

*Ewa Krzystanek, Grzegorz Opala, Stanisław Ochudło,
Henryk I. Trzeciak, Barbara Jasińska-Myga*

Aktywność fosfolipazy A₂ (PLA₂) w płytkach krwi pacjentów z chorobami neurodegeneracyjnymi

*Phospholipase A₂ (PLA₂) platelet activity
in the patient with neurodegenerative diseases*

Klinika Neurologii Wieku Podeszłego Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach

Streszczenie

Fosfolipaza A₂ (E.C.3.1.1.4., PLA₂) jest kluczowym enzymem wpływającym na właściwości błon komórkowych. Wiadomo, że odgrywa ważną rolę w patologii chorób ośrodkowego układu nerwowego (np.: w stwardnieniu rozsianym, padaczce i chorobie Alzheimera). Celem przeprowadzonych badań było określenie aktywności fosfolipazy A₂ u pacjentów z chorobą Alzheimera, chorobą Parkinsona i otępieniem naczyniopochodnym, wykorzystując płytkę krwi jako obwodowy model neuronu. Materiał i metodyka: Badana grupa liczyła 15 pacjentów z chorobą Alzheimera, 13 z otępieniem naczyniopochodnym i 10 z chorobą Parkinsona. Grupa kontrolna składała się z 15 zdrowych ochotników. Płytki krwi sonifikowano, a aktywność fosfolipazy A₂ oznaczano według zmodyfikowanej metody Jelsema oraz Strosznajder i Strosznajder. Wyniki opracowano statystycznie używając t-testu Studenta. Wyniki: W grupie kontrolnej aktywność płytkowej PLA₂ wynosiła 0,39 ± 0,13 (nmol/min/mg, średnia arytmetyczna ± odchylenie standardowe), w grupie pacjentów z chorobą Alzheimera 1,05 ± 0,44, z chorobą Parkinsona 0,67 ± 0,3, a u chorych z otępieniem naczyniopochodnym 0,78 ± 0,39. Wniosek: Aktywność płytkowej fosfolipazy A₂ jest podwyższona u pacjentów z chorobą Alzheimera, chorobą Parkinsona i otępieniem naczyniopochodnym.

Summary

Phospholipase A₂ (E.C.3.1.1.4., PLA₂) is a key enzyme responsible for membrane phospholipid turnover. There are some findings that PLA₂ participates in central nervous system pathology (e.g. multiple sclerosis, epilepsy and Alzheimer's disease). Our purpose was to estimate PLA₂ activity in patients with Alzheimer's disease, Parkinson's disease and vascular dementia, using human platelets as a peripheral model of neuron. Material and Methods: The examined group consisted of 15 patients with Alzheimer's disease, 13 with vascular dementia and 10 with Parkinson's disease. The control group consisted of 15 healthy people. Human platelets were sonificated, than PLA₂ activity was measured performed according to Jelsema as well as Strosznajder and Strosznajder with slight modifications. The Student t-test was used for statistical evaluation of the data. Results: PLA₂ activity in blood platelets of patients with Alzheimer's disease was 1,05 ± 0,44 (nmol/mg/min, mean ± SD), with Parkinson's disease 0,67 ± 0,3, and in platelets of the patients with vascular dementia 0,78 ± 0,39. The activity in platelets of the control was 0,39 ± 0,13. Conclusion: Activity of platelet PLA₂ is increased in patients with Alzheimer's dementia, Parkinson's disease and vascular dementia.

Słowa kluczowe: choroba Alzheimera, choroba Parkinsona, fosfolipaza A₂, otępienie naczyniopochodne, płytki krwi

Key words: Alzheimer's disease, blood platelets, Parkinson's disease, phospholipase PLA₂, vascular dementia

Wstęp

Choroby zwyrodnieniowe ośrodkowego układu nerwowego (oun) to grupa schorzeń o względnie powolnym, postępującym przebiegu, w których dochodzi do zmian degeneracyjnych neuronu i narastania zaburzeń jego funkcji. Proces chorobowy może dotyczyć różnych struktur mózgowia, stąd mnogość i różnorodność objawów neurologicznych w poszczególnych jednostkach chorobowych. We wszystkich chorobach z tej grupy odgrywa rolę także czynnik genetyczny, chociaż mechanizmy procesów zwyrodnieniowych nie zostały dotychczas wyjaśnione w sposób jednoznaczny.

Do chorób degeneracyjnych oun należą choroby znamionujące się otępieniem (m.in. choroba Alzheimera, zwyrodnienie czołowo skroniowe), choroby z zaburzeniami funkcji układu pozapiramidowego (np.: choroba Parkinsona, płasawica Huntingtona), choroby neuronu ruchowego (np.: stwardnienie zanikowe boczne) (6, 28, 38).

Spośród wymienionych powyżej jednostek chorobowych w wieku podeszłym szczególnie często występuje choroba Alzheimera i choroba Parkinsona. Obydwie trwają wiele lat, prowadzą do znacznego ograniczenia samodzielności pacjenta, chorzy wymagają stałej opieki osób drugih. W starzejącej się populacji choroby te urastają do rangi problemu społecznego.

U podstaw procesu degeneracyjnego w chorobie Parkinsona leży postępujące zwyrodnienie neuronów dopaminergicznych szlaku nigrostriatalnego, ale zmiany zwyrodnieniowe przybierają szerszy wymiar i dotyczą również neuronów adrenergicznych i serotonergicznych, a w miarę trwania choroby cholinergicznych i opioidowych (8, 27). Dominuje niedobór dopaminy, w jej metabolizmie istotną rolę odgrywają monoaminooksydazy (szczególnie MAO-B) oraz katecholo-O-metylotransferazy (COMT), które są głównymi enzymami rozkładającymi i tak już niewielkie ilości dopaminy (25).

Istnieje wiele hipotez tłumaczących zwyrodnienie układu dopaminergicznego; ostatnio podnosi się rolę stresu oksydacyjnego, apoptozy, niewątpliwie znaczenie mają również czynniki genetyczne (8, 9, 16, 25).

Otępienie to zespół objawów spowodowany chorobą organiczną mózgu, zwykle przewlekłą i postępującą. Dochodzi w niej do zaburzeń wyższych funkcji korowych, takich jak pamięć, myślenie, orientacja, rozumienie, koncentracja, liczenie, zdolność uczenia się, język i zdolność do porównywania, ocenianie i dokonywanie racjonalnych wyborów (wg ICD-10). W tej grupie chorób zwyrodnieniowych na plan pierwszy zdecydowanie wysuwa się choroba Alzheimera (50–70% przypadków otępienia), w której poza zespołem otępiennym obserwuje się objawy afatyczne, agnostyczne i apraktyczne, a w późniejszym okresie choroby mogą wystąpić również zaburzenia pozapiramidowe. Pewne rozpoznanie można postawić dopiero na podstawie badania anatomopatologicznego mózgu. Proces zwyrodnieniowy generalnie dotyczy całej tkanki mózgowej; obserwuje się uogólniony zanik mózgu oraz obecność blaszek amyloidowych utworzonych ze złogów beta-amyloidu ($A\beta$, 39–43 aminokwasowy peptyd, patognomoniczny dla tej choroby), zwyrodnienie-

nie włóknkowe Alzheimerera (ang. *NFT, neurofibrillary tangles*) i zwyrodnienie ziarnisto-wodniczkowe neuronów (28). Mechanizmy neurotoksyczności A β polegają na zaburzeniach homeostazy wapnia, interakcji z lipidami błony komórkowej, aktywacji swoistych receptorów, bezpośrednim rozerwaniu błony komórkowej lub kombinacji wyżej wymienionych (6). Błazki amyloidowe i NFT są głównymi miejscami katalitycznej aktywności redukcyjno-oksydacyjnej, czyli potencjalnym źródłem wolnych rodników. W samej błazce toczy się samopodtrzymujący się stan zapalny (3). Specyficzne fragmenty A β (betaA42) pobudzają mechanizmy zapalne, a powstały pod wpływem fosfolipazy A₂ kwas arachidonowy powoduje polimeryzację hiperfosforylowanego białka tau do form NFT (30).

Ostatnio podnosi się również rolę nadmiernej aktywacji lipaz i fosfolipaz w procesie degeneracji neuronów związanych z procesami uczenia się i pamięci (14).

W zaawansowanej fazie choroby Alzheimerera często pojawiają się objawy uszkodzenia układu pozapiramidowego, a część pacjentów z chorobą Parkinsona cierpi na otępienie. Współwystępowanie niektórych objawów w chorobie Alzheimerera i chorobie Parkinsona może świadczyć o pewnych wspólnych, podstawowych mechanizmach uszkodzenia neuronu.

Błony komórkowe tworzą bariery zapewniające ciągłość i odrębność procesów życiowych. Najważniejszą cechą błon biologicznych jest ich wybiórcza przepuszczalność. Profil lipidowy błon tworzą fosfolipidy, glikosfingolipidy, plazmalogeny i cholesterol. Rozkład fosfolipidów błonowych przez fosfolipazy zmienia własności fizykochemiczne błony, co wpływa na funkcje receptorów błonowych oraz przekazywanie informacji (11, 13).

Fosfolipazy to rozpowszechniona szeroko w przyrodzie grupa enzymów. Zależnie od lokalizacji wiązania ulegającego hydrolizie, wyodrębniono fosfolipazę A₁, fosfolipazę A₂, fosfolipazę C i fosfolipazę D (3, 26). Fosfolipaza A₂ (E.C.3.1.1.4., PLA₂) katalizuje hydrolizę wiązania estrowego w pozycji sn-2 fosfolipidów błon komórkowych (3, 31, 47). Uwolniony kwas arachidonowy (AA), jest wtórnym oraz tzw. wstecznym przekaźnikiem informacji wewnątrzkomórkowej. Reguluje uwalnianie neuromodulatorów, neurotransmisję synaptyczną i funkcje kanałów jonowych. Może ponownie zostać wbudowany do fosfolipidów błon komórkowych (ang. *remodeling*). Jest także substratem dla enzymów kaskady tegoż kwasu (11, 47). Sam kwas arachidonowy może dyfundować na zewnątrz komórki, co umożliwia zjawisko tzw. długotrwałego wzmocnienia synaptycznego (ang. *long term potentiation, LTP*), które ogrywa kluczową rolę w procesie uczenia się i pamięci (47).

Pod wpływem PLA₂ zostaje uwolniony czynnik aktywizujący płytki krwi (ang. *PAF, platelet activating factor*), którego akumulację stwierdzono w mózgu w urazach mózgowia, drgawkach, niedokrwieniu, demencji w AIDS i innych schorzeniach degeneracyjnych (33). Podsumowując powyższe rozważania, nadmierna aktywność PLA₂ może powodować uszkodzenie neuronów w następujących mechanizmach (12, 14, 39, 44):

- zmniejszenie ilości właściwych fosfolipidów błonowych oraz akumulacja wolnych kwasów tłuszczowych i lizofosfolipidów, które niszczą błony komórkowe,

- dysfunkcja mitochondriów w wyniku upośledzenia fosforylacji oksydacyjnej przez wolne kwasy tłuszczowe,
- pobudzenie leukocytów i wywołanie stanu zapalnego przez czynnik aktywujący płytki krwi (PAF), który powstaje przez acetylację lizofosfolipidów,
- produkcja wolnych rodników, które niszczą błony neuronalne (zaburzają „płynność” błon, jak również funkcje kanałów jonowych i receptorów),
- niekontrolowany, ciągły napływ jonów wapnia, który powoduje wzrost rozpadu fosfolipidów, co prowadzi do wzrostu przepuszczalności błon komórkowych i pobudzenia wielu enzymów lipo- i proteolitycznych, zaburzeń cytoszkieletu i struktury błon plazmatycznych.

W patofizjologii zwiększona aktywność PLA₂ towarzyszy najczęściej chorobom zapalnym (np.: reumatoidalne zapalenie stawów), prawdopodobnie reguluje też mechanizmy odpornościowe organizmu (4). Wykazano zmiany aktywności PLA₂ w wielu chorobach układu nerwowego. Udokumentowano jej wzrost w przebiegu niedokrwienia mózgu zarówno zwierząt (10, 13, 30, 34, 41), jak i człowieka (14, 30). Podobne zjawisko występuje w wypadku urazu głowy czy rdzenia kręgowego (13, 14, 40), w udarze mózgu (14, 30) oraz w stwardnieniu rozsianym (19). Opisywano zmiany jej aktywności w padaczce (30) oraz w chorobie Alzheimera zarówno w mózgowiu, jak i płytkach krwi (14, 20).

Dotychczas większość badań aktywności PLA₂ prowadzono w surowicy krwi, *post mortem* w mózгах (gdzie zaburzenie dotyczyło oun), niektóre w płytkach krwi. Pomiar aktywności PLA₂ w płytkach krwi wydają się być bardzo interesujące, bowiem te elementy morfotyczne uznano za obwodowy model neuronu (37). Wytwarzanie PLA₂ pozostaje pod genetyczną kontrolą, stąd jej aktywność w mózgu powinna korelować z aktywnością w elementach morfotycznych krwi (21). Trombocyty wykazują podobne do neuronów właściwości błonowe i receptorowe (35, 37). Prezentują na swej powierzchni receptory alfa-2 i b-2-adrenergiczne, serotonergiczne, dopaminergiczne, imidazolinowe (17), zawierają także monoamino-oksydazę B (1, 5, 46). Bardzo interesujące wydaje się, iż płytki krwi zawierają i wydzielają prekursorowe białko beta-amyloidu (ang. *amyloid precursor protein-APP*), stąd przekonanie, że mogą stanowić dobry obwodowy model choroby Alzheimera (21). Korzystano również z płytki krwi badając funkcję układu glutaminergicznego (w schizofrenii), ponieważ posiada ona także receptor glutaminergiczny NMDA (2). Rola płytki krwi w procesie aterogenezy jest niewątpliwa.

Bardzo interesujące wydaje się dalsze pogłębianie wiedzy na temat znaczenia PLA₂ w chorobach oun, szczególnie, że znane są już liczne inhibitory tego enzymu (np.: witamina E, indometacyna, GM1-gangliozyd); stąd możliwość wpływania na jego aktywność (14, 32).

Wyniki dotychczas przeprowadzonych badań nad aktywnością PLA₂ w płytkach krwi pacjentów z chorobą Alzheimera są niejednoznaczne (14, 20), nie podjęto takich badań w chorobie Parkinsona. Jak dotąd nie badano również aktywności PLA₂ w płytkach krwi w otepieniu innym niż alzheimerowskie.

Celem pracy było określenie aktywności PLA₂ w dwóch chorobach neurodegeneracyjnych: chorobie Alzheimera i Parkinsona, a następnie porównanie ich

z aktywnością enzymu w grupie kontrolnej oraz otępieniu naczyniopochodnym, u którego podstaw leży patologia naczyń.

Material i metoda

Do badań kwalifikowano pacjentów, u których rozpoznano chorobę Alzheimera, otępienie naczyniopochodne oraz chorobę Parkinsona. Na prowadzenie badań w powyższych grupach zgodę wyraziła Komisja Bioetyczna Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach.

Przyjęto następujące kryteria włączenia:

A. dla chorych z otępieniem

- rozpoznanie otępienia typu alzheimerowskiego, zgodnie z kryteriami ICD-10 i NINCDS-ADRDA,
- rozpoznanie otępienia naczyniopochodnego wg ICD-10,
- MMSE (Minimental State Examination) 10–26 pkt. (włącznie), nieprawidłowy test zegara,
- ogólny stan zdrowia: dobry, pacjenci bez upośledzenia wzroku i słuchu w stopniu uniemożliwiającym udział w testach psychologicznych.

B. dla pacjentów z chorobą Parkinsona

- rozpoznanie idiopatycznej choroby Parkinsona na podstawie klinicznego obrazu choroby.

U każdego pacjenta wykonano badanie neuroobrazujące (tomografię komputerową lub rezonans magnetyczny głowy). Wszyscy chorzy mieli wykonane badania laboratoryjne: morfologię, badania biochemiczne (sód, potas, ALAT, AspAT, kreatynina, bilirubina, białko całkowite) oraz TSH. Wyniki badań winny pozostawać w granicach normy, akceptowane były nieistotne klinicznie odchylenia. W EKG dopuszczalne były niewielkie nieprawidłowości.

Do kryteriów wyłączenia należały: współistniejące choroby ogólnoustrojowe (świeży zawał mięśnia sercowego, zaburzenia endokrynologiczne w tym cukrzyca, choroby nerek, wątroby) i/lub neurologiczne (padaczka, miastenia, zmiany zapalne ośrodkowego układu nerwowego, itp.), uzależnienia, terapia lekami psychotropowymi, sterydami, niesterydowymi lekami przeciwzapalnymi. Zakwalifikowani pacjenci z chorobą Alzheimera i chorobą Parkinsona dotychczas nie byli leczeni z powodu tych chorób.

Grupa kontrolna to osoby w dobrej kondycji ogólnej, bez dolegliwości, bez zaburzeń funkcji poznawczych (MMSE >26 punktów), nieleczeni lekami wymienionymi powyżej, dopuszczalne było stosowanie leków hipotensyjnych i nitratów.

Stosując rygorystyczne kryteria kwalifikujące chorych, wyodrębniono ostatecznie następujące grupy: 15 chorych z chorobą Alzheimera, 13 chorych z otępieniem naczyniowym, 10 chorych z chorobą Parkinsona oraz 15 zdrowych ochotników.

W większości grup dominują kobiety; w grupie kontrolnej było 12 kobiet, w grupie pacjentów z chorobą Alzheimera – 13, z otępieniem naczyniopochodnym – 7, w grupie z chorobą Parkinsona – 6. Średni wiek badanych wynosił odpowiednio 71,3; 70,2; 75,5 oraz 70,8 lat. Czas trwania choroby wynosił średnio

w chorobie Alzheimera 2,4 roku, w ośpieniu naczyniopochodnym 1,96, w chorobie Parkinsona 2,5 roku. Stopień ośpienia w grupie pacjentów z chorobą Alzheimera i ośpieniem naczyniopochodnym, oceniany skalą MMSE, waha się od 12 do 26 (średnio 21 punktów). Szczegółową charakterystykę grupy przedstawia tabela 1.

Tabela 1. Charakterystyka badanych grup z uwzględnieniem danych demograficznych, czasu trwania choroby, wyników MMSE

	Liczebność grupy	Liczba kobiet	Liczba mężczyzn	Średni wiek (rozpiętość wieku)	Średni czas trwania choroby	MMSE
Grupa kontrolna	15	12	3	71,3 (56–88)	–	> 26 pkt
Choroba Alzheimera	15	13	2	70,2 (54–81)	2,4 roku	21,6 pkt (12–26)
Ośpienie naczyniopochodne	13	7	6	75,5 (55–95)	1,96 roku	21,9 pkt (13–24)
Choroba Parkinsona	10	6	4	70,8 (58–81)	2,5 roku	>26

Wszyscy badani wyrazili świadomą zgodę na pobranie krwi.

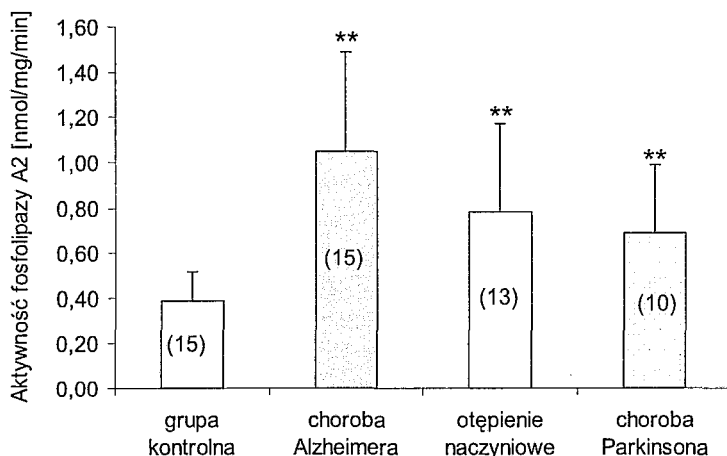
Krew do badań w ilości 9 ml pobierano z żyły łokciowej do probówki z 1 ml cytrynianu sodu, chłodzono, wirując izolowano płytki krwi z surowicy, a następnie zawieszano je w roztworze soli fizjologicznej (18). Tak przygotowany materiał sonifikowano, zawartość białka oznaczano metodą Lowry'ego (29).

Aktywność PLA₂ w płytkach krwi oznaczano według zmodyfikowanej metody Jelsema (24) oraz Strosznajder i Strosznajder (42). Jako substrat w reakcji katalizowanej przez ten enzym wykorzystano [¹⁴C]1-stearylo-2-arachidonoylo-L-a-phosphatidylozitol (aktywność właściwa 20–50 mCi/mmol). Pod wpływem PLA₂ zawartej w płytkach krwi zostaje uwolniony znakowany [¹⁴C]-kwas arachidonowy. Jego radioaktywność mierzono przy użyciu licznika scyntylicyjnego (Beckman LS 6000 IC). Aktywność PLA₂ wyrażono w nmolach uwolnionego [¹⁴C]-kwasu arachidonowego/ minutę/ mg białka.

Wyniki podano jako średnie arytmetyczne ± odchylenie standardowe. Do analizy statystycznej użyto t-testu Studenta. Obliczenia wykonano w programie Statistica PL wersja 5.0.

Wyniki

We wszystkich badanych grupach schorzeń aktywność fosfolipazy A₂ w trombocytach jest podwyższona w porównaniu z kontrolą (rycina 1 i tabela 2). Aktywność badanego enzymu w płytkach krwi ludzi zdrowych wynosiła 0,39 ± 0,13 nmol/mg/min. W chorobie Alzheimera aktywność PLA₂ w płytkach krwi wynosiła 1,05 ± 0,44 nmol/mg/min, w ośpieniu naczyniopochodnym 0,78 ± 0,39 nmol/mg/min, w chorobie Parkinsona 0,69 ± 0,3 nmol/mg/min. Różnice pomiędzy badanymi grupami schorzeń nie były znamienne statystycznie.



Wyniki wyrażono w postaci średnich arytmetycznych \pm odchylenie standardowe. W nawiasach podano ilość pacjentów.

Znamienność statystyczną (p) obliczono za pomocą t-testu Studenta: **p<0,01.

Rycina 1. Aktywność fosfolipazy A₂ (PLA₂) [nmol/mg/min] w płytkach krwi pacjentów z chorobą Alzheimera, otępieniem naczyniopochodnym, chorobą Parkinsona i zdrowych ludzi

Tabela 2. Aktywność fosfolipazy A₂ w płytkach krwi pacjentów z chorobą Alzheimera, otępieniem naczyniopochodnym, chorobą Parkinsona oraz wśród zdrowych ochotników

Grupa badana	Aktywność PLA ₂ [nmol/mg/min]	Odchylenie standardowe (SD)
Grupa kontrolna	0,39	0,13
Choroba Alzheimera	1,05	0,44
Otępienie naczyniowe	0,78	0,39
Choroba Parkinsona	0,69	0,3

Dyskusja

Główne mechanizmy uszkodzenia komórki przez fosfolipazę A₂ to: akumulacja wolnych kwasów tłuszczowych i lizofosfolipidów prowadząca do rozpadu błon komórkowych, uwolnienie kaskady kwasu arachidonowego oraz napływ do komórki jonów wapnia z tego licznymi konsekwencjami (15). W przeprowadzonych badaniach stwierdzono wzrost aktywności PLA₂ w chorobie Alzheimera, chorobie Parkinsona i w otępieniu naczyniopochodnym, co sugeruje, iż pewne procesy leżące u podstaw tych jednostek chorobowych są wspólne.

Farooqui i wsp. (14) podają, że w chorobie Alzheimera aktywność PLA₂ w mózgu jest podwyższona. Natomiast Gattaz i wsp. (20) stwierdzili obniżoną aktywność tego enzymu w chorobie Alzheimera zarówno w płytkach krwi, jak

i w próbkach kory mózgowej okolic czołowych i ciemieniowych. Badania w tkance mózgowej (*post mortem*, korzystając z zasobów Medical Research Council Alzheimer's Disease Brain Bank) prowadzono jednak w grupie pacjentów ze skrajnie zaawansowaną chorobą Alzheimera, gdzie wynik MMSE wynosił średnio 3,1 punktów, a średni czas trwania choroby 9,5 roku (20). W badanej obecnie grupie pacjenci mieli we wspomnianym teście średnio 21 punktów, czas trwania choroby wynosił 2 lata, liczba chorych w grupach była porównywalna [Gattaz (20); badania w mózгах – 20 osób, w płytkach – 16].

W piśmiennictwie brak jest informacji dotyczących zmian aktywności PLA₂ w otępieniu naczyniopochodnym. Kilka lat temu sugerowano, iż enzym ten mógłby być markerem choroby Alzheimera (12). Okazuje się jednak, że w drugim co do częstości występowania; otępieniu naczyniopochodnym również stwierdza się wzrost aktywności fosfolipazy A₂. Obecnie rozważa się istnienie pewnych wspólnych procesów leżących u podstaw tych otępień; w otępieniu alzheimerowskim występuje angiopatia naczyniowa, amyloid beta indukuje skurcz naczyń i obniżenie przepływu mózgowego (36). Coraz częściej pojawia się pytanie: czy istnieje otępienie naczyniopochodne? Już dziś wyodrębnia się przeciwieństwo otępienie mieszane, łączące w sobie cechy obydwu wymienionych.

Dotychczas nie określono aktywności PLA₂ w płytkach krwi pacjentów z chorobą Parkinsona. W badaniach na modelu zwierzęcym uszkodzenia układu pozapiramidowego obserwowano wzrost tego enzymu w mózgowiu (22). Ross i wsp. (39) badali aktywność PLA₂ w wybranych okolicach mózgu (kora, istota biała, istota czarna, mózdzek) *post mortem*, osób bez objawów uszkodzenia układu nerwowego i zaburzeń psychicznych. Stwierdzili oni, iż aktywność PLA₂ była znacznie niższa w obrębie istoty czarnej niż w pozostałych strukturach mózgowia. Inni autorzy (9, 14), ze względu na neurodegeneracyjny charakter schorzenia, dane o roli stresu oksydacyjnego oraz zaburzenia w przemianach lipidów, przyjmują, iż dochodzi do nadmiernej aktywacji PLA₂, stąd propozycje leczenia choroby Parkinsona inhibitorami fosfolipazy A₂. Wzrost aktywności płytkowej PLA₂ w grupie pacjentów z chorobą Parkinsona potwierdza powyższą hipotezę. Z punktu widzenia zmian aktywności badanego enzymu można więc zaliczyć chorobę Parkinsona i chorobę Alzheimera do jednej grupy schorzeń.

W badaniach wykorzystano płytkę krwi; ze względu na fakt, iż posiada liczne receptory oraz jej zdolność generowania białka prekursorowego amyloidu. Z pewnością jednak nie jest ona doskonałym modelem neuronu, środowisko w jakim się znajduje nie odzwierciedla warunków panujących w mózgu, wzajemnych oddziaływań neuron–glej, wreszcie liczne receptory na powierzchni płytki mogą pełnić funkcje inne niż w ośrodkowym układzie nerwowym (oun). Mimo to wykazywano podobny kierunek zmian aktywności PLA₂ w mózgowiu i płytkach krwi (18, 20). Bardzo istotne jest, że badania w płytkach krwi można prowadzić przyżyciowo, jeśli trzeba wielokrotnie, przy stosunkowo niewielkim obciążeniu pacjenta.

Badania aktywności PLA₂ w tkance mózgowej lepiej odzwierciedlają procesy biochemiczne mające miejsce w oun, ale ze względu na małą dostępność materiału (badanie wykonuje się *post mortem*) nie są użyteczne klinicznie.

W badanych schorzeniach (choroba Alzheimera, otępienie naczyniopochodne, choroba Parkinsona) obserwuje się wzrost aktywności PLA₂. Podobne wyniki otrzymano w tkance mózgowej w chorobie Alzheimera (14). Przeprowadzone badania po raz pierwszy określają aktywność PLA₂ w płytkach krwi pacjentów z chorobą Parkinsona i otępieniem naczyniopochodnym. Jest to jednak zjawisko niespecyficzne, obecne we wszystkich badanych grupach. Powstaje więc pytanie: czy zmiany aktywności PLA₂ z tego wszystkimi następstwami są przyczyną czy też następstwem omawianych chorób? Analizując wyniki badań warto zwrócić uwagę, iż prowadzone badania dotyczą początkowych etapów chorób, podczas gdy Gattaz badał pacjentów z głębokim otępieniem (20). Być może więc aktywność enzymu zmienia się wraz z czasem trwania choroby. Jeśli przyjmowanie niesterydowych leków przeciwzapalnych (NLP) zmniejsza prawdopodobieństwo zachorowania na chorobę Alzheimera (45), należałoby przyjąć, że zmiany aktywności PLA₂ to proces pierwotny, któremu zapobiegamy, a nie wtórny.

Wiedza o aktywności PLA₂ jest istotna ze względu na możliwość jej farmakologicznego hamowania. Jak wspomniano wyżej, ostatnio (45) zaobserwowano, że chorzy cierpiący na choroby reumatyczne przyjmujący stale niesterydowe leki przeciwzapalne (NLP) (indometacyna, ibuprofen) rzadziej zapadają na chorobę Alzheimera. NLP to nieselektywne inhibitory PLA₂ oraz cyklooksygenazy (COX-2, której substratem jest kwas arachidonowy). Od wielu lat prowadzone są badania nad wyodrębnieniem selektywnych inhibitorów PLA₂ (7, 14, 43). Do leków hamujących aktywność PLA₂ zaliczamy np.: tokoferol, GM1-gangliozyd, 5-difosfocytynyę, GM3-gangliozyd, lipokortynę, variabilinę, surfaktynę, oraz glikokortykoterdy, choć nie wszystkie mogą być stosowane ze względu na ich możliwości przechodzenia przez barierę krew-mózg, czy objawy niepożądane (12, 14, 23).

Podsumowując wyniki badań oraz powyższe rozważania stwierdzono, że:

1. Aktywność PLA₂ jest podwyższona w płytkach krwi pacjentów z chorobą Alzheimera, chorobą Parkinsona i w otępieniu naczyniopochodnym.
2. Należy rozważyć możliwość terapii lekami hamującymi aktywność PLA₂ w chorobie Alzheimera, chorobie Parkinsona i w otępieniu naczyniopochodnym.

Piśmiennictwo

1. Barradas M.A., Mikhailidis D.P. The use of platelets as models for neurons: possible applications to the investigation of eating disorders. *Biomed. Pharmacoter.* 1993, 47, 11–18.
2. Berk M., Plein H., Belsham B. The specificity of platelet glutamate receptor supersensitivity in psychotic disorders. *Life Sci.* 2000, 66, 2427–2432.
3. Burch R.M. Phospholipase A₂ activity. In: Kendall D.A., Hill S.J. (red): *Methods in Molecular Biology. Humana. Press Inc.*, 1995, 279–284.
4. Crowl R.M., Stoller T.J., Conroy R.R., Stoner C.R. Induction of phospholipase A₂ gene expression in human hepatoma cells by mediators of the acute phase response. *J. Biol. Chem.* 1991, 266, 2647–2651.
5. Da Prada M., Cesura A.M., Launay J.M., Richards J.G. Platelets as a model for neurones? *Experientia* 1988, 44, 115–126.

6. Dobryczycka W., Leszek J. Molekularne i kliniczne aspekty choroby Alzheimer'a. Volumed, Wrocław, 2001.
7. Douglas C.E., Chan A.C., Choy P.C. Vitamin E inhibits platelet phospholipase A₂. *Biochem. Biophys. Acta* 1986, 876, 639–645.
8. Dunnett S.B., Bjorklund A. Prospects for new restorative and neuroprotective treatments in Parkinson's disease. *Neurological Disorder. Nature* 1999, 339 (suppl. 6738), A32–A39.
9. Ebadi M., Srinivasan S.K., Baxi M.D. Oxidative stress and antioxidant therapy in Parkinson's disease. *Prog. Neurobiol.* 1996, 48, 1–19.
10. Edgar A.D., Strosznajder J., Horrocks L.A. Activation of ethanoloamine phospholipase A₂ in brain during ischemia. *J. Neurochem.* 1982, 39, 1111–1116.
11. Farooqui A.A., Hirashima Y., Horrocks L.A. Brain phospholipases and their role in signal transduction. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1992, 11–25.
12. Farooqui A.A., Horrocks L.A. Lipid peroxides in the free radical pathophysiology of brain diseases. *Cell Mol. Neurobiol.* 1998, 18, 599–608.
13. Farooqui A.A., Horrocks L.A. Plasmalogens: workhorse lipids of membranes in normal and injured neurons and glia. *Neuroscientist* 2001, 7, 232–245.
14. Farooqui A.A., Litski M.L., Farooqui T., Horrocks L.A. Inhibitors of intracellular phospholipase A₂ activity: Their neurochemical effects and therapeutical importance for neurological disorders. *Brain Res Bull.* 1999, 49, 139–153.
15. Farooqui A.A., Yang H.C., Horrocks L. Involvement of phospholipase A₂ in neurodegeneration. *Neurochem. Int.* 1997, 30, 517–522.
16. Friedman A. Epidemiologia, etiopatogeneza, rozpoznawanie i leczenie choroby Parkinsona. In: Friedman A. (red): *Choroba Parkinsona*. α -medica press, Bielsko-Biała 1999, 30–40.
17. Garcia-Sevilla J.A., Escriba P.V., Busquets X., Walzer C., Guimon J. Platelet imidazoline receptors and regulatory G proteins in patients with major depression. *Neuroreport* 1996, 8, 169–172.
18. Gattaz W.F., Schmitt A., Maras A. Increased platelet phospholipase A₂ activity in schizophrenia. *Schizophr. Res.* 1995, 16, 1–6.
19. Gattaz W.F., Kollisch M., Thuren T., Virtanen J.A., Kinnunen P.K.J. Increased plasma phospholipase A₂ activity in schizophrenic patients: reduction after neuroleptic therapy. *Biol. Psychiatry.* 1987, 22, 421–426.
20. Gattaz W.F., Cairns N.J., Levy R., Forstl H., Braus D.F., Maras A. Decreased phospholipase A₂ activity in the brain and in platelets of patients with Alzheimer's disease. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* 1996, 246, 129–131.
21. Gattaz W.F., Levy R., Cairns N.J., Forstl H., Braus D.F., Maras A. Relevance of metabolism of membrane phospholipids for Alzheimer dementia. *Fortschr. Neurol. Psychiatr.* 1996, 64, 8–12.
22. Hayakawa T., Chang M.C., Bell J.M., Seeman R., Rapoport S.I., Appel N.M. Fatty acid incorporation depicts brain activity in a rat model of Parkinson's disease. *Brain Res* 1998, 807: 177–181.
23. Hoozemans J.J., Veerhuis R., Janssen I., Rozemuller A.J., Eikelenboom P. Interleukin-1 β induced cyclooxygenase 2 expression and prostaglandin E₂ secretion by human neuroblastoma cells: implications for Alzheimer's disease. *Exp. Gerontol.* 2001, 36, 559–570.
24. Jelsema L.C. Light activation of phospholipase A₂ in rod outer segments of bovine retina and its modulation by GTP-binding proteins. *J. Biol. Chem.* 1987, 262, 163–168.
25. Jenner P., Olanow C.W. Oxidative stress and the pathogenesis of Parkinson's disease. *Neurology* 1996, 47, 161–170.
26. Kaiser E., Chiba P., Zaky K. Phospholipases in biology and medicine. *Clin. Biochem.* 1990, 23, 349–370.
27. Kostowski W. Zaburzenia procesów neuroprzekaznictwa w chorobie Parkinsona. In: Friedman A. (red): *Choroba Parkinsona*. α -medica press, Bielsko-Biała 1999, 7–25.
28. Liberski P. Biologia molekularna w chorobach neurozwyrodnieniowych. *Aktualności Neurologiczne* 2001, 1, 50–68.

29. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 1951, 193, 265–277.
30. Lukiw W.J., Bazan N.G. Neuroinflammatory signaling upregulation in Alzheimer's disease. *Neurochem. Res.* 2000, 25, 1173–118.
31. Mukherjee A.B., Miele L., Pattabiraman N. Phospholipase A₂ enzymes: Regulation and physiological role. *Biochem. Pharmacology* 1994, 48, 1–10.
32. Nakamura S. Effects of phospholipase A₂ inhibitors on the antidepressant-induced axonal regeneration of noradrenergic locus coeruleus neurons. *Microsc. Res. Tech.* 1994, 15, 204–210.
33. Ogden F., DeCoster M.A., Bazan N.G. Recombinant plasma-type platelet-activating factor acetylhydrolase attenuates NMDA-induced hippocampal neuronal apoptosis. *J. Neurosci. Res.* 1998, 53, 677–684.
34. Owada Y., Tominaga T., Yoshimoto T., Kondo H. Molecular cloning of rat cDNA for cytosolic phospholipase A₂ and the increased gene expression in the dentate gyrus following transient forebrain ischemia. *Mol. Brain Res.* 1994, 25, 364–368.
35. Owens M.J., Nemeroff C.B. Role of serotonin in the pathophysiology of depression: Focus on the serotonin transporter. *Clin. Chem.* 1994, 40, 288–295.
36. Paris D., Town T., Parker T., Humphrey J., Mullan M. A-beta vasoactivity: an inflammatory reaction. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2000, 903, 97–109.
37. Pletscher A. Blood platelets as neuronal models: Use and limitations. *Clin. Neuropharmacol.* 1986, 9, 344–346.
38. Reilmann R., Rolf L.H., Lange H.W. Huntington's disease: N-methyl-D-aspartate receptor coagonist glycine is increased in platelets. *Exp. Neurol.* 1997, 144, 416–419.
39. Ross B.M., Moszczynska A., Erlich J., Kish S.J. Low activity of key phospholipid catabolic and anabolic enzymes in human substantia nigra: Possible implications for Parkinson's disease. *Neurosci.* 1998, 83, 791–798.
40. Shohami E., Shapira Y., Yadid G., Reisfeld N., Yedgar S. Brain phospholipase A₂ is activated after experimental closed head injury in the rat. *J. Neurochem.* 1989, 53, 1541–1546.
41. Strosznaider J., Wikieł H., Sun G.Y. Effects of cerebral ischemia on [³H]inositol lipids and [³H] inositol phosphates of gerbil brain and subcellular fractions. *J. Neurochem.* 1987, 48, 943–948.
42. Strosznajder J., Strosznajder R.P. Guanine nucleotides and fluoride enhance carbachol mediated arachidonic acid release from phosphatidylinositol. *J. Lipid Med.* 1989, 1, 217–229.
43. Svennerholm L. Gangliosides – A new therapeutic agent against stroke and Alzheimer's disease. *Life Sci.* 1994, 55, 2125–2134.
44. Van Kuijk F.J., Sevanian A., Handelma G.J., Dratz E.A. A new role for phospholipase A₂: Protection of membranes from lipid peroxydation damage. *Trends Biochem. Sci.* 1987, 12, 31–34.
45. Weggen S., Eriksen J.L., Das P. et al. A subset of NSAIDs lower amyloidogenic Abeta 42 independently of cyclooxygenase activity. *Nature* 2001, 414, 212–216.
46. Wirz-Justice A. Platelet research in psychiatry. *Experientia* 1988, 44, 145–152.
47. Żylińska L., Lachowicz L. Kwas arachidonowy w fizjologii i patologii tkanki nerwowej. *Postępy Biochem.* 1996, 42, 357–363.