR, Griffin WS, de Vos RA, Ghebremedhin E. Cerebral amyloid angiopathy and its relationship to alzheimer's disease. *Acta Neuropathol*. 2008;115(6):599-609.
- Goate A, Chartier-Harlin MC, Mullan M, et al. Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial alzheimer's disease. *Nature*. 1991;349(6311):704-706.
- Levy-Lahad E, Wasco W, Poorkaj P, et al. Candidate gene for the chromosome 1 familial alzheimer's disease locus. *Science*. 1995;269(5226):973-977.
- Rogaev EI, Sherrington R, Rogaeva EA, et al. Familial alzheimer's disease in kindreds with missense mutations in a gene on chromosome 1 related to the alzheimer's disease type 3 gene. *Nature*. 1995;376(6543):775-778.
- Sherrington R, Rogaev EI, Liang Y, et al. Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial alzheimer's disease. *Nature*. 1995;375(6534):754-760.
- Hardy J, Selkoe DJ. The amyloid hypothesis of alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science*. 2002;297(5580):353-356.
- Dickson DW, Crystal HA, Mattiace LA, et al. Identification of normal and pathological aging in prospectively studied nondemented elderly humans. *Neurobiol Aging*. 1992;13(1):179-189.
- Klunk WE, Engler H, Nordberg A, et al. Imaging brain amyloid in alzheimer's disease with Pittsburgh compound-B. *Ann Neurol*. 2004;55(3):306-319.
- Ikonomic MD, Klunk WE, Abrahamson EE, et al. Post-mortem correlates of in vivo PiB-PET amyloid imaging in a typical case of alzheimer's disease. *Brain*. 2008;131(Pt 6):1630-1645.
- Lockhart A, Lamb JR, Osredkar T, et al. PIB is a non-specific imaging marker of amyloid-beta(abeta) peptide-related cerebral amyloidosis. *Brain*. 2007;130(Pt 10):2607-2615.
- Mintun MA, Larossa GN, Sheline YI, et al. [11C] PIB in a nondemented population: potential antecedent marker of Alzheimer disease. *Neurology*. 2006;67(3):446-452.
- Rowe CC, Ng S, Ackermann U, et al. Imaging beta-amyloid burden in aging and dementia. *Neurology*. 2007;68(20):1718-1725.
- Aizenstein HJ, Nebes RD, Saxton JA, et al. Frequent amyloid deposition without significant cognitive impairment among the elderly. *Arch Neurol*. 2008;65(11):1509-1517.
- George-Hyslop PS, Rossor M. Alzheimer's disease. unravelling the disease process. *Lancet*. 2001;358(suppl):S1.
- Bornebroek M, Kumar-Singh S. A novel drug target in alzheimer's disease. *Lancet*. 2004;364(9447):1738-1739.
- Schenk D, Barbour R, Dunn W, et al. Immunization with amyloid-beta attenuates alzheimer-disease-like pathology in the PDAPP mouse. *Nature*. 1999;400(6740):173-177.
- Bayer AJ, Bullock R, Jones RW, et al. Evaluation of the safety and immunogenicity of synthetic Abeta42(AN1792) in patients with AD. *Neurology*. 2005;64(1):94-101.
- Orgogozo JM, Gilman S, Dartigues JF, et al. Subacute meningoencephalitis in a subset of patients with AD after Abeta42 immunization. *Neurology*. 2003;61(1):46-54.
- Gilman S, Koller M, Black RS, et al. Clinical effects of Abeta immunization(AN1792) in patients with AD in an interrupted trial. *Neurology*. 2005;64(9):1553-1562.
- Fox NC, Black RS, Gilman S, et al. Effects of abeta immunization(AN1792) on MRI measures of cerebral volume in alzheimer disease. *Neurology*. 2005;64(9):1563-1572.
- Holmes C, Boche D, Wilkinson D, et al. Long-term effects of Abeta42 immunisation in alzheimer's disease: Follow-up of a randomised, placebo-controlled phase I trial. *Lancet*. 2008;372(9634):216-223.
- Boche D, Zotova E, Weller RO, et al. Consequence of Abeta immunization on the vasculature of human alzheimer's disease brain. *Brain*. 2008;131(pt 12):3299-3310.
- Grundman M, Black R. Clinical trials of bapineuzumab, a beta-amyloid-targeted immunotherapy in patients with mild to moderate alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2008;4(4):T166.
- Elan and Wyeth present encouraging results from phase 2 clinical trial of bapineuzumab at International Conference on Alzheimer's Disease. Available at: www.elan.com/News/full.asp?ID=1180940. Accessed April 27, 2009.
- Relkin NR, Szabo P, Adamiak B, et al. 18-month study of intravenous immunoglobulin for treatment of mild alzheimer disease. *Neurobiol Aging*. Feb 20, 2008. [Epub ahead of print]
- Tsakanikas D, Shah K, Flores C, Assuras S, Relkin N. Effects of uninterrupted intravenous immunoglobulin treatment of alzheimer's disease for nine months. *Alzheimers Dement*. 2008;4(4):T776.
- Aisen PS, Gauthier S, Vellas B, et al. Alzhemed: A potential treatment for alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res*. 2007;4(4):473-478.
- VIVIMIND. Available at: www.bellushealth.com/en/newsroom/?rkey=1609028453&view=96347-2&Start=0. Accessed April 27, 2009.
- John V. Human beta-secretase(BACE) and BACE inhibitors: progress report. *Curr Top Med Chem*. 2006;6(6):569-578.
- Evin G, Sernee MF, Masters CL. Inhibition of gamma-secretase as a therapeutic intervention for alzheimer's disease: Prospects, limitations and strategies. *CNS Drugs*. 2006;20(5):351-372.
- Fleisher AS, Raman R, Siemers ER, et al. Phase 2 safety trial targeting amyloid beta production with a gamma-secretase inhibitor in alzheimer disease. *Arch Neurol*. 2008;65(8):1031-1038.
- Kukar TL, Ladd TB, Bann MA, et al. Substrate-targeting gamma-secretase modulators. *Nature*. 2008;453(7197):925-929.
- Kodadek T. Biochemistry: molecular cloaking devices. *Nature*. 2008;453(7197):861-862.
- Aisen PS. Tarenflurbil: a shot on goal. *Lancet Neurol*. 2008;7(6):468-469.
- Wilcock GK, Black SE, Hendrix SB, et al. Efficacy and safety of tarenflurbil in mild to moderate alzheimer's disease: A randomised phase II trial. *Lancet Neurol*. 2008;7(6):483-493.
- Green RC, Schneider LS, Hendrix SB, Zavitz K, Swabb E. Effects of uninterrupted intravenous immunoglobulin treatment of alzheimer's disease for nine months. *Alzheimers Dement*. 2008;4(4):T165.
- Lannfelt L, Blennow K, Zetterberg H, et al. Safety, efficacy, and biomarker findings of PBT2 in targeting abeta as a modifying therapy for alzheimer's disease: A phase IIa, double-blind, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet Neurol*. 2008;7(9):779-786.
- Lee JY, Cole TB, Palmeter RD, Suh SW, Koh JY. Contribution by synaptic zinc to the gender-disparate plaque formation in human swedish mutant APP transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99(11):7705-7710.
- Schlieff ML, Craig AM, Gitlin JD. NMDA receptor activation mediates copper homeostasis in hippocampal neurons. *J Neurosci*. 2005;25(1):239-246.

Komentarz



**Prof. dr hab. n. med.
Jerzy Leszek**

Bardzo szybki postęp w zakresie biotechnologii i biologii molekularnej otępienia w ostatnim dziesięcioleciu umożliwił powstanie nowych strategii terapeutycznych ukierunkowanych bezpośrednio na mechanizmy patogenetyczne. Takie terapie obejmują immunoterapię i leki przeciwapagregacyjne, zapobiegające nieprawidłowemu fałdowaniu się i odkładaniu białek oraz interwencje neurodegeneracyjne. Leczenie farmakologiczne choroby Alzheimera (AD) ma jedynie wymiar terapii objawowej, uwzględniającej oddziaływanie mające na celu zmniejszenie zaburzeń w zakresie funkcji poznawczych, jak również zaburzeń psychicznych i zachowania związanych z otępieniem, to jest depresji, pobudzenia i objawów psychotycznych. Dotychczas nie udokumentowano jednoznacznie wpływu tego rodzaju terapii na naturalny przebieg choroby.

Od kilku lat uwaga szeregu badaczy skupia się na roli β -amyloidogenezy w patogeniezie choroby Alzheimera. Wprawdzie nie została dotychczas jednoznacznie udowodniona jej bezpośrednia przyczynowa rola w powyższym procesie, to złogi β -amyloidowe pozostają najbardziej obiecującym celem działań terapeutycznych. Praca Burke'a i wsp. przedstawia przegląd nowych, obiecujących strategii terapeutycznych AD

Katedra i Klinika Psychiatrii, Akademia Medyczna we Wrocławiu

odnoszących się do hipotezy amyloidowej. Badania na transgenicznych modelowych zwierzętach wykazały, że aktywna immunizacja peptydem $A\beta$ lub bierna przeciwciałami $A\beta$ może zmniejszyć powstawanie płytek amyloidowych na drodze aktywacji komórek mikroglejowych. Szczepionka zapobiegająca tworzeniu się złogów peptydowych $A\beta$ może okazać się prewencyjnym lekiem w chorobie Alzheimera. Szczepionka z β -amyloidu₄₂ opracowana przez firmę Elan (ANT 1792) została zastosowana jako pierwsza w badaniach klinicznych u ludzi. Niestety, druga faza badań klinicznych musiała być przerwana, gdyż u kilku pacjentów wystąpiło ropne zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu. Należy zgodzić się z autorami, że bierna immunizacja, sprowadzająca się do podania przeciwciał monoklonalnych, skierowanych bezpośrednio przeciwko $A\beta$ stanowi metodę bardziej obiecującą i bezpieczną w porównaniu z czynną immunizacją (szczepionką). Przeciwciałem monoklonalnym pozostającym obecnie w III fazie badań jest bapineuzumab. Wprawdzie nie obywa się bez działań niepożądanych (np. wystąpienie obrzęku naczyniopochodnego), ale dotychczas uzyskane wyniki terapii tym preparatem wydają się zachęcające.

Atrakcyjnym celem terapii AD wymienionym przez autorów tego doniesienia, jest strategia „łamacza” złogów β -amyloidu, stabilizująca strukturę α -helikalną, a destabilizująca strukturę beta, prowadząca do powstania depozytów amyloidowych.

Dużą uwagę zwracają również próby ukazania potencjalnych wartości wykorzystania inhibitorów sekretaz do celów terapii w chorobie Alzheimera. Zahamowanie aktywności γ -sekretazy pozwala na spadek

biosyntezy peptydów $A\beta$, zwłaszcza $A\beta_{42}$, najbardziej amyloidogennej i toksycznej izoformy peptydów. Inhibitory γ sekretazy otrzymane w Eli Lilly Research Laboratories zmniejszają stężenie peptydów $A\beta$ w osoczu zdrowych ludzi. Co najmniej jeden inhibitor γ -sekretazy (LY450139) znajduje się obecnie w badaniach III fazy. Inhibitory β - i α -sekretazy również są obecnie poddawane badaniom. Próby indukowania wzrostu aktywności α -sekretazy przez kinazę białkową C wydają się zachęcające (bryostatyn). Hamowanie aktywności syntazy kinazy-3 β wpływa na spadek hiperfosforyzacji białka tau i stabilizację mikrotubuli.

Autorzy podnoszą również rolę jonów metali w procesie przechodzenia rozpuszczalnej formy $A\beta$ w formę oligomerów. Jony metali (Cu, Zn, Fe, Ca) nie tylko bowiem katalizują zmianę konformacji $A\beta$ z α -helikalnej w nierozpuszczalną β -fałdowaną ale również indukują powstawanie wolnych rodników o działaniu neurotoksycznym. Złogi peptydów zawierają duże ilości metali, a ich usunięcie z tkanki mózgowej (np. przy zastosowaniu wymienionego w pracy klio chinolu) powoduje solubilizację $A\beta$.

Wymienione w pracy nowe możliwości leczenia choroby Alzheimera, w dużej mierze pozostające na etapie badań doświadczalnych lub leczenia eksperymentalnego, stanowią zapewne swoiste wyzwanie dla badaczy, wypracowują bowiem nowe spojrzenie na patogenezę tego schorzenia. Należy zgodzić się z autorami tego artykułu, że prawdopodobnie najbardziej optymalnym rozwiązaniem byłoby znalezienie takiego leku, który można byłoby podać w bezobjawowej fazie choroby. Wydaje się jednak, że droga do praktyki jest jeszcze daleka.