

**Uniwersytet Medyczny
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu**

ROZPRAWA DOKTORSKA

Wykładniki ciśnienia tętniczego w chorobach
zwyrodnieniowych układu nerwowego

mgr farm. Łukasz Wolny

Praca wykonana
w Pracowni Neurobiologii Katedry Neurologii UMP

Promotor:
dr hab. Jolanta Dorszewska

Poznań 2014

Pragnę serdecznie podziękować Pani dr hab. Jolancie Dorszewskiej za życzliwość, cierpliwość i opiekę w trakcie powstawania tej pracy.

Ogromne podziękowania kieruję w stronę mojej małżonki, za cierpliwość, wyrozumiałość i wsparcie.

Podziękować pragnę także moim Rodzicom, za wszystko, także za naukę konsekwencji i wytrwałości.

Łukasz Wolny

Słowa kluczowe: aminy biogenne, metoksykatecholaminy, *COMT*, *MAO-A*, *NET*,
zaburzenia ruchowe

Spis treści

1. Wprowadzenie.....	10
1.1. Regulacja ciśnienia krwi.....	10
1.2. Synteza i metabolizm amin biogennych.....	12
1.2.1. Synteza i metabolizm noradrenaliny i adrenaliny.....	12
1.2.2. Synteza i metabolizm serotoniny.....	14
1.3. Zaburzenia regulacji ciśnienia tętniczego krwi.....	15
1.3.1. Nadciśnienie tętnicze krwi.....	15
1.3.2. Niedociśnienie ortostatyczne.....	16
1.3.3. Metody oceny niewydolności układu autonomicznego.....	17
1.4. Choroba Parkinsona.....	18
1.4.1. Rys historyczny.....	18
1.4.2. Definicja choroby Parkinsona.....	18
1.4.3. Epidemiologia choroby Parkinsona.....	19
1.4.4. Patologiczne białka choroby Parkinsona.....	21
1.4.4. Patomechanizm choroby Parkinsona.....	26
1.4.4.1. Stres oksydacyjny i nitracyjny.....	26
1.4.4.2. Napływ jonów wapnia.....	28
1.4.4.3. Czynniki stanu zapalnego.....	28
1.4.5. Uwarunkowania genetyczne choroby Parkinsona.....	28
1.4.6. Diagnostyka choroby Parkinsona.....	29
1.4.6.1. Kryteria klinicznego rozpoznania choroby Parkinsona.....	30
1.4.6.2. Objawy kliniczne w chorobie Parkinsona.....	31
1.4.6.3. Zaburzenia funkcji poznawczych w chorobie Parkinsona.....	33
1.4.6.4. Objawy depresji u chorych z chorobą Parkinsona.....	34
1.4.7. Leczenie choroby Parkinsona.....	34
1.4.7.1. Leczenie dopaminergiczne w chorobie Parkinsona.....	34
1.4.7.2. Leczenie niedopaminergiczne w chorobie Parkinsona.....	36
1.4.7.3. Leczenie zaburzeń pozaruchowych w chorobie Parkinsona.....	38
1.4.8. Ciśnienie tętnicze krwi a choroba Parkinsona.....	38
1.4.9. Aminy biogenne i ich metabolity a choroba Parkinsona.....	40
1.4.10. Metabolizm amin biogennych a choroba Parkinsona.....	43
1.4.11. Aminy biogenne a objawy kliniczne choroby Parkinsona.....	47
1.5. Inne choroby przebiegające z zaburzeniami ruchowymi.....	48
1.5.1. Epidemiologia zaniku wieloukładowego.....	48
1.5.2. Zmiany patologiczne w zaniku wieloukładowym.....	48

1.5.3. Diagnostyka zaniku wieloukładowego.....	50
1.5.4. Leczenie zaniku wieloukładowego.....	50
1.6. Diagnostyka różnicowa zaburzeń ruchowych.....	50
1.6.1. Badania neuroobrazowe w zaburzeniach ruchowych.....	50
1.6.2. Trudności diagnostyczne u chorych z zaburzeniami ruchowymi.....	51
2. Cel pracy.....	53
3. Materiał i metody.....	54
3.1. Materiał.....	54
3.2. Metody.....	58
3.3. Statystyczna ocena wyników.....	62
4. Wyniki.....	63
5. Dyskusja.....	79
6. Wnioski.....	91
7. Piśmiennictwo.....	92
8. Streszczenie.....	109
9. Summary.....	111
10. Spis rycin.....	113
11. Spis tabel.....	114

Alfabetyczny wykaz skrótów stosowanych w pracy

4-HNE - 4-hydroksy-2-nonenal

5-HT - serotonina, 5-hydroksytryptamina

5-HTTLPR - (ang. *serotonin transporter linked polymorphic region*)

A - adenina

A - adrenalina

AADC - dekarboksylaza aminokwasów aromatycznych (ang. *aromatic L-amino acid decarboxylase*)

ACTH - hormon adrenokortykotropowy (ang. *adrenocorticotropic hormone*)

ADHD - (ang. *attention deficit hyperactivity disorder*)

ALDH - dehydrogenaza aldehydowa (ang. *aldehyde dehydrogenase*)

AMPA – α -amino-3-hydroksy-5-metylo-4-izooksazolopropionowy, analog glutaminianu

APJ - receptor apelinowy

Arg - arginina

ASN - alfa-synukleina (ang. *alpha-synuclein*)

AT₁ - receptor angiotensynowy 1

AT₂ - receptor angiotensynowy 2

B₂R – receptor bradykininowy 2

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

BNP - mózgowy peptyd natriuretyczny (ang. *brain natriuretic peptide*)

cAMP - adenozybonomonofosforan

CB - kalbindyna-B (ang. *calbindin B*)

CBD - zwyrodnienie korowo-podstawne (ang. *corticobasal degeneration*)

CBS - beta-syntaza cystationiny (ang. *cystathionine beta synthase*)

ChA - choroba Alzheimerera

ChP - choroba Parkinsona

CNP - peptyd natriuretyczny typu C (ang. *C-type natriuretic peptide*)

COMT - katecholo-O-metylotransferaza

Cys - cysteina

DA - dopamina

DAT - transporter dopaminy (ang. *dopamine transporter*)

DBH - β -hydrolaza dopaminy (ang. *dopamine- β -hydroxylase*)

DHPG - dihydroksyfenyloglikol (ang. *dihydroxyphenylglycol*)

DLB - otępienie z ciałami Lewy'ego (ang. *dementia with Lewy bodies*)

dNTPs – trifosforany deoksynukleotydów (ang. *deoxynucleotide triphosphates*)

DOPAC - kwas 3,4-dihydroksyfenylooctowy (ang. *3,4-dihydroxyphenylacetic acid*)
DOPAL - dihydroksyfenyloacetaldehyd (ang. *3,4-dihydroxyphenylacetaldehyde*)
DOPET - 3,4-dihydroksyfenyloetanol (ang. *3,4-dihydroxyphenylethanol*)
ECE - enzym konwertujący endotelinę (ang. *ET converting enzymes*)
ELLDOPA - (ang. *Earlier versus Later Levodopa*)
ET-1- endotelina-1 (ang. *endothelial cell-derived peptide*)
G – guanina
GABA- kwas gamma-aminomasłowy
GBA - beta-glukocerebrozydaza
GDNF - czynnik neurotroficzny pochodzenia glejowego (ang. *glial cell-derived neurotrophic factor*)
GSH - glutation (ang. *glutathione*)
His - histydyna
HPLC - wysokosprawna chromatografia cieczowa (ang. *high performance liquid chromatography*)
HPLC/EC - wysokosprawna chromatografia cieczowa z detekcją elektrochemiczną
IBR - domena między pierścieniami (ang. *in-between-ring*)
LB - ciała Lewy'ego (ang. *lewy body*)
L-dopa - lewodopa, L-dihydroksyfenyloalanina
Leu - leucyna
Lys - lizyna
MA - metoksyadrenalina (metanefryna)
MAO - monoaminooksydaza
MAPT - związane z mikrotubulami białko tau (ang. *microtubul associated protein tau*)
MB-COMT - catecholo-tleno-metylotransferaza związana z błoną (ang. *membrane-bond*)
MDA - dialdehyd malonowy (ang. *malonyldialdehyde*)
Met – metionina
MHC – główny układ zgodności tkankowej (ang. *major histocompatibility complex*)
MNA - metoksynoradrenalina (normetanefryna)
MPTP - 1-metylo-4-fenyl-1,2,3,6-tetrahydropirydyna (ang. *1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine*)
MRI - rezonans magnetyczny (ang. *magnetic resonance imaging*)
MSA - zanik wieloukładowy (ang. *multiple system atrophy*)
MSA-P - MSA z dominującymi objawami parkinsonowskimi (ang. *MSA with predominant parkinsonism*)
NA - noradrenalina
NAC - fragment nieamyloidowy (ang. *non-Abeta component*)
NADH - dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy (ang. *nicotinamide adenine dinucleotide*)
NET - transporter noradrenaliny (ang. *norepinephrine transporter*)

NFH - neurofilamenty z podjednostką ciężką (ang. *neurofilaments heavy*)
NFL - neurofilamenty z podjednostką lekką (ang. *neurofilaments light*)
NFM - neurofilamenty z podjednostką pośrednią (ang. *neurofilaments medium*)
NMDA - kwas N-metylo-D-asparginowy (ang. *N-methyl-D-aspartate*)
NO - tlenek azotu (ang. *nitric oxide*)
NOS - syntaza tlenku azotu (ang. *nitric oxide synthase*)
NPR-A - receptor A peptydu natriuretycznego (ang. *natriuretic peptide receptors A*)
NPR-B - receptor B peptydu natriuretycznego (ang. *natriuretic peptide receptors B*)
NPY - neuropeptyd Y
OUN - ośrodkowy układ nerwowy
PAA - żele poliakrylamidowe
Pael-R – homolog receptora endoteliny (ang. *Parkin-associated endothelin receptor-like receptor*)
PAF - pierwotna niewydolność autonomiczna (ang. *pure autonomic failure*)
PCR - reakcja polimerazy łańcuchowej (ang. *polimerase chain reaction*)
PDD - choroba Parkinsona z otępieniem (ang. *Parkinson's disease dementia*)
PEA - 2-fenyletyloamina (ang. *2-phenylethylamine*)
PET – pozytonowa emisyjna tomografia komputerowa (ang. *positron emission tomography*)
PSP - postępujące porażenie nadjądrowe (ang. *progressive supranuclear palsy*)
R - rozkurczowe ciśnienie tętnicze krwi
RAA - układ renina-angiotensyna-aldosteron
RFLP - polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych (ang. *restriction fragment length polymorphism*)
RFT - reaktywne formy tlenu
S - skurczowe ciśnienie tętnicze krwi
SChP- sporadyczna postać choroby Parkinsona
Ser - seryna
SERT – transporter wychwyty zwrotnego serotoniny (ang. *serotonin reuptake transporter*)
SOD - dysmutaza ponadtlenkowa (ang. *superoxide dismutases*)
TGF-beta - transformujący czynnik wzrostu $\beta 1$ (ang. *transforming growth factor beta*)
Thr - treonina
TNF-alfa - czynnik martwicy nowotworów (ang. *tumor necrosis factor*)
tPA - tkankowy aktywator plazminogenu (ang. *tissue plasminogen activator*)
Trp - tryptofan
Tyr - tyrozyna
RChP- rodzinna postać choroby Parkinsona
S-COMT - forma rozpuszczalna COMT (ang. *soluble*)

SPECT – tomografia emisyjna pojedynczych fotonów (ang. *single-photon emission computed tomography*)

REM – faza snu o szybkich ruchach gałek ocznych (ang. *rapid eye movement*)

UBL - ubikwitynopodobna domena N-końcowa (ang. *N-terminal ubiquitin-like*)

UCHL1 - hydroksylaza L1 C-terminalnej ubikwityny (ang. *ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1*)

UKPDSBB - (ang. *United Kingdom Parkinson's Disease Society Brain Bank*)

UPDRS3 - (ang. *Unified Parkinson's Disease Rating Scale*)

Val - walina

VEGF - naczyniowy śródbłonkowy czynnik wzrostu (ang. *vascular endothelial growth factor*)

VNP - wazoaktywny peptyd natriuretyczny (ang. *ventricular natriuretic peptide*)

WChP- choroba Parkinsona o wczesnym początku

1. Wprowadzenie

1.1. Regulacja ciśnienia krwi

Ciśnienie tętnicze krwi jest regulowane przez wiele czynników, m.in. przez endoteliny. Endotelina-1 (ang. *endothelial cell-derived peptide*, ET-1) jest najsilniej działającym czynnikiem wazokonstrykcyjnym. Powstaje ona w wyniku rozcięcia pierwotnego polipeptydu przez enzym konwertujący endotelinę (ang. *ET converting enzymes*, ECE), znajdujący się głównie w ścianach śródbłonna naczyniowego. Endotelina rozkładana jest przez endopeptydazy i deamidazę. Jej wydzielanie jest hamowane przez tlenek azotu (ang. *nitric oxide*, NO), przedsiorkowy czynnik natriuretyczny, prostaglandynę E₂ oraz prostacyklinę. [47,160]

Innym czynnikiem regulującym ciśnienie tętnicze krwi jest wazoaktywny peptyd natriuretyczny (ang. *ventricular natriuretic peptide*, VNP), wytwarzany głównie w mięśniówce przedsionków. Należy on do rodziny peptydów natriuretycznych, do której należą także: mózgowy peptyd natriuretyczny (ang. *brain natriuretic peptide*, BNP) wytwarzany w mózgu i peptyd natriuretyczny typu C (ang. *C-type natriuretic peptide*, CNP), powstający w śródbłonku naczyń. Peptydy te przez wiązanie się z receptorami NPR-A i NPR-B (ang. *natriuretic peptide receptors A, B*) hamują układ renina-angiotensyna-aldosteron (RAA), układ współczulny (obniżając tętno i ciśnienie krwi), powodują niezależny od śródbłonna naczyniowego rozkurcz tętnic, działają przeciwzapalnie oraz hamują włóknienie naczyń.

Na regulację ciśnienia krwi wpływa również hormon antydiuretyczny, wazopresyna, wytwarzana w podwzgórzcu i pozapodwzgórzowo w miejscu sinawym i prążku krańcowym. Wazopresyna jest transportowana włóknami neuronalnymi i po uwolnieniu do krwi, wiąże się z receptorami: V_{1A}, V_{1B} (kurcząc mięśnie gładkie naczyń), z receptorami V₂ (zwiększając napływ wody akwaporynami ze światła nefronu i ekspresję akwaporyn w nabłonku) powodując odpowiednio wzrost oporu naczyń i zatrzymanie wody oraz spadek ciśnienia osmotycznego krwi. Wazopresyna uwalniana jest pod wpływem wzrostu ciśnienia osmotycznego krwi, spadku objętości płynu pozakomórkowego, bólu, nudności i wymiotów.

Innymi czynnikami regulującymi ciśnienie krwi są neuroprzekaźniki i hormony, m.in. adrenomedulina występująca w rdzeniu nadnerczy. Rozszerza ona naczynia krwionośne pod wpływem wysokiego ciśnienia krwi. Substancja P jest neuroprzekaźnikiem w obszarze czarno-prążkowiowym i podwzgórzcu oraz w drogach nocycyptywnych w rogach tylnych rdzenia kręgowego i również silnie rozszerza naczynia krwionośne. Natomiast peptyd zależny od genu kalcytoniny jest neuropeptydem o działaniu chrono- i inotropowym dodatnim i wazorelaksacyjnym.

Tkankowy układ kalikreina-kinina składa się z kalikrein rozcinających kininogeny do aktywnych kinin. Kininy za pośrednictwem receptorów rozszerzają naczynia krwionośne

w mechanizmie zależnym od NO i obniżają ciśnienie krwi. Kininy rozkładane są przez konwertazę angiotensyny II.

Leptyna, wytwarzana w adypocytach, jest niezależnym od masy ciała czynnikiem podnoszącym ciśnienie krwi, pobudza ona układ autonomiczny. [47]

Apelina jest substratem dla enzymu konwertującego angiotensynę II. Funkcja apeliny nie jest w pełni poznana. Wiadomo, że apelina jest odpowiedzialna za hamowanie utraty wody z organizmu przez nerki. Receptory dla apeliny (zwane także APJ), są rozmieszczone w całym ciele, ale w największej ilości występują w sercu i płucach, a w mniejszej w korze nerek. Receptory apeliny tworzą dimery z receptorami angiotensynowymi (AT_1). Preproapelina występuje w sercu w postaci dimeru, zawierającego pary aminokwasów zasadowych [(arginina) Arg-Arg, Arg-Lys (lizyna)] będących miejscami cięcia dla endopeptydaz.

Apelina obwodowo powoduje obniżenie ciśnienia tętniczego krwi, rozkurcz naczyń oporowych (tętnicy trzewnej), w mechanizmie zależnym od NO, oraz skurcz żyły odpiszczelowej i tętnicy piersiowej, bezpośrednio działając na mięśnie gładkie naczyń. Apelina działa niezwykle silnie inotropowo dodatnio, ponadto stymuluje angiogenezę, działa mitogennie na śródbłonek naczyń i mięśniówkę gładką. Ośrodkowo hamuje ona aktywność i uwalnianie neuronów wazopresynowych, zwiększając diurezę. Odwodnienie organizmu zwiększa ośrodkową ekspresję apeliny i hamuje ekspresję wazopresyny w neuronach wielkokomórkowych. Obwodowy poziom apeliny ulega obniżeniu w odwodnionym organizmie. [350]

Innym układem regulującym ciśnienie krwi jest układ RAA. Renina wytwarzana w jajnikach, śliniankach, nadnerczach i oku, jako proenzym prorenina, jest wychwytywana z krwi przez komórki aparatu przykłębuszkowego nerek, rozcinana za pomocą katepsyny B oraz magazynowana w siateczce śródplazmatycznej. [54]

Angiotensynogen produkowany w wątrobie i uwalniany do krwioobiegu jest rozcinany przez reninę (uwalnianą do krwi przez aparat przykłębuszkowy nerek) do angiotensyny I (dekapeptydu), a następnie przekształcany przez konwertazę angiotensyny (mataloproteinazę związaną z błoną komórkową śródbłonek naczyń krwionośnych, przede wszystkim krążenia płucnego) do angiotensyny II (oktapeptydu). Angiotensyna II wiąże się z receptorami AT_1 i AT_2 . Jej wiązanie z receptorem AT_1 prowadzi do skurczu naczyń i wzrostu ciśnienia krwi, przez bezpośrednie działanie na receptory mięśniówki gładkiej naczyń (w mechanizmie zależnym od Ca^{2+} , jak i przez aktywację kinazy Janusowej 2, kinazy Rho i hamowanie lekkiego łańcucha miozyny), a także nasilenie skurczu naczyń peryferyjnych przez aktywację ośrodkowego układu nerwowego (OUN). Angiotensyna II działa także na kanalik proksymalny nefronu, zwiększając w ten sposób fosforylację i pracę wymiennika Na^+/H^+ typu 3. Oddziałuje również na obszar aldosterono-wrażliwy nefronu, działając podobnie do aldosteronu na transporter Na^+-Cl^- wrażliwy na tiazidy w kanaliku dystalnym nefronu oraz, w mniejszym stopniu, na nabłonkowy kanał Na^+ w dalszej części kanalika dystalnego i kanalikach zbiorczych. [313]

O ile układ RAA razem ze zwiększonym napięciem mięśniowym jest w stanie regulować ciśnienie krwi przy udziale rdzeniowych odruchów współczulnych (nawet przy uszkodzeniach rdzenia kręgowego) to kontrola ciśnienia w trakcie pionizacji wymaga aktywizacji ośrodkowo kontrolowanej regulacji ciśnienia krwi z poziomu mózgowia, przez zwiększenie powrotu żylnego i wazokonstrykcję naczyń, pod wpływem układu współczulnego. [249]

Za krótkoterminowe regulowanie ciśnienia krwi odpowiedzialny jest przede wszystkim układ współczulny. Układ przywspółczulny odgrywa rolę głównie przy regulacji pracy serca, wpływając na zwiększony powrót żylny blokowaniem układu współczulnego, stymulowaniem wydzielania przedsionkowego peptydu natriuretycznego i hamowaniem wydzielania wazopresyny. Układ współczulny bierze udział również w długoterminowej regulacji ciśnienia krwi przez stymulację nerki do wydzielania reniny. Jako jedyny z układów pozwala zarówno na szybką, jak i długofalową kontrolę ciśnienia krwi. [47]

Układ współczulny reguluje sekrecję nadnerczy, za pośrednictwem tonicznej impulsacji włókien cholinergicznym i receptorów nikotynowych w nadnerczach. Z zakończeń współczulnych uwalniany jest także wazoaktywny peptyd jelitowy (również powodujący wyrzut katecholamin). Impulsacja docierająca do kory nadnerczy zwiększa działanie hormonu adrenokortykotropowego (ang. *adrenocorticotropic hormone*, ACTH). W odróżnieniu od kory nadnerczy, istotnie reagującej na różnorodne sygnały (hormonalne, nerwowe), rdzeń nadnerczy słabo reaguje na czynniki, takie jak: m.in. hipoksja, natomiast impulsacja nerwowa powoduje wyrzut katecholamin (głównie adrenaliny, A) z rdzenia nadnerczy. Wyrzucane do krwi są również enkefaliny, w postaci proenkefalin. [72]

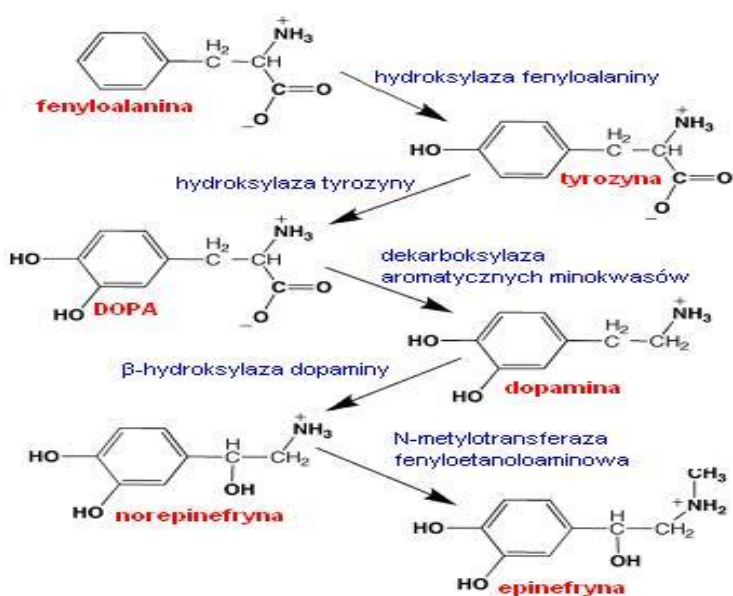
1.2. Synteza i metabolizm amin biogennych

Naturalnie występujące aminy biogenne w OUN można podzielić na dwie grupy, w zależności od rodzaju wyjściowego aminokwasu biorącego udział w ich biosyntezie. Aminokwas tyrozyna (Tyr) daje początek katecholaminom, natomiast tryptofan (Trp) uczestniczy w biosyntezie serotoniny, 5-HT.

1.2.1. Synteza i metabolizm noradrenaliny i adrenaliny

Syntezę i metabolizm trzech katecholamin: noradrenaliny (NA), A i dopaminy, DA przedstawiono na rycinach 1-3. [20,57]

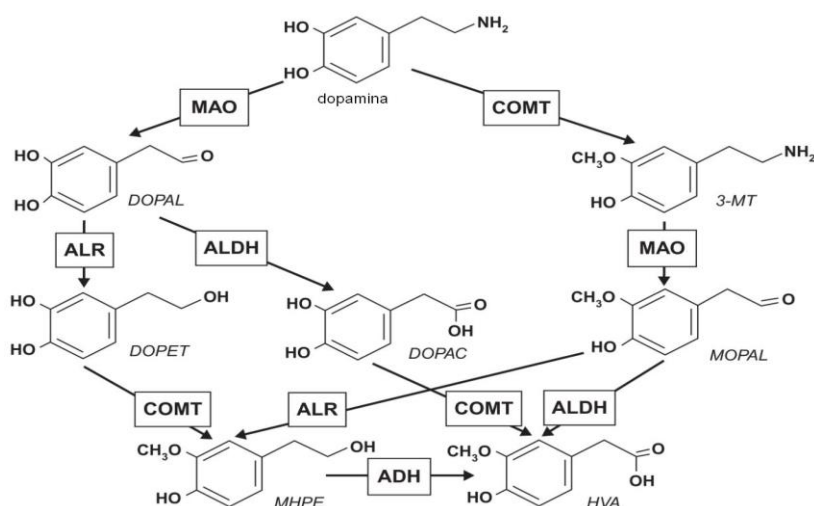
Ryc. 1. Synteza katecholamin [57]



Norepinefryna - noradrenalina, epinefryna - adrenalina.

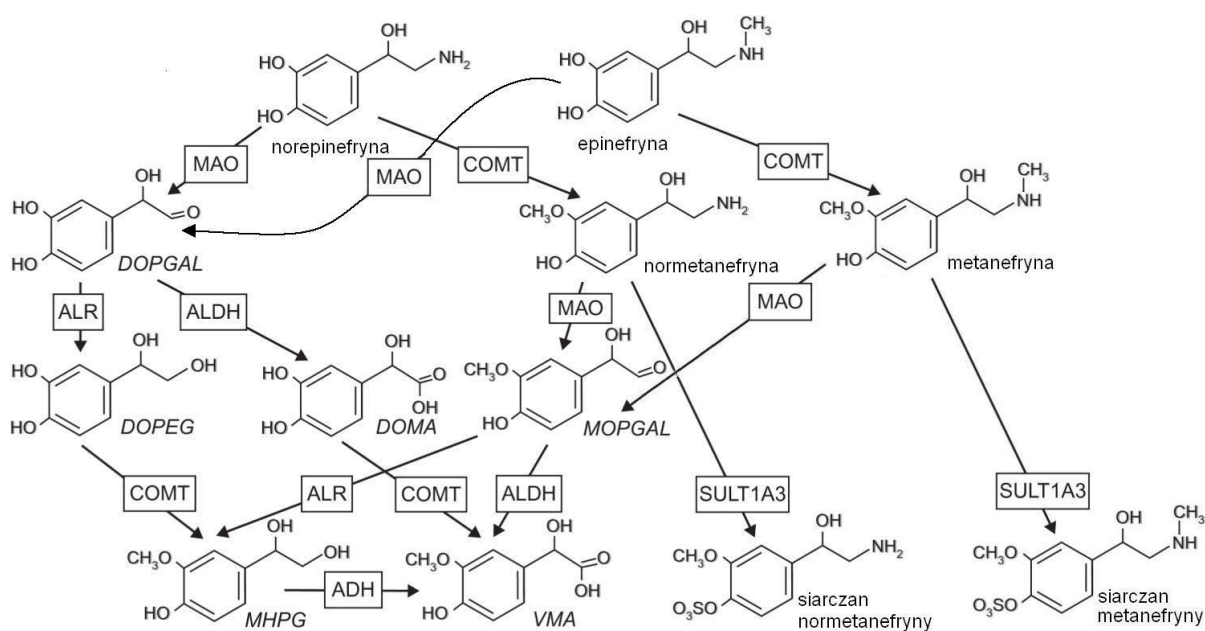
Hydroksylaza Tyr jest enzymem regulującym syntezę katecholamin. Jej aktywności jest kontrolowana przez fosforylację i defosforylację reszt serynowych (Ser), współzawodniczenie katecholamin o miejsce wiązania tetrahydropteryny, nitrację reszt Ser i glutationylację reszt cysteinowych (Cys) oraz wiązanie z białkami 14-3-3 lub alfa-synukleiną (ang. *alpha-synuclein*, ASN).

Ryc. 2. Metabolizm dopaminy [20]



DOPAL - aldehyd 3,4-dihydroksyfenylooctowy, 3-MT - 3-metoksytyramina, DOPET - 3,4-dihydroksyfenyloetanol, DOPAC - kwas 3,4-dihydroksyfenylooctowy, MOPAL - aldehyd 3-metoksy-4-hydroksyfenylooctowy, MHPE - 3-metoksy-4-hydroksyfenyloetanol, HVA - kwas homowanilinowy, ALR - reduktaza aldehydowa, ADH - dehydrogenaza alkoholowa, ALDH - dehydrogenaza aldehydowa, MAO - monoaminooksydaza, COMT - katecholo-O-metylotransferaza.

Ryc. 3. Metabolizm noradrenaliny i adrenaliny [20]

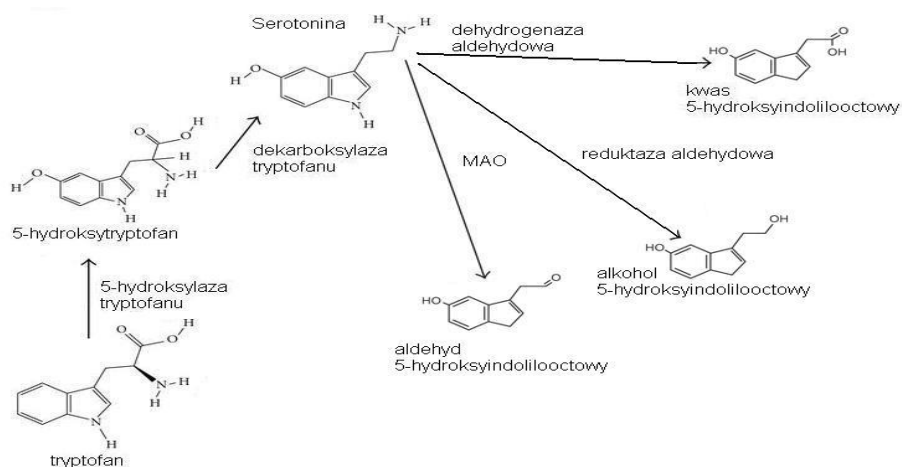


DOPAL - aldehyd 3,4-dihydroksyfenylooctowy, DOPEG - glikol 3,4-dihydroksyfenyloetylenowy, DOMA - kwas 3,4-dihydroksymigdałowy, MOPGAL - 3-metoksy-4-hydroksyfenyloglikoaldehyd, MHPG - glikol 3-hydroksy-4-metoksyfenyloetylenowy, VMA - kwas vanililomigdałowy, ALR - reduktaza aldehydowa, ADH - dehydrogenaza alkoholowa, ALDH - dehydrogenaza aldehydowa, SULT1A3 - sulfotransferaza 1A3, MAO - monoaminooksydaza, COMT - katecholo-O-metylotransferaza.

1.2.2. Synteza i metabolizm serotoniny

Syntezę i metabolizm 5-HT przedstawiono na rycinie 4. [13,20]

Ryc. 4. Synteza i rozkład serotoniny [13,20]



MAO – monoaminooksydaza.

1.3. Zaburzenia regulacji ciśnienia tętniczego krwi

1.3.1. Nadciśnienie tętnicze krwi

Nadciśnienie tętnicze krwi, czyli podwyższone ciśnienie tętnicze krwi, jest jedną z najbardziej rozpowszechnionych chorób układu krążenia. [195] Mimo dziesiątków lat badań nad tym schorzeniem, nadciśnienie tętnicze pozostaje najczęstszą przyczyną śmierci i jedną z trzech głównych przyczyn inwalidztwa na świecie. Zadawalająca kontrola ciśnienia krwi dotyczy zaledwie 30% leczonych chorych. Z powodów praktycznych terminu "nadciśnienie" używamy w odniesieniu do ciśnienia skurczowego krwi powyżej 139 mmHg lub ciśnienia rozkurczowego powyżej 89 mmHg, stosując się do poniższej tabeli 1.

Tabela 1. Praktyczne wytyczne oceny nadciśnienia tętniczego krwi [195]

Kategoria ciśnienia tętniczego krwi	Ciśnienie skurczowe krwi [mmHg]		Ciśnienie rozkurczowe krwi [mmHg]
optymalne	<120	i	<80
normalne	120-129	lub	80-84
normalne wysokie	130-139	lub	85-89
nadciśnienie 1. stopnia	140-159	lub	90-99
nadciśnienie 2. stopnia	160-179	lub	100-109
nadciśnienie 3. stopnia	≥180	lub	≥110
izolowane nadciśnienie skurczowe	≥140	i	<90

Izolowane nadciśnienie skurczowe powinno być stopniowane (1, 2, 3) według wartości ciśnienia skurczowego pod warunkiem, że ciśnienie rozkurczowe nie przekracza 90 mmHg.

Granica określająca nadciśnienie tętnicze krwi powinna być wyznaczana elastycznie w odniesieniu do ryzyka sercowo-naczyniowego każdego chorego.

Nadciśnienie pierwotne, występujące u większości populacji (około 90% ogółu przypadków nadciśnienia tętniczego) ma niewyjaśnioną etiologię, przypuszczalnie wieloczynnikową. Czynniki predysponującymi do jego powstawania mogą być m.in. uwarunkowania genetyczne, czyli występowanie nadciśnienia tętniczego w rodzinie [165], układ RAA, układ współczulny, będący najważniejszym czynnikiem występowania podwyższonego ciśnienia tętniczego zarówno chwilowego, jak i przedłużonego (utrzymujące się dłużej a wzmożone napięcie układu współczulnego może doprowadzić do przerostu lewej komory serca i rozwoju nadciśnienia), peptydowe hormony natriuretyczne (przyczyniają się do utrzymania stałej wartości ciśnienia a ich niedobór może powodować nadciśnienie tętnicze), substancje wytwarzane przez komórki śródbłonka (NO, endoteliny), niektóre leki, czynniki pozaustrojowe i parametry osobnicze (mała aktywność fizyczna, stres, otyłość, wysokie spożycie soli). Rozpoznanie nadciśnienia tętniczego pierwotnego jest trudne

z uwagi na to, że może ono przez wiele lat przebiegać bezobjawowo, a pojawiające się objawy są często mało charakterystyczne (ból głowy, zaburzenia snu, czy szybkie męczenie się). Nadciśnienie tętnicze często wykrywane jest podczas rutynowego pomiaru ciśnienia krwi lub przez zaobserwowanie pewnych odchyłeń w badaniach laboratoryjnych, m.in. podwyższony poziom mikroalbuminy, będący pierwszym wskaźnikiem uszkodzenia nerek w wyniku nadciśnienia tętniczego.

Obok nadciśnienia pierwotnego wyróżniamy też nadciśnienie wtórne. Nadciśnienie wtórne może być następstwem, niektórych schorzeń: chorób nerek, w tym mięsaszowych (nefropatia cukrzycowa, zapalenie kłębuszków nerkowych, torbielowatość nerek) lub nadciśnienia naczyniowonerkowego, chorób gruczołów wydzielania wewnętrznego (guz chromochłonny nadnercza, zespół Cushinga, nadczynność bądź niedoczynność tarczycy, akromegalia), chorób neurologicznych (stan zwiększonego ciśnienia wewnątrzczaszkowego, porażenie czterokończynowe, neuralgie, guz mózgu, dysautonomie) lub leków i substancji toksycznych. Przyczyną nadciśnienia jest także wzrost kurczliwości naczyń po ich przeroście. [290]

1.3.2. Niedociśnienie ortostatyczne

Niedociśnieniem ortostatycznym nazywamy obniżenie ciśnienia tętniczego krwi związane ze zmianą pozycji, z leżącej na stojącą. Liczne badania wskazują, że niedociśnienie ortostatyczne dotyczy nawet 20% osób powyżej 65. r.ż. Najczęściej przebiega ono bezobjawowo, niekiedy występuje u chorych z nadciśnieniem tętniczym w pozycji leżącej. Stosowanie leków hipotensyjnych u chorych zwiększa objawy niedociśnienia ortostatycznego. [251]

Niedociśnienie ortostatyczne oznacza spadek ciśnienia tętniczego, skurczowego (S) lub/i rozkurczowego (R), najczęściej większy niż 20 i 10 mmHg, odpowiednio, po przyjęciu pozycji pionowej, niezależnie od objawów towarzyszących, trwający mniej niż 3 min. Niedociśnienie ortostatyczne jest związane z niezdolnością organizmu do kompensacji szybkiej zmiany pozycji ciała, podczas której pod wpływem siły grawitacji większość krwi dociera do dolnych partii ciała, a mniejsza ilość do serca.

Objawami klinicznymi niedociśnienia ortostatycznego są: zawroty i ból głowy, uczucie lekkiej głowy, zamazane widzenie, mroczki przed oczami. W niektórych przypadkach może dochodzić nawet do omdleń, w następstwie niskiego ciśnienia wewnątrzczaszkowego. Chorzy z niedociśnieniem ortostatycznym mają trudności w poruszaniu się, są bardziej podatni na upadki i omdlenia. Uważa się, że niedociśnienie ortostatyczne może prowadzić do zaburzeń kardiologicznych, zawału serca i udaru mózgu. [102,290,353]

Leczenie niedociśnienia ortostatycznego opiera się przede wszystkim na znalezieniu przyczyny, która może być związana ze stanem chorobowym lub zażywaniem leków. Farmakoterapia niedociśnienia ortostatycznego polega na zwiększeniu podaży płynów i soli kuchennej (10g/d) do

organizmu, podawaniu fludrokortyzonu lub wazokonstryktorów (midodryny), bromku pirydostrygminy lub blokerów receptorów β (metoprolol, pindolol). [102]

1.3.3. Metody oceny niewydolności układu autonomicznego

Niewydolność układu autonomicznego może być jedną z przyczyn niedociśnienia ortostatycznego. Istnieje wiele testów dostarczających informacji o funkcjonowaniu układu autonomicznego:

- **Morfologia krwi**

W niewydolności układu autonomicznego obserwuje się upośledzenie czynności nerek (spadek poziomu hematokrytu, hemoglobiny i ilości erytrocytów). [92]

- **Próba Valsalva**

Próba Valsalva lub głębokie oddychanie to ocena funkcjonowania nerwu błędnego, w rzeczywistości ocena przywspółczulnego układu cholinergicznego, ale nie współczulnego układu noradrenergicznego. [4]

- **Test z johimbina**

Johimbina jest blokerem receptora α_2 -adrenergicznego (po stronie presynaptycznej), zwiększa uwalnianie NA z nerwów współczulnych, powodując zarówno wzrost ciśnienia krwi, jak i stężenia NA we krwi u osób z prawidłową czynnością neuronów współczulnych.

- **Test z tyraminą**

Nerwy współczulne wychwytyją tyraminę za pomocą błonowego transportera NA (ang. *norepinephrine transporter*, NET). Zgromadzona tyramina ulega następnie wchłanianiu do pęcherzyków neurosekcyjnych, a NA jest wypierana z układów transportujących i ulega pod wpływem MAO deaminacji do DHPG (ang. *dihydroxyphenylglycol*). Wpływ tyraminy na wzrost poziomu DHGP w osoczu jest wykładnikiem wychwyty zwrotnego i obrotu NA. Osłabienie odruchów z baroreceptorowych i nadwrażliwość receptorów adrenergicznych, w związku z odnerwieniem może powodować silniejszy wzrost ciśnienia tętniczego krwi przy niewielkim wzroście poziomu NA we krwi.

- **Test z trimetafanem**

Trimetafan blokuje receptory nikotynowe i hamuje pobudzenie neuronów zazwojowych, obniża poziom NA we krwi i ciśnienie tętnicze krwi. Efekt działania trimetafanu jest stosunkowo duży u osób z prawidłową funkcją współczulnych neuronów noradrenergicznych.

- **Test z izoproterenolem**

Izoproterenol pobudza nieselektywnie receptory β -adrenergiczne, prowadząc do uwalniania NA, w odpowiedzi na wazodylatację (odruchowy wzrost aktywności współczulnej) i pobudzenie neuronów współczulnych. Chorzy z upośledzoną funkcją neuronów noradrenergicznych wykazują zmniejszony

wyrzut NA w odpowiedzi na próbę tego testu. Ponadto może dochodzić do wygórowanej odpowiedzi serca na izoproterenol z powodu regulacji „w górę” (ang. *up-regulation*) w wyniku współczulnego odnerwienia serca.

- **Poziom noradrenaliny w osoczu**

Poziom NA w osoczu osób zdrowych podwaja się w ciągu 5 min. od pionizacji. U chorych z neuropochodnym niedociśnieniem ortostatycznym (np. u chorych z chorobą Parkinsona, ChP; z zanikiem wieloukładowym, ang. *multiple system atrophy*, MSA; z pierwotną niewydolnością autonomiczną, ang. *pure autonomic failure*, PAF) wzrost stężenia NA następuje o mniej niż 60% (1nM; 150pg/ml). [102] U chorych na ChP i MSA w trakcie odpoczynku w pozycji stojącej, poziom NA jest zwykle prawidłowy. Natomiast u chorych z PAF poziom NA jest zwykle niski. Prawidłowy poziom NA u chorych na ChP nie musi oznaczać prawidłowości działania całego układu noradrenergicznego. U chorych z PAF ma miejsce upośledzenie transportu zwrotnego NA w całym organizmie. Natomiast u chorych z MSA transport zwrotny NA jest niezmieniony.

- **Poziom DHPG w osoczu**

Poziom DHPG w osoczu lepiej, niż NA określa prawidłowość unerwienia noradrenergicznego. U chorych z ChP i PAF poziom DHPG jest obniżony, a u chorych z MSA jest prawidłowy. [99]

1.4. Choroba Parkinsona

1.4.1. Rys historyczny

Choroba Parkinsona została po raz pierwszy opisana w 1817 roku przez angielskiego lekarza, James Parkinson, w pracy „An Essay on the Shaking Palsy”. Przypadki osób z objawami charakterystycznymi dla ChP z XVII – XVIII wieku były opisane przez Sylviusa de la Boe, czy Junckera. Wydaje się jednak, że ChP towarzyszyła ludzkości od dużo wcześniejszych lat. Opisy wskazujące na objawy ChP można spotkać w Biblii, w księdze Koheleta, datowanej na II-III wiek p.n.e., w papirusie egipskim z XIII wieku p.n.e., a nawet w starohinduskich księgach Ayurwedy sprzed ponad 4,5 tys. lat.

James Parkinson określił chorobę, jako „drżączka porażna”, choć szerzej rozpowszechniło się określenie zaproponowane przez Jean-Martin Chaecot’a „choroba Parkinsona”. W 1895 roku Brissaud wykazał, że w ChP proces zwyrodnieniowy przebiega w śródmózgowiu, a w 1912 roku Lewy odkrył wtręty komórkowe w OUN, towarzyszące tej chorobie. [83]

1.4.2. Definicja choroby Parkinsona

Choroba Parkinsona jest przewlekle postępującym zaburzeniem neurodegeneracyjnym charakteryzującym się drżeniem spoczynkowym, sztywnością i spowolnieniem ruchowym. [84]

1.4.3. Epidemiologia choroby Parkinsona

Choroba Parkinsona jest niewątpliwie związana z wiekiem i starzeniem się organizmu. Średni wiek zachorowania na tę chorobę wynosi 58 lat, choć zdarzają się zachorowania w 3. dekadzie życia, a nawet przed 30. r.ż. Roczna zapadalność według różnych danych szacunkowych wynosi 12,6-20 osób/100 tys. mieszkańców. Istnieją źródła wskazujące na szersze przedziały 1,5-26 zachorowań na 100 tys. osób/rok. [70] W populacji powyżej 49. r.ż. zapadalność na ChP wynosi 32/100 tys. osób/rok, a w populacji powyżej 64. r.ż. zapadalność wzrasta do 252/100 tys./rok (207-396/100 tys. mężczyzn i 127-259/100 tys. kobiet rocznie). [150] Potwierdzają to także inne badania wskazujące na znaczący wzrost zapadalności na ChP po 65. r.ż.: 89-332/100 tys. osób/rok, [70,312] w porównaniu do danych dla populacji ogólnej: 13/100 tys. osób/rok. [308]

Na ChP częściej od kobiet chorują mężczyźni, 1,1-2,3 razy, odpowiednio. [312,333] Średnio początek choroby u kobiet występuje 2 lata później niż u mężczyzn. [22]

Choroba Parkinsona pod względem występowania jest drugą, po chorobie Alzheimera (ChA), chorobą zwyrodnieniową OUN. [52,301,330] W populacji ogólnej waha się w granicach 0,015%-0,8%. [71] Częstość występowania ChP w badaniach populacji Europy waha się w szerokich, budzących spory granicach: 0,00065% - 12,5%. [315] Częstość jej występowania może wskazywać na duże różnice nie tylko pomiędzy populacjami, nawet hrabstwami (w USA, 0,28-3,1%). [332] Częstość występowania ChP w światowej populacji wynosi 31-328/100 tys. osób. [180]

Choroba Parkinsona w populacji po 60. r.ż. w państwach uprzemysłowionych występuje z około 1%-ową częstością. [239] Częstość występowania ChP w populacji 65-69 r.ż. wynosi 0,5-1%, osiągając 1,5% w populacji po 70. r.ż., wzrastając do 1-3% w 8. dekadzie życia [52] i osiągając 4-5% w populacji powyżej 85. r.ż. [61,277] Inne źródła podają jeszcze znacznie wyższy wzrost jej występowania, do 3% w populacji powyżej 60. r.ż. [94] Po 89. r.ż. ryzyko zachorowania na ChP utrzymuje się już na stałym poziomie. [70] Natomiast ryzyko zachorowania w ciągu życia na ChP wynosi 2% (mężczyźni)-1,3% (kobiety) natomiast na inne zaburzenia ruchowe 3,7-4,4%. [27]

Ponadto stwierdza się mniejszą częstość występowania ChP w Chinach i Japonii, wskazującą najprawdopodobniej na mniejszą podatność rasy mongoloidalnej (żółtej) do zachorowania na tę chorobę zwyrodnieniową (0,017%). [294,336] Doniesienia piśmiennictwa wskazują na częstsze występowanie ChP wśród ludności pochodzenia hiszpańskiego, 1,1:1 w stosunku do rasy kaukaskiej. [70,312,332,333] Zatem, częstość występowania ChP w populacji po 64. r.ż. wynosi 2,2% dla rasy kaukaskiej, 1% wśród rasy negroidalnej (czarnej) i 1,1% u rasy mongoloidalnej. [332]

Częstość występowania ChP w populacji Kalkuty wynosi 0,053%, a roczna zapadalność na tę chorobę 0,06%. Niektóre dane wskazują również na mniejszą tendencję tej populacji do zapadania na ChP, niż u rasy kaukaskiej, a nawet w populacji chińskiej czy japońskiej. [55] Stwierdzono istotnie niższe ryzyko zachorowania na ChP w populacji ludności slamsów w stosunku do ludności miejskiej,

niezamieszkującej slamsów. [55,266] Jak się wydaje, silna selekcja naturalna w trudnych warunkach bytowych może być czynnikiem wpływającym na nie ujawnianie się klasycznych zaburzeń ruchowych w ChP z powodu wcześniejszego istnienia objawów pozaruchowych.

W USA, ChP częściej występuje wśród mieszkańców terenów silnie zurbanizowanych, niż wiejskich 1,71% i 1,37% ($p=0,01$), odpowiednio. [332] Zapadalność na ChP jest większa na terenach uprzemysłowionych, z narażeniem środowiskowym na jony Cu^{2+} , Al^{3+} (wśród mężczyzn) i Hg^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{3+} i Pb^{2+} [263,277,335] i wynosi odpowiednio dla Cu^{2+} (1,64:1), Pb^{2+} (1,41:1), Mn^{2+} (2,5:1). [333] Obserwuje się zwiększone ryzyko wystąpienia ChP u spawaczy, narażonych na kontakt z szeregiem metali ciężkich. [252] Stwierdzono również zwiększone ryzyko wystąpienia zespołu parkinsonowskiego u osób z kilkukrotnie podniesionym poziomem Mn^{2+} we krwi, na skutek zwłóknienia wątroby. [30] Spośród innych czynników ryzyka zachorowania na ChP należy wymienić występowanie rodzinne, związane z długotrwałym narażeniem zawodowym na kontakt z Cu^{2+} , Pb^{2+} , Fe^{3+} i Mn^{2+} [104,333] lub insektycydami, pestycydami (2-krotne zwiększenie ryzyka), herbicydami (m.in. dieldryną) i insektycydami. [277] Odnotowano również zwiększone ryzyko wystąpienia ChP wśród osób narażonych na rozpuszczalniki organiczne (przy wieloletnim narażeniu). [335] Istnieją jednak badania nie potwierdzające znaczenia metali ciężkich, np. Hg^{2+} , Zn^{2+} i Mn^{2+} [88], pestycydów i herbicydów [180,335], insektycydów i fungicydów [335] dla ujawnienia się ChP.

Ponadto wykazano zwiększone ryzyko wystąpienia ChP na obszarach wiejskich, wśród rolników-hodowców zwierząt, ale nie plantatorów. Obserwowano także związek ryzyka zachorowania na ChP ze spożywaniem wody ze studni oraz z obróbką drewna, chociaż nie został jednoznacznie określony czynnik patogeny. [27,335] Odnotowywano także wzrost zachorowania na ChP związany ze wzrostem wieku matki w momencie urodzenia dziecka. [91]

Dane epidemiologiczne wskazują także na zmniejszenie ryzyka zachorowania na ChP dzięki stosowaniu używek: kawa, herbata, alkohol i tytoń. [277] Istnieją przesłanki, zarówno epidemiologiczne, jak i doświadczalne wskazujące, że nikotyna zapobiega wystąpieniu zaburzeń ruchowych. [190] Fakt palenia kiedykolwiek w życiu tytoniu zmniejsza ryzyko wystąpienia ChP, szczególnie palenie w późniejszym okresie życia. Nie stwierdzono jednak związku obniżenia ryzyka wystąpienia ChP z ilością wypalanych dziennie papierosów, chociaż istnieje wyraźna korelacja z czasem trwania nałogu. Wykazano, że dla więcej, niż 20 papierosów dziennie przez 1-9; 10-19; 20-29 i powyżej 30 lat ryzyko wystąpienia ChP zmniejsza się odpowiednio o: 4, 22, 36 i 41% ($p=0,001$; dla ogółu palących $p=0,0001$). Wykazano również korelację między ryzykiem zachorowania na ChP, a ilością ogółem w życiu wypalonych papierosów ($p=0,0001$). [43,62] Podobne działanie ochronne wydają się posiadać estrogeny [336], także te stosowane w hormonalnej terapii zastępczej oraz ciąży, choć i te dane nie są jednoznaczne. [71]

Choroby z autoagresją nie zostały dotychczas jednoznacznie potwierdzone (sprzeczne dane), jako czynnik ryzyka ChP, mimo wykazanego związku stanów zapalnych z patogenezą tej choroby zwyrodnieniowej. [194] Jednocześnie wykazano, że przewlekłe stosowanie środków

przeciwwzapalnych zmniejsza ryzyko wystąpienia ChP. Wynik ten może maskować prozapalny efekt choroby reumatycznej, czy tocznia [262] pomimo stwierdzonego wzrostu ryzyka zachorowania na ChP pod wpływem czynników prozapalnych (m.in. IL-6). [42] Dopatrywano się również zwiększonego ryzyka wystąpienia ChP wśród chorych z cukrzycą, niedokrwistością (m.in. Addisona-Biermera), czy chorobą Graves-Basedowa, jednak dane te nie były jednoznaczne. [268]

Badania w modelach zwierzęcych wykazywały ochronne działanie wysiłku fizycznego przed zachorowaniem na ChP. [282] Znalazły one potwierdzenie w badaniach u ludzi. Umiarkowana, do nasilonej aktywność fizyczna (nie spacer, wolny taniec, czy kręgle, ale tenis, jazda rowerem, pływanie, ciężkie prace domowe) w wieku 35-39 lat (szczególnie w tym okresie), jak i w późniejszym wieku zmniejszały ryzyko wystąpienia ChP o około 40%. Nie badano okresu powyżej 40. r.ż. Aktywność fizyczna poniżej 30. r.ż. nie wpływała na zmniejszenie ryzyka wystąpienia ChP w przyszłości. [41,131,191,297]

Wykazano również, że najprawdopodobniej przyczyną rozwoju zaburzeń funkcji poznawczych lub otępienia u krewnych osób z ChP o wczesnym początku, WChP (poniżej 40. r.ż.), mogą być czynniki zarówno genetyczne, jak i środowiskowe. [258]

1.4.4. Patologiczne białka choroby Parkinsona

Ciałka Lewy'ego

W badaniach histopatologicznych u chorych na ChP wykazano obecność ciałek Lewy'ego (ang. *lewy body*, LB) dodatnio korelujących z utratą melaniny i neuronów. [319] Ciałka Lewy'ego spotykane są również w innych schorzeniach neurozwyrodnieniowych, m.in. w otępieniu z ciałami Lewy'ego (ang. *dementia with Lewy bodies*, DLB). [260]

Ciałka Lewy'ego występują w różnych częściach mózgu chorych na ChP: w istocie czarnej, opuszcze węchowej, korze nowej, pniu mózgu [53] oraz w rdzeniu kręgowym lub obwodowym układzie autonomicznym. [229,277] Ciałka Lewy'ego u chorych na ChP znajdowano również w neuronach cholinergicznym jąder podstawy Meynerta, ciele migdałowatym i hipokampie, neuronach noradrenergicznych i adrenergicznych miejsca sinawego, neuronach serotonergicznym (jądra) środkowego szwu, grzbietowych ruchowych jądrach nerwu błędnego, rdzeniu kręgowym, obwodowych nerwach skórnych. W ChP przebiegającej z i bez otępienia, wykazano obecność LB również w obwodowym układzie nerwowym, a u 70% chorych w neuronach skóry. [136] U chorych bez objawów ruchowych stwierdzano występowanie LB w neuronach układu autonomicznego serca, żołądkowo-jelitowego układu nerwowego, współczulnych zwojach szyjnych. [318] Wykazano ponadto, że pojawienie się LB w obwodowym układzie autonomicznym może na wiele lat wyprzedzać zaburzenia ruchowe w ChP (nawet do 22 lat) czy DLB (4 lata). U chorych stwierdzano także

zmniejszenie wychwytu zwrotnego neuroprzekaźników przed pojawieniem się zaburzeń autonomicznych. [277]

W ChP pojawiają się zarówno LB, jak i eozynochłonne wtręty cytoplazmatyczne zawierające zwłóknioną ASN oraz białko filamentowe zakończeń presynaptycznych. [157] Dowiedziono, że herbicydy sprzyjają agregacji ASN, a w połączeniu z jonami metali ciężkich wykazują działanie synergistyczne. [311] Metale ciężkie sprzyjają również tworzeniu się wtrętów ASN. [145]

Ponadto wykazano, że LB zawierają synfilinę, łańcuchy neurofilamentowe, ubikwitynę, ubikwitynylowane fragmenty białkowe, hydroksylazę L1 C-terminalnej ubikwityny (ang. *ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1*, UCHL1) oraz białko tau. [52,316] W LB występują także produkty nitrowania białek (m.in. z 3-nitrotyrozyną) powstające w wyniku stresu nitracyjnego. Inne białka, występujące w LB, to: tubulina, MAP-25, MAP-56, proteasom, cytochrom C, białko prekursorowe amyloidu, torsyna A, oksydaza hemowa, kinaza II zależna od układu Ca^{2+} /kalmodulina, kinaza zależna od cykliny, dysmutaza ponadtlenkowa zależna od Cu^{2+} i Zn^{2+} (ang. *superoxide dismutases*, SODs). [189]

Wykazano, że średnica LB w zależności od miejsca ich występowania może wynosić 3-12 μ m w splotach przętyku, 5-25 μ m w OUN, osiągając 2-40 μ m w istocie czarnej. [318]

Parkina

Parkina jest białkiem, składającym się z ubikwitynopodobnej domeny N-końcowej, UBL (ang. *N-terminal ubiquitin-like domain*), środkowego regionu łączącego C-końcową domenę, składającą się z dwóch pierścieniowych domen R1 i R2, oraz domeny między pierścieniami, IBR (ang. *in-between-ring*). Parkina jest jednocześnie ligazą ubikwityny E3, występującą w cytozolu, lizosomach i aparacie Golgiego. Rozpoznaje ona białka wadliwie pofalutowane lub uszkodzone i przygotowuje je do degradacji w układzie ubikwityno-proteasomowym przez tworzenie kompleksu białkowego Skp1-Cullin-F-box (z białkami hSel-10 i Cullin-1) lub kompleksu Hsp70 i CHIP. Parkina przenosi na oznaczone nieprawidłowe białka reszty ubikwityny z enzymów E2 (Ubc-H7, Ubc-H8 i UBC6, UBC7 na powierzchni siateczki śródplazmatycznej) za pomocą domeny R2. Zmiana struktury tej domeny (delecja 3. lub 4. eksonu) może prowadzić do zahamowania aktywności ligazy i samo-ubikwitynylowania się parkiny oraz do jej zniszczenia przez proteasom. Uważa się, że parkina może odgrywać ważną rolę w formowaniu się LB. Wykazano, że brak LB we WChP najprawdopodobniej jest związany z mutacjami w genie PARK2. Parkina może ulegać S-nitrozylacji, prowadzącej do hamowania jej aktywności. [61,316]

Natomiast brak ubikwitynylowania nieprawidłowych białek i ich degradacji może prowadzić do zaburzenia funkcjonowania (zwykle bez tworzenia LB) i śmierci neuronów. Istnieje również hipoteza wskazująca na potrzebę ubikwitynylowania ASN i synfiliny-1 w celu agregacji i formowania się LB. [61]

Białkami oznaczanymi przez parkinę, a w konsekwencji mogącymi przy ich nadmiarze przyczyniać się do neurodegeneracji są, m.in.:

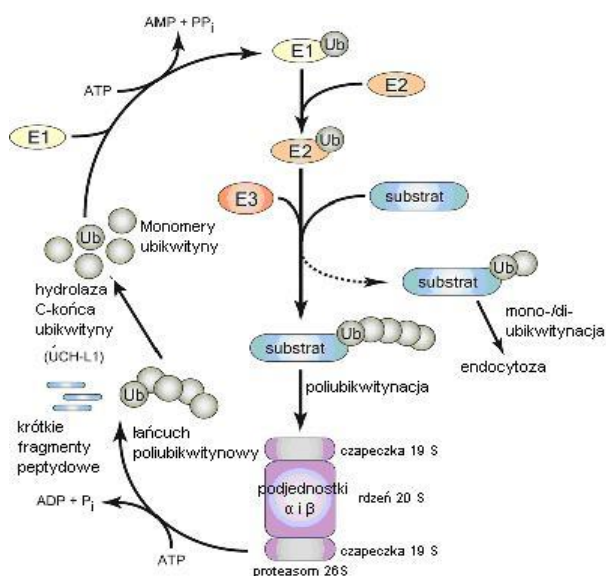
- CDCrel-1 (występuje w dużych ilościach w synapsach), GTPaza septynowa, regulująca uwalnianie neuroprzekazników z pęcherzyków synaptycznych;
- synfilina-1 białko o nieznannej roli, w genie ją kodującym wykryto mutację zwiększającą podatność do zachorowania na ChP, a jednocześnie zmniejszającą tworzenie agregatów związanych z degeneracją komórek nerwowych, bierze udział w tworzeniu się LB; [61]
- glikozylowana ASN; [316]
- nierozpuszczalna forma Pael-R (ang. *Parkin-associated endothelin receptor-like receptor*), nadekspresja tego białka prowadzi do powstania form niepofałdowanych, nierozpuszczalnych i zwyrodnienia neuronów. Ekspresja w neuronach muszki owocowej prowadziła do zależnej od wieku śmierci neuronów dopaminergicznym; [61,316]
- alfa-tubulina;
- beta-tubulina;
- synaptotagmina XI - należąca do rodziny białek wiążących Ca^{2+} , wchodzi w skład LB;
- białko p38 - jest kompleksem ssaczej syntazy aminoacylo-tRNA, nadekspresja tego białka prowadzi do powstania agresomopodobnych wtrętów i/lub do śmierci komórki. Białko p38 występuje w LB;
- SEPT5_v2/CDCrel-2 - należąca do białek z rodziny septyn, jest bliskim homologiem CDCrel-1;
- cyklina E - znakowana przez parkinę z wykorzystaniem kompleksu z hSel-10 i kuliną-1. Pod wpływem pobudzenia kwasem kainowym dochodzi do wzrostu jej stężenia i ekscytotoksyczności. Obserwowano także podwyższone poziomy cykliny E u chorych z rozpoznaniem zespołem parkinsonowskim o wczesnym początku. [61]

Mimo sprzecznych informacji wynikających z małej specyficzności pierwszych przeciwciał dla parkiny, wykazano, że parkina nie wchodzi w skład LB.

Ubikwityna

Ubikwityna jest 76-aminokwasowym białkiem, wiążącym się swoim C-końcem z łańcuchem bocznym Lys oznaczanego białka lub łańcuchem bocznym 48. aminokwasu innej ubikwityny. Znakowane białka z jedną lub dwiema resztami ubikwitynowymi są kierowane do endocytozy i proteolizy lizosomalnej. Podjednostka 19S proteosomu usuwa ubikwitynę z oznaczonego białka, tnie ją na monomery, z udziałem enzymów deubikwitynujących (UHL1), rozprostowuje pofałdowany łańcuch polipeptydowy białka i wprowadza go do wnętrza rdzeniowego kompleksu 20S,

a ten rozcina białko w ATP-zależnym procesie na małe fragmenty, uwalniane następnie do cytozolu (Ryc. 5). [316]



Ryc. 5. Udział ubikwityny w procesach degradacji [316]

E1-enzym aktywujący ubikwitynę

E2-enzym sprzęgający ubikwitynę

E3-parkina

ATP- adenozyntrójfosforan, AMP- adenozyndwufosforan, Ub - ubikwityna, UCHL1- hydroksylaza L1 C-terminalnej ubikwityny.

Hydroksylaza L1 C-terminalnej ubikwityny

Hydroksylaza L1 C-terminalnej ubikwityny jest izoformą enzymu z rodziny UCH, odpowiedzialną za usuwanie ubikwityny ze znakowanych białek. UCHL1, oprócz odtwarzania ubikwityny, oddziaływania na jej prekursorzy posiada także aktywność ligazy (zdolność przyłączania ubikwityny) oraz tworzy z ubikwityną połączenia o większej stabilności niż wolna ubikwityna i przedłuża jej okres półtrwania. UCHL1 może także pełnić rolę przeciwutleniacza. [346]

Alfa-synukleina

Alfa-synukleina jest 140-aminokwasowym białkiem o amfipatycznej domenie N-końcowej, hydrofobowej części centralnej NAC (ang. *non-Abeta component*) i ujemnie naładowanej domenie C-końcowej. Występuje ona w układzie nerwowym, szczególnie w zakończeniach presynaptycznych, gdzie jest związana z błonami pęcherzyków synaptycznych i prawdopodobnie wpływa na transmisję synaptyczną i plastyczność neuronów. Reguluje ona m.in. transport DA, NA i 5-HT. Alfa-synukleina może z udziałem katecholamin, szczególnie DA tworzyć agregaty. [61] Mutacje promotora genu kodującego ASN (*SNCA*) lub jego zwielokrotnienie może prowadzić do zwiększenia poziomu ASN o 50-100%. Natomiast mutacje zmiany sensu: *SNCA* A53T i E46K powodują powstawanie ASN o większej tendencji do tworzenia struktury beta-harmonijki, łatwiej polimeryzującej, i powstawania struktur fibrylarnych. [277] Homolog ASN, beta-synukleina, zapobiega agregacji ASN. [61]

Białko tau

Związane z mikrotubulami białko tau (ang. *microtubule associated protein tau*, MAPT), podobnie jak ASN, może tworzyć wewnątrzplazmatyczne wtręty prowadzące do zwyrodnienia neuronów. Wtręty cytozolowe zawierające białko tau nie są charakterystyczne jedynie dla ChP. [183,325] Występują one również w ChA, w postępującym porażeniu nadjądrowym (ang. *progressive supranuclear palsy*, PSP) i w zwyrodnieniu korowo-podstawnym (ang. *corticobasal degeneration*, CBD). [277]

Białko tau jest kodowane przez gen *MAPT* (0,9 mln pz.). Występuje ono w wielu izoformach o różnej długości i masie (45-70kDa), różnej ilości miejsc wiążących mikrotubule w C-końcowej domenie i 29- lub 58-aminokwasowej N-końcowej domenie, łączącej się z błoną aksonalną. Białko to jest związane z transportem aksonalnym, tworzy i stabilizuje cytoszkielet komórki, reguluje podziały komórkowe. Oprócz modyfikacji przedtranslacyjnych, białko tau może ulegać także modyfikacjom potranslacyjnym: ubikwitynacji, transglutaminacji lub ułatwiającej hiperfosforylację, glikozylacji. [247]

Fosforylacja białka tau sprzyja jego agregacji. Fosforylacji ulegają: Ser199, Ser262, Ser396, Ser404 i Thr205 (Treonina205). [111] Patologiczne białko tau słabiej wiąże się z mikrotubulami, ma większą skłonność do agregacji, tworzy postać podwójnie ślimakowato skręconych filamentów, rzadziej skręconą, losowo zwiniętą, czy o prostych filamentach, pojawiających się w obrazie zwyrodnienia włóknikowatego, nici neuropilowych, ciał Picka lub dystroficznych neuronów. [247]

Neurofilamenty

Neurofilamenty to filamenty pośrednie komórek nerwowych. Składają się z 3 rodzajów podjednostek: ciężkich, pośrednich i lekkich (ang. *neurofilaments heavy, medium, light*, NFH, NFM, NFL, odpowiednio). W chorobach neurozwyrodnieniowych mogą prowadzić do dysfunkcji i degeneracji aksonów. Gromadzenie się neurofilamentów może być wywołane mutacjami genów je kodujących, zaburzeniem syntezy białek filamentowych, upośledzeniem transportu aksonalnego lub nieprawidłową fosforylacją czy glikozylacją w komórkach. W istocie czarnej chorych na ChP obserwuje się obniżony poziom podjednostek pośrednich i lekkich neurofilamentów, oraz spadek poziomu mRNA podjednostek lekkich korelujący z postępem choroby. [189]

Glukocerebrozydaza

Glukocerebrozydaza (beta-glukocerebrozydaza, GBA) jest enzymem katalizującym rozkład glikolipidu, glikocerebrozydu do glukozy i ceramidu. Brak aktywności tego enzymu prowadzi do ujawnienia się choroby Gaucher'a, objawiającej się zaburzeniami funkcjonowania organizmu, w tym układu nerwowego i obecnością zespołu parkinsonowskiego. Zwiększoną zapadalność na ChP obserwowano wśród krewnych osób z chorobą Gaucher'a, będących nosicielami zmutowanego genu

GBA. U chorych na ChP pojawiała się także większa częstość występowania mutacji genu *GBA*, m.in. u 20% Żydów aszkenazyjskich z ChP. [277]

1.4.4. Patomechanizm choroby Parkinsona

W ChP obserwuje się postępującą utratę neuronów dopaminergicznych śródmózgowia, szczególnie w części zbitnej istoty czarnej oraz obecność wewnątrzneuronalnych LB i neurytów Lewy'ego. Ważną cechą diagnostyczną ChP jest degeneracja rogów Ammona w późnych okresach rozwoju choroby. [24,25,53,344]

Wykazano, że ubytek neuronów w istocie czarnej w ChP koreluje z rozwojem objawów ruchowych. Szacuje się, że w ChP każdy kolejny punkt w skali UPDRS3 (ang. *Unified Parkinson's Disease Rating Scale*) jest związany z utratą 25 neuronów/mm³ istoty czarnej. Wykazano, że utrata neuronów istoty czarnej rozpoczyna się na 4,7-5 lat przed pojawieniem się objawów ruchowych. W ChP i DLB utrata neuronów dopaminergicznych występuje na zbliżonym poziomie. [89,107] Wykazano, że w momencie pojawienia się pierwszych objawów choroby utracie ulega 29-31% neuronów, a w momencie pojawienia się objawów ruchowych ubywa połowa, a nawet 60-80% neuronów [107] i do prądkowia dociera jedynie 20% DA. [277]

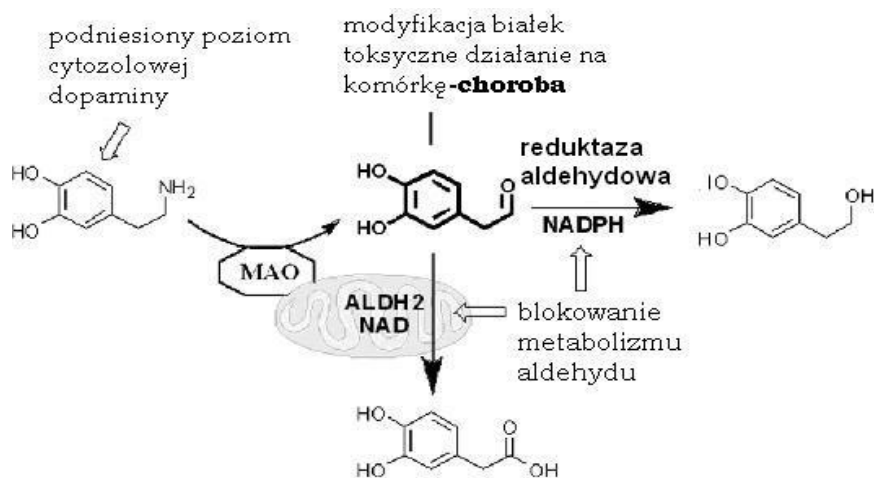
Neurodegeneracja w ChP obejmuje także struktury pnia mózgu, kory mózgowej i autonomicznego układu nerwowego (podwzgórze, rdzeń kręgowy, nerwy obwodowe) wskutek rozwijających się zmian patologicznych m.in. stresu oksydacyjnego. [341]

1.4.4.1. Stres oksydacyjny i nitracyjny

Przyczynami zwiększonej podatności neuronów dopaminergicznych na degenerację w ChP, mogą być: obniżone zdolności antyoksydacyjne, aktywacja mikrogleju w istocie czarnej, wysoka zawartość Fe oraz DA prowadzące do powstawania wielu toksycznych produktów reakcji redoks, m.in. semichinonu, chinonu, jonów obojnaczych 5,6-hydrokxyindoli. [25,153,155,194,239]

Zarówno stres oksydacyjny, jak i nitracyjny odgrywają ważną w patogenezie ChP. Z doniesień piśmiennictwa wynika, że MPTP (ang. *1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine*), podobnie jak: pakakwat czy rotenon i inne toksyny, prowadzi do wzrostu poziomu reaktywnych form tlenu (RFT). [257,279,306] Wzrost stresu oksydacyjnego, w ChP może następować również wskutek osłabienia aktywności kompleksu I [reduktaza NADH (ang. *nicotinamide adenine dinucleotide*) ubichinonu i reduktaza NADH cytochromu c] mitochondrialnego łańcucha oddechowego. [77] Wykazano, że istnieje także związek pomiędzy stresem oksydacyjnym a podwyższonym poziomem 3,4-dihydrokxyfenyloacetaldehydu (ang. *3,4-dihydroxyphenylacetaldehyde*, DOPAL), endogennej toksyny neuronów dopaminergicznych, działającej 100-1000 razy silniej toksycznie niż DA. [257]

Ryc. 6. Mechanizm toksycznego działania dopaminy i DOPAL [257]



MAO - monoaminooksydaza, ALDH - dehydrogenaza aldehydowa, DOPAL - 3,4-dihydroksyfenyloacetaldehyd.

W mózgu chorych na ChP wykazano podwyższone poziomy wskaźników stresu oksydacyjnego: 4-hydroksy-2-nonenalu (4-HNE) i dialdehydu malonowego (ang. *malonyldialdehyde*, MDA) i produktów utleniania lipidów. [53,257] Ponadto wykazano, że MDA może zaburzać metabolizm DA, m.in. przez hamowanie dehydrogenazy aldehydowej (ang. *aldehyde dehydrogenase*, ALDH). [Ryc. 6]

Dopamina jest metabolizowana przez MAO do toksycznego, reagującego z białkami półproduktu, DOPAL, utlenianego dalej przez ALDH do pochodnej kwasowej, 3,4-dihydroksyfenylooctowej (ang. *3,4-dihydroxyphenylacetic acid*, DOPAC) lub zredukowanego do pochodnej 3,4-dihydroksyfenyloetylowej (ang. *3,4-dihydroxyphenylethanol*, DOPET). Zaburzenie metabolizmu DA może prowadzić do wzrostu poziomu toksycznego DOPAL i jego adduktów białkowych zaangażowanych w tworzenie agregatów białkowych, m.in. ASN oraz DOPET. Ponadto, DOPAL może uczestniczyć w modyfikacji białek, powstawaniu RFT i zmianie przepuszczalności błon mitochondrialnych. [257]

W ChP utlenianiu ulegają także białka [53], a w wyniku stresu nitracyjnego ulegają modyfikacji reszty (Tyr) białek, przez nitrowanie nadtlenoazotynem (ONOO^\cdot), powstałym w wyniku reakcji rodnika NO z anionorodnikiem nadadtlenkowym:



Wzrost poziomu 3-nitrotyrozyny wykazano w LB, w istocie czarnej chorych na ChP oraz w zwierzęcym modelu ChP wywołanej MPTP (pawian, mysz). W ChP w istocie czarnej wykazano również podwyższony poziom Fe, związany ze zwiększoną produkcją RFT w reakcji Fentona. Wykazano także, że jedną z najwcześniej obserwowanych zmian biochemicznych w istocie czarnej w przebiegu ChP jest obniżenie poziomu antyoksydantu, glutationu (ang. *glutathione*, GSH).

1.4.4.2. Napływ jonów wapnia

Niektóre z mechanizmów degeneracji neuronów wiążą się ze zwiększonym napływem do komórki jonów Ca^{2+} . Wykazano, że w mózgu ludzkim neurony dopaminergiczne z wiekiem posiadają coraz większy poziom jonów Ca^{2+} , który może prowadzić do zwiększonej syntezy RFT. [153] Ponadto, jony Ca^{2+} aktywują syntazę tlenku azotu (ang. *nitric oxide synthase*, NOS), powodując wzrost poziomu wewnątrzkomórkowego NO oraz rodników peroksynitrylowych i nitrozylację białek najprawdopodobniej zaangażowanych w procesie uszkodzania neuronów.

1.4.4.3. Czynniki stanu zapalnego

Wykazano, że w procesie degeneracji neuronów dopaminergicznych mogą brać udział czynniki stanu zapalnego, m.in. czynnik martwicy nowotworów (ang. *tumor necrosis factor*, TNF-alfa) i interleukina, IL-1 β . [30,34] W prążkowie zmarłych chorych na ChP wykazano podwyższony poziom: IL-1 β , IL-6, TNF-alfa i interferonu-gamma. [210-212] Podwyższony poziom parametrów stanu zapalnego (m.in. IL-1 β , IL-2, IL-6, fosfolipazy A_2 , TNF-alfa, receptor TNF) wykazano również we krwi osób z ChP. [348]

Teorię stanu zapalnego potwierdzają także badania wskazujące na zahamowanie utraty neuronów dopaminergicznych w modelach zwierzęcych ChP po zastosowaniu leków o działaniu przeciwzapalnym, jak i pogłębienie się stanu zapalnego w istocie czarnej po nasileniu się stanu zapalnego w komórkach obwodowych. [194]

Do endogennych czynników prozapalnych mogących odgrywać rolę w rozwoju ChP, należy zaliczyć: tkankowy aktywator plazminogenu (ang. *tissue plasminogen activator*, tPA), naczyniowy śródbłonkowy czynnik wzrostu (ang. *vascular endothelial growth factor*, VEGF) oraz toksyny roślinne. [32,194,277]

1.4.5. Uwarunkowania genetyczne choroby Parkinsona

Mniej niż 10% zachorowań na ChP to przypadki rodzinnego występowania tej choroby (RChP), pozostałe 90% stanowią przypadki sporadyczne (SChP). Ponadto wykazano wyższy odsetek: 10-30% i 2-7-krotnie większe prawdopodobieństwo wystąpienia ChP u osób z pozytywnym wywiadem rodzinnym w pierwszym stopniu pokrewieństwa. [277] Wykazano również, że mutacje niektórych genów mogą zwiększać prawdopodobieństwo zachorowania na ChP (Tabela 2). [38]

Badania prowadzone u bliźniąt jedno- i dwujajowych nie wykazały znaczących różnic w ryzyku zachorowania na ChP, co jednocześnie może wskazywać na przewagę wpływu na

zachorowanie na tę chorobę czynników środowiskowych nad genetycznymi. [295] Uwarunkowania genetyczne wydają się być szczególnie istotne we WChP. [193,277]

Tabela 2. Wybrane czynniki genetyczne związane z patogenezą choroby Parkinsona

Gen/locus/kodowane białko	Polimorfizm/mutacja	Piśmiennictwo
<i>α-synukleina</i>	Ala53Thr	[38,61,90,248,277]
<i>α-synukleina</i>	Glu46Lys	[38,277]
<i>α-synukleina</i>	Ala30Pro	[38,90,164,277]
<i>α-synukleina</i>	<i>multiplikacja</i>	[137,277]
<i>α-synukleina</i>	NACP-Rep1	[277]
<i>parkina</i>	Arg275Trp	[61,316]
<i>parkina</i>	delecje eksonów: 3 i 4; 3, 4, 5, 6, 7; 4; 4, 5, 6; 5; 5, 6, 7; 8, 9	[244]
<i>parkina</i>	Val15Met, Pro37Leu, Arg42Pro, Ala46Pro, Ala82Glu	[316]
<i>parkina</i>	Lys161Asn	[244,316]
<i>parkina</i>	Met192Val, Lys211Asn, Lys211Arg	[316]
<i>parkina</i>	Thr240Arg, Cys212Tyr	[244]
<i>parkina</i>	Arg256Cys, Arg275Trp, Thr415Asn, Gln311Stop, Trp453Stop, 202-3del, 255del, 321-2insGT, 535del, Ser167Asn, Arg366Trp, Val380Leu, Asp394Asn	[200,244]
<i>UCH-L1</i>	Ser18Tyr	[346]
<i>DJ-1</i>	Leu166Pro	[61]
<i>kinaza 2 (LRRK2)</i>	Arg1441Cys/Gly/His, Tyr1699Cys, Ile2020Thr, Gly2019Ser, Arg1628Pro, Gly2385Arg	[277]
<i>MAPT (białko tau)</i>	Pro301Lys	[325]
<i>GBA</i>	Asn370Ser, Leu444Pro	[112,115,277]
<i>BST1</i>	rs4538475	[277]
<i>PARK16</i>	rs947211	[277]
<i>kinaza-1 indukowana PTEN</i>	Asp362Ala, Asp384Ala, Gly309Asp	[113]
<i>kinaza-1 indukowana PTEN</i>	Lys219Ala, Leu347Pro, Trp437X	[12,298]
<i>DRD1</i>	rs4532, rs686	[221]
<i>DRD2</i>	rs2283265, rs1076560 Pro310Ser, Ser311Cys, rs1800497, rs1079597	[221]
<i>Apolipoproteina E</i>	ε4	[132,304]
<i>MTHFR</i>	Ala222Val	[62,348]
<i>synfilina-1</i>	Arg621Cys	[316]

1.4.6. Diagnostyka choroby Parkinsona

Obecnie nie istnieje żaden test umożliwiający potwierdzenie ChP, a rozpoznanie tej choroby jest jedynie rozpoznaniem klinicznym. [149]

1.4.6.1. Kryteria klinicznego rozpoznania choroby Parkinsona

Najpowszechniejszymi kryteriami klinicznego rozpoznania ChP są wytyczne opracowane przez międzynarodowe towarzystwo badań zaburzeń ruchowych, UKPDSBB (ang. *United Kingdom Parkinson's Disease Society Brain Bank*) [188] wśród, których wyróżniamy:

- Kryteria potwierdzające kliniczne rozpoznanie ChP:

Spowolnienie ruchowe, i:

1. sztywność mięśniowa (u ponad 90% zdiagnozowanych chorych) [341]
2. drżenie spoczynkowe o częstości 4-6 Hz (60-70% zdiagnozowanych chorych)
3. zaburzenia stabilności postawy nie spowodowane zaburzeniami wzrokowymi, uszkodzeniem błędniaka lub mózdzku, czy też zaburzeniami czucia głębokiego.

- Kryteria wykluczające rozpoznanie ChP:

1. udar mózgu w wywiadzie ze skokowym rozwojem objawów zespołu parkinsonowskiego
2. kilkakrotne urazy głowy w wywiadzie
3. przebyte zapalenie mózgu
4. napady „wejrzeniowe”
5. stosowanie neuroleptyków w momencie pojawienia się objawów zespołu parkinsonowskiego
6. występowanie podobnych objawów u więcej, niż jednego członka rodziny
7. długo utrzymująca się remisja
8. wyłącznie jednostronność objawów przy dłuższym, niż 3 lata trwania choroby
9. porażenie skojarzonego ruchu gałek ocznych w pionie
10. objawy mózdkowe
11. wczesne pojawienie się poważnych zaburzeń układu autonomicznego
12. wczesne pojawienie się znacznego stopnia otępienia z zaburzeniami pamięci, mowy, praktyki
13. obecność objawu Babińskiego
14. obecność guza mózgu lub wodogłowia normotensyjnego w neuroobrazowaniu
15. brak reakcji na duże dawki L-dopy po wykluczeniu zaburzeń wchłaniania
16. kontakt z MPTP w wywiadzie. [149]

- Kryteria dodatkowo potwierdzające rozpoznanie ChP:

1. jednostronny początek
2. obecność drżenia spoczynkowego
3. postęp choroby
4. utrzymywanie się asymetrii objawów przy postępie choroby
5. bardzo dobra odpowiedź na L-dopę (poprawa rzędu 70-100%)
6. pojawienie się nasilonych dyskinez płasawicznych w przebiegu leczenia L-dopą
7. utrzymywanie się dobrej reakcji na L-dopę przez co najmniej 5 lat

8. długotrwała, powyżej 10 lat, obserwacja kliniczna.

Trzy spośród dodatkowych kryteriów rozpoznania ChP pozwalają na rozpoznanie klinicznie pewnej choroby.

Postęp ChP oceniany jest w pięciostopniowej skali (1-5), nazwanej od nazwisk jej twórców, Hoehn i Yakra, i związany jest z rozwojem zasadniczo zaburzeń ruchowych u chorych. [124]

1.4.6.2. Objawy kliniczne w chorobie Parkinsona

Choroba Parkinsona objawia się zaburzeniami ruchowymi: bradykinezją, drżeniem, niestabilnością postawy, sztywnością [226,354] oraz pozaruchowymi.

U 20% chorych na ChP przeważają drżenia, u 29% występuje forma z przeważającym objawem sztywności-bezruchu, u 51% choroba daje mieszane objawy drżenia i akinezji. [40] U mężczyzn upośledzenie przebiega z przewagą sztywności, a u kobiet z przewagą niestabilności postawy, choć w skali UPDRS nie obserwuje się różnic w szybkości rozwoju choroby między płciami. Po 5 latach trwania choroby następuje wyraźnie szybszy jej przebieg u mężczyzn w porównaniu do kobiet. [22]

Inne zaburzenia ruchowe:

- zaburzenia chodu, zastyganie w bezruchu, zaburzenia postawy [181]
- upadki
- zaburzenia połykania
- zaburzenia mowy (dysartria). [208,302]

Zaburzenia percepcji:

- ból i parestezje (bóle w jamie brzusznej, bóle stawów, ramienia, w nadgarstkach, pobolewanie w stopach) [277,353]
- bezwdech (70-90%) [69,243]
- zaburzenia różnicowania wizualnego [19]
- utrata odczuwania smaku
- zaburzenia równowagi (51% chorych). [108]

Zaburzenia układu autonomicznego:

- niedociśnienie ortostatyczne (43%) [277,353]
- zaburzenia żołądkowo-jelitowe, zaparcia (74%), nietrzymanie stolca, nudności, wymioty (6% chorych) [108,267,353], niestrawność [208,302]
- zaburzenia układu moczowego (43%) [277,353]
- zaburzenia seksualne (ponad 16%) [208,302]
- nadmierne pocenie się (35%, czasem asymetryczne) [353]
- zaburzenia termoregulacji (28%)

- ślinienie się
- łzawienie
- płynotok nosowy [48,84,85,353]
- obrzęki
- zasinienie jednej lub kilku kończyn. [353]

Zaburzenia snu (44% chorych) [108,208,302]:

- sen przerywany
- senność w ciągu dnia [204]
- wyraziste sny
- bezsenność
- zaburzenia fazy REM (ang. *rapid eye movement*)
- zespół niespokojnych nóg
- bezdech senny (14% chorych).

Zaburzenia nastroju:

- depresja (do 44% chorych) [208,302]
- lęk i napady paniki (około 1/3 chorych, 39%)
- apatia [204]
- wahania w podejmowaniu decyzji
- zmienność decyzji.

Zaburzenia neuropsychiatryczne:

- halucynacje, złudzenia, omamy (14% chorych) [19]
- zaburzenie kontroli impulsywności.

Zaburzenia funkcji poznawczych, otępienie [208,302] (20-40% chorych [242]):

- zaburzenia pamięci krótkotrwałej: przestrzennej, wizualnej, słownej, uczenia się nowego materiału (30% chorych [243])
- zaburzenia koncentracji
- zaburzenia kategoryzacji
- zaburzenia znajdowania reguł
- zaburzenia inicjowania działania
- zaburzenia w formułowaniu myśli
- zaburzenia planowania
- bradyfrenia
- zaburzenia fluencji słownej
- zaburzenia orientacji wzrokowoprzestrzennej. [19,122,243]

Ponadto występują:

- przetłuszczanie się skóry (61%)
- suchość oczu
- zmęczenie (14%)
- podwójne widzenie
- nieostre widzenie, upośledzone widzenie kolorów (może być pochodzenia dopaminergicznego)
- zawroty głowy
- utrata masy ciała.

Istotnymi objawami pozaruchowymi u chorych na ChP mogącymi wyprzedzać o wiele lat, a nawet dekady, typowe zaburzenia ruchowe, są:

1. zaburzenia perystaltyki jelit z tendencją do zaparć [40,243,277]
2. zaburzenia węchu
3. stany depresyjne i lękowe, [242,243]
4. zaburzenia fazy REM snu [40]
5. wzmożona senność w ciągu dnia, apatia, upośledzona koncentracja, skokowe pogorszenia co kilka miesięcy bez wyraźnej przyczyny, fluktuacje zdolności poznawczych z dnia na dzień, w ciągu dnia [40,204]
6. charakterystyczne cechy osobowości (perfekcjonizm, zaabsorbowanie, posępność, skrytość, sztywność mentalna, natręctwa) [17,242]
7. dolegliwości bólowe o nieznannej etiologii (ból ramienia, barku, bóle zwyrodnieniowe stawów, bóle mięśniowe łydek, szyji, kręgosłupa, przemęczenie, mrowienie, palenie na twarzy, brzuchu, genitaliach, w odbycie). [40,204,243]

1.4.6.3. Zaburzenia funkcji poznawczych w chorobie Parkinsona

Wysunięto trzy hipotezy wyjaśniające prawdopodobną przyczynę zaburzenia funkcji poznawczych w ChP. Przyczyn tych zaburzeń można upatrywać w zwyrodnieniu spowodowanym tworzeniem LB w obrębie układu limbicznego i ośrodków korowych, współistniejącego zwyrodnienia typu alzheimerowskiego kory i układu limbicznego (84% chorych) lub zwyrodnień samych obszarów podkorowych. [1,114,144,177,186]

1.4.6.4. Objawy depresji u chorych z chorobą Parkinsona

Depresja jest częstym objawem pozaruchowym towarzyszącym ChP. Często może ona wyprzedzać zaburzenia ruchowe w ChP, nawet o 10-20 lat. Depresja towarzyszy ChP dużo częściej, niż jakimkolwiek innym, prowadzącym do inwalidztwa przewlekłym schorzeniom. Istnieje wiele dowodów, od historycznych obserwacji klinicznych Parkinsona, czy Balla, po badania doświadczalne, wskazujących na ścisły związek patologii jąder podstawy, w tym istoty czarnej, z rozwojem depresji. Obserwowano korelacje pomiędzy ubytkiem neuronów dopaminergicznych skorupy po lewej stronie i nasileniem objawów depresji. Dopatruje się również związku prawostronnych objawów ruchowych u chorych z ChP z depresją. [76]

Wykazano, że depresja u chorych z ChP występuje z 2,7-76% częstością. Przyczyną rozpiętości występowania objawów depresji wśród chorych na ChP może być ich różnorodność: od dużej depresji przez dystymię, zaburzenia adaptacyjne, poczucie winy, samoobwinianie się, poczucie braku wartości, przez występujący stosunkowo rzadziej w depresji u chorych z ChP smutek, czy tendencję do samobójstw. Ponadto wykazano, że nasilenie objawów depresji w ChP nie koreluje z postępem ChP, ani czasem jej trwania. Obserwuje się nawet nasilenie objawów depresyjnych we wczesnych okresach tej choroby. [67,76]

1.4.7. Leczenie choroby Parkinsona

1.4.7.1. Leczenie dopaminergiczne w chorobie Parkinsona

Leczenie przyczynowe ChP nie jest znane. „Złotym standardem” w leczeniu objawowym ChP jest L-dopa, stosowana już od prawie 50 lat. [265,329] L-Dopa podawana jest z inhibitorem dekarboksylazy aminokwasów aromatycznych (ang. *aromatic L-amino acid decarboxylase inhibitor*, AADC-I), agonistów DA, inhibitorów enzymów: I-MAO, I-COMT (katecholo-O-metylotransferaza), cholinolityków lub blokerów receptora NMDA (ang. *N-methyl-D-aspartate*). [344] W przypadku agonistów DA, pobudzenie receptorów dopaminergicznych (D) D₂ wpływa pozytywnie na kontrolę objawów choroby, ale dla osiągnięcia prawidłowego efektu terapeutycznego i behawioralnego konieczne jest jednoczesne pobudzenie receptorów D₁ i D₂.

Pramipeksol jest agonistą receptorów D, skutecznym i bezpiecznym lekiem stosowanym w monoterapii, we wczesnym i umiarkowanym okresie ChP. W terapii z L-dopą pozwala na 25% zmniejszenie jej dawki, wykazuje ponadto działanie neuroprotekcyjne i neurotroficzne na neurony dopaminergiczne. Może powodować zależne od dawki obrzęki kończyn.

Ropinirol, agonista receptorów D, jest stosowany w dawkach do 35mg/dobę. Leczenie wiąże się z większym ryzykiem niedociśnienia i senności, ale mniejszym ryzykiem halucynacji, niż przy stosowaniu pramipeksolu.

Rotigotyna, wysoce selektywny agonista receptora D₂. Jest skuteczna w leczeniu zaawansowanej ChP, przynosi poprawę stanu klinicznego mimo działań niepożądanych, takich jak: nudności, wymioty i senność. [141]

Apomorfina skraca fazę "off", nie nasilając dyskinez, poprawia funkcje ruchowe, wydłuża fazę "on" zmniejsza bradykinezę i pozwala na obniżenie dawek L-dopy, wykazuje działanie neuroprotektyjne.

Dane z piśmiennictwa wskazują, że terapia L-dopą może wykazywać działanie uboczne, wręcz toksyczne i przyspieszać rozwój choroby. [62,65,67,79,127,176,199,224,225,236,329] Część badań wskazuje na możliwość zwiększenia podatności na dyskinezy, wywołane nawet po jednorazowym podaniu L-dopy w celach diagnostycznych. [147] Najczęstszymi dotkliwymi działaniami niepożądanymi terapii L-dopą są: nudności, wymioty, hipotensja. [171,228]

Podczas leczenia L-dopą, stopniowo dochodzi do obniżenia skuteczności terapii (2-5 lat): fluktuacji oraz pojawiania się dyskinez. [265,329] Już po 2 latach leczenia L-dopą u prawie 1/3 chorych pojawiają się dyskinezy. [126] Stopniowy rozwój dyskinez prowadzi do niesprawności po 4 latach podawania L-dopy u poniżej 10% leczonych. [127] Po 10 latach terapii odsetek poważnie upośledzonych ruchowo chorych wzrasta do 20%. [176] W perspektywie kilkunastu lat leczenia (10-14 lat) różnice w występowaniu dyskinez w różnych schematach leczenia stają się niezauważalne.

Wpływ na obniżenie efektu leczniczego L-dopy może mieć wiele czynników. Farmakokinetyka L-dopy jest dość skomplikowana. Wchłania się ona z przewodu pokarmowego jedynie w dwunastnicy. Z tego powodu zaburzenia opróżniania żołądka, czy osłabiona absorpcja z jelit, bądź transport przez barierę krew-mózg wynikające z konkurencji z aminokwasami o transportery błonowe, w połączeniu z krótkim okresem jej półtrwania wpływają na poziom tego leku we krwi i w mózgowiu. [285]

Neurony OUN mogą pełnić funkcje buforujące poziom L-dopy dzięki wewnątrzneuronalnemu magazynowaniu tego leku. Jednak w miarę postępu choroby i ubytku neuronów, zdolności magazynujące mózgowia maleją i dochodzi do większych fluktuacji poziomu L-dopy w okolicy neuronów dopaminergicznych i w efekcie do pojawiania się działań niepożądanych i gorszej kontroli objawów choroby. Hamowanie (entakapon, tolkapon, karbidopa, benserazyd, [26] selegilina) obwodowego metabolizmu L-dopy obniża fazę "off", lecz nie hamuje rozwoju dyskinez. [233,286]

Do leczenia dyskinez w ChP wykorzystuje się amantadynę (inhibitor receptorów NMDA), buspiron (agonista 5-HT_{1A}), fluoksetynę (SSRI), propranolol (β-bloker), klozapinę (inhibitor receptorów D₄, D₁, 5-HT₂), olanzapinę (inhibitor receptorów D₁, D₂, D₄), nalokson (antagonista receptorów opioidowych), nabilon (agonista receptorów kannabinoidowych), sarizotan (agonista receptorów D₄, 5-HT_{1A}), istradefilinę (inhibitor receptorów adenyzynowych A_{2A}), fipamezol

(antagonista receptorów α), idazoksan (α_2 -bloker), lewetiracetam, talampanel (antagonista receptorów AMPA). [141] Amantadyna blokuje receptor NMDA, łagodzi zaburzenia ruchowe, fluktuacje i dyskinezy wywołane L-dopą. Obiecujące okazały się wyniki badań na zwierzętach wskazujące na zmniejszenie dyskinez indukowanych L-dopą przez pobudzenie receptorów nikotynowych zawierających podjednostkę β_2 . [133]

Selegilina wykazuje działanie przeciwutleniające, hamuje i opóźnia rozwój choroby, łagodzi zaburzenia ruchowe, przedłuża czas efektu terapeutycznego L-dopy, łagodzi fluktuacje "on"- "off" oraz epizody bezruchu, nasila natomiast dyskinezy. [141] Rasagilina, nieodwracalny inhibitor MAO-B delikatnie łagodzi fluktuacje ruchowe po L-dopie, skraca fazę "off", poprawia sprawność ruchową, a nawet może modyfikować przebieg ChP.

Jednocześnie istnieje wiele doniesień wskazujących na brak toksyczności L-dopy [125,253], a nawet na jej neuroprotekcyjne działanie [56], szczególnie w obecności witaminy C. [206,235] W wielu pracach wykazano, że L-dopa nie daje także działań niepożądanych związanych z zaburzeniami impulsyjnymi, jakie mogą mieć miejsce w trakcie terapii agonistami receptorów D (hazard, nadmierna aktywność seksualna, niekontrolowane jedzenie, czy robienie zakupów). [7,317,326] Ponadto korzystne efekty daje stosowanie agonistów DA w połączeniu z L-dopą. [329] Wykazano, że po 2-3 latach leczenia agonistami DA, koniecznością staje się wdrożenie suplementacji L-dopą, ze względu na lepszą kontrolę zaburzeń ruchowych. [127] Wątpliwości, co do stosowania terapii L-dopą wydaje się rozwiewać również duże, randomizowane, badanie z próbą ślepą: ELLDOPA (ang. *Earlier versus Later Levodopa*), wskazujące na korzystny wpływ L-dopy na przebieg choroby. [80]

Ponadto, podawanie L-dopy może, w niektórych przypadkach poprawiać funkcje poznawcze, zdolność do planowania, rozwiązywania problemów, pamięć krótkotrwałą, orientację przestrzenną, płynność mowy. [166,197]

1.4.7.2. Leczenie niedopaminergiczne w chorobie Parkinsona

Leki cholinolityczne, takie jak: triheksyfenidyl i benzatropina są szczególnie skuteczne u młodszych chorych dotkniętych drżeniem. Ich działanie jest ograniczane skutkami ubocznymi, takimi jak: zaburzenia funkcji poznawczych, suchość w ustach, zaburzenia urologiczne. Z cholinolityków stosowane są również etopropazyna, biperiden, cykrymina, procyklidyna, one także wykazują działania niepożądane (zaburzenia pamięci, psychozy).

U chorych na ChP stosuje się również leki przeciwdepresyjne, m.in. amitryptylinę, fluoksetynę. [182] Trójcykliczne leki przeciwdepresyjne są stosowane także ze względu na właściwości cholinolityczne. Mirtazapina nasila transmisję serotonergiczną i noradrenergiczną, jest

presynaptycznym antagonistą receptorów α_2 , 5-HT₂ i 5-HT₃, zmniejsza drżenie spoczynkowe i dyskinezy wywołane L-dopą. [141]

Istradefillina, antagonistą receptorów adenozynowych, łagodzi dyskinezy wywołane L-dopą. Zonisamid, lek przeciwpadaczkowy o wielokierunkowym mechanizmie działania (bloker kanałów Na⁺ i kanałów Ca²⁺ typu T, inhibitor anhidrazy węglanowej, inhibitor uwalniania glutaminianu, modulator receptora GABA_A - kwas gamma-aminomasłowy), hamuje rozwój dyskinez i objawów ChP. [241] Klonazepam hamuje zaburzenia snu fazy REM. [141,182] Toksyna jadu kiełbasianego łagodzi objaw ślinienia się osób z ChP. Koenzym Q10 spowalnia rozwój zaburzeń ruchowych i psychicznych w ChP. [141] W leczeniu ChP stosuje się także leki miorelaksacyjne (cyklobenzapryna, diazepam), zwiększające perystaltykę jelit (cyzapryd), a także przeciwpsychotyczne (klozapina, kwetiapina). [182]

Stosowanie modulatorów kanałów Ca²⁺, pochodnych dihydropirydyny (felodypina, isradypina, lacidypina, lerkanidypina, nikardypina, nifedypina, nilwadypina, nitrendypina) po 65. r.ż. zmniejsza ryzyko wystąpienia ChP oraz ogranicza występowanie dysfunkcji organizmu. Stosowanie blokerów kanałów Ca²⁺ przed 65. r.ż. nie ma istotnego działania ochronnego. Stosowanie blokerów Ca²⁺ nie hamuje występowania objawów otępienia w ChP. [239]

Efekt spowolnienia tempa utraty neuronów przez niektóre farmaceutyki zwraca uwagę na możliwości ich zastosowania w przeciwdziałaniu ChP. Deksametazon, hamuje indukcję COX-2, ekspresję antygenów MHC klasy II w mikrogleju oraz proliferację mikrogleju indukowaną przecięciem aksonów i interferonem-gamma. Minocyclina, tetracyklina, przechodząc przez barierę krew-mózg, wykazuje oprócz działania przeciwbakteryjnego, działanie przeciwzapalne, ochronne przed niedotlenieniem, hamujące aktywację mikrogleju i indukcję IL-1 α oraz TNF-alfa oraz utratę neuronów dopaminergicznych w modelach zwierzęcych ChP. [194] Simwastatyna, oprócz hamowania syntezy cholesterolu, usprawnia także funkcję śródbłonka naczyniowego, zmniejszając stres oksydacyjny, hamuje także odpowiedź pytek krwi, działa immunomodulująco i przeciwzapalnie. W mózgu simwastatyna hamuje aktywację komórek mikrogleju, zmniejsza ekspresję antygenów MHC klasy II w mikrogleju i makrofagach, hamuje aktywację IL-1 β , TNF-alfa i iNOS. Simwastatyna indukuje ponadto syntezę neurotroficznego czynnika BDNF (ang. *brain-derived neurotrophic factor*), podnosi poziom kinaz aktywowanych mitogenami (kinazy N-końca białka P-c-Jun, kinazy syntazy glikogenu, białka p38, kinazy regulowanej przez sygnał zewnątrzkomórkowy), obniża poziom białka wiążącego się z odpowiedzią na cAMP i kinazę białkową B. (+)Nalokson, nieaktywny izomer antagonisty receptorów opioidowych, hamuje aktywację mikrogleju i utratę komórek dopaminergicznych. Jeszcze silniejszy efekt obserwowano w połączeniu [(+)naloksonu] z indometacyną.

Działanie ochronne na komórki dopaminergiczne wywierają także: tryptolid, sylimaryna i katalpol. Edarawon chroni przed utratą neuronów dopaminergicznych, m.in. przez obniżenie poziomu RFT. [340] Neurturyna jest czynnikiem neurotroficznym m.in. neuronów jelitowych,

neuronów układu przywspółczulnego. [141] GDNF (ang. *glial cell-derived neurotrophic factor*), neurotroficzny czynnik wywodzący się z linii komórek glejowych, jest jednym z silniejszych czynników chroniących komórki dopaminergiczne i noradrenergiczne, neurony jelitowe przed ich uszkodzeniem. Należy do rodziny TGF-beta (ang. *transforming growth factor beta*, podobnie jak neurturyna, persefina i artemina), białek posiadających strukturę węzła cysteinowego.

1.4.7.3. Leczenie zaburzeń pozaruchowych w chorobie Parkinsona

Większość zaburzeń pozaruchowych jest oporna na leczenie dopaminergiczne, i jest przyczyną znacznego zmniejszenia ogólnej sprawności, szczególnie w późniejszym okresie trwania choroby. [141,277]

Do najczęstszych powikłań w ChP należą: psychozy, zaburzenia nastroju i niedociśnienie ortostatyczne. Nielezione psychozy prowadzą do trudnych do leczenia paranoi. Korzystne efekty w ich leczeniu daje obniżanie dawek leków przeciwparkinsonowskich, a przy braku poprawy zastosowanie atypowych leków przeciwpsychotycznych. Dobrym lekiem wydaje się być mianseryna zapobiegająca złudzeniom i halucynacjom, szczególnie nocnym. Lek ten nie wykazuje działania na receptory D i nie pogłębia zaburzeń ruchowych. Dobre efekty daje także zmniejszenie stosowania leków przeciwparkinsonowskich i głęboka stymulacja jądra podwzgórza soczewkowatego lub gałki bładej.

Donepezil i riwastygmina poprawiają funkcje poznawcze, podobnie jak galantamina i memantyna. [353]

Zaburzenia nastroju są trudne do leczenia i wymagają dobrania odpowiedniego agonisty receptora D, z uwzględnieniem powinowactwa do receptora D₃ (np. pramipeksol) oraz indywidualnego podejścia do chorego, opartego na wzajemnym zrozumieniu i zaufaniu. [283] Zaburzenia węchu są odporne na leczenie. [69]

W leczeniu niedociśnienia ortostatycznego proponuje się specjalne ułożenie ciała i zwiększoną podaż wody i soli kuchennej, częstsze, lecz mniejsze posiłki ubogie w węglowodany. U chorych z niedociśnieniem ortostatycznym stosuje się farmakoterapię fludrokortyzonem w dawkach 0,1-0,2mg/dobę, erytropoetyną i desmopresyną, a także midodrynem 2,5-10mg/dobę, a także efedrynę (12,5-25mg/dobę), johimbinę (8mg/dobę) i kofeinę (250mg/dobę). [182,353]

1.4.8. Ciśnienie tętnicze krwi a choroba Parkinsona

Aminy biogenne uczestniczą w regulacji ciśnienia krwi, z udziałem bradykininy. Bradykinina jest ośrodkowym naczyniowoaktywnym nonapeptydem, który rozszerza naczynia krwionośne przez aktywację receptora dla bradykininy, B₂ (B₂R), stymulację śródbłonna naczyniowego do produkcji NO

i prostaglandyny I₂ oraz regulację wydzielania katecholamin przez układ nerwowy i nadnerczowy. [21] Wykazano, że NO, w OUN i układzie autonomicznym pełni funkcję neuromodulatora i/lub neuroprzekaźnika. Jego rola w wydzielaniu katecholamin nie jest w pełni wyjaśniona, a dane literaturowe są sprzeczne. Część prac wskazuje na możliwy udział NO w wydzielaniu katecholamin, inne natomiast na hamowanie uwalniania katecholamin z udziałem tego czynnika (Ryc. 7). [21,322] Wykazano, że zaburzenia w wydzielaniu i metabolizmie amin biogennych mogą prowadzić do obniżenia ciśnienia krwi. U chorych z ChP dochodzi do zaburzenia regulacji ciśnienia krwi z udziałem układu noradrenergicznego. [74,203]

Wykazano również, że w ChP zmutowane białko ASN może prowadzić do zaburzenia funkcjonowania ścian naczyń krwionośnych i obniżenia zawartości m.in. DA w pęcherzykach synaptycznych. Wydaje się, że zmiana poziomu amin biogennych w ChP może być związana z patogenezą tej choroby przez tworzenie neurotoksycznych pochodnych i generowanie stresu oksydacyjnego. [74]

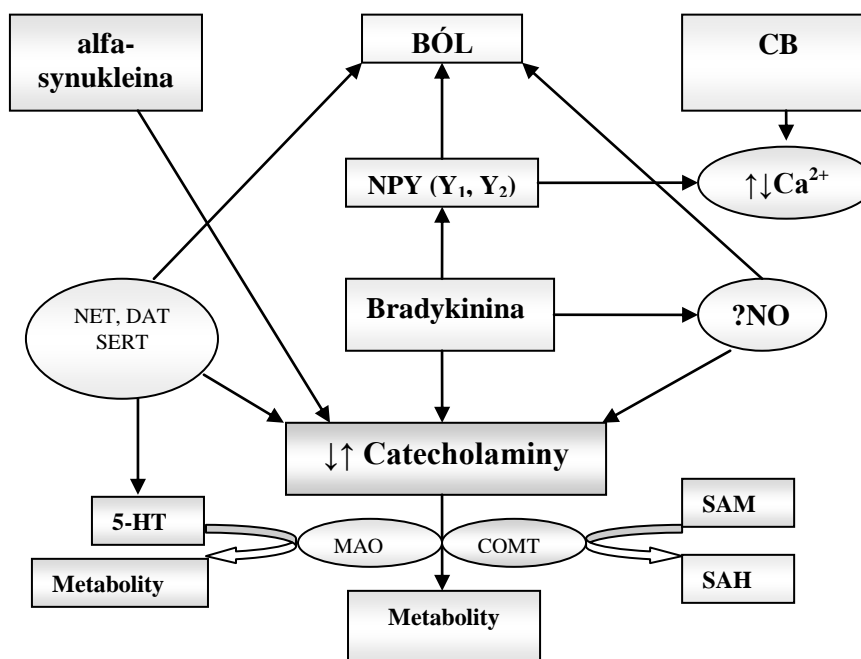
Ponadto wykazano, że zmiany zwyrodnieniowe w ChP prowadzą do zaburzeń funkcjonowania OUN i układu autonomicznego. U 14-80% chorych z ChP dochodzi do dysfunkcji układu autonomicznego (w zależności od metodologii i grup badanych), a 50% z nich doświadcza z tego powodu pogorszenia, jakości życia. Przyczyn zaburzeń autonomicznych w ChP upatruje się w rozsianych LB w różnych częściach układu nerwowego, m.in. w jądrach tylnych nerwu błędnego, wyprzedzających pojawienie się degeneracji istoty czarnej. W ChP zaburzeniom ulega zarówno przywspółczulny, jak i współczulny układ sercowo-naczyniowy. Odnerwienie współczulne układu sercowo-naczyniowego ma dużo ostrzejszy przebieg w ChP, niż w innych zaburzeniach ruchowych m.in. w PSP i związane jest ze zmniejszonym wychwytem NA. U chorych z ChP nie jest ono zależne od nasilenia objawów klinicznych, czasu trwania choroby, czy stosowanej farmakoterapii lub współistniejących objawów dysautonomii. W ChP odnerwienie współczulne serca ma charakter zazwojowy. Jednocześnie u chorych z ChP unerwienie wątroby, śledziony i błony śluzowej nosa pozostaje niezmiennione. U 24% chorych z ChP nie pojawia się dysautonomia. [67,353]

W ChP obserwuje się obniżenie stężenia A w osoczu i zwiększoną czułość neuronów adrenergicznych, co może prowadzić do nadciśnienia tętniczego. Brak kompensacyjnego pobudzenia odnerwionego układu sercowo-naczyniowego prowadzi dalej do niedociśnienia ortostatycznego w czasie pionizacji. [353]

Neuropochodne niedociśnienie ortostatyczne u chorych z ChP jest objawem związanym z przewlekłą niewydolnością układu autonomicznego. Występuje u 40% chorych i jest jednym z najbardziej dokuczliwych objawów autonomicznych. Jest zarazem związane ze zwiększoną śmiertelnością u tych chorych ze względu na upadki i poważne obrażenia. [102,287] Niedociśnienie ortostatyczne u chorych z ChP może być także wywoływane odwodnieniem organizmu lub przez agonistów receptorów D i selegilinę [353] oraz skutkiem ubocznego działania L-dopy. Istnieją jednak

prace wskazujące na występowanie niedociśnienia ortostatycznego u chorych na ChP nie przyjmujących L-dopy. [98]

Ryc. 7. Rola amin biogenych w patogenezie choroby Parkinsona [67]



NET- transporter noradrenaliny; DAT- transporter dopaminy; SERT- transporter wychwytu zwrotnego serotoniny; 5-HT- serotonina; MAO- monoaminoooksydaza; COMT- katecholo-o-metylotransferaza; SAM- S-adenozylometionina; SAH- S-adenozylhomocysteina; NO- tlenek azotu; NPY- neuropeptyd Y, receptory Y₁ i Y₂; CB- kalbidyna-D. (↑) Wzrost (↓) obniżenie poziomu czynników.

1.4.9. Aminy biogenne i ich metabolity a choroba Parkinsona

Noradrenalina

Krążąca NA pochodzi głównie z sieci nerwów współczulnych unerwiających naczynia krwionośne, szczególnie tętniczki oraz serce i nerki. Tylko niewielka część uwalnianej z zakończeń nerwowych NA trafia do krwioobiegu.

Wykazano, że poziom NA może wzrastać wraz z wiekiem, ze względu na rosnącą aktywność układu współczulnego i słabnący wychwyty zwrotny NA. [103]

W ChP obserwuje się spadek poziomu NA o około 40% zarówno w płynie mózgowo-rdzeniowym, jak i we krwi. Przyczyną obniżenia poziomu NA w ChP może być zmniejszenie liczby neuronów noradrenergicznych lub spadek tempa syntezy katecholamin. [135] U chorych z ChP wyznaczono następujące poziomy NA:

198±23pg/ml w osoczu (205±32pg/ml w płynie mózgowo-rdzeniowym) - bez leków

370±58pg/ml w osoczu (250±70pg/ml w płynie mózgowo-rdzeniowym) - przy stosowaniu L-dopy z karbidopą, najprawdopodobniej skutek obwodowego metabolizmu L-dopy.

W równowiekowej grupie kontrolnej:
489±39pg/ml w osoczu (353±45pg/ml w płynie mózgowo-rdzeniowym). [296]

Adrenalina

Krążąca A pochodzi głównie z wyrzutów tej katecholaminy z rdzenia nadnerczy, dlatego u osób zdrowych w spoczynku jej poziom we krwi jest niski. Adrenalina może ulegać syntezie w sercu, lecz w większym stopniu dostaje się tam przez wychwyt neuronalny z krwi. Nasilone wyrzuty A do krwi są wywoływane, takimi czynnikami jak: hipoglikemia (nawet asymptomatyczna), krwotok, niedociśnienie, niedotlenienie, zapaść krążeniowa. Odpowiedź organizmu za pośrednictwem A jest silniejsza niż z udziałem NA, a obniżenie poziomu A jest przyczyną omdleń.

Poziom A we krwi, w spoczynku u osób zdrowych wynosi 30pM. Z wiekiem poziom A we krwi i moczu obniża się. Niższy jest także u osób otyłych w porównaniu ze szczupłymi oraz u kobiet w stosunku do mężczyzn. [103]

Dopamina

Poziom DA we krwi zwykle osiąga wartości wyrażane w pM, podobnie jak A. Dopamina uwalniana jest w wyniku pobudzenia układu współczulnego (2-4%), ale jej poziom nie podwyższa się tak istotnie, jak NA. Poza OUN, działa ona, jako substancja auto- i parakrynną. Rozszerza tętniczki w nerkach, zwiększając filtrację kłębuszkową, wydalanie Na^+ oraz hamuje sekrecję aldosteronu w korze nadnerczy.

Dopamina jest neuroprzebieźnikiem istotnym dla wielu funkcji mózgu, związanych z ruchem, motywacją, nagrodą, pamięcią krótkotrwałą i uzależnieniami. [18,103] Neurony dopaminergiczne występują w niewielu obszarach mózgu, m.in. w części zbitiej istoty czarnej (z drogami prowadzącymi do prążkowania) i brzuszny obszarze nakrywki w śródmózgowiu (z drogami prowadzącymi do kory mózgowej, układu limbicznego i jąder podkorowych). [18]

Obniżony poziom DA może wpływać nie tylko na występowanie zaburzeń ruchowych w ChP, lecz także zaburzeń psychicznych, takich jak: lęk, zaburzenia funkcji poznawczych i depresja. Natomiast wysoki poziom DA wywołuje zaburzenia nastroju i zachowania, takie jak: euforia, odhamowanie i natręctwa. [154,276]

Dopamina jest także substancją neurotoksyczną posiadającą ugrupowanie katecholowe podatne na procesy redoks, prowadzące do wzrostu poziomu RFT (O_2^-). Ponadto produktem oksydacji DA jest pochodna ortoquinonowa wykazująca duże powinowactwo do Cys i modyfikowania białek. [257]

Postsynaptyczne receptory D dzielimy na receptory D_1 , dodatnio sprzężone z białkiem G i D_2 , ujemnie sprzężone z białkiem G, regulujące z udziałem cykazy adenyłowej poziom cAMP

(adenozynomonofosforan). Receptory D_1 związane są również z metabolizmem fosfatydyloinozytolu, a receptory D_2 z wewnątrzkomórkowym przekazywaniem sygnału zależnym od jonów Ca^{2+} . [18]

Serotonina

Serotonina jest neuroprzekaźnikiem odpowiedzialnym za stany lękowe, zachowania agresywne, odpowiedź na stres, regulację ciśnienia krwi, ruchów perystaltycznych, pracy serca i układu krzepnięcia. Serotonina jest wytwarzana w neuronach oraz komórkach jelita, a także w ścianach naczyń krwionośnych i sercu. Na obwodzie najwięcej 5-HT znajduje się w płytkach krwi, do których dostaje się za pośrednictwem SERT (ang. *serotonin reuptake transporter*).

Poziom 5-HT we krwi pełnej waha się w granicach 65-250ng/ml, w osoczu przyjmuje wartości niższe, 5,6-23,9ng/ml. [324] Serotonina nasila odpowiedź rdzenia nadnerczy i innych zwojów współczulnych za pośrednictwem receptorów 5-HT_{2A/3}. Wykazano, że upośledzenie funkcji SERT oprócz wzrostu poziomu 5-HT w płynie pozakomórkowym, wzrostu obrotu 5-HT, przy jednoczesnym spadku jej poziomu w komórkach nerwowych, powoduje nadmierną odpowiedź na stres w postaci lęku, a także w postaci wygórowanej odpowiedzi rdzenia nadnerczy, również w wyniku pobudzenia na osi podwzgórzowo-przysadkowej (przy braku wpływu na ekspresję hydroksylazy tyrozyny i receptorów AT₂). [216] Ponadto, 5-HT uwalniana z aferentnych zakończeń nerwu błędnego, nasila aktywność katecholoergicznych neuronów jądra pasma samotnego (przez nasilenie impulsacji glutamatergicznej) oraz wpływa na przyjmowanie pokarmów i odruchy sercowo-naczyniowe. [51] Serotonina działając na receptory 5-HT₄ w sercu człowieka powoduje pobudzenie jego przedsionka, działa proarytmicznie, wywołuje dodatni efekt inotropowy i luzytropowy (łatwiejsze rozkurczanie mięśnia). Jednocześnie pobudzenie receptorów 5-HT_{1B/1D} zakończeń współczulnych serca powoduje zmniejszone uwalnianie NA. [324] Serotonina wiąże się kompetycyjnie z COMT w miejscu wiązania S-adenozylu-S-metioniny, hamując metylację substratów dla tego enzymu. [303] Działa również antyapoptotycznie przez stymulację ekspresji beta-syntazy cystationiny (ang. *cystathionine beta synthase*, CBS) oraz zwiększenie poziomu siarkowodoru (H₂S) i działanie przeciwutleniające. [291]

Metoksynoradrenalina i metoksyadrenalina

Metoksynoradrenalina (normetanefryna), MNA jest produktem metabolizmu NA, natomiast metoksyadrenalina (metanefryna), MA jest produktem metabolizmu A z udziałem enzymu COMT. [103] Przemiana A do MA przebiega szybciej, niż NA do MNA. Oba metabolity, MNA i MA należą do długo utrzymujących się w organizmie. [321]

Oznaczanie poziomu MNA i MA w dobowej zbiórce moczu jest wykorzystywane do oceny wyrzutów katecholamin do krwi. Jest najczulszym testem diagnostycznym guza chromochłonnego, *pheochromocytoma*. [231,280] Oznaczanie poziomu MNA wykorzystywane jest również

w diagnostyce nadciśnienia tętniczego i przerostu serca. [178] Obydwa metabolity, MNA i MA pozwalają określić aktywność układu współczulnego [234]. Analizę ich poziomu wykorzystuje się również do oceny współczulnego odnerwienia nerek w leczeniu nadciśnienia [2] oraz innych schorzeń przebiegających z odnerwieniem współczulnym, m.in. PAF, MSA i ChP.

1.4.10. Metabolizm amin biogennych a choroba Parkinsona

Katecholo-O-metylotransferaza, COMT

COMT jest enzymem metabolizującym katecholaminy i estrogeny katecholowe. Gen *COMT* jest zlokalizowany na długim ramieniu 22. chromosomu w regionie 22q11 i zawiera 8 eksonów. [289] Większość doniesień w piśmiennictwie wskazuje na obecność mutacji typu *zmiany sensu* w eksonie 6. genu *COMT*. Gen *COMT* koduje dwie formy enzymu COMT: postać rozpuszczalną, S-COMT (ang. *soluble*) oraz związaną z błoną, MB-COMT (ang. *membrane-bound*). [192] W genie *COMT* wykazano występowanie czterech zasadniczych wariantów genetycznych: jednego zlokalizowanego w regionie promotorowym genu *S-COMT* (A>G; rs6269), w obszarze granicznym intronu 3. genu *MB-COMT*, trzech w regionie kodującym genów *S-COMT* i *MB-COMT*: w tym dwóch *cichych mutacji* (histydyna) His62His (C>T, rs4633) oraz (leucyna) Leu136Leu (C>G, rs4818) oraz jednej mutacji *zmiany sensu* (walina, metionina) Val158Met (A>G, rs4680). [217]

Mutacje genu *COMT*, związane z patogenezą ChP zestawiono w tabeli 3. Wykazano, że warianty genetyczne genu *COMT* wpływają na stabilność struktury, poziom i aktywność enzymu COMT. Ponadto wykazano, że enzym COMT przez inaktywację wiele biologicznie aktywnych i toksycznych katecholamin oraz neuroprzekazników, takich jak: L-dopa, DA, NA i A wpływa na podatność na zachorowanie na ChP. [14,63,74,305,351]

Tabela 3. Polimorfizmy genów *COMT*, *MAO*, *DAT*, *NET* i *5-HHT* w chorobie Parkinsona [67]

Gen	Polimorfizm	Populacja	Liczba chorych	Piśmiennictwo
<i>COMT</i>	G>A (Val108Met) rs4680	populacja chińska	chorzy z ChP n=70	[338]
<i>COMT</i>	675A>G (Val158Met) rs4680	populacja fińska	chorzy z ChP n=158	[289]
<i>COMT</i>	G>A (Val108Met) Rs4680	populacja japońska	chorzy z ChP n=176	[342]
<i>COMT</i>	G>A (Val108Met) rs4680	populacja japońska	chorzy z ChP n=109	[168]
<i>COMT</i>	675A>G (Val158Met) rs4680	populacja kanadyjska	chorzy z ChP n=24	[46]
<i>COMT</i>	675A>G	populacja koreańska	chorzy z ChP	[174]

	(Val158Met) rs4680		n=73	
<i>COMT</i>	675A>G (Val158Met) rs4680	populacja chińska	chorzy z ChP n=39	[293]
<i>COMT</i>	675A>G (Val158Met) rs4680 promoter region A>G rs6269 C>T (His62His) rs4633 C>G (Leu136Leu) rs4818	populacja polska	chorzy z ChP n=39 n=322 n=248	[14-16]
<i>COMT</i>	649G>A (Val158Met) rs4680	populacja polska	chorzy z ChP n=30 n=49	[29]
<i>COMT</i>	675A>G (Val158Met) rs4680	populacja japońska	chorzy z ChP n=240	[158]
<i>MAO-A</i>	DNRP (intron 2) (exon 14)	rasa kaukaska	chorzy z ChP n=91	[130]
<i>MAO-A</i>	DNRP (intron 2)	populacja japońska	chorzy z ChP n=71	[220]
<i>MAO-A</i>	(intron 1)	rasa kaukaska	chorzy z ChP n=78	[245]
<i>MAO-A</i>	<i>EcoRV</i>	rasa kaukaska	chorzy z ChP n=145	[50]
<i>MAO-A</i>	1460C>T (exon 14) rs1137070	populacja polska	chorzy z ChP n=30 n=49	[29]
<i>MAO-B</i>	G>A (intron 13)	rasa kaukaska	chorzy z ChP n=46	[169]
<i>MAO-B</i>	DNRP (intron 2)	rasa kaukaska	chorzy z ChP n=91	[130]
<i>MAO-B</i>	G>A (intron 13)	populacja azjatycka	chorzy z ChP n=54	[213]
<i>MAO-B</i>	G>A (intron 13)	rasa kaukaska	chorzy z ChP SPD n=112 FPD n=12	[123]
<i>MAO-B</i>	DNRP (intron 2)	populacja japońska	chorzy z ChP n=71	[220]
<i>MAO-B</i>	G>A (intron 13)	rasa kaukaska	chorzy z ChP n=62, n=204, n=214	[49,119,205]
<i>MAO-B</i>	G>A (intron 13)	populacja polska	chorzy z ChP n=210	[14]
<i>MAO-B</i>	G>A (intron 13)	populacja Indian	chorzy z ChP n=70	[281]
<i>DAT</i>	1215A>G	populacja japońska	chorzy z ChP n=172, n=204	[156,214]
<i>DAT</i>	1215A>G	populacja azjatycka	chorzy z ChP n=102	[185]
<i>DAT</i>	1215A>G	populacja Indian	chorzy z ChP n=70	[281]
<i>NET</i>	1287G>A (exon 9)	populacja polska	chorzy z ChP n=30	[29]

	rs5569		n=49	
5-HTT	5-HTTLPR rs25531	rasa kaukaska	chorzy z ChP n=393	[3]
5-HTT	5-HTTLPR rs25531	populacja azjatycka	chorzy z ChP n=306, n=503	[173,347]
5-HTT	5-HTTLPR	populacja skandynawska	chorzy z ChP n=16	[109]

n- liczba chorych z chorobą Parkinsona

Monoaminoooksydaza, MAO-A i MAO-B

MAO jest enzymem zlokalizowanym na zewnętrznej błonie mitochondriów neuronów i komórek glejowych. Występuje w dwóch izoformach, MAO-A i MAO-B, kodowanych przez geny *MAO-A* i *MAO-B*, odpowiednio. Oba geny zawierają 15 eksonów oraz 14 intronów i są zlokalizowane na krótkim ramieniu ludzkiego chromosomu X (Xp11.23). Enzymy, MAO-A i MAO-B zawierają 527 i 520 aminokwasów, odpowiednio. [67,352]

Izoforma MAO-A występuje przede wszystkim w neuronach dopaminergicznych i noradrenergicznych, oraz wykazuje wysokie powinowactwo do 5-HT (120-krotnie wyższe, niż MAO-B) i małe do NA. Natomiast w metabolizmie DA biorą udział obie izoformy MAO, MAO-A i MAO-B. [93] Izoforma MAO-B częściej występuje w neuronach serotonergicznych i histaminergicznych oraz komórkach glejowych, choć jej udział w metabolizmie 5-HT jest niewielki. [20] Wydaje się, że lokalizacja MAO-B w neuronach serotonergicznych może być związana z jej ochronnym wpływem na poziom 5-HT.

Wykazano, że polimorfizm *MAO-A* jest związany z regulacją ekspresji genu i wzrostem aktywności kodowanego przez ten gen enzymu oraz generowaniem RFT. [129] Jednocześnie wykazano, że zaburzenia w aktywności MAO mogą prowadzić do rozwoju chorób neurodegeneracyjnych, m.in. ChP, przez produkcję RFT i oksydacyjną degradację DA. [106] Mutacje genów *MAO-A* i *MAO-B*, związanych z patogenezą ChP zestawiono w tabeli 3.

Transporter noradrenaliny, NET

Gen *NET* (ang. *solute carrier family 6 member 2*, SLC6A2) jest zlokalizowany na długim ramieniu 16. chromosomu w regionie 16q12.2 i zawiera 14 eksonów. Produkt tego genu, enzym NET składa się z 617 aminokwasów. [151] Jak do tej pory mutacje w genie *NET* wiązano zasadniczo z patogenezą chorób psychiatrycznych. Park i wsp. [237] wykazali prawdopodobny udział genotypów genu *NET* (G1287A) i (A3081T) w patogenezie ADHD (ang. *attention deficit hyperactivity disorder*). Jednocześnie wykazano, że produkt genu *NET*, enzym NET reguluje przekąźnictwo noradrenergiczne związane z emocjami, neuroplastycznością, pamięcią, depresją i otępieniem. [88] Gen *NET* może również być kandydackim genem związanym z występowaniem głębokich depresji. Jego udział w patogenezie depresji mogą potwierdzać badania prowadzone w populacji Korei, w których wykazano, że polimorfizm *NET* (182T>C) predysponował do wystąpienia tej choroby. Udział

w patogenezie depresji wykazano również w przypadku polimorfizmu *NET* (1287T>C) związanego z substytucją G (guanina) na A (adenina) w pozycji 1287 eksonu 9. tego genu. [264] Depresja jest powszechnie występującym objawem u chorych z ChP.

Wstępne badania wykonane w Pacowni Neurobiologii Katedry Neurologii UMP [29,67] wskazywały na prawdopodobny udział mutacji genu *NET* (1287G>A) w patogenezie ChP (Tabela 3).

Transporter dopaminy, DAT

Transporter dopaminy (ang. *dopamine transporter*, DAT) jest kodowany przez gen nazywany *DAT1* zlokalizowany na krótkim ramieniu 5. chromosomu w locus 5p15 i zawiera 15 eksonów. [314] Wykazano, że DAT reguluje przewodność dopaminergiczną związane z emocjami, zachowaniem i funkcjami poznawczymi, a zaburzenie tego przewodnictwa może prowadzić do rozwoju chorób neurologicznych i psychiatrycznych, takich jak: depresja, ADHD i ChP. [349] Z patogenezą ChP najprawdopodobniej związane są również mutacje występujące w genie *DAT*. Wprawdzie badania Singh i wsp. [281] nie wykazały korelacji polimorfizmu genu *DAT* (1215A>G) z ChP, podobnie jak badania Kiura i wsp. [156] oraz Lin i wsp. [185] (Tabela 3). Natomiast Morino i wsp. [214] wykazali istotne obniżenie częstości występowania allelu G genu *DAT* (1215A>G) u chorych z ChP oraz udział DAT w rozwoju ChP, przez wpływ na procesy detoksykacyjne, stres oksydacyjny i regulację poziomu DA. [281]

Wykazano, że DAT jest odpowiedzialny za wychwyt zwrotny DA uwalnianej do przestrzeni synaptycznej. Jest transporterem Na⁺/Cl⁻zależnym, należącym do rodziny SLC6, podobnie jak transportery dla: 5-HT, A, GABA i glicyny. Obniżenie aktywności DAT wykazane, w niektórych postaciach zaburzeń ruchowych o wczesnym początku, prowadziło do obniżenia poziomu DA w neuronie presynaptycznym, utrzymywania się wysokiego stężenia DA w przestrzeni synaptycznej, regulacji „w dół” (ang. *down-regulation*) receptorów postsynaptycznych, zahamowania syntezy DA przez presynaptyczne autoreceptory D₂, upośledzenia przewodnictwa dopaminergicznego i wystąpienia zaburzeń ruchowych. [18]

Ponadto wykazano, że największa ilość DAT występuje w obrębie prążkowiec. W korze mózgowej jego występowanie jest niskie, nawet u zdrowych osób. Jednocześnie wykazano, że obniżenie poziomu DAT, może powodować przemieszczanie się DA do innych neuronów za pośrednictwem NET i jej eliminację. [221]

Transporter wychwyty zwrotnego serotoniny, SERT

Transporter wychwyty zwrotnego serotoniny (SERT lub 5-HTT) jest kodowany przez gen *5-HTT* nazywany SLC6A4 (ang. *SLC6 member 4*), zlokalizowany na długim ramieniu 17. chromosomu w regionie 17q11.1-q12. [219] Gen *5-HTT* może odgrywać ważną rolę w ujawnieniu się i rozwoju chorób psychicznych, depresji, ChP i odczucia bólu. [83-85,128,209,299]

W ChP obserwuje się zmiany poziomu SERT w obrębie jąder szwu, zakrętu obręczy i podwzgórza oraz zwiększenie aktywności SERT i obniżenie poziomu 5-HT w prążkowie prowadzące najprawdopodobniej do stanów depresyjnych u tych chorych. [11,240]

Wpływ wariantów genetycznych genu *5-HTT* na poziom SERT w określonych strukturach mózgu chorych na ChP nie jest jednoznaczny. W piśmiennictwie pojawiły się prace wskazujące na wpływ polimorfizmów 5-HTTLPR (ang. *serotonin transporter linked polymorphic region*) oraz 5-HTR2A genu *5-HTT* na obniżenie ekspresji SERT w zakręcie obręczy i jądrze ogoniastym. W badaniach tych nie obserwowano jednak korelacji pomiędzy wykazanym polimorfizmem genu *5-HTT* i ujawnieniem się ChP. [109] Natomiast badania prowadzone na 393 chorych z ChP rasy kaukaskiej wskazały na wpływ polimorfizmu 5-HTTLPR na ryzyko ujawnienia się ChP. [3] Mutacje genu *5-HTT* związane z patogenezą ChP zestawiono w tabeli 3.

1.4.11. Aminy biogenne a objawy kliniczne choroby Parkinsona

W ChP obserwuje się zarówno uszkodzenie neuronów dopaminergicznych, jak i w 50-80% degenerację neuronów noradrenergicznych miejsca sinawego. [10,319] Wykazano, że u chorych z ChP zaburzenia układu noradrenergicznego (uszkodzenia miejsca sinawego) mogą jednocześnie modyfikować neurotransmisję dopaminergiczną. [259] Ponadto, w ChP oprócz DA w rowoju zaburzeń ruchowych związanych z degeneracją jądra szwu i miejsca sinawego, mogą uczestniczyć inne neuroprzekaźniki, takie jak: NA lub 5-HT. [24,58,259] Natomiast pojawienie się u chorych z ChP powszechnie występującego dżenia jest najprawdopodobniej związane m.in. z obniżonym poziomem A. [198]

Obniżenie poziomu DA, NA i 5-HT wykazano w modelu doświadczalnej ChP u myszy, u których obserwowano zwiększony stres oksydacyjny, ubytek neuronów dopaminergicznych w części zbitej istoty czarnej oraz gromadzenie ASN, którym towarzyszyły zaburzenia ruchowe oraz węchu, opóźnione opróżnianie żołądka, zaburzenia snu, lęk i depresja. [35]

W ChP degeneracja układu serotonergicznego może mieć wpływ na rozwój, podobnie jak w wielu innych schorzeniach m.in. depresji, zaburzeń psychiatrycznych oraz zaburzeń snu. [215]

Wykazano również, że chorzy z objawami dyskinez po L-dopie posiadali wyższy poziom DA w jądrze ogoniastym i niższy stosunek 5-HT/DA w porównaniu do chorych bez objawów niepożądanych po terapii tym preparatem. Zaburzony poziom analizowanych neuroprzekaźników u chorych leczonych L-dopą najprawdopodobniej był związany ze spadkiem poziomu 5-HT [157], ze względu na współzawodniczenie egzogennej L-dopy z 5-hydroksytryptofanem, substratem do biosyntezy 5-HT. [33]

Ponadto wykazano, że czynniki regulujące poziom amin biogennych, takie jak: COMT [217], MAO-A [50] i gen *5-HTT* kodujący SERT [128] oraz bradykinina [148] są jednocześnie włączone

w odczucie bólu z udziałem neuropeptydu Y (NPY). Ponadto, wykazano, że neuropeptydy, Y₁ i Y₂ uczestniczą zarówno w regulacji poziomu jonów Ca²⁺ z udziałem kalbindyny-B (ang. *calbindin B*, CB), jak i stanów zapalnych, stanowiących podstawę zmian degeneracyjnych w przebiegu ChP (Ryc. 7). [67]

1.5. Inne choroby przebiegające z zaburzeniami ruchowymi

Do chorób przebiegających z zaburzeniami ruchowymi, oprócz ChP możemy zaliczyć m.in. MSA, PSP, CBD i DLB.

1.5.1. Epidemiologia zaniku wieloukładowego

Zanik wieloukładowy stanowi 10% przypadków chorych z zespołem parkinsonowskim w przebiegu choroby zwyrodnieniowej. [182] Zachorowalność na MSA wynosi około 0,6/100tys. osób/rok. W populacji powyżej 50. r.ż. zachorowalność na tę chorobę wzrasta do 3/100tys./rok. Częstość występowania MSA wynosi około 4,4/100tys. osób. [269]

Ryzyko zachorowania na MSA wzrasta w środowisku narażonym na pył metaliczny, np. Fe, ale nie na Mn. Na zachorowanie na MSA mogą mieć wpływ również czynniki genetyczne, szczególnie rodzinne występowanie MSA z postacią przebiegającą z dominującymi objawami parkinsonowskimi (ang. *MSA with predominant parkinsonism*, MSA-P). Średni czas przeżycia chorych po rozpoznaniu MSA wynosi około 5-6 lat. [159]

1.5.2. Zmiany patologiczne w zaniku wieloukładowym

W MSA dochodzi do uszkodzenia jąder Onufa (neuronów ruchowych), upośledzenia podlegających woli zwieraczy pęcherza moczowego i odbytu. Obserwuje się również zmiany w słupach pośrodko-bocznych rdzenia kręgowego, jądrze grzbietowym nerwu błędnego, jądrze i paśmie samotnym, mostowo-opuszkowym tworze siatkowatym, nakrywce. [182] Przewaga objawów klinicznych zależy od umiejscowienia zmian patologicznych: utraty neuronów, glejozy (w prążkowie, istocie czarnej, gałce bladej, mózdzku, jądrze dolnym oliwki, jądrach podstawnych mostu, komórkach rogu pośrodko-bocznego, rogu przedniego rdzenia kręgowego, drodze korowo-rdzeniowej), [90,182] wtrętów cytoplazmatycznych w komórkach glejowych, srebrochłonnych ciał okołojądrowych z ubikwityną i białkiem tau. [182] W korze nowej, hipokampie, pniu mózgu, rdzeniu kręgowym i zwojach korzeni tylnych w komórkach oligodendrocytów i osłonek mielinowych u chorych z MSA pojawiają się tubulofilamentowe wtręty bogate w ASN, białko prekursorowe nieamyloidowego

komponentu płytek amyloidowych, tubulinę beta, B-krystalinę. [90] Także w neuronach zazwojowych występują zmiany w postaci LB. [182]

U chorych z MSA objawy ustępują w niewielkim stopniu lub tylko przejściowo po leczeniu L-dopą. Ponadto objawy choroby rozwijają się szybko i doprowadzają do unieruchomienia chorego a w końcu do śmierci, z powodu zaburzeń autonomicznych. [159]

W przebiegu MSA dochodzi do uszkodzenia układu autonomicznego i pozapiramidowego, objawiającego się drżeniem posturalnym i zamiarowym, sztywnością, bradykinezją oraz niestabilnością postawy i pogorszeniem funkcji poznawczych. W zależności od przewagi objawów wyróżniamy następujące postaci: syndrom Shy-Drager'a, zwyrodnienie czarno-prążkowiowe, zanik oliwkowo-mostowo-mózdkowy i zespół amiotrofia-parkinsonizm.

- zwyrodnienie czarno-prążkowiowe

Zwyrodnienie występuje głównie w istocie czarnej i prążkowie (czasem mózdku). Pojawia się zespół parkinsonowski bez drżenia, dochodzi do zaniku neuronów. L-Dopa daje słabe efekty terapeutyczne (niepożądane reakcje dystoniczne np. stidor krtaniowy – porażenie strun głosowych).

- Zespół Shy'a-Dragera

Zwyrodnienia dotyczą przedzwojowych neuronów współczulnych (rogi pośrednio-boczne rdzenia kręgowego). Zwyrodnienie istoty czarnej objawia się parkinsonizmem, zwyrodnieniem mózdku – ataksją, prążkowie – brakiem reakcji na L-dopę, komórek rogu przedniego rdzenia kręgowego – zanikiem mięśni. Pozazwojowe neurony współczulne zostają zwykle oszczędzone, stąd stężenie NA w surowicy w pozycji leżącej jest prawidłowe. Pojawia się hipotonia ortostatyczna, impotencja, zaburzenia zwieraczy pęcherza moczowego i odbytu. Przy nienaruszonym prążkowie czasem występuje reakcja na L-dopę, lecz lek nasila hipotonię.

- Zanik oliwkowo-mostowo-mózdkowy

Dochodzi do zwyrodnienia oliwki, mostu, mózdku, istoty czarnej oraz prążkowie. W postaci rodzinnej dominują objawy mózdkowe, w postaci sporadycznej zaś mózdkowo-parkinsonowskie. Czasem występuje reakcja na L-dopę (nienaruszone prążkowie).

- Zespół amiotrofia parkinsonizm

Dochodzi do zwyrodnienia komórek rogów przednich rdzenia kręgowego i istoty czarnej.

Stosuje się także inny podział kliniczny MSA:

- zespół zaburzeń układu autonomicznego i moczowego
- parkinsonizm
- zespół objawów świadczący o uszkodzeniu mózdku
- zespół objawów uszkodzenia korowo-rdzeniowego. [182]

1.5.3. Diagnostyka zaniku wieloukładowego

W MSA, wskazuje się na większe uszkodzenia ośrodkowego układu noradrenergicznego w porównaniu do ChP (mierzone poziomem NA w płynie mózgowo-rdzeniowym i na obwodzie) z jednoczesną przewagą uszkodzeń obwodowego układu noradrenergicznego w ChP. [102] W płynie mózgowo-rdzeniowym u chorych z MSA-P stwierdza się wyższe poziomy ciężkich i lekkich podjednostek neurofilamentowych i białka tau w porównaniu do chorych z ChP. [189] U chorych z MSA nie wykazano obecności LB w neuronach skóry. [136]

1.5.4. Leczenie zaniku wieloukładowego

Pomimo pogarszającej się odpowiedzi podczas terapii L-dopą chorych z MSA, w wielu przypadkach zalecane jest utrzymywanie leczenia tym preparatem. Mało skuteczna u tych chorych jest również terapia agonistami receptorów D, a apomorfina skuteczna jest jedynie w 12-14% przypadków. [83]

Podjęmowane próby podoponowej elektrostymulacji kory ruchowej u chorych z MSA nie przyniosły istotnej poprawy, jak również operacje chirurgiczne na jądrach podstawy oraz z przeszczepem płodowych komórek dopaminergicznych prądkowia. [159]

1.6. Diagnostyka różnicowa zaburzeń ruchowych

1.6.1. Badania neuroobrazowe w zaburzeniach ruchowych

Przeznaczkowa ultrasonografia mózgu z wykorzystaniem usznych okien akustycznych pozwala na odróżnienie chorób przebiegających z zaburzeniami ruchowymi od ChP:

- nie zmieniona echogenicznie istota czarna i początek choroby poniżej 60. r.ż. wyklucza ChP oraz wskazuje na MSA lub PSP (czułość 75%; specyficzność 100%)
- nie zmieniona echogenicznie istota czarna z hiperechogenicznością jądra soczewkowatego świadczy o wystąpieniu MSA lub PSP (czułość 59%; specyficzność 100%)
- nie zmieniona echogenicznie istota czarna wskazuje na wystąpienie MSA (czułość 90%; specyficzność 98%)
- poszerzenie trzeciej komory mózgu ponad 10mm z hiperechogenicznością jądra soczewkowatego wskazuje na PSP (czułość 84%; specyficzność 98%). [320]

Pomiar średnicy śródmózgowia w obrazie rezonansu magnetycznego (ang. *magnetic resonance imaging*, MRI) pozwala na odróżnienie ChP od innych zaburzeń ruchowych. Średnica mostu

w płaszczyźnie przednio tylnej prostopadłej do dna czwartej komory jest znacząco mniejsza u chorych z MSA i PSP, niż u chorych z ChP. [323]

Zarówno chorzy z ChP, PSP, jak i MSA-P wykazują znaczący spadek poziomu DAT w prążkowiu. W PSP i MSA-P pojawia się także obniżenie poziomu DAT w pniu mózgu. [271]

Badanie poziomu DAT w organizmie za pomocą ligandów tego transportera jest wykonywane metodą SPECT (ang. *single-photon emission computed tomography*) z wykorzystaniem:

- [¹²³I]FPCIT (N-ω-fluoropropylo-2β-carbometoksy-3β-(4-[¹²³I]jodofenylo)nortropanu,
- ioflupanu, DaTscan™;
- 3-6 godz. po podaniu znacznika [^{99m}Tc]TRODAT-1, [2-[[2-[[[3-(4-chlorofenylo)-8-metylo-8-azabicyklo[3.2.1]2-oktylo]metylo](2-merkaptoetylo)amino]etylo]amino]etanotiolato(3-)-N2,N20,S2,S20]okso-[1R-(egzo-egzo)];
- 3-6 godz. po podaniu znacznika [¹²³I]β-CIT (2 β -karbometoksy-3β-(4-[¹²³I]jodofenylo)tropan, iometopan)
- 2-3 godz. po podaniu znacznika [¹²³I]altropanu - rzadziej stosowane ze względu na szybkie wymywanie z mózgowia.

Do badania obrazowego na obecność dekarboksylazy L-dopy w badaniu PET (ang. *positron emission tomography*) wykorzystuje się [¹⁸F]dopę lub [¹³C]dopę. Badanie obrazowe na obecność DAT wykonuje się z wykorzystaniem techniki SPECT za pomocą [¹²³I]FP-CIT, [¹²³I]β-CIT, [^{99m}Tc]THRODAT-1, [¹²³I]PE2I lub [¹²³I]-altropanu oraz z wykorzystaniem techniki PET z użyciem [¹¹C]kokainy, [³H]WIN, [¹¹C]altropanu, [¹¹C]/[¹⁸F]β-CIT czy [¹¹C]dMP. Obrazowanie rozmieszczenia pęcherzykowego transportera amin biogennych przeprowadza się z użyciem [¹¹C]DTBZ i techniki PET. Receptory D₂ uwidacznia się w badaniu SPECT za pomocą [¹²³I]IBZM lub w badaniu PET z użyciem [¹¹C]rakloprydu, [¹⁸F]DMFP lub [¹¹C]NMSP. [52]

1.6.2. Trudności diagnostyczne u chorych z zaburzeniami ruchowymi

Nie ma wyraźnych kryteriów pozwalających na rozróżnienie kliniczne DLB i ChP z otępieniem (ang. *Parkinson's disease dementia*, PDD), a nawet odróżnienia ich od ChP bez cech otępienia. [201] Nie ma także wyraźnych kryteriów na rozróżnienie *post mortem* ChP, DLB, PDD, czy ChA. Wydaje się, że wymienione choroby neurozwyrodnieniowe mogą być jedynie różnymi schorzeniami pod względem kolejności i szybkości postępowania degeneracji dróg neuronalnych. [242]

Ponadto, 25% przypadków rozpoznanych klinicznie, jako ChP jest negatywnie weryfikowana w badaniu histopatologicznym *post mortem*. [134]

Trudności diagnostyczne potwierdzają także przykłady włączania do grupy chorych na ChP, osób z MSA, czy PSP. [27,292], jak również przedkliniczny okres trwający 3-5 lat, w którym nie jest wykrywana ChP metodą PET z 6-^[18F]fluoro-L-dopą. [275]

Pozytywna odpowiedź na leczenie L-dopą, choć jest cenną wskazówką diagnostyczną, nie występuje u 4-23% osób z ChP. [140] Chorzy z ChP mogą dawać pozytywną odpowiedź na terapię L-dopę przez długi okres czasu (6 lat), po czym mogą się u nich gwałtownie rozwijać objawy vegetatywne. Mogą chorzy również prezentować objawy kliniczne dobrze kontrolowane przez rok, nawet przez wykonaną elektryczną stymulację jąder podwzgórza, zaś w badaniu autopsyjnym wykazywać cechy MSA w postaci zmiany w skorupie, gałce bladej, jądrach mostowych szwu, w istocie białej mózgowia, jak i ubytek istoty czarnej, lecz bez obecności LB, ASN oraz ubikwityny. [292]

Wydaje się, że badania biochemiczne i molekularne amin biogennych mogą w przyszłości stanowić uzupełnienie trudnej przyżyciowej diagnostyki chorób neurodegeneracyjnych, w tym chorób przebiegających z zaburzeniami ruchowymi.

2. Cel pracy

Celem pracy była analiza stężenia trzech osoczowych amin biogennych, 5-HT i dwóch katecholamin: NA i A oraz ich metabolitów, metoksykatecholamin: MNA i MA, odpowiednio w moczu u chorych z zaburzeniami ruchowymi: z rozpoznaną ChP, z zespołem parkinsonowskim w przebiegu choroby zwyrodnieniowej, MSA oraz u kontrolnych ochotników w populacji polskiej. U tych osób badaniu poddano również częstość występowania wariantów genów związanych z metabolizmem oraz wychwytem zwrotnym amin biogennych zaangażowanych m.in. w regulację ciśnienia tętniczego krwi: *COMT* (c.649G>A), *MAO-A* (c.1460C>T) i *NET* (c.1287G>A).

Zarówno u chorych z zaburzeniami ruchowymi, jak i u kontrolnych ochotników, pomiar ciśnienia tętniczego krwi (S, R) oraz badanie stężenia osoczowych amin biogennych przeprowadzono w dwóch pobraniach, po 30 min. odpoczynku i po 5 min. pionizacji. Natomiast dla oznaczenia stężenia metoksykatecholamin w moczu: MNA i MA przeprowadzono zbiórkę dobową tego materiału biologicznego.

W przeprowadzonych badaniach uwzględniono również analizę stężenia oznaczonych amin biogennych i metoksykatecholamin w zależności od posiadanego genotypu badanych genów, zaawansowania choroby w skali Hoehn i Yahra oraz stosowanej farmakoterapii terapii L-dopą.

3. Materiał i metody

3.1. Materiał

Grupa badana

Chorzy z chorobą Parkinsona

Badaniu poddano 49 chorych z klinicznie rozpoznaną ChP w oparciu o kryteria UKPDSBB [188], 25 kobiet i 24 mężczyzn w wieku 35-82 lata (średnia wieku: $62,8 \pm 10,8$ lat). Wśród chorych na ChP, 7 osób (4 kobiety i 3 mężczyzn) w wieku 41-81 lat (średnia wieku: $59,3 \pm 12,7$ lat) nie było leczonych L-dopą, a pozostałe 42 osoby (21 kobiet i 21 mężczyzn) w wieku 35-82 lata (średnia wieku: $63,4 \pm 10,6$ lat) były leczone preparatami L-dopy. Chorym na ChP podawano L-dopę w dawce do 500mg na dobę w ciągu pierwszych 5 lat leczenia oraz w dawce 500-1200mg na dobę w ciągu kolejnych 5 lat kuracji, a także 800-1500mg na dobę w kolejnych latach terapii. 48% chorych na ChP było leczonych L-dopą poniżej 5 lat, a 52% z nich otrzymywało preparaty L-dopy powyżej 5 lat.

Stadium zaawansowania ChP określano według skali Hoehn i Yahra. [124] Badaniu poddano chorych w 1, 2 i 3 stopniu rozwoju choroby.

W grupie chorych na ChP, w momencie włączenia do badań nie stwierdzono w wywiadzie RChP.

Chorzy z zespołem parkinsonowskim w przebiegu choroby zwyrodnieniowej

Badaniu poddano również 19 chorych z rozpoznany zespół parkinsonowski w przebiegu choroby zwyrodnieniowej, w oparciu o kryteria klinicznego ich rozpoznania, 8 kobiet i 11 mężczyzn w wieku 38-75 lata (średnia wieku: $56,0 \pm 8,5$ lat). Wśród 18 chorych z zespołem parkinsonowskim, 56% z nich było leczonych L-dopą poniżej 5 lat i 44% powyżej 5 lat. Jeden chory nie był leczony preparatami L-dopy.

Chorzy z zanikiem wieloukładowym

Badaniu podano 6 chorych z MSA, 6 kobiet w wieku 51-63 lata (średnia wieku: $56,0 \pm 5,0$ lat). Wszyscy chorzy otrzymywali preparaty L-dopy.

Chorzy z ChP, zespołem parkinsonowskim w przebiegu choroby zwyrodnieniowej oraz MSA byli hospitalizowani w Klinice Neurologii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu w latach 2007 – 2010.

Uzyskano zgodę Lokalnej Komisji Etycznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu na prowadzenie badań oraz pisemną zgodę wszystkich badanych osób (No. KB 786/07, z dnia 06.09.2007 roku).

Grupa kontrolnych ochotników

Grupę kontrolną stanowiło 48 osób, 33 kobiety i 15 mężczyzn w wieku 25-76 lat (średnia wieku: $55,8 \pm 10,0$ lat).

Osoby kontrolne nie wykazywały objawów chorób neurologicznych i cech otępienia.

Kryteria włączenia do badań:

I. Kryteria włączenia do grupy badanej chorych z ChP:

- a) zgoda na udział w badaniach,
- b) postawienie diagnozy ChP przez lekarza specjalistę neurologa, zgodnie z obowiązującymi kryteriami klinicznego rozpoznania choroby,
- c) nieobecność ChP w rodzinie,
- d) odpowiednia ilość i jakość materiału do badań biochemicznych i genetycznych,
- e) dostępność danych, takich jak: wiek, płeć, czas trwania choroby, postęp choroby, historia farmakoterapii,
- f) nieobecność zaburzeń funkcjonowania nerek w wywiadzie.

Kryteria wyłączenia z badań:

- a) brak zgody na udział w badaniach,
- b) urazy mózgu lub infekcja OUN i inne choroby neurologiczne,
- c) parkinsonizm wtórny,
- d) parkinsonizm atypowy.

II. Kryteria włączenia do grupy z zespołem parkinsonowskim w przebiegu choroby zwyrodnieniowej::

- a) zgoda na udział w badaniach,
- b) postawienie diagnozy zespołu parkinsonowskiego przez lekarza specjalistę neurologa, zgodnie z obowiązującymi kryteriami klinicznego rozpoznania choroby,
- c) znany wiek i płeć, czas trwania choroby, postęp choroby, historia farmakoterapii,
- d) nieobecność innych chorób neurologicznych,
- e) nieobecność zaburzeń funkcjonowania nerek w wywiadzie.

Kryteria wyłączenia z grupy:

- a) brak zgody na udział w badaniach,
- b) obecność innych chorób neurologicznych.

III. Kryteria włączenia do grupy chorych z MSA:

- a) zgoda na udział w badaniach,

- b) postawienie diagnozy MSA przez lekarza specjalistę neurologa, zgodnie z obowiązującymi kryteriami klinicznego rozpoznania choroby,
- c) znany wiek i płeć, czas trwania choroby, postęp choroby, historia farmakoterapii,
- d) nieobecność innych chorób neurologicznych,
- e) nieobecność zaburzeń funkcjonowania nerek w wywiadzie.

Kryteria wyłączenia z grupy:

- a) brak zgody na udział w badaniach,
- b) obecność innych chorób neurologicznych.

IV. Kryteria włączenia do grupy kontrolnej:

- a) zgoda na udział w badaniach,
- b) znany wiek i płeć,
- c) nieobecność ChP w rodzinie,
- d) nieobecność zaburzeń funkcjonowania nerek w wywiadzie,
- e) brak obniżenia ciśnienia tętniczego krwi, S i R powyżej 20 mmHg i 10 mmHg, odpowiednio.

Kryteria wyłączenia z grupy:

- a) brak zgody na udział w badaniach,
- b) obecność innych chorób neurologicznych i cech otępienia.

Materiał do badań genetycznych

Krew pełną pobraną od osób badanych do badań genetycznych na wersenian potasu zamrażano w temp. -80°C i przechowywano do dalszej analizy.

Materiał do badań biochemicznych

Do oznaczania stężenia osoczowych amin biogennych (NA, A, 5-HT) krew pobierano na wersenian potasu od osób z grupy kontrolnej i od chorych z zaburzeniami ruchowymi w dwóch pobraniach, po 30 min. odpoczynku w pozycji leżącej przed pobraniem próbki i pozostanie w tej pozycji w trakcie pobierania krwi oraz po 5 min. pionizacji. [97,143] W tych samych warunkach u osób badanych i kontrolnych przed pobraniem krwi do badań wykonano pomiar ciśnienia tętniczego krwi, S i R. Krew pobraną do badań biochemicznych wirowano przez 10 min. przy 3000 obr./min., następnie zbierano supernatant i zamrażano do dalszej analizy w temp. -80°C .

Przed pobraniem krwi osoby badane zostały poinformowane o stosowaniu diety i zaprzestaniu przyjmowania leków (m.in. paracetamolu na 48 godz. przed badaniem) oraz pozostawaniu na czczo (bez jedzenia i płynów innych niż woda na 8-10 godz. przed pobraniem krwi). [179]

W celu oznaczenia stężenia metoksykatecholamin (MNA, MA) w moczu u badanych osób przeprowadzono zbiórkę dobową moczu. Dla utrzymania kwaśnego odczynu moczu do naczynia, w którym zbierano materiał dodawano 10ml 25% kwasu solnego (HCl). Próbki moczu do badań przechowywano w temp. -80°C .

Osoby badane przed zbiórką moczu zostały poinformowane o pozostawaniu przez kilka dni przed badaniem i w trakcie zbiórki na diecie normosodowej, bez picia kawy, herbaty oraz spożywania cytrusów, a także zaprzestaniu przyjmowania leków (m.in. salicylanów). [143]

Odczynniki chemiczne

Do wykonania badań genetycznych i oznaczeń biochemicznych oraz przygotowania roztworów pomocniczych używano odczynników molekularnych, a także chemicznych najwyższej czystości analitycznej i chemicznej, renomowanych firm krajowych i zagranicznych.

Aparatura oraz sprzęt trwały

- Amplifikator DNA Engine 220 (MJ Research, USA),
- aparat do elektroforezy agarozowej (Life Technologies-GibcoBRL, USA),
- aparat do elektroforezy agarozowej (NOVA, Polska),
- aparat do pomiaru ciśnienia tętniczego krwi,
- aparat do SSCP - DNA Pointer System (Kucharczyk TE, Polska),
- aparat do wysokosprawnej chromatografii cieczowej (ang. *high performance liquid chromatography*, HPLC) [P580A, Dionex, Niemcy] z detektorem elektrochemicznym, EC (CoulArray 5600, ESA, USA),
- Gel Logic 200 Imaging System (Kodak, USA),
- komora do pracy z kwasami nukleinowymi (Bioair Instruments, Włochy),
- liofilizator (MLW, Polska),
- mieszadło wirowe Vortex (MLW, Polska),
- pipety automatyczne (Eppendorf, Niemcy),
- termoblok Thermomixer Comfort (Eppendorf, Niemcy),
- transiluminator UV (Vetter GMBH, Niemcy),
- waga analityczna (Kern, Niemcy),
- wirówka Centrifuge 5804R (Eppendorf, Niemcy),
- zasilacz do elektroforezy niskonapięciowej 250EX (Life Technologies, USA),
- zasilacz do elektroforezy wysokonapięciowej (Consort, Belgia).

Oprogramowania i bazy danych

- Microsoft Office Excel 2003

- Primer3
- STATISTICA for Windows (StatSoft, USA)
- GraphPad (InStat, USA)
- <http://ihg2.helmholtz-muenchen.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>
- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> – National Center for Biotechnology Information (PubMed, OMIM, BLAST, SNP)
- <http://www.ensembl.org> – Ensembl Genome Browser
- <http://www.genecards.org> – Gene Cards Homepage

3.2. Metody

Analiza biochemiczna

Oznaczanie stężenia osoczowych katecholamin (NA, A)

Przygotowanie próbek do badań. Do zawiesiny 17mg tlenku glinu (Alumina for column chromatography; Sigma, USA) w buforze 1,5M Tris-HCl pH 8,6 dodawano analizowane próbki osocza i odpowiednie standardy katecholamin (1mg/ml, ESA, USA) w stosunku 1:2 oraz wzorzec wewnętrzny DHBA (3,4-dihydroxybenzylamine hydrobromide, DHBA internal standard; 1mg/ml, ESA, USA) w stosunku 30:1. W celu przeprowadzenia adsorpcji katecholamin i DHBA na tlenku glinu zawiesinę wytrząsano przez 10 min. Następnie osadzano tlenek glinu i przepłukiwano roztworem wody i buforu 1,5M Tris-HCl pH 8,6 (50:1). Czynność powtarzano 2-krotnie. W celu przeprowadzenia desorpcji katecholamin z tlenku glinu, do osadu dodawano 200µl 1M HClO₄ i mieszaninę wytrząsano przez 10 min. Następnie zbierano nasącz i podawano do układu HPLC/EC. [309]

Oznaczanie stężenia analizowanych katecholamin. Analizę przeprowadzano na kolumnie META (250mm x 4,6mm x 5µ) [ESA, USA] w warunkach izokratycznych używając jako fazę ruchomą 50mM bufor fosforanowy pH 3,0 z dodatkiem 22% metanolu. Do sterowania układem, zbierania i obróbki danych użyto oprogramowania Chromeleon (Dionex, Niemcy).

Oznaczanie stężenia osoczowej serotoniny

Przygotowanie próbek do badań. Do 0,1M buforu octanowego pH 5,0 dodawano analizowane próbki osocza i odpowiednie standardy 5-HT (Sigma, USA) w stosunku 1:3 i mieszano. Następnie próbki odbiałczano 8M HClO₄ w stosunku 10:1 i podawano do układu HPLC/EC. [45]

Oznaczanie stężenia serotoniny. Analizę przeprowadzano na kolumnie Thermo Hypersil BDS C18 (250mm x 4,6mm x 5µ) [Niemcy] w warunkach izokratycznych używając jako fazę ruchomą 10mM bufor fosforanowy pH 5,0 z dodatkiem 10% metanolu. Do sterowania układem, zbierania i obróbki danych użyto oprogramowania Chromeleon (Dionex, Niemcy).

Oznaczanie stężenia metoksykatecholamin (MNA i MA) w moczu

Przygotowanie próbek do badań. Próbki moczu i odpowiednie standardy MNA i MA (Sigma, USA) odbiałczano 8M HClO₄ w stosunku 10:1 i podawano do układu HPLC/EC. [59,60]

Oznaczanie stężenia analizowanych metoksykatecholamin. Analizę przeprowadzano na kolumnie META (250mm x 4,6mm x 5μ) [ESA, USA] w warunkach izokratycznych używając jako fazę ruchomą 50mM bufor fosforanowy pH 3,0 z dodatkiem 22% metanolu. Do sterowania układem, zbierania i obróbki danych użyto oprogramowania Chromeleon (Dionex, Niemcy).

Analiza molekularna

Izolacja DNA z komórek krwi obwodowej

DNA z komórek krwi obwodowej izolowano metodą wysalania. W celu wyizolowania genomowego DNA do próbki krwi dodawano buforu do lizy w stosunku 1:3 i inkubowano na lodzie przez 60 min. Po inkubacji mieszaninę wirowano, a po usunięciu supernatantu osad zawieszano w 2,5ml schłodzonego buforu do lizy (155mM NH₄Cl; 10mM KHCO₃; 0,1mM Na₂EDTA pH 8,0) i ponownie wirowano. Czynności powtarzano 4-5 razy w zależności od stanu krwi (mrożona/świeża). Po ostatnim wirowaniu osad zawieszano w 1,25ml buforu SE (75mM NaCl; 9mM Na₂EDTA pH 8,0). Do mieszaniny dodawano 10% SDS oraz 2% roztworu proteinazy K w stosunku 20:1 i inkubowano przez 16 godz. w temp. 55°C. Po inkubacji dodawano 0,375ml 6M NaCl i wirowano w temp. pokojowej przez 15 min. Do supernatantu dodawano 0,375ml 6M NaCl i ponownie wirowano przez 15 min. (czynności te powtarzano dwa razy). DNA strącano dwiema objętościami 96% etanolu. Wytrącony DNA dwukrotnie przemywano 500μl 70% etanolu. Po wysuszeniu osad rozpuszczano w 500μl jałowej wody dejonizowanej (mQ). Do dalszych analiz próbki przechowywano w temp. -20°C.

Genotypowanie polimorfizmów genów *COMT*, *MAO-A*, *NET*

Badanie polimorfizmów genów *COMT* (c.649G>A), *MAO-A* (c.1460C>T), *NET* (c.1287G>A) przeprowadzono metodą reakcji polimerazy łańcuchowej (ang. *polimerase chain reaction*, PCR) oraz analizy polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych (ang. *restriction fragment length polymorphism*, RFLP).

Do analizy eksonu 4. genu *COMT*, eksonu 14. genu *MAO-A* oraz eksonu 9. genu *NET* zastosowano startery zaprojektowane za pomocą programu Primer3 zestawione w tabeli 4.

Tabela 4. Charakterystyka starterów stosowanych do amplifikacji badanych genów

Gen (fragment)	Polimorfizm (numer SNP)	Sekwencja startera	Długość produktu PCR	Temp. przyłączania startera
<i>COMT</i> (ekson 4.)	c.649G>A (SNP 4680)	F: ACCAGGGAGGTGAAATACCC R: CCTTGGCAGTTTACCCAGAG	582pz	57°C
<i>MAO-A</i> (ekson 14.)	c.1460C>T (SNP 1137070)	F: CGAGCAGCTAGGGAGGTAAG R: GTGGCAGGAGCTTGTATTTGTA	615pz	63°C
<i>NET</i> (ekson 9.)	c.1287G>A (SNP 5569)	F: TCACCTCTCCACGTAGTT R: GCCCCAGTTCTAAGGCTAGG	436pz	56°C

Reakcję PCR przeprowadzono w objętości 20µg mieszaniny z użyciem około 10ng genomowego DNA w odpowiednio dobranych warunkach temperaturowych (50°C - 64°C) [Tabela 5].

Tabela 5. Skład mieszaniny reakcyjnej do amplifikacji fragmentów

Składnik	Stężenie wyjściowe	Objętość (µl)
woda mQ		14
bufor	10X	2
MgCl ₂	25mM	1,2
dNTPs	10mM	0,5
starter przedni	25pmol/µl	0,1
starter tylny	25pmol/µl	0,1
matryca	~5µg/µl	1,5
Taq DNA Polimeraza	1U/µl	0,6
objętość końcowa		20µl

Reakcję amplifikacji przeprowadzono zgodnie z poniżej podanym profilem czasowo-temperaturowym:

- denaturacja wstępna przez 3 min. w 94°C,
- 35 cykli obejmujących:
 - denaturację: 30 s w 94°C,
 - przyłączanie starterów: 30 s w temp. 56-63°C,
 - elongację: 30s w 72°C,
 - elongację końcową: przez 5 min. w 72°C,
 - inkubację: w 4°C.

Dla uwidocznienia produktów amplifikacji, analizowano w świetle UV fragmenty rozdzielone na 1,5% żelu agarozowym.

Po pozytywnej weryfikacji amplifikowanych fragmentów, wykonywano analizę RFLP. Warunki analizy RFLP przedstawiono w tabeli 6.

Tabela 6. Warunki analizy restrykcyjnej (RFLP)

Gen (fragment)	Polimorfizm	Enzym restrykcyjny	Długości produktów RFLP (pz)	Stęż. żelu (%)*
<i>COMT</i> (ekson 4.)	c.649G>A (SNP4680)	<i>NlaIII</i> CATG/	GG: 265 + 149 + 114 + 54 GA: 265 + 149 + 114 + 96 + 54 + 18 AA: 265 + 149 + 96 + 54 + 18	12% (PAA)
<i>MAO-A</i> (ekson 14.)	c.1460C>T (SNP1137070)	<i>EcoRV</i> GAT/ATC	CC: 615 CT: 615 + 361 + 254 TT: 361 + 254	2,0% (A)
<i>NET</i> (ekson 9.)	c.1287G>A (SNP5569)	<i>Eco147I</i> AGG/CCT	GG: 436 GA: 436+248+188 AA: 248+188	2,5% (A)

*Fragmenty restrykcyjne były analizowane na żelach agarozowych (A) oraz na żelach poliakrylamidowych (PAA)

Analiza produktów trawienia enzymami restrykcyjnymi

Produkty PCR poddane analizie restrykcyjnej rozdzielano w żelach agarozowych lub w PAA. Żele PAA stosowano w celu otrzymania większej rozdzielczości i jednoznacznej weryfikacji profilu migracyjnego.

Elektroforeza w żelu agarozowym

Rozdział produktów trawienia restrykcyjnego dla fragmentów wszystkich badanych genów, z wyjątkiem *COMT* prowadzono w 2,0% lub 2,5% żelach agarozowych z dodatkiem bromku etydyny w buforze 1xTBE (1M Tris doprowadzony do pH 8,3 kwasem borowym; 0,02M EDTA; woda bidestylowana) przy napięciu 120V przez około 45 min. w obecności wzorca wielkości. Wykorzystano całą objętość mieszaniny reakcyjnej po uprzednim zmieszaniu z 3µl buforu obciążającego (0,25% błękit bromofenolowy; 0,25% ksylencjanol; 30% glicerol). Na podstawie wyników rozdziału elektroforetycznego po wcześniejszej wizualizacji w świetle UV określano genotyp.

Elektroforeza w żelu poliakrylamidowym

Żele poliakrylamidowe (PAA) stosowano do rozdziału fragmentów o mniejszej długości niż fragmenty rozdzielane w żelach agarozowych. Żele PAA (12%) wykorzystano przy analizie fragmentów restrykcyjnych genu *COMT*. Do próbek z mieszaniną reakcyjną dodawano 3µl buforu obciążającego a następnie całą zawartość nakładano na żel. Prowadzono przez 10 min. elektroforezę wstępną przy napięciu 100V, co pozwalało na zagęszczenie próbek na granicy żelu. Właściwy rozdział elektroforetyczny prowadzono przez 90 min. przy zastosowaniu 500V, 100mA, 25W.

Barwienie żeli PAA metodą srebrową. Bezpośrednio po zakończonej elektroforezie żel barwiono metodą srebrową, której pierwszym etapem było odwadnianie żelu PAA w roztworze 10% etanolu. Po wypłukaniu żelu wodą mQ dodawano 1% kwas azotowy w celu utlenienia DNA. W kolejnym etapie, po wypłukaniu żelu wodą mQ, dodawano roztwór 1% azotanu srebra

z formaldehydem, który powodował redukcję Ag do formy metalicznej. Metaliczne srebro wiązało się z DNA tworząc nierozpuszczalne sole. Po 15 min. inkubacji w roztworze AgNO_3 i dokładnym wypłukaniu żelu wodą mQ precypitaty DNA uwidaczniano przez wielokrotne płukanie żelu w 3% roztworze węglanu sodu z dodatkiem formaldehydu. Zatrzymanie reakcji redukcji jonów srebra oraz utrwalenie wyniku uzyskiwano poprzez obniżenie pH przy użyciu 10% kwasu octowego. Produkty rozdziału elektroforetycznego fragmentów restrykcyjnych uwidaczniano w białym świetle widzialnym w komorze do archiwizowania żeli.

3.3. Statystyczna ocena wyników

Uzyskane wyniki badań biochemicznych analizowano za pomocą nieparametrycznego testu Wilcoxon dla zmiennych powiązanych oraz nieparametrycznego testu Manna-Whitney'a dla zmiennych niepowiązanych, a także parametrycznego testu Kruskal-Wallis dla zmiennych niepowiązanych.

W celu oceny statystycznej uzyskanych wyników badań polimorfizmów genów: *COMT*, *MAO-A*, *NET* zastosowano testy nieparametryczne dla zmiennych niepowiązanych: test Chi2 oraz dokładny test Fishera.

Dla zastosowanych analizowanych testów statystycznych przyjęto poziom ufności $\alpha=0,05$.

4. Wyniki

Badaniu podano stężenie trzech amin biogennych: NA, A i 5-HT w osoczu krwi obwodowej oraz metoksy pochodnych katecholamin NA i A: MNA, MA (odpowiednio) w moczu, u chorych z zaburzeniami ruchowymi: z rozpoznaną ChP, z zespołem parkinsonowskim w przebiegu choroby zwyrodnieniowej, MSA oraz u kontrolnych ochotników w populacji polskiej. U badanych osób analizowano również częstość występowania wariantów genetycznych, genów związanych z metabolizmem oraz wychwytem zwrotnym amin biogennych: *COMT* (c.649G>A), *MAO-A* (c.1460C>T) i *NET* (c.1287G>A).

U wszystkich badanych osób analizę stężenia wybranych osoczowych parametrów (NA, A i 5-HT) przeprowadzono w dwóch pobraniach, po 30 min. odpoczynku i po 5 min. pionizacji. W tych samych warunkach u badanych osób przed pobraniem krwi do analizy wykonano pomiar ciśnienia tętniczego krwi, S i R. Natomiast pomiar stężenia metoksykatecholamin (MNA i MA) w moczu wykonano po przeprowadzeniu zbiórki dobowej tego materiału biologicznego.

Wśród badanych chorych z zaburzeniami układu pozapiramidowego, 14% chorych z ChP, 23% osób z zespołem parkinsonowskim w przebiegu choroby zwyrodnieniowej oraz 67% chorych z MSA wykazywało spadek ciśnienia tętniczego krwi powyżej: S, 20 mmHg i/lub R, 10 mmHg pomiędzy 30 min. odpoczynkiem i 5 min. pionizacją ciała. Żadna osoba z grupy kontrolnych ochotników nie wykazywała po 30 min. odpoczynku i 5 min pionizacji spadku ciśnienia tętniczego krwi zarówno S, jak i R większego niż 20 mmHg i/lub 10 mmHg, odpowiednio. Średnie wartości pomiaru ciśnienia tętniczego krwi po 30 min. odpoczynku i 5 min. pionizacji zarówno u chorych z zaburzeniami układu pozapiramidowego, jak i kontrolnych ochotników zestawiono w tabeli 7.

Tabela 7. Wartości pomiaru ciśnienia tętniczego krwi, po 30 min. odpoczynku (I) i po 5 min. pionizacji (II) u chorych z zaburzeniami ruchowymi i u osób kontrolnych

Badane osoby	Ciśnienie skurczowe krwi (S) [mmHg]		Ciśnienie rozkurczowe krwi (R) [mmHg]		P S/R
	I	II	I	II	
Kontrolni ochotnicy	129,4±18,0	129,2±13,2	77,2±13,2	77,6±9,5	0,3943 0,4935
Chorzy z ChP	126,5±20,1	128,4±18,7	74,6±11,3	74,0±10,9	0,2465 0,2484
Chorzy z zespołem parkinsonowskim	121,7±15,2	120,6±18,0	77,1±8,2	76,1±10,8	0,4699 0,3161
Chorzy z MSA	125,0±15,5	104,3±18,0*	69,2±8,6	60,0±9,5*	0,0156* 0,0313*

Średnia ± SD, użyto testu Wilcoxon, statystycznie istotne różnice przy poziomie: *p<0,05 dla ciśnienia tętniczego krwi, skurczowego i rozkurczowego, po 30 min. odpoczynku i po 5 min. pionizacji.

Jak wynika z tabeli 7 statystycznie istotny spadek ciśnienia tętniczego krwi zarówno S, jak i R pomiędzy 30-min. odpoczynkiem i 5-min. pionizacją wykazano jedynie u chorych z MSA (test Wilcoxona, $p < 0,05$ u chorych pomiędzy 30 min.-odpoczynkiem i 5-min. pionizacją). U pozostałych badanych osób średnie ciśnienie tętnicze krwi utrzymywało się na zbliżonym poziomie po 30 min. odpoczynku i 5 min. pionizacji.

Jednocześnie u badanych osób zarówno po 30 min. odpoczynku, jak i 5 min. pionizacji analizowano stężenie trzech osoczowych amin biogennych: NA, A i 5-HT (Tabela 8).

Tabela 8. Stężenie osoczowej noradrenaliny (NA), adrenaliny (A), serotoniny (5-HT) po 30 min. odpoczynku (I) i po 5 min. pionizacji (II) u chorych z zaburzeniami ruchowymi i u osób kontrolnych

Badane osoby	NA [pg/ml]		A [pg/ml]		5-HT [µg/ml]		p
	I	II	I	II	I	II	
Kontrolni ochotnicy	229,4±149,4	253,6±142,8	36,9±24,7	43,4±36,2	0,095±0,088	0,100±0,100	0,1774 0,3442 0,2437
Chorzy z ChP	193,8±121,9	220,0±129,5*	61,1±40,9	66,3±40,9	0,142±0,164	0,146±0,180	0,0359 0,1450 0,4567
Chorzy z zespołem parkinsonowskim	183,2±96,9	226,8±116,5**	61,9±84,2	64,7±41,0	0,109±0,221	0,106±0,176	0,0033 0,1519 0,4039
Chorzy z MSA	279,4±204,6	167,2±101,0*	67,8±52,9	56,4±37,0	0,143±0,125	0,115±0,124	0,0313 0,1563 0,5625

Średnia ± SD, użyto testu Wilcoxona, statystycznie istotne różnice dla NA pomiędzy 30 min. odpoczynkiem i 5 min. pionizacją, przy poziomie: * $p < 0,05$ dla chorych z ChP oraz MSA oraz ** $p < 0,01$ dla chorych z zespołem parkinsonowskim.

Jak wynika z tabeli 8, zarówno u chorych z ChP (test Wilcoxona, $p < 0,05$ pomiędzy 30 min. odpoczynkiem i 5 min. pionizacją), jak i z zespołem parkinsonowskim w przebiegu choroby zwyrodnieniowej (test Wilcoxona, $p < 0,01$ pomiędzy 30 min. odpoczynkiem i 5 min. pionizacją) obserwowano wzrost stężenia NA po pionizacji. U tych chorych pozostałe analizowane aminy biogenne (A, 5-HT) wykazywały tendencję wzrostową po pionizacji (z wyjątkiem 5-HT u chorych z zespołem parkinsonowskim).

Natomiast u chorych z MSA statystycznie istotnemu obniżeniu ciśnienia tętniczego krwi, zarówno S, jak i R (Tabela 7) towarzyszył istotny spadek stężenia NA po 5 min. pionizacji (test Wilcoxona, $p < 0,05$ pomiędzy 30-min. odpoczynkiem i 5-min. pionizacją) [Tabela 8]. U tych chorych tendencję do obniżania stężenia po 5 min. pionizacji wykazywały pozostałe analizowane aminy biogenne (A, 5-HT).

Tabela 9. Stężenie osoczowej noradrenaliny (NA), adrenaliny (A), serotoniny (5-HT) po 30 min. odpoczynku (I) i po 5 min. pionizacji (II) oraz metoksynoradrenaliny (MNA) i metoksyadrenaliny (MA) w moczu u chorych z zaburzeniami ruchowymi i u osób kontrolnych

Analizowany związek		Kontrolni ochotnicy	Chorzy z ChP	Chorzy z zespołem parkinsonowskim	Chorzy z MSA	p
NA [pg/ml]	I	229,4±149,4	193,8±121,9	183,2±96,9	279,4±204,6	0,4645
	II	253,6±142,6	220,8±129,5	226,8±116,5	167,2±101,0	0,3791
A [pg/ml]	I	36,9±24,7	61,1±40,9	61,9±84,2	67,8±52,9	0,0509
	II	43,4±36,2	66,3±40,9	64,7±41,0	56,4±37,0	0,0632
5-HT [µg/ml]	I	0,095±0,088	0,142±0,164	0,109±0,221	0,143±0,125	0,5285
	II	0,100±0,100	0,146±0,180	0,106±0,176	0,115±0,124	0,6416
MNA [µg/24 godz.]		513,1±496,5	165,7±363,6***	74,7±165,9***	66,0±109,4	<0,0010
MA [µg/24 godz.]		9,6±20,4	993,4±1577,3***	1051,6±1783,9***	578,8±760,6**	<0,0010

Średnia ± SD, użyto testu Kruskala-Wallisa, statystycznie istotne różnice przy poziomie:

**p<0,01, dla MA pomiędzy chorymi z MSA i kontrolą oraz

***p<0,001, dla MNA pomiędzy chorymi z ChP i z zespołem parkinsonowskim a kontrolą, a także dla MA pomiędzy chorymi z ChP i z zespołem parkinsonowskim a kontrolą.

Spośród trzech analizowanych osoczowych amin biogennych (NA, A, 5-HT) jedynie w przypadku NA obserwowano tendencję do obniżania zarówno u chorych z ChP, jak i z zespołem parkinsonowskim oraz podwyższania u chorych z MSA stężenia tej katecholaminy po 30 min. odpoczynku w porównaniu z kontrolą (Tabela 9). Jednocześnie wykazano, że u wszystkich badanych chorych z zaburzeniami układu pozapiramidowego stężenie osoczowej NA po 5 min. pionizacji wykazywało tendencję do obniżania poziomu w porównaniu z kontrolnymi ochotnikami. W przypadku pozostałych analizowanych amin biogennych wykazano w obu pobraniach (po 30 min. odpoczynku i 5 min. pionizacji) tendencję do podwyższania stężenia u wszystkich badanych chorych z zaburzeniami układu pozapiramidowego w porównaniu z kontrolą.

Ponadto wykazano, że w grupie kontrolnych ochotników w odróżnieniu od chorych z zaburzeniami układu pozapiramidowego, stężenie MNA w moczu było kilkudziesięciokrotnie wyższe niż MA. U wszystkich badanych chorych z zaburzeniami ruchowymi wykazano obniżenie stężenia MNA (test Kruskala-Wallisa, p<0,001 u chorych z ChP i zespołem parkinsonowskim) oraz podwyższenie stężenia MA (test Kruskala-Wallisa, p<0,01 u chorych z MSA; p<0,001 u chorych z ChP i zespołem parkinsonowskim) w porównaniu z kontrolą.

Tabela 10. Stężenie osoczowej noradrenaliny (NA), adrenaliny (A), serotoniny (5-HT) po 30 min. odpoczynku (I) i po 5 min. pionizacji (II) oraz metoksynoradrenaliny (MNA) i metoksyadrenaliny (MA) w moczu, w zależności od stopnia rozwoju choroby w skali Hoehn i Yahra u chorych z zaburzeniami układu pozapiramidowego i u osób kontrolnych

Analizowane związki	Kontrolni ochotnicy	Chorzy z ChP			Chorzy z zespołem parkinsonowskim			p	
		1 stopień	2 stopień	3 stopień	1 stopień	2 stopień	3 stopień		
NA [pg/ml]	I	229,4±149,4	171,5±84,8	203,4±125,6	209,0±182,0	178,2±94,9	225,9±119,8	129,0±25,2	0,2437 0,7221 0,1009
	II	253,6±142,8	236,1±151,8	204,6±123,4	240,0±104,7	212,5±99,9	270,2±156,1	190,3±83,3	0,7905 0,4123 0,7175
A [pg/ml]	I	36,9±24,7	59,9±32,7	64,8±46,2*	50,2±39,9	59,9±26,5*	35,4±24,2	106,9±182,9	0,0190 0,0349 0,6615
	II	43,4±36,2	68,1±38,7	70,3±44,4*	47,3±30,3	77,2±38,5	32,6±13,2	87,9±50,6	0,0267 0,0284 0,0952
5-HT [µg/ml]	I	0,095±0,088	0,172±0,192	0,116±0,145	0,179±0,182	0,083±0,087	0,039±0,047	0,234±0,423	0,6539 0,4790 0,6180
	II	0,100±0,100	0,196±0,226	0,108±0,149	0,193±0,184	0,138±0,162	0,029±0,041	0,146±0,275	0,6206 0,2114 0,4812
MNA [µg/24 godz.]		513,1±496,5	253,0±499,0	142,4±304,8***	48,9±54,2*	29,2±40,7*	69,3±128,1*	192,1±328,8	0,0211 0,0002 0,0103
MA [µg/24 godz.]		9,6±20,4	662,9±1328,5*	1122,1±1719,3***	1292,6±1668,2***	408,7±581,4	1109,2±2199,5***	2169,9±2725,8**	0,0195 <0,0001 <0,0001

Średnia ± SD, użyto testu Kruskala-Wallisa, statystycznie istotne różnice przy poziomie:

1 stopień rozwoju choroby, *p<0,05 dla A (I) i MNA, pomiędzy zespołem parkinsonowskim i kontrolą; MA pomiędzy chorymi z ChP i kontrolą,

2 stopień rozwoju choroby, *p<0,05 dla A (I, II), pomiędzy ChP i kontrolą oraz dla MNA pomiędzy zespołem parkinsonowskim a kontrolą; ***p<0,001 dla MNA, MA pomiędzy ChP i kontrolą oraz dla MA pomiędzy zespołem parkinsonowskim a kontrolą,

3 stopień rozwoju choroby, *p<0,05 dla MNA, pomiędzy ChP i kontrolą; dla MA, **p<0,01 pomiędzy zespołem parkinsonowskim i kontrolą, ***p<0,001 pomiędzy ChP i kontrolą.

U wszystkich badanych osób z ChP i zespołem parkinsonowskim, od 1-3 stopnia rozwoju choroby w skali Hoehn i Yahra obserwowano zasadniczo tendencję do wzrostu stężenia osoczowej NA po 5 min. pionizacji (Tabela 10). Natomiast w przypadku A tendencję do wzrostu jej stężenia po 5 min. pionizacji wykazano jedynie w 1 i 2 stadium postępu choroby w skali Hoehn i Yahra u chorych z ChP (test Kruskala-Wallisa, 2 stadium rozwoju ChP, I i II pobranie krwi, p<0,05 w porównaniu z kontrolą) i w 1 stadium rozwoju zespołu parkinsonowskiego (test Kruskala-Wallisa, 1 stadium rozwoju zespołu parkinsonowskiego, I pobranie krwi, p<0,05 w porównaniu z kontrolą). U chorych z ChP, osoczowa 5-HT wykazywała tendencję do wzrostu stężenia w poszczególnych stadiach

rozwoju choroby (od 1 do 3 stopnia) podobnie, jak NA, z wyjątkiem 2 stopnia zaawansowania ChP. W tym stadium choroby 5-HT wykazywała tendencję spadkową po pionizacji.

U osób z ChP stężenie metabolitów poszczególnych analizowanych amin, NA i A w moczu było zróżnicowane od 1 do 3 stopnia rozwoju choroby w skali Hoehn i Yahra. Metoksynoradrenalina (test Kruskala-Wallisa, 2 stadium, $p < 0,001$ i 3 stadium, $p < 0,05$ w porównaniu z kontrolą) w odróżnieniu od MA (test Kruskala-Wallisa, 1 stadium, $p < 0,05$ oraz 2 i 3 stadium, $p < 0,001$ w porównaniu z kontrolą) u tych chorych wykazywała obniżanie stężenia wraz z postępem choroby. Natomiast u chorych z zespołem parkinsonowskim zarówno MNA (test Kruskala-Wallisa, 1 i 2 stadium, $p < 0,05$ w porównaniu z kontrolą), jak i MA (test Kruskala-Wallisa, 2 stadium, $p < 0,001$ i 3 stadium, $p < 0,01$ w porównaniu z kontrolą) wykazywały wzrost stężenia w moczu wraz z postępem choroby w skali Hoehn i Yahra od 1 do 3 stopnia rozwoju.

Ze względu na małą liczebność grupy chorych z MSA (6 chorych) uzyskanych wyników badań nie poddano ocenie statystycznej.

Tabela 11. Stężenie osoczowej noradrenaliny (NA), adrenaliny (A), serotoniny (5-HT) po 30 min. odpoczynku (I) i po 5 min. pionizacji (II) oraz metoksynoradrenaliny (MNA) i metoksyadrenaliny (MA) w moczu u chorych z chorobą Parkinsona leczonych L-dopą(+) i przed terapią L-dopą(-) oraz u osób kontrolnych

Analizowany związek		Kontrolni ochotnicy	Chorzy z ChP		p
			L-dopa(-)	L-dopa(+)	
NA [pg/ml]	I	229,4±149,4	215,3±86,4	190,2±127,3	0,1827
	II	253,6±142,8	261,0±196,3	213,1±116,9	0,5851
A [pg/ml]	I	36,9±24,7	61,9±27,2	61,0±43,0*	0,0219
	II	43,4±36,2	70,8±43,7	65,6±40,9	0,0353
5-HT [µg/ml]	I	0,095±0,088	0,106±0,144	0,149±0,168	0,9064
	II	0,100±0,100	0,137±0,230	0,148±0,172	0,8855
MNA [µg/24 godz.]		513,1±496,5	261,8±486,7	149,2±343,4***	0,0002
MA [µg/24 godz.]		9,6±20,4	54,5±65,2	1153,6± 1655,9***(*)	<0,0010

Srednia ± SD, użyto testu Kruskala-Wallisa, statystycznie istotne różnice przy poziomie:

* $p < 0,05$, dla A (I) pomiędzy chorymi z ChP leczonymi L-dopą i kontrolą oraz

*** $p < 0,001$, dla MNA i MA pomiędzy chorymi z ChP leczonymi L-dopą a kontrolą,

a także dla MA, (*) $p < 0,05$ pomiędzy chorymi z ChP leczonymi i nie leczonymi L-dopą.

Wykazano, że u chorych z ChP leczonych L-dopą występowała tendencja do obniżenia stężenia NA we krwi obwodowej oraz jej metabolitu w moczu, MNA (test Kruskala-Wallisa, $p < 0,001$

w porównaniu z kontrolą), a także znacznego podwyższenia stężenia A [test Kruskala-Wallis, A (I), $p < 0,05$ w porównaniu z kontrolą] i jej metabolitu w moczu, MA (test Kruskala-Wallis, $p < 0,001$ w porównaniu z kontrolą i $p < 0,05$ pomiędzy chorymi z ChP leczonymi i nie leczonymi L-dopą) [Tabela 11]. U chorych z ChP leczonych L-dopą występowała również tendencja do wzrostu stężenia osoczowej 5-HT. Jednocześnie wśród chorych z ChP, 43% osób przed terapią L-dopą miało obniżony poziom 5-HT oraz 26% leczonych L-dopą (wartości referencyjne według Mayo Medical Laboratories, USA, Kod 1 x 8426).

Ze względu na małą liczebność grupy chorych z MSA (6 chorych leczonych L-dopą) oraz małą liczbę chorych z zespołem parkinsonowskim, nie leczonych preparatami L-dopy (1 chory) uzyskanych wyników badań nie poddano ocenie statystycznej.

Tabela 12. Stężenie osoczowej noradrenaliny (NA), adrenaliny (A), serotoniny (5-HT) po 30 min. odpoczynku (I) i po 5 min. pionizacji (II) oraz metoksynoradrenaliny (MNA) i metoksyadrenaliny (MA) w moczu w zależności od czasu leczenia L-dopą u chorych z zaburzeniami ruchowymi i u osób kontrolnych

Analizowany związek	Kontrolni ochotnicy	Chorzy z ChP leczeni L-dopą		Chorzy z zespołem parkinsonowskim leczeni L-dopą		p	
		poniżej 5 lat	powyżej 5 lat	poniżej 5 lat	powyżej 5 lat		
NA [pg/ml]	I	229,4±149,4	164,4±71,9	218,9±162,5	178,3±96,8	188,9±108,0	0,1725 0,7755
	II	253,6±142,8	225,9±142,1	201,8±92,2	188,1±100,4	255,2±131,4	0,4312 0,3156
A [pg/ml]	I	36,9±24,7	56,8±40,8	66,7±45,6	56,3±29,0	68,8±119,2	0,1162 0,1100
	II	43,4±36,2	59,9±35,4	69,7±46,3	83,1±31,4*	53,7±44,1	0,0087 0,0905
5-HT [µg/ml]	I	0,095±0,088	0,151±0,218	0,188±0,177	0,079±0,091	0,129±0,279	0,8811 0,1471
	II	0,100±0,100	0,151±0,219	0,183±0,192	0,138±0,162	0,081±0,182	0,9170 0,1083
MNA [µg/24 godz.]		513,1±496,5	260,0±469,5*	46,0±49,5***	39,0±44,2**	121,9±235,0*	0,0025 0,0001
MA [µg/24 godz.]		9,6±20,4	782,4±1299,6***	1547,9±1939,9***	1160,3±1938,3***	1025,3±1931,7	<0,0001 0,0006

Srednia ± SD, użyto testu Kruskala-Wallis, statystycznie istotne różnice przy poziomie:

dla A (II), $*p < 0,05$ pomiędzy chorymi z zespołem parkinsonowskim leczonymi L-dopą poniżej 5 lat i kontrolą,

dla MNA, chorzy z ChP, $*p < 0,05$ pomiędzy chorymi leczonymi L-dopą poniżej 5 lat oraz $***p < 0,001$ pomiędzy chorymi leczonymi powyżej 5 lat a kontrolą; chorzy z zespołem parkinsonowskim, $*p < 0,05$ pomiędzy chorymi leczonymi L-dopą powyżej 5 lat oraz $**p < 0,01$ pomiędzy tymi chorymi leczonymi poniżej 5 lat a kontrolą,

dla MA, $***p < 0,001$ pomiędzy chorymi z ChP leczonymi poniżej oraz powyżej 5 lat, a także z zespołem parkinsonowskim leczonymi poniżej 5 lat a kontrolą.

Jedynie u chorych z zespołem parkinsonowskim obserwowano wraz z wydłużaniem się terapii L-dopą (powyżej 5 lat) normalizację stężenia NA (II pobranie) oraz statystycznie istotny wzrost

stężenia A (test Kruskala-Wallisa, II pobranie, $p < 0,05$ w porównaniu z kontrolą) podczas krótkotrwałej kuracji (poniżej 5 lat) tym preparatem farmaceutycznym (Tabela 12). Jednocześnie u chorych z ChP (test Kruskala-Wallisa, dla MNA, poniżej 5 lat, $p < 0,05$ i powyżej 5 lat, $p < 0,001$ w porównaniu z kontrolą; dla MA, poniżej i powyżej 5 lat, $p < 0,001$ w porównaniu z kontrolą), w odróżnieniu od osób z rozpoznanyim zespołem parkinsonowskim (test Kruskala-Wallisa, dla MNA, poniżej 5 lat, $p < 0,01$ i powyżej 5 lat, $p < 0,05$ w porównaniu z kontrolą; dla MA, poniżej 5 lat, $p < 0,001$ w porównaniu z kontrolą) wraz z wydłużeniem się leczenia L-dopą następowało obniżenie stężenia MNA i wzrost stężenia MA w moczu.

Ze względu na małą liczebność grupy chorych z MSA (6 chorych) uzyskanych wyników badań nie poddano ocenie statystycznej.

U badanych osób przeprowadzono również analizę częstości występowania genotypów genów: *COMT* (c.649G>A), *MAO-A* (c.1460C>T) i *NET* (c.1287G>A) [Tabela 13].

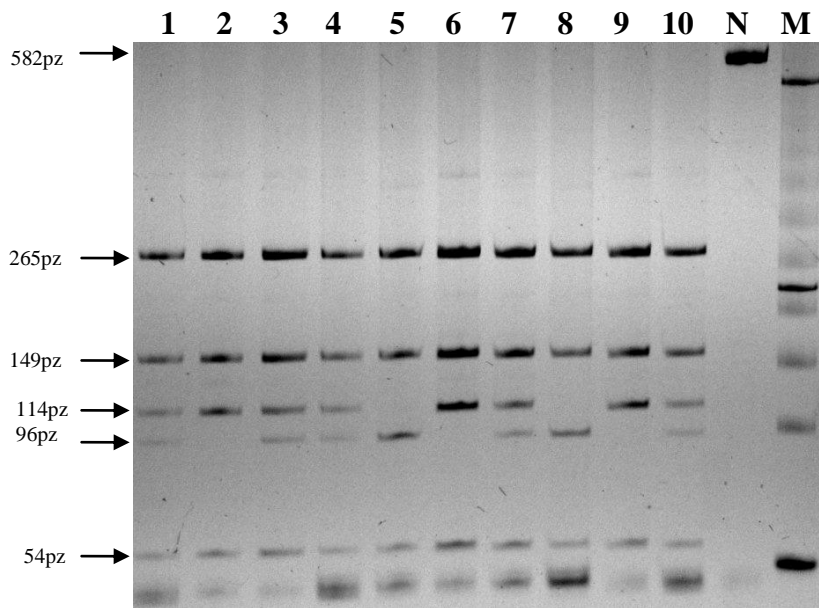
Do analizy RFLP polimorfizmu c.649G>A (Val158Met) zlokalizowanego w eksonie 4. genu *COMT* wykorzystano endonukleazę *NlaIII*. Następnym tranzykcji G>A było powstanie nowego miejsca restrykcyjnego dla tego enzymu.

Do analizy RFLP polimorfizmu c.1460C>T *MAO-A* wykorzystano endonukleazę *EcoRV*. Polimorfizm ten nie zmienia sekwencji aminokwasowej białka (Asp470Asp). Tranzykcja C>T, zlokalizowana w eksonie 14. genu *MAO-A*, generuje nowe miejsce restrykcyjne dla *EcoRV*.

Analiza RFLP eksonu 9. genu *NET* z wykorzystaniem enzymu *EcoI47I* umożliwiła zbadanie związku znanego wariantu polimorficznego c.1287G>A (Thr429Thr) z występowaniem zaburzenia układu pozapiramidowego. Polimorfizm ten tworzy dodatkowe miejsce restrykcyjne dla endonukleazy *EcoI47I*.

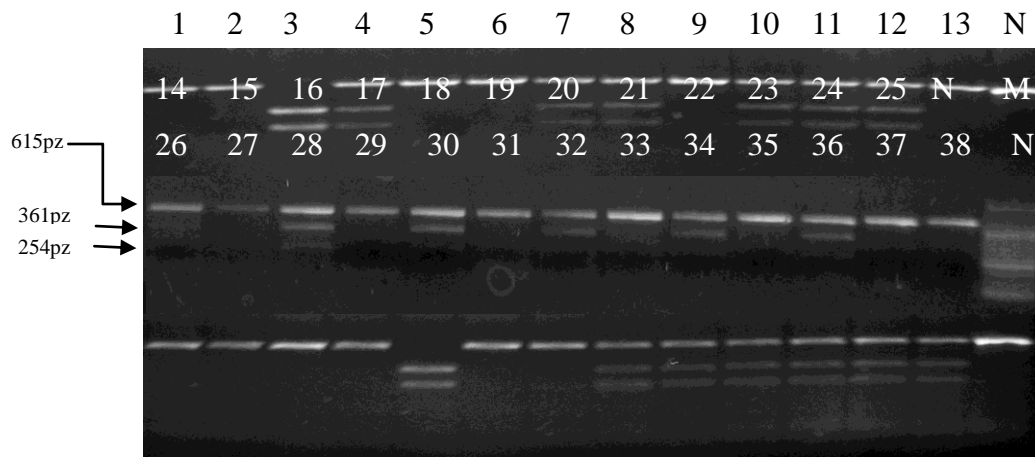
Przykładowe wyniki analizy genotypów, genów *COMT* (c.649G>A), *MAO-A* (c.1460C>T) i *NET* (c.1287G>A) przedstawiono na rycinach 8-10.

Ryc. 8. Analiza restrykcyjna fragmentu eksonu 4. genu *COMT* na żelu poliakrylamidowym



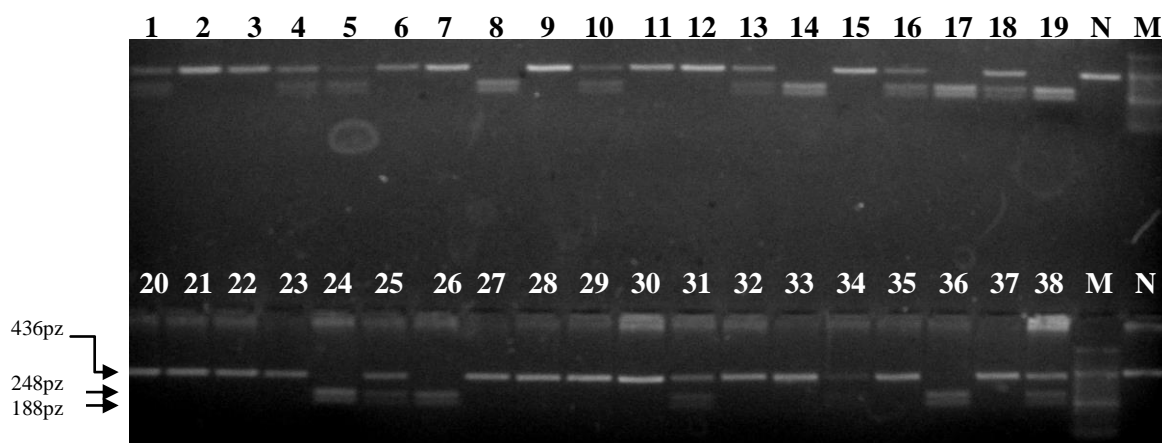
Ścieżki: 1, 3, 4, 7, 10 – heterozygoty GA; 2, 6, 9 – homozygoty GG; 5, 8 – homozygoty AA; N – próba nietrawiona; M – wzorzec wielkości.

Ryc. 9. Analiza restrykcyjna fragmentu eksonu 14. genu *MAO-A* na żelu agarozowym



Ścieżki: 1, 2, 5, 6, 9, 13, 14, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 26 – 29, 31, 32 – homozygoty CC; 4, 7, 8, 10 – 12, 16, 18, 20, 22, 24, 33 – 38 – heterozygoty CT, 3, 30 – homozygoty TT; N – próby nietrawione, M – wzorzec wielkości.

Ryc. 10. Analiza restrykcyjna fragmentu eksonu 9. genu *NET* na żelu agarozowym



Ścieżki: 2, 3, 6, 7, 9, 11, 12, 15, 20 – 27 – 30, 32, 33, 35, 37 – homozygoty GG; 1, 4, 5, 10, 13, 16, 18, 25, 31, 34, 38 – heterozygoty GA; 8, 14, 17, 19, 24, 26, 36 – homozygoty AA; N – próby nietrawione; M – wzorzec wielkości.

Analiza wariantu polimorficznego c.649G>A genu *COMT* wykazała, że u chorych na ChP, w odróżnieniu od osób z zespołem parkinsonowskim w przebiegu choroby zwyrodnieniowej i kontrolnych ochotników, genotyp prawidłowy GG (c.649G>A *COMT*) występował z najmniejszą częstością. Jednocześnie w grupie chorych na ChP genotyp heterozygotyczny GA i nieprawidłowy AA (c.649G>A *COMT*) występowały z największą częstością w porównaniu z pozostałymi analizowanymi grupami osób (Tabela 13).

Analiza polimorfizmu c.1460C>T genu *MAO-A* wykazała u chorych z ChP jednakową częstość występowania genotypu homozygotycznego prawidłowego CC i heterozygotycznego CT (c.1460C>T *MAO-A*), jednocześnie występujących w tej grupie badanej z prawie 4-krotnie większą częstością w porównaniu do osób z homozygotą nieprawidłową TT (c.1460C>T *MAO-A*). Z najmniejszą częstością w grupie kontrolnych ochotników występowała homozygota nieprawidłowa TT (c.1460C>T *MAO-A*), natomiast u chorych z zespołem parkinsonowskim, heterozygota CT (c.1460C>T *MAO-A*). W obu tych grupach (kontrolni ochotnicy, chorzy z zespołem parkinsonowskim) z największą częstością występowała homozygota prawidłowa CC (c.1460C>T *MAO-A*).

Tabela 13. Lokalizacja i częstość występowania genotypów genów *COMT* (c.649G>A), *MAO-A* (c.1460C>T) i *NET* (c.1287G>A) u chorych z zaburzeniami ruchowymi i u osób kontrolnych

Lokalizacja genu/ Genotyp		Kontrolni ochotnicy	Chorzy z ChP	Chorzy z zespołem parkinsonowskim	Chorzy z MSA
<i>COMT</i> c.649G>A	GG	30%	15%	39%	50%
	GA	51%	59%	46%	50%
	AA	19%	26%	15%	0%
<i>MAO-A</i> c.1460C>T	CC	55%	44%	62%	50%
	CT	34%	44%	15%	50%
	TT	11%	12%	23%	0%
<i>NET</i> c.1287G>A	GG	30%	33%	39%	50%
	GA	55%	59%	22%	0%
	AA	15%	8%	39%	50%

Użyto dokładnego testu Fishera (F) i testu Chi², statystycznie istotne różnice przy poziomie: dla *NET* GA (c.1287G>A) oraz *NET* AA (c.1287G>A), *p<0,05 (F) pomiędzy chorymi z ChP i zespołem parkinsonowskim.

Analiza polimorfizmu c.1287G>A genu *NET* wykazała u chorych z ChP, podobny jak w grupie kontrolnych ochotników rozkład genotypów GG i GA (c.1287G>A *NET*) oraz najmniejszą częstość występowania homozygoty nieprawidłowej AA tego genu. Natomiast u chorych z zespołem parkinsonowskim wykazano jednakowy rozkład osób z genotypem homozygotycznym prawidłowym GG i nieprawidłowym AA (c.1287G>A *NET*), występujących z prawie 2-krotnie większą częstością w porównaniu do osób z heterozygotą GG tego genu. Jednocześnie wykazano, że heterozygota *NET* GA (c.1287G>A) występowała z 4,8-krotnie większą częstością u chorych z ChP w porównaniu do chorych z zespołem parkinsonowskim (dokładny test Fishera, p<0,05), a homozygota nieprawidłowa *NET* AA (c.1287G>A), 7,5-krotnie częściej u chorych z zespołem parkinsonowskim w porównaniu z osobami z ChP (dokładny test Fishera, p<0,05).

Wśród chorych z MSA nie wykazano obecności osób z homozygotą nieprawidłową AA (c.649G>A *COMT*) i TT (c.1460C>T *MAO-A*) oraz heterozygotą GA (c.1287G>A *NET*) [Tabela 13].

Tabela 14. Stężenie osoczowej noradrenaliny (NA), adrenaliny (A), serotoniny (5-HT) po 30 min. odpoczynku (I) i po 5 min. pionizacji (II) oraz metoksynoradrenaliny (MNA) i metoksyadrenaliny (MA) w moczu w zależności genotypów c.649G>A COMT u chorych z zaburzeniami ruchowymi leczonych L-dopą i u osób kontrolnych

Analizowany związek	Kontrolni ochotnicy			Chorzy z ChP			Chorzy z zespołem parkinsonowskim		p	
	c.649G>A COMT			c.649G>A COMT			c.649G>A COMT			
	GG	GA	AA	GG	GA	AA	GG	GA		
NA [pg/ml]	I	250,0±155,4	261,8±179,9	161,6±41,2	215,8±222,2	172,0±116,5	160,0±38,1	193,6±118,9	131,8±35,0	0,6022
	II	349,5±163,0	240,0±145,5	212,3±105,7	273,9±122,8	171,3±75,3	231,3±196,5	238,0±127,8	172,8±41,7	0,0835
A [pg/ml]	I	43,6±29,8	37,6±27,7	31,3±15,8	59,1±30,6	58,1±51,7	62,5±29,0**	105,8±157,0	50,1±32,9	0,5000
	II	49,6±58,9	44,7±34,1	37,2±22,0	54,9±33,3	60,3±43,8	67,9±28,6*	83,1±48,3	73,3±41,0	0,5882
5-HT [µg/ml]	I	0,114±0,093	0,077±0,090	0,115±0,088	0,147±0,169	0,126±0,183	0,234±0,193	0,190±0,379	0,088±0,086	0,3537
	II	0,103±0,093	0,080±0,084	0,132±0,130	0,115±0,169	0,145±0,183	0,249±0,210	0,125±0,243	0,098±0,090	0,4591
MNA [µg/24 godz.]	I	915,9±766,6	476,4±422,3	349,6±267,4	24,4±19,2	215,8±442,8	62,4±82,8	146,9±299,7*	94,3±120,7	0,8338
	II	15,9±38,5	5,5±8,4	12,0±21,1	503,1±812,3*	681,1±914,7***	1380,2±2031,7***	1326,4±2598,3	461,1±663,9**	0,5388
MA [µg/24 godz.]	I	15,9±38,5	5,5±8,4	12,0±21,1	503,1±812,3*	681,1±914,7***	1380,2±2031,7***	1326,4±2598,3	461,1±663,9**	0,0082
	II	15,9±38,5	5,5±8,4	12,0±21,1	503,1±812,3*	681,1±914,7***	1380,2±2031,7***	1326,4±2598,3	461,1±663,9**	0,0082

Średnia ± SD, użyto testu Kruskala-Wallisa oraz Manna-Whitney'a, statystycznie istotne różnice przy poziomie: genotyp GG, dla MNA *p<0,05 pomiędzy chorymi z zespołem parkinsonowskim i kontrolą, dla MA *p<0,05 pomiędzy chorymi z ChP i kontrolą, genotyp GA, dla MA ***p<0,001 pomiędzy chorymi z ChP i kontrolą, **p<0,01 pomiędzy chorymi z zespołem parkinsonowskim i kontrolą, genotyp AA, dla A (I) **p<0,01, A (II) *p<0,05, MA ***p<0,001 pomiędzy chorymi z ChP i kontrolą.

Ze względu na małą liczebność grupy chorych z ChP (7 chorych) i z zespołem parkinsonowskim (1 chory) nie leczonych L-dopą oraz wykazane istotne różnice stężenia MA pomiędzy chorymi z ChP leczonymi i nie leczonymi L-dopą (Tabela 11) badaniu polimorfizmów: (c.649G>A COMT), (c.1460C>T MAO-A) i (c.1287G>A NET) poddano jedynie chorych z zaburzeniami układu pozapiramidowego (ChP i rozpoznany zespół parkinsonowski) poddanych farmakoterapii tym lekiem.

Zarówno u chorych z ChP, jak i u kontrolnych ochotników z genotypem prawidłowym GG i nieprawidłowym AA (c.649G>A COMT) wykazano wzrost stężenia NA po 5 min. pionizacji (Tabela 14). Chorzy z zespołem parkinsonowskim z genotypem prawidłowym GG analizowanego genu COMT również wykazywali wzrost stężenia NA po 5 min. pionizacji. Jedynie osoby kontrolne i chorzy z ChP

z genotypem heterozygotycznym GA wykazywali tendencję do obniżania stężenia NA po 5 min. pionizacji. Zmianom stężenia NA u badanych osób niezależnie od posiadanego genotypu analizowanego genu *COMT* towarzyszył wzrost stężenia A (test Manna-Whitney'a, ChP genotyp AA genu *COMT*, dla A (I, II), $p < 0,05$ w porównaniu z kontrolą) z wyjątkiem homozygot prawidłowych *COMT* GG (c.649G>A) u chorych z ChP i zespołem parkinsonowskim. Jednocześnie jedynie badane osoby z genotypem prawidłowym *COMT* GG (c.649G>A) wykazywały tendencję do obniżania stężenia osoczowej 5-HT.

Zarówno chorzy z zespołem parkinsonowskim (test Kruskala-Wallisa, $p < 0,05$ w porównaniu z kontrolą), jak i kontrolni ochotnicy, z homozygotą prawidłową *COMT* GG (c.649G>A) wykazywali najwyższe stężenie MNA w moczu. Jednocześnie jedynie u kontrolnych ochotników niezależnie od posiadanego genotypu genu *COMT* stężenie MNA w moczu było wielokrotnie wyższe od stężenia MA. W odróżnieniu od osób kontrolnych, u chorych z ChP (test Kruskala-Wallisa, MA, *COMT* GG, $p < 0,05$, *COMT* GA, $p < 0,001$ w porównaniu z kontrolą; test Manna-Whitney'a, *COMT* AA, $p < 0,001$ w porównaniu z kontrolą) i z zespołem parkinsonowskim (test Kruskala-Wallisa, MA, *COMT* GA, $p < 0,01$, MNA, *COMT* GG, $p < 0,05$ w porównaniu z kontrolą) niezależnie od posiadanego genotypu, stężenie MA w moczu było wielokrotnie wyższe od stężenia MNA.

Tabela 15. Stężenie osoczowej noradrenaliny (NA), adrenaliny (A), serotoniny (5-HT) po 30 min. odpoczynku (I) i po 5 min. pionizacji (II) oraz metoksynoradrenaliny (MNA) i metoksyadrenaliny (MA) w moczu w zależności genotypów c.1460C>T MAO-A u chorych z zaburzeniami ruchowymi leczonych L-dopą i u osób kontrolnych

Analizowany związek	Kontrolni ochotnicy c.1460C>T MAO-A			Chorzy z ChP c.1460C>T MAO-A			Chorzy z zespołem parkinsonowskim c.1460C>T MAO-A		p	
	CC	CT	TT	CC	CT	TT	CC	TT		
NA [pg/ml]	I	257,5±180,8	192,0±91,2	183,5±73,2	177,7±141,8	190,4±138,4	139,4±34,2	178,2±96,6	129,6±47,5	0,1175
	II	289,8±172,0	204,7±75,3	198,1±77,4	194,7±95,3	229,9±149,7	141,6±67,6	219,6±103,9	162,0±41,4	0,2533
A [pg/ml]	I	36,9±23,5	33,6±24,5	49,3±34,1	55,8±40,6	63,2±48,7	56,1±42,7	85,0±122,7	60,6±39,9	0,7647
	II	49,3±44,2	37,2±22,9	31,5±7,7	53,1±27,7	66,2±48,2	65,4±33,2	65,7±45,2	104,8±32,0	0,2969
5-HT [μg/ml]	I	0,073±0,079	0,140±0,094	0,029±0,039	0,137±0,193	0,184±0,190	0,068±0,075	0,297	0,114±0,098	0,4797
	II	0,082±0,084	0,141±0,119	0,022±0,020	0,132±0,193	0,206±0,196	0,076±0,046	0,091±0,191	0,152±0,068*	0,8258
MNA [μg/24 godz.]		501,2±565,1	637,4±405,7	101,5±104,8	66,9±104,9*	147,8±308,6***	349,1±730,5	133,0±248,3*	57,0±53,9	0,4086
MA [μg/24 godz.]		10,5±24,5	7,8±16,2	7,5±12,6	1054,3±1085,3***	767,4±1503,1***	234,3±279,2	1095,5±2053,8**	212,2±95,9	0,0819

Średnia ± SD, użyto testu Kruskala-Wallisa oraz Manna-Whitney'a, statystycznie istotne różnice przy poziomie: genotyp CC, dla MNA *p<0,05 pomiędzy chorymi ChP oraz z zespołem parkinsonowskim a kontrolą, dla MA ***p<0,001 pomiędzy chorymi z ChP i kontrolą, **p<0,01 pomiędzy chorymi z zespołem parkinsonowskim a kontrolą, genotyp CT, dla MNA i MA ***p<0,001 pomiędzy chorymi z ChP i kontrolą, genotyp TT, dla 5-HT (II) *p<0,05 pomiędzy chorymi z zespołem parkinsonowskim i kontrolą.

Zarówno chorzy z ChP oraz z zespołem parkinsonowskim, jak i kontrolni ochotnicy niezależnie od posiadanego genotypu genu MAO-A (c.1460C>T) wykazywali tendencję do wzrostu stężenia osoczowej NA po 5 min. pionizacji (Tabela 15). Jednocześnie wśród kontrolnych ochotników jedynie homozygoty nieprawidłowe MAO-A TT (c.1460C>T), a wśród badanych osób z zaburzeniami układu pozapiramidowego jedynie homozygoty prawidłowe MAO-A CC (c.1460C>T) wykazywały tendencję do obniżania stężenia osoczowej A po 5 min. pionizacji. U badanych osób, u których następowało obniżanie stężenia A po 5 min. pionizacji wykazano również spadek stężenia osoczowej 5-HT (test Kruskala-Wallisa, chorzy z zespołem parkinsonowskim, 5-HT (II), MAO-A TT, p<0,05 w porównaniu z kontrolą).

Jednocześnie wykazano, że najwyższe stężenie MNA w moczu występowało u kontrolnych ochotników z heterozygotą *MAO-A* CT (c.1460C>T) i u chorych z ChP z homozygotą nieprawidłową *MAO-A* TT (c.1460C>T) a także u chorych z zespołem parkinsonowskim z homozygotą prawidłową *MAO-A* CC (c.1460C>T). Natomiast statystycznie istotnie niższe stężenie MNA wykazano u badanych osób z ChP i zespołem parkinsonowskim z homozygotą prawidłową *MAO-A* CC (c.1460C>T) [test Kruskala-Wallisa, $p<0,05$] oraz z ChP z heterozygotą *MAO-A* CT (c.1460C>T) [test Manna-Whitney'a, $p<0,001$] w porównaniu z kontrolą.

Ponadto, jedynie u kontrolnych ochotników niezależnie od posiadanego genotypu analizowanego genu *MAO-A* stężenie MNA w moczu było wielokrotnie wyższe od stężenia MA. W odróżnieniu od osób kontrolnych, u chorych z ChP (test Kruskala-Wallisa, MA, *MAO-A* CC, $p<0,001$ w porównaniu z kontrolą; test Manna-Whitney'a, *MAO-A* CT, $p<0,001$ w porównaniu z kontrolą) i z zespołem parkinsonowskim (test Kruskala-Wallisa, MA, *MAO-A* CC, $p<0,01$ w porównaniu z kontrolą) niezależnie od posiadanego genotypu stężenie MA w moczu było wielokrotnie wyższe od stężenia MNA [z wyjątkiem ChP, *MAO-A* TT (c.1460C>T)].

Tabela 16. Stężenie osoczowej noradrenaliny (NA), adrenaliny (A), serotoniny (5-HT) po 30 min. odpoczynku (I) i 5 po min. pionizacji (II) oraz metoksynoradrenaliny (MNA) i metoksyadrenaliny (MA) w moczu w zależności genotypów c.1287G>A NET u chorych z zaburzeniami ruchowymi leczonych L-dpopą i u osób kontrolnych

Analizowany związek	Kontrolni ochotnicy			Chorzy z ChP			Chorzy z zespołem parkinsonowskim			p	
	c.1287G>A NET			c.1287G>A NET			c.1287G>A NET				
	GG	GA	AA	GG	GA	AA	GG	GA	AA		
NA [pg/ml]	I	293,3±221,9	187,4±70,9	220,0±56,4	275,0±213,0	137,4±44,0*	194,0±27,4	203,8±127,6	149,7±17,2	149,7±43,0	0,7433
	II	304,9±197,3	225,2±97,9	217,2±80,5	190,1±89,8	213,0±137,1	200,7±100,7	249,4±156,0	192,4±35,2	209,8±69,6	0,0281
A [pg/ml]	I	44,8±29,1	35,0±22,1	17,8±6,7	73,9±49,8	53,6±42,4	49,6±17,8	43,1±38,9	16,8±10,2	123,9±145,5*	0,1317
	II	46,8±41,5	44,1±36,5	27,3±2,6	66,1±49,5	61,7±34,4	22,9±22,2	63,2±26,8	71,7±60,9	72,9±57,4	0,0186
5-HT [μg/ml]	I	0,079±0,093	0,112±0,086	0,068±0,102	0,186±0,183	0,145±0,187	0,028±0,003	0,068±0,092	0,038±0,019	0,207±0,373	0,6594
	II	0,077±0,088	0,121±0,110	0,075±0,093	0,170±0,202	0,158±0,190	0,091±0,028	0,073±0,094	0,053±0,070	0,137±0,239	0,9944
MNA [μg/24 godz.]		557,8±588,5	513,4±472,8	479,0±447,5	58,8±47,4	136,0±350,8**	407,3±687,6	34,8±45,9	44,4±38,6	202,2±302,4	0,8518
MA [μg/24 godz.]		11,2±28,5	34,6±116,2	10,2±11,0	1575,4±2021,6***	561,2±722,9***	223,7±371,9	234,0±182,4	2118,1±3334,0*	481,1±747,9	0,6688
											0,5868
											0,0438
											0,0060
											0,4496
											0,0002
											<0,0001
											0,2392

Srednia ± SD, użyto testu Kruskala-Wallisa, statystycznie istotne różnice przy poziomie:

genotyp GG, dla MA ***p<0,001 pomiędzy chorymi z ChP i kontrolą,

genotyp GA, dla NA (I) *p<0,05, dla MNA **p<0,01 i dla MA ***p<0,001 pomiędzy chorymi z ChP i kontrolą,

a także dla MA *p<0,05 pomiędzy chorymi z zespołem parkinsonowskim i kontrolą,

genotyp AA, dla A (I) *p<0,05 pomiędzy chorymi z zespołem parkinsonowskim i kontrolą.

Jedynie osoby kontrolne z homozygotą nieprawidłową AA (c.1287G>A NET) i chorzy z ChP (test Kruskala-Wallisa, NET GA, p<0,05 w porównaniu z kontrolą) z homozygotą prawidłową GG (c.1287G>A NET) wykazywali tendencję do obniżenia stężenia NA po 5 min. pionizacji (Tabela 16). Jednocześnie chorzy z ChP z homozygotą prawidłową NET GG (c.1287G>A) oraz chorzy z ChP i zespołem parkinsonowskim z homozygotą nieprawidłową NET AA (c.1287G>A) wykazywali tendencję do obniżania stężenia A po 5 min. pionizacji (test Kruskala-Wallisa, NET AA, A (I), p<0,05 w porównaniu z kontrolą).

U badanych osób, u których następowało obniżanie stężenia A po 5 min. pionizacji wykazano również spadek stężenia osoczowej 5-HT [z wyjątkiem kontrolnych ochotników *NET* GG i chorych na ChP, *NET* AA (c.1287G>A)].

Ponadto wykazano, że u wszystkich analizowanych osób z zaburzeniami układu pozapiramidowego (Tabela 16) niezależnie od posiadanego genotypu analizowanego genu *NET* stężenie MNA w moczu było niższe od oznaczonego u kontrolnych ochotników (test Kruskala-Wallisa, ChP, *NET* GA, MNA, $p < 0,01$ w porównaniu z kontrolą). Jednocześnie podobnie jak w przypadku polimorfizmu c.649G>A genu *COMT* oraz c.1460C>T genu *MAO-A*, zasadniczo polimorfizm c.1287G>A genu *NET* był związany z wyższym stężeniem MA w porównaniu ze stężeniem MNA w moczu [z wyjątkiem ChP, *NET* AA (c.1460C>T)] jedynie u badanych osób z zaburzeniami układu pozapiramidowego (test Kruskala-Wallisa, MA, ChP, *NET* GG, GA, MA, $p < 0,001$ i *NET* GA $p < 0,05$ w porównaniu z kontrolą).

5. Dyskusja

Choroba Parkinsona została odkryta prawie 200 lat temu. Pomimo istotnych postępów diagnostycznych i terapeutycznych, pozostaje chorobą nieuleczalną i nadal zwiększa się umieralność chorych na tę chorobę zwyrodnieniową.

W ChP, podobnie jak w innych chorobach układu pozapiramidowego dochodzi nie tylko do pojawienia się objawów ruchowych, ale również do zaburzeń neuropsychiatrycznych i dysfunkcji układu autonomicznego. [82] Zaburzenia czynności układu krążenia, obok zaburzeń urologicznych, zaparć, dysgrafii, zaburzeń czucia i wydzielania potu stanowią podstawowe zaburzenia układu autonomicznego, związane m.in. z nieprawidłowym poziomem katecholamin.

Do najważniejszych amin katecholowych występujących w mózgu człowieka należą: DA, NA i A. W 1905 roku, Thomas Renton Elliott po raz pierwszy opisał stymulację nerwów współczulnych i A [75], a prawie pół wieku temu, Ulf von Euler, Julius Axelrod i Bernard Katz biosyntezę katecholamin w zakończeniach nerwowych oraz mechanizm ich przechowywania, uwalniania i unieczynniania. [100] Katecholaminy należą do neuroprzekazników i hormonów, regulujących ważne procesy fizjologiczne związane z czynnością OUN i obwodowego układu nerwowego. Zaburzenia ich biosyntezy, uwalniania, wychwytu zwrotnego i metabolizmu mogą prowadzić do rozwoju chorób neurologicznych, psychiatrycznych i sercowo-naczyniowych. [74]

Wykazano, że w ChP i innych chorobach neurozwyrodnieniowych katecholaminy powodują uszkodzenia komórek nerwowych, w tym neuronów dopaminowych [95] na skutek nieenzymatycznego samoutleniania się katecholamin [116] oraz tworzenia wysoce reaktywnych katecholoaldehydów. [74] Ponadto wykazano, że wzrost poziomu endogennych neurotoksyn może prowadzić do formowania się ubikwityno- i ASN-pozytywnych wtrętów cytoplazmatycznych zwanych LB, a także do wzrostu stresu oksydacyjnego i zależnej od kaspaz śmierci neuronów. [274]

W ChP dochodzi do degeneracji zarówno neuronów dopaminergicznych w istocie czarnej, jak i neuronów noradrenergicznych w obrębie jądra miejsca sinawego. [95,261,345] Ponadto wykazano, że istnieje zależność pomiędzy poziomem neuroprzekazników, NA i DA. Dopamina jest wytwarzana w neuronach noradrenergicznych i jedynie fizjologiczny poziom NA może chronić ją przed degradacją. Z badań Heneka i wsp. [117] wynika, że NA może zapobiegać obniżeniu poziomu DA najprawdopodobniej przez hamowanie procesów zapalnych. Jednocześnie badania Tong i wsp. [300] wskazują, że w ChP mniej podatne na degradację DA są jedynie obszary mózgu zawierające wysoki poziom NA, a badania prowadzone w modelu doświadczalnej ChP, że obniżenie poziomu neuronów noradrenergicznych może prowadzić do uszkodzenia neuronów dopaminergicznych. [196]

Noradrenalina oraz w niewielkiej ilości A, występują w różnych obszarach mózgu i są odpowiedzialne za procesy związane z szybkością reagowania [343] i podejmowania decyzji [152] oraz z innymi wyższymi funkcjami mózgu. [223,310]

Wykazano, że fizjologiczny poziom katecholamin w OUN jest regulowany ich metabolizmem. Biosynteza amin biogennych zachodzi w cytoplazmie komórek nerwowych. Zsyntetyzowane aminy katecholowe są następnie przechowywane w pęcherzykach synaptycznych. Pęcherzyki z katecholaminami są transportowane w kierunku szczeliny synaptycznej, w oczekiwaniu na impuls. [288] Pod wpływem pobudzenia następuje uwalnianie katecholamin do szczeliny synaptycznej i ich przyłączenie do odpowiednich receptorów. W skutek ich połączenia z receptorem powstaje potencjał czynnościowy na błonie postsynaptycznej, który jest dalej przesyłany wzdłuż kolejnego neuronu. W końcowym etapie zarówno, katecholaminy odłączone od receptorów, jak i te niezwiązane w szczelinie synaptycznej są zwrotnie wychwytywane i magazynowane w pęcherzykach synaptycznych lub enzymatycznie rozkładane. [74]

Białko ASN wydaje się pełnić ważną rolę w utrzymaniu prawidłowego funkcjonowania pęcherzyków synaptycznych. [31] Wykazano, że zmutowane białko ASN może prowadzić do niestabilności i zwiększonej przepuszczalności błon pęcherzyków synaptycznych oraz do utraty zmagazynowanych w nich katecholamin, m.in. DA. [74]

Z doniesień piśmiennictwa wynika, że zmiana poziomu DA w ChP może prowadzić do zaburzenia wielu funkcji fizjologicznych, m.in. do zaburzenia widzenia, związanego z nieprawidłowym zaopatrywaniem siatkówki oka przez układ dopaminergiczny [64], jak i do nieprawidłowego funkcjonowania układu pokarmowego, m.in. do zaparć, związanych najprawdopodobniej z zaburzoną kontrolą czynności żołądkowo-jelitowych przez DA. [278]

Wydaje się, że zmiany poziomu katecholamin u chorych z zaburzeniami układu pozapiramidowego mogą również prowadzić do rozwoju nieprawidłowości w regulacji ciśnienia tętniczego krwi. Z doniesień piśmiennictwa [21,67,322] wynika, że aminy katecholowe regulują ciśnienie krwi najprawdopodobniej z udziałem bradykiny i NO, wpływających na ich uwalnianie przez układ nadnerczowy.

Tlenek azotu odgrywa ważną rolę w czynnościach OUN, takich jak: przekazywanie bólowe, uczenie się i pamięć. W ChP wykazano jego podwyższony poziom najprawdopodobniej związany ze zwiększoną aktywnością układu glutaminergicznego, oraz ze zmianami metabolicznymi w neuronach. [307] Wykazano również, że podwyższony poziom NO w ChP może prowadzić do wytwarzania peroksynitratów uszkadzających związki makromolekularne. [232] Ponadto wykazano, że NO u chorych z ChP może hamować wychwytywanie zwrotny DA w prążkowiu oraz innych strukturach mózgu i nasilać proces chorobowy, a także zmieniać mikrokrążenie mózgowe. [246] Zaburzenia krążenia, związane m.in. z dysfunkcją układu autonomicznego, należą do często występujących objawów klinicznych w ChP. Z badań Gorell i wsp. [105] wynika, że chorzy z ChP wykazują zwiększone ryzyko zachorowania na choroby sercowo-naczyniowe i udar mózgu w porównaniu z populacją równowiekową.

Wykazano, że zaburzenia odruchów autonomicznych związane ze zmniejszonym wyrzutem osoczkowych katecholamin mogą prowadzić do obniżenia ciśnienia tętniczego krwi. Istotny związek

między stężeniem NA, a parametrami hemodynamicznymi potwierdzają badania Guzik i wsp. [110] wskazujące na zależność między układem krążenia i autonomicznym układem nerwowym. W pracy tej, u 21 zdrowych ochotników w wieku 22-30 lat wykazano po pionizacji istotny wzrost stężenia NA oraz istotne zwiększenie S i R ciśnienia tętniczego krwi.

Z niniejszej pracy wynika, że zarówno wiek (kontrolni ochotnicy w wieku do 76. r.ż.), jak i zaburzenia układu pozapiramidowego, w tym ChP, mogą prowadzić do występowania nieprawidłowości w S i R ciśnieniu tętniczym krwi, a nawet u chorych z MSA powodować jego istotne obniżenie po pionizacji, najprawdopodobniej związane z zaburzeniami układu autonomicznego i dysfunkcją układu krążenia.

Z pracy Jabłeckiej [139] wynika, że proces starzenia się wpływa na funkcjonowanie układu autonomicznego, zarówno współczulnego, jak i przywspółczulnego. Jednocześnie zdaniem autorki, u osób w podeszłym wieku obserwuje się przewagę układu współczulnego nad przywspółczulnym. Wiadomo, że nadmierna aktywacja komponenty współczulnej układu autonomicznego występuje w chorobach sercowo-naczyniowych, m.in. w niewydolności serca. Wiadomo również, że w starszym wieku zaburzenia sercowo-naczyniowe występują ze zwiększoną częstością.

Wykazano, że dysfunkcje układu autonomicznego z różną częstością występują również w schorzeniach przebiegających z zaburzeniami ruchowymi (m.in. ChP, MSA). Ich częstsze występowanie wykazano u chorych z MSA (84%) niż u chorych z ChP (26%). [39,82,170,187]

Ponadto z badań Golstein i wsp. [97] wynika, że pionizacja ciała następująca w ciągu, co najmniej 5 min. po czasie odpoczynku może prowadzić do podwojenia stężenia osoczowej NA. Przeprowadzone badania wskazują, że wzrastający wiek najprawdopodobniej prowadzi do zaburzenia jej stężenia po pionizacji, być może związany z dodatkowymi fizjologicznymi funkcjami NA w starszym wieku. Z pracy Puerto i wsp. [250] wynika, że NA jedynie w starszym wieku jest zaangażowana w regulację układu immunologicznego i jego kontrolowanie. Z badań prowadzonych przez autora na zwierzętach doświadczalnych wynika, że wraz z wiekiem wzrasta zaangażowanie NA w obniżanie poziomu cytokiny pozapalnej, TNF-alfa.

W niniejszej pracy wykazano natomiast istotny wzrost stężenia osoczowej NA po pionizacji zarówno u chorych na ChP, jak i u chorych z zespołem parkinsonowskim w przebiegu choroby zwyrodnieniowej. Podwyższony poziom NA u chorych z zespołem parkinsonowskim najprawdopodobniej może wskazywać na prawidłowe rozpoznanie zaburzenia układu pozapiramidowego u tych chorych, jak i na możliwy rozwój ChP w przyszłości. Jednocześnie, jedynie u chorych z MSA obserwowano istotne obniżenie stężenia NA po pionizacji, prawdopodobnie wynikające z dysfunkcji układu autonomicznego, jak wiadomo pojawiające się z kilka-krotnie większą częstością u tych chorych w porównaniu z chorymi na ChP. [82]

Z niniejszej pracy wynika, że zarówno u kontrolnych ochotników, jak i u chorych z analizowanymi zaburzeniami układu pozapiramidowego nie następowało istotne podwyższenie stężenia osoczowej A po pionizacji. Januszewicz i Wocial [142] wykazali, że brak zmiany poziomu A

po pionizacji może wskazywać na nieprawidłową aktywność układu współczulno-nadnerczowego. Wydaje się, że czynność układu współczulno-nadnerczowego u badanych osób mogła być modyfikowana zarówno patologicznymi zmianami towarzyszącymi chorobom neurozwyrodnieniowym (ChP, MSA), jak i fizjologicznym procesem związanym ze starzeniem się organizmu.

Wiadomo, że w ChP, na skutek zarówno odnerwienia w układzie współczulnym [74], jak i utraty unerwienia noradrenergicznego następuje zmiana poziomu NA. [74,203] W późnym okresie ChP pojawia się również degeneracja neuronów cholinergiczych, odpowiedzialnych za wytwarzanie acetylocholino i serotonergiczych związanych z produkcją 5-HT. [67] Ponadto wykazano, że neurony serotonergiczne unerwiają dopaminowe powierzchnie mózgu m.in. istotę czarną, prądkowie i jądro podstawne mózgu, natomiast neurony noradrenergiczne układ czarno-prądkowioy. Wiadomo, że NA i 5-HT regulują dwie fazy snu, sen głęboki oraz fazę REM (marzenia senne), a wraz z DA są odpowiedzialne m.in. za regulację rytmu dobowego. [28] Wykazano, że w ChP zaburzenia w układzie noradrenergicznym i serotonergicznym mogą prowadzić do obniżenia poziomu DA i pojawienia się zaburzeń ruchowych oraz objawów depresji. [120,146] Ponadto wykazano, że zaburzenie uwalniania 5-HT w sercu może wpływać na hamowanie uwalniania NA z zakończeń układu autonomicznego. [86] Wydaje się, że zarówno u badanych chorych z ChP, jak i MSA uwalnianie zarówno 5-HT, jak i NA było zaburzone.

Wiadomo, że odnerwienie współczulne wpływające na zaburzenie poziomu NA w ChP jest najbardziej widoczne w neurogennej hipotonii ortostatycznej. [97,99] Wykazano, że u chorych z ChP hipotonia ortostatyczna występuje z 16% do 58% częstością [5], a u chorych z ponad 15 letnim czasem jej trwania pojawia się nawet w 50-80%. Przyczyną hipotonii ortostatycznej są najprawdopodobniej zmiany patologiczne w obrębie jądra miejsca sinawego (ośrodkowe neurony noradrenergiczne), istoty czarnej (neurony dopaminergiczne) i jąder nerwu błędnego. [97] Neurogenna hipotonia ortostatyczna zazwyczaj jest związana z niedostatecznym uwalnianiem NA po pionizacji, wskutek uszkodzeń w układzie sercowo-naczyniowym oraz obniżonej jej syntezy, uwalniania, wychwytu zwrotnego i obrotu w sercu. [96,97] Z doniesień piśmiennictwa wynika, że w ChP zaburzenia współczulne mogą występować również w innych narządach, m.in. w tarczycy, korze nerek i w skórze. [96]

Badania Iwanaga i wsp. [138] wskazują, że w ChP odnerwienie współczulne pojawiające się w różnych narządach, z wyjątkiem serca jest najprawdopodobniej związane z obecnością LB w zwojach układu współczulnego. Jednocześnie wykazano, że u chorych ze SChP i innymi schorzeniami OUN odkładanie się w tkankach obwodowych nieprawidłowej ASN jest związane najprawdopodobniej z wczesnymi zmianami neuropatologicznymi w układzie autonomicznym, pojawiającymi się nawet na kilka lat przed wystąpieniem zaburzeń ruchowych u tych chorych. [37] Oznaczalny poziom ASN u chorych z ChP wykazano w okrężnicy, skórze i drobnych gruczołach ślinowych [37], a w pracy Dorszewskiej i wsp. [66] również w krwi obwodowej (w osoczu). Zdaniem

Cersosimo i Benarroch [37] obecność ASN w tkankach obwodowych może być uważana za wczesny wskaźnik ryzyka rozwoju ChP. [36,172,207] Uważa się, że w ChP mechanizm obwodowych zmian autonomicznych jest włączony również w rozwój niedociśnienia ortostatycznego.

Niedociśnienie ortostatyczne pojawia się na ogół w późnych okresach ChP [328] i objawia się niższym poziomem NA po odpoczynku. [101] Natomiast wczesne pojawienie się ciężkiej hipotonii ortostatycznej wiąże się z najprawdopodobniej z rozwojem MSA. [319]

Niedociśnienie ortostatyczne pojawia się również u 5-50% osób w starszym wieku. Jest ono wynikiem m.in. zależnych od wieku zmian w układzie sercowo-naczyniowym i zmniejszonej odpowiedzi ze strony układu współczulnego. Wydaje się również, że może być wynikiem zwiększonej podatności na stres ortostatyczny w starszym wieku. [327]

U chorych z zaburzeniami układu pozapiramidowego obserwuje się ortostatyczne spadki ciśnienia tętniczego krwi. Z niniejszej pracy wynika, że częściej występują one u chorych z MSA (67%), niż u osób z ChP (14%).

Uważa się, że dla celów diagnostycznych oznaczanie stężenia katecholamin w surowicy czy osoczu jest mniej czułe i swoiste, niż badanie stężenia amin katecholowych lub ich metabolitów w dobowej zbiórce moczu. Obecnie diagnostycznie w moczu najczęściej oznacza się stężenie MNA i MA. [23]

Z przeprowadzonych badań wynika, że u osób kontrolnych podwyższone stężenie MNA w moczu, metabolitu NA mogło wiązać z obniżoną przemianą NA do A i niższym poziomem tego końcowego metabolitu katecholamin. Jednocześnie u badanych chorych z zaburzeniami układu pozapiramidowego na podwyższenie stężenia osoczowej A i jej metabolitu MA w moczu, wydaje się, że wpływał zarówno stopień rozwoju choroby w skali Hoehn i Yahra, jak i farmakoterapia egzogenną L-dopą.

Strategia leczenia L-dopą chorych z zaburzeniami ruchowymi, a zwłaszcza z ChP jest zasadniczo oparta na wzmocnieniu przekąźnictwa dopaminergicznego egzogenną L-dihydroksyfenyloalaniną (L-dopą) i agonistami DA. [73,118]

L-dopa, została odkryta w 1960 roku przez Hornykiewicza i znalazła zastosowanie w leczeniu chorych na ChP. [73] Wykazano, że długotrwałe leczenie chorych z ChP preparatami L-dopy poprawia funkcje ruchowe przez zwiększenie poziomu ośrodkowej DA.

Jednocześnie wykazano, że narastające uszkodzenie neuronów dopaminergicznych w ChP może zmniejszać skuteczność terapii L-dopą i agonistami DA. Ponadto, u chorych z ChP, na skutek ubytku neuronów dopaminergicznych w układzie czarno-prążkowiowym, L-dopa może wnikać do innych neuronów dopaminergicznych, zwłaszcza szlaku mezolimbicznego i prowadzić do zaburzeń emocjonalnych oraz neuropsychiatrycznych u chorych leczonych tym lekiem. Podczas terapii L-dopą chorych z ChP może również ulegać zwiększeniu ekspresja DA w neuronach noradrenergicznych, za pośrednictwem hydrolazy dopaminy (ang. *dopamine- β -hydroxylase*, D β H), enzymu odpowiedzialnego za przekształcenie DA do NA. W ChP zakończenia noradrenergiczne są

również odpowiedzialne za usuwanie DA z przestrzeni synaptycznej. [8] Wykazano, że u chorych z ChP, nie leczonych L-dopą aktywność D β H jest obniżona. Jednocześnie wykazano, że podawanie L-dopy chorym z ChP nie znosi objawów pozaruchowych u chorych, którzy mają obniżony poziom NA. [272]

Z przeprowadzonych badań wynika, że L-dopa najprawdopodobniej nie prowadziła do wzrostu stężenia osoczowej NA, a nawet jej stężenie w osoczu miało tendencję do obniżania poziomu po terapii tym preparatem. Z pracy Goldstein i wsp. [97] wynika, że jedynie endogenna L-dopa, przekształcana w neuronach współczulnych do NA może powodować wzrost poziomu tej osoczowej katecholaminy. Jednocześnie zdaniem autorów odnerwienie współczulne w przebiegu ChP może powodować obniżenie uwalniania i wychwytu zwrotnego NA, a jej poziom w osoczu może odzwierciedlać rzeczywiste uwalnianie noradrenergiczne.

Badania przeprowadzone przez Davidson i wsp. [60] u 59 chorych z ChP wydają się potwierdzać wyniki uzyskane w niniejszej pracy. Autorzy tej pracy wykazali, że poziom NA w moczu chorych z ChP leczonych L-dopą był niższy w porównaniu z chorymi oczekującymi na włączenie tego preparatu, jak i z osobami kontrolnymi.

Z przeprowadzonych badań wynika również, że terapia L-dopą u chorych z ChP prowadziła do wzrostu stężenia jedynie metabolitu A w moczu, MA. Natomiast badania Davidson i wsp. [60] wykazały u chorych z ChP leczonych L-dopą wzrost stężenia zarówno MNA, jak i MA. Wykazane rozbieżności uzyskanych wyników są najprawdopodobniej związane ze zróżnicowanym postępowaniem farmakoterapeutycznym, m.in. z różnymi dziennymi dawkami i czasem podawania L-dopy oraz stosowaniem lub nie stosowaniem inhibitorów COMT i AADC w celu zwiększenia efektu terapeutycznego tego aminokwasu. Z przeprowadzonych badań wynika również, że krótkotrwała (poniżej 5 lat) i długotrwała terapia L-dopą (powyżej 5 lat) najprawdopodobniej wykazywały zróżnicowany wpływ na metabolizm zarówno NA do MNA, jak i A do MA u chorych z rozpoznaniem zespołem parkinsonowskim i ChP.

Wiadomo, że L-dopa jest prekursorem nie tylko DA, ale również innych katecholamin, w tym A. Z przeprowadzonych badań wynika, że zarówno u chorych z ChP leczonych L-dopą, jak i oczekujących na włączenie tego preparatu obserwowano wzrost stężenia osoczowej A, być może związany ze zwiększonym stresem towarzyszącym tej chorobie zwyrodnieniowej. Starsze prace wskazują, że A jest włączona w wywołane stresem drżenie, jeden z powszechnie występujących objawów w ChP. [198] W pracy Davidson i wsp. [60] u chorych z ChP nie leczonych L-dopą wykazano wyższy poziom A w moczu.

Wykazano, że u chorych z ChP ze znacznym ubytkiem komórek nerwowych w układzie czarno-prążkowiowym może następować wzmożone wnikanie L-dopy do neuronów serotonergicznym, wpływające na przebieg tej choroby zwyrodnieniowej m.in. przez regulację poziomu 5-HT. [146] Starsze badania, zarówno Fahn i wsp. [78] prowadzone na zwierzętach doświadczalnych wykazały obniżenie poziomu 5-HT po podaniu L-dopy, jak i badania Riederer, [255]

które wskazały na obniżenie aktywności 5-HT w mózgu chorych z ChP nie leczonych L-dopą z tendencją do dalszego obniżania aktywności podczas leczenia tym preparatem farmaceutycznym. Nowsze badania Hinz i wsp. [121] potwierdziły obniżenie stężenia 5-HT po podawaniu L-dopy i wykazały pojawienie się objawów związanych z nieprawidłowym poziomem 5-HT, m.in. depresji, jak również skutków ubocznych oraz działań niepożądanych, a także tachyfilaksji na L-dopę.

Jednocześnie przeprowadzone badania u chorych z ChP wykazały tendencję do wzrostu stężenia osoczowej 5-HT zarówno przed leczeniem L-dopą, jak i po podaniu tego preparatu. Wzrost stężenia 5-HT podczas leczenia L-dopą można wyjaśnić w oparciu o hipotezę zaproponowaną przez Ng i wsp. [222] Zdaniem autorów uszkodzone neurony katecholowe w modelu doświadczalnym zaburzają jedynie uwalnianie i wychwyty zwrotny DA i nie wpływają na poziom 5-HT. Zgodnie z tą obserwacją, egzogenna L-dopa może w ośrodkowych zakończeniach serotoninowych ulegać przekształceniu do DA, wypierając endogenne indoloaminy z pęcherzyków synaptycznych. Zdaniem Stern [284] podawanie L-dopy ze zwiększonym wytwarzaniem 5-HT poprawia funkcje ruchowe u chorych z ChP.

Jednocześnie wykazano, że leczenie L-dopą chorych z ChP może w różnych mechanizmach indukować stres oksydacyjny, zwiększać poziom markerów stanu zapalnego, prowadzić do zaburzenia poziomu biotyni oraz do śmierci komórek na drodze apoptozy lub autofagii. Wykazano również, że zmiana poziomu parametrów biochemicznych podczas terapii L-dopą chorych z ChP może prowadzić do aktywacji mikrogleju, utleniania DA i odkładania się LB. [68]

Wykazano także, że długotrwała terapia L-dopą chorych z ChP może prowadzić do powikłań ruchowych, takich jak: fluktuacje i dyskinezy oraz niestabilności postawy [306], jak również do objawów pozaruchowych, takich jak: dysfunkcje autonomiczne, zespoły bólowe, zaburzenia snu, zaburzenia nastroju i otępienie. [227] Ponadto wykazano, że zarówno L-dopa, jak i agoniści DA mogą prowadzić do ortostatycznych spadków ciśnienia tętniczego krwi oraz do występowania omdleń. [161]

Z danych piśmiennictwa wynika, że istnieją trzy drogi potencjalnego obwodowego metabolizmu L-dopy, dekarboksylacja L-dopy do DA, O-metylowanie do 3-metoksytyrozyny i transaminacja do 3,4-dihydroksyfenylo-pochodnej kwasu pirogronowego. [60] Ponadto, L-dopa może ulegać przekształceniu w tkankach obwodowych do innych katecholamin: NA, A lub ich metabolitów: MNA, MA, odpowiednio. [74,99] Jednocześnie wykazano, że stosowanie inhibitorów dekarboksylacji obwodowej L-dopy (np. karbidopa) oraz O-metylacji (np. entakapon) może prowadzić do zwiększenia dostępności katecholamin i obniżenia terapeutycznej dawki L-dopy.

Na regulację poziomu osoczowych amin biogennych mają wpływ również enzymy odpowiedzialne zarówno za ich metabolizm (COMT, MAO-A i MAO-B), jak i transport oraz wychwyty zwrotny (NET, DAT, SERT). [67]

Wykazano, że w neuronach współczulnych występuje jedynie enzym MAO, natomiast w komórkach chromochłonnych nadnerczy, enzymy MAO i COMT. Ponadto enzym COMT jest, w zależności od formy występowania rozmieszczony z różnym nasileniem we wszystkich narządach.

Forma MB-COMT najczęściej występuje w komórkach nerwowych mózgu, natomiast S-COMT w wątrobie, nerkach i we krwi. Oba enzymy są odpowiedzialne za metabolizm katecholamin. [341] Jednocześnie z pracy Lotta i wsp. [192] wynika, że formy S-COMT i MB-COMT posiadają zróżnicowane parametry kinetyczne związane z metylowaniem amin katecholowych.

Wykazano, że obecność G w 1947 nukleotydzie eksonu 4. genu *COMT* jest związana z kodowaniem Val i termostabilnej COMT^H o wysokiej aktywności. Natomiast obecność w tej pozycji genu *COMT*, A wiąże się z kodowaniem Met i termolabilnej COMT^L o niskiej aktywności. [192] Wiadomo, że wariant homozygotyczny allelu COMT^L (Met) jest 3-4 razy mniej aktywny i znacznie wolniej metabolizuje DA w porównaniu z wariantem homozygotycznym allelu COMT^H (Val). Badania przeprowadzone przez Kunugi i wsp. [168] wykazały, że homozygotyczny wariant COMT^L jest czynnikiem ryzyka ChP w populacji japońskiej. Badania na rasie kaukaskiej i w populacji Chin nie potwierdziły związku pomiędzy polimorfizmem genu *COMT* i ChP. [338,342]

Z doniesień piśmiennictwa wynika, że genotyp COMT^{LL} występuje z większą częstością (40-50%) u rasy kaukaskiej i w południowo-zachodniej Azji w porównaniu z północno-wschodnią Azją i Afryką (20-30%). [168,202,342] Badania przeprowadzone przez Białecką i wsp. [14] wykazały, że istnieje większa częstość występowania allelu COMT^L w populacji polskiej, oraz że występuje on z 56,7% częstością u osób kontrolnych. W pracy tej autorzy wykazali również, że genotyp COMT^{LL} w populacji Polski występuje z mniejszą częstością u chorych z ChP. Jednocześnie z pracy Białeckiej i wsp. [15] wynika, że wysoka aktywność enzymu COMT jest czynnikiem ryzyka wystąpienia ChP.

Ponadto wykazano, że zastąpienie Met, Val w kodonie 158 genu *COMT* jest związane z odczuwaniem bólu i jego przekazywaniem za pośrednictwem receptorów opioidowych typu μ [355], zaburzeniem funkcji poznawczych, uzależnieniem i chorobami afektywnymi. [87,230,334] Jednocześnie wykazano, że polimorfizm genu *COMT* (Val158Met) może wpływać na aktywność enzymu COMT, oraz że warianty genetyczne tego genu stabilizują strukturę i poziom kodowanego przez ten gen białka. [217] U kobiet aktywność enzymu COMT jest o 20-30% niższa niż u mężczyzn, a estrogeny mogą obniżać transkrypcję genu *COMT*. [339]

Gen *COMT* (c.649G>A) koduje trzy genotypy: GG, GA i AA występujące ze zróżnicowaną częstością w różnych populacjach. U rasy kaukaskiej z największą częstością występuje genotyp heterozygotyczny GA (50%), a z mniejszą genotypy homozygotyczne GG i AA (25%) genu *COMT*. [15,29,67,289] Zarówno badania Białeckiej i wsp. [15], jak i niniejsza praca potwierdzają około 50% częstość występowania genotypu GA w populacji polskiej u osób kontrolnych. Ponadto w populacji japońskiej i koreańskiej wykazano istotnie niższą częstość występowania genotypu nieprawidłowego *COMT* AA (c.649G>A) oraz mniejszą częstość występowania allelu A tego genu. [168,174]

Jednocześnie zarówno w populacji chińskiej, koreańskiej, fińskiej, jak i polskiej nie wykazano istotnych różnic w częstości występowania genotypów genu *COMT* (c.649G>A) pomiędzy chorymi na ChP a osobami kontrolnymi. [15,29,67,158,289,338] Natomiast w populacji japońskiej i chińskiej genotyp AA genu *COMT* (c.649G>A) występował z większą częstością u chorych z ChP

i najprawdopodobniej był włączony w patogenezę tej choroby zwyrodnieniowej. [168,174,342] Zarówno przeprowadzone badania, jak i praca Białeckiej i wsp. [15] wskazują na występowanie genotypu AA (c.649G>A *COMT*) u chorych z ChP z około 26% częstością w populacji polskiej.

Enzym *COMT* metabolizuje wiele biologicznie czynnych i/lub toksycznych katecholamin, hormonów i neuroprzekazników, takich jak: L-dopa, NA, DA i A. [14,63,74,305,351] Wiadomo, że genotyp *COMT* AA (c.649G>A) koduje enzym *COMT* o obniżonej aktywności. [174] Jednocześnie wykazano, że obniżenie O-metylacji endogennych katecholamin z udziałem tego enzymu jest czynnikiem ryzyka m.in. ChP, ChA i chorób sercowo-naczyniowych. [351]

Z badań Lee i wsp. [174] wynika, że u chorych z ChP z genotypem *COMT* AA (c.649G>A) dłużej utrzymywał się poziom, niezmetylowanej L-dopy oraz wydłużało się terapeutyczne działanie tego leku. Wykazano również, że u chorych, z ChP z allelem *COMT*^L stosowano niższe dawki L-dopy w porównaniu do osób z allelem *COMT*^H ze względu na spowolniony metabolizm leku oraz jego większą stabilność w surowicy i OUN, a także niższy poziom O-metylacji. Ponadto, u chorych z ChP z genotypami o niskiej i średniej aktywności genu *COMT* wykazano lepszą odpowiedź kliniczną przy stosowaniu niższych dawek L-dopy. [15,175] Badania Reilly i wsp. [254], jak i Rivera-Calimlim i wsp. [256] potwierdziły wpływ aktywności enzymu *COMT* na skuteczność terapii L-dopą, a badania Farrell i wsp. [81] wykazały, że genotyp genu *COMT* (Val158Met) u chorych z ChP wpływał również na toksyczność stosowanej farmakoterapii L-dopą. [44]

Wydaje się, że zmniejszona aktywność genotypu *COMT* AA (c.649G>A) u badanych chorych z ChP najprawdopodobniej wpływała na końcowy etap biosyntezy katecholamin (NA do A) i metabolizm A do MA. Z pracy Nackley i wsp. [218] wynika, że zaburzenie metabolizmu A może zwiększać odczuwanie bólu przez pobudzenie receptorów β 2/3-adrenergicznych. Ból jest jednym z częstych objawów klinicznych występujących u chorych z ChP.

Kolejnym enzymem zaangażowanym w regulację poziomu amin biogennych jest MAO. Wykazano, że zaburzenia metabolizmu amin biogennych oraz wzrost stężenia amoniaku i innych metabolitów mogą prowadzić do zmniejszenia aktywności MAO, wzrostu produkcji RFT [163] i rozwoju chorób neurozwyrodnieniowych, m.in. ChP oraz do otępienia. [106]

Wyróżniamy dwa izoenzymy MAO: MAO-A i MAO-B, różniące się m.in. wyborem metabolizowanego substratu, selektywnym hamowaniem wychwytu zwrotnego, rozmieszczeniem w organizmie oraz wpływem na zachowanie się. [20] Wykazano, że MAO-A posiada wysokie powinowactwo do 5-HT (120-krotnie wyższe w porównaniu do MAO-B) i mniejsze do NA. W przeciwieństwie do MAO-A, MAO-B bierze udział w metabolizmie związków występujących w mniejszych ilościach m.in. 2-fenyletyloaminy (ang. *2-phenylethylamine*, PEA). Zarówno MAO-A, jak i MAO-B uczestniczą w rozkładzie DA, tryptaminy i tyraminy, jednakże ze zróżnicowanym nasileniem. Wykazano, że MAO-B preferuje DA u ludzi. [93]

Oba izoenzymy MAO występują w większości tkanek (MAO-A, m.in. w fibroblastach a MAO-B, m.in. w płytkach krwi i limfocytach) i w większości obszarów mózgu. Wykazano, że

MAO-A znajduje się głównie w neuronach dopaminergicznych i noradrenergicznych. W przeciwieństwie do MAO-A, MAO-B występuje jedynie w neuronach serotonergicznych. Lokalizacja MAO-B w neuronach serotonergicznych pozostaje niejasna, ponieważ 5-HT jest metabolizowana głównie przez MAO-A. [20,162] Wydaje się, że lokalizacja MAO-B w neuronach serotonergicznych może wiązać się z ochroną 5-HT. [20]

Jak do tej pory lepiej poznany jest udział enzymu MAO-B w patogenezie ChP. Wykazano, że polimorfizm genu *MAO-B* zarówno w intronie 13., jak i w eksonie 14. wykazywał zwiększone ryzyko wystąpienia ChP u rasy kaukaskiej, ale nie potwierdzono tej zależności w populacji azjatyckiej. [14,49,169,213] Ponadto, w populacji Indian, wykazano korelację pomiędzy wariantem genu *MAO-B* G (intron 13A/G) i ChP. [281]

Rola MAO-A w patogenezie ChP nie jest jednoznaczna. Wyniki badań asocjacyjnych pomiędzy wariantami genetycznymi genu *MAO-A* i ujawnieniem się ChP są rozbieżne. Hotamisligil i wsp. [129] wykazali, że polimorfizmy genu *MAO-A* *EcoRV* i *MspI* występowały z 3-krotnie większą częstością u chorych z ChP w porównaniu z grupą kontrolną. Natomiast badania Costa-Mallen i wsp. [50] nie potwierdziły tej zależności. Ponadto wykazano, że polimorfizm *MAO-A* w intronie 1. zarówno w populacji japońskiej [220], jak i u rasy kaukaskiej [245] nie był związany z ChP. Jednocześnie badania Parsian i wsp. [238] wykazały, że polimorfizm genu *MAO-A* był związany jedynie z ogólną populacją chorych z ChP, nie uzyskano znaczących różnic pomiędzy RChP i SChP.

Wykazano również zależność pomiędzy mutacjami genu *MAO-A* w eksonie 14. (c.1460C>T), a nadpobudliwością psychoruchową (ADHD) i chorobami psychicznymi. [184] Jednocześnie w pracy Bugaj i wsp. [29] oraz Dorszewskiej i wsp. [67] po raz pierwszy przeprowadzono analizę genotypów tego genu u chorych z ChP. Zarówno z pracy Bugaj i wsp. [29], Dorszewskiej i wsp. [67], jak i z przeprowadzonych badań wynika, że u chorych z ChP genotypy *MAO-A* CC i CT (c.1460C>T) występowały z jednakową częstotliwością (44%) i 2-krotnie częściej niż genotyp TT (12%) tego genu.

Wiadomo, że w ChP, MAO jest zaangażowany w proces w neurodegeneracyjny przez produkcję RFT i oksydacyjną deaminację DA. [331] Ponadto, oksydoreduktazy MAO katalizują deaminację głównych neuroprzekaźników w mózgu, takich jak: DA, NA, A, 5-HT, a także amin występujących w ilościach śladowych, takich jak: tryptamina i tyramina, prowadząc do zmiany ich poziomu. [20]

Z przeprowadzonych badań wynika, że w ChP, genotyp *MAO-A* CT (c.1460C>T) był związany z wyższym poziomem analizowanych osoczowych amin biogennych, NA, A, 5-HT i jednym z wyższych poziomów ich metabolitów, MNA i MA.

Wydaje się również, że stosowanie selektywnych inhibitorów MAO w leczeniu objawów depresji (przez zwiększenie poziomu amin biogennych) w ChP, może być skuteczniejszą terapią zwłaszcza u chorych z genotypem *MAO-A* TT (c.1460C>T) i obniżonym poziomem NA i 5-HT. Właściwości antydepresyjne inhibitorów MAO są związane z inaktywacją MAO-A i wzrostem stężenia 5-HT. [273]

Transportery amin biogennych odgrywają ważną rolę zarówno w magazynowaniu związków w pęcherzykach synaptycznych (przed ich uwalnianiem), jak i w ochronie komórek przed toksycznymi skutkami wysokich poziomów katecholamin. Jednocześnie transportery DA, NE i 5-HT; DAT, NET i SERT, odpowiednio, są odpowiedzialne za utrzymanie homeostazy amin biogennych oraz stanowią cel terapeutyczny dla wielu preparatów farmaceutycznych, w tym psychostymulatorów oraz leków przeciwdepresyjnych. [6,74,270]

Wykazano, że enzym DAT reguluje zarówno funkcje związane z zachowaniem się ludzi i zwierząt, jak i z przekazywaniem dopaminergicznym odpowiedzialnym za poruszanie się, funkcje poznawcze, emocje i nagrody. Natomiast enzym NET jest zaangażowany w regulację takich funkcji organizmu, jak utrzymanie neuroplastyczności, emocje i pamięć. [88] Wiadomo, że zmniejszenie aktywności transporterów amin biogennych, m.in. NET i DAT może powodować uszkodzenia ośrodkowych neuronów i rozwój depresji, ADHD i ChP. [74,349]

W populacji koreańskiej wykazano korelacje pomiędzy polimorfizmem genu *NET* (c.182T>C) i ciężką depresją. Ponadto wykazano występowanie depresji u osób z substytucją G na A w pozycji 1287 eksonu 9. genu *NET* (c.1287G>A). [264]

W ChP depresja występuje u 40% chorych, a u 50%, stwierdza się wynik w zakresie depresji związanej z zaburzeniami w układzie serotonergicznym. [167] Z przeprowadzonych badań wynika, że 43% chorych z ChP miało obniżony poziom 5-HT.

W pracach Bugaj i wsp. [29], Dorszewskiej i wsp. [67] oraz w niniejszych badaniach po raz pierwszy przeprowadzono analizę genotypów genu *NET* GG, GA i AA (c.1287G>A) w ChP. Wykazano, że u chorych z ChP, genotyp *NET* GA (c.1287G>A) występował z największą częstością, a z najmniejszą genotyp AA tego genu. Ponadto wykazano, że obecność u chorych z zaburzeniami ruchowymi (ChP, zespół parkinsonowski w przebiegu choroby zwyrodnieniowej) zarówno heterozygoty *NET* GA (c.1287G>A), jak i homozygoty nieprawidłowej *NET* AA (c.1287G>A) najprawdopodobniej wpływały na ujawnienie się ChP. Uzyskane wyniki badań wymagają jednak potwierdzenia na większej grupie chorych z zaburzeniami układu pozapiramidowego.

Prawdopodobny udział NET w patogenezie ChP może być związany z udziałem tego enzymu w usuwaniu NA z synaps, szczególnie w hipokampie i korze mózgu. Jednocześnie wykazano, że zaburzenia układu noradrenergicznego mogą prowadzić do zmiany poziomu NA i rozwoju ChP [203] przez osłabienie funkcji ruchowych. [9] Z przeprowadzonych badań wynika, że na poziom NA u chorych z ChP może również wpływać rodzaj posiadanego genotypu genu *NET* (c.1287G>A). U badanych chorych z ChP, genotyp *NET* GA (c.1287G>A) najprawdopodobniej prowadził do istotnego obniżenia stężenia osoczowej NA (po odpoczynku) i wzrostu poziomu jej metabolitu w moczu (MNA). Badania prowadzone na płynie mózgowo-rdzeniowym przez Jonsson i wsp. [151] u 66 zdrowych ochotników wykazały związek pomiędzy polimorfizmem genu *NET* i metabolizmem amin biogennych.

Wykazano, że w regulacji poziomów NA może również uczestniczyć gen *5-HTT* kodujący SERT. Wiadomo, że gen *5-HTT* odgrywa ważną rolę w powstawaniu i rozwoju chorób psychicznych, percepcji bólu, objawach depresji i ChP. [3,109,128,173,209,299,347] Wiadomo również, że mutacje genu *5-HTT* mogą prowadzić do zmiany funkcji SERT i poziomów 5-HT. Obniżenie poziomu 5-HT w szczelinie synaptycznej jest uważane za przyczynę depresji.

Wydaje się, że u chorych z ChP istnieje wiele mechanizmów włączonych w zaburzenie poziomu amin biogennych, w tym katecholamin i 5-HT, związanych jednocześnie z pojawieniem się objawów ruchowych i pozaruchowych oraz zaburzeniem regulacji ciśnienia tętniczego krwi. Wydaje się również, że zmiana poziomu amin biogennych może być również następstwem genetycznie uwarunkowanego poziomu i aktywności enzymów je metabolizujących.

Obecnie, w ChP poszukuje się terapii, która może przez cały dzień zapewnić działanie przeciwparkinsonowskie, wyeliminować dyskinezy i spowolnić lub zatrzymać postęp choroby. Być może monitorowanie poziomu amin biogennych i ich metabolitów z uwzględnieniem genetycznych uwarunkowań ich metabolizmu przyczyni się do poprawy efektywności leczenia chorych z ChP i zahamowania rozwoju tej choroby.

6. Wnioski

1. Najprawdopodobniej, zarówno fizjologiczne starzenie się organizmu, jak i zaburzenia układu pozapiramidowego (ChP, MSA) prowadzą do zmiany stężenia osoczowych amin biogennych: NA, A oraz 5-HT.
2. Jedynie u chorych z MSA, ortostatycznemu spadkowi ciśnienia tętniczego krwi towarzyszy istotne obniżenie stężenia osoczowej NA.
3. Wydaje się, że u osób kontrolnych występuje przewaga metabolizmu NA do MNA, a u chorych z analizowanymi zaburzeniami ruchowymi, A do MA.
4. U chorych z ChP zarówno farmakoterapia L-dopą, jak i genotyp o zmniejszonej aktywności, *COMT* AA (c.649G>A) najprawdopodobniej prowadzą do istotnego wzrostu stężenia osoczowej A i jej metabolitu w moczu, MA.
5. Szczególnie chorzy z ChP z genotypem *MAO-A* TT (c.1460C>T) mogą stanowić cel terapeutyczny w leczeniu inhibitorami MAO.
6. Po raz pierwszy korelowane z ChP, genotypy genu zarówno *NET* GA (c.1287G>A), jak i *NET* AA (c.1287G>A) najprawdopodobniej wpływają na ujawnienie się tej choroby zwyrodnieniowej.

7. Piśmiennictwo

1. Aarsland D., Ballard C.G., Halliday G. *Are Parkinson's disease with dementia and dementia with Lewy bodies the same entity?* J.Geriatr.Psychiatry.Neurol. 2004, 17: 137-145.
2. Ahmed H., Neuzil P., Skoda J., Petru J., Sediva L., Schejbalova M., Reddy V.Y. *Renal Sympathetic Denervation Using an Irrigated Radiofrequency Ablation Catheter for the Management of Drug-Resistant Hypertension* JACC.Cardiovasc.Interv. 2012, 5: 758-765.
3. Albani D., Vittori A., Batelli S., Polito L., De Mauro S., Galimberti D., Scarpini E., Lovati C., Mariani C., Forloni G. *Serotonin transporter gene polymorphic element 5-HTTLPR increases the risk of sporadic Parkinson's disease in Italy.* Eur.Neurol. 2009, 62: 120-123.
4. Allan L.M., Ballard C.G., Allen J., Murray A., Davidson A.W., McKeith I.G., Kenny R.A. *Autonomic dysfunction in dementia.* J.Neurol.Neurosurg.Psychiatry 2007, 78: 671-677.
5. Allcock L.M., Ulliyart K., Kenny R.A., Burn D.J. *Frequency of orthostatic hypotension in a community based cohort of patients with Parkinson's disease.* J.Neurol.Neurosurg.Psychiatry 2004, 75: 1470-1471.
6. Amara S.G., Sonders M.S. *Neurotransmitter transporters as molecular targets for addictive drugs.* Drug Alcohol Depend. 1998, 51: 87-96.
7. Antonini A., Tolosa E., Mizuno Y., Yamamoto M., Poewe W.H. *A reassessment of risks and benefits of dopamine agonists in Parkinson's disease.* Lancet Neurol. 2009, 8: 929-937.
8. Arai A., Tomiyama M., Kannari K., Kimura T., Suzuki C., Watanabe M., Kawarabayashi T., Shen H., Shoji M. *Reuptake of L-DOPA-derived extracellular DA in the striatum of a rodent model of Parkinson's disease via norepinephrine transporter.* Synapse 2008, 62: 632-635.
9. Archer T., Fredriksson A. *Influence of noradrenaline denervation on MPTP-induced deficits in mice.* J.Neural.Transm. 2006, 113: 1119-1129.
10. Beal M.F. *Mitochondrial dysfunction in neurodegenerative diseases.* Biochim.Biophys.Acta 1998, 10: 211-223.
11. Bédard C., Wallman M.J., Pourcher E., Gould V.P., Parent A., Parent M. *Serotonin and dopamine striatal innervation in Parkinson's disease and Huntington's chorea.* Parkinsonism Relat.Disord. 2011, 17: 593-598.
12. Beilina A., Van Der Brug M., Ahmad R., Kesavapany S., Miller D.W., Petsko G.A., Cookson M.R. *Mutations in PTEN-induced putative kinase 1 associated with recessive parkinsonism have differential effects on protein stability.* Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A. 2005, 102: 5703-5708.
13. Berumen L.C., Rodríguez A., Miledi R., García-Alcocer G. *Serotonin Receptors in Hippocampus.* The Scientific World Journal 2012, Article ID 2012:823493 1-15.
14. Bialecka M., Drożdżik M., Honczarenko K., Gawronska-Szklarz B., Stankiewicz J., Dąbrowska E., Kubisiak M., Klodowska-Duda G., Opala G. *Catechol-O-methyltransferase and monoamine oxidase B genes and susceptibility to sporadic Parkinson's disease in a Polish population.* Eur.Neurol. 2005, 53: 68-73.
15. Bialecka M., Kurzawski M., Klodowska-Duda G., Opala G., Tan E.K., Drożdżik M. *The association of functional catechol-O-methyltransferase haplotypes with risk of Parkinson's disease, levodopa treatment response, and complications.* Pharmacogenet.Genomics 2008, 18: 15-21.
16. Bialecka M., Kurzawski M., Roszmann A., Robowski P., Sitek E.J., Honczarenko K., Gorzkowska A., Budrewicz S., Mak M., Jarosz M., Gołąb-Janowska M., Kozirowska-Gawron E., Drożdżik M., Sławek J. *Association of COMT, MTHFR, and SLC19A1(RFC-1) polymorphisms with homocysteine blood levels and cognitive impairment in Parkinson's disease.* Pharmacogenet.Genomics 2012, 22: 716-724.
17. Bihari K, Lees A.J. *Cigarette smoking, Parkinson's disease and ulcerative colitis.* J.Neurol.Neurosurg.Psychiatry 1987, 50: 635.
18. Blackstone C. *Infantile parkinsonism-dystonia: a dopamine "transportopathy".* J.Clin.Invest. 2009, 119: 1455-1458.
19. Boecker H., Ceballos-Baumann A.O., Volk D., Conrad B., Forstl H., Haussermann P. *Metabolic alterations in patients with Parkinson disease and visual hallucinations.* Arch.Neurol. 2007, 64: 984-988.

20. Bortolato M., Shih J.C. *Behavioral outcomes of monoamine oxidase deficiency: preclinical and clinical evidence*. *Int.Rev.Neurobiol.* 2011, 100: 13-42.
21. Bouallegue A., Yamaguchi N. *Nitric oxide inhibits the bradykinin B2 receptor-mediated adrenomedullary catecholamine release but has no effect on adrenal blood flow response in vivo*. *J.Pharmacol.Sci.*, 2005, 98: 151-160.
22. Bourque M., Dluzen D.E., DiPaolo T. *Male/female differences in neuroprotection and neuromodulation of brain dopamine*. *Front.Endocrinol.(Lausanne)*. 2011, 2: 35.
23. Boyle J.G., Davidson D.F., Connell J.M.C. *Urinary free metadrenalines provide the best diagnostic biochemical test for pheochromocytoma; experience in a tertiary care centre*. *Endocrine* 2004, 7: 85.
24. Braak H., Del Tredici K., Rub U., de Vos R.A., Jansen Steur E.N., Braak E. *Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease*. *Neurobiol.Aging* 2003, 24: 197-211.
25. Braak H., Ghebremedhin E., Rüb U., Bratzke H., Del Tredici K. *Stages in the development of Parkinson's disease-related pathology*, *Cell Tissue Res.* 2004, 318: 121-134.
26. Brooks D.J., Sagar H. *Entacapone is beneficial in both fluctuating and non-fluctuating patients with Parkinson's disease: A randomised, placebo controlled, double blind, six month study*. *J.Neurol.Neurosurg.Psychiatry* 2003, 74: 1071-1079.
27. Brown C.R., Lockwood A.H., Sonawane R.B. *Neurodegenerative diseases: an overview of environmental risk factors*. *Environ.Health Perspect.* 2005, 113: 1250-1256.
28. Bryson G., Bischoff F. *Dopamine transport in human blood*. *Clin.Chem.* 1970, 16: 312-317.
29. Bugaj R., Wolny L., Rozycka A., Dorszewska J., Florczak J., Pólrolniczak A., Owecki M., Jagodziński P.P., Kozubski W. *MAO-A, COMT, NET gene polymorphisms and the levels of catecholamines and their metabolites in patients with Parkinson's disease*. In 10th International Conference on Alzheimer's and Parkinson's Diseases. Barcelona, Spain, March 9-13, 2011. *Neurodegener.Dis.* 2011, 8: Supp. 1, P1.
30. Burkhard P.R., Delavelle J., Du Pasquier R., Spahr L. *Chronic parkinsonism associated with cirrhosis. a distinct subset of acquired hepatocerebral degeneration*. *Arch.Neurol.* 2003, 60: 521-528.
31. Cabin D.E., Shimazu K., Murphy D., Cole N.B., Gottschalk W., McIlwain K.L., Orrison B., Chen A., Ellis C.E., Paylor R., Lu B., Nussbaum R.L. *Synaptic vesicle depletion correlates with attenuated synaptic responses to prolonged repetitive stimulation in mice lacking alpha-synuclein*. *J.Neurosci.* 2002, 22: 8797-8807.
32. Caparros-Lefebvre D., Elbaz A. *Possible relation of atypical parkinsonism in the French West Indies with consumption of tropical plants: a case-control study*. *Lancet* 1999, 354: 281-286.
33. Carta M., Carlsson T., Kirik D., Björklund A. *Dopamine released from 5-HT terminals is the cause of L-DOPA-induced dyskinesia in parkinsonian rats*. *Brain* 2007, 130: 1819-1833.
34. Carvey P.M., Chen E.Y., Lipton J.W., Tong C.W., Chang Q.A., Ling Z.D. *Intra-parenchymal injection of tumor necrosis factor-alpha and interleukin 1-beta produces dopamine neuron loss in the rat*. *J.Neural.Transm.* 2005, 112: 601-612.
35. Caudle W.M., Richardson J.R., Wang M.Z., Taylor T.N., Guillot T.S., McCormack A.L., Colebrooke R.E., Di Monte D.A., Emson P.C., Miller G.W. *Reduced vesicular storage of dopamine causes progressive nigrostriatal neurodegeneration*. *J.Neurosci.* 2007, 27: 8138-8148.
36. Cersósimo M.G., Perandones C., Micheli F.E., Raina G.B., Beron A.M., Nasswetter G., Radrizzani M., Benarroch E.E. *Alpha-synuclein immunoreactivity in minor salivary gland biopsies of Parkinson's disease patients*. *Mov.Disord.* 2011, 26: 188-190.
37. Cersosimo M.G., Benarroch E.E. *Autonomic involvement in Parkinson's disease: pathology, pathophysiology, clinical features and possible peripheral biomarkers*. *J.Neurol.Sci.* 2012, 313: 57-63.
38. Chandra S., Gallardo G., Fernandez-Chacon R., Schluter O.M., Sudhof T.C. *Alpha-synuclein cooperates with CSPalpha in preventing neurodegeneration*. *Cell* 2005, 123: 383-396.
39. Chaudhuri K.R. *Autonomic dysfunction in movement disorders*. *Curr.Opin.Neurol.* 2001, 14: 505-511.
40. Chaudhuri K.R., Martinez-Martin P., Schapira A.H., Stocchi F., Sethi K., Odin P., Brown R.G., Koller W., Barone P., MacPhee G., Kelly L., Rabey M., MacMahon D., Thomas S., Ondo W., Rye D., Forbes A., Tluk S., Dhawan V., Bowron A., Williams A.J., Olanow C.W. *International multicenter pilot study of the first comprehensive self-completed nonmotor symptoms questionnaire for Parkinson's disease: the NMSQuest study*. *Mov.Disord.* 2006, 21: 916-923.

41. Chen H., Zhang S.M., Schwarzschild M.A., Hernan M.A., Ascherio A. *Physical activity and the risk of Parkinson disease*. Neurology 2005, 64: 664-669.
42. Chen H., O'Reilly E.J., Schwarzschild M.A., Ascherio A. *Peripheral inflammatory biomarkers and risk of Parkinson's disease*. Am.J.Epidemiol. 2008, 167: 90-95.
43. Chen H., Huang X., Guo X., Mailman R.B., Park Y., Kamel F., Umbach D.M., Xu Q., Hollenbeck A., Schatzkin A., Blair A. *Smoking duration, intensity, and risk of Parkinson disease*. Neurology 2010, 74: 878-884.
44. Chen J., Song J., Yuan P., Tian Q., Ji Y., Ren-Patterson R., Liu G., Sei, Y., Weinberger D.R. *Orientation and cellular distribution of membrane-bound catechol-O-methyltransferase in cortical neurons: implications for drug development*. J.Biol.Chem. 2011, 286: 34752-34760.
45. Cheng F.C., Yang L.L., Lin S.K., Juang D.J., Chang W.H., Kuo J.S. *Determination of human plasma biogenic amines and their metabolites using liquid chromatography with a dual-channel electrochemical detector*. Zhonghua Yi Xue Za Zhi (Taipei). 1995, 55: 15-24.
46. Chong D.J., Suchowersky O., Szumlanski C., Weinshilboum R.M., Brant R., Campbell N.R. *The relationship between COMT genotype and the clinical effectiveness of tolcapone, a COMT inhibitor, in patients with Parkinson's disease*. Clin.Neuropharmacol. 2000, 23: 143-148.
47. Chopra S., Baby C., Jacob J.J. *Neuro-endocrine regulation of blood pressure*. Indian J.Endocrinol.Metab. 2011, 15: S281-S288.
48. Chou K.L., Koeppel R.A., Bohnen N.I. *Rhinorrhea: A common nondopaminergic feature of Parkinson's disease*. Mov.Disord. 2011, 26: 320-323.
49. Costa P., Checkoway H., Levy D., Smith-Weller T., Franklin G.M., Swanson P.D., Costa L.G. *Association of a polymorphism in intron 13 of the monoamine oxidase B gene with Parkinson disease*. Am.J.Med.Genet. 1997, 74: 154-156.
50. Costa-Mallen P., Checkoway H., Fishel M., Cohen A.W., Smith-Weller T., Franklin G.M., Swanson P.D., Costa L.G. *The EcoRV genetic polymorphism of human monoamine oxidase type A is not associated with Parkinson's disease and does not modify the effect of smoking on Parkinson's disease*. Neurosci.Lett. 2000, 278: 33-36.
51. Cui R.J., Roberts B.L., Zhao H., Zhu M., Appleyard S.M. *Serotonin activates catecholamine neurons in the solitary tract nucleus by increasing spontaneous glutamate inputs*. J.Neurosci. 2012, 32: 16530-16538.
52. Cummings L.J., Henchcliffe C., Schaefer S., Simuni T., Waxman A., Kemp P. *The role of dopaminergic imaging in patients with symptoms of dopaminergic system neurodegeneration*. Brain 2011, 134: 3146-3166.
53. Danielson S.R., Andersen J.K. *Oxidative and nitrative protein modifications in Parkinson's disease*. Free Radic.Biol.Med. 2008, 44: 1787-1794.
54. Danser A.H., Batenburg W.W., van Esch J.H., Krop M. *Prorenin anno 2008*. J.Mol.Med.(Berl.). 2008, 86: 655-658.
55. Das S.K., Misra A.K., Ray B.K., Hazra A., Ghosal M.K., Chaudhuri A., Roy T., Banerjee T.K., Raut D.K. *Epidemiology of Parkinson disease in the city of Kolkata, India: a community-based study*. Neurology 2010, 75: 1362-1369.
56. Datla K.P., Blunt S.B., Dexter D.T. *Chronic L-DOPA administration is not toxic to the remaining dopaminergic nigrostriatal neurons, but instead may promote their functional recovery, in rats with partial 6-OHDA or FeCl(3) nigrostriatal lesions*. Mov.Disord. 2001, 16: 424-344.
57. Daubner S. C., Le T., Wang S. *Tyrosine hydroxylase and regulation of dopamine synthesis*. Arch.Biochem.Biophys. 2011, 508: 1-12.
58. Dauer W., Przedborski S. *Parkinson's disease: mechanisms and models*. Neuron 2003, 39: 889-909.
59. Davidson D.F. *Phaeochromocytoma with normal urinary catecholamines: the potential value of urinary free metadrenalines*. Ann.Clin.Biochem. 2002, 39: 557-566.
60. Davidson D.F., Grosset K., Grosset D. *Parkinson's disease: the effect of L-dopa therapy on urinary free catecholamines and metabolites*. Ann.Clin.Biochem. 2007, 44: 364-368.
61. Dawson T.M., Dawson V.L. *Rare genetic mutations shed light on the pathogenesis of Parkinson disease*. J.Clin.Invest. 2003, 111: 145-151.

62. De Bonis M.L., Tessitore A., Pellecchia M.T., Longo K., Salvatore A., Russo A., Ingrosso D., Zappia V., Barone P., Galletti P., Tedeschi G. *Impaired transmethylation potential in Parkinson's disease patients treated with L-Dopa*. Neurosci.Lett. 2010, 468: 287-291.
63. Dickinson D., Elvevag, B. *Genes, cognition and brain through a COMT lens*. Neuroscience 2009, 164: 72-87.
64. Djamgoz M.B., Hankins M.W., Hirano J., Archer, S.N. *Neurobiology of retinal dopamine in relation to degenerative states of the tissue*. Vision Res. 1997, 37: 3509-3529.
65. Dorszewska J., Florczak J., Kozubski W. *Level of oxidative DNA damage and expression of apoptotic proteins in patients with Parkinson's disease treatment with L-dopa Parkinsonism*. XVIII WFN World Congress on Parkinson's Disease and Related Disorders. Relat.Disord. 2009, 15: S111.
66. Dorszewska J., Oczkowska A., Florczak-Wyspiańska J., Kozubski W. *Mutations of PARK genes and alpha-synuclein, and Parkin concentrations in Parkinson's disease*. Neurochemical Conference 2013. The Days of Neurochemistry "Emerging topics in neurological diseases: molecular mechanisms, diagnosis and therapy". Folia Neuropathol. 2013, 51: 385-386.
67. Dorszewska J., Prandecki M., Oczkowska A., Rozycka A., Lianeri M., Kozubski W. *Polymorphism of the COMT, MAO, DAT, NET and 5-HTT genes, and biogenic amines in Parkinson's disease*. Curr.Genomics 2013, 14: 518-533.
68. Dorszewska J., Prandecki M., Lianeri M., Kozubski W. *Molecular effects of L-dopa therapy in Parkinson's disease*. Curr.Genomics 2014, 15: 11-17.
69. Double K.L., Rowe D.B., Hayes M., Chan D.K., Blackie J., Corbett A., Joffe R., Fung V.S., Morris J., Halliday G.M. *Identifying the pattern of olfactory deficits in Parkinson disease using the brief smell identification test*. Arch.Neurol. 2003, 60: 545-549.
70. Driver J.A., Logroscino G., Gaziano J.M., Kurth T. *Incidence and remaining lifetime risk of Parkinson disease in advanced age*. Neurology 2009, 72: 432-438.
71. Dye R.V., Miller K.J., Singer E.J., Levine A.J. *Hormone replacement therapy and risk for neurodegenerative diseases*. Int.J.Alzheimers Dis. 2012, 54: 1-18.
72. Edwards A.V., Jones C.T. *Autonomic control of adrenal function*. J.Anat. 1993, 183: 291-307.
73. Ehringer H., Hornykiewicz, O. *Distribution of noradrenaline and dopamine (3-hydroxytyramine) in the human brain and their behavior in diseases of the extrapyramidal system*. Klin.Wochenschr. 1960, 38: 1236-1239.
74. Eisenhofer G., Kopin I.J., Goldstein D.S. *Catecholamine metabolism: a contemporary view with implications for physiology and medicine*. Pharmacol.Rev. 2004, 56: 331-349.
75. Elliott T.R. *The action of adrenalin*. J.Physiol. 1905, 32: 401-467.
76. Even C., Weintraub D. *Is depression in Parkinson's disease (PD) a specific entity?* J. Affec.Disord. 2012, 139: 103-112.
77. Ebadi M., Govitrapong P., Sharma S., Muralikrishnan D., Shavali S., Pellett L., Schafer R., Albano C., Eken J. *Ubiquinone (coenzyme q10) and mitochondria in oxidative stress of parkinson's disease*. Biol.Signals.Recept. 2001, 10: 224-253.
78. Fahn S., Snider S., Prasad A.L., Lane E., Makadon H. *Normalization of brain serotonin by L-tryptophan in levodopa-treated rats*. Neurology 1975, 25: 861-865.
79. Fahn S. *Is levodopa toxic?* Neurology 1996, 47: S184-S195.
80. Fahn S., Oakes D., Shoulson I., Kieburtz K., Rudolph A., Lang A., Olanow C.W., Tanner C., Marek K., Parkinson Study Group. *Levodopa and the progression of Parkinson's disease*. N.Engl.J.Med. 2004, 351: 2498-2508.
81. Farrell S.M., Tunbridge E.M., Braeutigam S., Harrison P.J. *COMT Val(158)Met genotype determines the direction of cognitive effects produced by catechol-O-methyltransferase inhibition*. Biol.Psychiatry 2012, 71: 538-544.
82. Fiszer U. *Omdlenia w chorobach układu pozapiramidowego – diagnostyka i terapia*. Przew.Lek. 2003, 6: 100-103.
83. Fridman A. *Choroba Parkinsona: mechanizmy, rozpoznanie, leczenie*, pod red. A. Friedmana, Lublin, Wydaw. Czelej, 2005.
84. Friedman J.H., Amick M.M., Chou K.L. *Rhinorrhea and olfaction in Parkinson's disease*. Neurology 2008, 70: 487-489.
85. Friedman J.H., Amick M.M. *Rhinorrhea is increased in Parkinson's disease*. Mov.Disord. 2008, 23: 452-454.

86. Fuder H., Ries P., Schwarz P. *Histamine and serotonin released from the rat perfused heart by compound 48/80 or by allergen challenge influence noradrenaline or acetylcholine exocytotic release.* *Fundam.Clin.Pharmacol.* 1994, 8: 477-490.
87. Funke B., Malhotra A.K., Finn C.T., Plocik A.M., Lake S.L., Lencz T., DeRosse P., Kane J.M., Kucherlapati R. *COMT genetic variation confers risk for psychotic and affective disorders: a case control study.* *Behav.Brain.Funct.* 2005, 1: 19.
88. Gainetdinov R.R., Caron M.G. *Monoamine transporters: from genes to behavior.* *Annu.Rev. Pharmacol.Toxicol.* 2003, 43: 261-284.
89. Gallagher C.L., Oakes T.R., Johnson S.C., Chung M.K., Holden J.E., Bendlin B.B., McLaren D.G., Xu G., Nickles R.J., Pyzalski R., DeJesus O., Brown W.D. *Rate of 6-[18F]fluorodopa uptake decline in striatal subregions in Parkinson's disease.* *Mov.Disord.* 2011, 26: 614-620.
90. Galvin J.E., Lee V.M., Trojanowski J.Q. *Synucleinopathies.* *Arch.Neurol.* 2001, 58: 186-190.
91. Gardener H., Gao X., Chen H., Schwarzschild M.A., Spiegelman D., Ascherio A. *Prenatal and early life factors and risk of Parkinson's disease.* *Mov.Disord.* 2010, 25: 1560-1567.
92. Garland E.M., Gamboa A., Okamoto L., Raj S.R., Black B.K., Davis T.L., Biaggioni I., Robertson D. *Renal impairment of pure autonomic failure.* *Hypertension* 2009, 54: 1057-1061.
93. Garrick N.A., Murphy D.L. *Species differences in the deamination of dopamine and other substrates for monoamine oxidase in brain.* *Psychopharmacology (Berl).* 1980, 72: 27-33.
94. Gasser T. *Genetics of Parkinson's disease.* *Curr.Opin.Neurol.* 2005, 18: 363-369.
95. Gibb W.R., Lees A.J. *Anatomy, pigmentation, ventral and dorsal subpopulations of the substantia nigra, and differential cell death in Parkinson's disease.* *J.Neurol.Neurosurg.Psychiatry* 1991, 54: 388-396.
96. Goldstein D.S., Holmes C., Li S.T., Bruce S., Metman L.V., Cannon R.O. *Cardiac sympathetic denervation in Parkinson disease.* *Ann.Intern.Med.* 2000, 133: 338-347.
97. Goldstein D.S., Holmes C.S., Dendi R., Bruce S.R., Li S.T. *Orthostatic hypotension from sympathetic denervation in Parkinson's disease.* *Neurology* 2002, 58: 1247-1255.
98. Goldstein D.S., Pechnik S., Holmes C., Eldadah B., Sharabi Y. *Association between supine hypertension and orthostatic hypotension in autonomic failure.* *Hypertension* 2003, 42: 136-142.
99. Goldstein D.S., Holmes C., Sharabi Y., Brentzel S., Eisenhofer G. *Plasma levels of catechols and metanephrines in neurogenic orthostatic hypotension.* *Neurology* 2003, 60: 1327-1332.
100. Goldstein D.S., Eisenhofer G., Kopin I.J. *Clinical catecholamine neurochemistry: a legacy of Julius Axelrod.* *Cell Mol.Neurobiol.* 2006, 26: 695-702.
101. Goldstein D.S. *Orthostatic hypotension as an early finding in Parkinson's disease.* *Clin.Auton.Res.* 2006, 16: 46-54.
102. Goldstein D.S., Sharabi Y. *Neurogenic orthostatic hypotension: a pathophysiological approach.* *Circulation* 2009, 119: 139-146.
103. Goldstein D.S. *Catecholamines 101.* *Clin.Auton.Res.* 2010, 20: 331-352.
104. Gorell J.M., Johnson C.C., Rybicki B.A., Peterson E.L., Kortsha G.X., Brown G.G., Richardson R.J. *Occupational exposure to manganese, copper, lead, iron, mercury and zinc and the risk of Parkinson's disease.* *Neurotoxicology* 1999, 20: 239-247.
105. Gorell, J.M., Johnson, C.C., Rybicki, B.A. *Parkinson's disease and its comorbid disorders: an analysis of Michigan mortality data, 1970 to 1990.* *Neurology* 1994, 44: 87-92.
106. Gotz M.E., Fischer P., Gsell W., Riederer P., Streifler M., Simanyi M., Müller F., Danielczyk W. *Platelet monoamine oxidase B activity in dementia. A 4-year follow-up.* *Dement.Geriatr.Cogn.Disord.* 1998, 9: 74-77.
107. Greffard S., Verny M., Bonnet A.M., Beinis J.Y., Gallinari C., Meaume S., Piette F., Hauw J.J., Duyckaerts C. *Motor score of the united Parkinson disease rating scale as a good predictor of Lewy body-associated neuronal loss in the substantia nigra.* *Arch.Neurol.* 2006, 63: 584-588.
108. Gulati A., Forbes A., Stegie F., Kelly L., Clough C., Chaudhuri K.R. *A clinical observational study of the pattern and occurrence of non-motor symptoms in Parkinson's disease ranging from early to advanced disease.* *Mov.Disord.* 2004, 19: S406.
109. Guzey C., Allard P., Brännström T., Spigset O. *Radioligand binding to brain dopamine and serotonin receptors and transporters in Parkinson's disease: relation to gene polymorphisms.* *Int.J.Neurosci.* 2012, 122: 124-132.

110. Guzik P., Bychowiec B., Gielerak G., Greberski K., Goncerzewicz Z., Wykretowicz A., Wysocki A. *Wpływ norepinefryny na zmiany hemodynamiczne rejestrowane w warunkach stresu ortostatycznego (Norepinephrine and hemodynamic changes during orthostatic challenge)*. *Folia Cardiol.* 2005, 12: 117-123.
111. Haggerty T., Credle J., Rodriguez O., Wills J., Oaks A.W., Masliah E., Sidhu A. *Hyperphosphorylated Tau in an α -synuclein overexpressing transgenic model of Parkinson's disease*. *Eur.J.Neurosci.* 2011, 33: 1598-1610.
112. Hamza T.H., Zabetian C.P., Tenesa A., Laederach A., Montimurro J., Yearout D., Kay D.M., Doheny K.F., Paschall J., Pugh E., Kusel V.I., Collura R., Roberts J., Griffith A., Samii A., Scott W.K., Nutt J., Factor S.A., Payami H. *Common genetic variation in the HLA region is associated with late-onset sporadic Parkinson's disease*. *Nat.Genet.* 2010, 42: 781-785.
113. Haque M.E., Thomas K.J., D'Souza C., Callaghan S., Kitada T., Slack R.S., Fraser P., Cookson M.R., Tandon A., Park D.S. *Cytoplasmic Pink1 activity protects neurons from dopaminergic neurotoxin MPTP*. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 2008, 105: 1716-1721.
114. Hardy J. *Dementia with Lewy bodies and Parkinson's disease are one disorder*. *Moving.Along.* 2003, 5: 4.
115. Hardy J. *Genetic analysis of pathways to Parkinson disease*. *Neuron* 2010, 68: 201-206.
116. Hastings T.G., Lewis D.A., Zigmond M.J. *Role of oxidation in the neurotoxic effects of intrastriatal dopamine injections*. *Proc.Natl.Acad.Sci. U.S.A* 1996, 93: 1956-1961.
117. Heneka M.T., Gavrilyuk V., Landreth G.E., O'Banion M.K., Weinberg G., Feinstein D.L. *Noradrenergic depletion increases inflammatory responses in brain: effects on IkappaB and HSP70 expression*. *J.Neurochem.* 2003, 85: 387-398.
118. Hermanowicz N. *Drug therapy for Parkinson's disease*. *Semin.Neurol.* 2007, 27: 97-105.
119. Hernan M.A., Checkoway H., O'Brien R., Costa-Mallen, P., De Vivo I., Colditz G.A., Hunter D.J., Kelsey K.T., Ascherio A. *MAOB intron 13 and COMT codon 158 polymorphisms, cigarette smoking, and the risk of PD*. *Neurology* 2002, 58: 1381-1387.
120. Hesse S., Meyer P.M., Strecker K., Barthel H., Wegner F., Oehlwein C., Isaias I.U., Schwarz J., Sabri O. *Monoamine transporter availability in Parkinson's disease patients with or without depression*. *Eur J.Nucl.Med.Mol.Imaging* 2009, 36: 428-435.
121. Hinz M., Stein A., Uncini T. *Amino acid management of Parkinson's disease: a case study*. *Int.J.Gen.Med.* 2011, 4: 165-174.
122. Hirano S., Shinotoh H., Eidelberg D. *Functional brain imaging of cognitive dysfunction in Parkinson's disease*. *J.Neurol.Neurosurg.Psychiatry* 2012, 83: 963-969.
123. Ho S.L., Kapadi A.L., Ramsden D.B., Williams A.C. *An allelic association study of monoamine oxidase B in Parkinson's disease*. *Ann.Neurol.* 1995, 37: 403-405.
124. Hoehn M.M., Yahr M.D. *Parkinsonism: onset, progression and mortality*. *Neurology* 1967, 17: 427-442.
125. Hoehn M.M. *The natural history of Parkinson's disease in the prelevodopa and post-levodopa eras*. *Neurol.Clin.* 1992, 10: 331-339.
126. Hollingworth S.A., Rush A., Hall W.D., Eadie M.J. *Utilization of anti-Parkinson drugs in Australia: 1995-2009*. *Pharmacoepidemiol.Drug.Saf.* 2011, 20: 450-456.
127. Holloway R.G., Shoulson I., Fahn S., Kieburtz K., Lang A., Marek K., McDermott M., Seibyl J., Weiner W., Musch B., Kamp C., Welsh M., Shinaman A., Pahwa R., Barclay L., Hubble J., LeWitt P., Miyasaki J., Suchowersky O., Stacy M., Russell D.S., Ford B., Hammerstad J., Riley D., Standaert D., Wooten F., Factor S., Jankovic J., Atassi F., Kurlan R., Panisset M., Rajput A., Rodnitzky R., Shults C., Petsinger G., Waters C., Pfeiffer R., Biglan K., Borchert L., Montgomery A., Sutherland L., Weeks C., DeAngelis M., Sime E., Wood S., Pantella C., Harrigan M., Fussell B., Dillon S., Alexander-Brown B., Rainey P., Tennis M., Rost-Ruffner E., Brown D., Evans S., Berry D., Hall J., Shirley T., Dobson J., Fontaine D., Pfeiffer B., Brocht A., Bennett S., Daigneault S., Hodgeman K., O'Connell C., Ross T., Richard K., Watts A., Parkinson Study Group. *Pramipexole vs levodopa as initial treatment for Parkinson disease: a 4-year randomized controlled trial*. *Arch.Neurol.* 2004, 61: 1044-1053.
128. Horjales-Araujo E., Demontis D., Lund E.K., Vase L., Finnerup N.B., Borglum A.D., Jensen T.S., Svensson P. *Emotional modulation of muscle pain is associated with polymorphisms in the serotonin transporter gene*. *Pain* 2013, 154: 1469-1476.

129. Hotamisligil G.S., Breakefield X.O. *Human monoamine oxidase A gene determines levels of enzyme activity*. Am.J.Hum.Genet. 1991, 49: 383-392.
130. Hotamisligil G.S., Girmen A.S., Fink J.S., Tivol E., Shalish C., Trofatter J., Baenziger J., Diamond S., Markham C., Sullivan J. *Hereditary variations in monoamine oxidase as a risk factor for Parkinson's disease*. Mov.Disord. 1994, 9: 305-310.
131. Hu G., Jousilahti P., Nissinen A., Antikainen R., Kivipelto M., Tuomilehto J. *Body mass index and the risk of Parkinson disease*. Neurology 2006, 67: 1955-1959.
132. Huang X., Chen P., Kaufer D.I., Troster A.I., Poole C. *Apolipoprotein E and dementia in Parkinson disease*. Arch.Neurol. 2006, 63: 189-193.
133. Huang L.Z., Grady S.R., Quik M. *Nicotine reduces L-DOPA-induced dyskinesias by acting at beta2* nicotinic receptors*. J.Pharmacol.Exp.Ther. 2011, 338: 932-941.
134. Hughes A.J., Daniel S.E., Kilford L., Lees A.J. *Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson's disease: a clinico-pathological study of 100 cases*. J.Neurol.Neurosurg.Psychiatry 1992, 55: 181-184.
135. Hurst J.H., LeWitt P.A., Burns R.S., Foster N.L. Lovenberg W. *CSF dopamine-β-hydroxylase activity in Parkinson's disease*. Neurology 1985, 35: 565-568.
136. Ikemura M., Saito Y., Sengoku R., Sakiyama Y., Hatsuta H., Kanemaru K., Sawabe M., Arai T., Ito G., Iwatsubo T., Fukayama M., Murayama S. *Lewy body pathology involves cutaneous nerves*. J.Neuropathol.Exp.Neurol. 2008, 67: 945-953.
137. Ikeuchi T., Kakita A., Shiga A., Kasuga K., Kaneko H., Tan C.F., Idezuka J., Wakabayashi K., Onodera O., Iwatsubo T., Nishizawa M., Takahashi H., Ishikawa A. *Patients homozygous and heterozygous for SNCA duplication in a family with parkinsonism and dementia*. Arch.Neurol. 2008, 65: 514-519.
138. Iwanaga K., Wakabayashi K., Yoshimoto M., Tomita I., Satoh H., Takashima H., Satoh A., Seto M., Tsujihata M., Takahashi H. *Lewy body-type degeneration in cardiac plexus in Parkinson's and incidental Lewy body diseases*. Neurology 1999, 52: 1269-1271.
139. Jabłeczka A. *Wpływ procesu starzenia się układu autonomicznego na przebieg najczęstszych chorób układu krążenia. (The influence of aging of autonomic system on the course of most common cardiovascular diseases)*. Ann.Acad.Med.Siles. 2009, 63: 60-66.
140. Jankovic J., Rajput A.H., McDermott M.P., Perl D.P. *The evolution of diagnosis in early Parkinson disease*. Parkinson Study Group. Arch.Neurol. 2000, 57: 369-372.
141. Jankovic J., Aguilar L.G. *Current approaches to the treatment of Parkinson's disease*. Neuropsychiatr.Dis.Treat. 2008, 4: 743-757.
142. Januszewicz W., Wocial B. *Katecholaminy a aktywność reninowa osocza w nadciśnieniu naczyniowo-nerkowym*. Kard.Pol. 1973, 16: 279-288.
143. Januszewicz A., Januszewicz W., Jarząb B., Więcek A. *Wytyczne dotyczące diagnostyki i leczenia chorych z guzem chromochłonnym*. Nadciśnienie tętnicze 2006, 10: 1.
144. Jellinger K.A., Seppi K., Wenning G.K., Poewe W. *Impact of coexistent Alzheimer pathology on the natural history of Parkinson's disease*. J.Neural.Transm. 2002, 109: 329-339.
145. Jellinger K.A. *Neuropathological spectrum of synucleinopathies*. Mov.Disord. 2003, 18: Suppl 6, 2S-12S.
146. Jenner P., Sheehy M., Marsden C.D. *Noradrenaline and 5-hydroxytryptamine modulation of brain dopamine function: implications for the treatment of Parkinson's disease*. Br.J.Clin.Pharmacol. 1983, 15: Suppl 2, 277S-289S.
147. Jenner P. *Pathophysiology and biochemistry of dyskinesia: Clues for the development of non-dopaminergic treatments*. J.Neurol. 2000, 247: Suppl 2, 43S-50S.
148. Jeske N.A., Berg K.A., Cousins J.C., Ferro E.S., Clarke W.P., Glucksman M.J., Roberts J.L. *Modulation of bradykinin signaling by EP24.15 and EP24.16 in cultured trigeminal ganglia*. J.Neurochem. 2006, 97: 13-21.
149. Jesse S., Steinacker P., Lehnert S., Gillardon F., Hengerer B., Otto M. *Neurochemical approaches in the laboratory diagnosis of Parkinson and Parkinson dementia syndromes: a review*. CNS Neurosci.Ther. 2009, 15: 157-182.
150. Johnson S.J., Diener M.D., Kaltenboeck A., Birnbaum H.G., Siderowf A.D. *An economic model of Parkinson's disease: implications for slowing progression in the United States*. Mov.Disord. 2013, 28: 319-326.

151. Jonsson E.G., Nothen M.M., Gustavsson J.P., Neidt H., Bunzel R., Propping P., Sedvall G.C. *Polymorphisms in the dopamine, serotonin, and norepinephrine transporter genes and their relationships to monoamine metabolite concentrations in CSF of healthy volunteers*. *Psychiatry Res.* 1998, 79: 1-9.
152. Kalbitzer J., Deserno L., Schlagenhaut F., Beck A., Mell T., Bahr G., Buchholz H.G., Plotkin M., Buchert R., Kumakura Y., Cumming P., Heinz A., Rapp M.A. *Decline in prefrontal catecholamine synthesis explains age-related changes in cognitive speed beyond regional grey matter atrophy*. *Eur.J. Nucl.Med.Mol.Imaging.* 2012, 39: 1462-1466.
153. Keane P.C., Kurzawa M., Blain P.G., Morris C.M. *Mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease*. *Parkins.Dis.* 2011, 15: 1-18.
154. Kenangil G., Ozekmekçi S., Sohtaoglu M., Erginöz E. *Compulsive behaviors in patients with Parkinson's disease*. *Neurologist* 2010, 16: 192-195.
155. Kienzl E., Puchinger L., Jellinger K., Linert W., Stachelberger H., Jameson R.F. *The role of transition metals in the pathogenesis of Parkinson's disease*. *J.Neurol.Sci.* 1995, 134: Suppl, 69S-78S.
156. Kimura M., Matsushita S., Arai H., Takeda A., Higuchi S. *No evidence of association between a dopamine transporter gene polymorphism (1215A/G) and Parkinson's disease*. *Ann.Neurol.* 2001, 49: 276-277.
157. Kish S.J., Tong J., Hornykiewicz O., Rajput A., Chang L.J., Guttman M., Furukawa Y. *Preferential loss of serotonin markers in caudate versus putamen in Parkinson's disease*. *Brain* 2008, 131: 120-131.
158. Kiyohara C., Miyake Y., Koyanagi M., Fujimoto T., Shirasawa S., Tanaka K., Fukushima W., Sasaki S., Tsuboi Y., Yamada T., Oeda T., Shimada H., Kawamura N., Sakae N., Fukuyama H., Hirota Y., Nagai M., Fukuoka Kinki Parkinson's Disease Study Group. *Genetic polymorphisms involved in dopaminergic neurotransmission and risk for Parkinson's disease in a Japanese population*. *BMC Neurol.* 2011, 25: 11: 89.
159. Kleiner-Fisman G., Fisman D.N., Kahn F.I., Sime E., Lozano A.M., Lang A.E. *Motor cortical stimulation for parkinsonism in multiple system atrophy*. *Arch.Neurol.* 2003, 60: 1554-1558.
160. Kohan D.E., Rossi N.F., Inscho E.W., Pollock D.M. *Regulation of blood pressure and salt homeostasis by endothelin*. *Physiol.Rev.* 2011, 91: 1-77.
161. Kondo M., Ueda Y., Makino M., Nakajima K. *Worsened orthostatic hypotension due to levodopa administration in a case of Parkinson's disease*. *Nihon Ronen Igakkai Zasshi* 2000, 37: 255-258.
162. Konradi C., Kornhuber J., Froelich L., Fritze J., Heinsen H., Beckmann H., Schulz E., Riederer P. *Demonstration of monoamine oxidase-A and -B in the human brainstem by a histochemical technique*. *Neuroscience* 1989, 33: 383-400.
163. Kosenko E., Kaminsky Y., Kaminsky A., Valencia M., Lee L., Hermenegildo C., Felipe V. *Superoxide production and antioxidant enzymes in ammonia intoxication in rats*. *Free Radic.Res.* 1997, 27: 637-644.
164. Krüger R., Kuhn W., Müller T., Woitalla D., Graeber M., Kösel S., Przuntek H., Epplen J.T., Schöls L., Riess O. *Ala30Pro mutation in the gene encoding alpha-synuclein in Parkinson's disease*. *Nat.Genet.* 1998, 18: 106-108.
165. Kubaszek A. *Podłoże genetyczne nadciśnienia tętniczego: geny – kandydaci*. www.kardiolog.pl; pozyskano 10.03.2010.
166. Kulisevsky J. *Role of dopamine in learning and memory: implications for the treatment of cognitive dysfunction in patients with Parkinson's disease*. *Drugs Aging* 2000, 16: 365-379.
167. Kulisevsky J., Pagonabarraga J., Pascual-Sedano B., Gironell A., García-Sánchez C., Martínez-Corral M. *Motor changes during sertraline treatment in depressed patients with Parkinson's disease*. *Eur.J.Neurol.* 2008, 15: 953-959.
168. Kunugi H., Nanko S., Ueki A., Otsuka E., Hattori M., Hoda F., Vallada H.P., Arranz M.J., Collier D.A. *High and low activity alleles of catechol-O-methyltransferase gene: ethnic difference and possible association with Parkinson's disease*. *Neurosci.Lett.* 1997, 221: 202-204.
169. Kurth J.H., Kurth M.C., Poduslo S.E., Schwankhaus J.D. *Association of a monoamine oxidase B allele with Parkinson's disease*. *Ann.Neurol.* 1993, 33: 368-372.
170. Lang A.E., Lozano A.M. *Parkinson's disease*. *N.Engl.J.Med.* 1998, 339: 1044-1053.

171. Larsen J.P., Worm-Petersen J., Sidén A., Gordin A., Reinikainen K., Leinonen M., NOMESAFE Study Group. *The tolerability and efficacy of entacapone over 3 years in patients with Parkinson's disease*. Eur.J.Neurol. 2003, 10: 137-146.
172. Lebouvier T., Neunlist M., Bruley des Varannes S., Coron E., Drouard A., N'Guyen J.M., Chaumette T., Tasselli M., Paillusson S., Flamand M., Galmiche J.P., Damier P., Derkinderen P. *Colonic biopsies to assess the neuropathology of Parkinson's disease and its relationship with symptoms*. PLoS One 2010, 5: e12728.
173. Lee J.Y., Cho J., Lee E.K., Park S.S., Jeon B.S. *Differential genetic susceptibility in diphasic and peak-dose dyskinesias in Parkinson's disease*. Mov.Disord. 2011, 26: 73-79.
174. Lee M.S., Lyoo C.H., Ulmanen I., Syvänen A.C., Rinne J.O. *Genotypes of catechol-O-methyltransferase and response to levodopa treatment in patients with Parkinson's disease*. Neurosci.Lett. 2001, 298: 131-134.
175. Lee M.S., Kim H.S., Cho E.K., Lim J.H., Rinne J.O. *COMT genotype and effectiveness of entacapone in patients with fluctuating Parkinson's disease*. Neurology 2002, 58: 564-567.
176. Lees A.J., Katzenschlager R., Head J., Ben-Shlomo Y. *Ten-year follow-up of three different initial treatments in de-novo PD: a randomized trial*. Neurology 2001, 57: 1687-1694.
177. Lees A.J. *Dementia with Lewy bodies and Parkinson's disease are two disorders*. Moving Along 2003, 5: 5.
178. Legedz L., Bricca G., Lantelme P., Rial M.O., Champomier P., Vincent M., Milon H. *Insulin resistance and plasma triglyceride level are differently related to cardiac hypertrophy and arterial stiffening in hypertensive subjects*. Vasc.Health.Risk.Manag. 2006, 2: 485-490.
179. Lenders J.W., Eisenhofer G., Mannelli M., Pacak K. *Phaeochromocytoma*. Lancet 2005, 366: 665-675.
180. Levine C.B., Fahrbach K.R., Siderowf A.D., Estok R.P., Ludensky V.M., Ross S.D. *Diagnosis and treatment of Parkinson's disease: a systematic review of the literature*. Evid.Rep.Technol.Assess (Summ) 2003, 57: 1-4.
181. Levy G. *The relationship of Parkinson disease with aging*. Arch.Neurol. 2007, 64: 1242-1246.
182. *Neurologia Meritta*, Rowland L.P., Pedley T.A., pod red. pol. H. Kwiecińskiego, A.M. Kamińskiej, Wrocław, Wydaw. U&P., 2004.
183. Lewis P.A., Cookson M.R. *Gene expression in the Parkinson's disease brain*. Brain.Res.Bull. 2012, 88: 302-312.
184. Li J., Kang C., Zhang H., Wang Y., Zhou R., Wang B., Guan L., Yang L., Faraone S.V. *Monoamine oxidase A gene polymorphism predicts adolescent outcome of attention-deficit/hyperactivity disorder*. Am.J.Med.Genet.B.Neuropsychiatr.Genet. 2007, 144B: 430-433.
185. Lin C.N., Liu H.C., Tsai S.J., Liu T.Y., Hong, C.J. *Association study for Parkinson's disease and a dopamine transporter gene polymorphism (1215A/G)*. Eur.Neurol. 2002, 48: 207-209.
186. Litvan I. *Parkinsonism-Dementia Syndromes*. In *Parkinson's disease and movement disorders*. pod red. Litvan I., Baltimore, Wydaw. Williams & Wilkins, 1998.
187. Litvan I. *Recent advances in atypical parkinsonian disorders*. Curr.Opin.Neurol. 1999, 12: 441-446.
188. Litvan I., Bhatia K.P., Burn D.J., Goetz C.G., Lang A.E., McKeith I., Quinn N., Sethi K.D., Shults C., Wenning G.K. *Movement Disorders Society Scientific Issues Committee. Movement Disorders Society Scientific Issues Committee report: SIC Task Force appraisal of clinical diagnostic criteria for Parkinsonian disorders*. Mov.Disord. 2003, 18: 467-486.
189. Liu Q., Xie F., Alvarado-Diaz A., Smith M.A., Moreira P.I., Zhu X., Perry G. *Neurofilamentopathy in neurodegenerative diseases*. Open.Neurol.J. 2011, 5: 58-62.
190. Logroscino G. *The role of early life environmental risk factors in Parkinson disease: what is the evidence?* Environ.Health.Perspect 2005, 113: 1234-1238.
191. Logroscino G., Sesso H.D., Paffenbarger R.S. Jr., Lee I.M. *Physical activity and risk of Parkinson's disease: a prospective cohort study*. J.Neurol.Neurosurg.Psychiatry 2006, 77: 1318-1322.
192. Lotta T., Vidgren J., Tilgmann C., Ulmanen I., Melén K., Julkunen I., Taskinen J. *Kinetics of human soluble and membrane-bound catechol O-methyltransferase: a revised mechanism and description of the thermolabile variant of the enzyme*. Biochemistry 1995, 34: 4202-4210.
193. Lucking C.B., Dürr A., Bonifati V., Vaughan J., De Michele G., Gasser T., Harhangi B.S., Meco G., Denèfle P., Wood N.W., Agid Y., Brice A. *French Parkinson's Disease Genetics Study Group*,

- European Consortium on Genetic Susceptibility in Parkinson's Disease. *Association between early-onset Parkinson's disease and mutations in the parkin gene*. N.Engl.J.Med. 2000, 342: 1560-1567.
194. Machado A., Herrera A.J., Venero J.L., Santiago M., de Pablos R.M., Villarán R.F., Espinosa-Oliva A.M., Argüelles S., Sarmiento M., Delgado-Cortés M.J., Mauriño R., Cano J. *Inflammatory animal model for Parkinson's disease: the intranigral injection of LPS induced the inflammatory process along with the selective degeneration of nigrostriatal dopaminergic neurons*. ISRN Neurol. 2011, 2011:476158.
195. Mancía G., De Backer G., Dominiczak A., Cifkova R., Fagard R., Germano G., Grassi G., Heagerty A.M., Kjeldsen S.E., Laurent S., Narkiewicz K., Ruilope L., Rynkiewicz A., Schmieder R.E., Boudier H.A., Zanchetti A. *2007 ESH-ESC Practice guidelines for the management of arterial hypertension: ESH-ESC task force on the management of arterial hypertension*. J.Hypertens. 2007, 25: 1751-1762.
196. Marien M.R., Colpaert F.C., Rosenquist A.C. *Noradrenergic mechanisms in neurodegenerative diseases: a theory*. Brain Res.Brain Res.Rev. 2004, 45: 38-78.
197. Marini P., Ramat S., Ginestroni A., Paganini M. *Deficit of short-term memory in newly diagnosed untreated parkinsonian patients: reversal after L-dopa therapy*. Neurol.Sci. 2003, 24: 184-185.
198. Marshall J., Schnieden H. *Effect of adrenaline, noradrenaline, atropine, and nicotine on some types of human tremor*. J.Neurol.Neurosurg.Psychiatry 1966, 29: 214-218.
199. Masserano J.M., Gong L., Kulaga H., Baker I., Wvatt R.J. *Dopamine induces apoptotic cell death of a catecholaminergic cell line derived from the central nervous system*. Mol.Pharmacol. 1996, 50: 1309-1315.
200. Matsumine H., Hattori N., Mizuno Y. *Autosomal recessive juvenile Parkinsonism (AR-JP): genetic diagnosis*. Methods.Mol.Med. 2001, 62: 13-29.
201. McKeith I., Mintzer J., Aarsland D., Burn D., Chiu H., Cohen-Mansfield J., Dickson D., Dubois B., Duda J.E., Feldman H., Gauthier S., Halliday G., Lawlor B., Lippa C., Lopez O.L., Carlos Machado J., O'Brien J., Playfer J., Reid W. International Psychogeriatric Association Expert Meeting on DLB. *Dementia with Lewy bodies*. Lancet.Neurol. 2004, 3: 19-28.
202. McLeod H.L., Syvänen A.C., Githang'a J., Indalo A., Ismail D., Dewar K., Ulmanen I., Sludden J. *Ethnic differences in catechol O-methyltransferase pharmacogenetics: frequency of the codon 108/158 low activity allele is lower in Kenyan than Caucasian or South-west Asian individuals*. Pharmacogenetics 1998, 8: 195-199.
203. McMillan P.J., White S.S., Franklin A., Greenup J.L., Leverenz J.B., Raskind M.A., Szot P. *Differential response of the central noradrenergic nervous system to the loss of locus coeruleus neurons in Parkinson's disease and Alzheimer's disease*. Brain Res. 2011, 1373: 240-252.
204. Meireles J., Massano J. *Cognitive impairment and dementia in Parkinson's disease: clinical features, diagnosis and management*. Front.Neurol. 2012, 3: 88.
205. Mellick G.D., Buchanan D.D., McCann S.J., James K.M., Johnson A.G., Davis D.R., Liyou N., Chan D., Le Couteur D.G. *Variations in the monoamine oxidase B (MAOB) gene are associated with Parkinson's disease*. Mov.Disord. 1999, 14: 219-224.
206. Mena M.A., Pardo B., Paino C.L., De Yebenes J.G. *Levodopa toxicity in foetal rat midbrain neurones in culture: Modulation by ascorbic acid*. Neuroreport 1993, 4: 438-440.
207. Miki Y., Tomiyama M., Ueno T., Haga R., Nishijima H., Suzuki C., Mori F., Kaimori M., Baba M., Wakabayashi K. *Clinical availability of skin biopsy in the diagnosis of Parkinson's disease*. Neurosci.Lett. 2010, 469: 357-359.
208. Miller N., Noble E., Jones D., Burn D. *Hard to swallow: dysphagia in Parkinson's disease*. Age Ageing 2006, 35: 614-618.
209. Ming Q.S., Zhang Y., Chai Q.L., Chen H.Y., Hou C.J., Wang M.C., Wang Y.P., Cai L., Zhu X.Z., Yi J.Y., Yao S.Q. *Interaction between a serotonin transporter gene promoter region polymorphism and stress predicts depressive symptoms in Chinese adolescents: a multi-wave longitudinal study*. BMC Psychiatry 2013, 13: 142.
210. Mogi M., Harada M., Kondo T., Riederer P., Inagaki H., Minami M., Nagatsu T. *Interleukin-1 beta, interleukin-6, epidermal growth factor and transforming growth factor-alpha are elevated in the brain from parkinsonian patients*. Neurosci.Lett. 1994, 180: 147-150.
211. Mogi M., Kondo T., Mizuno Y., Nagatsu T. *p53 protein, interferon-gamma, and NF-kappaB levels are elevated in the parkinsonian brain*. Neurosci.Lett. 2007, 414: 94-97.

212. Mogi M., Harada M., Riederer P., Narabayashi H., Fujita K., Nagatsu T. *Tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) increases both in the brain and in the cerebrospinal fluid from parkinsonian patients.* Neurosci.Lett. 1994, 165: 208-210.
213. Morimoto Y., Murayama N., Kuwano A., Kondo I., Yamashita Y., Mizuno Y. *Association analysis of a polymorphism of the monoamine oxidase B gene with Parkinson's disease in a Japanese population.* Am.J.Med.Genet. 1995, 60: 570-572.
214. Morino H., Kawarai T., Izumi Y., Kazuta T., Oda M., Komure O., Udaka F., Kameyama M., Nakamura S., Kawakami H. *A single nucleotide polymorphism of dopamine transporter gene is associated with Parkinson's disease.* Ann.Neurol. 2000, 47: 528-531.
215. Murai T., Muller U., Werheid K., Sorger D., Reuter M., Becker T., von Cramon D.Y., Barthel H. *In vivo evidence for differential association of striatal dopamine and midbrain serotonin systems with neuropsychiatric symptoms in Parkinson's disease.* J.Neuropsychiatry Clin.Neurosci. 2001, 13: 222-228.
216. Murphy D.L., Fox M.A., Timpano K.R., Moya P.R., Ren-Patterson R., Andrews A.M., Holmes A., Lesch K.P., Wendland J.R. *How the serotonin story is being rewritten by new gene-based discoveries principally related to SLC6A4, the serotonin transporter gene, which functions to influence all cellular serotonin systems.* Neuropharmacology 2008, 55: 932-960.
217. Nackley A.G., Shabalina S.A., Tchivileva I.E., Satterfield K., Korchynskiy O., Makarov S.S., Maixner W., Diatchenko L. *Human catechol-O-methyltransferase haplotypes modulate protein expression by altering mRNA secondary structure.* Science 2006, 314: 1930-1933.
218. Nackley A.G., Tan K.S., Fecho K., Flood P., Diatchenko L., Maixner W. *Catechol-O-methyltransferase inhibition increases pain sensitivity through activation of both beta2- and beta3-adrenergic receptors.* Pain 2007, 128: 199-208.
219. Nakamura M., Ueno S., Sano A., Tanabe H. *The human serotonin transporter gene linked polymorphism (5-HTTLPR) shows ten novel allelic variants.* Mol.Psychiatry 2000, 5: 32-38.
220. Nanko S., Ueki A., Hattori M. *No association between Parkinson's disease and monoamine oxidase A and B gene polymorphisms.* Neurosci.Lett. 1996, 204: 125-127.
221. Nemoda Z., Szekely A., Sasvari-Szekely M. *Psychopathological aspects of dopaminergic gene polymorphisms in adolescence and young adulthood.* Neurosci.Biobehav.Rev. 2011, 35: 1665-1686.
222. Ng K.Y., Chase T.N., Colburn R.W., Kopin I.J. *L-Dopa-induced release of cerebral monoamines.* Science 1970, 170: 76-77.
223. O'Donnell J., Zeppenfeld D., McConnell E., Pena S., Nedergaard M. *Norepinephrine: a neuromodulator that boosts the function of multiple cell types to optimize CNS performance.* Neurochem.Res. 2012, 37: 2496-2512.
224. Oertel W.H., Wolters E., Sampaio C., Gimenez-Roldan S., Bergamasco B., Dujardin M., Grosset D.G., Arnold G., Leenders K., Hundemer H.P., Lledó A., Wood A., Frewer P., Schwarz J. *Pergolide versus levodopa monotherapy in early Parkinson's disease patients: The PELMOPET study.* Mov.Disord. 2006, 21: 343-353.
225. Olanow C.W., Koller W.C. *An algorithm (decision tree) for the management of Parkinson's disease: treatment guidelines.* American Academy of Neurology. Neurology 1998, 50: 3 Suppl. 3, S1-S57.
226. Olanow C.W., Tatton W.G. *Etiology and pathogenesis of Parkinson's disease.* Annu.Rev.Neurosci. 1999, 22: 123-144.
227. Olanow C.W. *Levodopa/dopamine replacement strategies in Parkinson's disease: future directions.* Mov.Dis. 2008, 23: Suppl. 3, S613-S622.
228. Olanow C.W., Stern M.B., Sethi K. *The scientific and clinical basis for the treatment of Parkinson disease (2009).* Neurology 2009, 72: Suppl 4, S1-S136.
229. Olanow C.W. *Parkinson's disease: non-motor and non-dopaminergic features*, pod red. Olanow C.W. (Charles Warren) 1941, Stocchi F., Lang A.E, Chichester, Wydaw. Wiley-Blackwell, 2011.
230. Oroszi G., Goldman D. *Alcoholism: genes and mechanisms.* Pharmacogenomics 2004, 5: 1037-1048.
231. Pacak K. *Phaeochromocytoma: a catecholamine and oxidative stress disorder.* Endocr.Regul. 2011, 45: 65-90.

232. Padovan-Neto F.E., Echeverry M.B., Tumas V., Del-Bel E.A. *Nitric oxide synthase inhibition attenuates L-DOPA-induced dyskinesias in a rodent model of Parkinson's disease*. *Neuroscience* 2009, 159: 927-935.
233. Pahwa R., Factor S.A., Lyons K.E., Ondo W.G., Gronseth G., Bronte-Stewart H., Hallett M., Miyasaki J., Stevens J., Weiner W.J. *Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. Practice Parameter: treatment of Parkinson disease with motor fluctuations and dyskinesia (an evidence-based review): report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology*. *Neurology* 2006, 66: 983-995.
234. Pal G.K., Shyma P., Habeebullah S., Pal P., Nanda N., Shyjus P. *Vagal withdrawal and sympathetic overactivity contribute to the genesis of early-onset pregnancy-induced hypertension*. *Int.J.Hypertens.* 2011, 2011:361417.
235. Pardo B., Mena M.A., Fahn S., García de Yébenes J. *Ascorbic acid protects against levodopa-induced neurotoxicity on a catecholamine-rich human neuroblastoma cell line*. *Mov.Disord.* 1993, 8: 278-284.
236. Pardo B., Mena M.A., Casarejos M.J., Paíno C.L., De Yébenes J.G. *Toxic effects of L-DOPA on mesencephalic cell cultures: protection with antioxidants*. *Brain.Res.* 1995, 682: 133-143.
237. Park S., Kim J.W., Yang Y.H., Hong S.B., Park M.H., Kim B.N., Shin M.S., Yoo H.J., Cho S.C. *Possible effect of norepinephrine transporter polymorphisms on methylphenidate-induced changes in neuropsychological function in attention-deficit hyperactivity disorder*. *Behav.Brain.Funct.* 2012, 16: 22.
238. Parsian A., Racette B., Zhang Z.H., Rundle M., Perlmutter J.S. *Association of variations in monoamine oxidases A and B with Parkinson's disease subgroups*. *Genomics* 2004, 83: 454-460.
239. Pasternak B., Svanström H., Nielsen N.M., Fugger L., Melbye M., Hviid A. *Use of calcium channel blockers and Parkinson's disease*. *Am.J.Epidemiol.* 2012, 175: 627-635.
240. Pavese N., Simpson B.S., Metta V., Ramlackhansingh A., Chaudhuri K.R., Brooks D.J. *[¹⁸F]FDOPA uptake in the raphe nuclei complex reflects serotonin transporter availability. A combined [¹⁸F]FDOPA and [¹¹C]DASB PET study in Parkinson's disease*. *Neuroimage* 2012, 59: 1080-1084.
241. Peowe W., Mahlknecht P., Jankovic J. *Emerging therapies for Parkinson's disease*. *Curr.Opin. Neurol.* 2012, 25: 448-459.
242. Pfeiffer R.F. *Parkinson's disease and nonmotor dysfunction (current clinical neurology)*, pod red. Pfeiffer R.F., Bodis-Wollner I., New Jersey, Wydaw. Humana Press, 2005.
243. Pfeiffer R.F. *Non-motor parkinsonism*. *Parkinsonism Relat.Disord.* 2007, 13: Suppl 3, S211-S20.
244. Pineda-Trujillo N., Carvajal-Carmona L.G., Buriticá O., Moreno S., Uribe C., Pineda D., Toro M., García F., Arias W., Bedoya G., Lopera F., Ruiz-Linares A. *A novel Cys212Tyr founder mutation in parkin and allelic heterogeneity of juvenile Parkinsonism in a population from North West Colombia*. *Neurosci.Lett.* 2001, 298: 87-90.
245. Planté-Bordeneuve V., Taussig D., Thomas F., Said G., Wood N.W., Marsden C.D., Harding A.E. *Evaluation of four candidate genes encoding proteins of the dopamine pathway in familial and sporadic Parkinson's disease: evidence for association of a DRD2 allele*. *Neurology* 1997, 48: 1589-1593.
246. Pogun S, Baumann M.H., Kuhar, M.J. *Nitric oxide inhibits [³H]dopamine uptake*. *Brain Res.* 1994, 641: 83-91.
247. Pokryszko-Dragan A., Zagrajek M.M., Słotwiński K. *Taupatie - choroby zwyrodnieniowe ośrodkowego układu nerwowego związane z patologią białka tau*. *Postepy Hig.Med.Dosw.* (online) 2005, 59: 386-391.
248. Polymeropoulos M.H., Lavedan C., Leroy E., Ide S.E., Dehejia A., Dutra A., Pike B., Root H., Rubenstein J., Boyer R., Stenroos E.S., Chandrasekharappa S., Athanassiadou A., Papapetropoulos T., Johnson W.G., Lazzarini A.M., Duvoisin R.C., Di Iorio G., Golbe L.I., Nussbaum R.L. *Mutations in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease*. *Science* 1997, 276: 2045-2047.
249. Popa C., Popa F., Grigorean V.T., Onose G., Sandu A.M., Popescu M., Burnei G., Strambu V., Sinescu C. *Vascular dysfunctions following spinal cord injury*. *J.Med.Life.* 2010, 3: 275-285.

250. Puerto M., Guayerbas N., Alvarez P., De la Fuente M. *Modulation of neuropeptide Y and norepinephrine on several leucocyte functions in adult, old and very old mice*. J.Neuroimmunol. 2005, 165: 33-40.
251. Rabinovich A., http://fhs.mcmaster.ca/surgery/documents/poar_hypo.pdf, pozyskano 14.5.2009.
252. Racette B.A., McGee-Minnich L., Moerlein S.M., Mink J.W., Videen T.O., Perlmutter J.S. *Welding-related parkinsonism: clinical features, treatment and pathophysiology*. Neurology 2001, 56: 8-13.
253. Rajput A.H. *Levodopa prolongs life expectancy and is non-toxic to substantia nigra*. Parkinsonism Relat.Disord. 2001, 8: 95-100.
254. Reilly D.K., Rivera-Calimlim L., Van Dyke D. *Catechol-O-methyltransferase activity: a determinant of levodopa response*. Clin.Pharmacol.Ther. 1980, 28: 278-286.
255. Riederer P. *L-dopa competes with tyrosine and tryptophan for human brain uptake*. Nutr.Metab. 1980, 24: 417-423.
256. Rivera-Calimlim L., Reilly D.K. *Difference in erythrocyte catechol-O-methyltransferase activity between Orientals and Caucasians: difference in levodopa tolerance*. Clin.Pharmacol.Ther. 1984, 35: 804-809.
257. Roberts R.A., Laskin D.L., Smith C.V., Robertson F.M., Allen E.M., Doorn J.A., Slikker W. *Nitrative and oxidative stress in toxicology and disease*. Toxicol.Sci. 2009, 112: 4-16.
258. Rocca W.A., Bower J.H., Ahlskog J.E., Elbaz A., Grossardt B.R., McDonnell S.K., Schaid D.J., Maraganore D.M. *Risk of cognitive impairment or dementia in relatives of patients with Parkinson disease*. Arch.Neurol. 2007, 64: 1458-1464.
259. Rommelfanger K.S., Weinshenker D. *Norepinephrine: The redheaded stepchild of Parkinson's disease*. Biochem.Pharmacol. 2007, 74: 177-190.
260. Rongve A., Aarsland D. *Management of Parkinson's disease dementia: Practical considerations*. Drugs Aging. 2006, 23: 807-822.
261. Rubin R.P. *A brief history of great discoveries in pharmacology: In celebration of the centennial anniversary of the founding of the american society of pharmacology and experimental therapeutics*. Pharmacol.Rev. 2007, 59: 289-359.
262. Rugebjerg K., Friis S., Ritz B., Schernhammer E.S., Korbo L., Olsen J.H. *Autoimmune disease and risk for Parkinson disease: a population-based case-control study*. Neurology 2009, 73: 1462-1468.
263. Rybicki B.A., Johnson C.C., Uman J., Gorell J.M. *Parkinson's disease mortality and the industrial use of heavy metals in Michigan*. Mov.Disord. 1993, 8: 87-92.
264. Ryu S.H., Lee S.H., Lee H.J., Cha J.H., Ham B.J., Han C.S., Choi M.J., Lee M.S. *Association between norepinephrine transporter gene polymorphism and major depression*. Neuropsychobiology 2004, 49: 174-177.
265. Sacks O.W., Messeloff C.R., Schwartz W.F. *Long-term effects of levodopa in the severely disabled patient*. JAMA. 1970, 213:2270.
266. Saha S.P., Bhattacharya S., Das S.K., Maity B., Roy T., Raut D.K. *Epidemiological study of neurological disorders in a rural population of Eastern India*. J.Indian.Med.Assoc. 2003, 101: 299-300.
267. Salat-Foix D., Suchowersky O. *The management of gastrointestinal symptoms in Parkinson's disease*. Expert.Rev.Neurother. 2012, 12: 239-248.
268. Savica R., Grossardt B.R., Carlin J.M., Icen M., Bower J.H., Ahlskog J.E., Maraganore D.M., Steensma D.P., Rocca W. A. *Anemia or low hemoglobin levels preceding Parkinson disease: a case-control study*. Neurology 2009, 73: 1381-1387.
269. Schrag A., Ben-Shlomo Y., Quinn N.P. *Prevalence of progressive supranuclear palsy and multiple system atrophy: a cross-sectional study*. Lancet 1999, 354: 1771-1775.
270. Schroeter S., Apparsundaram S., Wiley R.G., Miner L.H., Sesack S.R., Blakely R.D. *Immunolocalization of the cocaine- and antidepressant-sensitive l-norepinephrine transporter*. J.Comp.Neurol. 2000, 420: 211-232.
271. Seppi K., Scherfler C., Donnemiller E., Virgolini I., Schocke M.F., Goebel G., Mair K.J., Boesch S., Brenneis C., Wenning G.K., Poewe W. *Topography of dopamine transporter availability in progressive supranuclear palsy: a voxelwise [123I]beta-CIT SPECT analysis*. Arch.Neurol. 2006, 63: 1154-1160.

272. Sethi K. *Levodopa unresponsive symptoms in Parkinson disease*. *Mov.Disord.* 2008, 23: Suppl 3, S521-S533.
273. Sharp T., Umbers V., Gartside S.E. *Effect of a selective 5-HT reuptake inhibitor in combination with 5-HT1A and 5-HT1B receptor antagonists on extracellular 5-HT in rat frontal cortex in vivo*. *Br.J.Pharmacol.* 1997, 121: 941-946.
274. Sherer T.B., Betarbet R., Stout A.K., Lund S., Baptista M., Panov A.V., Cookson M.R., Greenamyre J.T. *An in vitro model of Parkinson's disease: linking mitochondrial impairment to altered alpha-synuclein metabolism and oxidative damage*. *J.Neurosci.* 2002, 22: 7006-7015.
275. Shinotoh H., Vingerhoets F.J., Schulzer M., Snow B.J. *The presymptomatic period in a patient with idiopathic parkinsonism*. *Parkinsonism Relat.Disord.* 1996, 2: 127-130.
276. Shulman L.M., Taback R.L., Rabinstein A.A., Weiner W.J. *Non-recognition of depression and other non-motor symptoms in Parkinson's disease*. *Parkinsonism Relat.Disord.* 2002, 8: 193-197.
277. Shulman J.M., De Jager P.L., Feany M.B. *Parkinson's disease: genetics and pathogenesis*. *Annu.Rev.Pathol.* 2011, 6: 193-222.
278. Singaram C., Ashraf W., Gaumnitz E.A., Torbey C., Sengupta A., Pfeiffer R., Quigley E.M. *Dopaminergic defect of enteric nervous system in Parkinson's disease patients with chronic constipation*. *Lancet* 1995, 346: 861-864.
279. Singer T.P., Ramsay R.R. *Mechanism of the neurotoxicity of MPTP. An update*. *FEBS.Lett.* 1990, 274: 1-8.
280. Singh D., Akingbola O., Yosypiv I., El-Dahr S. *Emergency management of hypertension in children*. *Int.J.Nephrol.* 2012, 2012:420247.
281. Singh M., Khan A.J., Shah P.P., Shukla R., Khanna V.K., Parmar D. *Polymorphism in environment responsive genes and association with Parkinson disease*. *Mol.Cell Biochem.* 2008, 312: 131-138.
282. Smith A.D., Zigmond M.J. *Can the brain be protected through exercise? Lessons from an animal model of parkinsonism*. *Exp.Neurol.* 2003, 184: 31-39.
283. Stacy M. *Medical treatment of Parkinson disease*. *Neurol.Clin.* 2009, 27: 605-631.
284. Stern G. *Genetics and the neurodegenerations: musings of a gadfly*. *J.Parkinsons Dis.* 2012, 2: 1-5.
285. Stocchi F., Vacca L., Ruggieri S., Olanow C.W. *Intermittent vs continuous levodopa administration in patients with advanced Parkinson disease: A clinical and pharmacokinetic study*. *Arch.Neurol.* 2005, 62: 905-910.
286. Stocchi F., Rascol O., Kieburtz K., Poewe W., Jankovic J., Tolosa E., Barone P., Lang A.E., Olanow C.W. *Initiating levodopa/carbidopa therapy with and without entacapone in early Parkinson disease: the STRIDE-PD study*. *Ann.Neurol.* 2010, 68: 18-27.
287. Suárez-Moro R., Castaño-García B. *Cardiovascular disorders in Parkinson's disease*. *Rev.Neurol.* 2010, 50: Suppl 2, S59-S63.
288. Sudhof T.C. *The synaptic vesicle cycle*. *Annu.Rev.Neurosci.* 2004, 27: 509-547.
289. Syvänen A.C., Tilgmann C., Rinne J., Ulmanen I. *Genetic polymorphism of catechol-O-methyltransferase (COMT): correlation of genotype with individual variation of S-COMT activity and comparison of the allele frequencies in the normal population and parkinsonian patients in Finland*. *Pharmacogenetics* 1997, 7: 65-71.
290. Szczeklik A., *Choroby wewnętrzne*, pod red. Szczeklik A., Kraków, Wydaw.Medycyna Praktyczna, 2005.
291. Talaei F., Bouma H.R., Van der Graaf A.C., Strijkstra A.M., Schmidt M., Henning R.H. *Serotonin and dopamine protect from hypothermia/rewarming damage through the CBS/H2S pathway*. *PLoS One* 2011, 6:e22568.
292. Talmant V., Esposito P., Stihart B., Mohr M., Tranchant C. *Subthalamic stimulation in a patient with multiple system atrophy: a clinicopathological report*. *Rev.Neurol.(Paris)* 2006, 162: 363-370.
293. Tan E.K., Cheah S.Y., Fook-Chong S., Yew K., Chandran V.R., Lum S.Y., Yi Z. *Functional COMT variant predicts response to high dose pyridoxine in Parkinson's disease*. *Am.J.Med.Genet.B. Neuropsychiatr.Genet.* 2005, 137B: 1-4.
294. Tanaka K., Miyake Y., Fukushima W., Sasaki S., Kiyohara C., Tsuboi Y., Yamada T., Oeda T., Miki T., Kawamura N., Sakae N., Fukuyama H., Hirota Y., Nagai M., Fukuoka Kinki Parkinson's

- Disease Study Group. *Occupational risk factors for Parkinson's disease: a case-control study in Japan*. BMC Neurol. 2011, 11: 83.
295. Tanner C.M., Ottman R., Goldman S.M., Ellenberg J., Chan P., Mayeux R., Langston J.W. *Parkinson disease in twins: an etiologic study*. JAMA 1999, 281: 341-346.
296. Teychenne P.F. *Neurobiology of Cerebrospinal Fluid I (Cerebrospinal fluid studies in Parkinson's disease: Norepinephrine and gamma_aminobutyric acid concentrations)*, pod red. Teychenne P.F., Lake C.R., Ziegler M.G., Springer Link, 1980.
297. Thacker E.L., Chen H., Patel A.V., McCullough M.L., Calle E.E., Thun M.J., Schwarzschild M.A., Ascherio A. *Recreational physical activity and risk of Parkinson's disease*. Mov.Disord. 2008, 23: 69-74.
298. Thomas K.J., Cookson M.R. *The role of PTEN-induced kinase 1 in mitochondrial dysfunction and dynamics*. Int.J.Biochem.Cell.Biol. 2009, 41: 2025-2035.
299. Tomoda A., Nishitani S., Matsuura N., Fujisawa T.X., Kawatani J., Toyohisa D., Ono M., Shinohara K. *No interaction between serotonin transporter gene (5-HTTLPR) polymorphism and adversity on depression among Japanese children and adolescents*. BMC Psychiatry 2013, 13:134.
300. Tong J., Hornykiewicz O., Kish S.J. *Inverse relationship between brain noradrenaline level and dopamine loss in Parkinson disease: a possible neuroprotective role for noradrenaline*. Arch.Neurol. 2006, 63: 1724-1728.
301. Trott C.M., El Fakhri G. *Sequential and simultaneous dual-isotope brain SPECT: comparison with PET for estimation and discrimination tasks in early Parkinson disease*. Med.Phys. 2008, 35: 3343-3353.
302. Truong D.D., Bhidayasiri R., Wolters E. *Management of non-motor symptoms in advanced Parkinson disease*. J.Neurol.Sci. 2008, 266: 216-228.
303. Tsao D., Wieskopf J.S., Rashid N., Sorge R.E., Redler R.L., Segall S.K., Mogil J.S., Maixner W., Dokholyan N.V., Diatchenko L. *Serotonin-induced hypersensitivity via inhibition of catechol O-methyltransferase activity*. Mol.Pain. 2012, 13: 8: 25.
304. Tsuang D.W., Dalan A.M., Eugenio C.J., Poorkaj P., Limprasert P., La Spada A.R., Steinbart E.J., Bird T.D., Leverenz J.B. *Familial dementia with Lewy bodies: a clinical and neuropathological study of 2 families*. Arch.Neurol. 2002, 59: 1622-1630.
305. Tunbridge E.M., Harrison P.J., Weinberger, D.R. *Catechol-o-methyltransferase, cognition, and psychosis: Val158Met and beyond*. Biol.Psychiatry 2006, 60: 141-151.
306. Turrens J.F., Boveris A. *Generation of superoxide anion by the NADH dehydrogenase of bovine heart mitochondria*. Biochem.J. 1980, 191: 421-427.
307. Turski L., Turski W.A. *Towards an understanding of the role of glutamate in neurodegenerative disorders: energy metabolism and neuropathology*. Experientia 1993, 49: 1064-1072.
308. Twelves D., Perkins K.S., Counsell C. *Systematic review of incidence studies of Parkinson's disease*. Mov.Disord. 2003, 18: 19-31.
309. Ueyama J., Kitaichi K., Iwase M., Takagi K., Takagi K., Hasegawa T. *Application of ultrafiltration method to measurement of catecholamines in plasma of human and rodents by high-performance liquid chromatography*. J.Chromatogr.B Analyt.Technol.Biomed.Life Sci. 2003, 798: 35-41.
310. Usher M., Cohen J.D., Servan-Schreiber, D., Rajkowski J., Aston-Jones G. *The role of locus coeruleus in the regulation of cognitive performance*. Science 1999, 283: 549-554.
311. Uversky V.N., Li J., Bower K., Fink A.L. *Synergistic effects of pesticides and metals on the fibrillation of alpha-synuclein: implications for Parkinson's disease*. Neurotoxicology 2002, 23: 527-536.
312. Van den Eeden S.K., Tanner C.M., Bernstein A.L., Fross R.D., Leimpeter A., Bloch D.A., Nelson L.M. *Incidence of Parkinson's disease: variation by age, gender, and race/ethnicity*. Am.J.Epidemiol. 2003, 157: 1015-1022.
313. Van der Lubbe N., Lim C.H., Meima M.E., van Veghel R., Rosenbaek L.L., Mutig K., Danser A.H., Fenton R.A., Zietse R., Hoorn E.J. *Aldosterone does not require angiotensin II to activate NCC through a WNK4-SPAK-dependent pathway*. Pflugers.Arch. 2012, 463: 853-863.
314. Vandenberg D.J., Persico A.M., Hawkins A.L., Griffin C.A., Li X., Jabs E.W., Uhl G.R. *Human dopamine transporter gene (DAT1) maps to chromosome 5p15.3 and displays a VNTR*. Genomics 1992, 14: 1104-1106.

315. Von Campenhausen S., Bornschein B., Wick R., Bötzel K., Sampaio C., Poewe W., Oertel W., Siebert U., Berger K., Dodel R. *Prevalence and incidence of Parkinson's disease in Europe*. Eur.Neuropsychopharmacol. 2005, 15: 473-490.
316. Von Coelln R., Dawson V.L., Dawson T.M. *Parkin-associated Parkinson's disease*. Cell.Tissue.Res. 2004, 318: 175-184.
317. Voon V., Hassan K., Zurowski M., Duff-Canning S., de Souza M., Fox S., Lang A.E., Miyasaki J. *Prospective prevalence of pathologic gambling and medication association in Parkinson disease*. Neurology 2006, 66: 1750-1752.
318. Wakabayashi K., Takahashi H., Takeda S., Ohama E., Ikuta F. *Parkinson's disease: the presence of Lewy bodies in Auerbach's and Meissner's plexuses*. Acta.Neuropathol. 1988, 76: 217-221.
319. Wakabayashi K., Morita F., Takahashi H. *Progression patterns of neuronal loss and Lewy body pathology in the substantia nigra in Parkinson's disease*. Parkinsonism Related.Disorders. 2006, 12: S92-S98.
320. Walter U., Dressler D., Probst T., Wolters A., Abu-Mugheisib M., Wittstock M., Benecke R. *Transcranial brain sonography findings in discriminating between parkinsonism and idiopathic Parkinson disease*. Arch.Neurol. 2007, 64: 1635-1640.
321. Wang Q., Zhang M., Ning G., Gu W., Su T., Xu M., Li B., Wang W. *Brown adipose tissue in humans is activated by elevated plasma catecholamines levels and is inversely related to central obesity*. PLoS One 2011, 6: e21006.
322. Ward L.E., Hunter L.W., Grabau C.E., Tyce G.M., Rorie D.K. *Nitric oxide reduces basal efflux of catecholamines from perfused dog adrenal glands*. J.Auton.Nerv.Syst. 1996, 61: 235-242.
323. Warmuth-Metz M., Naumann M., Csoti I., Solymosi L. *Measurement of the midbrain diameter on routine magnetic resonance imaging: a simple and accurate method of differentiating between Parkinson disease and progressive supranuclear palsy*. Arch.Neurol. 2001, 58: 1076-1079.
324. Watts S.W., Morrison S.F., Davis R.P., Barman S.M. *Serotonin and blood pressure regulation*. Pharmacol.Rev. 2012, 64: 359-388.
325. Waxman E.A., Giasson B.I. *Induction of intracellular tau aggregation is promoted by α -synuclein seeds and provides novel insights into the hyperphosphorylation of tau*. J.Neurosci. 2011, 31: 7604-7618.
326. Weintraub D. *Dopamine and impulse control disorders in Parkinson's disease*. Ann.Neurol. 2008, 64: Suppl 2, S93-S100.
327. Weiss A., Grossman E., Beloosesky Y., Grinblat J. *Orthostatic hypotension in acute geriatric ward: is it a consistent finding?* Arch.Intern.Med. 2002, 162: 2369-2374.
328. Wenning G.K., Scherfler C., Granata R., Bösch S., Verny M., Chaudhuri K.R., Jellinger K., Poewe W., Litvan I. *Time course of symptomatic orthostatic hypotension and urinary incontinence in patients with postmortem confirmed parkinsonian syndromes: a clinicopathological study*. J.Neurol.Neurosurg.Psychiatry 1999, 67: 620-623.
329. Wenzelburger R., Zhang B.R., Pohle S., Klebe S., Lorenz D., Herzog J., Wilms H., Deuschl G., Krack P. *Force overflow and levodopa-induced dyskinesias in Parkinson's disease*. Brain 2002, 125: 871-879.
330. Wichowicz H.M., Sławek J., Derejko M., Cudała W.J. *Factors associated with depression in Parkinson's disease: a cross-sectional study in a Polish population*. Eur.Psychiatry 2006, 21: 516-520.
331. Williams-Gray C., Goris A., Foltynie T., Compston A., Sawcer S., Barker R.A. *No evidence for association between an MAOA functional polymorphism and susceptibility to Parkinson's disease*. J.Neurol. 2009, 256: 132-133.
332. Wright Willis A., Evanoff B.A., Lian M., Criswell S.R., Racette B.A. *Geographic and ethnic variation in Parkinson disease: a population-based study of US Medicare beneficiaries*. Neuroepidemiology 2010, 34: 143-151.
333. Willis A.W., Evanoff B.A., Lian M., Galarza A., Wegrzyn A., Schootman M., Racette B.A. *Metal emissions and urban incident Parkinson disease: a community health study of Medicare beneficiaries by using geographic information systems*. Am.J.Epidemiol. 2010, 172: 1357-1363.
334. Winterer G., Goldman D. *Genetics of human prefrontal function*. Brain Res.Brain Res.Rev. 2003, 43: 134-163.
335. Wirdefeldt K., Adami H.O., Cole P., Trichopoulos D., Mandel J. *Epidemiology and etiology of Parkinson's disease: a review of the evidence*. Eur.J.Epidemiol. 2011, 26: Suppl 1, S1-S58.

336. Wooten G.F., Currie L.J., Bovbjerg V.E., Lee J.K., Patrie J. *Are men at greater risk for Parkinson's disease than women?* J.Neurol.Neurosurg.Psychiatry 2004, 75: 637-639.
337. Wright B.A., Waters C.H. *Continuous dopaminergic delivery to minimize motor complications in Parkinson's disease.* Expert Rev.Neurother. 2013, 13: 719-729.
338. Xie T., Ho S.L., Li L.S., Ma O.C. *G/A1947 polymorphism in catechol-O-methyltransferase (COMT) gene in Parkinson's disease.* Mov.Disord. 1997, 12: 426-427.
339. Xie T., Ho S.L. Ramsden D. *Characterization and implications of estrogenic down-regulation of human catechol-O-methyltransferase gene transcription.* Mol.Pharmacol. 1999, 56: 31-38.
340. Xiong N., Xiong J., Khare G., Chen C., Huang J., Zhao Y., Zhang Z., Qiao X., Feng Y., Reesaul H., Zhang Y., Sun S., Lin Z., Wang T. *Edaravone guards dopamine neurons in a rotenone model for Parkinson's disease.* PLoS One 2011; 6: e20677.
341. Yanagisawa N. *Natural history of Parkinson's disease: From dopamine to multiple system involvement.* Parkinsonism Relat.Disord. 2006, 12: Suppl 2, S40-S46.
342. Yoritaka A., Hattori N., Yoshino H., Mizuno Y. *Catechol-O-methyltransferase genotype and susceptibility to Parkinson's disease in Japan. Short communication.* J.Neural.Transm. 1997, 104: 1313-1317.
343. Yu A.J., Dayan P. *Uncertainty, neuromodulation, and attention.* Neuron 2005, 46: 681-692.
344. Zahodne L.B., Fernandez H.H. *Pathophysiology and treatment of psychosis in Parkinson's disease: a review.* Drugs Aging. 2008, 25: 665-682.
345. Zarow C., Lyness S.A., Mortimer J.A., Chui H.C. *Neuronal loss is greater in the locus coeruleus than nucleus basalis and substantia nigra in Alzheimer and Parkinson diseases.* Arch.Neurol. 2003, 60: 337-341.
346. Zetterberg M., Sjölander A., von Otter M., Palmér M.S., Landgren S., Minthon L., Wallin A., Andreasen N., Blennow K., Zetterberg H. *Ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1 (UCHL1) S18Y polymorphism in Alzheimer's disease.* Mol.Neurodegener. 2010, 19: 5-11.
347. Zhang J.L., Yang J.F., Chan P. *No association between polymorphism of serotonin transporter gene and depression in Parkinson's disease in Chinese.* Neurosci.Lett. 2009, 455: 155-158.
348. Zhang L., Yan J., Xu Y., Long L., Zhu C., Chen X., Jiang Y., Yang L., Bian L., Wang Q. *The combination of homocysteine and C-reactive protein predicts the outcomes of Chinese patients with Parkinson's disease and vascular parkinsonism.* PLoS One 2011, 27: 6: e19333.
349. Zhao G., Zang S.Y., Zheng X.W., Zhang X.H., Guo L.H. *Bakuchiol analogs inhibit monoamine transporters and regulate monoaminergic functions.* Biochem.Pharmacol. 2008, 75: 1835-1847.
350. Zhao Q., Hixson J.E., Rao D.C., Gu D., Jaquish C.E., Rice T., Shimmin L.C., Chen J., Cao J., Kelly T.N., Hamm L.L., He J. *Genetic variants in the apelin system and blood pressure responses to dietary sodium interventions: a family-based association study.* J.Hypertens. 2010, 28: 756-763.
351. Zhu B.T. *Catechol-O-Methyltransferase (COMT)-mediated methylation metabolism of endogenous bioactive catechols and modulation by endobiotics and xenobiotics: importance in pathophysiology and pathogenesis.* Curr.Drug Metab. 2002, 3: 321-349.
352. Zhu Q.S., Grimsby J., Chen K., Shih J.C. *Promoter organization and activity of human monoamine oxidase (MAO) A and B genes.* J.Neurosci. 1992, 12: 4437-4446.
353. Ziemssen T., Reichmann H. *Treatment of dysautonomia in extrapyramidal disorders.* Ther.Adv.Neurol.Disord. 2010, 3: 53-67.
354. Zigmund M.J., Burke R.E *Neuropsychopharmacology: The Fifth Generation of Progress*, pod red. Davis K.L., Coyle J., Charney D., Nemeroff C., Philadelphia, Wydaw. Lippincott Williams & Wilkins, 2002.
355. Zubieta J.K., Heitzeg M.M., Smith Y.R., Bueller J.A., Xu K., Xu Y., Koeppe R.A., Stohler C.S., Goldman D. *COMT val158met genotype affects mu-opioid neurotransmitter responses to a pain stressor.* Science 2003, 299: 1240-1243.

8. Streszczenie

Choroba Parkinsona jest schorzeniem prowadzącym do zwyrodnienia neuronów dopaminergicznych istoty czarnej śródmózgowia, charakteryzującym się drżeniem spoczynkowym, sztywnością i spowolnieniem ruchowym. W ChP, podobnie jak w innych chorobach układu pozapiramidowego dochodzi nie tylko do pojawienia się objawów ruchowych, ale również do zaburzeń neuropsychiatrycznych i dysfunkcji układu autonomicznego, w tym zmiany poziomu amin biogennych: NA, A, DA i 5-HT związanych z regulacją wielu funkcji życiowych m.in. ciśnienia tętniczego krwi.

Celem pracy była analiza stężenia trzech osoczowych amin biogennych, 5-HT, NA i A oraz metabolitów NA i A, metoksykatecholamin: MNA i MA, odpowiednio w moczu wraz z badaniem wariantów genetycznych genów: *COMT* (c.649G>A), *MAO-A* (c.1460C>T) i *NET* (c.1287G>A) u chorych z zaburzeniami ruchowymi: z rozpoznaną ChP, z zespołem parkinsonowskim w przebiegu choroby zwyrodnieniowej, MSA oraz u kontrolnych ochotników w populacji polskiej. U badanych osób, zarówno pomiar ciśnienia tętniczego krwi (S, R), jak i badanie stężenia osoczowych amin biogennych przeprowadzono w dwóch pobraniach, po 30 min. odpoczynku i 5 min. pionizacji. Natomiast dla oznaczenia stężenia metoksykatecholamin w moczu: MNA i MA przeprowadzono zbiórkę dobową tego materiału biologicznego.

Badaniu poddano 49 chorych z klinicznie rozpoznaną ChP, 25 kobiet i 24 mężczyzn w wieku 35-82 lata. Wśród chorych na ChP, 7 osób (4 kobiety i 3 mężczyzn) nie było leczonych L-dopą, a pozostałe 42 osoby (21 kobiet i 21 mężczyzn) były leczone preparatami L-dopy. Badaniu poddano również 19 chorych z rozpoznanym zespołem parkinsonowskim w przebiegu choroby zwyrodnieniowej, 8 kobiet i 11 mężczyzn w wieku 38-75 lata. Wśród chorych z zespołem parkinsonowskim, 18 osób było leczonych preparatami L-dopy. Ponadto, badaniu poddano 6 chorych z MSA, 6 kobiet w wieku 51-63 lata. Wszyscy chorzy z MSA otrzymywali preparaty L-dopy. Grupę kontrolną stanowiło 48 osób, 33 kobiety i 15 mężczyzn w wieku 25-76 lat. Osoby kontrolne nie wykazywały objawów chorób neurologicznych i cech otępienia.

Stężenie amin biogennych (NA, A, 5-HT) i metoksykatecholamin (MNA, MA) oznaczano metodą HPLC/EC. Badanie polimorfizmów genów *COMT* (c.649G>A), *MAO-A* (c.1460C>T), *NET* (c.1287G>A) przeprowadzono metodą PCR oraz RFLP.

W wyniku przeprowadzonych badań wykazano, że w odróżnieniu od kontrolnych ochotników, u chorych z ChP ($p<0,05$) i rozpoznanym zespołem parkinsonowskim ($p<0,01$) następował istotny wzrost stężenia osoczowych NA po pionizacji. Jedynie u chorych z MSA, ortostatycznemu spadkowi ciśnienia tętniczego krwi ($p<0,05$) towarzyszyło istotne obniżenie stężenia osoczowej NA ($p<0,05$). Jednocześnie, jedynie u osób kontrolnych wykazano wyższy poziom metabolitu NA (MNA), a u chorych z analizowanymi zaburzeniami ruchowymi, A (MA), [ChP i zespół parkinsonowski, $p<0,001$; MSA, $p<0,01$]. U chorych z ChP zarówno leczonych L-dopą (A I, $p<0,05$; MA, $p<0,001$),

jak i z genotypem o zmniejszonej aktywności, *COMT* AA (c.649G>A) [A I, p<0,01 i A II, p<0,05; MA, p<0,001] wykazano istotny wzrost stężenia osoczowej A i jej metabolitu w moczu, MA. Natomiast u chorych z ChP z genotypem *MAO-A* TT (c.1460C>T) oznaczono zasadniczo niższe stężenie zarówno NA, jak i 5-HT w porównaniu z osobami z pozostałymi analizowanymi wariantami genetycznymi tego genu. Jednocześnie wykazano, że po raz pierwszy korelowane z zaburzeniami ruchowymi, heterozygota *NET* GA (c.1287G>A) występowała z 4,8-krotnie większą częstością u chorych z ChP w porównaniu do chorych z zespołem parkinsonowskim (p<0,05), a homozygota nieprawidłowa *NET* AA (c.1287G>A), 7,5-krotnie częściej u chorych z zespołem parkinsonowskim w porównaniu z osobami z ChP (p<0,05).

Wydaje się, że monitorowanie poziomu amin biogennych i ich metabolitów z uwzględnieniem genetycznych uwarunkowań ich metabolizmu może przyczynić się do poprawy efektywności leczenia chorych z ChP i zahamowania postępu tej choroby zwyrodnieniowej.

9. Summary

Parkinson's disease (PD) is an illness leading to degeneration of dopaminergic neurons of midbrain's substantia nigra, characterized by resting tremor, rigidity, and bradykinesia. In PD, as in other diseases of extrapyramidal system, takes place not only manifestation of motor symptoms but also neuropsychiatric disorders and autonomic system dysfunction including changes of levels of biogenic amines: norepinephrine (NE), epinephrine (E), dopamine DA and serotonin 5-HT, concerned with regulation of many living processes, inter alia, arterial blood pressure.

The intention of this study was the analysis of the concentration of three plasma biogenic amines, 5-HT, NE and E and metabolites of NE i E, methoxycatecholamines, NMETA i META, respectively in urine along with examination of genetic variants of genes: *COMT* (c.649G>A), *MAO-A* (c.1460C>T) i *NET* (c.1287G>A) in patients with motor disorders: recognised PD, with parkinsonian syndrome caused by degenerative disease, MSA and in control volunteers in Polish population. Both blood pressure measurement (S, R) and plasma biogenic amines determination were analyzed twice, after 30 minutes of rest and after 5 minutes of standing. On the other hand for determination of methoxycatecholamines in urine: NMETA i META, 24-hours collection of biological material was analyzed.

49 Patients with clinically recognised PD, 25 women and 24 men at the age of 35-82 years were subjected to examination. Among patients with PD, 7 of them (4 women and 3 men) were not treated with L-dopa the other 42 persons (21 women, 21 men) were administered with L-dopa. There have been also examined 19 persons with diagnosed parkinsonian syndrome caused by degenerative disorder, 8 women and 11 men at the age of 38-75 years. Among patients representing parkinsonian syndrome 18 were treated with L-dopa. Besides, there were examined 6 persons with MSA, 6 women at the age 51-63 years. All patients with MSA received L-dopa. The control group consisted of 48 persons, 33 women and 15 men at the age of 25-76 years. Control persons haven't showed signs of neurological diseases nor dementia.

The concentration of biogenic amines (NE, E, 5-HT) and methoxycatecholamines (NMETA, META) were determined with usage of HPLC/EC. The assessment of genes polymorphism *COMT* (c.649G>A), *MAO-A* (c.1460C>T), *NET* (c.1287G>A) were performed by PCR and RFLP methods.

As the result of run research, it is demonstrated that in contrast to control group in patients with Parkinson's disease ($p < 0.05$) and recognised parkinsonian syndrome ($p < 0.01$) occurred the significant increase of plasma NE concentration after standing. Only in the case of patients with MSA significant decrease of NE plasma concentration accompanied orthostatic hypotension ($p < 0.01$). Simultaneously, only control persons group showed higher level of NE metabolite (NMETA) and patients with analyzed motor disturbances E metabolite (META), [PD, parkinsonian syndrome respectively $p < 0.001$; MSA, $p < 0.01$]. Patients with PD both treated with L-dopa (A I, $p < 0,05$; META, $p < 0,001$) and with genotype of decreased activity of *COMT* AA (c.649G>A) [A I, $p < 0,01$ i A II,

p<0,05; META, p<0,001] showed significant increase of plasma level of E and its metabolite in urine, META. On the other hand patients with PD and *MAO-A* TT genotype (c.1460C>T) were examined essentially lower concentrations of both NE and 5-HT compared to the others analyzed genetic variants of this gene. Concomitantly it has been demonstrated that the first time examined in motor disorders, heterozygote *NET* GA (c.1287G>A) occurred with 4.8-folds higher frequency among patients with PD in comparison to patients with parkinsonian syndrom (p<0.05) and incorrect homozygote *NET* AA (c.1287G>A) occurred 7.5-folds more often in patients with parkinsonian syndrom to persons with PD (p<0.05).

It seems that monitoring the level of biogenic amines and its metabolites with consideration of genetic determinants of their metabolism may contribute to improvement of the effectiveness of PD treatment and to slowdown the progression of the disease.

10. Spis rycin

Ryc. 1. Synteza katecholamin [57].....	13
Ryc. 2. Metabolizm dopaminy [20].....	13
Ryc. 3. Metabolizm noradrenaliny i adrenaliny [20].....	14
Ryc. 4. Synteza i rozkład serotoniny [13,20].....	14
Ryc. 5. Udział ubikwityny w procesach degradacji [316].....	24
Ryc. 6. Mechanizm toksycznego działania dopaminy i DOPAL [257].....	27
Ryc. 7. Rola amin biogennych w patogenezie choroby Parkinsona [67].....	40
Ryc. 8. Analiza restrykcyjna fragmentu eksonu 4. genu <i>COMT</i> na żelu poliakrylamidowym.....	70
Ryc. 9. Analiza restrykcyjna fragmentu eksonu 14. genu <i>MAO-A</i> na żelu agarozowym.....	70
Ryc. 10. Analiza restrykcyjna fragmentu eksonu 9. genu <i>NET</i> na żelu agarozowym.....	71

11. Spis tabel

Tabela 1. Praktyczne wytyczne oceny nadciśnienia tętniczego krwi [195].....	15
Tabela 2. Wybrane czynniki genetyczne związane z patogenezą choroby Parkinsona.....	29
Tabela 3. Polimorfizmy genów <i>COMT</i> , <i>MAO</i> , <i>DAT</i> , <i>NET</i> i <i>5-HHT</i> w chorobie Parkinsona [67].....	43-45
Tabela 4. Charakterystyka starterów stosowanych do amplifikacji badanych genów.....	60
Tabela 5. Skład mieszaniny reakcyjnej do amplifikacji fragmentów.....	60
Tabela 6. Warunki analizy restrykcyjnej (RFLP).....	61
Tabela 7. Wartości pomiaru ciśnienia tętniczego krwi, po 30 min. odpoczynku (I) i po 5 min. pionizacji (II) u chorych z zaburzeniami ruchowymi i u osób kontrolnych.....	63
Tabela 8. Stężenie osoczowej noradrenaliny (NA), adrenaliny (A), serotoniny (5-HT) po 30 min. odpoczynku (I) i po 5 min. pionizacji (II) u chorych z zaburzeniami ruchowymi i u osób kontrolnych.....	64
Tabela 9. Stężenie osoczowej noradrenaliny (NA), adrenaliny (A), serotoniny (5-HT) po 30 min. odpoczynku (I) i po 5 min. pionizacji (II) oraz metoksynoradrenaliny (MNA) i metoksyadrenaliny (MA) w moczu u chorych z zaburzeniami ruchowymi i u osób kontrolnych.....	65
Tabela 10. Stężenie osoczowej noradrenaliny (NA), adrenaliny (A), serotoniny (5-HT) po 30 min. odpoczynku (I) i po 5 min. pionizacji (II) oraz metoksynoradrenaliny (MNA) i metoksyadrenaliny (MA) w moczu, w zależności od stopnia rozwoju choroby w skali Hoehn i Yahra u chorych z zaburzeniami układu pozapiramidowego i u osób kontrolnych.....	66
Tabela 11. Stężenie osoczowej noradrenaliny (NA), adrenaliny (A), serotoniny (5-HT) po 30 min. odpoczynku (I) i po 5 min. pionizacji (II) oraz metoksynoradrenaliny (MNA) i metoksyadrenaliny (MA) w moczu u chorych z chorobą Parkinsona leczonych L-dopą(+) i przed terapią L-dopą(-) oraz u osób kontrolnych.....	67
Tabela 12. Stężenie osoczowej noradrenaliny (NA), adrenaliny (A), serotoniny (5-HT) po 30 min. odpoczynku (I) i po 5 min. pionizacji (II) oraz metoksynoradrenaliny (MNA) i metoksyadrenaliny (MA) w moczu w zależności od czasu leczenia L-dopą u chorych z zaburzeniami ruchowymi i u osób kontrolnych.....	68
Tabela 13. Lokalizacja i częstość występowania genotypów genów <i>COMT</i> (c.649G>A), <i>MAO-A</i> (c.1460C>T) i <i>NET</i> (c.1287G>A) u chorych z zaburzeniami ruchowymi i u osób kontrolnych.....	72
Tabela 14. Stężenie osoczowej noradrenaliny (NA), adrenaliny (A), serotoniny (5-HT) po 30 min. odpoczynku (I) i po 5 min. pionizacji (II) oraz metoksynoradrenaliny (MNA) i metoksyadrenaliny (MA) w moczu w zależności genotypów c.649G>A <i>COMT</i> u chorych z zaburzeniami ruchowymi leczonych L-dopą i u osób kontrolnych.....	73

Tabela 15. Stężenie osoczowej noradrenaliny (NA), adrenaliny (A), serotoniny (5-HT) po 30 min. odpoczynku (I) i po 5 min. pionizacji (II) oraz metoksynoradrenaliny (MNA) i metoksyadrenaliny (MA) w moczu w zależności genotypów c.1460C>T MAO-A u chorych z zaburzeniami ruchowymi leczonych L-dopą i u osób kontrolnych.....	75
Tabela 16. Stężenie osoczowej noradrenaliny (NA), adrenaliny (A), serotoniny (5-HT) po 30 min. odpoczynku (I) i 5 po min. pionizacji (II) oraz metoksynoradrenaliny (MNA) i metoksyadrenaliny (MA) w moczu w zależności genotypów c.1287G>A NET u chorych z zaburzeniami ruchowymi leczonych L-dopą i u osób kontrolnych.....	77