

Prof. dr hab. Jerzy Leszek

Katedra i Klinika Psychiatrii

Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu

COLOCO prp w neuroprotekcji

Spis treści

1. Patogeneza choroby Alzheimera	5
2. Znaczenie neurozapalenia w warunkach fizjologicznych i patologicznych.....	6
2.1. Udział mikrogleju w odpowiedzi immunologicznej i zapalnej.....	10
2.2. Znaczenie fagocytozy w biologicznej funkcji mikrogleju.....	12
2.3. Udział astrogleju w odpowiedzi zapalnej w OUN	13
2.4. Markery stanu zapalnego w chorobie Alzheimera	14
3. Wpływ czynników zakaźnych na indukcje procesów zapalnych	18
4. Perspektywy terapii immunokorekcyjnej.....	22
4.1. Kolostrylina-znaczenie biologiczne polipeptydów wysokoprolinowych.....	22
4.2. COLOCO prp: strategie terapeutyczne w profilaktyce i leczeniu choroby Alzheimera.....	23
4.3. Inne mechanizmy działania COLOCO prp: wpływ na poziom BDNF	25
5. Terapie łączone w chorobie Alzheimera.....	29
5.1. preparaty z siary + memantyna.....	29
5.2. preparaty siary + inhibitory cholinesteraz	30
6. Istotne różnice w aktywności immunologicznej różnych preparatów z siar	31
7. Badania własne: aktywność kliniczna kolostryliny /COLOCO prp.....	34
8. Preparat COLOCO prp : potencjał kliniczny	35
9. Piśmiennictwo.....	37

Wykaz stosowanych skrótów:

AchE (ang. acetylcholinesterase) – acetylocholinoesteraza

ADDL (ang. amyloid-beta derived diffusible ligands) - rozpuszczalne ligandy beta amyloidu

APC (ang. antygen presenting cells) - komórki prezentujące antygen

APOE (ang. apolipoprotein E) - apolipoproteina E

BBB (ang. blood-brain barrier) - bariera naczyniowo-mózgowa

BDNF (ang. brain-derived neurotrophic factor) - neurotropowy czynnik pochodzenia mózgowego

chA - choroba Alzheimera

CMV (ang. Cytomegalovirus) - cytomegalowirus

DAMPs (ang. damage associated molecular pattern molecules) – cząsteczki uwalniane z uszkodzonych komórek

EBV (ang. Epstein-Barr Virus) - wirus Epsteina Barra

FAD (ang. familiar Alzheimer's disease) - rodzinna postać choroby Alzheimera

FGF (ang. fibroblast growth factor) - czynnik wzrostu fibroblastów

GFAP (ang. Glial fibrillary acidic protein) - kwaśne białko włóknikowe

GWAS (ang. genome - wide associated studies) - badania asocjacyjne całego genomu

HHV-1 (ang. Human herpesviruses) - wirusy opryszczki pospolitej

HIV (ang. human immunodeficiency virus) – wirus HIV

IFN-gamma - Interferon –gamma

MAPKs (ang. mitogen-activated protein kinases) – kinazy aktywowane mitogenami

MCI (ang. mild cognitive impairment) - lekkie zaburzenia funkcji poznawczych

MCP-1 (ang. monocyte chemotactic protein-1)

NF-κB (ang. nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) - czynnik transkrypcyjny kappa, kompleks białkowy

NGF (ang. nerve growth factor) - czynnik wzrostu nerwów

NMDA (ang. N-Methyl-D-aspartic acid) - kwas N-metylo-D-asparaginowy; receptor glutaminergiczny

OUN - Ośrodkowy Układ Nerwowy

PAMPs (ang. pathogen associated molecular patterns) – wzorce molekularne związane z patogenami

PDGF (ang. platelet-derived growth factor) - płytkopochodny czynnik wzrostu

prp (ang. proline- rich polypeptide) - kompleks peptydów bogatych w prolinę

PRR (ang. pattern recognition receptors) - receptory rozpoznające wzorce na patogenach

ROS (ang. reactive oxygen species) - reaktywne formy tlenu

SM (łac. sclerosis multiplex) – stwardnienie rozsiane

TLRs (ang. Toll like receptors) - receptory Toll-like

TNF- alfa, beta, gamma (ang. tumor necrosis factor) - czynnik martwicy guza

Trk A,B,C (ang. tropomyosin related kinase) - receptory o aktywności kinazy tyrozynowej

VZV (ang. Varicella zoster virus) - wirus ospy wietrznej - półpaśca

WPROWADZENIE:

W celu przeprowadzenia szczegółowej charakterystyki porównawczej preparatów otrzymanych z siary krowiej i owczej, wykazujących istotną aktywność w zakresie układu immunologicznego należy przedstawić w szerokim kontekście wpływ stanu zaburzeń odpornościowych w otepieniach, ze szczególnym uwzględnieniem choroby Alzheimerera.

1. Patogeneza choroby Alzheimerera

Klasyczna postać choroby Alzheimerera (chA) opisywana jest jako schorzenie neurozwyrodnieniowe występujące u osób starszych, charakteryzujące się obecnością zewnątrzkomórkowych depozytów białka amyloidu- β ($A\beta$) oraz wewnątrzkomórkowych splotów neurofibrylarnych zbudowanych z białka tau [1]. Oligomery $A\beta$ mają właściwości silnie neurotoksyczne i prowadzą do śmierci neuronów. Od dawna postuluje się także udział stresu oksydacyjnego oraz procesu zapalnego w mózgu (*neuroinflammation*) w przebiegu chA [2, 3]. Dane eksperymentalne, genetyczne oraz epidemiologiczne bardzo wyraźnie wskazują, iż krytyczną rolę odgrywa aktywacja nieswoistych mechanizmów immunologicznych jako czynnika promującego rozwój choroby. Nie ma wątpliwości, że mechanizm neuroimmunologiczny oraz rozwijające się z wiekiem przewlekłe stany zapalne w organizmie aktywnie uczestniczą w procesach neurozwyrodnieniowych. Zwiększające się ilości depozytów $A\beta$ prowadzą do aktywacji mikrogleju, astrocytów oraz limfocytów, co skutkuje uwalnianiem czynników stanu zapalnego, takich jak: cytokiny, chemokiny, tlenek azotu (NO) oraz reaktywne formy tlenu i azotu (RFT, RFA) [4].

2. Znaczenie neurozapalenia w warunkach fizjologicznych i patologicznych

Aktywacja mikrogleju oraz astrocytów indukuje apoptozę komórek nerwowych oraz uszkodzenia bariery krew–mózg (BBB), która warunkuje integralność i prawidłowe funkcjonowanie OUN [5]. Następnie zmiany te prowadzą do napływu komórek immunologicznych z obwodu oraz ich aktywny udział w lokalnym stanie zapalnym na terenie tkanki nerwowej. Leukocyty uwalniają jeszcze większą ilość czynników zapalnych, głównie cytokin, przez co stan zapalny ulega nasileniu [6, 7]. Zaburzenia funkcjonowania procesów kontrolujących stan zapalny prowadzą do zmian neurodegeneracyjnych, a następnie poważnych zaburzeń w funkcjonowaniu całego organizmu [8, 9, 10].

Stan zapalny (*inflammation*) to część złożonej odpowiedzi biologicznej organizmu na różnego rodzaju uszkodzenia w obrębie komórek i tkanek, spowodowane czynnikami chemicznymi (kwasy, zasady), fizycznymi (promieniowanie jonizujące, pole magnetyczne, fale ultradźwiękowe) lub biologicznymi (wirusy, bakterie, grzyby, egzo- i endotoksyny) [11]. Typ i zakresy reakcji zapalnych zależą od rodzaju i natężenia działania czynnika uszkodzającego. Duże znaczenie ma także oporność tkankowa i narządowa organizmu. Siła działania czynnika drażniącego oraz czas jego oddziaływania na tkankę decydują o odczynie ostrym lub przewlekłym. Reakcja zapalna może mieć działanie korzystne w postaci ostrej, ale umiarkowanej i przemijającej odpowiedzi immunologicznej na uszkodzenia tkanek lub inwazję patogenów. Odpowiedź ta jest zjawiskiem prawidłowym, ułatwiającym również procesy przebudowy i regeneracji tkanek. Ponadto umiarkowany odczyn zapalny prowadzi do zahamowania krwawienia będącego wynikiem urazu oraz usuwania produktów martwiczych, egzotoksyn i endotoksyn wraz z wysiękiem.

Odpowiedź zapalna przebiega wieloetapowo. Pojawiają się reakcje dotyczące mobilności komórek, odpowiedź typu humoralnego, czyli aktywacja kolejnych mediatorów zapalnych występujących lokalnie oraz w płynach ustrojowych, a także

odpowiedź typu hemostatycznego. Prawidłowa postać odczynu zapalnego działa samoograniczająco i charakteryzuje się przewagą procesów przywracających homeostazę nad procesami destrukcyjnymi [12]. Jednak właściwe funkcjonowanie reakcji zapalnych w odpowiedzi na zakażenie czy uraz może osłabiać się z wiekiem, a przy określonych predyspozycjach genetycznych wykazywać nieprawidłowości już we wczesnej młodości [57,58]. Przykładem mogą być również niedawne badania GWAS, pozwalające na identyfikację nowych genów (m.in complement receptor 1, clusterin, CD33, EPH receptor A1, czy myocyte enhancer factor 2C), które są związane z procesami immuno-zapalnymi, dotyczącymi kaskady amyloidowej [58]. W roku 2016 przeprowadzono badania w Honolulu nad polimorfizmem genu APOE, białka odgrywającego ważną rolę w metabolizmie cholesterolu, które zdają się sugerować, że nosiciele wariantu genu APOE-e4, mogą być nie tylko bardziej narażeni na zachorowanie w przyszłości na chA, ale wykazują już nawet we wczesnym dzieciństwie zmiany konformacyjne białka A β w OUN, będące wynikiem zmienionych oddziaływań genetyczno-immunologicznych [59]:

Jeśli działanie czynnika stymulującego stan zapalny jest trwałe, a mechanizmy rozwoju prawidłowego stanu zapalnego ulegają rozregulowaniu, organizm przechodzi ze stanu ostrego w stan przewlekły, co jest oznaką, iż ciągle odbiera sygnał o zagrożeniu zdrowia. Wytrąca to w efekcie z równowagi działanie systemu immunologicznego, przez co markery stanu zapalnego utrzymują się stale i zwykle na niskim poziomie. Przewlekły stan zapalny prowadzi sukcesywnie do degeneracji tkanek, co jest przyczyną rozwoju chorób autoimmunologicznych, chorób układu krążenia (m.in. miażdżyca tętnic), zapalenia stawów, nowotworów oraz chorób układu nerwowego, takich jak chA [13].

Starzenie się jest procesem niezwykle złożonym, zależnym od wielu czynników środowiskowych, oraz genetycznych i epigenetycznych zdarzeń zachodzących w różnych typach komórek i tkanek przez całe życie. Chroniczny stan zapalny określany w literaturze naukowej jako „Inflammaging” jest także dominującą

cechą starzenia się organizmu oraz większości, jeśli nie wszystkich, chorób związanych z wiekiem [14]. Wiele badań epidemiologicznych potwierdza, że inflammaging stanowi czynnik wysokiego ryzyka zapadalności na różne choroby, w tym chA, a także śmierci u osób starszych. Inflammaging, objawiający się podwyższonym poziomem markerów stanu zapalnego, takich jak białko C-reaktywne czy interleukina 6 (IL-6), związany jest z wieloma zmianami pojawiającymi się z wiekiem w organizmie, jak np. zmiany w składzie ciała, produkcji i wykorzystaniu energii, homeostazie metabolicznej oraz w związku ze starzeniem się układu odpornościowego i nerwowego. Przyczyn przewlekłego stanu zapalnego może być kilka i nie wykluczają się one wzajemnie. Po pierwsze, źródłem mogą być pozostałości po uszkodzonych komórkach, które w miarę starzenia się organizmu mają tendencję do kumulowania się, ponieważ powstaje ich coraz więcej, a procesy ich usuwania nie są już wystarczająco sprawne. W następstwie tego procesu aktywowane zostają mechanizmy nieswoistej odpowiedzi immunologicznej. Po drugie, stymulatorami przewlekłego stanu zapalnego mogą być starzejące się komórki oraz produkowane przez nie różne czynniki zapalne. Proces starzenia się komórek jest odpowiedzią na czynniki stresowe, które uszkadzają strukturę i zaburzają funkcje komórek. Starzejące się komórki gromadzą się w różnych tkankach, gdzie przyczyniają się do rozwoju wielu zmian patologicznych. Głównym miejscem kumulacji jest tkanka tłuszczowa trzewna, która stanowi także źródło cytokin prozapalnych, takich jak IL-6 oraz TNF- α . Ponadto, nadmiar tkanki tłuszczowej trzewnej, zmiany w jej rozmieszczeniu oraz składzie i funkcjonowaniu lipidów, mają swoje kliniczne konsekwencje w postaci rozwoju zespołu metabolicznego, na który składają się rozwój insulinooporności i upośledzonej tolerancji glukozy, prowadzące do cukrzycy typu 2, dyslipidemia, podwyższone ciśnienie tętnicze oraz aktywacja procesów prozakrzepowych i prozapalnych, które prowadzą do miażdżycy, a w konsekwencji także do rozwoju stanów zapalnych [15]. Trzecim czynnikiem wpływającym na inflammaging jest nadaktywność układu krzepnięcia rozwijająca się z wiekiem i zwiększająca ryzyko zakrzepicy u osób

starszych. Kolejną przyczyną rozwijania się przewlekłego stanu zapalnego w organizmie może być proces starzenia się układu immunologicznego. Obniżenie się wraz z wiekiem stopnia odporności swoistej oraz nadaktywność wrodzonych mechanizmów obronnych mogą wynikać z ekspozycji na różne patogeny oraz antygeny w ciągu całego życia, zmian wewnątrzkomórkowych w komórkach immunologicznych, jak i predyspozycji genetycznych. Chroniczne infekcje, takie jak CMV, HIV czy wirusem EBV również przyczyniają się do związanego z wiekiem osłabienia działania układu odpornościowego [14].

Termin „stan neurozapalny” (*neuroinflammation*) stosowany jest w celu opisanie reakcji zapalnej na terenie OUN w miejscu doznaniu urazu, gdzie występuje gromadzenie się komórek glejowych. W procesie tym czynny udział biorą komórkowe i molekularne składniki układu odpornościowego, takie jak: cytokiny, układ dopełniacza i receptory PRR, które mogą prowadzić do aktywacji komórek glejowych, czyli mikrogleju i astrocytów [16, 17]. Odporność nieswoista jest pierwszą linią obrony organizmu, uruchamianą w wyniku doznania urazu lub infekcji. Na drodze aktywacji PRR, białek układu dopełniacza oraz działania cytokin i chemokin inicjowana jest odpowiedź zapalna (stan neurozapalny) oraz regulatorowa, w celu przeciwdziałania wszelkim zaburzeniom homeostazy komórek. Ostra odpowiedź zapalna na terenie OUN wywołana jest natychmiastową i wczesną aktywacją komórek glejowych w odpowiedzi na szkodliwe czynniki w celu regeneracji zniszczonego obszaru mózgu. Jednak w przypadku stałego, przewlekłego działania takich czynników, ostry stan zapalny w mózgu przechodzi w postać chroniczną. Pociąga to za sobą kaskadę zmian, takich jak: degeneracja neuronów, sprzężenia zwrotne między komórkami mikrogleju oraz neuronami, co skutkuje rozwojem chorób neurodegeneracyjnych. Stan neurozapalny może być zatem korzystny lub szkodliwy w zależności od czasu jego trwania. Sytuacja pogarsza się także wraz z wiekiem. Podwyższony poziom czynników stanu zapalnego, takich jak: IL-1, IL-6 czy TNF- α , jest jednym z markerów procesu starzenia się człowieka. Jest to związane z upośledzonymi mechanizmami usuwania RFT oraz niwelowania

skutków ich działania. Reaktywne formy tlenu z jednej strony odpowiadają za powstawanie stresu oksydacyjnego, z drugiej natomiast aktywują czynnik NFκB, który odpowiada za inicjowanie stanu zapalnego. Oczywiście jest zatem, iż chroniczny stan zapalny, w tym neurozapalny, będzie występował bardzo często u osób cierpiących na choroby związane z wiekiem, takie jak chA [17].

2.1. Udział mikrogleju w odpowiedzi immunologicznej i zapalnej

Komórki mikrogleju wywodzą się z linii monocytarnej szpikowych komórek macierzystych (*stem cells*), które po przejściu do układu nerwowego ulegają odpowiednim przekształceniom [46]. Komórki te są bardzo powszechne w mózgu, siatkówce oka, w rdzeniu kręgowym oraz nerwie wzrokowym, jednak rezydują one głównie na terenie hipokampu oraz istoty szarej, gdzie stanowią od 5 do 20% całkowitej populacji komórek glijowych OUN. Komórki mikrogleju warunkują prawidłowe funkcjonowanie neuronów, z którymi są silnie związane. Uwalniają czynniki wzrostu ważne dla prawidłowego rozwoju OUN, uczestniczą także w dojrzewaniu i regeneracji neuronów oraz plastyczności neuronalnej. W formie spoczynkowej, komórki mikrogleju uczestniczą w procesach neurogenezy, remielinizacji włókien nerwowych oraz neuroprotekcji, odgrywają także ważną rolę w utrzymaniu homeostazy OUN. Mikroglej jest bardzo reaktywny, wszelkie zmiany na terenie OUN prowadzą do jego natychmiastowej aktywacji, proliferacji oraz zmian morfologicznych komórek [17].

Mikroglej pełni funkcję pierwszej linii obrony, uczestnicząc w odpowiedzi immunologicznej m.in. przeciw patogenom, które przeniknęły do OUN, doprowadzając do jego uszkodzenia. Komórki mikrogleju posiadają zdolności fagocytarne, uwalniają czynniki cytotoksyczne oraz mogą działać jako komórki prezentujące antygen (APC). Stąd, są one uznawane za reprezentantów układu immunologicznego na terenie OUN. Na powierzchni komórek mikrogleju może występować wiele receptorów, w tym: PRR, receptory dla składników komplementu, receptory chemokin i cytokin oraz receptory dla wielu neuroprzekazników [19].

Aktywowane komórki mikrogleju wytwarzają cytokiny pro- i antyzapalne, takie jak: TNF- α , IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, IL-18, IFN- α , IFN- γ , TGF- β , M-CSF, GM-CSF, chemokiny (IL-8, Gro α , IP-10, MIP-1 α , MIP-1 β), czynniki wzrostu takie jak: FGF, PDGF, BDNF, NGF, RFT oraz składniki układu dopełniacza.

Aktywacja komórek mikrogleju jest procesem złożonym i może przebiegać na dwa różne sposoby, prowadząc do powstania fenotypu klasycznego (M1) lub fenotypu alternatywnego (M2) [20].

Fenotyp klasyczny (M1) powstaje na drodze prozapalnej aktywacji mikrogleju i związany jest przede wszystkim ze zwiększonym uwalnianiem cytokin prozapalnych (IFN- γ , IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-18, IL-12), NO, RFT, RFA, chemokin oraz utratą zdolności fagocytarnych. Substancje prozapalne wydzielane w bardzo dużych ilościach mogą następnie bezpośrednio uszkadzać neurony. Cytokiny wytwarzane przez mikroglej pobudzają kolejne komórki mikrogleju oraz astrocyty na zasadzie sprzężenia zwrotnego do wydzielania większej ilości cytokin, działających neurotoksycznie. Ponadto, czynniki zapalne uwalniane przez mikroglej pod wpływem A β mogą również nasilać produkcję samego A β .

Zaburzenia w komunikacji międzykomórkowej prowadzą do neurodegeneracji, będącej podstawą chorób takich jak: choroba Alzheimera, choroba Parkinsona, stwardnienie rozsiane, płasawica Huntingtona oraz otępienie związane z infekcją wirusem HIV-1. Liczne badania potwierdzają, że prozapalny fenotyp mikrogleju przyczynia się do zmniejszenia liczby neuronów, destabilizuje połączenia synaptyczne i upośledza proces neurogenezy [21]. Jak wykazały eksperymenty naukowe, hamowanie aktywacji mikrogleju skutkuje tłumieniem neurotoksycznych zdarzeń i zwiększa przeżycie neuronów.

Komórki mikrogleju pobudzane na drodze alternatywnej (M2) charakteryzują się zwiększonym uwalnianiem cytokin antyzapalnych, takich jak: IL-4, IL-10, IL-13, TGF- β , IGF, NGF, BDNF oraz zwiększonymi zdolnościami do fagocytozy. Komórki te nie wytwarzają jednak NO. Zwiększone właściwości fagocytarne mikrogleju

pozwalają na efektywne usuwanie złogów A β , co wskazuje także na neuroprotekcyjne działanie mikrogleju [16, 22]. „Pozytywne” działanie mikrogleju odgrywa bardzo istotną rolę w utrzymaniu homeostazy OUN. W proces ten zaangażowane są glikoproteina CD200, obecna między innymi na powierzchni neuronów, oraz jej receptor CD200R występujący na powierzchni komórek mikrogleju. Stała interakcja między tymi białkami warunkuje utrzymanie wysokiego progu pobudliwości komórek mikrogleju, co pozwala na kontrolę odpowiedzi zapalnej w OUN. W przypadku alternatywnej aktywacji mikrogleju, pod wpływem działania IL-4 zwiększa się ekspresja CD200R. Wykazano także, iż wraz z wiekiem zmniejsza się ekspresja CD200 na powierzchni neuronów, co powoduje wzrost aktywności prozapalnej mikrogleju, czyli zmianę fenotypu M2 na M1. Zauważono to w mózгах osób w podeszłym wieku oraz u pacjentów z chA [20]. W mózгах osób z chA, poza klasycznie aktywowanym mikroglejem w warunkach stanu zapalnego, występuje także jego forma alternatywna, przeciwzapalna, oraz hybrydy obu tych fenotypów. Obecnie postulowana jest hipoteza głosząca, że jedną z przyczyn rozwoju chorób neurodegeneracyjnych mogą być zaburzenia w regulacji wzajemnych przemian komórek mikrogleju. W wyniku tego stosunek fenotypu przeciwzapalnego do prozapalnego jest nieprawidłowy, a wiadomo, iż właśnie komórki o fenotypie prozapalnym stanowią w OUN największe źródło tlenku azotu, reaktywnych form tlenu i azotu oraz cytokin prozapalnych, które uszkadzają sąsiadujące neurony [22]. Planowanie nowych terapii w leczeniu choroby Alzheimera powinno uwzględniać także możliwość modulacji funkcji mikrogleju poprzez konwersję komórek z formy zapalnej na antyzapalną.

2.2. Znaczenie fagocytozy w biologicznej funkcji mikrogleju

Jedną z najważniejszych funkcji mikrogleju jest fagocytoza, będąca podstawową i skuteczną bronią w walce z patogenami, które pokonały barierę krew–mózg. W odpowiedzi na patogen, pobudzony mikroglej usuwa z mózgu nie tylko chorobotwórcze mikroorganizmy, ale także pozostałości po obumarłych komórkach z

otaczających tkanek. Fagocytoza zachodzi dzięki różnorodnym receptorom obecnym na powierzchni komórek mikrogleju. Wśród nich wyróżnić można: TLRs należące do receptorów PRR, PAMPs oraz cząsteczki uwalniane z uszkodzonych komórek (DAMPs), receptory dla mannozy MRC1 oraz receptory typu scavenger.

W przebiegu chA mikroglej może wiązać oraz usuwać złoże włóknikowego A β oraz oligomery A β przez receptory TLR, SCARA1, CD36, CD14, $\alpha\beta$ 1integryny oraz CD47. Następuje wówczas aktywacja komórek oraz uwalnianie cytokin prozapalnych i chemokin [16]. Badania ostatnich lat skupiają się także na białku beklina 1, które reguluje procesy takie jak autofagia i fagocytoza oraz przemiany receptorów biorących udział w tym procesie zarówno w warunkach fizjologicznych jak i patologicznych. Beklina 1 aktywnie uczestniczy w procesie degradacji białek i obronie immunologicznej. W mysich modelach choroby Alzheimerera i choroby Parkinsona wykazano, że beklina 1 odgrywa kluczową rolę w zapobieganiu procesom amyloidozy i neurodegeneracji. Niedobór bekliny 1 skutkuje redukcją ekspresji receptorów CD36 oraz Trem2, które warunkują prawidłowy przebieg fagocytozy. W mózgach osób z chA odnotowuje się zmniejszoną ekspresję bekliny 1 i związanej z tym nieefektywnej fagocytozy oraz autofagii. Złoże A β nie są usuwane, podobnie białko tau, co jak wiadomo jest kluczową kwestią w patogenezie choroby [23, 24]. Receptor Trem2 oraz białko DAP-12 tworzą kompleks sygnalizacyjny na powierzchni mikrogleju, który również związany jest z właściwościami fagocytarnymi komórek. Badania z wykorzystaniem mysiego modelu wykazały, że utrata funkcjonalności tego kompleksu wiąże się z rozwojem otępienia oraz demielinizacji włókien nerwowych, co w rezultacie prowadzi do rozwoju chorób neurodegeneracyjnych. Mutacje w genie Trem2 odpowiadają między innymi za kilkukrotny wzrost ryzyka wystąpienia chA [25].

2.3. Udział astrogleju w odpowiedzi zapalnej w OUN

Astrocyty są najliczniejszymi komórkami glejowymi w układzie nerwowym i stanowią około 25% objętości mózgu. Pełnią różnorodne funkcje, w tym uczestniczą w procesie synaptogenezy, w powstawaniu i funkcjonowaniu BBB, regulują przewodnictwo nerwowe, procesy metaboliczne, a także utrzymują równowagę jonową organizmu. Astrocyty są silnie związane z neuronami i odpowiadają za ich prawidłowe funkcjonowanie. Liczne badania wskazują na fakt, iż patologiczne modyfikacje astrocytów związane są z występowaniem chorób neurodegeneracyjnych. Bardzo duże ilości tych komórek glejowych znaleziono na terenie blaszek starczych w mózgach pacjentów z chA oraz w modelach mysich, co jest bardzo charakterystyczne w przebiegu choroby i opisywane jako reaktywna astroglia [17]. Badania naukowe dotyczące astrogliazy prowadzone na mózgach otrzymanych od osób starszych bez chA oraz z potwierdzoną chA wykazały korelację między astrogliazą a utratą funkcji poznawczych. Reaktywne astrocyty wykazują także zwiększoną ekspresję kwaśnego białka włóknikowego GFAP [16].

Astrocyty mogą ulegać aktywacji pod wpływem różnych stresorów, w tym A β oraz cytokin prozapalnych takich jak IL-1 β oraz TNF- α . Aktywacja i odpowiedź zapalna astrocytów związana jest z ekspresją wielu receptorów dla czynników prozapalnych, między innymi dla cytokin IL-1 β czy TNF- α oraz dla chemokin. Astrocyty wytwarzają także ligandy dla TLR. Ponadto, astrocyty mogą być aktywowane przez inne komórki mózgowe, głównie przez mikroglej. Podobnie jak komórki mikrogleju, aktywowane astrocyty uwalniają cytokiny prozapalne, NO oraz inne czynniki stanu zapalnego, przyczyniając się w ten sposób do zwiększenia stanu neurozapalnego w mózgu i śmierci neuronów [9, 16].

2.4 Markery stanu zapalnego w chorobie Alzheimera

Głównym źródłem cytokin w przebiegu chA są astrocyty oraz mikroglej. Cytokiny uczestniczą niemal w każdym etapie rozwoju stanu zapalnego w mózgu, tak w procesach pro- jak i antyzapalnych, między innymi poprzez modulowanie

procesu aktywacji mikrogleju. Doniesienia naukowe potwierdzają, że poziom cytokin prozapalnych, takich jak: IL-1, IL-6, INF- γ oraz TNF- α , jest podwyższony u osób z chA, co znacząco przyczynia się do postępu choroby [26, 27]. Uznaje się je zatem za główne markery choroby. Wykazano także korelację między występowaniem chA a polimorfizmem w genach kodujących IL-1, IL-6, TNF- α oraz MIP- α [28]. Poziom cytokin antyzapalnych takich jak IL-4, IL-10, IL-13, w przebiegu chA jest zwykle obniżony. Środowisko prozapalne występujące w mózgu osób dotkniętych chA oraz myszy transgenicznych z mózgową amyloidozą osiąga destrukcyjne rozmiary, co w rezultacie zwiększa ryzyko przejścia z łagodnej postaci chA do postaci demencji [16].

W warunkach patologicznych, aktywowane komórki mikrogleju w pierwszej kolejności uwalniają w mózgu IL-1, będącą ważnym regulatorem kaskady stanu zapalnego. W przebiegu chA zaobserwowano, iż IL-1 jest najważniejszą cytokiną w początkowej fazie choroby, a jej poziom jest podwyższony w płynie mózgowo-rdzeniowym oraz surowicy pacjentów z chA. W badaniach *in vitro* wykazano, że IL-1 podnosi poziom białka prekursorowego amyloidu β (APP) oraz samego A β , co prowadzi do uszkodzania i śmierci komórek nerwowych [29]. Ponadto, aktywuje ona astrocyty do zwiększenia wytwarzania NO, co w konsekwencji prowadzi do śmierci neuronów. IL-6, podobnie jak IL-1, uwalniana jest przez aktywowane komórki mikrogleju oraz astrocyty, jednak wykazuje podwójne działanie w rozwoju stanu zapalnego. Z jednej strony blokuje odpowiedź zapalną przez hamowanie działania TNF- α oraz receptora IL-1R. Z drugiej strony promuje odpowiedź zapalną przez wpływ na proces chemotaksji. W surowicach pacjentów z chA poziom IL-6 jest podniesiony, co wskazuje na nadmierną odporność komórkową. Wysoki poziom IL-6 we krwi obwodowej może być odpowiedzialny za obecność białek ostrej fazy w surowicy pacjentów z chA [30]. W hodowli neuronów oraz komórek endotelialnych mózgu białka prozapalne, lipopolisacharyd (LPS), IL-1 β , IL-6, IFN- γ oraz TNF- α powodują wzrost wytwarzania RFT. Badania te potwierdzają hipotezę, iż procesy zapalne oraz stres oksydacyjny przyczyniają się do śmierci neuronów [31]. Rola

TNF- α w rozwoju chA nie jest jednoznaczna. Wykazuje on właściwości zarówno neuroprotekcyjne, jak i neurodegeneracyjne w zależności od stężenia. Doświadczenia z wykorzystaniem pierwotnych hodowli astrocytów dowodzą, iż kombinacja cytokin pozapalnych, takich jak TNF- α oraz IFN- γ , podnosi poziom oligomerów A β 42, APP oraz β -sekretazy. W konsekwencji prowadzi to do nasilenia produkcji toksycznej formy A β . Wyniki te świadczą o tym, że aktywowane astrocyty mają istotny wpływ na całkowitą pulę A β w przebiegu chA w warunkach stanu zapalnego [32]. IFN- γ , podobnie jak TNF- α , może wykazywać działanie neuroprotekcyjne lub neurodegeneracyjne. Jest to czynnik bardzo ważny w rozwoju wrodzonej odporności. Poprzez zdolność do aktywacji mikrogleju oraz astrocytów, uczestniczy w akumulacji A β w mózgu. Cytokiny prozapalne mogą indukować procesy neurodegeneracyjne, stymulując astrocyty w kierunku produkcji NO oraz jego pochodnej ONOO \cdot , uszkadzających strukturę i zaburzających funkcję komórek nerwowych. Zastosowanie koktajlu cytokin IL-1 β + IFN- γ + TNF- α powoduje wytwarzanie przez normalne ludzkie astrocyty syntazy tlenku azotu (NOS-2) oraz niebezpiecznie dużych ilości NO na drodze aktywacji kinaz MAPKs [33].

Najnowsze badania wskazują także na ważną rolę kilku innych cytokin, takich jak: IL-3, IL-10, IL-12, IL-15, IL-18 oraz IL-34 w rozwoju chA. Znaczenie wybranych cytokin przedstawione jest w tabeli 1 [wg 34, 35, 36, 37, 38, 39].

Tabela 1. Znaczenie wybranych cytokin w rozwoju choroby Alzheimera

Cytokina	Aktywność immunologiczna
IL-3	<p>Jej poziom jest niski u pacjentów z łagodną postacią chA</p> <ul style="list-style-type: none"> • protekcyjne-właściwości IL-3 chronią neurony przed toksycznym działaniem β-amyloidu, • wytwarzana przez leukocyty krwi oraz mikroglej, • antyapoptotyczne właściwości IL-3 chronią neurony przed śmiercią przez aktywację białka Bcl-2

IL-10	<p>Posiada właściwości antyzapalne, jej poziom jest obniżony u pacjentów z chA</p> <ul style="list-style-type: none">• chroni przed nadmierną aktywacją i niedoborami układu odpornościowego,• redukuje efekty działania cytokin pozapalnych,• kontroluje powstawanie reaktywnych form tlenu i azotu (RFT/RFA)
IL-12	<p>Jej poziom jest podwyższony w surowicy pacjentów na wczesnym etapie chA</p> <ul style="list-style-type: none">• wytwarzana przez komórki glejowe,• redukuje stan zapalny, ale jednocześnie może stymulować niektóre patologiczne zmiany na terenie tkanki nerwowej
IL-15	<p>Marker stanu zapalnego w mózgu</p> <ul style="list-style-type: none">• aktywator komórek mikrogleju,• nie do końca wyjaśniona rola w patogenezie chA
IL-18	<p>Leukocyty pacjentów z chA wytwarzają duże ilości IL-18</p> <ul style="list-style-type: none">• zwiększa wytwarzanie mediatorów stanu zapalnego,• zwiększa fosforylację białka tau oraz powstawanie splotów neurofibrylarnych,• uczestniczy w procesie starzenia i pogarszania się z wiekiem funkcji poznawczych mózgu
IL-34	<p>Oddziałuje na komórki mikrogleju</p> <ul style="list-style-type: none">• wykazuje działanie neuroprotekcyjne w pierwotnych hodowlach mikrogleju i neuronów, traktowanych IL-34, co skutkuje obniżeniem toksyczności oligomerów Aβ

Chemokiny regulują proces migracji komórek mikrogleju do miejsca, gdzie rozwija się stan neurozapalny, przez co przyczyniają się do zwiększenia lokalnego

stanu zapalnego. Dotychczas wykazano, że w przebiegu chA występuje zwiększona ekspresja chemokin CCL2, CCR3 oraz CCR5 przez aktywowane komórki mikrogleju. CCL4 natomiast wytwarzana jest przez reaktywne astrocyty rezydujące w okolicy blaszek A β . W badaniach *in vitro* wykazano, że obecność A β prowadzi do wytwarzania CXCL8 (IL-8), CCL2, CCL3 oraz CCL4 przez ludzkie makrofagi oraz astrocyty. Komórki mikrogleju pobrane od pacjentów z chA po autopsji wykazywały zwiększoną ekspresję CXCL8, CCL2 oraz CCL3 w warunkach hodowli komórek w obecności A β [16].

3. Wpływ czynników zakaźnych na indukcje procesów zapalnych

Przedstawione powyżej znaczenie procesów zapalnych w patogenezie chA zapoczątkowało także badania dotyczące wpływu czynników zakaźnych na rozwój procesów zapalnych w OUN. Najnowsze koncepcje dotyczące ryzyka chA wskazują, że infekcje różnymi patogenami mogą inicjować procesy neurodegeneracyjne w mózgu. OUN jest chroniony dzięki obecności BBB, jednak szerokie spektrum mikroorganizmów (wirusy, bakterie, grzyby) może pokonywać te struktury i powodować poważne schorzenia. Namnażanie się patogenów w komórkach nerwowych powoduje uwalnianie charakterystycznych cząsteczek molekularnych PAMPs, które mogą być rozpoznawane przez komórki nieswoistego systemu odpornościowego za pośrednictwem odpowiednich receptorów rozpoznających te wzorce (PRR) [40]. Czynniki zakaźne mogą następnie stymulować aktywację komórek mikrogleju, co skutkuje uwalnianiem cząsteczek prozapalnych i rozwojem stanu zapalnego w mózgu. Komórki mikrogleju wytwarzają chemokiny oraz cytokiny prozapalne między innymi w odpowiedzi na infekcje wirusowe, szczególnie HHV-1 [41], oraz innymi patogenami. Procesy te są korzystne, jeśli mają na celu zabezpieczenie mózgu przed infekcją, jednak mogą także prowadzić do uszkodzenia neuronów i przyspieszenia rozwoju chA. Stres oksydacyjny oraz infekcje wirusowe pośredniczą w wielu drugorzędowych mechanizmach uszkodzenia komórek. W

rezultacie prowadzi to do uszkodzenia BBB, zaburzeń funkcji neuronów i stopniowej utraty zdolności poznawczych obserwowanych w chA. Co więcej, wraz ze starzeniem się organizmu przewlekłe infekcje jeszcze bardziej osłabiają działanie układu immunologicznego oraz obwodową odpowiedź immunologiczną [42].

Liczne badania nad patogenezą chA wskazują, że reaktywacje infekcji wirusowych w mózgu mogą mieć wpływ na rozwój tej choroby [43, 44]. Jedną z hipotez rozwoju chA wskazuje na reaktywację latentnej infekcji wirusem opryszczki pospolitej (HHV-1). Zauważono bowiem, iż uszkodzenia tkanki mózgowej na wczesnym etapie chA dotyczą tych samych rejonów mózgu, które objęte są stanem zapalnym wywołanym przez reaktywację HHV-1 [42]. Zmiany histopatologiczne obserwowane w przebiegu infekcji HHV-1 dotyczą głównie demielinizacji włókien nerwowych. Na podstawie poziomu przeciwciał obecnych w krwi szacuje się, iż około 80% populacji jest zakażona HHV-1. Po infekcji pierwotnej, która obejmuje nabłonek jamy ustnej, wirus przechodzi w stan infekcji latentnej i bytuje w zwojach nerwu trójdzielnego. Sporadyczne reaktywacje HHV-1 wywołane czynnikami zewnętrznymi (stres, choroba, UV) mogą być bezobjawowe chyba, że układ immunologiczny jest osłabiony (starzenie się, towarzyszące choroby przewlekłe). W takiej sytuacji wirus namnaża się swobodnie wykorzystując kolejne komórki nerwowe, co indukuje kaskadę wewnątrzkomórkowych zmian prowadzących do neurodegeneracji dalszych części mózgu [45]. Khetsuriani i wsp. [46] wykazali, iż infekcja HHV-1 w mózgu jest przyczyną sporadycznego zapalenia mózgu o nieznannej etiologii. Ponadto badania naukowe z wykorzystaniem komórek nerwowych zakażonych wirusem HHV-1 pokazały, iż reaktywacja infekcji tego wirusa może sprzyjać odkładaniu się A β w postaci blaszek amyloidowych oraz wywoływać fosforylację białka tau, charakterystyczne dla przebiegu chA [47]. Długoterminowe badania w populacji osób starszych wykazały, że ryzyko wystąpienia chA jest związane z poziomem przeciwciał anti-HHV-1 w surowicy, a podatność na zakażenie HHV-1 zwiększa się wraz z wiekiem [43, 44]. Warto także zauważyć, iż pozostałe wirusy z rodziny Herpesviridae, takie jak herpes typu 2

(*human herpesvirus 2* – HHV-2), wirus cytomegalii (*human herpesvirus 5* – HHV-5, *cytomegalovirus* – CMV) oraz wirus ospy i półpaśca (*human herpesvirus 3* – HHV-3, *varicella-zoster* – VZV) również mają zdolność namnażania się w komórkach nerwowych i przechodzić w infekcję latentną. Badania poświęcone ocenie związku tej rodziny wirusów z rozwojem chorób wieku podeszłego, są wciąż bardzo ograniczone.

Najnowsze publikacje sugerują związek między zakażeniem CMV a ryzykiem wystąpienia chA [48]. W badaniach długoterminowych odnotowano zwiększony poziom przeciwciał anty-CMV u osób starszych z objawami klinicznymi chA [42]. Wykazano także związek między infekcją VZV a rozwojem stwardnienia rozsianego (SM) [49].

Półpasiec jest chorobą wywołaną przez reaktywację latentnej infekcji VZV oraz rozwój stanu zapalnego w zwojach międzykręgowych i zwojach nerwów czaszkowych. Pierwotna infekcja wirusem, zwykle w młodym wieku, powoduje ospę wietrzną. W starszym wieku, ze względu na słabą kondycję układu immunologicznego oraz towarzyszące inne przewlekłe schorzenia (cukrzyca, nowotwory, terapia immunosupresyjna), reaktywacje VZV są relatywnie częste i objawiają się w postaci półpaśca [50]. Dane Centrum Kontroli Chorób w Atlancie (CDC) wskazują, że w USA jedna na trzy osoby powyżej 60. roku życia cierpi z powodu półpaśca. Świadczy to o rosnącym problemie zdrowotnym, szczególnie ze względu na silne dolegliwości bólowe w przebiegu choroby. Z tego powodu półpasiec jest niezwykle dokuczliwą chorobą także u pacjentów z chA. Obecnie problem ten dotyczy chorych na całym świecie.

Pomimo, iż klasyczne leki przeciwwirusowe hamują wywołane infekcją wirusową patologiczne zmiany u chorych na chA to ich efektywność względem poszczególnych wirusów jest ograniczona. Dodatkowo, skutki uboczne często ograniczają stosowanie tych leków, zwłaszcza u osób starszych.

Nie ulega zatem wątpliwości, że stres oksydacyjny oraz stan zapalny odgrywają istotną rolę w rozwoju procesów neurodegeneracyjnych. Działania terapeutyczne, skupiające się na regulacji obu tych mechanizmów, mogą być bardzo korzystne w leczeniu choroby Alzheimera. Pomimo iż wykazano, że stan zapalny jest obecny w mózgach osób dotkniętych chA, to wciąż trudno określić, czy przyczynia się on do aberracji strukturalnych i uszkodzenia mózgu czy też białka charakterystyczne dla chA mogą aktywować wtórną odpowiedź immunologiczną.

Wyniki badań potwierdziły jednak, że zmiany strukturalne w mózgu bez reaktywności immunologicznej nie powodują chA. Natomiast aktywność immunologiczna może powodować chA nawet przy braku aberracji strukturalnych w mózgu [32].

W przebiegu chorób neurodegeneracyjnych stan zapalny zmienia się dynamicznie w czasie. Chroniczny stan zapalny oraz zaburzone nieswoiste reakcje immunologiczne są bardzo często wspólnym mianownikiem wielu chorób związanych z wiekiem, w tym choroby Alzheimera.

Immunomodulacja procesów zapalnych mająca na celu zapobieganie lub przerwanie błędnego koła między uszkodzeniem neuronów a deregulacją procesów immunologicznych może być ważnym celem terapeutycznym.

Gdy reakcja zapalna jest korzystna, ale niewystarczająca, celem terapeutycznym może być stymulowanie dobrze kontrolowanych procesów odpornościowych. Gdy odpowiedź zapalna działa destrukcyjnie, celem wydaje się być zahamowanie zapalenia, poprzez zmniejszenie aktywności układu odpornościowego.

4. Perspektywy terapii immunokorekcyjnej

Przedstawiony powyżej przegląd aktualnych badań jednoznacznie wskazuje, że system odpornościowy odgrywa dominującą rolę w progresji chorób neurozwyrodnieniowych, szczególnie choroby Alzheimera, niezależnie od jej pierwotnych przyczyn. Uzasadnia to poszukiwania terapii immunokorekcyjnej, jako ważnego elementu postępowania w tej chorobie. Możliwie wczesne oszacowanie indywidualnych manifestacji zaburzeń immunologicznych jest istotne dla terapii, bowiem efekty immunoterapii, szczególnie we wczesnym okresie rozwoju choroby są bardzo zachęcające, a odpowiedź na terapię immunomodulacyjną w wielu przypadkach uzależniona jest od deficytu immunologicznego.

W ostatnich latach rozpoczęto testowanie nowych strategii leczenia choroby Alzheimera przy użyciu naturalnych lub syntetycznych związków o właściwościach immunomodulacyjnych. Nie ma wątpliwości, że indywidualnie dobrana immunoterapia chorych, szczególnie we wczesnym stadium rozwoju chA, może bardzo efektywnie spowalniać progresję klinicznych objawów choroby, zarówno w zakresie funkcji psychicznych jak i neurologicznych. W części przypadków terapia ta pozwala osiągnąć wielomiesięczną stabilizację stanu klinicznego chorych.

Do preparatów mających szczególne zastosowanie w terapii chA należą bardzo aktywne biologicznie wyciągi z siary (colostrum), będącej mlekiem początkowym ssaków. Siara stanowi bogate źródło składników odżywczych, przeciwciał, czynników wzrostu, cytokin oraz wielu specyficznych komórek układu immunologicznego, co niewątpliwie decyduje o jej unikalnych właściwościach.

4.1. Kolostryna-znaczenie biologiczne polipeptydów wysokoprolinowych

Zespół Janusz i wsp [51, 52] wyizolował w 1974 r. z wczesnej siary owiec materiał polipeptydowy bogaty w reszty proliny i hydrofobowe aminokwasy, nazwany polipeptydem bogatym w prolinę (prp), stanowiący kompleks ponad 30

różnych aminokwasów o ciężarze cząsteczkowym 500-3000Da. Obecność podobnych peptydów wykazano również w sianie ludzi i krów [53].

Kolostrylina wykazuje właściwości immunoregulatorowe, wpływa zarówno na wrodzoną jak i nabytą odpowiedź immunologiczną, w szczególności zaś przywraca równowagę w funkcjach komórek układu immunologicznego oraz reguluje sekrecję czynników prozapalnych w trakcie ciągłej stymulacji procesów zapalnych. Wpływ na sekrecję efektorów prozapalnych związany jest z hamowaniem przez prp aktywności czynnika transkrypcyjnego NF- κ B. Istotne jest, że kolostrylina nie jest toksyczna nawet przy długim podawaniu [52].

4.2. COLOCO prp: strategie terapeutyczne w profilaktyce i leczeniu choroby Alzheimera

COLOCO prp stanowi mieszaninę 40-50 peptydów, znajdujących się we frakcji mleka pierwotnego – siary ssaków hodowlanych, zawierającą głównie peptydy o masach cząsteczkowych < 10 kD i charakteryzującą się wysoką zawartością proliny (około 20%), co warunkuje jej wysoką bioaktywność i biodostępność, otwierając szerokie możliwości jej terapeutycznego wykorzystywania. Prolina jest aminokwasem heterocyklicznym, wykazującym wysoką aktywność biochemiczną, w tym właściwości antyoksydacyjne, prowadzące do zahamowania stresu oksydacyjnego [52]. Kompleks peptydów bogatych w prolinę posiada zdolność modulowania aktywności układu immunologicznego, reguluje dojrzewanie i różnicowanie tymocytów i powstawanie limfocytów, stanowi mocny induktor wydzielania kluczowych dla układu immunologicznego cytokin, głównie IFN-gamma, TNF-alfa, jak również interleukin IL-6 i IL-1 β . Powyższe właściwości biologiczne preparatu, szczególnie jego działanie antyoksydacyjne oraz stymulacja komórek w kierunku uwalniania cytokin i interleukin, molekuł mających wpływ na powstawanie markera morfologicznego chA jakim są płytki amyloidowe, stanowią podstawę dla terapii tym preparatem. Wprawdzie dotychczas nie poznano dokładnego mechanizmu działania neuroprotekcijnego peptydów bogatych w prolinę

w schorzeniach neurozwyrodnieniowych, wydaje się jednak racjonalne i w pełni uzasadnione podawanie ich profilaktycznie przede wszystkim (ale nie wyłącznie) osobom zagrożonym (genetycznie) rozwojem chA, szczególnie w rodzinnych postaciach tej choroby (FAD). Wiadomo bowiem, że określone zmiany biochemiczne np. powstawanie monomerów ADDL, tj. prekursorów późniejszych złogów beta-amyloidowych, zachodzą już w okresie co najmniej 10-20 lat poprzedzającym manifestację kliniczną choroby. Można przeprowadzić ich detekcję przy zastosowaniu m.in. czułych metod nanotechnologicznych. Powinowactwo COLOCO prp do tych monomerów może utrudniać lub wręcz uniemożliwiać powstawanie płytek amyloidowych i powodować lizę powstałych już toksycznych złogów A β .

Wobec powyższego, zastosowanie profilaktyczne COLOCO prp u osób jeszcze zdrowych, a szczególnie u tych obciążonych genetycznie chA (FAD), może istotnie hamować i utrudniać dalszy rozwój chA. Ma tu zapewne znaczenie fakt, iż podanie nawet minimalnych dawek COLOCO prp (0,1 mcg) prowadzi do ograniczenia agresji neurotoksycznej formy A β o blisko 90% zarówno po 7-miu jak i 12-stu dniach prowadzenia eksperymentu, co wskazuje na silny potencjał neuroprotekcyjny preparatu [badania własne, niepublikowane].

Dodatkowym argumentem przemawiającym za korzystnym działaniem COLOCO prp u chorych pozostających w różnym stopniu zaawansowania chA, jest wykazana zdolność preparatu do rozpuszczania już istniejących włókien A β oraz dezintegracji płytek amyloidowych [badania własne, niepublikowane].

Podobnie, wydaje się w pełni racjonalne podawanie preparatu COLOCO prp u osób ze zdiagnozowanymi lekkimi zaburzeniami funkcji poznawczych (MCI), szczególnie w przypadkach amnestycznych MCI, łatwo przechodzących w chA. W celu podjęcia ostatecznej decyzji w tych kwestiach wydaje się uzasadnione przeprowadzenie właściwych badań klinicznych.

Innym niezwykle istotnym zagadnieniem jest profilaktyczne podawanie COLOCO prp u osób starszych, u których, jak wiadomo, ma miejsce przewlekły stan zapalny określany jako „Inflammaging” oraz indukcja stresu oksydacyjnego. COLOCO prp, poprzez silniej zaznaczony w porównaniu z innymi preparatami z siary wpływ na wydzielanie cytokin, szczególnie IL-1 β i IL-6, może przywracać zaburzoną równowagę pomiędzy prozapalnym a antyzapalnym fenotypem mikrogleju. COLOCO prp posiada bowiem silne właściwości pobudzania układu immunologicznego do produkcji czynników zarówno prozapalnych jak i przeciwzapalnych w zależności od stanu czynnościowego układu immunologicznego, stanowiąc tym samym jego swoisty regulator.

Dlatego też potencjalne zastosowanie COLOCO prp w opóźnianiu procesów starzenia oraz w prewencji chorób autoimmunologicznych wydaje się bardzo zasadne. Nie bez znaczenia jest tutaj również wysoka aktywność antyoksydacyjna preparatu.

4.3 Inne mechanizmy działania COLOCO prp: wpływ na poziom BDNF

Podstawowym mechanizmem działania COLOCO prp jest jego immunomodulacyjny wpływ w zakresie OUN, w który zaangażowane są różne elementy układu immunologicznego i współdziałające z nimi czynniki wzrostu, w tym przede wszystkim neurotropowy czynnik pochodzenia mózgowego (BDNF). BDNF odgrywa kluczową rolę w plastyczności synaptycznej i kształtowaniu się pamięci długotrwałej, co sprzyja zachowaniu żywotności komórek nerwowych. Dodatkowo, BDNF wykazuje silny potencjał neuroprotekcyjny, chroniąc neurony przed działaniem czynników toksycznych [67,68]. Pierwszy raz cząsteczka BDNF została zidentyfikowana ponad 30 lat temu jako drugi po NGF czynnik należący do rodziny czynników neurotroficznych, tj. polipeptydów wydzielniczych, zbudowanych ze 100-200 aminokwasów [65]. Gen BDNF jest zlokalizowany na krótkim ramieniu chromosomu 11(11p13) [65]. Zawiera on 11 eksonów i sekwencji paromotorowych, uruchamianych w zależności od typu tkanki i obszaru mózgu, co umożliwia

powstawanie kilkudziesięciu różnych transkryptów [68]. Jak wspomniano powyżej, dimery BDNF wykazują powinowactwo do receptora błonowego TrkB, należącego do grupy receptorów o aktywności kinazy tyrozynowej.

W dorosłym OUN czynniki neurotroficzne są wydzielane przede wszystkim przez komórki nerwowe i pełnią ważne funkcje protekcyjne wobec określonych populacji neuronalnych. Odgrywają one bowiem kluczową rolę w procesie plastyczności i transmisji synaptycznej, a także stanowią rodzaj substancji niezbędnych do przeżycia, różnicowania i wzrostu neuronów [67]. Plastyczność synaptyczna w dorosłym mózgu oznacza funkcjonalne modyfikacje istniejących już połączeń synaptycznych. Proces ów leży u podstawy zjawiska kodowania, magazynowania, odtwarzania i przetwarzania informacji, co warunkuje kształtowanie się pamięci i ma istotny wpływ na inne funkcje poznawcze. Badania na modelach zwierzęcych wykazały, że nawet niewielka redukcja poziomu BDNF może prowadzić do istotnej redukcji plastyczności synaptycznej w obrębie hipokampa. W 2010 roku opisano zależność między niższymi poziomami BDNF wytwarzanego przez PBMCs, a gorszymi wynikami testów neuropsychologicznych u pacjentów z SM, w szczególności oceniających podzielność uwagi i umiejętności poszukiwania wzrokowo-przestrzennego. W 2011 roku wykazano ochronną rolę allelu C rs20130324 BDNF w kontekście umiejętności przetwarzania informacji wzrokowych, co wiąże się prawdopodobnie z wpływem na objętość wzgórza.

Neurotrofiny wiążą się z wysokim powinowactwem z receptorami z rodziny kinazy związanej z tropomiozyną (Trk), a z niskim powinowactwem z receptorami typu p75(NTR), które należą do rodziny czynnika martwicy guza (TNF). BDNF ma najwyższe powinowactwo względem TrkB [66]. Wszystkie neurotrofiny wykazują powinowactwo wobec receptora p75(NTR), który może pełnić funkcję ko-receptora dla receptorów Trk, albo też indukować niezależną ścieżkę sygnałową, co prowadzi do promowania wewnątrzkomórkowej transdukcji sygnałów w kierunku przeżycia komórki. Opisano interakcje między receptorami Trk i kanałami potasowymi

bramkowymi napięciem, a także receptorami NMDA, co pośrednio ułatwia BDNF oddziaływanie w układzie glutaminergicznym.

Mimo, że pierwotną funkcją czynników neurotroficznych jest nadzór nad procesami różnicowania i żywotności komórek w układzie nerwowym, są one produkowane także przez komórki układu immunologicznego, a dokładniej przez frakcję komórek jednojądrzastych krwi obwodowej. W zdrowym mózgu to neurony stanowią główne źródło i cel działania czynników neurotroficznych, natomiast w warunkach patologicznych dodatkowa ich synteza przez mononukleary może kompensować względny niedobór neurotrofin w OUN. Zatem funkcje neuroprotektcyjne komórek immunologicznych mogą być więc regulowane przez lokalną sekrecję czynników neurotroficznych, a niewydolność układu immunologicznego w dostarczaniu odpowiedniej puli neurotrofin, szczególnie BDNF, może skutkować ograniczeniem potencjału neuroprotektcyjnego w ratowanym obszarze, co z kolei prowadzi do bardziej rozległego uszkodzenia, a tym samym zwiększa się obszar mózgu objęty atrofią w przebiegu chA.

W okresie rozwoju układu nerwowego określone stężenia neurotrofin warunkują równowagę między apoptozą, a przeżywalnością poszczególnych komórek. W zdrowym, dorosłym OUN głównym źródłem neurotrofin są neurony, a wpływ neurotrofin wytwarzanych przez komórki układu immunologicznego jest prawdopodobnie znikomy, gdyż przez BBB przechodzą jedynie aktywowane formy limfocytów, które, w warunkach prawidłowych, nie ulegają reaktywacji w nieuszkodzonym mózgu [69].

Wydaje się udowodnione, że neurotroficzne czynniki wzrostowe, w tym także BDNF, wpływają również na funkcje mediatorowe neuronów w OUN. Przykładowo, BDNF nasila syntezę i uwalnianie acetylocholino z neuronów OUN, co ma istotne znaczenie w odniesieniu do klasycznej hipotezy niedoboru acetylocholino w patogenezie choroby Alzheimera.

W badaniach przeprowadzonych w ostatnich latach wykazano dodatnią korelację pomiędzy poziomami BDNF, a sprawnością funkcji poznawczych u ludzi zdrowych jak i u osób z rozpoznaniem MCI. Autorzy sugerują, iż oznaczanie poziomów BDNF w płynach ustrojowych może stanowić czuły marker stanu pre-MCI [80, 81].

W ocenie wpływu COLOCO prp na zachowanie się poziomu BDNF, wykazano istotne jego podwyższenie w grupie 63,1% badanych przyjmujących ten preparat, z jednoczesną normalizacją poziomu limfocytów, co przemawia za zdolnością COLOCO prp w kierunku modulacji i przywracania homeostazy układu immunologicznego [badania własne, niepublikowane].

Potwierdzenie wpływu COLOCO prp na wzrost stężenia BDNF, neurotrofiny odpowiedzialnej za prawidłowe funkcjonowanie układu nerwowego, stanowi ważną zaletę tego preparatu w kontekście możliwości zastosowania klinicznego COLOCO prp, nie tylko w grupie chorych z zaburzeniami otępiennymi, ale również w ramach szeroko pojętej profilaktyki zaburzeń funkcji poznawczych, w przebiegu chorób neurozwyrodnieniowych czy autoimmunologicznych.

5. Terapie łączone w chorobie Alzheimerera:

5.1. preparaty z siary + memantyna

Preparaty z siary, w tym COLOCO prp, podawane w połączeniu z memantyną mogą mieć istotne znaczenie w przywróceniu towarzyszących chA zaburzonej funkcji układu glutaminergicznego. Nadmierna aktywacja receptorów glutaminergicznych (ekscytotoksyczność) prowadzi do stymulacji neuronów, zaburzenia homeostazy jonów i metabolizmu energetycznego, powodując zwyrodnienie komórek nerwowych. Uszkodzenie neuronów jest wywołane nadmiernym pobudzeniem receptora glutaminergicznego (NMDA), charakteryzującego się wysokim przewodnictwem dla jonów wapnia. Nadmiar wapnia jest podstawowym czynnikiem decydującym o wystąpieniu neurotoksyczności i wpływa na zwiększenie uwalniania glutaminianu oraz aktywację proteaz i lipaz, prowadząc do uszkodzenia błony komórkowej, syntezy tlenku azotu (NOS) i powstawania wolnych rodników tlenowych.

Jedną z dróg obniżenia aktywności układu glutaminergicznego, szczególnie podwyższonego w początkowych fazach chA, jest włączenie do terapii chA swoistych antagonistów NMDA, nie wpływających na inne receptory glutamatergiczne, takie jak receptory AMPA, kainatowe i metabotropowe [72]. Do grupy antagonistów receptorów NMDA należy także memantyna. Wykorzystanie tego blokera receptorów NMDA w terapii chA polega na zdolności memantyny do jedynie częściowego blokowania aktywności receptora NMDA, bez całkowitego zahamowania transmisji glutaminergicznej. Na poziomie komórkowym, memantyna reguluje napływ jonów wapnia do neuronów przez kanały NMDA, zapobiegając tym samym śmierci komórek nerwowych, indukowanej działaniem neurotoksyn, tj. glutaminianu i NMDA. Efekt ten może być wzmocniony jednoczesnym podaniem memantyny i COLOCO prp, który poprzez wpływ na poziom BDNF, neurotrofiny regulującej neurotransmisję glutaminergiczną, może doprowadzić do przywrócenia fizjologicznej czynności neuronów. Działanie COLOCO prp, podobnie jak w

przypadku memantyny, może polegać na wyciszeniu szumu informacyjnego, zaburzającego prawidłową interpretację sygnałów i upośledzającego funkcje poznawcze we wczesnych stadiach choroby Alzheimera.

5.2. preparaty siary + inhibitory cholinesteraz

Inhibitory cholinesteraz (np. donepezil, riwastygmina) są zarejestrowane do leczenia łagodnego lub umiarkowanego otępienia, a skuteczność, nawet tych na działanie których nie wytwarza się tolerancja, stopniowo zanika, w wyniku śmierci neuronów cholinergicznym produkujących acetylocholinę. Są to więc leki skuteczne we wczesnych stadiach choroby Alzheimera i z takim przeznaczeniem zostały zarejestrowane. Na skutek utraty neuronów cholinergicznym, mającej miejsce w późniejszych stadiach choroby Alzheimera, standardowo stosowane formy farmakoterapii okazują się niewystarczające. Wówczas, podawanie COLOCO prp łącznie z memantyną może okazać się zasadne. Memantyna może być także wykorzystywana do leczenia średniozaawansowanego stadium chA, podobnie jak cholinesterazy, które są standardowo stosowane we wczesnej fazie rozwoju choroby.

Wydaje się więc w pełni uzasadnione skojarzone leczenie inhibitorami cholinesteraz i COLOCO prp, ponieważ inhibitory, podobnie jak preparaty z siary, wykazują działanie hamujące stan zapalny, np. donepezil wpływa istotnie na odporność wrodzoną oraz moduluje aktywność MCP-1 oraz interleukinę IL-4, a więc działa przeciwzapalnie [70].

Stosując zatem skojarzone leczenie inhibitorami cholinesteraz i COLOCO prp należy oczekiwać potencjalizacji działania terapeutycznego w zakresie funkcji poznawczych, szczególnie w pierwszej fazie choroby.

6. Istotne różnice w aktywności immunologicznej różnych preparatów z siar

Wszystkie preparaty uzyskane z mleka pierwotnego, siary, cechuje silna aktywność biologiczna, przede wszystkim dzięki kompleksowi bogatemu w prolinę, o kluczowym znaczeniu w organizmach zwierzęcych, niezbędnym dla rozwoju oseska.

Prolina, cykliczny alifatyczny aminokwas odgrywa szczególną rolę przy tworzeniu kolagenu, głównego białka budulcowego tkanki łącznej i kości. Kolagen zawiera około 15% proliny. Niedobór L-proliny prowadzi do ubytków kolagenu, problemów ze stawami, utraty stabilności ścianek arterii oraz spadku ogólnej wydolności organizmu [60]. Jest syntetyzowany z kwasu glutaminowego, a po modyfikacjach translacyjnych przechodzi w hydroksyprolinę, stanowiąc kluczowy regulator całej gamy procesów biochemicznych i fizjologicznych zachodzących w każdej komórce. Najważniejsza z punktu widzenia jej zastosowania w kulturystyce i sportach siłowych jest zdolność do regulacji aktywności kinazy mTOR, integrującej wiele szlaków sygnalizacyjnych inicjowanych w odpowiedzi na szereg czynników np. insuliny czy insulinopodobnych czynników wzrostu (IGF 1 i IGF II) [61]. Wpływa pośrednio na wzrost i częstość podziałów komórkowych, stanowiąc podstawowy składnik aminokwasowy do syntezy poliamin, organicznych związków o niskiej masie, odgrywających kluczową rolę w aktywnych metabolicznie tkankach, w których synteza białek zachodzi z bardzo wysoką wydajnością. Udowodniono, że prolina istotnie obniża poziom wolnych rodników tlenowych i azotowych w komórce, a poziom tego aminokwasu znacząco rośnie w stanie silnego stresu oksydacyjnego [62]. Dodatkowo, prolina stanowi niezbędny składnik pokarmowy w sytuacji fizycznego uszkodzenia, żywienia osób aktywnych fizycznie oraz metabolicznego obciążenia organizmu, będącego np. wynikiem zranienia lub zabiegów z zakresu medycyny transplantacyjno-regeneracyjnej, ale również pełni ważną rolę w przeciwdziałaniu procesom starzenia [76]. Prolina stanowi także ważny element terapii u ludzi w przypadku chorób wywołanych deficytem kolagenu,

cierpiących z powodu chorób skóry czy zranień. Poza siarą, znaczącym źródłem proliny jest mięso rybne, owoce morza, jajka czy pożywienie bogate w witaminy. Dieta ludzka, z punktu widzenia jej właściwości prozdrowotnych, nie stanowi jedynie prostego dostarczenia czynników pokarmowych, lecz w świetle aktualnych badań, szczególnie z zakresu nutrigenomiki, ma wpływać na regulację procesu apoptozy, stymulować detoksykację i wywoływać adekwatną odpowiedź genową [74].

Deficyt pokarmowy, a szczególnie brak witamin i minerałów, jest dobrze znany jako przyczyna szeregu chorób. Aktualne badania epidemiologiczne jednoznacznie wskazują bowiem na ważną rolę owoców i jarzyn, melatoniny, zielonej herbaty, kreatyniny czy koenzymu Q10, podobnie jak podstawowych kwasów tłuszczowych i czerwonego wina (paradoks francuski), jako ważnych czynników neuroprotekcyjnych [75,77].

Nutraceutyki, preparaty farmaceutyczne o charakterze paraleku, które oprócz bioaktywnych składników pochodzenia naturalnego mogą zawierać skoncentrowane składniki odżywcze, takie jak np. kurkumina, acetyl-L-carnitine czy witamina D, wywierają działanie wielokierunkowe, stanowiąc ważny element neuroprotekcji w chorobach neurozwyrodnieniowych [63].

Ważnym uwagi jest fakt, że prolina, którą z pewnością można zaliczyć do jednego z ważniejszych czynników neuroprotekcyjnych, wykazuje dodatkowo cechy neuromodulatora i metabolicznego prekursora glutaminianu, wpływa na normalizację układu glutaminergicznego, naddaktywnego w chA, z kolei warunkach stresu odgrywa rolę chelatora metali, czynnika antyoksydacyjnego i cząsteczki sygnałowej [60]. Zaburzony metabolizm proliny zaobserwowano w psychozach schizofrenicznych [73].

Aktywność biologiczna różnych preparatów z siary generalnie jest porównywalna, jednakże COLOCO prp wykazuje przewagę nad innymi preparatami z siary np. siary owiec z następujących powodów:

1. Opatentowany, wydajny acetonowy sposób wytwarzania preparatu peptydowego COLOCO (pat UPRP nr P.218693) z siary, umożliwia przechowywanie preparatu w formie proszku lub tabletek przez dłuższy czas;
2. Zdolność do indukowania wydzielania cytokin, szczególnie IFN gamma, TNF-alfa, IL-1 Beta oraz IL-6 jest znacząco wyższa w przypadku preparatu COLOCO prp - już w niskiej dawce 100-120 mcg/dobę - w porównaniu z kolostrynią z siary owiec;
3. W przypadku preparatu COLOCO prp aktywność antyoksydacyjna jest szczególnie wysoka, porównywalna z aktywnością preparatu otrzymanego metodą metanolową (MOHS) z siary wołowej;
4. COLOCO prp jako jedyny produkt z grupy prp posiada fizyko-chemicznie udokumentowaną w niezależnym badaniu medycznym, zdolność modulowania BDNF we wszystkich grupach wiekowych;
5. COLOCO prp jako jedyny produkt z grupy prp posiada udokumentowaną fizyko-chemicznie zdolność zapobiegania integracji oraz indukowania dezintegracji A β ;
6. COLOCO prp posiada bardzo dobrą formę tabletki podjęzykowej, o lekko śmietankowym smaku, kojarzącym preparat z naturalnym pochodzeniem mleczarskim.

7. Badania własne: aktywność kliniczna kolostryny / COLOCO prp

Uwzględniając immunoregulatorowe i prokognitywne właściwości kolostryny, przeprowadzono badania nad jej wpływem na funkcje życiowe i zdolności poznawcze u osób z chA [54,55]. Pacjenci otrzymywali preparat w formie tabletek, zawierających 100 mcg prp nazwanych Colostryną, podawanych co drugi dzień, doustnie podjęzykowo przez okres trzech tygodni, po którym następowała dwutygodniowa przerwa w terapii. Następnie leczenie powtarzano wg schematu, tj. "3+2". Taka forma (doustna) podawania preparatu ułatwia bowiem kontakt z komórkami nabłonka jamy ustnej, które z kolei przenoszą informację do tkanki limfatycznej obecnej w obszarach podśluzówkowych. Z drugiej strony dwutygodniowa przerwa zapobiega rozwojowi tachyfilaksji, tj. utraty wrażliwości na lek, będącej tutaj wynikiem spadku zdolności komórek krwi do adekwatnego reagowania na induktory IFN gamma (do których m.in. należy prp). Wykazaliśmy bowiem [54, 55], iż ta hyporeaktywność ustępuje całkowicie (samoistnie) po dwóch tygodniach przerwy w podawaniu leku. Badanie przeprowadzono w grupie 33 chorych, będących w lekkim i średnim stopniu zaawansowania choroby, pozostających w terapii od 16 do 28 miesięcy. Efektywność leczenia była oceniana klinicznie, również przy zastosowaniu adekwatnych skal neuropsychometrycznych. Odnotowano zarówno istotną poprawę stanu psychicznego jak i stabilizację kliniczną, ocenianą u większości chorych nie tylko po 28 miesiącach badania, ale także jak miało to miejsce u kilkunastu osób, stabilizacja ta utrzymywała się znacznie dłużej, co najmniej 2 do 3 lata po zakończeniu podawania prp. Wydaje się godne podkreślenia, że w całym okresie obserwacji nie odnotowano pogorszenia stanu zdrowia leczonych chorych. Tolerancja preparatu u wszystkich nim leczonych, okazała się bardzo dobra. Poza krótkimi, zwykle kilkudniowymi okresami nadmiernego pobudzenia psychomotorycznego i bezsenności obserwowanymi jedynie u części pacjentów w początkowej fazie leczenia, a które w trakcie trwania

badania ustępowały samoistnie, nie obserwowano żadnych poważniejszych objawów niepożądanych czy powikłań.

Pragnę podkreślić, iż w trakcie całej terapii prp nie stosowano równolegle, systematycznie żadnych innych leków, poza doraźnie i tylko u pojedynczych chorych, leków nasennych, przeciwbólowych czy też przeciwprzeziębieniowych.

Dalsza ocena wpływu kolostryny na przebieg chA przeprowadzona na 135 pacjentach przez zespół prof. Bilikiewicza z Gdańska, w ramach badań wielośrodkowych, w pełni potwierdziła dużą skuteczność tego preparatu w stabilizacji, a nawet cofaniu się objawów chorobowych, szczególnie we wczesnej jej fazie [56].

8. Preparat COLOCO prp: potencjał kliniczny

Uwzględniając istotnie wyższą aktywność immunomodulacyjną tego preparatu, przede wszystkim jego większą aktywność, w porównaniu z innymi preparatami z siary, w zakresie indukcji cytokin, szczególnie: IFN gamma, TNF-alfa, IL-1 oraz L-6 i w dawkach znacznie niższych, w porównaniu z preparatem otrzymanym z siary owiec, z dużym prawdopodobieństwem należy przyjąć jego wyższą efektywność kliniczną. Aktywność anty-wolnorodnikowa COLOCO prp (wyższa aniżeli innych preparatów z siary) wydaje się szczególnie istotna w kontekście ostatnich wyników badań wskazujących, jako pierwotną przyczynę etiopatogenezy choroby Alzheimerera, stres oksydacyjny [64]. Dodatkowo, dowiedziony klinicznie wpływ COLOCO prp na poziom BDNF, który jako jedyny wśród preparatów wysokoprolinowych wykazuje takie działanie, sytuuje COLOCO prp na pozycji lidera preparatów otrzymanych z siary do terapii choroby Alzheimerera i innych schorzeń neurozwyrodnieniowych, szczególnie (ale nie tylko) w jej pierwszej fazie rozwoju jak również w szeroko pojętej profilaktyce stanów przedchorobowych, np. w lekkich zaburzeniach funkcji poznawczych (MCI) ale także w środowisku

rodzin, w których rozpoznano dziedzicznie uwarunkowane występowanie choroby Alzheimera (FAD).

Pozytywna rekomendacja Stowarzyszeń Alzheimerowskich, ponadto Polskiego Towarzystwa Psychogeriatrycznego, jak również Rekomendacje Interdyscyplinarnej Grupy Ekspertów Rozpoznania i Leczenia Otępień (IGERO 2006) [79], wskazują na znaczenie i rolę preparatów kolostryninowych, jako istotnych czynników uzupełniających w terapii i profilaktyce otępień. Uwzględniając dużą zawartość proliny w preparatach z siary i pozostałych opisanych powyżej czynnych składników biologicznych, możliwości terapii i profilaktyki obejmują jednak znacznie większe spektrum schorzeń począwszy od chronicznych biegunek u osób z niedoborami immunologicznymi, w profilaktyce i leczeniu chorób infekcyjnych, w sporcie (w zawodach siłowych, gdyż sprzyjają nabieraniu masy mięśniowej, bez przyrostu tkanki tłuszczowej), w przyspieszeniu gojenia się ran (stymulują wzrost i migrację ludzkich keratynocytów), w medycynie regeneracyjnej i niewątpliwie wielki potencjał w medycynie przeciwstarzeniowej.

9. Piśmiennictwo

1. Kumar A, Singh A, Ekavali. A review on Alzheimer's disease pathophysiology and its management: an update. *Pharmacol Rep.* 2015; 67(2): 195–203.
2. Leszek J, Sochocka M, Gasiorowski K. Vascular factors and epigenetics modifications in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *J Neurol Sci.* 2012; 323(1–2): 25–32.
3. Sochocka M, Koutsouraki E, Gasiorowski K, Leszek J. Vascular oxidative stress and mitochondrial failure in the pathobiology of Alzheimer's disease: a new approach to therapy. *CNS Neurol Disord Drug Targets.* 2013; 12(6): 870–881.
4. Li Y, Tan MS, Jiang T, Tan L. Microglia in Alzheimer's disease. *Biomed Res Int.* 2014; 2014: 437483.
5. McCaulley ME, Grush KA. Alzheimer's Disease: exploring the role of inflammation and implications for treatment. *Int J Alzheimers Dis.* 2015; 2015: 515248.
6. Cohen RM. The role of the immune system In Alzheimer's disease. *FOCUS* 2009; 8(1): 28–35.
7. Jacobs AH, Tavitian B, INMiND consortium. Noninvasive molecular imaging of neuroinflammation. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2012; 32(7): 1393–1415.
8. Błach-Olszewska Z, Leszek J. Mechanisms of over-activated innate immune system regulation in autoimmune and neurodegenerative disorders. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2007; 3(3): 365–372.
9. Heneka MT, O'Banion MK, Terwel D, Kummer MP. Neuroinflammatory processes in Alzheimer's disease. *J Neural Transm.* 2010; 117(8): 919–947.
10. Khairallah MI, Kassem LA. Alzheimer's disease: current status of etiopathogenesis and therapeutic strategies. *Pak J Biol Sci.* 2011; 15, 14(4): 257–272.
11. Headland SE, Norling LV. The resolution of inflammation: principles and challenges. *Semin Immunol.* 2015; 27(3): 149–160.
12. Całkosiński I, Dobrzyński M, Całkosińska M, Seweryn E, Bronowicka-Szydełko A, Dzierzba K, Ceremuga I, Gamian A. Characterization of an inflammatory response. *Post Hig Med Dosw.* (online) 2009; 63(3): 395–408.
13. Maskrey BH, Megson IL, Whitfield PD, Rossi AG. Mechanisms of resolution of inflammation: a focus on cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011; 31(5): 1001–1006.
14. Franceschi C, Campisi J. Chronic inflammation (inflammaging) and its potential contribution to age-associated diseases. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2014; 69(Suppl. 1): S4–S9.

15. Skowrońska B, Fichna M, Fichna P. Rola tkanki tłuszczowej w układzie dokrewnym. *Endokrynol Otyłość Zaburz Przem Materii* 2005; 1(3): 21–29.
16. Heneka MT, Carson MJ, El Khoury J, Landreth GE, Brosseron F, Feinstein DL, Jacobs AH, Wyss-Coray T, Vitorica J, Ransohoff RM, Herrup K, Frautschy SA, Finsen B, Brown GC, Verkhratsky A, Yamanaka K, Koistinaho J, Latz E, Halle A, Petzold GC, Town T, Morgan D, Shinohara ML, Perry VH, Holmes C, Bazan NG, Brooks DJ, Hunot S, Joseph B, Deigendesch N, Garaschuk O, Boddeke E, Dinarello CA, Breitner JC, Cole GM, Golenbock DT, Kummer MP. Neuroinflammation in Alzheimer's disease. *Lancet Neurol.* 2015; 14(4): 388–405.
17. Morales I, Guzmán-Martínez L, Cerda-Troncoso C, Farías GA, Maccioni RB. Neuroinflammation in the pathogenesis of Alzheimer's disease. A rational framework for the search of novel therapeutic approaches. *Front Cell Neurosci.* 2014; 8: 112.
18. Theele DP, Streit WJ. A chronicle of microglial ontogeny. *Glia* 1993; 7(1): 5–8.
19. Lynch MA. The impact of neuroimmune changes on development of amyloid pathology; relevance to Alzheimer's disease. *Immunology* 2014; 141(3): 292–301.
20. Luo XG, Chen SD. The changing phenotype of microglia from homeostasis to disease. *Transl Neurodegener.* 2012; 1(1): 9.
21. Varnum MM, Ikezu T. The classification of microglial activation phenotypes on neurodegeneration and regeneration in Alzheimer's disease brain. *Arch Immunol Ther Exp.* 2012; 60(4): 251–266.
22. Łabuzek K, Skrudlik E, Gabryel B, Okopień B. Przeciwwzapalna funkcja komórek mikrogleju w świetle najnowszych badań naukowych. *Ann Acad Med Siles.* 2015; 69: 99–110.
23. Lucin KM, O'Brien CE, Bieri G, Czirr E, Mosher KI, Abbey RJ, Mastroeni DF, Rogers J, Spencer B, Masliah E, Wyss-Coray T. Microglial beclin 1 regulates retromer trafficking and phagocytosis and is impaired in Alzheimer's disease. *Neuron* 2013;79(5):873–886.
24. Salminen A, Kaarniranta K, Kauppinen A, Ojala J, Haapasalo A, Soininen H, Hiltunen M. Impaired autophagy and APP processing in Alzheimer's disease: the potential role of Beclin 1 interactome. *Prog Neurobiol.* 2013; 106–107: 33–54.
25. Painter MM, Atagi Y, Liu CC, Rademakers R, Xu H, Fryer JD, Bu G. TREM2 in CNS homeostasis and neurodegenerative disease. *Mol Neurodegener.* 2015; 4(10): 43.
26. Candore G, Bulati M, Caruso C, Castiglia L, Colonna-Romano G, Di Bona D, Duro G, Lio D, Matranga D, Pellicanò M, Rizzo C, Scapagnini G, Vasto S. Inflammation, cytokines, immune response, apolipoprotein E, cholesterol, and

- oxidative stress in Alzheimer disease: therapeutic implications. *Rejuvenation Res.* 2010; 13(2–3): 301–313.
27. Rocha NP, Teixeira AL, Coelho FM, Caramelli P, Guimarães HC, Barbosa IG, da Silva TA, Mukhamedyarov MA, Zefirov AL, Rizvanov AA, Kiyasov AP, Vieira LB, Janka Z, Palotás A, Reis HJ. Peripheral blood mono-nuclear cells derived from Alzheimer's disease patients show elevated baseline levels of secreted cytokines but resist stimulation with β -amyloid peptide. *Mol Cell Neurosci.* 2012; 49(1): 77–84.
28. Sastre M, Klockgether T, Heneka MT. Contribution of inflammatory processes to Alzheimer's disease: molecular mechanisms. *Int J Dev Neurosci.* 2006; 24(2–3): 167–176.
29. McNaull BB, Todd S, McGuinness B, Passmore AP. Inflammation and anti-inflammatory strategies for Alzheimer's disease – a mini-review. *Gerontology* 2010; 56(1): 3–14.
30. Cojocaru IM, Cojocaru M, Miu G, Sapira V. Study of interleukin-6 production in Alzheimer's disease. *Rom J Intern Med.* 2011; 49(1): 55–58.
31. Christov A, Ottman JT, Grammas P. Vascular inflammatory, oxidative and protease-based processes: implications for neuronal cell death in Alzheimer's disease. *Neurol Res.* 2004; 26(5): 540–546.
32. Zhao J, O'Connor T, Vassar R. The contribution of activated astrocytes to A β production: implications for Alzheimer's disease pathogenesis. *J Neuroinflammation* 2011; 2(8): 150.
33. Chiarini A, Dal Pra I, Whitfield JF, Armato U. The killing of neurons by beta-amyloid peptides, prions, and pro-inflammatory cytokines. *Ital J Anat Embryol.* 2006; 111(4): 221–246.
34. Bishnoi RJ, Palmer RF, Royall DR. Serum interleukin (IL)-15 as a biomarker of Alzheimer's disease. *PLoS One* 2015; 24, 10(2): e0117282.
35. Lee KS, Chung JH, Choi TK et al. Peripheral cytokines and chemokines in Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2009; 28(4): 281–287.
36. Mizuno T, Doi Y, Mizoguchi H, Jin S, Noda M, Sonobe Y, Takeuchi H, Suzumura A. Interleukin-34 selectively enhances the neuroprotective effects of microglia to attenuate oligomeric amyloid- β neurotoxicity. *Am J Pathol.* 2011; 179(4): 2016–2027.
37. Rentzos M, Rombos A. The role of IL-15 in central nervous system disorders. *Acta Neurol Scand.* 2012; 125(2): 77–82.
38. Sutinen EM, Pirttilä T, Anderson G, Salminen A, Ojala JO. Pro-inflammatory interleukin-18 increases Alzheimer's disease-associated amyloid- β production in human neuron-like cells. *J Neuroinflammation* 2012; 16(9): 199.

39. Zambrano A, Otth C, Mujica L, Concha II, Maccioni RB. Interleukin-3 prevents neuronal death induced by amyloid peptide. *BMC Neurosci.* 2007; 3(8): 82.
40. Wiciński M, Sopońska P, Brzoszczyk B, Malinowski B, Grzešek E, Michalska A. Rola czynników zakaźnych w chorobach neurodegeneracyjnych. *Post Mikrobiol.* 2013; 52(1): 93–103.
41. Hu S, Sheng WS, Schachtele SJ, Lokensgard JR. Reactive oxygen species drive herpes simplex virus (HSV)-1-induced proinflammatory cytokine production by murine microglia. *J Neuroinflammation* 2011; 26(8): 123.
42. Licastro F, Carbone I, Raschi E, Porcellini E. The 21st century epidemic: infections as inductors of neuro-degeneration associated with Alzheimer's Disease. *Immun Ageing* 2014; 5, 11(1): 22.
43. Lövhem H, Gilthorpe J, Adolfsson R, Nilsson LG, Elgh F. Reactivated herpes simplex infection increases the risk of Alzheimer's disease *Alzheimers Dement.* 2014; 17. pii: S1552-5260(14)02421-2.
44. Lövhem H, Gilthorpe J, Johansson A, Eriksson S, Hallmans G, Elgh F. Herpes simplex infection and the risk of Alzheimer's disease-A nested case-control study. *Alzheimers Dement.* 2014; 17. pii: S1552-5260(14)02770-8.
45. Moreno-Treviño MG, Castillo-López J, Meester I. Moving away from amyloid Beta to move on in Alzheimer research. *Front Aging Neurosci.* 2015; 22(7): 2.
46. Khetsuriani N, Holman RC, Anderson LJ. Burden of encephalitis-associated hospitalizations in the United States, 1988–1997. *Clin Infect Dis.* 2002; 35: 175–182.
47. Itzhaki RF. Herpes simplex virus type 1 and Alzheimer's disease: increasing evidence for a major role of the virus. *Front Aging Neurosci.* 2014; 11(6): 202.
48. Barnes LL, Capuano AW, Aiello AE, Turner AD, Yolken RH, Torrey EF, Bennett DA. Cytomegalovirus infection and risk of Alzheimer disease in older black and white individuals. *J Infect Dis.* 2015; 15, 211(2): 230–237.
49. Rodríguez-Violante M, Ordoñez G, Bermudez JR, Sotelo J, Corona T. Association of a history of varicella virus infection with multiple sclerosis. *Clin Neurol Neurosurg.* 2009; 111(1): 54–56.
50. Biesiada G, Czepiel J, Skwara P, Loster J, Sobczyk-Krupiarz I, Mach T. Zachorowania na półpasiec u ludzi w starszym wieku w materiale Kliniki Chorób Zakaźnych w latach 2001–2003. *Gerontol Pol.* 2005; tom 13, nr 3.
51. Janusz M., Lisowski J., Franek F. Isolation and characterization of a proline-rich polypeptide from ovine colostrum *FEBS Letters* 1974, 49, 276-279
52. Janusz M, Lisowski J. Proline-rich polypeptide (PRPs)-An immunomodulatory peptide from ovine colostrum. *Arch. Immunol et Ther Exp* 1993; 41, :275-279

53. Sokolowska A., Bednarz R., Pacewicz M., Georgiades JA, Wilusz T., Polanowski A. Colostrum from different mammalian species- a rich source of colostrinin International Dairy Journal 2008,18,204-209
54. Leszek J., Inglot A.D., Janusz M, et al. Colostrinin-R: a proline-rich polypeptide(prp) complex isolated from ovine colostrum for treatment of Alzheimer's disease. A double-blind, placebo controlled study. Arch. Immunol. Ther. Exp. 1999,47,377-385
55. Leszek J., Inglot AD, Janusz M. et al. : Colostrinin –R, a proline-rich polypeptide complex from ovine colostrums- a long-term study of its efficacy in Alzheimer's disease. Med. Sci. Monit. 2002, 8, P193-196
56. Bilikiewicz A. Gaus W. Colostrylin R (a naturally occurring, proline-rich polypeptide mixture) in the treatment of Alzheimer's disease. J. Alzheimers Dis 2004, 6, 17-26
57. Wyss-Coray T. Inflammation in Alzheimer's disease: driving force, bystander or beneficial response? NATURE MEDICINE 2006, 12,9, 1005-1015
58. Yoon S., Kim Y.K. The role of immunity and neuroinflammation in genetic predisposition and pathogenesis of Alzheimer's disease. GENETICS, 2015, 2,3, 230-249
59. Chang L et al. Gray matter maturation and cognition in children with different APOE e genotypes NEUROLOGY 2016,87, 1-10
60. Wu G, Bazer FW, Johnson G. et al. Proline and hydroxyproline metabolism: implications for animal and human nutrition. AMINO ACIDS 2013,40(4): 1053-1063
61. Hayat S. et al. Role of proline under changing environments. Plant Signaling and Behavior 2012,7(11), 1456-1466
62. Chien-an A. Hu et al. The Special Issue: “ Proline metabolism in health and disease. AMINO ACIDS 2008,35(4), 651-652
63. Czajkowski P., Nazaruk J.: Rola składników naturalnych w zapobieganiu chorobom neurodegeneracyjnym. GERIATRIA 2014, 8, 258-263
64. Wen-Juan Huang, Xia Hang, Wei-Wei-Chen: Role of oxidative stress in Alzheimer's disease (Review) Biomedical Reports 2016,4,519-522
65. Hanson IM et al. The human BDNF gene maps between FSHB and HVBS1 at the boundary of 11p13-p14. GENOMICS 1992,13,1331-1333
66. Greenberg ME, Xu B, Lu B, Hempstead BL.: New insights in the biology of BDNF locus: Bidirectional transcription, complex splicing, and multiple promoters. GENOMICS 2007,90, 397-406
67. Patapoutian A., Reichardt LF. Trk receptors: mediators of neurotrophin action. Curr. Opin. Neurobiol 2001, 11, 272-280

68. Djalali S., Holtje M, et al: Effects of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) on glial cells and serotonergic neurons during development. *J. Neurochem* 2005, 92,616-627
69. Binder DK, Scharfman HE: Brain-derived neurotrophic factor. *Growth Factors* 2004,22,123-131
70. Pan W., Banks WA et al.: Transport of brain-derived neurotrophic factor in rat brain and platelets. *Neurosci.Lett.* 2002, 328, 261-264
71. Yoshiyana Y, et al. Anti-inflammatory action of donepezil ameliorates tau pathology, synaptic loss and neurodegeneration in a tauopathy mouse model. *J. Alzheimer's Dis* 2010, 22, 1, 295-306
72. Patent Nr WO 2016072871 A1: Proline-rich polypeptide complex for use in treatment of bdnf-dependent disorders nr, zgłoszenia PCT/PL2015/000180, data publikacji 12.05, 2016
73. Butterfield DA, Pocernich CB: The glutamatergic system and Alzheimer's disease. *CNS Drugs* 2003, 17, 9, 641-652
74. Oresic M, Tang J : Metabolome in schizophrenia and other psychotic disorders: a general population- based study. *GENOME MEDICINE* 2011, 3,19
75. Virmani A., Pinto L., Binienda Z.: Food, nutrigenomics, and neurodegeneration-neuroprotection by what you eat! *Mol. Neurobiol.* 2013, 48, 353-362
76. Kumar GP, Khanum F.: Neuroprotective potential of phytochemicals. *Pharmacogn Rev* 2012, 6(12), 81-90
77. Joseph J., Cole G et al. Nutrition, brain aging and neurodegeneration *J. Neurosci* 2009, 29, 12795-801
78. Lillycrop KA, Burdge GC: Epigenetic mechanisms linking early nutrition to long term health. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2012, 26, 667-676
79. Barcikowska M. i wsp.: Rozpoznanie i leczenie otępień. Rekomendacje Interdyscyplinarnej Grupy Ekspertów Rozpoznania i Leczenia Otępień (IGERO), Warszawa 2006
80. Gunstadt JL, Benitez A, Smith J et al. Serum brain-derived neurotrophic factor is associated with cognitive function in healthy older adults. *J. Geriatr Psychiatry Neuroscience* 2008, 21(3), 166-170
81. Shimada HL, Makizoko HL, et al.: A large, cross-sectioned observational study of serum BDNF and cognitive function and mild cognitive impairment in the elderly. *Front Aging Neurosci* 2014, 6, 69