

## **Poziom tau całkowitego i tau fosfo (Thr 181) w płynie mózgowo-rdzeniowym u pacjentów z zespołem lekkich zaburzeń poznawczych oraz z otępieniem typu Alzheimerera**

Peter Schonknecht, Johannes Pantel, Elmar Kaiser, Johannes Schroder

### **Streszczenie**

**Podstawy:** Badania przeprowadzone w ostatnich latach wskazują na znaczny wzrost stężenia białek tau w płynie mózgowo rdzeniowym (pł.m-r) u pacjentów z chorobą Alzheimerera (ch.A.). Może to sugerować ,iż białko tau stanowi potencjalny wskaźnik molekularny w ChA. Zarówno poziom białka tau całkowitego, jak i tau ufosforylowanego (tau-fosfo) powinien być oznaczany zarówno u pacjentów z łagodnymi zaburzeniami funkcji poznawczych(MCI) jak i ch.A.

**Materiał i metody:** Poziom Tau całkowitego i tau ufosforylowanego na treoninie w pozycji 181(Thr 181) w płynie mózgowo-rdzeniowym(pł.m.-r.) oznaczano za pomocą testu ELISA u 132 pacjentów z ch.A., 29 z MCI, z 24 pacjentami w próbie kontrolnej.Poziomy tau całkowitego i tau-fosfo (Thr 181) były porównywane pomiędzy łagodną, umiarkowaną, ciężką postacią ch.A., MCI oraz wobec próby kontrolnej. Zostały także skorelowane z wiekiem.

**Wyniki:** Poziomy tau całkowitego w płynie mózgowo-rdzeniowym były znamienne wyższe w grupach pacjentów z umiarkowaną i ciężką postacią ch.A. W łagodnej postaci ch.A. i MCI różniły się znamienne. Poziomy tau-fosfo były wyższe w ciężkiej, umiarkowanej i łagodnej postaci ch.A. W ch.A. poziomy te korelowały znamienne z głębokością otępienia , ale nie z wiekiem.

**Wnioski:** Poziomy białka tau całkowitego i tau-fosfo (Thr 181) w płynie mózgowo-rdzeniowym są istotne w diagnostyce ch.A. i MCI. Duża różnica poziomów białka pomiędzy pacjentami a próbą kontrolną stanowi podstawę dla dalszych badań. Z klinicznego punktu widzenia wzrost poziomu białek tau potwierdza rozpoznanie ch.A., lecz ich prawidłowe wartości nie wykluczają choroby.

### **Wstęp**

Ch.A. jest postępującą neurodegeneracyjną chorobą charakteryzującą się obecnością zwojów neurofibrylarnych jako głównym markerem neuropatologicznym. Białko tau (masa cząsteczkowa 46kDa) jest uwalniane do płynu mózgowo-rdzeniowego podczas neurowłókienkowej agregacji płytki, można je wykryć metodą ELISA. Kilka badań potwierdziło znamienne wzrost poziomów białka tau u pacjentów z ch.A. w porównaniu z próbą kontrolną wskazując na potencjalne znaczenie tego białka jako markera cząsteczkowego w ch.A.[1]. W większości, ale nie we wszystkich badaniach uzyskane wyniki posłużyły do porównań z grupą pacjentów z otępieniem naczyniowym [2,3,4,5,6,7,11].

Wczesne rozpoznania ch.A. umożliwia wczesną interwencję terapeutyczną. Poziomy białka tau były badane w stanach przedklinicznych, jak łagodne zaburzenia poznawcze (MCI), a wyniki były porównywane z próbą kontrolną. Okazało się, że

poziomy białka tau były znacząco wyższe u pacjentów z MCI i wczesną postacią ch.A.[8].

Ufosforylowane białko tau stało się ostatnio potencjalnym biomarkerem ch.A. Poziomy białka tau-fosfo oznaczają stan ufosforylowania, co prawdopodobnie ma znaczenie w powstawaniu płytek starczych w ch.A. Poziomy białka tau w płynie mózgowo-rdzeniowym może stanowić dokładny wskaźnik przebiegu ch.A. Jednocześnie podkreśla się, że stężenia białka w ostrych udarach mózgu i chorobie Creutzfelda-Jakoba prawie nie ulegały zmianie. W ostatnich badaniach dowiedziono, że poziom tau-fosfo w płynie mózgowo-rdzeniowym był znacząco wyższy u pacjentów z ch.A. [2,11,12,13,14,15,16, 17, 18,19,8], natomiast z MCI jedynie w kilku badaniach wykazano jego znaczący wzrost [20,21,22,23,24], jednakże w badaniach tych białko tau było ufosforylowane na innych miejscach (treoninie 231, serynie 235).

Badania oznaczania zarówno poziomu tau całkowitego i tau-fosfo (Thr 181) w płynie mózgowo-rdzeniowym u pacjentów z różną głębokością otępienia w ch.A. oraz u pacjentów z MCI są nieliczne, ale mogą dostarczyć podstaw do dalszych badań i określić znaczenie tych biomarkerów. Dlatego oznaczaliśmy Poziomy tau całkowitego i tau-fosfo (Thr 181) w płynie mózgowo-rdzeniowym w łagodnej, umiarkowanej i ciężkiej postaci ch.A. i porównywaliśmy je z poziomami u pacjentów z MCI i próbą kontrolną.

## Metody

Do badania włączono 132 pacjentów (88 kobiet i 44 mężczyzn) z ch.A. (kryteria NINCDS-ADRDA [25]) oraz 29 pacjentów z MCI (według Petersena i wsp.[26]). Pacjenci z ch.A. zostali podzieleni według wyniku testu MMSE na postać łagodną (21-25), umiarkowaną (13-20) oraz ciężką (<12). Osoby badane były kolejno przyjmowane do oddziału psychogeriatricznego Uniwersytetu w Heidelbergu. Kryteria wykluczenia stanowiły przebyty udar mózgu, inne zaburzenia neurologiczne, nieuregulowana cukrzyca i nadciśnienie tętnicze. Rozpoznanie kliniczne opierało się o wywiad, badanie kliniczne, badanie parametrów krwi (OB, morfologia, biochemia, funkcje tarczycy), neuropsychologiczne i neuroradiologiczne. Grupa kontrolna składała się z 24 osób (13 kobiet i 11 mężczyzn) bez zaburzeń poznawczych i psychicznych, płyn mózgowo-rdzeniowy uzyskiwano podczas znieczulenia rdzeniowego w Oddziale Anestezjologii Uniwersytetu w Heidelbergu.

U wszystkich pacjentów punkcja lędźwiowa była wykonywana pomiędzy 10 a 12 godziną. Uzyskany materiał był rozdzielany do próbek, następnie zamrażany w temperaturze -80C i przechowywany aż do czasu badania. Poziomy tau całkowitego i tau-fosfo (Thr 181) były oznaczane za pomocą zestawu odczynników INNOTEST [29,30]. Badacze nie znali diagnozy poszczególnych pacjentów przed oznaczeniem poziomów.

## Wyniki

Wyniki i odchylenia standardowe przedstawia tabela 1. Pacjenci z ch.A. i MCI nie różnili się znacząco pod względem wieku. Podobnie nie było znaczącej różnicy wieku w grupach pacjentów z łagodną, umiarkowaną i ciężką ch.A. Pomiędzy pacjentami z MCI a próbą kontrolną także nie było znaczącej różnicy wieku. Wyniki testu MMSE były znacząco niższe u pacjentów z ch.A. i MCI w porównaniu z grupą kontrolną.

Poziomy tau całkowitego w płynie mózgowo-rdzeniowym były najwyższe u pacjentów z ciężką postacią ch.A. i różniły się znacząco od uzyskanych w próbie kontrolnej, MCI i łagodnej postaci ch.A., ale nie od umiarkowanej ch.A. W łagodnej

ch.A. i MCI poziomy tau całkowitego były znamienne wyższe niż w próbie kontrolnej, ale znamienne niższe niż w umiarkowanej i ciężkiej postaci ch.A.

Poziomy tau-fosfo(Thr 181) w płynie mózgowo-rdzeniowym były najwyższe w ciężkiej postaci ch.A. i różniły się znamienne od innych grup. Poziomy tau-fosfo(Thr 181) były wyższe w umiarkowanej postaci ch.A. niż w łagodnej postaci ch.A., ale różnice nie były znamienne statystycznie. Obydwie grupy (łagodna i ciężka ch.A.) różniły się znamienne od próby kontrolnej pod względem poziomu tau-fosfo(Thr 181). Poziomy tau-fosfo(Thr 181) u pacjentów z MCI znalazły się pomiędzy umiarkowaną a ciężką ch.A.

Nie dowiedziono znamiennej korelacji pomiędzy poziomami białek tau a wiekiem u pacjentów z ch.A. Głębokość otępienia (wynik MMSE) korelował z poziomem tau całkowitego ( $r=-0.3$ ,  $p<0.0005$ ) oraz poziomem tau-fosfo ( $r=-0.4$ ,  $p<0.0005$ ). U pacjentów z ch.A. poziomy tych białek były wysoce znamienne ( $r=0.9$ ,  $p<0.0005$ ). Wiek, głębokość otępienia, poziom tau całkowitego i tau-fosfo(Thr 181) wskazywały na mało znamienne różnice wśród pacjentów z prawdopodobną i możliwą ch.A.

## Omówienie

Uzyskane wyniki przeprowadzonych oznaczeń wskazują, że: (1) poziomy tau całkowitego są znamienne wyższe u pacjentów z ciężką i umiarkowaną ch.A. i różnią się od poziomów pacjentów z łagodną ch.A., MCI i próbą kontrolną. W łagodnej ch.A. i MCI poziomy tau całkowitego znajdują się pomiędzy poziomami u pacjentów z ciężką a umiarkowaną ch.A., (2) poziomy tau-fosfo(Thr 181) są znamienne wyższe u pacjentów z ciężką ch.A. Poziomy tau-fosfo(Thr 181) są znamienne wyższe w umiarkowanej i łagodnej postaci ch.A., (3) poziomy tau całkowitego i tau-fosfo(Thr 181) w ch.A. są skorelowane z głębokością otępienia, ale nie z wiekiem.

Wyniki potwierdzają wcześniejsze doniesienia wskazujące na wzrost poziomów tau całkowitego w ch.A.[31]. Ponadto wyniki wskazują na wzrost poziomów tego białka począwszy od MCI poprzez łagodną, umiarkowaną i ciężką postać ch.A. Z klinicznego punktu widzenia wydaje się być istotnym podkreślenie podobieństw w poziomach tau całkowitego w MCI i łagodnej postaci ch.A. mniejszego jednakże od poziomów w umiarkowanej i ciężkiej postaci ch.A. To doniesienie potwierdza, że MCI może prowadzić do ch.A.

W grupie chorych z ch.A. stwierdzono znamienne korelację pomiędzy poziomami białka tau oraz białka tau-fosfo a głębokością choroby. Z kolei w trakcie 6-letniej obserwacji pacjentów z ch.A. poziomy białka tau, ale ufosforylowanego na treoninie 231 zmniejszyły się w przebiegu ch.A. Przyszłe badania powinny skupić się na wyjaśnieniu tej rozbieżności, co wydaje się trudne i wiąże się ze zrozumieniem mechanizmów uwalniania białka do płynu mózgowo-rdzeniowego. Nasze doniesienie ma zastosowanie co najmniej do podgrupy pacjentów z ch.A., których wzrost poziomu białek tau współistnieje proporcjonalnie z głębokością otępienia.

Wszystkie dotychczasowe oznaczenia poziomu białek tau zgodne wskazują na związek z dynamiką ch.A. Pojawienie się objawów neuropsychiatrycznych, takich jak zespół depresyjny, agitacja stanowią podstawę do podjęcia interwencji farmakologicznej. Dlatego należy brać pod uwagę wpływ leków psychotropowych na uwalnianie białek tau. Dotychczas były badane głównie efekty leków w odniesieniu do poziomów beta-amyloidu 1-40 i 1-42 [33]. Jednakże, w naszym badaniu wykluczaliśmy korelację pomiędzy poziomem białka tau całkowitego a dawką i rodzajem leku psychotropowego.

W jednym z ostatnich badań próbowaliśmy określić znaczenie poziomów białek tau w różnicowaniu ch.A. i VaD. Podobnie jak w niektórych [5], ale nie we wszystkich badaniach [34,35,36] stwierdziliśmy znamienne wzrost poziomów białek tau w ch.A. w porównaniu z VaD[1]. Rozbieżności pomiędzy tymi badaniami można tłumaczyć wzrostem poziomów białek tau u niektórych pacjentów z VaD, którzy przebyli udar tkanki mózgowej związany z epizodem niedokrwienia. Zatem czasowy związek pomiędzy epizodem niedokrwinnym a badaniem płynu mózgowo-rdzeniowego mógłby wyjaśnić obserwowaną różnorodność poziomów. Podkreśla to w swoim doniesieniu Arai [5], obserwując wzrost poziomów tau po okresie 2-3 tygodni od momentu przebycia epizodu niedokrwinnego oraz normalizację po okresie kilku miesięcy. W badaniach Hesse'go [9] opisano wzrost poziomów tau u pacjentów z ostrym udarem niedokrwinnym, najwyższy wzrost miał miejsce w 3 tygodniu po udarze, normalizował się po 3 miesiącach. Rozbieżność wyników mogła być następstwem współistniejących zmian zwyrodnieniowych aniżeli naczyniowych.

Prawdopodobnie zmiany atroficzne mózgu mogą współistnieć ze stężeniami białek tau w płynie mózgowo-rdzeniowym. Uważa się, że zmianie poziomów mogą towarzyszyć mierzalne zmiany atroficzne hipokampa [39,40,41].. W naszych wcześniejszym badaniu nie wykazaliśmy korelacji pomiędzy poziomami białek tau a objętością mózgu (rezonans magnetyczny)[1].

Uzyskane wyniki wskazują na znaczenie oznaczania stężenia białka tau całkowitego i tau-fosfo w rozpoznaniu ch.A. i MCI.