

MAREK JURGOWIAK

Katedra i Zakład Biochemii Klinicznej
Akademii Medycznej im. L. Rydygiera w Bydgoszczy
Kartowicza 24, 85-092 Bydgoszcz

BIĄŁKO AMYLOIDOWE W PATOGENEZIE CHOROBY ALZHEIMERA

*„Wtedy tylko można zrozumieć istotę rzeczy,
jeśli zna się ich pochodzenie i rozwój.”
Heraklit z Efezu (około 540–480 r. p.n.e.)*

WSTĘP

W obecnym stuleciu, głównie dzięki możliwości leczenia wielu chorób zakaźnych, bardzo znacznie wzrosła średnia długość życia człowieka. Powoduje to, że coraz większa liczba ludzi dożywa wieku, w którym choroby degeneracyjne mózgu są zjawiskiem często występującym. Głównie jednak dotyczy to choroby Alzheimerera, która stanowi obecnie poważny problem społeczny w wielu krajach (około 10% osób powyżej 65 roku życia cierpi na to schorzenie). Szacuje się na przykład, że w Stanach Zjednoczonych choroba ta dotyczy 3 milionów osób a w następnej dekadzie obejmie już około 10 milionów pacjentów (CORDELL 1994). Badania neuropatologiczne wykazują, że najczęstszą przyczyną objawów związanych z chorobą Alzheimerera (demencja wieku starczego) są swoiste uszkodzenia mózgu opisane po raz pierwszy przez Aloisa Alzheimerera (ALZHEIMER 1907). Są to tak zwane płytki starcze (β -amyloidowe) oraz sploty neurofibrylarne opisywane w pośmiertnych badaniach histopatologicznych mózgów pacjentów dotkniętych tym schorzeniem (BONDAREFF 1984). Interesujące jest, że o ile sploty neurofibrylarne występować mogą w mózgach pacjentów dotkniętych różnymi chorobami objawiającymi się demencją, to płytki β -amyloidowe są charakterystyczne wyłącznie dla schorzenia Alzheimerera, jak również nierozłącznie są związane ze zmianami wynikającymi z procesu starzenia się organizmu (HARMAN 1993).

Wynikiem choroby jest stopniowa utrata pamięci i równowagi emocjonalnej a ostatecznie śmierć pacjenta zazwyczaj po czterech do dwunastu lat od wystąpienia pierwszych objawów choroby (CORDELL 1994). Jakkolwiek pacjentów, którzy pod koniec życia są praktycznie niedołężni i otepiali, otacza się troskliwą

Wykaz stosowanych skrótów: apo E — apolipoproteina E; β -APP — prekursor amyloidowego białka beta; FAD — rodzinny wariant choroby Alzheimerera; mRNA — informacyjny RNA.

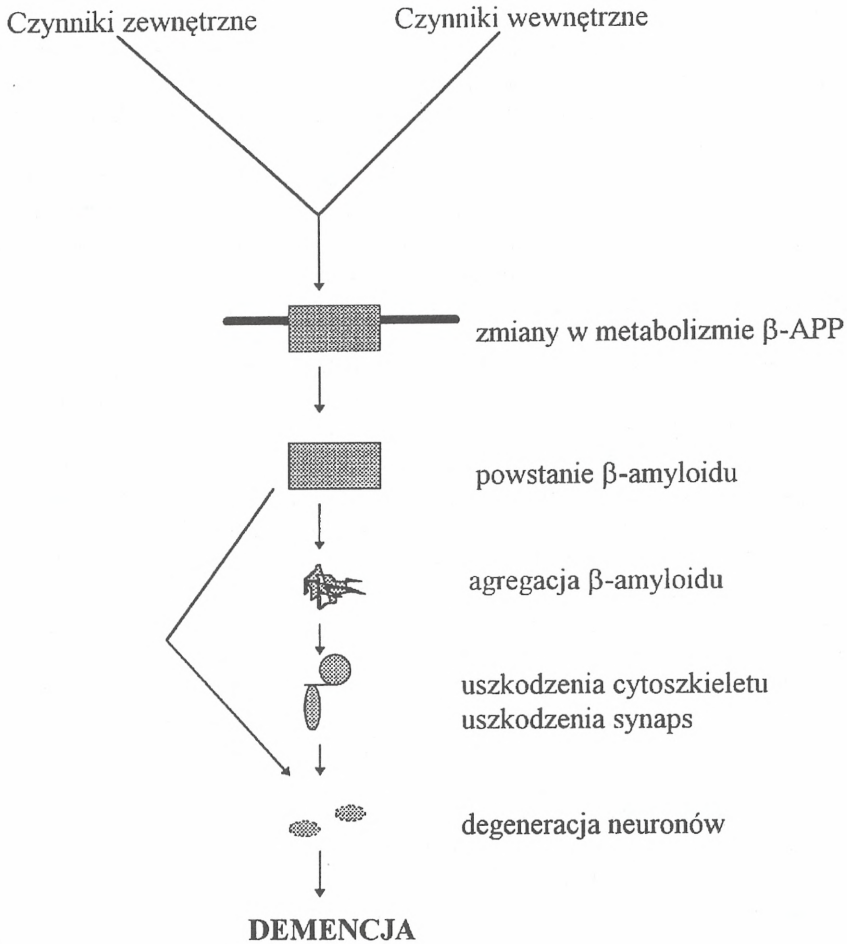
opieką medyczną (w samych tylko Stanach Zjednoczonych kosztuje to rocznie 40 miliardów dolarów; CORDELL 1994), to nie jest znany jak dotąd żaden sposób terapii, która opóźniałaby rozwój choroby Alzheimera.

NEUROPATOLOGIA CHOROBY ALZHEIMERA

W mózgu osobników dotkniętych chorobą Alzheimera występują charakterystyczne zmiany polegające na utracie komórek nerwowych, pojawieniu się splotów neurofibrylarnych i odkładaniu płytek starczych, a jest interesujące, że podobne zmiany aczkolwiek mniej nasilone są opisywane w mózgach osobników w podeszłym wieku nie wykazujących objawów demencji starczej (HARMAN 1993). Płytki β -amyloidowe (płytki starcze) są dość złożoną strukturą, której dojrzewanie trwać może nawet kilkadziesiąt lat. Ich dojrzewanie jest związane nierozdzielnie z procesem degeneracji neuronów. Poza rdzeniem z białka β -amyloidowego płytki zawierają otaczające go nieprawidłowe neuryty oraz zmienione komórki glejowe. Natomiast sploty neurofibrylarne to kłęбки o gęstej strukturze, nieprawidłowych fibryli, zlokalizowane w cytoplazmie niektórych neuronów. Wielu autorów określa je także jako parzyste włókna helikalne. Włókna te są zbudowane ze zmodyfikowanych cząsteczek białek cytoszkieletu — związanych z mikrotubulami białek tau, które występują także w prawidłowych neuronach (DICKSON i współaut. 1988, MASLIAH i współaut. 1991). Sploty neurofibrylarne gromadzą się ponadto w przypadku innych chorób neurologicznych, w których nie obserwuje się odkładania płytek β -amyloidowych (PROBST i współaut. 1989). U wszystkich osób powyżej 80 roku życia w mózgu występuje co najmniej kilka płytek starczych i splotów neurofibrylarnych. Co ciekawe, występują one podobnie, jak u osobników dotkniętych chorobą Alzheimera w korze mózgowej ale również w jądrze migdałowatym i hipokampie (PRICE i współaut. 1992, DELAERE i współaut. 1993). Jednakże pacjenci z postępującym otępieniem typu Alzheimera wykazują większą ich ilość, co jest o tyle istotne z klinicznego punktu widzenia, że odkładające się płytki białka amyloidowego stają się ostatecznie ośrodkami degeneracji neuronów. Zrozumienie zatem natury i mechanizmów powstawania białka β -amyloidowego może mieć spore implikacje kliniczne związane między innymi z możliwością opóźniania bądź łagodzenia skutków postępującej choroby.

PATOGENNE ZNACZENIE BIAŁKA β -AMYLOIDOWEGO

Jak wynika z przeprowadzonych licznych badań białko amyloidowe wywiera toksyczny wpływ na otaczające aksony (neuryty) i dendryty z czym jest związanych szereg zmian biochemicznych i strukturalnych. Wyraża się to między innymi zanikiem synaps, czego wynikiem jest obniżenie poziomu acetylocholino i innych neurotransmiterów w korze mózgowej. Niektóre z neuronów produkują duże ilości włókienek helikalnych, które tworzą sploty neurofibrylarne. Wynikiem tych zmian są postępujące objawy niewydolności intelektualnej, typowe dla pacjentów z chorobą Alzheimera (ryc. 1). Dane dotyczące patogennej roli



Ryc. 1. Schemat obrazujący udział białka amyloidowego w patogenezie choroby Alzheimera.

białka amyloidowego pochodzą między innymi z badań prowadzonych na modelach zwierzęcych. Wykazano w nich, że β -amyloid wyzwała nieprawidłowości w obrębie cytoszkieletu neuronów. Transgeniczne myszy, których neurony wykazują ekspresję ludzkiego genu kodującego białko amyloidowe, charakteryzuje odkładanie się złogów immunoreaktywnego β -amyloidu w ich mózgach (QUON i współaut. 1991). Neurony transgenicznych myszy posiadają również uszkodzony cytoszkielet, co wykazano z zastosowaniem przeciwciał skierowanych przeciw zmienionemu (hiperufosforylowanemu) białku tau (CORDELL 1994) tworzącemu włókna helikalne związane z mikrotubulami. Ponadto, niektóre z transgenicznych myszy, w mózgach których odkładały się duże złogi białka amyloidowego, posiadały zasocjowane z nimi struktury identyczne z dystroficznymi neurytami, co potwierdziły badania immunologiczne i klasyczne metody wysrebrzania. Opisane zmiany, typowe dla choroby Alzheimera, nigdy nie występują u dzikich typów myszy (CORDELL 1994, CHAO i współaut. 1994). W innych badaniach

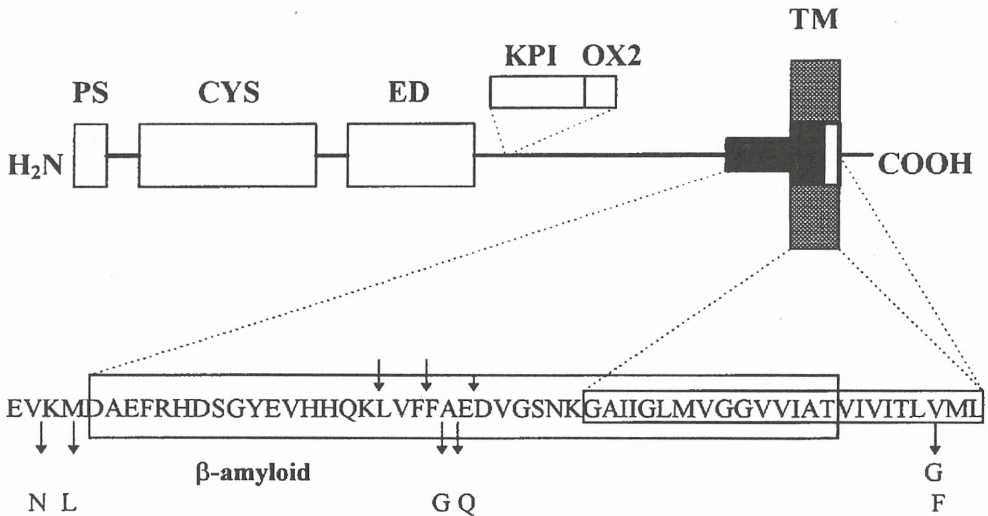
wykazano, że mikroiniekcja syntetycznego białka β -amyloidowego do mózgu dorosłych szczurów wyzwała zmiany w obrębie cytoszkieletu neuronów (FRAUTSCHY i współaut. 1991). Iniekcja białka amyloidowego była ponadto przyczyną miejscowej degeneracji neuronów. Neurotoksyczny efekt β -amyloidu udokumentowany został dość dobrze w badaniach prowadzonych *in vitro*. Chroniczna inkubacja kultur komórek kory i hipokampu z mikromolarnym stężeniem agregatów białka amyloidowego powoduje hiperfosforylację białek tau i postępującą degenerację neuronów (PIKE i współaut. 1991, 1992). Co ciekawe, roztwór β -amyloidu nie wykazuje działania neurotoksycznego. W hipotezie kaskady amyloidowej zakłada się, że poddanie neuronów działaniu białka amyloidowego podnosi ich wewnątrzkomórkowe stężenie Ca^{2+} . Wiemy natomiast, że niektóre kinazy, w tym fosforylujące białka tau, są regulowane przez poziom Ca^{2+} . Zatem wzrost poziomu Ca^{2+} może prowadzić do hiperfosforylacji białek tau, co powoduje tworzenie helikalnych włókien obecnych w splotach neurofibrylarnych (HARDY i HIGGINS 1992). Również badania genetyczne zdają się potwierdzać rolę białka β -amyloidowego w etiologii choroby Alzheimerera. Wiadomym jest obecnie fakt, że prekursor β -amyloidu jest kodowany przez gen położony u człowieka na chromosomie 21 (TANZI 1987). Ustalono również, że niektóre przypadki demencji są wynikiem anomalii genetycznych. U osób z zespołem Downa, rodzących się z trzema kopiami chromosomu 21 (trisomia), prawie zawsze w wieku 40–50 lat (czasem wcześniej) pojawiają się typowe dla choroby Alzheimerera uszkodzenia mózgu. Ponadto stwierdzono, że defekt genetyczny powodujący jedną z form rodzinnej choroby Alzheimerera (FAD — ang. familial Alzheimer disease) może być zlokalizowany w obrębie chromosomu 21. Ostatecznie wiadomo jednak, że FAD jest chorobą niejednorodną genetycznie, a to znaczy, że może być warunkowana przez wiele różnych defektów, na różnych chromosomach na przykład 14 bądź 19 (SCHELLENBERG i współaut. 1987, STRITTMATTER i współaut. 1993). Przykładem mogą być mutacje allelu APOE — $\epsilon 4$ leżącego na chromosomie 19, kodującego jedną z izoform apolipoproteiny E (apoE), z którymi wiąże się różne formy choroby Alzheimerera (BERR i współaut. 1994). Badając rodziny dotknięte chorobą Alzheimerera ustalono, że w sekwencji DNA kodującej białko prekursorowe β -amyloidu występuje mutacja powodująca zamianę w białku aminokwasu waliny na izoleucynę w pozycji 642 (GOATE 1991). Odkładanie się białka amyloidowego może być zatem bezpośrednim wynikiem mutacji w genie prekursora β -amyloidu. Wydaje się, że odkładanie białka amyloidowego przyspieszać mogą również niektóre czynniki środowiskowe (CORDELL 1994). Należą do nich poważne urazy czaszki, a pod uwagę jest brany również wpływ aluminium na rozwój choroby. Wszystkie opisane powyżej fakty wskazują na czynniki zwiększające ryzyko rozwoju choroby Alzheimerera i zdają się potwierdzać fundamentalną rolę β -amyloidu w patogenezie tego schorzenia.

FORMA PREKURSOROWA I DOJRZEWANIE β -AMYLOIDU

CHARAKTERYSTYKA GENU

Po oczyszczeniu białka amyloidowego, izolowanego z mózgow wykazujących zmiany typowe dla choroby Alzheimerera, i następnie ustaleniu jego sekwencji

aminokwasowej stało się możliwe sklonowanie genu kodującego białko β -amyloidowe. Ustalono również, że β -amyloid jest białkiem zbudowanym z 39–43 aminokwasów i stanowi fragment białka złożonego z 695 aminokwasów (wykryto też izoformy 751 i 770 aminokwasowe) nazywanego prekursorem amyloidowego białka beta (β -APP ang. β -amyloid precursor protein) (GLENNER i WONG 1984, MASTERS i współaut. 1985, KANG i współaut. 1987) (ryc. 2.). Wynikiem proteolizy białka prekursorowego jest powstanie β -amyloidu o masie około 4 kDa. Gen prekursorowego białka amyloidowego jest u człowieka zlokalizowany w chromosomie 21. Unikalne sekwencje genu obejmują 16 egzonów kodujących β -APP, natomiast sekwencje kodujące białko β -amyloidowe są zawarte w dwóch egzonach (LEMAIRE i współaut. 1989). Gen β -APP jest elementem rodziny wielogenowej i wykazuje wysoki konserwatyzm ewolucyjny kodowanej sekwencji aminokwasowej (CORDELL 1994). Jednakże istniejące, pewne różnice w sekwencji domeny β -amyloidowej mogą odpowiadać za większą podatność osobników niektórych gatunków na odkładanie się patogennych złogów białka. Dla przykładu, złogów białka amyloidowego nie obserwuje się u gryzoni (CHAO i współaut. 1994), u których sekwencja β -amyloidowa genu różni się od sekwencji genu człowieka trzema podstawnikami. Brak jest jak dotąd całkowitej pewności, jakie typy komórek produkują β -APP. Przypuszcza się, że są to komórki krążące we krwi oraz komórki śródbłonna naczyń krwionośnych a także neurony i komórki glejowe.



Ryc. 2. Struktura prekursora amyloidowego białka beta i domeny β -amyloidowej.

Domena β -amyloidowa jest zaznaczona jako czarne pole w obrębie β -APP i w postaci sekwencji aminokwasowej objętej ramką (poniżej). TM — domena transbłonowa (szare pole), PS — peptyd sygnałowy, CYS — pozakomórkowa domena bogata w cysteinę, ED — aminokwasy kwaśne, KPI — inhibitor proteazowy Kunitza i jego homolog — (OX2). Domeny KPI i OX2 są obecne bądź nie w zależności od różnego składu RNA. Zaznaczono mutacje związane z substytucją aminokwasów oraz miejsca działania sekretaz (strzałki).

BIAŁKO PREKURSOROWE (β -APP)

W wyniku transkrypcji genu β -APP powstać mogą trzy izoformy białek zbudowane z 695, 751 i 770 aminokwasów (KONIG i współaut. 1992, JACOBSEN i współaut. 1991). Izoforma 695 aminokwasowa różni się od większych form tego białka brakiem proteazowej domeny inhibitorowej, homologicznej do tak zwanej rodziny Kunitza inhibitorów proteaz serynowych. Wykazano, że w odróżnieniu od izoform, które zawierają domenę inhibitorową i podlegają ekspresji w różnych typach komórek, białko 695 aminokwasowe stanowi izoformę podlegającą ekspresji wyłącznie w neuronach, gdzie jest dominującą formą β -APP (PONTE i współaut. 1988, NEVE i współaut. 1988, CHAO i współaut. 1994). W strukturze β -APP wykryto obszar, który może zakotwiczać białko w błonach komórkowych. Jest to obszar pomiędzy 625 i 648 aminokwasem. Okazuje się, że β -amyloid to fragment prekursora leżący pomiędzy 597 i 636 aminokwasem, składa się zatem z 28 aminokwasów przylegających do domeny kotwiczącej i 12 aminokwasów samej domeny. W tym aspekcie interesujący i ważny z klinicznego punktu widzenia jest mechanizm prowadzący do usuwania fragmentu białka β -APP, normalnie zakotwiczonego je w błonie i tym samym umożliwiający jego kumulację w przestrzeni pozakomórkowej jako białka amyloidowego.

PRZEMIANY BIAŁKA PREKURSOROWEGO I FORMOWANIE β -AMYLOIDU

Po identyfikacji i scharakteryzowaniu białka β -APP w mózgu i innych ludzkich tkankach oraz hodowlach tkankowych stwierdzono, że zawiera ono stabilny fragment cząsteczki (fragment C-końcowy) i obszar krytycznego białka beta (SELKOE 1991). Stwierdzono również, że część białka β -APP, zawierająca N-koniec, jest wydzielana do płynu pozakomórkowego, w tym do płynu mózgowo-rdzeniowego i osocza (ESCH i współaut. 1990). Wyniki cytowanych badań wskazują, że fizjologiczna fragmentacja białka prekursorowego następuje w wyniku przecięcia jego cząsteczki przy 16 aminokwasie obszaru białka β -amyloidowego. Proces ten, przebiegający z udziałem specyficznej proteazy, uniemożliwia więc powstawanie kompletnego białka amyloidu. Zatem odkładanie się β -amyloidu musi obejmować taki szlak proteolizy, w którym jest uwalniana cała cząsteczka białka amyloidowego. Dalsze badania potwierdziły te przypuszczenia. Okazuje się, że β -APP może ulegać fragmentacji pod wpływem działania dwóch różnych proteaz (HARDY i HIGGINS 1992). Jedna z nich, określana jako sekretaza, odcina rozpuszczalny fragment zawierający tylko część β -amyloidu. Natomiast proteaza lizosomalna odcina fragment zawierający pełną sekwencję β -amyloidu. To białko, strącając się poza komórką, prowadzi do powstania zmian histopatologicznych, typowych dla choroby Alzheimer'a. Potwierdzono również, że wydzielanie i akumulacja β -amyloidu poprzedza degenerację neuronów w mózgu a nie jest jej wynikiem. Znalezienie zatem leków, które hamowałyby aktywność niepożądanych proteaz wydaje się mieć priorytetowe znaczenie w walce z chorobą Alzheimer'a. U niektórych pacjentów z chorobą Alzheimer'a wykryto mutacje w obrębie C-końca, w kodonie 693, bądź kodonie 717. Mutacje genu białka prekursorowego stwierdzono również w badaniach *in vitro* (CITRON i współaut. 1992, CAI i współaut. 1993). Sądzi się, że tego typu mutacje są przyczyną

tworzenia toksycznego β -amyloidu. W badaniach *in vitro* wykazano, że jedna z mutacji (zamiana leucyny na metioninę) generuje 5–8-krotny wzrost produkcji β -amyloidu (CITRON i współaut. 1992, CAI i współaut. 1993). Wzrost koncentracji białka amyloidowego jest z kolei przyczyną wzmoczonego formowania materiału fibrylarnego w komórkach osobników dotkniętych mutacją (JARRETT i LANDSBURY 1993). Syntetyczny homolog peptydu kodowanego w genie β -APP z mutacją polegającą na podstawieniu kwasu glutaminowego przez glutaminę w domenie β -amyloidu również wzmacnia formowanie włókien helikalnych w obrębie komórek (FRASER i współaut. 1992). Patologiczne konsekwencje mutacji zlokalizowanych w domenie transbłonowej związanej z domeną β -amyloidową sprowadzają się najprawdopodobniej do specyfiki cięć generujących C-końcowe fragmenty β -amyloidu (CORDELL 1994). Hydrofobowe, C-końcowe odcinki cząsteczki β -amyloidu pełnią zatem krytyczną rolę w tworzeniu agregatów białka amyloidowego. Zarówno substytucje aminokwasów w obrębie tej hydrofobowej domeny, jak i długość C-końca β -amyloidu w sposób znaczący wpływają na skuteczność i szybkość procesu agregacji białka. Badania pacjentów z zespołem Downa, którzy wykazują obecność dodatkowego genu β -APP również mogą dać podstawy do zrozumienia patogenezы choroby Alzheimera. Dodatkowy allel jest u tych osobników przyczyną dwukrotnego wzrostu ekspresji zarówno mRNA, jak i białka β -APP (NEVE i współaut. 1988, RUMBLE i współaut. 1989). Zauważono, że następstwem tego jest wzmoczone odkładanie złogów β -amyloidu. Nadprodukcja β -APP może być prawdopodobnie związana też z chorobą Alzheimera (ROBERTS i współaut. 1991), jednakże jednoznacznie tego nie wykazano. Natomiast został potwierdzony fakt zmian w ekspresji izoform białka β -APP. Licznie przeprowadzone badania potwierdziły chorobowo-specyficzny wzrost ekspresji neuronalnych izoform β -APP, zawierających inhibitorowe domeny proteazowe Kunitza (JOHNSON i współaut. 1990). Prawdopodobnie przy nadmiarze białka β -APP enzymy uwalniające fragment białka amyloidowego wykazują wzmoczone działanie. Potwierdzają to także badania eksperymentalne z wykorzystaniem transgenicznych zwierząt (QUON i współaut. 1991). Interesujące jest, że u transgenicznych myszy, genetycznie zaprogramowanych do nadprodukcji 751 aminokwasowej izoformy zawierającej inhibitorową domenę Kunitza, w obrębie neuronów obserwuje się wysoką depozycję β -amyloidu w ich mózgowiach. Natomiast myszy ze wzmoczoną ekspresją izoformy 695 aminokwasowej, która normalnie dominuje w tym typie komórek, nie wykazują nadmiernego odkładania białka amyloidowego. Interesujących obserwacji dokonał B. A. YANKNER wraz z zespołem (SELKOE 1992), który stwierdził, że niewielkie dawki białka β -APP zwiększają przeżywalność nowych hodowli neuronów szczura (może to być odzwierciedlenie fizjologicznej funkcji β -APP). Potwierdzają to również badania WHITSONA i współpracowników, którzy wykazali, że syntetyczne peptydy będące homologami β -amyloidu powodują w warunkach *in vitro* większą przeżywalność neuronów hipokampu szczura (WHITSON i współaut. 1990). Jednakże podwyższenie w hodowli ilości dodanego białka prowadziło do wywierania przez to białko efektu neurotoksycznego. Ponadto wykazano, że za te zjawiska jest odpowiedzialny odcinek β -amyloidu znajdujący się pomiędzy 25 i 35 aminokwasem. Co więcej, sekwencja aminokwasowa tego odcinka jest zbliżona do występującej w mózgowym peptydzie zwanym substancją (białkiem) P. Zatem nadmierna produkcja β -APP lub wytwarzanie jego

zmienionej formy może prowadzić do uwalniania na drodze alternatywnej fragmentów zawierających białko β -amyloidowe.

PODSUMOWANIE

Przedstawione powyżej dane pozwalają na przyjęcie potwierdzanego licznymi badaniami założenia, że białko β -amyloidowe stanowiące znaczący czynnik w patogenezie choroby Alzheimera jest cząsteczką wywodzącą się ze zmodyfikowanych form białka prekursorowego β -APP. Takie białka prekursorowe są usuwane z komórki we wczesnych etapach złożonego procesu ich biosyntezy. Patologiczne modyfikacje β -APP mogą być wynikiem mutacji, ekspresji nieprawidłowych dla danych komórek izoform białka, bądź nieprawidłowości zachodzących podczas procesu potranslacyjnej modyfikacji. Białko β -amyloidowe powstaje zawsze jako produkt proteolizy podczas degradacji nieprawidłowych form białka prekursorowego. Produkty degradacji β -APP są następnie wydalane do przestrzeni pozakomórkowej, gdzie białko β -amyloidowe podlega agregacji, której tempo jest zależne od struktury pierwszorzędowej, jak i ilości białka. Powyższe obserwacje mogą mieć znaczące implikacje kliniczne, na co wskazuje fakt, że hamowanie degradacji nieprawidłowych form β -amyloidu nie wywiera żadnego bądź tylko nieznaczny wpływ na biosyntezę i funkcjonowanie prawidłowych cząsteczek β -APP. Daje to potencjalną możliwość inhibicji proteaz włączonych w β -amyloidogenezę, co wyzwała alternatywną proteolizę, wynikiem której jest powstanie nie-amyloidogennych fragmentów, będących wynikiem degradacji białka prekursorowego. Obecnie rozpoznanie choroby Alzheimera, oprócz przypuszczenia jej rozwoju na podstawie efektów objawowych, jest praktycznie możliwe wyłącznie w pośmiertnych badaniach neuropatologicznych. W fazie opracowywania są już jednak testy opierające się na pomiarze ilości β -APP w płynie mózgowo-rdzeniowym pacjentów przy użyciu swoistych przeciwciał monoklonalnych. Wykorzystuje się tu fakt stwierdzenia około trzykrotnie niższego poziomu białka prekursorowego w płynie mózgowo-rdzeniowym pacjentów dotkniętych chorobą Alzheimera w porównaniu do osób zdrowych. Tempo prac nad β -amyloidozą stwarza obecnie nadzieje na pojawienie się w ciągu najbliższych lat sposobów terapii wykorzystujących inhibitory pewnych etapów, krytycznych dla rozwoju choroby, co będzie dla współczesnej medycyny olbrzymim krokiem naprzód, przynoszącym ulgę pacjentom i całemu społeczeństwu, które też przecież niesie brzemień tej tragicznej w skutkach choroby.

AMYLOID PROTEIN IN PATHOGENESIS OF THE ALZHEIMER'S DISEASE

Summary

The role of amyloid β -protein in the pathogenesis of Alzheimer's disease is described. Amyloid protein is a 39-43 amino-acid fragment of a transmembrane protein coded for by a gene on chromosome 21. Extracellular deposits of β -amyloid in the brain are a neuropathological feature of both the Alzheimer's disease and "normal aging".

LITERATURA

- ALZHEIMER A., 1907. *Über eine erkrankung der hirnrinde*. Allg. Z. Psychiatr. Psychol. Gerichtl. Med. 64, 146–148.
- BERR C., HAUW J. J., DELAERE P., DUUYCKAERTS CH., AMOUYEL P., 1994. *Apolipoprotein E allele ϵ 4 is linked to increased deposition of the amyloid β -peptide (A — β) in cases with or without Alzheimers disease*. Neuroscience Letters 178, 221–224.
- BONDAREFF W., 1984: *Neurobiology of Alzheimers disease*. Psychiatr. Ann. 14, 17–184.
- CAI X-D., GOLDE T. E., YOUNKIN S. G., 1993. *Release of excess amyloid β protein from a mutant amyloid protein precursor*. Science 259, 514–516.
- CHAO H. M., SPENCER R. L., FRANKFURT M., McEWEN B. S., 1994. *The effects of aging and hormonal manipulation on amyloid precursor protein APP695 mRNA expression in the rat hippocampus*. J. Neuroendocrinol. 6, 517–521.
- CITRON M., OLTERSDORF T., HAASS C., McCONLOGUE L., HUNG A. Y., 1992. *Mutation of the β - amyloid precursor protein in familial Alzheimers disease increases β — protein production*. Nature 360, 672–674.
- CORDELL B., 1994. *β -amyloid formation as a potential therapeutic target for Alzheimers disease*. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 34, 69–89.
- DELAERE P., HE Y., FAYET G., DUUYCKAERTS C., HAUW J. J., 1993. *β A4 deposits are constant in the brain of the oldest old; an immunocytochemical study of 20 French centenarians*. Neurobiol. Aging 14, 191–194.
- DICKSON D. W., FARLO J., DAVIES P., CRYSTAL H., FULD P., YEN S. H., 1988. *Alzheimers disease. A double — labeling immunohistochemical study of senile plaques*. Am. J. Pathol. 132, 86–101.
- ESCH F. S., KEIM P. S., BEATTIE E. C., BLACHER R. W., CULWELL A. R., 1990. *Cleavage of amyloid β -peptide during constitutive processing of its precursor*. Science 248, 1122–1124.
- FRASER P. E., NGUYEN J. T., INOUE H., SUREWICZ W. K., SELKOE D. J., 1992. *Fibril formation by primate, rodent, and Dutch — hemorrhagic analogues of Alzheimer amyloid β - protein*. Biochemistry 31, 10716–10723.
- FRAUTSCHY S. A., BAIRD A., COLE G. M., 1991. *Effect of injected Alzheimer — amyloid cores in rat brain*. Proc. Natl. Acad. Sci USA 88, 8362–8366.
- GLENNER G. G., WONG C. W., 1984. *Alzheimers disease: initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein*. Biochem. Biophys. Res. Commun. 120, 885–890.
- GOATE A., 1991. *Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimers disease*. Nature 349, 704–706.
- HARDY J. A., HIGGINS G. A., 1992, *Alzheimers disease: The amyloid cascade hypothesis*. Science 256, 184.
- HARMAN D., 1993. *Free radical theory of aging: A hypothesis on pathogenesis of senile dementia of the Alzheimers type*. Age 16, 23–30.
- JACOBSEN J. S., MUENKEL H. A., BLUME A. J., VITEK M. P., 1991. *A novel species — specific RNA related to alternatively spliced amyloid precursor protein mRNAs*. Neurobiol. Aging 12, 575–583.
- JARRETT J. T., LANDSBURY P. T. Jr., 1993. *Seeding one-dimensional crystallization of amyloid: a pathogenic mechanism in Alzheimers disease and scrapie?* Cell 73, 1055–1058.
- JOHNSON S. A., McNEILL P., CORDELL B., FINCH C. E., 1990. *Relation of neuronal APP-751 / APP-695 mRNA ratio and neuritic plaque density in Alzheimers disease*. Science 248, 854–857.
- KANG J., LEMAIRE H., UNTERBECK A., SALBAUM J. M., MASTERS C. L., 1987. *The precursor protein of Alzheimers disease amyloid A4 protein resembles a cell surface receptor*. Nature 325, 733–736.
- KONIG G., MONNING U., CZECK C., PRIOR R., BANATI R., 1992. *Identification and expression of a novel alternative splice isoform of the β A4 amyloid precursor protein (APP) mRNA in leucocytes and brain microglial cells*. J. Biol. Chem. 267, 10804–10809.
- LEMAIRE H., SALBAUM J. M., MULTHAUP G., KANG J., BAYNEY R. M., 1989. *The preA695 precursor protein of Alzheimers disease A4 amyloid is encoded by 16 exons*. Nucleic Acids Res. 17, 517–522.
- MASLIAH E., MALLORY M., HANSEN L., ALFORD M., ALBRIGHT T., 1991. *Patterns of aberrant sprouting in Alzheimers disease*. Neuron 6, 729–739.

- MASTERS C. L., SIMMS G., WEINMAN N. A., MULTHAUP G., McDONALD B. L., BEYREUTHER K., 1985. *Amyloid plaque core protein in Alzheimer disease and Downs syndrome*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82, 4245-4249.
- NEVE R. L., FINCH E. A., DAWES L. R., 1988. *Expression of the Alzheimer amyloid precursor protein gene transcripts in the human brain*. Neuron 1, 669-677.
- PIKE C. J., WALENCEWICZ A. J., GLABE C. G., COTMAN C. W., 1991. *Aggregation-related toxicity of synthetic β -amyloid protein in hippocampal cultures*. Eur. J. Pharmacol. 207, 367-368.
- PIKE C. J., CUMMINGS B. J., COTMAN C. W., 1992. *β -amyloid induces neuritic dystrophy in vitro: similarities with Alzheimer pathology*. Neuro Report 3, 769-772.
- PONTE P., GONZALES-DEWHITT P., SCHILLING J., MILLER J., HSU D. 1988: *A new A4 amyloid mRNA contains a domain homologous to serine proteinase inhibitors*. Nature 331, 525-527.
- PRICE D. L., MARTIN L. J., CLATTERBUCK R. E., KOLIATOS V. E., SISODIA S., 1992. *Neuronal degeneration in human diseases and animal models*. J. Neurobiol. 23, 1277-1294.
- PROBST A., ANDERTON B. H., BRION J-P., ULRICH J., 1989. *Senile plaques neurites fail to demonstrate anti-paired helical filament and anti-microtubule associated protein-tau immunoreactive proteins in the absence of neurofibrillary tangles in the neocortex*. Acta Neuropathol. 77, 430-436.
- QUON D., WANG Y., CATALANO R., MARIAN SCARDINA J., MURAKAMI K., CORDELL B., 1991. *Formation of β -amyloid deposits in brains of transgenic mice*. Nature 357, 239-241.
- ROBERTS G. W., GENTLEMAN S. M., LYNCH A., GRAHAM D. I., 1991. *β -A4 — Amyloid protein deposition in brain after head trauma*. Lancet 338, 1422-1423.
- RUMBLE B., RETALLACK R., HILBICH C., SIMMS G., MAULTHAUP G., 1989. *Amyloid A4 protein and its precursor in Downs syndrome and Alzheimers disease*. N. Engl. J. Med. 320, 1446-1452.
- SCHELLENBERG G. D., DEEB S. S., BOEHNKE M., BRYANT E. M., MARTIN G. M., 1987. *Association of an apolipoprotein CII allele with familial dementia of the Alzheimer type*. J. Neurogenet. 4, 97-108.
- SELKOE D. J., 1991. *The molecular pathology of Alzheimers disease*. Neuron 6, 487-498.
- SELKOE D. J., 1992. *Białko amyloidu a choroba Alzheimera*. Świat Nauki 1, 39-46.
- STRITTMATTER W. J., SAUNDERS A. M., SCHMECHEL D., PERICK - VANCE M., ENGHILD J., 1993. *Apolipoprotein E: high-avidity binding to β - amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90, 1977-981.
- TANZI R. E., GUSELLA J. F., WATKINS P. C., BRUNS G. A. P., ST. GEORGE-HYSLOP P., 1987. *Amyloid β -protein gene: cDNA, mRNA distribution and genetic linkage near the Alzheimer locus*. Science 235, 880 - 884.
- WHITSON J. S., GLABE C. G., SHINTANI E., COTMAN C. W., 1990. *β -amyloid protein promotes neuritic branching in hippocampal cultures*. Neurosci. Lett. 110, 319-324.