

Senilni plaki in nevrofibrilarni pentlje pri Alzheimerjevi bolezni Senile plaques and neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease

Darja Praprotnik*

Deskriptorji

Alzheimerjeva bolezen
Senilni plaki
Nevrofibrilarni pentlje
Amiloid β
Protein τ

Descriptors
Alzheimer's disease
Senile plaques
Neurofibrillary tangles
Amyloid β
Protein τ

Izveček. Senilni plaki in nevrofibrilarni pentlje diagnostično označujejo Alzheimerjevo bolezen. Poleg demence spadajo v osnovni opis bolezni, ki je bil podan že pred skoraj sto leti. Vloga teh lezij v etiopatogenezi Alzheimerjeve bolezni pa še do danes ni pojasnjena.

Senilne plake sestavljajo izvencelični fibrilarni depoziti amiloida β , ki se nahajajo v osrednjem delu, obdajajo pa jih distrofični nevriti. Z imunohistokemičnimi metodami so prikazali, da senilni plaki poleg amiloida β in β -prekursorne beljakovine vsebujejo tudi razne encime in sestavine ekstracelularnega matriksa. Izvor amiloida β v senilnih plakih in primarna struktura, na kateri naj bi se amiloid odlagal, sta še vedno predmet razprav.

Nevrofibrilarni pentlje sestavlja drugačna vrsta nenormalnih filamentov, t. i. parni zviti in ravni filamenti, ki nastanejo ob razpadu normalnega citoskeleta živčnih celic. Nevrofibrilarni pentlje kot glavno antigensko determinanto vsebujejo protein τ , poleg tega pa tudi razne druge sestavine, kot so ubikvitin, nevrofilamenti, amiloid β oziroma β -prekursorne beljakovine in različni encimi. Vzrok in način vključevanja teh sestavin v nevrofibrilarni pentlje še ni pojasnjen.

V članku so opisana novejša spoznanja o sestavi senilnih plakov in nevrofibrilarnih pentelj. Ugotovitve novjših študij kažejo na bistven pomen in povezanost teh dveh vrst lezij v patogenezi Alzheimerjeve bolezni.

Abstract. Senile plaques and neurofibrillary tangles diagnostically define Alzheimer's disease. Together with dementia they constitute the original description of this disease, which was formed almost a century ago. But the role of these lesions in the etiopathogenesis of Alzheimer's disease is still not clear.

Senile plaques are comprised of fibrillary deposits of amyloid β which are present in the center of the lesion, and surrounded by dystrophic neurites. Immunohistochemical studies have shown that senile plaques besides amyloid β and β -precursor protein also contain various enzymes and components of the extracellular matrix. The source of amyloid β in the senile plaques and the possible primary structure on which amyloid is deposited are still a matter of controversy.

Neurofibrillary tangles are composed of a different type of abnormal filaments, i.e. paired helical filaments and straight filaments. These filaments appear as a result of the disruption of the normal neuronal cytoskeleton. Neurofibrillary tangles contain protein τ as their main antigenic determinant, but besides that some other constituents, as ubiquitin, neurofilaments, amyloid β / β -precursor protein and various enzymes are also present. The cause and mechanism of incorporation of these components into neurofibrillary tangles is still not resolved.

This paper presents some new information about the composition of senile plaques and neurofibrillary tangles. The results of some recent studies suggest active participation and interaction of these lesions in the pathogenesis of Alzheimer's disease.

*Asist. dr. sc. Darja Praprotnik, dr. med., Inštitut za patologijo, Medicinska fakulteta, Korytkova 2, 1000 Ljubljana.

Uvod

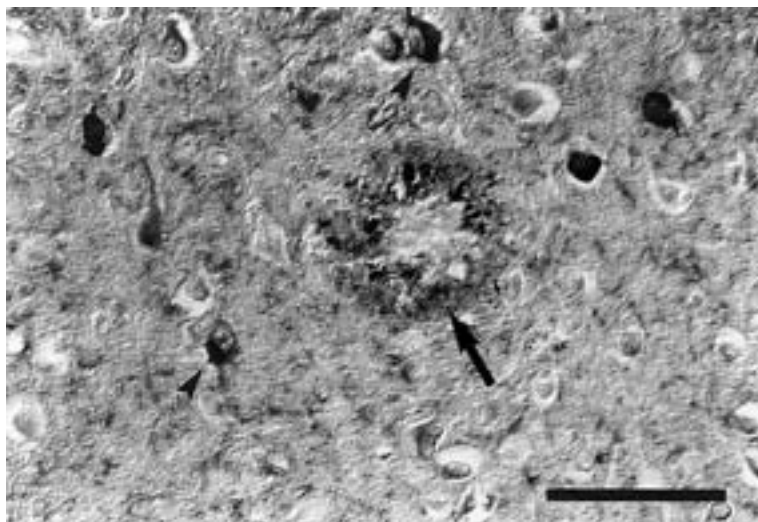
Senilni plaki in nevrofibrilarne pentlje sta dve vrsti lezij, ki diagnostično določata Alzheimerjevo bolezen (1). Poleg klinične slike demence spadata v osnovni opis bolezni, ki ga je Alois Alzheimer podal pred skoraj sto leti (2).

Senilne plake sestavljajo fibrilarni depoziti amiloida β , v okolici katerih se nahajajo distrofični nevriti (3). Ti vsebujejo nakopičene različne vezikule in nenormalne filamente, ki so nastali kot posledica preoblikovanja normalnega citoskeleta živčnih celic (4).

Nevrofibrilarne pentlje so poleg filamentov distrofičnih nevritov del t. i. nevrofibrilarne patologije. Nahajajo se v perikarionih živčnih celic (3). Tako kot v distrofičnih nevritih se tudi v nevrofibrilarnih pentljah nahajajo nenormalni parni, zviti in ravni filamenti (3, 5).

Filamenti obeh vrst lezij imajo lastnosti amiloida – pri obarvanju z barvilom Kongo rdeče kažejo optično dvolomnost in imajo konformacijsko obliko » β -nagubanega lista«. Na podlagi enakih optičnih lastnosti senilnih plakov in nevrofibrilarnih pentelj je Divry že v dvajsetih letih tega stoletja sklepal o povezanosti teh dveh vrst lezij (6). Vendar pa odnos med temi vrstami lezij in njun pomen v patogenezi Alzheimerjeve bolezni še do danes nista razjasnjena.

V zadnjih letih se je raziskovanje patogenetskih mehanizmov pri Alzheimerjevi bolezni usmerilo predvsem v biokemično določanje molekularne strukture senilnih plakov in nevrofibrilarnih pentelj. Odnos med senilnimi plaki in nevrofibrilarnimi pentljami oziroma



Slika 1. Senilni plak (puščica) z gostimi depoziti amiloida β v osrednjem delu in s številnimi distrofičnimi nevriti v obrobju. Prikazane so tudi nevrofibrilarne pentlje (glave puščic). Imunohistokemična metoda, prikazana je prisotnost proteina τ v distrofičnih nevritih in v nevrofibrilarnih pentljah. Merilo: 0,2 mm.

»nevrofibrilarno patologijo« pa skušajo pojasniti tudi z raziskovanjem biokemično-morfoloških lastnosti lezij. Pri tem uporabljajo različne imunohistokemične metode (slika 1).

Amiloid v senilnih plakih.

Z imunohistokemičnimi študijami so prikazali, da fibrilarno jedro senilnih plakov vsebuje amiloid β . Amiloid β je polipeptid molekulske mase 4,2 kD, ki nastane kot posledica nenormalnega cepljenja večje transmembranske molekule, t. i. β -prekursorskega proteina; amiloid β zajema 11–15 aminokislinskih ostankov transmembranskega predela in 28 aminokislinskih ostankov ekstracelularnega predela β -prekursorskega proteina (7, 8). V normalnih pogojih se β -prekursorska beljakovina cepi z encimom α -sekretaza znotraj sekvence amiloida β , kar preprečuje tvorbo amiloida β (9).

β -prekursorska beljakovina je integralni transmembranski glikoprotein, ki ga sintetizirajo različne celice (10). Gen za to beljakovino se nahaja na kromosomu 21, v predelu 21q21 (11). Pre-mRNA za β -prekursorso beljakovino se posttranskripcijsko modificira v vsaj štiri različno dolge mRNA prepise. Te mRNA kodirajo beljakovine, ki vsebujejo sekvenco amiloida β (7). Poročajo, da potuje β -prekursorska beljakovina vzdolž aksonov s hitrim anterogradnim transportom (12).

Celična presnova in fiziološka vloga β -prekursorske beljakovine sta še nepoznana. V najnovejših študijah poročajo, da citoplazemski predel β -prekursorske beljakovine katalizira vezavo gvanidin trifosfata (GTP) na beljakovino G_o , kar kaže na možnost njegove vloge celičnega receptorja (13). Drugi avtorji menijo, da spada β -prekursorska beljakovina med adhezijske molekule (14).

Čeprav je amiloid β opisan kot najznačilnejša sestavina senilnih plakov (15), ti ne vsebujejo zgolj amiloida β . V zadnjem času so bili v jedru senilnih plakov opisani tudi epitopi β -prekursorske beljakovine, ki se nahajajo izven predela, ki zajema sekvenco amiloida β (16, 17). Pri familiarnih oblikah so našli mutacije v genu za β -prekursorso beljakovino, ki se nahajajo v tistem predelu gena za β -prekursorso beljakovino, ki kodira amiloid β , oziroma v neposredni bližini tega predela. Te mutacije so odgovorne za odlaganje amiloida β v možganih (18–21).

Poleg amiloida β in epitopov β -prekursorske beljakovine so v senilnih plakih opisali še mnoge druge sestavine, med njimi encime katepsin B in D (22) ter α 1-tripsin (23), inhibitorje proteaz α 1-antitripsin (24), α 1-antihimotripsin (25) in antitrombin III (26), poleg tega pa tudi razne sestavine sistema komplementa (27), amiloid P (28) in razne gluko-zaminoglikane (29). Nekateri avtorji poročajo tudi o prisotnosti aluminijevih silikatov v jedru senilnih plakov (30).

Odlaganje amiloida β v obliki 7–9 nm fibril je odvisno od neke predhodne strukture, t. i. nukleatorja oziroma nidusa. Pri tem je odločilna struktura karboksiterminalnega dela molekule amiloida β (31, 32). Ta lastnost naj bi bila tudi razlog, da krajše oblike amiloida β (npr. β (1–40), β (17–40)), ki so jih našli v cerebrospinalni tekočini, niso patogene.

Mehanizem cepljenja β -prekursorske beljakovine v amiloid β in možna primarna struktura, na kateri se ta beljakovina verjetno odlaga, sta še vedno predmet razprav.

Nekateri avtorji poročajo, da so nidus za nastanek senilnih plakov krvne žile (33), drugi poudarjajo pomen mikroglije (34), po mnenju nekaterih pa naj bi se senilni plaki razvili iz difuznih depozitov amiloida β , brez kake očitne predhodne strukture (35). V naj-novejših poročilih nekateri avtorji sklepajo, da je odlaganje amiloida v nevritičnih senilnih plakih odvisno od prisotnosti ostankov nevrofibrilarnih pentelj, ki se po odmrtnju nevronov zaradi odpornosti večine sestavin nevrofibrilarnih pentelj na delovanje proteolitičnih encimov ohranijo v izvenceličnem prostoru kot t. i. ekstracelularne nevrofibrilarne pentlje (36, 37).

Poleg nejasnosti v zvezi z obstojem primarne strukture, na kateri bi se lahko odlagal amiloid β , tudi sam izvor amiloida β ni poznan. Obstajata dve glavni hipotezi o izvoru amiloida β . Po mnenju zagovornikov »žilne« hipoteze so za nastanek in razvoj senilnih plakov bistvenega pomena sestavine seruma in krvne celice (33). Čeprav topografski odnos med depoziti amiloida in kapilarami ne podpira te teorije (38), le-ta ne more biti popolnoma ovržena (39). Druga hipoteza o izvoru amiloida v senilnih plakih poudarja bistven pomen propadajočih oziroma poškodovanih nevronov. To hipotezo podpirajo nekatere noveše študije, v katerih poročajo o izražanju mRNA β -prekurzorske beljakovine v nevronih (40) in o transportu β -prekurzorske beljakovine vzdolž aksonov (12). V skladu s to idejo so tudi poročila o prisotnosti β -prekurzorske beljakovine v distrofičnih nevrilih v neposredni okolici depozitov amiloida (41, 42).

Ne glede na prvotni izvor amiloida se proteoliza molekule β -prekurzorske beljakovine v amiloid β , in verjetno tudi v dodatne polipeptide, odvija v neposredni bližini odlaganja amiloida. Za nenormalno, znotrajmembransko cepitev β -prekurzorske beljakovine je možnih več razlag. Po mnenju nekaterih naj bi se membranska β -prekurzorska beljakovina v toku svoje presnove vračala v lizosome, kjer naj bi se razgradila do amiloida β (43). Drugi poudarjajo, da so spremembe pH v senilnih plakih in motnje regulacije delovanja raznih proteaz in njihovih inhibitorjev v izvenceličnem prostoru odgovorne za nenormalno cepljenje v amiloid β in razne druge fragmente (44). V lizosomih, ki naj bi se zaradi razpadanja distrofičnih nevrilov nahajali v izvenceličnem prostoru, so prisotni razni proteolitični encimi (45). Neustrezno regulirana aktivnost teh encimov v izvenceličnem prostoru naj bi bila odgovorna za nenormalno cepljenje β -prekurzorske beljakovine.

Nevrofibrilarne pentlje

Biokemična in ultrastrukturalna zgradba filamentov, ki se nahajajo v nevrofibrilarnih pentljah, še ni znana. Edina beljakovina, ki je bil do sedaj izolirana iz parnih zvitihih filamentov, je modificirana oziroma fosforilirana oblika beljakovine τ (46, 47). Vendar pa beljakovina τ ni edina sestavina teh filamentov. Sestavlja jih namreč tudi neka še nepoznana netopna snov velike molekulske teže, ki ne vstopa v gel pri poliakrilamidni elektroforezi (48).

Beljakovine τ so sestavina normalnega citoskeleta in spadajo v skupino MAP – z mikrotubuli povezanih beljakovin. V normalnih pogojih se beljakovine τ vežejo na mikrotubule in jih s tem stabilizirajo v polimeriziranem stanju (49). Injiciranje beljakovin τ v celico poveča stopnjo polimerizacije tubulina in zmanjša hitrost razgradnje mikrotubulov (50).

Beljakovine τ so skupina termostabilnih polipeptidov molekulske teže 36–45 kD (51). Kadar je beljakovina τ povezana z mikrotubuli, je del te beljakovine pritrjen na površino mikrotubulov, drugi del pa v obliki stranskih izrastkov štrli ven. V aksonih mikrotubuli vsebujejo beljakovino τ , v dendritih pa polipeptide MAP2, molekulske teže 199 kD, ki so homologni beljakovini τ (50, 52).

Novejše imunocitokemične študije so pokazale, da nevrofibrilarne pentlje poleg beljakovine τ kot glavne antigenske determinante (53) vsebujejo tudi razne druge antigene, med njimi MAP2 višje molekulske teže, različne neurofilamente (54) in tropomiozin (55). Poleg teh pa so v pentljah prisotne tudi številne druge sestavine, kot so ubikvitin (56), β -prekurzorska beljakovina (57), amiloid β (58), serumski amiloid P (59) in različne sestavine ekstracelularnega matriksa ter encimi, med njimi kazein-kinaza II (60), glikogensintaze kinaza (61), z mitogeni aktivirana protein-kinaza (62), fosfolipaza C (63), hemoksigenaza-1 (64) in razni inhibitorji encimov, kot so α 1-antitripsin, α 1-antihimotripsin (24), antitrombin III (26)... Zanimivo je, da tudi nevrofibrilarne pentlje vsebujejo številne encime, podobno kot senilni plaki. Prisotnost proteaz kaže na možnost, da tudi v nevrofibrilarnih pentljah potekajo razni procesi, ki vodijo do nastanka amiloidogenih fragmentov. Pomen prisotnosti encimov kot sta fosfolipaza C in hem-oksigenaza-1 pa ni poznan.

Prav tako ni pojasnjen pomen raznih kinaz pri nastanku parnih zvitihih filamentov. Nekateri menijo, da je neusklajeno delovanje protein-kinaz in fosfataz vzrok za nenormalno fosforilacijo beljakovine τ in s tem za nastanek parnih zvitihih filamentov (65). Vendar pa je fosforilirana oblika τ , ki sestavlja parne zvite filamente, zelo podobna fetalni obliki tega beljakovine in le posnema vrsto fosforilacije, ki je normalno prisotna v embrionalnem razvoju (66, 67). Poleg tega se ob fosforilaciji topnost filamentov v nevrofibrilarnih pentljah ne zmanjša (68).

Ubikvitin spada med beljakovine toplotnega šoka (angl. heat-shock protein), ki se aktivirajo in v obliki vključkov kopičijo v poškodovanih celicah. Te beljakovine sodelujejo pri celični presnovi spremenjenih oziroma »poškodovanih« beljakovin (69). Kovalentna povezava ubikvitina z raznimi beljakovinami le-te usmeri v nelizosomsko, od ATP odvisno razgradnjo (70). Encimi (E1 in E2) aktivirajo ubikvitin, sledi kovalentna povezava karboksiterminalnega dela ubikvitina z ϵ -amino skupino lizina v beljakovini, ki je namenjena za razgradnjo, pri čemer sodeluje encim E3. Z beljakovino se navadno poveže več molekul ubikvitina. Nazadnje proteaza razgradi poškodovano beljakovino ali pa izopeptidaza odstrani ubikvitin (70). Hitrost konjugacije proteinov z ubikvitinom in njihove razgradnje je odvisna od stopnje denaturacije beljakovin in od strukture aminoterminalnega aminokislinskega ostanka (71, 72).

Nepojasnjeno je, zakaj v primeru nevrofibrilarnih pentelj ni bil izvršen od ubikvitina odvisen katabolizem beljakovin. Možno je, da je ubikvitin z vezavo na sestavine nevrofibrilarnih pentelj postal nedostopen za delovanje od ubikvitina odvisnih proteaz ali pa gre za motnje v sami proteolitični poti.

Mehanizem, ki je odgovoren za vključitev različnih sestavin v nevrofibrilarne pentlje, je nepoznan. Po odmrtnju nevrona se nevrofibrilarne pentlje ohranijo v izvenseličnem prostoru. V te pentlje se začnejo vraščati distrofični nevriti, v okolici pa se pojavijo astroci-

ti in mikroglija. Pri »prehodu« v izvencelični prostor nevrofibrilarne pentlje izgubijo nekatere epitope in pridobijo nekatere nove. Pri tem se filamenti obdajo z neko amorfnostjo (56). Izvencelične nevrofibrilarne pentlje kažejo strukturne in optične lastnosti amiloida in imajo podobno sestavo kot senilni plaki; poleg tega je amiloid β skupna sestavina senilnih plakov in vseh nevrofibrilarnih pentelj (57). Sama podobnost sestave pa še ne zadošča za dokaz patogenetske povezanosti teh lezij.

Vendar so novejša študija pokazale, da hkratna prisotnost beljakovine τ in določenih predelov β -prekursorne beljakovine olajša njihovo skupno odlaganje. Na eksperimentalnem modelu so prikazali, da se beljakovina τ po vbrizganju v možgane poskusne živali odlaga skupaj z depoziti amiloida β oziroma β -prekursorne beljakovine (73). Poleg tega so ugotovili, da se beljakovina τ veže na β -prekursorno beljakovino, pri tem pa je vezava odvisna od aminokislinske sestave v predelu, ki se nahaja v bližini sekvence amiloida β (74). S tem v zvezi naj bi bile tudi razne mutacije v ustrezajočem predelu gena za β -prekursorno beljakovino odgovorne za odlaganje amiloida β v senilnih plakih.

Rezultati teh študij kažejo na interakcijo med beljakovino τ in β -prekursorno beljakovino oziroma amiloidom β . S temi ugotovitvami je skladna tudi hipoteza, da se v zunajceličnem prostoru nevrofibrilarne pentlje postopno spremenijo v nevritične senilne plake (57, 73). Po mnenju teh avtorjev naj bi v jedru senilnih plakov nazadnje preostal le amiloid β zaradi svoje večje odpornosti na delovanje proteolitičnih encimov. Tako se spet vračamo k ugotovitvam prvih avtorjev (6), ki so na podlagi podobne morfologije in optičnih lastnosti sklepali na patogenetsko povezanost senilnih plakov in nevrofibrilarnih pentelj.

Zaključek

Senilni plaki in nevrofibrilarne pentlje definirajo Alzheimerjevo bolezen. Ugotovitve novjših študij kažejo na bistven pomen in povezanost teh dveh vrst lezij v patogenezi Alzheimerjeve bolezni.

Literatura

1. McKhann G, Drachman D, Folstein M, Price D, Stadlan EM. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under auspices of department of health and human service task force on Alzheimer's disease. *Neurology* 1984; 34: 939–44.
2. Alzheimer A. Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde. *Allgemeine Zeitschrift für Psychiatrie und Psychisch-Gerichtliche Medizin* 1907; 64: 146–8.
3. Kidd M. Alzheimer's disease – an electron microscopical study. *Brain* 1964; 87: 307–20.
4. Luse SA, Smith KR. The ultrastructure of senile plaques. *Am J Pathol* 1964; 44: 553–63.
5. Metzals J, Robitaille Y, Houghton S, Gauthier S, Kang CY, Leblanc R. Neuronal transformations in Alzheimer's disease. *Cell Tissue Res* 1988; 252: 239–48.
6. Divry P. Etude histo-chimique des plaques seniles. *J Belge Neurol Psychiatr* 1927; 27: 643–57.
7. Kang J, Lemaire HG, Unterbeck A et al. The precursor of Alzheimer's disease amyloid A4 protein resembles a cell-surface receptor. *Nature* 1987; 325: 733–6.
8. Castano EM, Frangione B. Human amyloidosis, Alzheimer disease and related disorders. *Lab Invest* 1988; 58: 122–32.
9. Sisodia SS, Koo EH, Beyreuther K, Unterbeck A, Price DL. Evidence that β -amyloid protein in Alzheimer's disease is not derived by normal processing. *Science* 1990; 248: 492–5.

10. Tanzi RE, Gusella JF, Watkins PC et al. Amyloid β protein gene: cDNA, mRNA distribution and genetic linkage near the Alzheimer locus. *Science* 1987; 235: 880–4.
11. Goldgaber D, Lerman MI, McBride OW, Saffioti U, Gajdusek DC. Characterization and chromosomal localization of a cDNA encoding brain amyloid of Alzheimer's disease. *Science* 1987; 235: 877–80.
12. Koo EH, Sisodia SS, Archer DR et al. Amyloid precursor protein undergoes fast anterograde axonal transport. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 1561–5.
13. Nishimoto I, Okamoto T, Matsuura Y et al. Alzheimer amyloid precursor complexes with brain GTP-binding protein G_0 . *Nature* 1993; 362: 75–9.
14. Breen KC, Bruce M, Anderton BH. Beta amyloid precursor protein mediates neuronal cell-cell and cell-surface adhesion. *J Neurosci Res* 1991; 28: 90–100.
15. Allsop D, Landon M, Kidd M. The isolation and amino acid composition of senile plaque core protein. *Brain Res* 1983; 259: 348–52.
16. Arai H, Lee MYV, Otvos L et al. Defined neurofilament, τ and β -amyloid precursor protein epitopes distinguish Alzheimer from non-Alzheimer senile plaques. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 2249–53.
17. Cras P, Kawai M, Lowery D, Gonzalez-DeWhitt P, Greenberg B, Perry G. Senile plaque neurites in Alzheimer disease accumulate amyloid precursor protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 7552–6.
18. Goate A, Chartier-Harlin MC, Mullan M et al. Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature* 1991; 349: 704–6.
19. Chartier-Harlin MC, Crawford F, Houlden H et al. Early-onset Alzheimer's disease caused by mutations at codon 717 of the β -amyloid precursor protein gene. *Nature* 1991; 353: 844–6.
20. Hendricks L, van Duijn CM, Cras P et al. Presenile dementia and cerebral haemorrhage linked to a mutation at codon 692 of the β -amyloid precursor protein gene. *Nature Genet* 1992; 1: 218–21.
21. Mullan M, Crawford F, Axelman K et al. A pathogenic mutation for probable Alzheimer's disease in the APP gene at the N-terminus of β -amyloid. *Nature Genet* 1992; 1: 345–7.
22. Cataldo AM, Nixon RA. Enzymatically active lysosomal proteases are associated with amyloid deposits in Alzheimer brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 3861–5.
23. Smith MA, Kalaria RN, Perry G. α 1-trypsin immunoreactivity in Alzheimer disease. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 193: 579–84.
24. Gollin PA, Kalaria RN, Eikelenboom P, Rozemuller A, Perry G. α 1-antitrypsin and α 1-antichymotrypsin are in the lesions of Alzheimer's disease. *Neuroreport* 1992; 3: 201–3.
25. Abraham CR, Selkoe DJ, Potter H. Immunocytochemical identification of the serine protease inhibitor α 1-antichymotrypsin in the brain amyloid deposits of Alzheimer's disease. *Cell* 1988; 52: 487–501.
26. Kalaria RN, Golde T, Kroon SN, Perry G. Serine protease inhibitor antithrombin III and its messenger RNA in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Am J Pathol* 1993; 143: 886–93.
27. Rogers J, Schulz J, Brachova L et al. Complement activation and β -amyloid-mediated neurotoxicity in Alzheimer's disease. *Res Immunol* 1992; 143: 624–30.
28. Kalaria RN, Perry G. Amyloid P component and other acute-phase proteins associated with cerebellar A β -deposits in Alzheimer's disease. *Brain Res* 1993; 631: 151–5.
29. Snow AD, Willmer JP, Kisilevsky R. Sulfated glycosaminoglycans in Alzheimer's disease. *Hum Pathol* 1987; 18: 506–10.
30. Candy JM, Klinowski J, Perry RH et al. Aluminosilicates and senile plaque formation in Alzheimer's disease. *Lancet* 1986; 354.
31. Jarret JT, Berger EP, Lansbury PT Jr. The carboxy terminus of the β amyloid protein is critical for the seeding of amyloid formation: Implications for the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Biochemistry* 1993; 32: 4693–7.
32. Jarret JT, Lansbury PT Jr. Seeding »one-dimensional crystallization« of amyloid: A pathogenetic mechanism in Alzheimer's disease and scrapie. *Cell* 1993; 73: 1055–8.
33. Selkoe DJ. Molecular pathology of amyloidogenic proteins and the role of vascular amyloidosis in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 1989; 10: 387–95.
34. Probst A, Brunnenschweiler H, Lautenschlager C, Ulrich J. A special type of senile plaque, possibly an initial stage. *Acta Neuropathol* 1987; 74: 133–41.

35. Wisniewski HM, Bancher C, Barcikowska M, Wen GY, Currie J. Spectrum of morphological appearance of amyloid deposits in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol* 1989; 78: 337–47.
36. Perry G, Richey P, Siedlak SL, Galloway P, Kawai M, Cras P. Basic fibroblast growth factor binds to filamentous inclusions of neurodegenerative diseases. *Brain Res* 1992; 579: 350–2.
37. Perry G. Neuritic plaques in Alzheimer disease originate from neurofibrillary tangles. *Med Hypoth* 1993; 40: 257–8.
38. Kawai M, Cras P, Perry G. Serial reconstruction of β -protein amyloid plaques: relationship to microvessels and size distribution. *Brain Res* 1992; 592: 278–82.
39. Kalaria RN, Kroon SN, Perry G. Serum proteins and the blood-brain barrier in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Adv Biosci* 1993; 87: 281–2.
40. Koo EH, Sisodia SS, Cork LC, Unterbeck A, Bayney RM, Price DL. Differential expression of amyloid precursor protein mRNAs in cases of Alzheimer's disease and in aged non-human primates. *Neuron* 1990; 2: 97–104.
41. Cras P, Kawai M, Siedlak S et al. Neuronal and microglial involvement in β -amyloid protein deposition in Alzheimer's disease. *Am J Pathol* 1990; 137: 241–6.
42. Joachim C, Games D, Morris J, Ward P, Frenkel D, Selkoe D. Antibodies to non-beta regions of the beta-amyloid precursor protein detect a subset of senile plaques. *Am J Pathol* 1991; 138: 373–84.
43. Haass C, Koo EH, Mellon A, Hung AY, Selkoe DJ. Targeting of cell-surface β -amyloid precursor protein to lysosomes: alternative processing into amyloid-bearing fragments. *Nature* 1992; 357: 500–3.
44. Smith MA, Kalaria RN, Perry G. α -1-antitrypsin immunoreactivity in Alzheimer disease. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 193: 579–84.
45. Cataldo AM, Nixon RA. Enzymatically active lysosomal proteases associated with amyloid deposits in Alzheimer brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 3861–5.
46. Wischik CM, Novak M, Thogersen HC et al. Isolation of a fragment of tau derived from the core of the paired helical filament of Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 4506–10.
47. Grundke-Iqbal I, Iqbal K, Ting Y-C, Quinlan M, Wisniewski HM, Binder LI. Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein τ (tau) in Alzheimer cytoskeletal pathology. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 4913–7.
48. Crowther RA. Structural aspects of pathology in Alzheimer's disease. *Biophys Acta* 1991; 1096: 1–9.
49. Trojanowski JQ, Schmidt ML, Shin R-W, Bramblett GT, Rao D, Lee VM-Y. Altered tau and neurofilament proteins in neurodegenerative diseases: diagnostic implications for Alzheimer's disease and Lewy body dementias. *Brain Pathol* 1993; 3: 45–54.
50. Lee GL, Cowan N, Kirschner M. The primary structure and heterogeneity of tau protein from mouse brain. *Science* 1988; 239: 285–8.
51. Hirokawa N, Shiomura Y, Okabe S. Tau proteins: the molecular structure and mode of binding on microtubules. *J Cell Biol* 1988; 107: 1449–59.
52. Vallee RB. MAP2 (microtubule-associated protein 2). In: Shay JW ed. *Cell and muscle motility*. New York: Plenum Publishing 1984: 289–311.
53. Greenberg SG, Davies P. A preparation of Alzheimer paired helical filaments that display distinct τ proteins by polyacrylamide gel electrophoresis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 5827–31.
54. Mulvihill P, Perry G. Immunoaffinity demonstration that paired helical filaments of Alzheimer disease share epitopes with neurofilaments, MAP2 and tau. *Brain Res* 1989; 484: 150–6.
55. Galloway PG, Mulvihill P, Siedlak S et al. Immunochemical demonstration of tropomyosin in the neurofibrillary pathology of Alzheimer's disease. *Am J Pathol* 1990; 137: 291–300.
56. Tabaton M, Cammarata S, Mancardi G, Manetto V, Autilio-Gambetti L, Perry G. Ultrastructural localization of β -amyloid, τ , and ubiquitin epitopes in extracellular neurofibrillary tangles. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 2098–102.
57. Perry G, Richey PL, Siedlak SL et al. Immunocytochemical evidence that the β -protein precursor is an integral component of neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease. *Am J Pathol* 1993; 143: 1586–93.
58. Perry G, Cras P, Siedlak SL, Tabaton M, Kawai M. β protein immunoreactivity is found in the majority of neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease. *Am J Pathol* 1992; 140: 283–90.

59. Kalaria RN, Galloway PG, Perry G. Widespread serum amyloid P immunoreactivity in cortical amyloid deposits and the neurofibrillary pathology of Alzheimer's disease and other degenerative disorders. *Neuropathol Appl Neurobiol* 1991; 17: 189–201.
60. Masliah E, Iimoto DS, Mallory M, Albright T, Hansen L, Saitoh T. Casein kinase II alteration precedes tau accumulation in tangle formation. *Am J Pathol* 1992; 140: 263–8.
61. Hanger DP, Hughes K, Woodgett JR, Brion J-P, Anderton BH. Glycogen synthase kinase-3 induces Alzheimer's disease like phosphorylation of tau: generation of paired helical filament epitopes and neuronal localization of the kinase. *Neurosci Lett* 1992; 147: 58–62.
62. Trojanowski JQ, Mawal-Dewan M, Schmidt ML, Martin J, Lee VM-Y. Localization of the mitogen activated protein kinase ERK2 in Alzheimer's disease neurofibrillary tangles and senile plaque neurites. *Brain Res* 1993; 618: 333–7.
63. Shimohama S, Homma Y, Suenaga T et al. Aberrant accumulation of phospholipase C-delta in Alzheimer brains. *Am J Pathol* 1991; 139: 737–42.
64. Smith MA, Kutty RK, Richey PL et al. Heme oxygenase-1 is associated with the neurofibrillary pathology of Alzheimer's disease. *Am J Pathol* 1994; 145: 42–7.
65. Trojanowski JQ, Lee VM-Y. Paired helical filament τ in Alzheimer's disease. The kinase connection. *Am J Pathol* 1994; 144: 449–53.
66. Goedert M, Jakes R, Crowther RA et al. The abnormal phosphorylation of tau at Ser-202 in Alzheimer disease recapitulates phosphorylation during development. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 5066–70.
67. Kanamaru K, Takio K, Miura R, Titani K, Ihara Y. Fetal-type phosphorylation of the τ in paired helical filaments. *J Neurochem* 1992; 58: 1667–75.
68. Gustke N, Steiner B, Mandelkow EM et al. The Alzheimer-like phosphorylation of tau protein reduces microtubule binding and involves Ser-Pro and Thr-Pro motifs. *FEBS Lett* 1992; 307: 199–205.
69. Manetto V, Abdul-Karim FW, Perry G, Tabaton M, Auttilo-Gambetti L, Gambetti P. Selective presence of ubiquitin in intracellular inclusions. *Am J Pathol* 1989; 134: 505–13.
70. Finley D, Varshavsky A. The ubiquitin system: functions and mechanisms. *Trends Biochem Sci* 1985; 10: 343–6.
71. Dice JF. Molecular determinants of protein half-lives in eukaryotic cells. *FASEB J* 1987; 1: 349–57.
72. Bachmair A, Finley D, Varshavsky A. In vivo half-life of a protein is a function of its amino terminal residue. *Science* 1986; 234: 179–86.
73. Shin RW, Bramblett GT, Lee VMY, Trojanowski JQ. Alzheimer disease A β proteins injected into rat brain induce co-deposition of β -amyloid, ubiquitin and α -1-antichymotrypsin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 6825–8.
74. Perry G, Mulvihill P, Richey PL, Siedlak S, Kalaria R. Interaction of τ with amyloid- β deposits. *J Neuropathol Exp Neurol* 1993; 52: 334.

Prispelo 19.10.1995