



Prof. dr hab. n. med. Urszula Fiszer
Klinika Neurologii i Epileptologii CMKP,
Warszawa

Progresja objawów choroby Parkinsona a neurobiologia aksonów

Hsiao-Chun Cheng, PhD,¹ Christina M. Ulane, MD, PhD,¹ Robert E. Burke, MD^{1,2}

¹Department of Neurology,
Columbia University Medical
Center, Nowy Jork, Stany
Zjednoczone

²Department of Pathology and
Cell Biology, Columbia
University Medical Center,
Nowy Jork, Stany Zjednoczone

Adres do korespondencji:
Dr Robert E. Burke, Department
of Neurology, Room 306,
Black Building, Columbia
University, 650 West 168th
Street, New York, NY 10032

e-mail: rb43@columbia.edu

Ann Neurol 2010; 67: 715-725

Neurologia po Dyplomie
2010; 5 (4): 49-60

Mimo imponującego postępu wiedzy na temat podstaw molekularnych choroby Parkinsona (PD), jak również zrozumienia szlaków molekularnych uszkodzenia komórek i ich śmierci w ciągu ostatnich lat, nadal nie ma skutecznego leku, który byłby w stanie zahamować progresję tej choroby. Niepowodzenie można wyjaśnić wieloma czynnikami, w tym również tym, że do tej pory terapie eksperymentalne w niewielkim stopniu koncentrowały się na jednym z ważnych elementów progresji choroby, czyli degeneracji aksonów. Nadal nie wiadomo jaka część neuronu – ciało komórki nerwowej czy akson – ulega uszkodzeniu na początku choroby. Niektórzy sugerują, że elementem, który bierze na siebie ciężar uszkodzenia, są aksony i ich zakończenia. Nie udało się jednak osiągnąć zgodności w tej kwestii i dlatego hipoteza sugerująca wczesny udział aksonów w procesie patogenetycznym choroby Parkinsona nie została formalnie włączona do zestawu aktualnych teorii patogenezы choroby. Ponadto, mimo coraz większej liczby dowodów, że mechanizmy molekularne degeneracji aksonów są odrębne i odmienne od kanonicznych szlaków programowanej śmierci komórki, prowadzących głównie do destrukcji ciała komórki nerwowej, nie uwzględniano tego faktu, a tym samym możliwości wczesnego zajęcia aksonów w PD. Skutkiem był brak zainteresowania neurobiologią aksonów w kontekście poszukiwania nowego celu terapii PD. Autorzy tego opracowania sugerują, że postępująca degeneracja aksonów, a nie ciało komórek nerwowych, jest pierwotnym czynnikiem determinującym kliniczną progresję choroby. Dlatego w przyszłych badaniach nad terapiami eksperymentalnymi mającymi na celu zahamowanie progresji choroby korzystne może być skoncentrowanie się na mechanizmach degeneracji aksonów.

Choroza Parkinsona (PD) jest prototypową chorobą neurodegeneracyjną o początku w wieku dorosłym. Przełomowe odkrycia w terapii tej choroby doprowadziły do istotnej klinicznie poprawy jakości życia chorych. Stało się tak dzięki lewodopie, a później również dzięki głębokiej stymulacji mózgu, która jest skuteczną terapią uzupełniającą.^{1,2} Mimo tych niewątpliwych osiągnięć nadal nie można zaoferować leczenia, które zahamowałoby postęp choroby. W tym kontekście leczenie choroby Parkinsona nie odbiega od terapii innych chorób neurodegeneracyjnych. Pod koniec dekady mózgu (1990-2000) pojawiła się nadzieja, że bliskie jest odkrycie leczenia, które zahamuje postęp tej choroby.³ Po 10 latach nadal jednak nie przybliżono się do wyznaczonego celu, mimo znacznego postępu wiedzy w dziedzinie podstaw molekularnych i genetycznych PD oraz śmierci neuronów. Dlaczego więc tak istotny cel kliniczny, jakim jest zahamowanie postępu PD, pozostaje mimo wielu starań wciąż poza zasięgiem? Powodów może być

wiele.⁴ Opracowanie leków modyfikujących przebieg choroby ograniczają dalekie od ideału modele zwierzęce PD i złożone projekty badań klinicznych.

Na poziomie molekularnym odkrycie, że neurodegeneracja jest autonomicznym, ściśle kontrolowanym procesem programowanej śmierci komórki (programmed cell death, PCD),⁵ wzbudziło nadzieję na opracowanie terapii neuroprotektoryjnych. Wydaje się, że jeśli neurodegeneracja jest faktycznie zorganizowanym procesem PCD, możliwe jest ingerowanie w niego, nawet gdy czynnik zapoczątkowujący pozostaje nieznan. Jest wiele bardzo wyraźnych przykładów eksperymentalnych zapobiegania śmierci neuronów przez blokadę PCD, nawet po zadziałaniu najbardziej destrukcyjnych neurotoksyn. Ta uderzająca dysproporcja między ogromnym wpływem neuroprotektoryjnym z jednej strony i całkowitym niepowodzeniem podejścia antyapoptotycznego w badaniach klinicznych^{4,6} jest bardzo frustrująca i zaskakująca. Z drugiej strony, taka dysproporcja może sugerować potrzebę innego nowego podejścia.

W wielu badaniach eksperymentalnych wykazano, że bardzo wyraźnej ochronie ciał komórek nerwowych, uzyskiwanej dzięki blokowaniu PCD, nie towarzyszyła neuroprotekcja na poziomie aksonalnym.⁷⁻¹⁰ Ta dysproporcja nie jest czymś niespodziewanym, ponieważ istnieją mocne dowody, że kanoniczne szlaki PCD odgrywają mniejszą rolę w degeneracji aksonalnej.^{11,12} Wśród badaczy procesów prowadzących do śmierci komórek powszechnie znana jest koncepcja, że destrukcja ciała komórki nerwowej na drodze PCD przebiega w mechanizmach całkowicie odrębnych i odmiennych niż destrukcja aksonów. Ta ostatnia bywa nazywana niekiedy „programowaną śmiercią aksonów”.¹³ Jednak procesowi „programowanej śmierci aksonów” nie poświęca się wystarczającej uwagi w dyskusjach na temat możliwych strategii terapeutycznych. Jest to szczególnie zaskakujące, jeśli weźmie się pod uwagę liczbę badaczy popierających teorię, że na początku PD proces patologiczny dotyczy zakończeń aksonalnych. Celem autorów jest zwrócenie uwagi na mechanizmy degeneracji aksonalnej w poszukiwaniach możliwego leczenia neuroprotektoryjnego PD.

Jak choroba postępuje we wnętrzu neuronów?

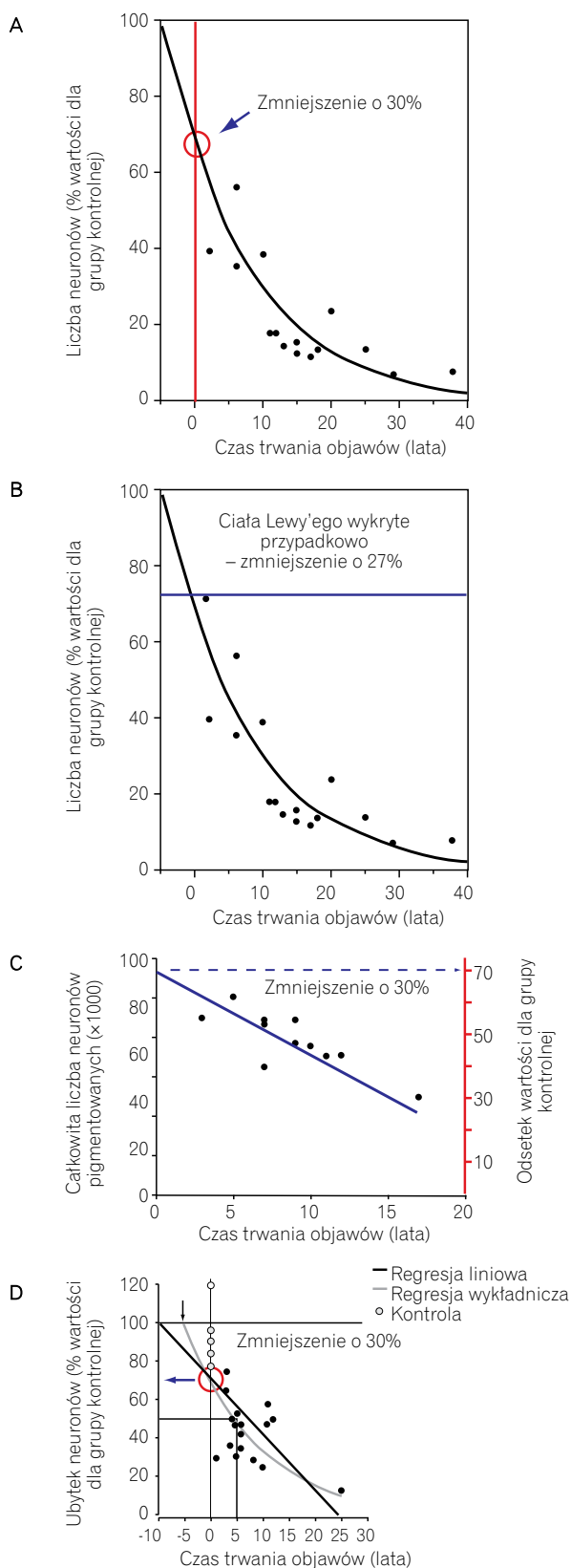
W przebiegu PD z czasem dochodzi zarówno do degeneracji aksonów, jak i ciał komórek nerwowych. Bez odpowiedzi pozostaje jednak pytanie, w jakim miejscu komórki (przedziały/kompartmencie) zostaje zapoczątkowany ten proces? Czy dysfunkcja rozpoczyna się w ciele komórki nerwowej i powoduje następczą degenerację aksonów, czy też dysfunkcja bierze początek w zakończeniu nerwowym lub wewnątrz aksonu, kiedy jeszcze ciało komórki jest zdrowe, a następnie wstecznie powoduje jego degenerację. Sekwencja zdarzeń jest kluczowa dla opracowania terapii neuroprotektoryjnych, ponieważ najwcześniejsza możliwa interwencja może zapobiec wtórnym

powikłaniom, w tym procesom degeneracji. Na tym etapie podstawowe pytanie dotyczy zatem miejsca, w którym zaczyna się choroba na poziomie komórkowym. Należy podkreślić, że różni się ono znacząco od pytania o lokalizację procesu chorobowego w mózgu na poziomie strukturalnym. Sugeruje się, że PD rozpoczyna się w rejonie grzbietowego jądra ruchowego nerwu błędnego i rejonie opuszek węchowych.¹⁴ Ta koncepcja jest jednak dość kontrowersyjna¹⁵⁻¹⁷ i nie ma bezpośredniego związku z początkowymi zdarzeniami zachodzącymi w komórkach. Oceniając dowody odnoszące się do kompartmentu komórkowego, w którym rozpoczyna się PD, autorzy opierają się głównie na danych dotyczących dopaminergicznego układu nigrostriatalnego, ponieważ jest on najszerszej badany w kontekście PD. Nie zamierzają jednak tym samym skoncentrować się na szlakach dopaminergicznych jako wyłącznie zaangażowanych w proces chorobowy. Przeciwnie, dobrze wiadomo, że w PD uszkodzenie obejmuje także niedopaminergiczne, niekatecholaminergiczne i niezwiązane z ruchem układy neuroprzekaznikowe.¹⁸ Wnioski dotyczące sekwencji zdarzeń w nigrostriatalnym układzie dopaminergicznym można będzie jednak prawdopodobnie odnieść do innych układów niezwiązanych z ruchem.

SZACOWANIE UBYTKU NEURONÓW SN NA POCZĄTKU CHOROBY

W większości prac przeglądowych na temat PD podaje się, że objawy ruchowe pojawiają się, gdy zniszczeniu ulega około 50% neuronów dopaminergicznych w istocie czarnej (substantia nigra, SN).^{19,20} Niektóre dane szacunkowe sugerują również ubytek sięgający 60-70%.^{21,22} Najczęściej cytowaną pracą dotyczącą zmniejszenia liczby neuronów SN jest publikacja Fearnleya i Leesa.²³ Przeprowadzona przez nich analiza regresji dla związku pomiędzy utratą neuronów w istocie czarnej a czasem trwania PD wskazywała, że w chwili pojawienia się objawów choroby, po uwzględnieniu wieku, ubytek ten wynosi 31% (ryc. 1A). Te dane są zgodne z innymi obserwacjami tych autorów u osób z przypadkowo wykrytymi ciałami Lewy'ego (incidental Lewy bodies, ILB), które mogą reprezentować przedkliniczne stadia PD. Stwierdzili oni, że u badanych z ILB, przy braku wyraźnych objawów klinicznych choroby, po uwzględnieniu wieku, ubytek neuronów istoty czarnej wynosi 27% (ryc. 1B).

Następne ilościowe badania morfologiczne potwierdziły około 30% ubytek wszystkich neuronów w SN.^{24,25} Ma i wsp. w badaniach sekcyjnych analizowali związek między całkowitą liczbą neuronów SN a czasem trwania choroby (ryc. 1C). Ekstrapolowanie ich analizy regresji liniowej na czas „0” potwierdziło zachowanie około 70% neuronów dopaminergicznych w porównaniu do grupy kontrolnej. Po analizie gęstości neuronów SN w danej objętości Greffard i wsp. wykazali, że zarówno dla regresji liniowej, jak i wykładniczej w czasie pojawienia się objawów ruchowych ubytek neuronów istoty czarnej wynosi około 30%.²⁵ Zatem można stwierdzić, że wyniki badań są zgodne co do ubytku około 30% neuronów SN, w porównaniu do odpowiednio dobranej pod względem wieku grupy kontrolnej, w chwili pojawienia się pierwszych objawów ruchowych PD.

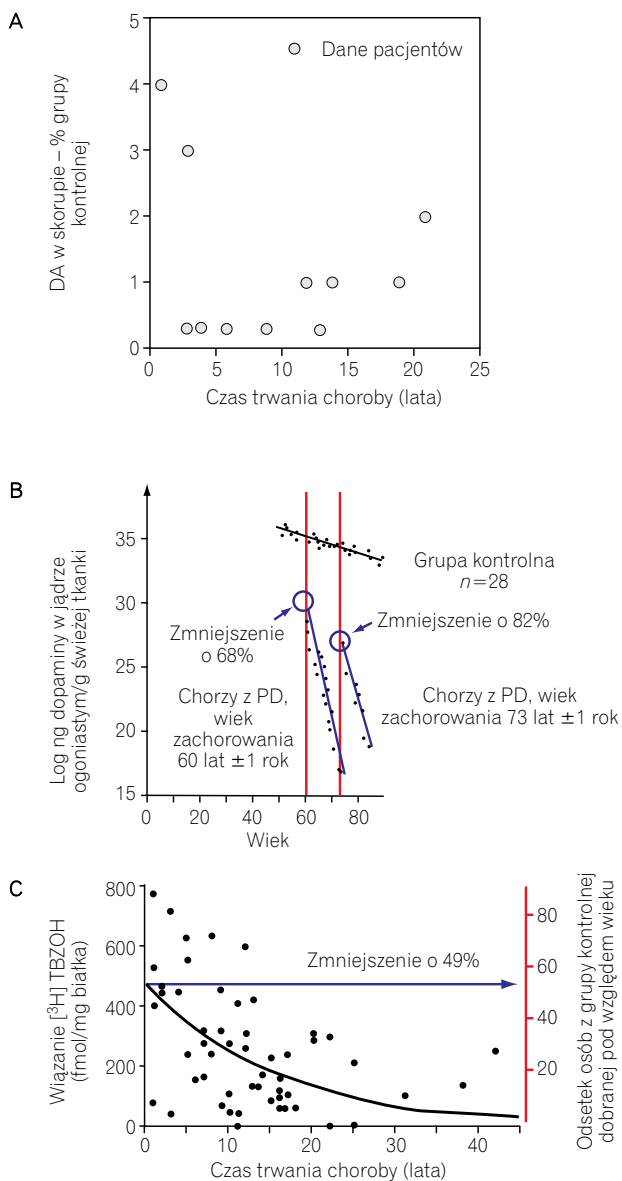


SZACOWANIE UTRATY PRAŻKOWIOWYCH ZAKOŃCZEŃ DOPAMINERGICZNYCH NA POZĄTKU CHOROBY

Praca Bernheimera i wsp.²⁶ jest często cytowana dla poparcia twierdzenia, że objawy ruchowe choroby Parkinsona pojawiają się, gdy stężenie dopaminy w obrębie prążkowiec lub skorupy zmniejszy się o około 80%.^{19,22} W badaniu Bernheimera nie zawarto jednak użytecznych informacji dla tego rodzaju obliczeń. Tylko 39 z 64 badanych pacjentów miało PD, a spośród nich tylko u 13 oceniano stężenie dopaminy w mózgu. Nie przeprowadzono analizy ilości dopaminy jako funkcji czasu trwania choroby ani analizy regresji. Zamieszczone dane są więc zbyt skąpe i niejednorodne, by na ich podstawie dokonać takich obliczeń (ryc. 2A). Riederer i Wuketich analizowali dane dla pośmiertnych stężeń dopaminy w jądrze ogoniastym w zależności od zaawansowania choroby.²⁷ Oceniali oni dwie kohorty pacjentów: pierwszą złożoną z 27 chorych, u których choroba rozpoczęła się w 60 ± 1 roku życia, i drugą składającą się z 12 chorych, u których objawy pojawiły się w wieku $73 \text{ lat} \pm 1$ rok. Jak pokazano na rycinie 2B, ekstrapolowanie uzyskanych wyników na czas zachorowania pozwoliło na wykazanie, że w czasie pojawienia się objawów choroby zmniejszenie stężenia dopaminy w jądrze ogoniastym, w porównaniu do dobranej pod względem wieku grupy kontrolnej, wynosiło dla tych grup odpowiednio 68 i 82%.

Badania pośmiertne dotyczące stężeń dopaminy budzą wątpliwości w związku z możliwym wpływem czasu upływającego od śmierci do badania stężenia dopaminy. W rozwiązaniu tego problemu pomogła analiza miejsc wiązania pęcherzykowego transportera monoamin przez trytowaną dihydrotetabenazynę ($[^3\text{H}] \text{TBZOH}$).²⁸ Wiązanie $[^3\text{H}] \text{TBZOH}$ w jądrze ogoniastym post mortem analizowali Scherman i wsp. u 57 pacjentów z PD i 49 osób z grupy kontrolnej. Stwierdzili oni, że objawy motoryczne w PD pojawiają się, gdy dochodzi do około 50% zmniejszenia wiązania w porównaniu do poziomów oszacowanych dla osób zdrowych w tym samym wieku (ryc. 2C).²⁸ W obu badaniach, podsumowanych na rycinach 2B i 2C, dane dotyczą jądra ogoniastego. W badaniu Schermana wyraźnie większy spadek stwierdzano jednak

RYCINA 1. Szacowanie ubytku neuronów dopaminergicznych w istocie czarnej (SN) w momencie pojawienia się objawów choroby Parkinsona. **(A)** Fearnley i Lees²³ analizowali liczbę pigmentowanych komórek w SN w zależności do czasu trwania objawów choroby oraz przeprowadzili analizę regresji w oparciu o wykładniczy spadek ich liczby. Oszacowali, że ubytek tych neuronów wynosi ogółem około 30%, po uwzględnieniu wieku. **(B)** Opierając się na tych ustaleniach, określili oni również 27% podprogowy ubytek neuronów u osób z przypadkowo stwierdzonymi ciałami Lewy'ego. **(C)** Podobne dane szacunkowe uzyskali również Ma i wsp. w swoich badaniach sekcyjnych dotyczących pigmentowanych neuronów w SN.²⁴ Analiza regresji liniowej ich danych z ekstrapolowaniem wyników na czas pojawienia się pierwszych objawów choroby pozwoliła na ustalenie, że ubytek neuronów dopaminergicznych w tym momencie wynosił około 30%. **(D)** Greffard i wsp. dokonywali obliczeń liczby neuronów dopaminergicznych w części zbitej istoty czarnej i obliczali ich gęstość w jednostce objętości. Stosując analizę najlepszego dopasowania albo funkcji liniowej, albo krzywej ujemnego rozkładu wykładniczego ustalili oni, że w chwili pojawienia się objawów choroby ubytek neuronów wynosi około 30%.²⁵



RYCINA 2. Szacowanie spadku wiązania markera dopaminergicznych zakończeń nerwowych (DA) po pojawieniu się pierwszych objawów choroby. **(A)** Prezentacja graficzna danych z cytowanego wyżej badania Bernheimera i wsp. stanowiącego poparcie dla twierdzenia, że redukcja ta w czasie pojawienia się pierwszych objawów choroby wynosi 80%.²⁶ W badaniu Bernheimera analizy biochemiczne przeprowadzono na materiale otrzymanym od 13 chorych z rozpoznaną chorobą Parkinsona (PD). Nie przeprowadzono analizy regresji logistycznej. **(B)** Reider i Wuketich oceniali stężenia DA w członków dwóch kohort chorych z PD: pierwszej złożonej z pacjentów, u których choroba rozpoczęła się w wieku 60 lat ± 1 rok i drugiej składającej się z pacjentów o początku choroby w wieku 73 lat ± 1 rok. Ekstrapolowanie tych wyników wstecz wykazało 68 i 82% zmniejszenie stężenia DA w jądrze ogoniastym, odpowiednio w młodszej i starszej grupie. **(C)** Scherman i wsp. w badaniach post mortem analizowali wiązanie - dihydrotetrabenazyny (³H) TBZOH) do pęcherzykowego transportera monoamin w jądrze ogoniastym osób z PD.²⁸ Analiza regresji wielomianowej wykazała 49% zmniejszenie liczby miejsc wiązania w momencie wystąpienia pierwszych objawów choroby.

w skorupie. Na podstawie analizy przeprowadzonej przez Ki-sha i wsp.²⁹ można podejrzewać, że ubytek dopaminy na początku choroby będzie większy w skorupie niż w jądrze ogoniastym. Wydaje się zatem, że obliczony dla jądra ogoniastego ubytek markera dopaminergicznego prowadzi prawdopodobnie do niedoszacowania całkowitej utraty neuronów dopaminergicznych w prążkowiu.

Dodatkowe informacje na temat nasilenia uszkodzenia prążkowia w czasie pojawienia się objawów choroby można uzyskać z badań nad ILB. Za koncepcją, że chorzy z ILB (tzn. z ciałami Lewy'ego [LB] w mózgu, ale bez objawów klinicznych parkinsonizmu lub otępienia) mogą reprezentować przedkliniczną fazę PD przemawia badanie Fearnleya i Leesa.²³ Podobne wyniki uzyskali również Ross i wsp.,²⁰ którzy obserwowali istotny 17% spadek gęstości neuronów w SN chorych z ILB. Przeprowadzone przez Beacha i wsp. badania mózgow osób z ILB wykazało 50% zmniejszenie stężenia hydroksylazy tyrozyny (TH) w skorupie.³⁰

Liczba pozostających w SN neuronów nie zależy od czynników wpływających na zachowanie tkanek po śmierci, jednak analizy biochemiczne są od niego ściśle zależne. Podaje to w wątpliwość wyniki wykazujące większy ubytek markera dopaminergicznego niż neuronów SN, sugerując jednocześnie, że może to być artefakt spowodowany analizą pośmiertną. Warto zatem rozważyć analizę wiązania radioliganda będącego markerem neuronów dopaminergicznych w prążkowiu *in vivo*. W wielu badaniach radiologicznych analizowano związek pomiędzy ubytkiem markera dopaminergicznego a pojawieniem się objawów ruchowych. W opracowaniu autorów uwzględniono tylko te badania, w których korzystano z analizy regresji z ekstrapolowaniem wyników na czas zachorowania, jak również badania u pacjentów z objawami jednostronnymi (na przykład stadium I według Hoehn i Yáhra), w których porównywano ubytek neuronów po stronie dotkniętej chorobą z niezajętą chorobą stroną przeciwną (tabela). W badaniach tych korzystano z trzech różnych radioligandów: [¹⁸F] lewodopy w celu oceny metabolizmu lewodopy, ligandów transportera dopaminy lub ligandów pęcherzykowego transportera monoamin (Nandhagopala i wsp.³¹). Szacunkowa utrata zakończeń dopaminergicznych w momencie zachorowania jest mniejsza w badaniach z zastosowaniem [¹⁸F] lewodopy (20-50% w skorupie) w porównaniu z uzyskanymi dla innych ligandów (50-70% w skorupie). Sugeruje się, że kompensacyjny wzrost stężenia dekarboksylazy kwasów aromatycznych może prowadzić do niedoszacowania utraty zakończeń dopaminergicznych w badaniach z wykorzystaniem pozytonowej tomografii emisyjnej z [¹⁸F] dopą.^{31,32} Jeśli ograniczono by się do szacunkowych ocen ubytku neuronów uzyskanych za pomocą innych ligandów, wówczas wartości 50-70% korespondowałyby z 50% ubytkiem stwierdzanym w badaniach pośmiertnych przy użyciu [³H] TBZOH (ryc. 2)²⁸ i analizą stężenia białka TH u pacjentów z ILB.³⁰

Podsumowując, wyniki dostępnych badań sugerują, że w czasie pojawienia się pierwszych objawów ruchowych zakres utraty markerów dopaminergicznych w prążkowiu lub

TABELA. BADANIA NEUROOBRAZOWE W CHOROBIE PARKINSONA DOTYCZĄCE UBYTKU DOPAMINY W PRAŻKOWIU I SKORUPIE W MOMENCIE POJAWIENIA SIĘ PIERWSZYCH OBJAWÓW CHOROBY

Autor	Rok	Numer	Technika	Ligand	Prażkowie (% ubytku)	Skorupa (% ubytku)	Analiza
Metabolizm L-dopy							
Morrish i wsp.	1995	11	PET	[¹⁸ F] Dopa	–	20-43	HY I (ipsi- vs kontralateralnie)
Morrish i wsp.	1998	32	PET	[¹⁸ F] Dopa	–	25	Regresja
Lee i wsp. ³²	2000	13 (HY I)	PET	[¹⁸ F] Dopa	–	38-52	HY I (ipsi- vs kontralateralnie)
Hilker i wsp.	2005	31	PET	[¹⁸ F] Dopa	–	31	Regresja
Wiązanie transportera dopaminy							
Tissingh i wsp.	1998	8 (HY I)	SPECT	[¹²³ I]β-CIT	39-51	51-64	HY I (ipsi- vs kontralateralnie)
Lee i wsp. ³²	2000	13 (HY I)	PET	[¹¹ C] MP	–	56-71	HY I (ipsi- vs kontralateralnie)
Schwarz i wsp.	2004	6	SPECT	[¹²³ I] IPT	43	56	Regresja
Wiązanie pęcherzykowego transportera monoamin							
Lee i wsp. ³²	2000	13 (HY I)	PET	[¹¹ C] DTBZ	–	51-62	HY I (ipsi- vs kontralateralnie)

W każdym badaniu, stopień ubytku zakończeń dopaminergicznych w całym prążkowie lub skorupie była oceniana zarówno za pomocą analizy regresji logistycznej z wstępnym ekstrapolowaniem wyników do czasu = 0 lub poprzez ustalenie, u pacjentów z jednostronnymi objawami choroby Parkinsona (stadium I Hoehn-Yahra [HY I], tożsamościowego ubytku (ipsi) w stosunku do objawów, a następnie porównanie go ze stroną przeciwną do objawów. PET – pozytonowa tomografia emisyjna. SPECT – tomografia emisyjna pojedynczego fotonu. β-CIT – 2β-karboksymetoksy-3β-(4-jodofenyl), MP – metylfenidat, IPT – N-(3-jodopropen-2-yl)-2β-karbometoksy-3β-(chlorofenyl), DTBZ – dihydrotetabenazylna.

skorupie jest większy niż ubytek neuronów SN. Wniosek ten jest zgodny z obserwacjami, że chociaż w chwili śmierci, w zależności od czasu trwania choroby, stwierdza się 60-80% ubytek neuronów dopaminergicznych SN,^{23,33} znacznie wyraźniejszy jest ubytek markerów w prążkowie i skorupie.^{26,28,29} Można nadal argumentować, że porównania takie są niemożliwe ze względu na różnice w zastosowanych technikach, badanych strukturach i uwzględniania wpływu wieku. Niewątpliwie potrzebne jest bezpośrednie porównanie zakresu patologii aksonalnej do ubytku neuronów w mózgu osób chorujących na PD. Wstępne wyniki badań sugerują, że takie porównania potwierdzają wczesną i dominującą utratę prążkowiowych aksonów dopaminergicznych.³⁴ Biorąc jednak pod uwagę ograniczenia dotychczasowych badań post mortem, warto rozważyć przeprowadzenie niezależnych badań na temat wczesnego objęcia aksonów procesem chorobowym z wykorzystaniem modeli genetycznych.

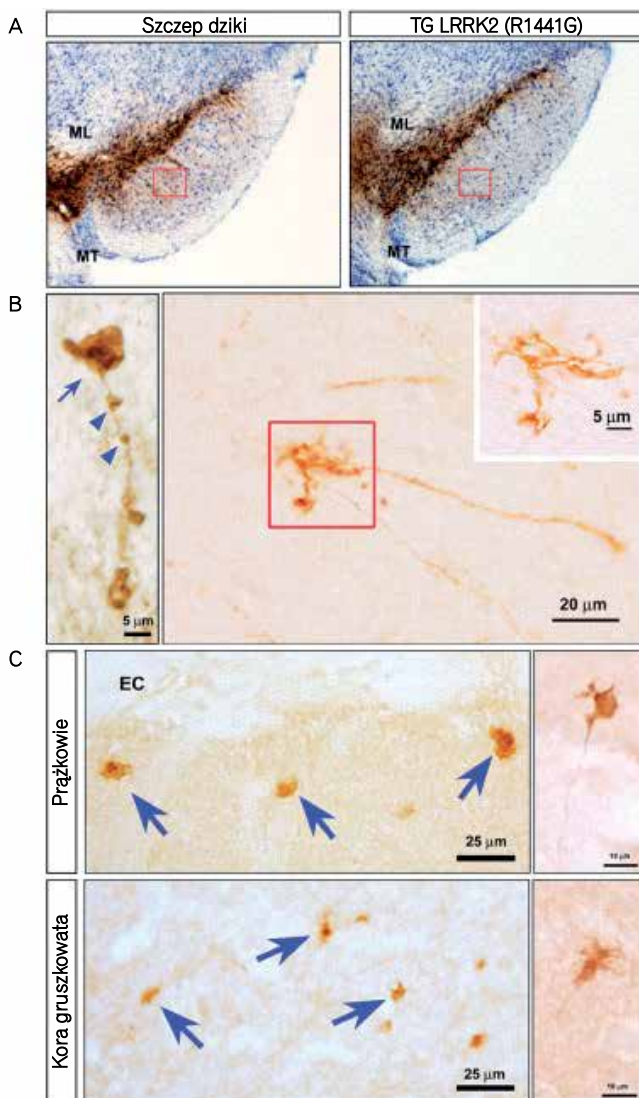
WCZESNE ZAJĘCIE AKSONÓW W PD: DOWODY Z BADAŃ GENETYCZNYCH

Odkrycie mutacji genów dla α-synukleiny, które odpowiadają za rozwój choroby, wywarło duży wpływ na zrozumienie patogenezy PD (Cookson³⁵). Ich znaczenie wzrosło jeszcze bardziej, kiedy odkryto, że białko α-synukleiny jest głównym składnikiem ciał Lewy’ego (LB).³⁶ Wraz z opracowaniem czułych przeciwciał przeciwko α-synukleinie łatwiejsze stało się poszukiwanie LB w materiale sekcyjnym, a same LB stały się przedmiotem większego zainteresowania. Łatwość wykrywania LB jest spowodowana nie tylko dostępnością czułych przeciwciał przeciwko α-synukleinie, ale również ich wyraźną obecnością wewnątrz komórek oraz tendencją do koncentrowania się w podatnych komórkach jąder podkorowych. Ła-

twość wykrywania LB nie powinna być jednak jednoznaczna z ich znaczeniem patogenetycznym. Ukierunkowanie badań na wykrywanie patologii α-synukleiny w aksonach za pomocą wyrafinowanych metod immunohistochemicznych³⁷ lub swoistych czynników immunoreaktywnych^{38,39} powoduje, że wykrywanie LB w tym miejscu staje się również dość łatwe. Uderzająco większą liczbę agregatów synukleinyowych zlokalizowanych nie w ciałach komórek, ale w neuropilu komórek pochodzących z mózgow osób z otępieniem z LB (DLB), wykrywa się przy użyciu nowej techniki oznaczania, w której zatopione w parafinie skrawki tkanek poddaje się wstępnemu trawieniu.⁴⁰ Ponadto w badaniach mózgow chorych z DLB wykazano, że większość niewielkich złożeń α-synukleiny jest uwięziona w zakończeniach presynaptycznych.⁴⁰ Istnieją zatem niezbita dowody na obecność patologii α-synukleiny w aksonach i zakończeniach presynaptycznych, co jest z kolei zgodne z obserwacjami, że jej prawidłową lokalizacją są przede wszystkim zakończenia presynaptyczne.

Dotychczas celem niewielu badań było ustalenie sekwencji powstawania patologii synukleiny na poziomie komórkowym. W jednym z nich Orimo i wsp. wykorzystali obserwowaną w PD tendencję do uszkodzenia obwodowych neuronów autonomicznych i ich aksonów w celu określenia sekwencji powstawania kolejnych zdarzeń patologicznych.⁴¹ Na podstawie wzorców patologii α-synukleiny i wiązania TH w aksonach i zwojach współczulnych w sercach pacjentów z ILB, PD i w grupie kontrolnej stwierdzili oni, że proces chorobowy zaczyna się w dystalnej części aksonu i postępuje wstecznie.

Chociaż odkrycie mutacji synukleiny miało ogólnie bardzo duże znaczenie, zdarzają się one dość rzadko. Najczęstszą przyczyną genetyczną PD są mutacje w genie dla bogatej w leucynę kinazy 2 (LRRK2).⁴² Ostatnio opisany nowy model



RYCINA 3. Aksonopatia w modelu transgenicznym myszy hLRRK2 (R1441G) BAC. (A) Reakcja wiązania immunoperoksydazy z hydroksylazą tyrozyny (TH) nie wykazała ubytku neuronów dopaminergicznych w istocie czarnej u myszy transgenicznym hLRRK2 (R1441G). (B) Na poziomie pojedynczego aksonu, wiązanie TH wykazało fragmentację (niebieskie groty strzałek), sferoidy aksonalne (niebieskie strzałki) i dystroficzne neuryty w zakończeniach aksonalnych (czerwone kwadraciki i wstawka). (C) Nieprawidłowości aksonalne w prążkowie i korze gruszkowatej myszy transgenicznym zostały również potwierdzone metodami barwienia immunologicznego dla fosforylowanych białek tau. Obserwowano również sferoidy (niebieskie strzałki) i dystroficzne neuryty (panel boczny) podobne do zobrazowanych za pomocą wiązania TH. ML – wstęga przyśrodkowa, MT – jądro przyśrodkowe końcowe. (Zdjęcia z: Li i wsp.⁴³).

myszy transgenicznym BAC, stworzony z użyciem zmutowanego ludzkiego genu wywołującego chorobę (hLRRK2 [R1441G]), rzucił nowe światło na możliwe zdarzenia patologiczne we wczesnych stadiach PD.⁴³ W tym modelu u myszy wraz z wiekiem pojawiała się hipokineza, zwykle około 9-10 miesiąca życia, która ustępowała po leczeniu lewodopą. Nie stwierdzano ubytku śródmózgowiowych neuronów do-

paminergicznych (ryc. 3A), ale zwrócono uwagę na patologię aksonów komórek dopaminergicznych. W metodzie barwienia immunohistochemicznego na obecność TH aksony były pofragmentowane, pojawiały się sferoidy aksonalne, a tym samym powstawały dystroficzne neuryty⁴³ (ryc. 3B). Podobne nieprawidłowości aksonalne stwierdzano w przypadku barwienia na obecność nieprawidłowo ufosforylowanych białek tau (ryc. 3C). Istnieją dowody przemawiające za udziałem *LRRK2* w regulacji wzrostu i integralności neurytów. MacLeod i wsp. wykazali, że zmutowane formy *LRRK2* są odpowiedzialne za zmniejszenie długości neurytów w pierwotnych kulturach komórek nerwowych.⁴⁴ Do podobnych następstw w zróżnicowanych neuronalnie komórkach neuroblastoma⁴⁵ oraz pierwotnych neuronach uzyskanych z transgenicznym myszy⁴⁶ prowadziła mutacja *LRRK2* (G2019S). Podstawy molekularne tego wpływu nie zostały poznane. Potencjalnie interesująca w tym kontekście może być identyfikacja moezyny i blisko z nią związanych białek, ezryny i radiksyny, jako potencjalnych substratów *LRRK2*.⁴⁷ Białka te są zaangażowane w regulowanie wzrostu neurytów.⁴⁸ Zdolność *LRRK2* do regulowania stanu fosforylacji tych białek i ściśle z nim związanego wzrostu neurytów wykazano w pierwotnych kulturach komórkowych.⁴⁶

Zatem na podstawie analizy głównych lokalizacji patologii we wczesnych fazach PD, jak również dowodów z badań genetycznych nad dziedzicznymi w sposób autosomalnie dominujący postaci tej choroby, wydaje się uzasadnione postawienie hipotezy, że wczesnym objawem PD może być dysfunkcja aksonalna.

Odmienne mechanizmy molekularne degeneracji ciał komórek nerwowych i ich aksonów

Koncepcja, że we wczesnych stadiach choroby Parkinsona patologia może dotyczyć aksonów, nie jest nowa. Została ona zaproponowana przez Hornykiewicza już wiele lat temu. Zasugerował on, że neurodegeneracja w PD może być związana z obumieraniem komórek prążkowie, biorącym początek w ich zakończeniach.⁴⁹ Ponowna analiza i ocena dowodów na poparcie tej idei stała się celem autorów, ponieważ niedawno okazało się, że podstawą wystąpienia i progresji objawów ruchowych PD mogą być inne mechanizmy patogenetyczne niż te, które biorą udział w niszczeniu neuronów SN.

ZWYRODNIENIE CIAŁA KOMÓRKI NERWOWEJ PRZY JEDNOCZESNYM BRAKU ZWYRODNIENIA AKSONÓW: MODEL ZWYRODNIENIA WALLEROWSKIEGO

Najbardziej uderzające dowody na to, że aksony mogą przetrwać nawet w przypadku uszkodzenia neuronów pochodzą z obserwacji dotyczących myszy szczepu Wallerian Degeneration Slow (Wld^S).⁵⁰ Mutacja ta powstała spontanicznie u myszy C57Bl/6, a następnie wykazano, że jest ona przyczy-

ną opóźnionej degeneracji typu wallerowskiego po przecięciu nerwu obwodowego.⁵¹ Mutacja ta została zidentyfikowana jako 85 kb triplikacja tandemowa. Jej skutkiem jest powstanie nowego, chimerycznego mRNA, kodującego 70 N-końcowych aminokwasów czynnika ubiquitynującego E4b, po którym następuje pełna sekwencja kodująca enzym syntetyzujący dwunukleotyd adeninowy nikotynamidu – adenylotransferazę mononukleotydu nikotynamidu (NMNAT).^{52,53} Deckwerth i Johnson⁵⁴ wykazali, że aksony neuronów zwoju współczulnego pochodzące od myszy Wld^S mogą przetrwać mimo pozbawienia ich wpływu czynnika wzrostu nerwów i indukcji apoptozy w ciele komórki nerwowej (ryc. 4A).

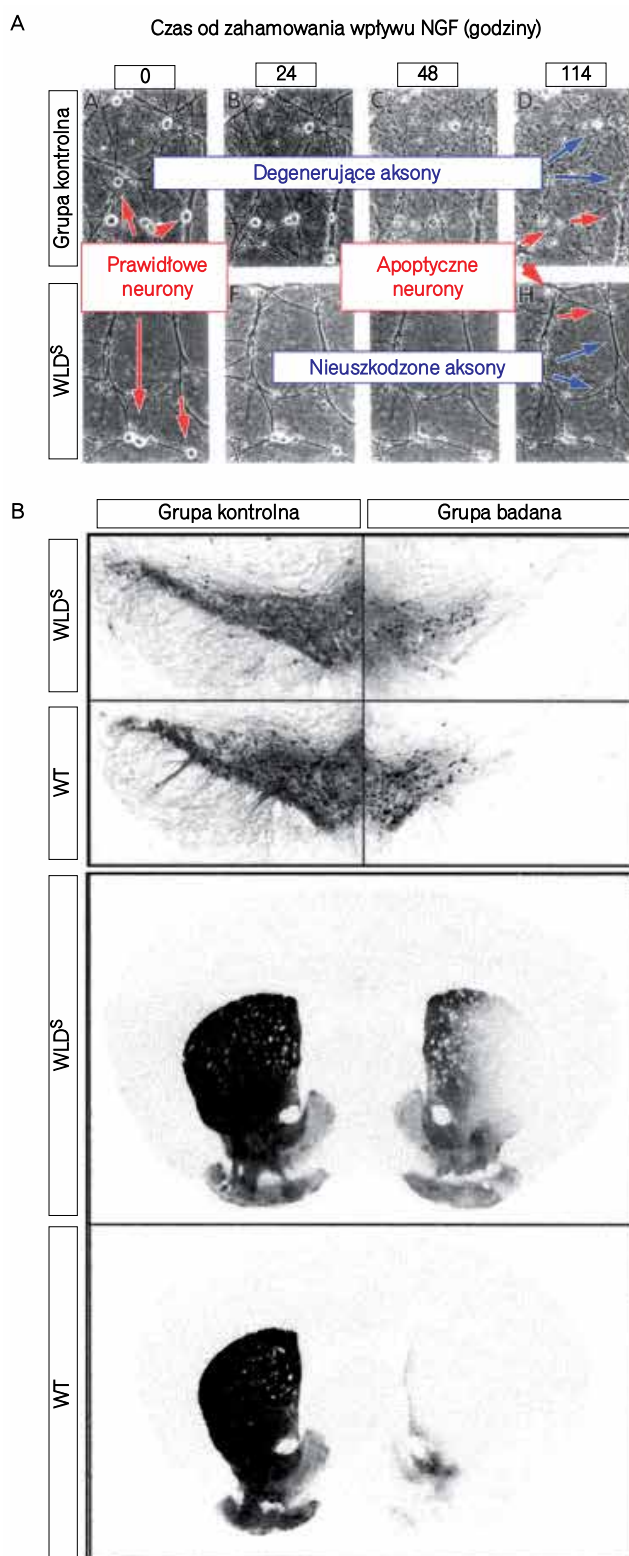
Mutacja Wld^S chroni aksony wielu rodzajów neuronów u różnych gatunków przed skutkami bardzo wielu typów uszkodzenia, w tym toksycznych neuropatii obwodowych⁵⁵ i neuropatii o podłożu genetycznym⁵⁶ (Coleman¹³ oraz Luo i O’Leary⁵⁷). W modelach parkinsonizmu opartych na wpływie neurotoksyny fenotyp Wld^S chronił ciała komórek dopaminergicznych, nie zabezpieczając jednak ich aksonów przed uszkodzeniami spowodowanymi iniekcjami 6-hydroksydopaminy (6OHDA)⁵⁸ (ryc. 4B) i iniekcjami metylo-fenylo-tetrahydropirydyny⁵⁹ w obrębie szlaków przyśrodkowego przodomózgowia.

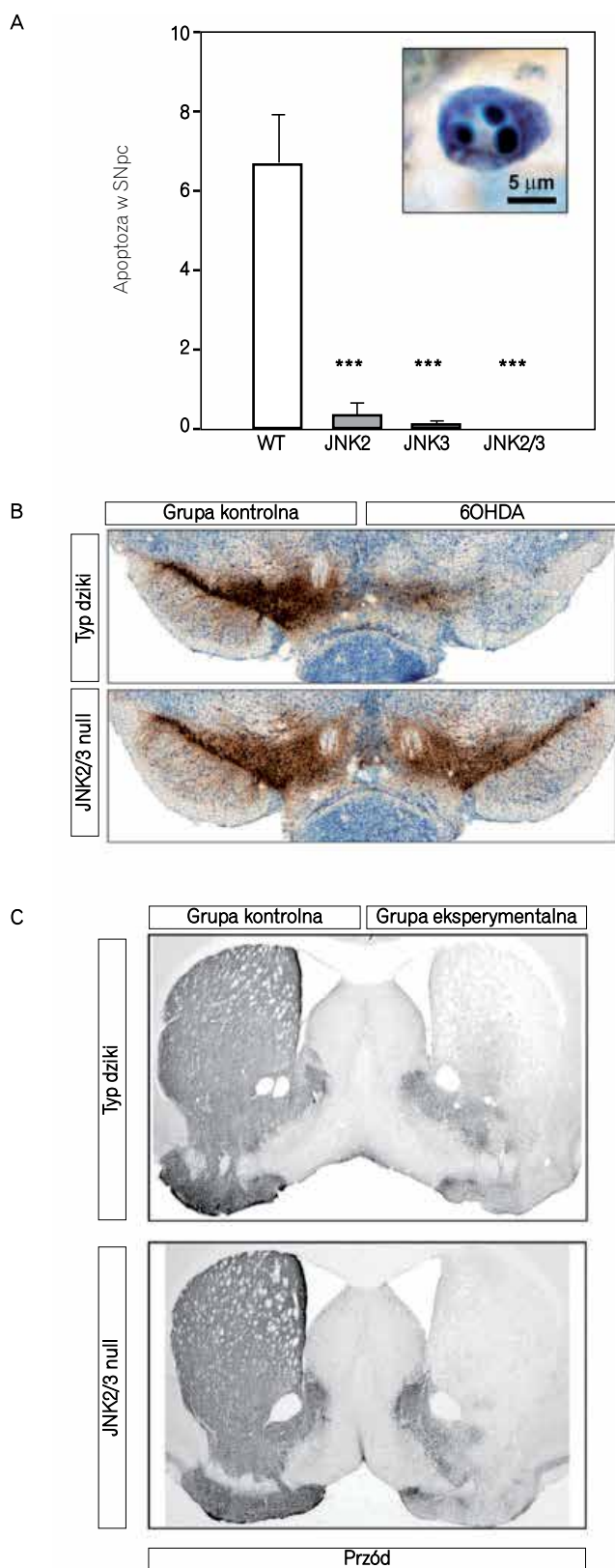
Obserwacje te sugerują, że wraz z dokładniejszym zrozumieniem mechanizmów leżących u podstaw fenotypu Wld^S prawdopodobnie możliwe stanie się ukierunkowanie działania terapeutycznego przeciwko degeneracji aksonów. Może to przynieść wymierne korzyści kliniczne. Wydaje się, że aktywność enzymatyczna NMNAT jest konieczna, ale niewystarczająca do ochrony aksonów.⁶⁰⁻⁶³ Oprócz aktywności enzymatycznej NMNAT wydaje się wymagać właściwego celu komórkowego. Co ciekawe, fenotyp dający pełną ochronę można obserwować w eksperymentach z NMNAT3, czyli izoformą, której celem są mitochondria.⁶⁴⁻⁶⁶

ŚCIEŻKI KANONICZNE PCD ODGRYWAJĄ OGRANICZONĄ ROLE W ZWYRODNIENIU AKSONÓW

Koncepcja, że ważne mediatory PCD, takie jak kaspazy, nie odgrywają roli w degeneracji aksonów, została poparta bada-

RYCINA 4. Badania na zmutowanych myszach Walerian Degeneration Slow (Wld^S) wykazały, że do degeneracji ciał i aksonów komórek nerwowych prowadzą odmienne mechanizmy. **(A)** Deckwerth i Johnson⁵⁴ wykazali, że po zahamowaniu wpływu czynnika wzrostu nerwów (NGF) w kulturach komórkowych dzikiego szczepu myszy (wild type, WT) degenerują zarówno ciała komórek nerwowych, jak i neuryty neuronów współczulnych, natomiast u myszy Wld^S degenerują tylko ciała komórek nerwowych. **(B)** W modelu na żywych myszach Sajadi i wsp.⁵⁸ wykazali ten proces po uszkodzeniu szlaku dopaminergicznego z przyśrodkowego przodomózgowia za pomocą 6-hydroksydopaminy. W ich badaniu ubytek neuronów wykazano u obu szczepów myszy, natomiast aksony były zaoszczędzone w grupie myszy Wld^S. Górne zdjęcia pokazują ubytek neuronów dopaminergicznych w badaniu wiązania hydroksylazy tyrozynowej, a dolne unerwienie dopaminergiczne prądkowia w barwieniu immunologicznym na transporter dopaminy.





niami opublikowanymi przez Finna i wsp.¹¹ Stwierdzili oni, że w wielu modelach degeneracji aksonów kaspaza 3 nie jest w ogóle aktywowana.¹¹ Te ujemne wyniki nie są jednak uniwersalne, ponieważ rola kaspazy została udowodniona w innych patologich.⁶⁷⁻⁷¹ Niemniej jednak prawdą jest, że terapie eksperymentalne mające na celu zahamowanie apoptozy najczęściej zapobiegają degeneracji ciała komórki nerwowej, a nie aksonów. Ta niezgodność była stwierdzana w przypadku wielu różnych koncepcji antyapoptotycznych i w modelach parkinsonizmu wywołanego działaniem toksyn u dorosłych gryzoni,^{7-10,72} jak również w modelu genetycznym choroby neuronu ruchowego u myszy.⁷³ Ostatnie prace laboratoryjne autorów stanowią szczególnie uderzający przykład tych niezgodności.¹⁰ Badania zostały przeprowadzone w celu określenia, czy kinazy N-końcowe c-jun (JNK) odgrywają istotną rolę w apoptotycznej śmierci neuronów dopaminergicznych SN. JNK najprawdopodobniej są kluczowe w szlaku apoptotycznym kinazy białkowej (MAPK) aktywowanym mitogenem. Te szlaki są z kolei ważnym mediatorem PCD w neuronach (Silva i wsp.⁷⁴). Aby ocenić rolę JNK, autorzy badali myszy z mutacjami zerowymi (prowadzącymi do całkowitej utraty funkcji) jednej z izoform JNK2 lub JNK3 lub obu z nich w modelu uszkodzenia prążkowiego za pomocą 6OHDA. Myszy będące homozygotami z mutacją zerową JNK2 i JNK3 były całkowicie odporne na indukcję apoptozy w tym modelu, charakteryzującym się bardzo znacznym uszkodzeniem, a mutacje zapewniały im niemal całkowitą ochronę neuronów dopaminergicznych części zbitnej SN (ryc. 5A, B). W modelu wstecznej degeneracji aksonalnej nie stwierdzano już jednak żadnej ochrony (ryc. 5C).

Podsumowując, obecnie wiele dowodów, opartych na różnych podejściach eksperymentalnych wskazuje, że molekularne mechanizmy degeneracji aksonów różnią się od PCD. Tym

RYCINA 5. Przykład odporności ciała komórek nerwowych, ale nie aksonów, na zwyrodnienie u myszy posiadających kopię nieaktywną (null mice) N-końcowej kinazy c-jun (JNK). **(A)** W modelu neurotoksycznego podanie 6-hydroksydopaminy (6OHDA) do prążkowiego indukuje apoptozę w istocie czarnej (SN) neuronów dopaminowych u dzikiego typu (WT) myszy. Typowy przykład apoptozy z charakterystycznymi kępami chromatyny został uwidoczniony metodą barwienia kontrastowego tioniną. Homozygotyczność względem pojedynczej mutacji typu null jnk2 lub jnk3 prowadziła do zmniejszenia liczby komórek, które uległy apoptozie odpowiednio o 95 i 98%, natomiast homozygotyczność dla podwójnej mutacji typu null w jnk2/3 zapobiega apoptozie. **(B)** Homozygotyczność dla podwójnych mutacji null jnk2/3 powoduje niemal całkowitą ochronę dopaminergicznych neuronów SN. Wśród myszy WT stwierdzano 63% ubytek neuronów dopaminowych typowy dla tego modelu, natomiast u myszy z mutacjami null jnk2/3 ubytek ten wynosił tylko 4%. Mikrofotografie małej mocy przedstawiające wiązanie hydroksylazy tyrozyny dla reprezentatywnych przekrojów na poziomie SN u myszy dzikich (u góry) i z podwójnymi mutacjami jnk2/3 null (na dole) po jednostronnej iniekcji 6OHDA. **(C)** Homozygotyczne wobec podwójnej mutacji jnk2/3 myszy nie posiadają mechanizmów chroniących je przed wsteczną degeneracją aksonów dopaminergicznego układu nigrostriatalnego wywołaną podaniem 6OHDA do prążkowiego. Po podaniu 6OHDA następuje w całym prążkowiegu praktycznie całkowita utrata włókien TH-dodatnich u myszy homozygotycznych pod względem mutacji null jnk2/3, podobnie jak u myszy dzikich. SNpc – część zbita SN.

samym powinny zostać uznane za odrębną grupę potencjalnych czynników odgrywających rolę w patogenezie choroby, jak i możliwe cele terapeutyczne.

Zwyrodnienie aksonalne i PD: znaczenie dla neuroprotekcji

Mimo że głównym obszarem zainteresowań autorów jest zebranie dowodów na to, że miejscem, w którym najwcześniej dochodzi do nieprawidłowości w PD, mogą być aksony i ich zakończenia, to przecież bardzo dobrze wiadomo, że ulegają one uszkodzeniu wraz z postępem choroby. Wydaje się więc, że aksony i ich zakończenia są głównym miejscem patologii w przebiegu choroby. Biorąc pod uwagę, że zakończenia nerwowe są głównym miejscem uwalniania dopaminy i podstawowych mediatorów neuronów dopaminowych SN, wydaje się, że o rozwoju objawów klinicznych choroby decyduje właśnie postępujące zwyrodnienie aksonów i ich zakończeń, a nie uszkodzenie ciała neuronu. Jeśli faktycznie tak jest, hipoteza, że mechanizmy degeneracji aksonów i ciał komórek nerwowych są niezależne/odrębne, może mieć wpływ zarówno na wczesną terapię, jak i rozpoznawanie PD.

Mimo że istnieje wiele dowodów na rolę PCD w PD,⁷⁵ a przeżycie ciał komórek nerwowych ma istotne znaczenie dla funkcjonowania i długotrwałego przetrwania aksonów, ochrona samych neuronów nie wystarczy, aby zapobiec pogarszaniu się stanu klinicznego. Hipotezę tę ilustruje niepowodzenie badania PRECEPT nad skutecznością neuroprotekcji w PD.⁷⁶ W badaniu tym oceniano zdolność hamowania progresji choroby u pacjentów we wczesnych stadiach PD za pomocą inhibitora kinazy linii mieszanej CEP-1347. Podstawą teoretyczną dla tej próby klinicznej były wyniki badań eksperymentalnych, w których zablokowanie szlaku sygnałowego MAPK, np. za pomocą CEP-1347, hamowało apoptozę i działało neuroprotekccyjnie w różnych modelach PD (Silva i wsp.⁷⁴). Oczywiście, jak wcześniej wspomniano, niepowodzenie tej próby mogło mieć wiele przyczyn,⁷⁷ jednak wartą odnotowania możliwością było ochronne działanie MAPK tylko wobec ciała komórki nerwowej, a nie wobec aksonów w dojrzałym mózgu.^{9,10}

Zwiększenie nacisku na ochronę aksonów może pomóc w opracowaniu nowych metod terapeutycznych. Na przykład ostatnio autorzy tego doniesienia wykazali, że przekazywanie sygnału poprzez szlak Akt-Rheb-mTor może zapobiec wstecznej degeneracji aksonów w dopaminergicznym szlaku nigrostriatalnym po iniekcji neurotoksyny lub akstotomii (Cheng i wsp.⁷⁸ i H.C.C. i R.E.B., dane nieopublikowane).

Koncentrowanie się na neurobiologii aksonów może mieć znaczenie dla podejścia naprawczego w terapii PD. Do chwili obecnej terapie naprawcze polegały na zastępowaniu uszkodzonych komórek zdrowymi. Stosowanie tych metod napotkało wiele różnych trudności związanych z przeżywaniem komórek, złośliwym rozrostem implantowanych komó-

rek, utratą właściwego fenotypu czy brakiem prawidłowych połączeń anatomicznych, a tym samym i regulacji. Jeżeli kliniczna progresja PD jest spowodowana przede wszystkim degeneracją, metody terapeutyczne polegające na wymianie komórek wymagają ponownej oceny. W chwili pojawienia się objawów choroby prawidłowo funkcjonuje nadal 70% neuronów dopaminergicznych, i to nie ich liczba się zmniejsza, a raczej projekcje ich aksonów. Przywrócenie tych połączeń dzięki indukowaniu odrostu aksonów istniejących komórek nerwowych wydaje się bardziej praktycznym i skutecznym celem terapeutycznym niż wszczepianie nowych egzogennych komórek w miejscu ekotopowym. Chociaż uważa się, że aksony w ośrodkowym układzie nerwowym są pozbawione możliwości odrostu aksonów, nie jest to do końca prawda. Regenerację aksonów w ośrodkowym układzie nerwowym można promować przez szlak sygnałowy PTEN/Akt/mTor⁷⁹ i istnieją dowody, że taki sam efekt można uzyskać w przypadku dopaminergicznego układu nigrostriatalnego.⁸⁰

Podsumowanie

W podejściu do terapii eksperymentalnych w PD najprawdopodobniej należy uwzględnić neurobiologię aksonów w ośrodkowym układzie nerwowym. Nacisk na degenerację aksonalną stwarza realne podstawy do optymistycznego myślenia o rozwoju metod neuroprotekcji. Z perspektywy dokonanej przez autorów analizy wydaje się, że w momencie pojawiania się pierwszych objawów PD uszkodzonych jest około 30% neuronów dopaminowych w SN i 50-60% ich zakończeń aksonalnych. Jest zatem duża szansa na uratowanie tego, co pozostaje. Ponadto, przywrócenie aksonom w dojrzałym układzie nerwowym zdolności wzrostu nie jest nieosiągalne. To dopiero początek poznawania zarówno mechanizmów degeneracji aksonów, jak i możliwości odrostu aksonów w dojrzałym ośrodkowym układzie nerwowym. Tam z całą pewnością będzie można znaleźć wiele przyszłych celów terapeutycznych.

Informacje o finansowaniu

Ta praca była wspierana przez NIH (National Institute of Neurological Disorders and Stroke, granty NS26836 i NS38370 dla R.E.B.), Parkinson's Disease Foundation i RJG Foundation.

Konflikt interesów: nie zgłoszono

© 2010 American Neurological Association. This translation of the article Clinical Progression in Parkinson Disease and the Neurobiology of Axons by H.Ch. Cheng, Ch.M. Ulane and R.E. Burke from *Annals of Neurology* 2010; 67:715-725 is reproduced with permission of John Wiley&Sons, Inc.

PIŚMIENNICTWO

1. Bergman H, Wichmann T, DeLong MR. Reversal of experimental parkinsonism by lesions of the subthalamic nucleus. *Science* 1990; 249: 1436-1438.
2. Limousin P, Pollak P, Benazzouz A, et al. Effect of parkinsonian signs and symptoms of bilateral subthalamic nucleus stimulation. *Lancet* 1995; 345: 91-95.
3. Shoulson I. Experimental therapeutics of neurodegenerative disorders: unmet needs. *Science* 1998; 282: 1072-1074.
4. Olanow CW, Kieburtz K, Schapira AH. Why have we failed to achieve neuroprotection in Parkinson's disease? *Ann Neurol* 2008; 64 (suppl 2): S101-S110.
5. Ellis RE, Yuan J, Horvitz HR. Mechanisms and functions of cell death. *Annu Rev Cell Biol* 1991; 7: 663-698.
6. Hart RG, Pearce LA, Ravina BM, et al. Neuroprotection trials in Parkinson's disease: systematic review. *Mov Disord* 2009; 24: 647-654.
7. Eberhardt O, Coelln RV, Kugler S, et al. Protection by synergistic effects of adenovirus-mediated X-chromosome-linked inhibitor of apoptosis and glial cell line-derived neurotrophic factor gene transfer in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine model of Parkinson's disease. *J Neurosci* 2000; 20: 9126-9134.
8. Hayley S, Crocker SJ, Smith PD, et al. Regulation of dopaminergic loss by Fas in a 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine model of Parkinson's disease. *J Neurosci* 2004; 24: 2045-2053.
9. Chen X, Rzhetskaya M, Kareva T, et al. Antiapoptotic and trophic effects of dominant-negative forms of dual leucine zipper kinase in dopamine neurons of the substantia nigra in vivo. *J Neurosci* 2008; 28: 672-680.
10. Ries V, Silva RM, Oo TF, et al. JNK2 and JNK3 combined are essential for apoptosis in dopamine neurons of the substantia nigra, but are not required for axon degeneration. *J Neurochem* 2008; 107: 1578-1588.
11. Finn JT, Weil M, Archer F, et al. Evidence that Wallerian degeneration and localized axon degeneration induced by local neurotrophin deprivation do not involve caspases. *J Neurosci* 2000; 20: 1333-1341.
12. Raff MC, Whitmore AV, Finn JT. Axonal self-destruction and neurodegeneration. *Science* 2002; 296: 868-871.
13. Coleman M. Axon degeneration mechanisms: commonality amid diversity. *Nat Rev Neurosci* 2005; 6: 889-898.
14. Braak H, Del Tredici K, Rub U, et al. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging* 2003; 24: 197-211.
15. Burke RE, Dauer WT, Vonsattel JP. A critical evaluation of the Braak staging scheme for Parkinson's disease. *Ann Neurol* 2008; 64: 485-491.
16. Jellinger KA. A critical evaluation of current staging of alpha-synuclein pathology in Lewy body disorders. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1792: 730-740.
17. Lees AJ. The Parkinson chimera. *Neurology* 2009; 72: S2-S11.
18. Agid Y, Agid F, Ruberg M. Biochemistry of neurotransmitters in Parkinson's disease. In: Marsden CD, Fahn S, eds. *Movement disorders 2*. London, UK: Butterworths, 1987: 166-230.
19. Marsden CD. Parkinson's disease. *Lancet* 1990; 335: 948-952.
20. Ross GW, Petrovitch H, Abbott RD, et al. Parkinsonian signs and substantia nigra neuron density in descendants elders without PD. *Ann Neurol* 2004; 56: 532-539.
21. Lang AE, Lozano AM. Parkinson's disease. First of two parts. *N Engl J Med* 1998; 339: 1044-1053.
22. Dauer W, Przedborski S. Parkinson's disease: mechanisms and models. *Neuron* 2003; 39: 889-909.
23. Fearnley JM, Lees AJ. Ageing and Parkinson's disease: substantia nigra regional selectivity. *Brain* 1991; 114: 2283-2301.
24. Ma SY, Roytta M, Rinne JO, et al. Correlation between neuromorphometry in the substantia nigra and clinical features in Parkinson's disease using disector counts. *J Neurosci* 1997; 15: 83-87.
25. Greffard S, Verny M, Bonnet AM, et al. Motor score of the Unified Parkinson Disease Rating Scale as a good predictor of Lewy body-associated neuronal loss in the substantia nigra. *Arch Neurol* 2006; 63: 584-588.
26. Bernheimer H, Birkmayer W, Hornykiewicz O, et al. Brain dopamine and the syndromes of Parkinson and Huntington. Clinical, morphological and neurochemical correlations. *J Neurosci* 1973; 20: 415-455.
27. Riederer P, Wuketich S. Time course of nigrostriatal degeneration in Parkinson's disease. A detailed study of influential factors in human brain amine analysis. *J Neural Transm* 1976; 38: 277-301.
28. Scherman D, Desnos C, Darchen F, et al. Striatal dopamine deficiency in Parkinson's disease: role of aging. *Ann Neurol* 1989; 26: 551-557.
29. Kish SJ, Shannak K, Hornykiewicz O. Uneven pattern of dopamine loss in the striatum of patients with idiopathic Parkinson's disease. Pathophysiologic and clinical implications. *N Engl J Med* 1988; 318: 876-880.
30. Beach TG, Adler CH, Sue LJ, et al. Reduced striatal tyrosine hydroxylase in incidental Lewy body disease. *Acta Neuropathol* 2008; 115: 445-451.
31. Nandhagopal R, McKeown MJ, Stoessl AJ. Functional imaging in Parkinson disease. *Neurology* 2008; 70: 1478-1488.
32. Lee CS, Samii A, Sossi V, et al. In vivo positron emission tomographic evidence for compensatory changes in presynaptic dopaminergic nerve terminals in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 2000; 47: 493-503.
33. Pakkenberg B, Moller A, Gundersen HJ, et al. The absolute number of nerve cells in substantia nigra in normal subjects and in patients with Parkinson's disease estimated with an unbiased stereological method. *J Neuro Neurosurg Psychiatry* 1991; 54: 30-33.
34. Dodiya HB, Chu Y, Beach TG, et al. The status of dopaminergic putaminal innervation in Parkinson's disease as a function of disease duration: relevance to trophic factor therapy. *Abstr Soc Neurosci* 2009, Presentation 326.9.
35. Cookson MR. The biochemistry of Parkinson's disease. *Annu Rev Biochem* 2005; 74: 29-52.
36. Spillantini MG, Schmidt ML, Lee VM, et al. a-Synuclein in Lewy bodies. *Nature* 1997; 388: 839-840.
37. Braak H, Sandmann-Keil D, Gai W, et al. Extensive axonal Lewy neurites in Parkinson's disease: a novel pathological feature revealed by alpha-synuclein immunocytochemistry. *Neurosci Lett* 1999; 265: 67-69.
38. Galvin JE, Uryu K, Lee VM, et al. Axon pathology in Parkinson's disease and Lewy body dementia hippocampus contains alpha-, beta-, and gamma-synuclein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 13450-13455.
39. Duda JE, Giasson BI, Mabon ME, et al. Novel antibodies to synuclein show abundant striatal pathology in Lewy body diseases. *Ann Neurol* 2002; 52: 205-210.
40. Kramer ML, Schulz-Schaeffer WJ. Presynaptic alpha-synuclein aggregates, not Lewy bodies, cause neurodegeneration in dementia with Lewy bodies. *J Neurosci* 2007; 27: 1405-1410.
41. Orimo S, Uchihara T, Nakamura A, et al. Axonal alpha-synuclein aggregates herald centripetal degeneration of cardiac sympathetic nerve in Parkinson's disease. *Brain* 2008; 131: 642-650.
42. Greggio E, Cookson MR. Leucine-rich repeat kinase 2 mutations and Parkinson's disease: three questions. *ASN Neuro* 2009; 1: e00002.
43. Li Y, Liu W, Oo TF, et al. Mutant LRRK2 (R1441G) BAC transgenic mice recapitulate cardinal features of Parkinson's disease. *Nat Neurosci* 2009; 12: 826-828.
44. MacLeod D, Dowman J, Hammond R, et al. The familial Parkinsonism gene LRRK2 regulates neurite process morphology. *Neuron* 2006; 52: 587-593.
45. Plowey ED, Cherra SJ III, Liu YJ, et al. Role of autophagy in G2019S-LRRK2-associated neurite shortening in differentiated SH-SY5Y cells. *J Neurochem* 2008; 105: 1048-1056.
46. Parisiadou L, Xie C, Cho HJ, et al. Phosphorylation of ezrin/radixin/moesin proteins by LRRK2 promotes the rearrangement of actin cytoskeleton in neuronal morphogenesis. *J Neurosci* 2009; 29: 13971-13980.
47. Jaleel M, Nichols RJ, Deak M, et al. LRRK2 phosphorylates moesin at threonine-558: characterization of how Parkinson's disease mutants affect kinase activity. *Biochem J* 2007; 405: 307-317.
48. Paglini G, Kunda P, Quiroga S, et al. Suppression of radixin and moesin alters growth cone morphology, motility, and process formation in primary cultured neurons. *J Cell Biol* 1998; 143: 443-455.
49. Hornykiewicz O. Biochemical aspects of Parkinson's disease. *Neurology* 1998; 51: S2-S9.
50. Coleman MP, Perry VH. Axon pathology in neurological disease: a neglected therapeutic target. *Trends Neurosci* 2002; 25: 532-537.
51. Lunn ER, Perry VH, Brown MC, et al. Absence of Wallerian degeneration does not hinder regeneration in peripheral nerve. *Eur J Neurosci* 1989; 1: 27-33.
52. Conforti L, Tarlton A, Mack TG, et al. A Ufd2/D4Cole1e chimeric protein and overexpression of Rbp7 in the slow Wallerian degeneration (Wlds) mouse. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97: 11377-11382.
53. Mack TG, Reiner M, Beirowski B, et al. Wallerian degeneration of injured axons and synapses is delayed by a Ube4b/Nmnat chimeric gene. *Nat Neurosci* 2001; 4: 1199-1206.
54. Deckwerth TL, Johnson EM Jr. Neurites can remain viable after destruction of the neuronal soma by programmed cell death (apoptosis). *Dev Biol* 1994; 165: 63-72.
55. Wang MS, Fang G, Culver DG, et al. The Wlds protein protects against axonal degeneration: a model of gene therapy for peripheral neuropathy. *Ann Neurol* 2001; 50: 773-779.
56. Mi W, Beirowski B, Gillingwater TH, et al. The slow Wallerian degeneration gene, Wlds, inhibits axonal spheroid pathology in gracile axonal dystrophy mice. *Brain* 2005; 128: 405-416.
57. Luo L, O'Leary DD. Axon retraction and degeneration in development and disease. *Annu Rev Neurosci* 2005; 28: 127-156.
58. Sajadi A, Schneider BL, Aebischer P. Wlds-mediated protection of dopaminergic fibers in an animal model of Parkinson disease. *Curr Biol* 2004; 14: 326-330.
59. Hasbani DM, O'Malley KL. Wld (S) mice are protected against the Parkinsonian mimetic MPTP. *Exp Neurol* 2006; 202: 93-99.

60. Araki T, Sasaki Y, Milbrandt J. Increased nuclear NAD biosynthesis and SIRT1 activation prevent axonal degeneration. *Science* 2004; 305: 1010-1013. Links
61. MacDonald JM, Beach MG, Porpiglia E, et al. The Drosophila cell corpse engulfment receptor Draper mediates glial clearance of severed axons. *Neuron* 2006; 50: 869-881.
62. Conforti L, Wilbrey A, Morreale G, et al. Wld S protein requires Nmnat activity and a short N-terminal sequence to protect axons in mice. *J Cell Biol* 2009; 184: 491-500.
63. Sasaki Y, Vohra BP, Lund FE, et al. Nicotinamide mononucleotide adenylyl transferase-mediated axonal protection requires enzymatic activity but not increased levels of neuronal nicotinamide adenine dinucleotide. *J Neurosci* 2009; 29: 5525-5535.
64. Sasaki Y, Araki T, Milbrandt J. Stimulation of nicotinamide adenine dinucleotide biosynthetic pathways delays axonal degeneration after axotomy. *J Neurosci* 2006; 26: 8484-8491.
65. Avery MA, Sheehan AE, Kerr KS, et al. Wld S requires Nmnat1 enzymatic activity and N16-VCP interactions to suppress Wallerian degeneration. *J Cell Biol* 2009; 184: 501-513.
66. Yahata N, Yuasa S, Araki T. Nicotinamide mononucleotide adenylyltransferase expression in mitochondrial matrix delays Wallerian degeneration. *J Neurosci* 2009; 29: 6276-6284.
67. Srinivasan A, Roth KA, Sayers RO, et al. In situ immunodetection of activated caspase-3 in apoptotic neurons in the developing nervous system. *Cell Death Differ* 1998; 5: 1004-1016.
68. Buki A, Okonkwo DO, Wang KK, et al. Cytochrome c release and caspase activation in traumatic axonal injury. *J Neurosci* 2000; 20: 2825-2834.
69. Cowan CM, Thai J, Krajewski S, et al. Caspases 3 and 9 send a pro-apoptotic signal from synapse to cell body in olfactory receptor neurons. *J Neurosci* 2001; 21: 7099-7109.
70. El-Khodor BF, Burke RE. Medial forebrain bundle axotomy during development induces apoptosis in dopamine neurons of the substantia nigra and activation of caspases in their degenerating axons. *J Comp Neurol* 2002; 452: 65-79.
71. Nikolaev A, McLaughlin T, O'Leary DD, et al. APP binds DR6 to trigger axon pruning and neuron death via distinct caspases. *Nature* 2009; 457: 981-989.
72. Silva RM, Ries V, Oo TF, et al. CHOP/GADD153 is a mediator of apoptotic death in substantia nigra dopamine neurons in an in vivo neurotoxin model of parkinsonism. *J Neurochem* 2005; 95: 974-986.
73. Sagot Y, Dubois-Dauphin M, Tan SA, et al. Bcl-2 overexpression prevents motoneuron cell body loss but not axonal degeneration in a mouse model of a neurodegenerative disease. *J Neurosci* 1995; 15: 7727-7733.
74. Silva RM, Kuan CY, Rakic P, et al. Mixed lineage kinase-c-jun N-terminal kinase signaling pathway: a new therapeutic target in Parkinson's disease. *Mov Disord* 2005; 20: 653-664.
75. Burke RE. Programmed cell death and new discoveries in the genetics of parkinsonism. *J Neurochem* 2008; 104: 875-890.
76. The Parkinson Study Group PRECEPT Investigators. Mixed lineage kinase inhibitor CEP-1347 fails to delay disability in early Parkinson disease. *Neurology* 2007; 69: 1480-1490.
77. Waldmeier P, Bozyczko-Coyne D, Williams M, Vaught JL. Recent clinical failures in Parkinson's disease with apoptosis inhibitors underline the need for a paradigm shift in drug discovery for neurodegenerative diseases. *Biochem Pharmacol* 2006; 72: 1197-1206.
78. Cheng HC, Oo TF, Kareva T, et al. Akt/PKB inhibits retrograde axonal degeneration in the nigro-striatal dopaminergic pathway in vivo. *Abstr Soc Neurosci* 2008, Presentation 741.7.
79. Park KK, Liu K, Hu Y, et al. Promoting axon regeneration in the adult CNS by modulation of the PTEN/mTOR pathway. *Science* 2008; 322: 963-966.
80. Chen X, Kareva T, Rzhetskaya M, et al. Restoration of the nigrostriatal dopaminergic pathway in mouse models of Parkinson's disease: effects of a constitutively active form of AKT. *Abstr Soc Neurosci* 2008, Presentation 247.19.

Komentarz

Prof. dr hab. n. med. Urszula Fiszer
Klinika Neurologii i Epileptologii CMKP,
Warszawa

Wiedza o etiopatogenezie choroby Parkinsona gwałtownie wzrasta. Odkrywanie nowych mutacji genowych wykazało możliwość oddziaływania wielu mechanizmów molekularnych i przyczyniło się do nowego spojrzenia na patogenezę schorzenia. Nadal uważa się, że etiologia choroby jest złożona, a czynniki genetyczne i środowiskowe wywierają wpływ na naturalny przebieg choroby.

Prace w zakresie patologii przyniosły najwięcej interesujących wyników. Przekonania, że choroba Parkinsona związana jest wyłącznie z uszkodzeniem istoty czarnej okazały się wątpliwe, wykazano bowiem, że proces chorobowy może rozpoczynać się w pniu mózgu i opuszce węchowej, a następnie obejmuje istotę czarną i korę mózgową. Koncepcja Braaka i wsp.¹ zmieniła sposób myślenia o chorobie Parkinsona i powiązała zmiany kliniczne (szeroka gama objawów klinicznych: zaburzenia ruchowe oraz pozaruchowe [autonomiczne, psychiatryczne i węchowe]) ze zmianami patologicznymi. Jednak etiologia choroby, a nawet kolejność zmian molekularnych nie została jeszcze ustalona.^{2,3}

Komentowany artykuł to kolejny etap w poznaniu neurobiologii choroby Parkinsona. Autorzy (podobnie jak Horynkiewicz) reprezentują pogląd, że zwyrodnienie aksonów, a nie ciała komórki jest pierwotnym wyznacznikiem postępu choroby. Uważają, że przyszłe próby terapeutyczne powinny obejmować także zwyrodnienie aksonów. Jest to szersze spojrzenie badawcze dotyczące leczenia choroby Parkinsona. Czy jest one uzasadnione?

Autorzy przedstawiają prace dotyczące zmian patologicznych w istocie czarnej na początku choroby Parkinsona oraz omawiają molekularne mechanizmy zwyrodnienia ciała komórkowego i aksonu (mechanizm molekularny zwyrodnienia aksonów jest inny niż proces programowanej śmierci komórek). Uważają, że są dowody z badań neurobiologicznych pozwalających na uznanie aksonów lub ich zakończeń za miejsce wczesnego uszkodzenia w chorobie Parkinsona. Badania nad nowymi sposobami terapii choroby Parkinsona, zwłaszcza mogącymi modyfikować przebieg choroby, mają podstawowe znaczenie.⁴ Wnioski z pracy mają wydźwięk optymistyczny – wskazują na możliwości rozwoju nowych kierunków badań dotyczących leczenia tego ciężkiego schorzenia.

Pozostaje jednak ciągle nierozwiązany problem dotyczący możliwości jak najwcześniejszego rozpoznania choroby Parkinsona, zwłaszcza w okresie przedobjawowym. „Przewidywanie choroby Parkinsona – dlaczego, kiedy i jak?” to kolejne frapujące zagadnienie badawcze. Obecnie prowadzone są badania potencjalnych markerów, które można wykrywać przed wystąpieniem klinicznych objawów choroby.⁵

PIŚMIENNICTWO

1. Braak H, et al. Stages of the development of Parkinson's disease-related pathology. *Cell Tissue Res* 2004; 318: 121-134.
2. Licker V, Kovari E, Hochstrasser, Burkhard PR. Proteomics in human Parkinson's disease research. *J Proteomics* 2009; 73: 10-29.
3. Long-Smith CM, Sullivan AM, Nolan YM, et al. The influence of microglia on the pathogenesis of Parkinson's disease. *Progress in Neurobiology* 2009; 89: 277-287.
4. Maguire-Zeiss KA, Mhyre TR, Federoff HJ, et al. Gazing into the future: Parkinson's disease gene therapeutics to modify natural history. *Exp Neurol* 2008; 209: 101-113.
5. Postuma RB, Montplaisir J. Predicting Parkinson's disease – why, when, and how? *Parkinsonism and Related Disorders* 2009; 15(5): S105-S109.