

Received: 2009.04.14
Accepted: 2009.05.18
Published: 2009.06.15

Genetyka zespołów otępiennych. Część 2: Biologia choroby Alzheimerera

The genetics of dementias. Part 2: The biology of Alzheimer's disease

Anna Kowalska

Institut Genetyki Człowieka PAN w Poznaniu

Streszczenie

Mózgi chorych z chorobą Alzheimerera (AD) cechuje atrofia kory mózgowej połączona ze skurczeniem się jej zakrętów, rozszerzeniem bruzd oraz powiększeniem komór. Hipokamp i kora endorinalna są zazwyczaj pierwszymi uszkodzonymi regionami mózgu. W późniejszych etapach rozwoju AD we wszystkich częściach kory mózgowej dochodzi do:

- 1) akumulacji zewnątrzkomórkowych blaszek amyloidowych (zaburzony metabolizm białka App),
- 2) gromadzenia się wewnątrzkomórkowych zwyrodnień włóknkowych typu Alzheimerera (patologia białka tau),
- 3) zwyrodnienia synaps oraz
- 4) śmierci (najczęściej w wyniku apoptozy, rzadziej w wyniku nekrozy) wybranych populacji komórek nerwowych. Rozwiązanie zagadki patogenezy AD tkwi w zrozumieniu mechanizmów procesów powstawania i oligomeryzacji β -amyloidu ($A\beta$) oraz molekularnych podstaw jego neurotoksyczności, ale przede wszystkim dokładnej roli $A\beta$ w metabolizmie komórki.

Słowa kluczowe:

β -amyloid • białko prekursora β -amyloidu • blaszki amyloidowe • choroba Alzheimerera • endoproteoliza • fibrylogeneza • neurodegeneracja • otępienie • preseniliny • zwyrodnienia włóknkowe typu Alzheimerera

Summary

The brains of AD patients are characterized by cortical atrophy in the form of gyral shrinkage, widening of the sulci, and enlargement of the ventricles. The first regions to be affected are the hippocampus and entorhinal cortex. At later stages of the disease appear: 1) accumulation of extracellular senile plaques (disturbed App protein metabolism), 2) intracellular aggregation of neurofibrillary tangles (the tau protein pathology), 3) synaptic degeneration, and 4) the death (usually due to apoptosis, rarely due to necrosis) of selected populations of neuronal cells as the neuropathological hallmarks of AD throughout the whole brain. The solution to the mystery of AD's pathogenesis is based on our understanding of the mechanisms of β -amyloid ($A\beta$) generation and oligomerization as well as the molecular basis of its neurotoxicity, but primarily on an accurate account of the role of $A\beta$ in cell metabolism.

Key words:

Alzheimer's disease • β -amyloid • β -amyloid precursor protein • dementia • endoproteolysis • fibrillogenesis • neurodegeneration • neurofibrillary tangles • presenilins • senile plaques

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=888267>

Word count: 2902

Tables: –

Figures: 6

References: 60

Adres autorki: dr hab. n.med. Anna Kowalska, Zakład Funkcji Kwasów Nukleinowych, Instytut Genetyki Człowieka PAN, ul. Strzeszyńska 32, 60-479 Poznań; e-mail: annkowl@rose.man.poznan.pl

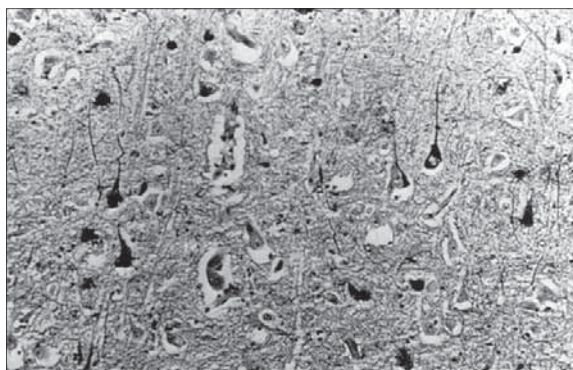
1. WSTĘP

Mianem otępienia określa się zespół kliniczny charakteryzujący się pogorszeniem funkcji umysłowych związanych z procesem poznawania (funkcje intelektualne, takie jak pamięć oraz zdolności językowe, analityczne i twórcze), aktem woli (indywidualna zdolność do planowania i rozpoczynania jakiegokolwiek działania, kontroli zachowania) oraz emocjami [51]. Zgodnie z konsensusem dotyczącym chorób otępiennych opracowanym przez zespół szwedzkich klinicystów istnieje wiele typów zespołów otępiennych, które można sklasyfikować na trzy następujące grupy: 1) choroby otępienne pierwotne zwyrodnieniowe, w których funkcjonowanie mózgu jest uszkodzone przez jego wewnętrzną degenerację, 2) choroby otępienne naczyniowopochodne spowodowane zmianami w mózgowym układzie krwionośnym oraz 3) wtórne zespoły otępienne wywołane znanymi i dotąd niepoznanymi czynnikami, w tym choroby odwracalne i wyleczalne oraz choroby, które pierwotnie nie powodują otępienia, ale mogą (jeżeli mózg jest objęty procesem chorobowym) prowadzić do wystąpienia objawów typowych dla zespołu otępiennego [52].

2. TŁO NEUROPATOLOGICZNE CHOROBY ALZHEIMERA

W 1907 r. psychiatra niemiecki Aloiz Alzheimer opisał przypadek 51-letniej kobiety, Augusty D., z objawami gwałtownie rozwijającego się wczesnego otępienia [2]. Chora cierpiała na pogarszającą się pamięć, afazję, brak orientacji, halucynacje, paranoje, zaburzenia psychosocjalne. Po 4 i pół latach choroby, pacjentka zmarła. Autopsja mózgu wykazała jego atrofię. Badanie histopatologiczne przeprowadzone przez Alzheimera z użyciem barwienia srebrem ujawniło występowanie w korze mózgowej chorej dwóch różnych struktur mikroskopowych: „specyficznych zmian w neurofibrilach” zwanych dzisiaj zwyrodnieniami włóknkowymi typu Alzheimera (neurofibrillary tangles – NFT) oraz „licznych małych prosówkowych ognisk znalezionych w górnych warstwach” znanych dzisiaj jako blaszki amyloidowe lub płytki starcze (senile plaques) [2,37].

Mózgi chorych z AD charakteryzują się atrofią kory mózgowej połączonej ze skurczeniem się jej zakrętów, rozszerzeniem bruzd oraz powiększeniem komór. Pierwszymi uszkodzonymi regionami są zazwyczaj hipokamp oraz kora endorinalna [4]. W późniejszych stadiach choroby występuje wyraźne zwyrodnienie w płatach skroniowych i ciemieniowych. U niektórych chorych mogą być uszkodzone także płaty czołowe i potyliczne. Tłem neuropatologicznym AD jest akumulacja we wszystkich częściach kory mózgowej zewnątrzkomórkowych blaszek amyloidowych, gromadzenie się wewnątrzkomórkowe zwyrodnień włó-



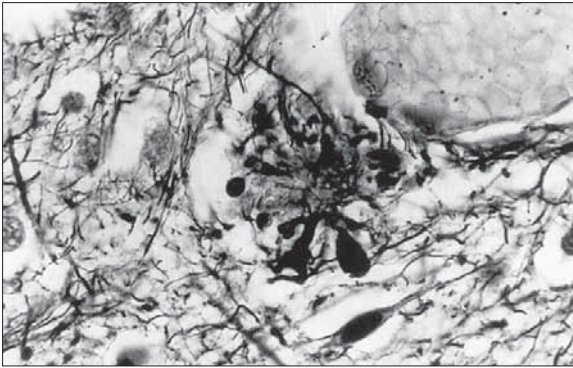
Ryc. 1. Tło patomorfologiczne choroby Alzheimera – rozsiane w korze mózgowej: blaszki amyloidowe (*senile plaques*) uwarunkowane zaburzoną metabolizmem białka prekursora amyloidu (zaznaczone strzałką białą) oraz zwyrodnienia włóknkowe typu Alzheimera (*neurofibrillary tangles*) uwarunkowane patologią białka tau (zaznaczone strzałką czarną). Preparat barwiony srebrem według metody Bielschowskiego (dzięki uprzejmości prof. dr med. Nenada Bogdanovicha z Instytutu Karolinska, Stokholm-Huddinge, Szwecja)

kienkowych typu Alzheimera, zwyrodnienie synaps oraz śmierć, najczęściej w wyniku apoptozy (rzadziej w wyniku nekrozy), wybranych populacji komórek nerwowych.

Klasyczna blaszka amyloidowa składa się z centralnego, amorficznego rdzenia, który może być wykrywany przez barwniki używane w histopatologii, takie jak czerwień Kongo i tioflawina S (ryc. 1).

Rdzeń jest otoczony wypustkami neuronów i komórek gleju. Ponadto, złoży mogą występować jako blaszki amyloidowe rozproszone, znajdujące także w naczynkach krwionośnych kory mózgowej. Główny element blaszek amyloidowych, peptyd β -amyloid ($A\beta$), jest fragmentem powstałym w wyniku dojrzewania proteolitycznego białka prekursora amyloidu (App) [13]. Wewnątrz blaszek zidentyfikowano kilkadziesiąt innych składników, m.in.: proteoglikany, mediatory procesów zapalnych, apolipoproteinę E. Zwyrodnienia włóknkowe typu Alzheimera (NFT) zawierają przede wszystkim nieprawidłowo ufosforylowane białko tau, które łączy się w helikalne podwójne filamenty i gromadzi w cytoplazmie neuronu (ryc. 2).

W mózgach chorych z AD, NFT mogą także występować jako cienie komórek (ghost cells) mające kształt obumarłych neuronów. Gęstość NFT jest zależna od stopnia utraty komórek i synaps korelującym ze stadiem zaawansowania choroby [4]. Tau jest białkiem z rodziny białek zasocjowanych z mikrotubulami (MAPs). Jego podstawowa funkcja



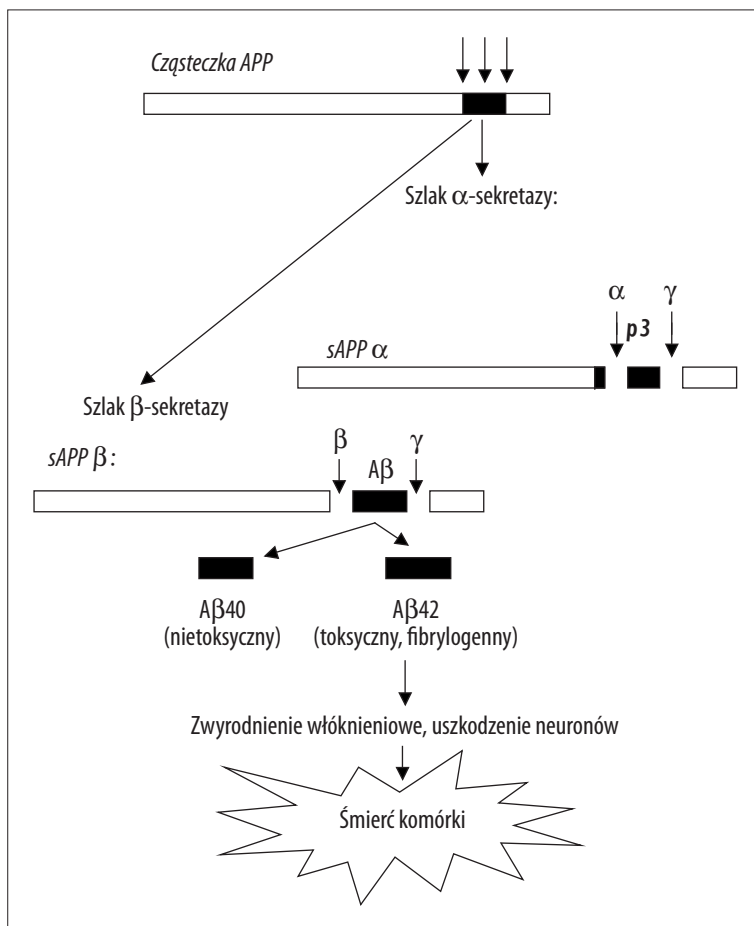
Ryc. 2. Błazka amyloidowa (*senile plaque*) w mózgu chorego z chorobą Alzheimera (AD). Preparat barwiony srebrem według metody Bielschowskiego (dzięki uprzejmości prof. dr med. Nenada Bogdanovicha z Instytutu Karolinska, Stokholm-Huddinge, Szwecja). Zrozumienie mechanizmów powstawania błazek amyloidowych w korze mózgowej oraz poznanie molekularnych podstaw ich neurotoksyczności jest kluczem do rozwiązania zagadki AD

biologiczna polega na inicjacji procesu polimeryzacji mikrotubul przez wiązanie się do tubuliny oraz stabilizacji mikrotubul w neuronach. Ponad 40 różnych miejsc fosforylacji zidentyfikowano w tau, głównie przy resztach seryny i treoniny, które sąsiadują z proliną [8]. Miejsca te ulegają fosforylacji z udziałem różnych kinaz (GSK-3 β : kina-

za syntazy glikogenowej 3 β , kinaza 5 zależna od cykliny oraz MAPK: kinaza białkowa aktywowana przez mitogen) i wydają się nadawać tau różne właściwości funkcjonalne [16]. W AD, tau jest hiperfosforylowane, co powoduje zaburzenie prawidłowego funkcjonowania mikrotubul i prowadzi do fatalnego w skutkach uszkodzenia cytoszkieletu komórek nerwowych oraz systemu transportu wewnątrzkomórkowego [16].

3. METABOLIZM BIAŁKA PREKURSORA AMYLOIDU

β amyloid ($A\beta$), podstawowe białko w patogenezie AD, powstaje w wyniku swoistych endoproteolitycznych cięć cząsteczki białka prekursora amyloidu (App). App jest glikoproteiną błonową typu I. Gen *APP* zawiera 18 eksonów [46]. W wyniku alternatywnego splicingu eksonów 7, 8 i 15 powstaje 8 różniących się długością izoform App. Ekson 7 koduje domenę inhibitora proteaz Kunitza (KPI), która hamuje działanie proteaz serynowych, tj.: trypsyna, chymotrypsyna, elastaza, plazmina, katepsyna D i chroni tym samym cząsteczkę przed degradacją [47]. Gen *APP* jest genem metabolizmu podstawowego, ulega wysokiej ekspresji w różnych tkankach. W mózgu i w neuronach [17] jest syntetyzowana głównie izoforma APP695 pozbawiona eksonów 7 i 8, natomiast w komórkach mikrogleju, astrocytach oraz niektórych neuronach izoformy APP bez eksonu 15 (APP751 i APP770 zawierające domenę KPI). Transport aksonalny umożliwia przemieszczanie się App w neuronach z ciała komórki do zakończeń nerwowych [27]. Nasza



Ryc. 3. Seria cięć endoproteolitycznych białka prekursora amyloidu (App) prowadząca do powstania nieamyloidogennych (szlak α -sekretazy) i amyloidogennych (szlak β -sekretazy) peptydów – głównych produktów w patogenezie choroby Alzheimera

wiedza na temat mechanizmów transportu komórkowego App pozostaje dotąd niepełna. Wiadomo, że App po syntezie na rybosomach jest przenoszone do siateczki endoplazmatycznej, a dalej przechodzi przez szlak wydzielniczy aparatu Golgiego [40]. Niewielka część molekuł dociera do błony komórkowej, gdzie odbywa się proces endoproteolizy z udziałem trzech proteaz nazwanych odpowiednio α -, β - i γ -sekretozą [45]. Do aktywności α -sekretozy kandydują trzy białka z rodziny ADAM (dezintegryny i metaloproteiny): ADAM-9, ADAM-10 oraz ADAM-17/TACE (enzym konwertujący czynnik α martwicy nowotworów) [5]. Białko odpowiedzialne za aktywność β -sekretozy było zidentyfikowane jako proteaza aspartylowa i nazwane BACE (enzym tnący App w miejscu β) [22,43]. Sugeruje się, że za cięcie β -sekretozy jest odpowiedzialny duży kompleks różnych białek, włączający preseniliny (PS) jako część centrum katalitycznego [7]. W wyniku działania sekreataz powstaje sekwencja peptydu $A\beta$ o długości 40, 41, 42 lub 43 reszt aminokwasowych z części domeny międzybłonowej oraz części domeny pozakomórkowej cząsteczki App (ryc. 3) [40,41].

α -sekretoza tnie APP wewnątrz sekwencji β -amyloidu tworząc nieamyloidowe fragmenty peptydowe: N-końcowy fragment App (α Apps) i C-końcowy fragment C83 zakończony w błonie. Dalsze cięcie C-końcowego fragmentu przez γ -sekretozę uwalnia peptyd p3 o masie cząsteczkowej 3kD. β -sekretoza tnie App w N-końcowej sekwencji β -amyloidu prowadząc do utworzenia N-końcowej części App (β Apps) i C-końcowego fragmentu C99. Następnie, cięcie pośredniego białka C99 od strony C-końca sekwencji β amyloidu przez γ -sekretozę tworzy postać amyloidogenną białka. Proces dojrzewania z udziałem γ -sekretozy jest wydarzeniem niejednorodnym wytwarzającym $A\beta$ o różnych końcach. $A\beta_{40}$ i $A\beta_{42}$ to najbardziej rozpowszechnione aloformy $A\beta$. γ -sekretoza tnie zazwyczaj w pozycji Val40 lub/oraz w pozycji Ala42. Dokładne funkcje zarówno białka App jak i fragmentów peptydowych utworzonych w wyniku procesu jego dojrzewania proteolitycznego pozostają nadal nieznane. App zawiera domenę KPI działającą jako inhibitor proteaz, hamującą działanie m.in. czynnika XI w kaskadzie krzepnięcia krwi [44]. Wskazuje się, że App może działać jako czynnik autokrynowy i neuroprotektyny [35,50]. App wydzielone z komórki może także odgrywać rolę w procesach adhezji komórkowej typu komórka-komórka i komórka-substrat [38]. Jest prawdopodobne, że białko to stymuluje wzrost komórek oraz bierze udział w procesie gojenia się ran.

Dotychczas opisano ponad 20 mutacji w genie APP warunkujących rozwój rodzinnej postaci AD o wczesnym początku choroby (familial Alzheimer's disease – FAD, early onset Alzheimer's disease – EOAD).

4. PRESENILINY I ICH ROLA W PROCESIE DOJRZEWANIA PROTEOLITYCZNEGO BIAŁKA PREKURSORA AMYLOIDU

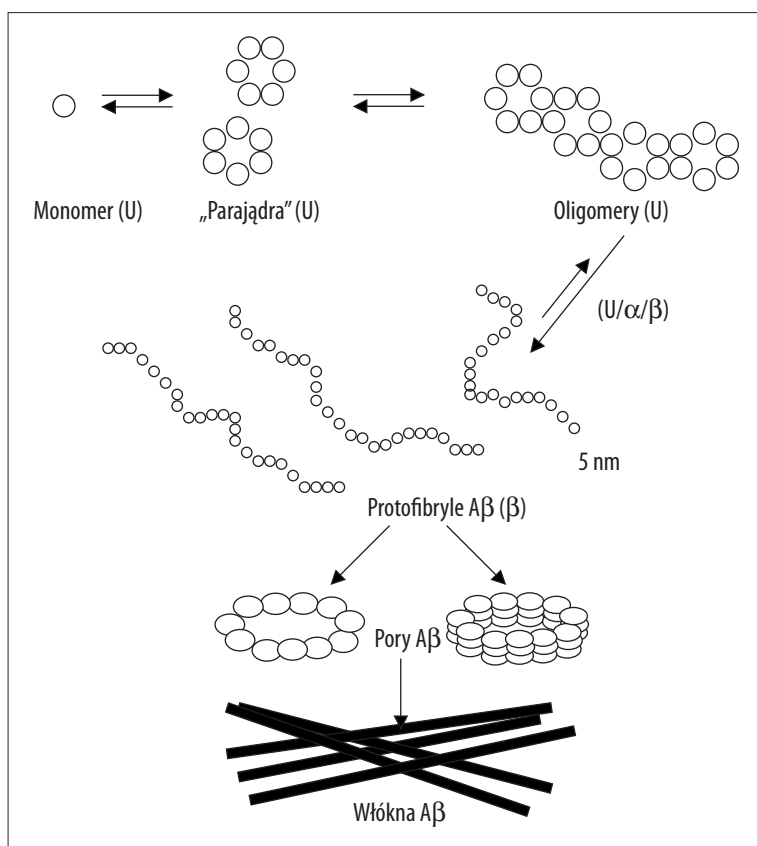
Preseniliny (PS), presenilina 1 (Ps1) i presenilina 2 (Ps2) są białkami błonowymi umiejscowionymi głównie w błonach aparatu Golgiego i siateczki endoplazmatycznej. Ps1 i Ps2 cechuje wysoki stopień homologii; ich sekwencja aminokwasowa pokrywa się w 67%. W domenach międzybłonowych podobieństwo strukturalne jest jeszcze wyższe i dochodzi do 84% identyczności [30,42]. Białka są włą-

czone w kilka szlaków przekazywania sygnałów (m.in.: szlak Notch, WNT/ β -kateniny), apoptozę oraz odpowiedź na białka stresu komórkowego o nieprawidłowej strukturze przestrzennej (białka niepofałdowane lub błędnie pofałdowane). Podczas rozwoju organizmu preseniliny odgrywają główną rolę w utrzymaniu proliferacji nerwowych komórek progenitorowych, tymczasowej kontroli procesu różnicowania komórek nerwowych oraz właściwej migracji neuronów w rozwijającej się korze mózgowej. Analiza funkcji presenilin w dorosłej korze mózgowej ujawniła ich zasadniczą rolę w plastyczności synaps, formowaniu się pamięci długoterminowej oraz przeżywalności neuronów. PS odgrywają także krytyczną rolę w cięciu App przez γ -sekretozę. Jakkolwiek ich dokładna rola w cięciu App pozostaje nadal niepoznana, istnieje wiele dowodów, iż białka te są najważniejsze dla aktywności γ -sekretozy. Komórki pochodzące od myszy transgenicznym pozbawionych Ps1 [7] oraz komórki od myszy pozbawionych zarówno Ps1, jak i Ps2 wykazują istotną redukcję i prawie niewykrywalną akumulację fragmentów App: C89 oraz C99, przejściowych substratów dla γ -sekretozy. Ponadto wykazano, iż w procedurze oczyszczania białek, PS tworzą duży kompleks połączony z aktywnością podobną do γ -sekretozy, a ostatnio także bezpośrednie oddziaływanie między PS a C-końcowymi fragmentami App stanowiącymi substrat dla γ -sekretozy [21]. Prawdopodobnie PS stanowią centrum aktywne dużego kompleksu, zawierającego różne białka, odpowiedzialnego za proces dojrzewania proteolitycznego App z udziałem β -sekretozy. Preseniliny mogą także działać jako koenzym γ -sekretozy lub czynnik modulujący proces przemieszczania się pochodnych App i γ -sekretozy. Mimo że sekwencja Ps1 nie wskazuje na jakąkolwiek swoistą aktywność enzymatyczną, to może ona pełnić rolę białka wspomagającego kompleks γ -sekretozy zawierający inne elementy, tj. nikastryne. Cząsteczkę nikastryny niedawno zidentyfikowano w połączeniu z Ps1 i wiadomo, że wpływa ona na metabolizm App [60].

Około 200 patogennych mutacji w genach PS odpowiedzialnych za rozwój FAD zidentyfikowano w rodzinach z różnych grup etnicznych.

5. MECHANIZMY MOLEKULARNE INICJACJI FIBRYLOGENEZY BIAŁKA β -AMYLOIDU W CHOROBIE ALZHEIMERA

Tworzenie się włókienek $A\beta$ w blaszki amyloidowe jest procesem złożonym, obejmującym kilka oddzielnych etapów [48]. $A\beta$ po uwolnieniu z komórki może się wiązać do co najmniej kilku białek, np. chymotrypsyny, albuminy, apolipoproteiny E czy białek układu dopełniacza [1,32]. $A\beta$ jest także obecny jako trwałe rozpuszczalny dimer, wykrywany w homogenatach mózgu oraz mediach kultur komórkowych [10]. Całkowite stężenie $A\beta$ może być czynnikiem krytycznym w procesie tworzenia się włókien. W młodych i zdrowych mózgu, $A\beta$ jest w pełni katabolizowane zaraz po wydzieleniu z komórki, zanim mogłoby dojść do jego odłożenia. W starym mózgu, zwiększone wytwarzanie oraz obniżona wydajność usuwania $A\beta$ z komórki może prowadzić do jego odkładania się. Niedawno w badaniach *in vitro* zidentyfikowano trzy typy oligomerów $A\beta$: 1) bardzo krótkie oligomery o rozmiarach od dimeru do heksameru [3,29]; 2) krótkie oligomery w przedziale 17–42 kDa, ligandy będące pochodnymi $A\beta$ (ADDLs) [28] oraz



Ryc. 4. Hipotetyczny model oligomeryzacji aloformy Aβ42 poprzez fazę tworzenia się kompleksów penta/heksamerów (tzw. „parająderek”) w procesie powstawania włókien β-amyloidu (Aβ) prowadzącym do odkładania się złogów Aβ w postaci płytek starczych (*senile plaques*) zaproponowany przez Teplowa i wsp. [3,24,25,48,59]

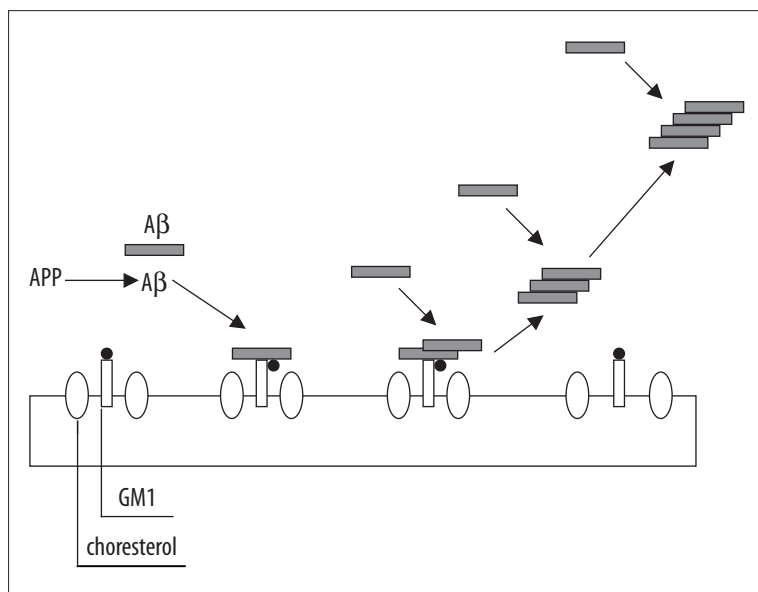
3) protofibryle widoczne w mikroskopie elektronowym, krótkie przejściowe włókna o średnicy mniejszej niż 8 nm oraz długości krótszej niż 150 nm [20,53,59]. Protofibryle są strukturami przejściowymi obserwowanymi *in vitro* podczas tworzenia się dojrzałych włókien amyloidowych [20,59]. Szczegółowe zależności między różnymi oligomerami nie są wyjaśnione. Wszystkie pośrednie oligomeryczne produkty łączenia się Aβ: oligomery, ADDLs, protofibryle, a także dojrzałe włókna Aβ są neurotoksyczne. Poznanie podłoża molekularnego warunkującego neurotoksyczność Aβ jest podstawowe dla zrozumienia procesu neurodegeneracji w chorobie Alzheimera. Sugerowano, że oligomery hamują przeżywalność neuronów dziesięć razy bardziej intensywnie niż włókna, podkreślając znaczenie regulacji procesu tworzenia się oligomerów/protofibryli w AD [6]. Czynniki zapobiegające łączeniu się toksycznych oligomerów Aβ mogłyby mieć potencjalne znaczenie terapeutyczne w leczeniu AD [26].

Niedawno wykazano, że dwie aloformy Aβ dominujące *in vivo*, Aβ40 oraz Aβ42, mają różne szlaki oligomeryzacji [3,24]. Na najwcześniejszym etapie oligomeryzacji, podczas łączenia się monomerów, peptydy te zachowują się w odmienny sposób. Badania kinetyki tworzenia się włókien Aβ wykazały, że Aβ42 tworzy włókna znacznie szybciej niż Aβ40 [25]. Aβ42 jest bardziej fibrylogenne i bardziej toksyczne niż Aβ40. Udowodniono, że wstępna faza oligomeryzacji Aβ42 obejmuje tworzenie się tzw. parająderek, jednostek będących pentamerami/heksamerami wyjściowych monomerów (ryc. 4) [3].

Parajądra są początkowymi i zarazem minimalnymi strukturami, które mogą oligomeryzować w większe formy: duże oligomery, protofibryle, włókna. Monomery, parajądra i duże oligomery są w przeważającej swej części pozbawione struktury wyższego rzędu, mają jedynie krótkie elementy helikalne oraz elementy β harmonijki/β skrecone. Podczas tworzenia się protofibryli, zasadnicze zmiany konformacyjne występują wtedy, kiedy nieukształtowane elementy α-helisy i β nici przechodzą w strukturę β harmonijki z β skretem. Podczas inkubacji poszczególnych aloform Aβ40 i Aβ42 *in vitro* w podobnych stężeniach, Aβ40 nie tworzy parająderek. Aloforma Aβ40 tworzy jedynie pozostające w równowadze dynamicznej monomery, dimery, trimery i tetramery peptydu [3]. Izoleucyna w pozycji 41 Aβ (Ile41) jest krytyczną resztą aminokwasową promującą tworzenie się jednostek typu pentamer/heksamer. Wydłużenie Aβ40 o Ile-41 jest wystarczające dla indukcji tworzenia się parająderek. Naturalna tendencja do tworzenia się parająderek wydaje się cechować tylko Aβ42. Obserwacja ta może tłumaczyć szczególnie silną asocjację Aβ42 z AD.

6. AGREGACJA Aβ I METABOLIZM CHOLESTEROLU

Wciąż brak dowodu na nieprawidłowości w wytwarzaniu Aβ w postaci sporadycznej późnej AD, najczęstszej postaci choroby Alzheimera. Jest zatem uzasadnione, by przypuszczać, że agregacja Aβ w postaci sporadycznej AD może być indukowana przez dotąd nieznanne modyfikacje Aβ i/lub zmieniony mechanizm usuwania Aβ z komórki. Badania z zakresu biologii komórki oraz biochemiczne potwierdzają, że zmiany w metabolizmie cholesterolu w neuronach mogą leżeć u podstaw rozwoju zmian pato-



Ryc. 5. Hipotetyczny model interakcji gangliozydu GM1 z β -amyloidem w regionach błony komórkowej neuronów bogatych w cholesterol (tratwy lipidowe). $A\beta$ zmienia swą konformację poprzez wiązanie z GM1, zmiany strukturalne kompleksu GM1- $A\beta$ mogą przyspieszać przyłączanie kolejnych cząsteczek $A\beta$, co prowadziłoby do powstawania złogów $A\beta$

logicznych w AD. Głównym czynnikiem ryzyka dla postaci sporadycznej późnej AD jest allel $APOE\epsilon^*4$ genu *Apolipoproteiny E* kodujący białko związane bezpośrednio w regulację metabolizmu cholesterolu. Istnieje wiele dowodów na to, że apolipoproteina E moduluje rozkład cholesterolu i jego metabolizm w błonach neuronów (w sposób zależny od liczby alleli) [49]. Ponadto, sugeruje się, że odkładanie $A\beta$ w mózgu może się zaczynać od jego wiązania do molekuly glikolipidu, gangliozydu GM1 [57]. Gangliozyd GM1 jest rozważany jako molekularny chaperon (białko wspomagające) w przemianach $A\beta$ (ryc. 5).

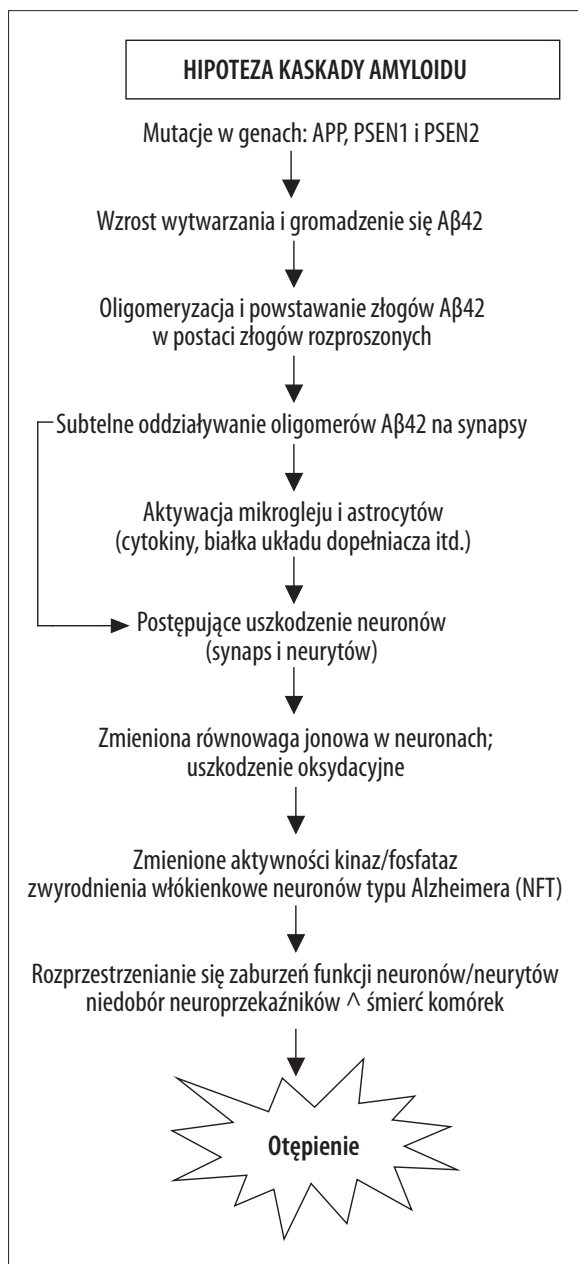
Na podstawie jego wyjątkowo dużej zdolności do agregacji z $A\beta$, zmiennej immunoreaktywności i unikatowej charakterystyki molekularnej kompleksu $A\beta$ -GM1 wysnuto hipotezę, że $A\beta$ zmienia swą konformację przez wiązanie z GM1 i na zasadzie działania w charakterze „ziarna” przyspiesza agregację rozpuszczalnego (soluble) $A\beta$ w nierozpuszczalne (insoluble) złogi $A\beta$ [58]. Ostatnio wykazano, że wiązanie $A\beta$ do GM1 jest znacząco silniejsze w domkach komórkowych bogatych w cholesterol. Istnieje przynajmniej kilka doniesień wskazujących, że $A\beta$ akumuluje się we frakcjach zawierających lipidy, podobnych do tratw lipidowych (lipid rafts) [39]. Z tego względu jest bardzo prawdopodobne, że lipidy błonowe neuronów zawierające cholesterol i gangliozydy, są silnie uwikłane w proces agregacji $A\beta$ w mózgu osób z AD [9,49].

7. HIPOTEZA „KASKADY β AMYLOIDU” – SEKWENCJA WYDARZEŃ PROWADZĄCYCH DO NEURODEGENERACJI W CHOROBIE ALZHEIMERA

Procesy apoptozy oraz nekrozy leżą u podstaw procesu neurodegeneracji w AD. Znamiona apoptozy w mózгах chorych z AD obejmują m.in.: uszkodzenie DNA, podwyższoną aktywność kaspaz oraz zmienioną ekspresję innych genów związanych z apoptozą [33]. Badania na modelach zwierzęcych i komórkowych wskazują na związek apoptozy z podwyższonym stresem oksydacyjnym, zakłóceniami w homeostazie wapnia, dysfunkcją mitochondriów oraz aktywacją kaspaz. Wykazano *in vitro*, że $A\beta$ indukuje apoptozę poprzez zmiany w komórkowym metabolizmie Ca^{+2}

[34]. W nekrozie charakteryzującej się spęcznieniem komórki, której śmierć następuje w wyniku pęknięcia błony komórkowej połączonej z uwolnieniem zawartości komórki do otaczającej ją przestrzeni międzykomórkowej. $A\beta$ stymuluje proces nekrozy przez tworzenie wolnych rodników oraz zmiany w wewnątrzkomórkowej dystrybucji Ca^{+2} . Wydaje się, iż śmierć neuronów w AD jest wynikiem nakładających się na siebie procesów apoptozy i nekrozy. Zarówno zewnątrzkomórkowe złogi $A\beta$, jak i obumierające neurony aktywują różnorodność szlaków metabolicznych towaryszących zapaleniu i uwalniających w mózgu przewlekłe reakcje zapalne [56]. Zapalenie jest reakcją obronną organizmu na uraz. Stan zapalny bywa jednak szkodliwy w wyniku zmian w ekspresji czynników prozapalnych mogących inicjować/uczestniczyć w procesach neurodegeneracji. Niedawne badania wskazały, iż wewnątrzkomórkowa agregacja białka o nieprawidłowej strukturze także uwalnia reakcje zapalne. Aktywowane w odpowiedzi na zapalenie komórki mikrogleju oraz astrocyty stymulują wytwarzanie nowych mediatorów. Aktywację komórek gleju i mikrogleju wywołuje m.in.: podwyższona ekspresja białek układu dopełniacza, cytokin, białek ostrej fazy i innych mediatorów zapalnych. Interleukina 1 (IL-1) jest jedną z cytokin o podwyższonej aktywności w AD. Nadekspresja IL-1 przez zaktywowane komórki mikrogleju wydaje się występować na wczesnych etapach procesu powstawania blaszek amyloido wych [15]. IL-1 ułatwia syntezę i proces dojrzewania App, co w konsekwencji może stymulować dalsze wytwarzanie $A\beta$ wraz z odkładaniem się złogów. Włókna $A\beta$ były wykryte w komórkach mikrogleju osób dotkniętych AD [54].

Według „hipotezy kaskady amyloidu” przedstawionej przez Hardy’ego i Higginsa [18] oraz Hardy’ego i Selkoe’a [19], pierwotnym wydarzeniem w całej patogenezie AD są nieprawidłowości w metabolizmie App w mózgu z następującą po nich akumulacją peptydów $A\beta$. Inne zmiany patologiczne, takie jak zwyrodnienia włóknkowe typu Alzheimer (NFT), uszkodzenie neuronów czy utrata komórek są uważane za wtórne i będące wynikiem zaburzonej równowagi między wytwarzaniem $A\beta$ a jego usuwaniem z komórki. „Hipoteza kaskady amyloidu” jest oparta na kilku od-



Ryc. 6. Sekwencja wydarzeń prowadzących do neurodegeneracji mózgu w chorobie Alzheimera według hipotezy kaskady β -amyloidu zaproponowanej przez Hardy'ego i Higginsa [18] i Hardy'ego i Selkoe'a [19]

kryciach dokonanych w badaniach nad AD. Po pierwsze, większość poznanych mutacji w genach *APP* i *Presenilin* zwiększa wytwarzanie $A\beta$, zwłaszcza syntezę aloformy

$A\beta_{42}$ [11,41]. Po drugie, chorzy z zespołem Downa, którzy wykazują nadmierne wytwarzanie *App* spowodowane trisomią chromosomu 21 rozwijają z wiekiem objawy oraz neuropatologię bardzo podobną do tej obserwowanej w chorobie Alzheimera [55]. Po trzecie, występuje korelacja między poziomem $A\beta$ a osłabieniem funkcji poznawczych zarówno u zwierząt transgenicznnych jak i u chorych z chorobą Alzheimera [36]. Po czwarte, myszy transgeniczne, które syntetyzują ludzkie zmutowane białko tau rozwijają NFT, bez blaszek amyloidowych [14]. U myszy transgenicznnych syntetyzujących dwa ludzkie zmutowane białka *App* i tau powstają zarówno zawierające tau zwyrodnienia neurofibrylarne, jak i blaszki amyloidowe, przy czym zwyrodnienie jest znacznie więcej w porównaniu z myszami syntetyzującymi tylko białko tau [31]. Dodatkowo wstrzyknięcie włókien $A\beta_{42}$ myszy syntetyzującej ludzkie białko tau zwiększa 5-krotnie liczbę NFT. Te dane sugerują, że NFT jest odkładane w wyniku zmian w metabolizmie $A\beta$. „Hipoteza kaskady amyloidu” budzi jednak pewne kontrowersje. Na przykład brak korelacji między wzrostem wytwarzania $A\beta_{42}$ u chorych z mutacjami *APP* i *PS* a wiekiem wystąpienia u nich pierwszych objawów choroby. Ponadto niektóre mutacje w genie *APP* odpowiedzialne za rozwój wczesnej rodzinnej postaci AD (familial early onset Alzheimer's disease – FAD), tj. mutacja flamandzka (*APPA692G*) czy holenderska (*APPE693Q*) nie są związane z objawami typowymi dla choroby Alzheimera. Mysz transgeniczna z rozległymi złogami $A\beta$ cechuje wyraźny brak zaniku komórek nerwowych [12], a u myszy transgenicznnych z ekspresją zmutowanych białek warunkujących FAD nie rozwija się patologia tau [23]. Według „hipotezy kaskady amyloidu”, sekwencja wydarzeń prowadzących do zwyrodnienia neuronów w AD jest następująca:

- 1) mutacje w genach *APP* i *PS* inicjują tworzenie się $A\beta$ poprzez ukierunkowanie procesu dojrzewania *App* na szlak z udziałem β - i γ -sekretaz;
- 2) mutacje *APP* wewnątrz sekwencji $A\beta$ wzmagają samoagregację $A\beta$ we włókna amyloidowe;
- 3) wzrost wytwarzania $A\beta_{42}$ oraz oligomeryzacja prowadzą do odkładania się $A\beta_{42}$ najpierw w postaci złogów rozproszonych;
- 4) oligomery $A\beta$ subtelnie wpływają na synapsy, które stymulują aktywację mikrogleju i astrocytów, prowadząc do postępującego uszkodzenia synaps i neurytów oraz zmian w równowadze jonowej wewnątrz neuronów;
- 5) uszkodzenie oksydacyjne może zmieniać aktywność kinaz i fosfataz;
- 6) aktywacja niektórych kinaz (np. GSK-3 β) poprzedza hiperfosforylację tau oraz powstawanie w neuronach zwyrodnień włóknienkowych typu Alzheimera;
- 7) następstwem postępujących zaburzeń funkcji komórek nerwowych jest ich śmierć, która powoduje niedobór neuroprzekaźników w mózgu, co z czasem prowadzi do rozwoju otępienia [19] (ryc. 6).

PIŚMIENICTWO

- [1] Abraham C.R., Selkoe D.J., Potter H.: Immunochemical identification of the serine protease inhibitor α 1-antichymotrypsin in the brain amyloid deposits of Alzheimer's disease. *Cell*, 1988; 52: 487–501
- [2] Alzheimer A.: A characteristic disease of the cerebral cortex. *Allgemeine Zeitschrift für Psychiatrie und Psychisch-Gerichtliche Medizin.*, 1907; 64: 146–148

- [3] Bitan G., Kirkitadze M.D., Lomakin A., Vollers S.S., Benedek G.B., Teplow D.B.: Amyloid β -protein ($A\beta$) assembly: $A\beta$ 40 and $A\beta$ 42 oligomerize through distinct pathways. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003; 100: 330–335

- [4] Braak H., Braak E.: Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol.*, 1991; 82: 239–259

- [5] Buxbaum J.D., Liu K.N., Luo Y., Slack J.L., Stocking K.L., Peschon J.J., Johnson R.S., Castner B.J., Cerretti D.P., Black R.A.: Evidence that tumor necrosis factor α converting enzyme is involved in regulated α -secretase cleavage of the Alzheimer amyloid protein precursors. *J. Biol. Chem.*, 1998; 273: 27765–27767
- [6] Dahlgren K.N., Manelli A.M., Stine W.B., Baker L.K., Krafft G.A., LaDu M.J.: Oligomeric and fibrillar species of amyloid- β peptides differentially affect neuronal viability. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 32046–32053
- [7] De Strooper B., Saffig P., Craessaerts K., Vanderstichele H., Guhde G., Annaert W., Von Figura K., Van Leuven F.: Deficiency of presenilin 1 inhibits the normal cleavage of amyloid precursor protein. *Nature*, 1998; 391: 387–390
- [8] Delobel P.: Phosphorylation sites on tau proteins. <http://www.lille.inserm.fr/u422/TauPhosphoSeq.htm>
- [9] Eehalt R., Keller P., Haass C., Thiele C., Simons K.: Amyloidogenic processing of the Alzheimer β -amyloid precursor protein depends on lipid raft. *J. Cell Biol.*, 2003; 160: 113–123
- [10] Enya M., Morishima-Kawashima M., Yoshimura M., Shinkai Y., Kusui K., Khan K., Games D., Schenk D., Sugihara S., Yamaguchi H., Ihara Y.: Appearance of sodium dodecyl sulfate-stable amyloid β -protein (A β) dimer in the cortex during aging. *Am. J. Pathol.*, 1999; 154: 271–279
- [11] Esler W.P., Wolfe M.S.: A portrait of Alzheimer's secretases – new features and familiar faces. *Science*, 2001; 293: 1449–1454
- [12] Games D., Adams D., Alessandrini R., Barbour R., Berthelette P., Blackwell C., Carr T., Clemens J., Donaldson T., Gillespie F., Guido T., Hagoopian S., Johnson-Wood K., Khan K., Lee M., Leibowitz P., Lieberburg I., Little S., Masliah E., McConlogue L., Montoya-Zavala M., Mucke L., Paganini L., Penniman E., Power M., Schenk D., Seubert P., Snyder B., Soriano F., Tan H., Vitale J., Wadsworth S., Wolozin B., Zhao J.: Alzheimer-type neuropathology in transgenic mice overexpressing V717F β -amyloid precursor protein. *Nature*, 1995; 373: 523–527
- [13] Glenner G.G., Wong C.W.: Alzheimer's disease: initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1984; 120: 885–890
- [14] Götz J., Chen G., van Dorpe J., Nitsch R.M.: Formation of neurofibrillary tangles in P301L tau transgenic mice induced by A β 42 fibrils. *Science*, 2001; 93: 1491–1495
- [15] Griffin W.S., Sheng J.G., Roberts G.W., Mrak R.E.: Interleukin-1 expression in different plaque types in Alzheimer's disease: significance in plaque evolution. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, 1995; 54: 276–281
- [16] Grundke-Iqbal I., Iqbal K., Tung Y.C., Quinlan M., Wisniewski H.M., Binder L.I.: Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein tau in Alzheimer cytoskeletal pathology. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1986; 83: 4913–4917
- [17] Haass C., Hung A.Y., Selkoe D.J.: Processing of β -amyloid precursor protein in microglia and astrocytes favors a localization in internal vesicles over constitutive secretion. *J. Neurosci.*, 1991; 11: 3783–3793
- [18] Hardy J., Higgins G.A.: Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. *Science*, 1992; 256: 184–185
- [19] Hardy J., Selkoe D.J.: The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science*, 2002; 297: 353–356
- [20] Harper J.D., Wong S.S., Lieber C.M., Lansbury P.T.: Observation of metastable A β amyloid protofibrils by atomic force microscopy. *Chem Biol.*, 1997; 4: 119–125
- [21] Herreman A., Serneels L., Annaert W., Collen D., Schoonjans L., De Strooper B.: Total inactivation of γ -secretase activity in presenilin-deficient embryonic stem cells. *Nat. Cell Biol.*, 2000; 2: 461–462
- [22] Hussain I., Powell D., Howlett D.R., Tew D.G., Meek T.D., Chapman C., Gloger I.S., Murphy K.E., Southan C.D., Ryan D.M., Smith T.S., Simmons D.L., Walsh F.S., Dingwall C., Christie G.: Identification of a novel aspartic protease (Asp 2) as β -secretase. *Mol. Cell. Neurosci.*, 1999; 14: 419–427
- [23] Janus C., Chishti M.A., Westaway D.: Transgenic mouse models of Alzheimer's disease. *Biochim. Biophys. Acta*, 2000; 1502: 63–75
- [24] Kirkitadze M.D., Bitan G., Teplow D.B.: Paradigm shifts in Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders: the emerging role of oligomeric assemblies. *J. Neurosci. Res.*, 2002; 69: 567–577
- [25] Kirkitadze M.D., Kowalska A.: Molecular mechanisms initiating amyloid β -fibril formation in Alzheimer's disease. *Acta Bioch. Pol.*, 2005; 52, 2: 417–423
- [26] Klein W.L., Krafft G.A., Finch C.E.: Targeting small A β oligomers: the solution to an Alzheimer's disease conundrum? *Trends Neurosci.*, 2001; 24: 219–224
- [27] Koo E.H., Sisodia S.S., Archer D.R., Martin L.J., Weidemann A., Beyreuther K., Fischer P., Masters C.L., Price D.L.: Precursor of amyloid protein in Alzheimer disease undergoes fast anterograde axonal transport. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1990; 87: 1561–1565
- [28] Lambert M.P., Barlow A.K., Chromy B.A., Edwards C., Freed R., Liosatos M., Morgan T.E., Rozovsky I., Trommer B., Viola K.L., Wals P., Zhang C., Finch C.E., Krafft G.A., Klein W.L.: Diffusible, non-fibrillar ligands derived from A β 1–42 are potent central nervous system neurotoxins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1998; 95: 6448–6453
- [29] Levine H. III: Soluble multimeric Alzheimer β (1–40) pre-amyloid complexes in dilute solution. *Neurobiol. Aging*, 1995; 16: 755–764
- [30] Levy-Lahad E., Wasco W., Poorkaj P., Romano D.M., Oshima J., Pettingell W.H., Yu C.E., Jondro P.D., Schmidt S.D., Wang K. et al.: Candidate gene for the chromosome 1 familial Alzheimer's disease locus. *Science*, 1995; 269: 973–977
- [31] Lewis J., Dickson D.W., Lin W.L., Chisholm L., Corral A., Jones G., Yen S.H., Sahara N., Skipper L., Yager D., Eckman C., Hardy J., Hutton M., McGowan E.: Enhanced neurofibrillary degeneration in transgenic mice expressing mutant tau and APP. *Science*, 2001; 293: 1487–1491
- [32] Ma J., Yee A., Brewer H.B., Das S., Potter H.: Amyloid-associated proteins α 1-antichymotrypsin and apolipoprotein E promote assembly of Alzheimer β -protein into filaments. *Nature*, 1994; 372: 92–94
- [33] Masliah E., Mallory M., Alford M., Tanaka S., Hansen L.A.: Caspase dependent DNA fragmentation might be associated with excitotoxicity in Alzheimer's disease. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, 1998; 57: 1041–1052
- [34] Mattson M.P.: Apoptosis in neurodegenerative disorders. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2000; 1: 120–129
- [35] Mattson M., Cheng B., Culwell A., Esch F.S., Lieberburg I., Rydel R.E.: Evidence for excitoprotective and intraneuronal calcium-regulating roles for secreted forms of the β -amyloid precursor protein. *Neuron*, 1993; 10: 243–254
- [36] Näslund J., Haroutunian V., Mohs R., Davis K.L., Davies P., Greengard P., Buxbaum J.D.: Correlation between elevated levels of amyloid β -peptide in the brain and cognitive decline. *JAMA*, 2000; 283: 1571–1577
- [37] O'Brien C.: Auguste D. and Alzheimer's disease. *Science*, 1996; 273: 28
- [38] Qiu W.Q., Ferreira A., Miller C., Koo E.H., Selkoe D.J.: Cell-surface β -amyloid precursor protein stimulates neurite outgrowth of hippocampal neurons in an isoform-dependent manner. *J. Neurosci.*, 1995; 15: 2157–2167
- [39] Sawamura N., Morishima-Kawashima M., Waki H., Kobayashi K., Kuramochi T., Frosch M.P., Ding K., Ito M., Kim T.W., Tanzi R.E., Oyama F., Tabira T., Ando S., Ihara Y.: Mutant presenilin 2 transgenic mice. A large increase in the levels of A β 42 is presumably associated with the low density membrane domain that contains decreased levels of glycerophospholipids and sphingomyelin. *J. Biol. Chem.*, 2000; 275: 27901–27908
- [40] Selkoe D.J.: The cell biology of beta-amyloid precursor protein and presenilin in Alzheimer's disease. *Trends Cell Biol.*, 1998; 8, 11: 447–453
- [41] Selkoe D.J., Podlisny M.B.: Deciphering the genetic basis of Alzheimer's disease. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.*, 2002; 3: 67–99
- [42] Sherrington R., Rogaev E.I., Liang Y., Rogaeva E.A., Levesque G., Ikeda M., Chi H., Lin C., Li G., Holman K., Tsuda T., Mar L., Foncin J.F., Bruni A.C., Montesi M.P., Sorbi S., Rainero L., Pinessi L., Nee L., Chumakov I., Pollen D., Brookes A., Saneau P., Polinsky R.J., Wasco W., Da Silva H.A., Haines J.L., Pericak-Vance M.A., Tanzi R.E., Roses A.D., Fraser P.E., Rommens J.M., St. George-Hyslop P.H.: Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease. *Nature*, 1995; 375: 754–760
- [43] Sinha S., Anderson J.P., Barbour R., Basi G.S., Caccavello R., Davis D., Doan M., Dovey H.F., Frigon N., Hong J., Jacobson-Croak K., Jewett N., Keim P., Knops J., Lieberburg I., Power M., Tan H., Tatsuno G., Tung J., Schenk D., Seubert P., Somensaaari S.M., Wang S., Walker D., Zhao J., McConlogue L., John V.: Purification and cloning of amyloid precursor protein β -secretase from human brain. *Nature*, 1999; 402: 537–540
- [44] Smith R.P., Higuchi D.A., Broze G.J.Jr: Platelet coagulation factor Xii-inhibitor, a form of Alzheimer amyloid precursor protein. *Science*, 1990; 248: 1126–1128
- [45] Steiner H., Haass C.: Intramembrane proteolysis by presenilins. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2000; 1: 217–224

- [46] Tanzi R.E., Gussella J.F., Watkins P.C., Bruns G.A., St George-Hyslop P., Van Keuren M.L., Patterson D., Pagan S., Kurnit D.M., Neve R.L.: Amyloid beta protein gene: cDNA, mRNA distribution, and genetic linkage near the Alzheimer locus. *Science*, 1987; 235: 880–884
- [47] Tanzi R.E., McClatchey A.I., Lamperti E.D., Villa-Komaroff L., Gusella J.F., Neve R.L.: Protease inhibitor domain encoded by an amyloid protein precursor mRNA associated with Alzheimer's disease. *Nature*, 1988; 331: 528–530
- [48] Teplow D.B.: Structural and kinetic features of amyloid beta-protein fibrillogenesis. *Amyloid*, 1998; 5: 121–142
- [49] Tun H., Marlow L., Pinnix I., Kinsey R., Sambamurti K.: Lipid rafts play an important role in a beta biogenesis by regulating beta-secretase pathway. *Mol. Neurosci.*, 2002; 19: 31–35
- [50] Van Nostrand W.E., Schmaier A.H., Farrow J.S., Cunningham D.D.: Protease nexin-II (amyloid β -protein precursor): a platelet α -granule protein. *Science*, 1990; 248: 745–748
- [51] Wahlund L.O., Winblad B.: Dementia: diagnostics, early treatment, and assistance from family members. *Acta Neurol. Scand. Suppl.*, 1996; 168: 2–21
- [52] Wallin A.: Current definition and classification of dementia diseases. *Acta Neurol. Scand. Suppl.*, 1996; 168: 39–44
- [53] Walsh D.M., Hartley D.M., Kusumoto Y., Fezoui Y., Condron M.M., Lomakin A., Benedek G.B., Selkoe D.J., Teplow D.B.: Amyloid β -protein fibrillogenesis. Structure and biological activity of protofibrillar intermediates. *J. Biol. Chem.*, 1999; 274: 25945–25952
- [54] Wegiel J., Wisniewski H.M.: The complex of microglial cells and amyloid star in three-dimensional reconstruction. *Acta Neuropathol.*, 1990; 81: 116–124
- [55] Wisniewski K.E., Dalton A.J., McLachlan C., Wen G.Y., Wisniewski H.M.: Alzheimer's disease in Down's syndrome: Clinicopathologic studies. *Neurology*, 1985; 35: 957–961
- [56] Wyss-Coray T., Mucke L.: Inflammation in neurodegenerative disease – a double-edged sword. *Neuron*, 2002; 35: 419–432
- [57] Yanagisawa K., Ihara Y.: GM1 ganglioside-bound amyloid β -protein ($A\beta$) in Alzheimer's disease brain. *Neurobiol. Aging*, 1998; 19: S65–S67
- [58] Yanagisawa K., Odaka A., Suzuki N.: GM1 ganglioside-bound amyloid β -protein ($A\beta$): a possible form of preamyloid in Alzheimer's disease. *Nat. Med.*, 1995; 1: 1062–1066
- [59] Yong W., Lomakin A., Kirkitadze M.D., Teplow D.B., Chen S.H., Benedek G.B.: Structure determination of micelle-like intermediates in amyloid β -protein fibril assembly by using small angle neutron scattering. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002; 99: 150–154
- [60] Yu G., Nishimura M., Arawaka S., Levitan D., Zhang L., Tandon A., Song Y.Q., Rogaeva E., Chen F., Kawarai T., Supala A., Levesque L., Yu H., Yang D.S., Holmes E., Milman P., Liang Y., Zhang D.M., Xu D.H., Sato C., Rogaev E., Smith M., Janus C., Zhang Y., Aebersold R., Farrer L.S., Sorbi S., Bruni A., Fraser P., St George-Hyslop P.: Nicastrin modulates presenilin-mediated notch/glp-1 signal transduction and β APP processing. *Nature*, 2000; 407: 48–54

Autorka deklaruje brak potencjalnych konfliktów interesów.