

Received: 17.11.2005

Accepted: 08.12.2005

Published: 31.12.2005

Wtrętowe zapalenie mięśni: objawy kliniczne, diagnostyczne parametry biopsji mięśniowej i rozważania patogenetyczne

Inclusion-body myositis: clinical symptoms, diagnostic criteria of muscle biopsy and pathogenetic considerations

¹ USC Neuromuscular Center, Department of Neurology, University of Southern California, Keck School of Medicine, Los Angeles, California

² Zakład Anatomii i Neurobiologii Akademii Medycznej w Gdańsku; autor przebywa w USC Neuromuscular Center na urlopie naukowo-szkoleniowym

Correspondence to: Valerie Askanas, MD, PhD, USC Neuromuscular Center, Good Samaritan Hospital, 637 S. Lucas Ave, Los Angeles, CA 90017-1912, tel. 213-743-1612, fax 213-743-1617, e-mail: askanas@usc.edu

Praca była finansowana przez National Institutes of Health (AG16768 Merit Award), Muscular Dystrophy Association, The Myositis Association (granty dla VA) oraz Helen Lewis Research Fund.

Streszczenie

Wtrętowe zapalenie mięśni (sWZM) jest najczęstszą chorobą mięśni szkieletowych występującą u starszych osób. Przyczyna tej choroby pozostaje nieznana i jak dotąd brak jest skutecznego leczenia. Na wzrost zainteresowania sWZM wpłynęło przede wszystkim odkrycie wewnątrz włókien mięśniowych wielu nadmiernie/nieprawidłowo gromadzonych białek, co pozwoliło na wyciągnięcie nowych wniosków dotyczących patogenetycznej choroby. W poniższej pracy podsumowujemy obraz kliniczny, charakterystyczne zmiany patologiczne oraz kryteria diagnostyczne. Na bazie naszych doświadczeń wskazujemy również na kilka zjawisk, które wydają się szczególnie istotne w patogenecie sWZM. Zaliczyć do nich należy: 1) zwiększoną transkrypcję i nadmierne gromadzenie białka prekursorowego β -amyloidu (A β PP) oraz gromadzenie jego fragmentu β -amyloidu; 2) nieprawidłowe gromadzenie cholesterolu i związanych z nim białek; 3) stres oksydacyjny; 4) gromadzenie wewnątrz włókien mięśniowych wielobiałkowych agregatów; 5) nadmierne gromadzenie miostatyny wewnątrz włókien mięśniowych oraz 6) dowody na to, że białka, które nie posiadają prawidłowej, natywnej konformacji, odgrywają rolę w patogenecie sWZM. Zgodnie z naszą główną hipotezą nadmierna ekspresja A β PP wewnątrz starzejących się włókien mięśniowych zapoczątkowuje patogenetyczną kaskadę sWZM.

SŁOWA KLUCZOWE: wtrętowe zapalenie mięśni, sWZM, β -amyloid, kryteria diagnostyczne, patogeneta

Summary

Sporadic inclusion-body myositis (s-IBM), the most common muscle disease of older persons, is of unknown cause, and there is no successful treatment. Interest in sporadic inclusion-body myositis has been enhanced by the recent identification within the s-IBM muscle fibers of several abnormally accumulated proteins, which provides novel and important clues to the pathogenesis of this disorder. Here we summarize the clinical presentation, molecular phenotype, diagnostic criteria, and the newest advances related to seeking the pathogenic mechanism(s) of s-IBM. On the basis of our research, several processes seem to be important in relation to the still speculative pathogenesis: 1) increased transcription and accumulation of amyloid- β precursor protein (A β PP), and accumulation of its proteolytic fragment A β ; 2) abnormal accumulation of cholesterol and its related protein; 3) oxidative stress; 4) accumulations of intramuscle fiber multiprotein aggregates; 5) increased accumulation of myostatin within the muscle fiber and 6) evidence that unfolded/misfolded proteins participate in s-IBM pathogenesis. Our basic hypothesis is that overexpression of A β PP within the aging muscle fibers is an early upstream event causing a subsequent pathogenic cascade.

KEY WORDS: sporadic inclusion-body myositis, s-IBM, amyloid- β , diagnostic criteria, pathogenesis

WSTĘP

Nazwa „wtrętowe zapalenie mięśni” (sWZM – ang. *sporadic inclusion-body myositis*, s-IBM) określa jednostkę chorobową, w której w materiale z biopsji mięśniowej stwierdza się nacieki limfocytarne oraz obecność wewnątrz włókien mięśniowych: 1) wakuoli i 2) charakterystycznych włóknkowych wtrętów w cytoplazmie i jądrach komórkowych.

s-WZM jest najczęstszą zwyrodnieniową chorobą mięśni szkieletowych występującą u osób powyżej 50. roku życia. Wyniki badań przeprowadzonych w ostatnim okresie przybliżyły wyjaśnienie patogenety tej choroby, jednak jej etiologia nadal pozostaje nieznana i w chwili obecnej brak jest skutecznego leczenia.

Na wzrost zainteresowania sWZM wpłynęło odkrycie **wewnątrz** włókien mięśniowych amyloidu o charakterystycznej strukturze drugorzędowej typu β -harmonijki (β -pleated sheet)^(1,2) wraz z innymi patologicznymi zmianami, które przedtem nie były opisane w chorobach mięśni, włączając podobieństwo pomiędzy patologią sWZM i zmianami obserwowanymi w mózgowiu pacjentów z chorobą Alzheimera (*Alzheimer disease*, AD)⁽³⁾. Podobieństwo to dotyczy między innymi charakterystycznych dla obrazu sWZM wielobiałkowych wtrętów wewnątrz włókien mięśniowych, zawierających amyloid- β (A β) i ufosforylowane białko tau (p-tau)⁽³⁾. Oba typy wtrętów zawierają: 1) ubikwitynę; 2) wiele innych akumulowanych białek⁽³⁻⁵⁾; 3) cholesterol⁽⁶⁾ i 4) markery stresu oksydacyjnego⁽⁷⁾. Potencjalne znaczenie tych związków w patogenecie sWZM zostanie opisane w dalszej części pracy.

Nazwa „dziedziczna miopatia wtrętowa” (*hereditary inclusion-body myopathy*, hWZM) została wprowadzona w roku 1993, aby wyróżnić wrodzoną chorobę mięśni z wykładnikami patologicznymi bardzo podobnymi do tych, które obserwuje się w sWZM, z wyjątkiem braku obecności limfocytarnego nacieku zapalnego⁽⁸⁾. Stąd też termin „miopatia” zamiast „zapalenie”. hWZM nie jest tematem niniejszej pracy (szczegółowe informacje można znaleźć w pracy⁽⁹⁾).

CHARAKTERYSTYCZNE OBJAWY KLINICZNE sWZM

Typowy pacjent z wtrętowym zapaleniem mięśni to mężczyzna po 50. roku życia⁽⁹⁻¹²⁾. Objawem głównym tej choroby jest osłabienie siły mięśniowej dotyczące zarówno mięśni proksymalnych, jak i dystalnych (rys. 1). Najbardziej nasilone zmiany w obrębie kończyny dolnej dotyczą mięśni: czworogłowego uda i pośladkowego wielkiego, często również obserwuje się objaw „stopy opadającej”⁽⁹⁻¹²⁾. W obrębie kończyny górnej największe osłabienie siły mięśniowej dotyczy mięśni zginaczy i prostowników palców; mięśnie dwugłowy ramienia i trójgłowy ramienia są zwykle zajęte w umiarkowanym stopniu. Co ciekawe,

a zarazem bardzo charakterystyczne, mięsień zginacz palców głęboki (odpowiedzialny za zginanie w stawach międzypaliczkowych dalszych) jest zwykle znacznie słabszy niż mięsień zginacz palców powierzchowny (współodpowiedzialny za zginanie w stawach śródreżnopaliczkowych i międzypaliczkowych bliższych) (Engel; obserwacje własne). Ma to miejsce pomimo tego, że mięsień zginacz palców powierzchowny styka się bezpośrednio z mięśniem zginaczem palców głębokim. Powód tej niezwyklej podatności/oporności wspomnianych mięśni jest nieznany – być może jego odkrycie okaże się kluczowe dla prewencji i leczenia sWZM.

Postępujący przebieg choroby prowadzi powoli do poważnej niepełnosprawności. Z czasem palce stają się nieporadne i pacjenci mają znaczne trudności z tak podstawowymi czynnościami, jak posługiwanie się długopisem, kluczami, zapinanie guzików i suwaków, noszenie zakupów czy uścisk dłoni. Również wstawanie z krzesła zaczyna sprawiać trudność. Chód staje się bardziej niepewny. Przypadkowe upadki, powodujące niekiedy poważne urazy czaszki i innych kości, mogą mieć miejsce nawet podczas chodzenia po niewielkich nierównościach podłoża, zarówno w domu, jak i poza nim. Za główną przyczynę upadków należy uznać znaczne osłabienie mięśni czworogłowego uda i pośladkowego wielkiego, co zaburza automatyczną kontrolę postawy. Także opadanie stopy może zwiększać ryzyko upadku. Niekiedy u pacjentów z wtrętowym zapaleniem mięśni występują zaburzenia połykania. Dysfagia jest wywołana zwykle zwężeniem górnego odcinka przełyku. Zaburzenia te często można łagodzić, przez szereg miesięcy, a nawet lat, wykonując zabieg rozszerzenia przełyku. Czasami w przebiegu sWZM występuje osłabienie siły mięśni oddechowych. Wśród pacjentów z rozpoznaną miopatią zapalną obecność specyficznych wtrętów zawierających białka obserwuje się jedynie u chorych z sWZM; nie notuje się ich obecności u osób z zapaleniem wielomięśniowym ani



Rys. 1. Typowy obraz kliniczny wtrętowego zapalenia mięśni: widoczna jest atrofia mięśni przedramienia oraz mięśni czworogłowych uda

skórno-mięśniowym. Większość starszych pacjentów z naciekiem limfocytarnym w obrębie mięśni szkieletowych ma sWZM. Pacjenci powyżej 50. roku życia, u których można rozpoznać „czyste” zapalenie wielomięśniowe, są przypadkami niezwykle rzadkimi i w przeciwieństwie do chorych na wtretowe zapalenie mięśni odpowiedź tej grupy na leczenie immunosupresyjne (prednizon) jest bardzo dobra. Czasami zapalenie skórno-mięśniowe rozpoczyna się po 50. roku życia i bywa związane z toczącym się procesem nowotworowym.

Późnomłodzieńcza postać wtretowego zapalenia mięśni – late-juvenile s-IBM (LJ-s-IBM). Jest to rzadka odmiana sWZM, ostatnio opisana u trzech młodych (wszyscy poniżej 21. roku życia), niespokrewnionych mężczyzn, u których osłabienie siły mięśniowej występowało w charakterystycznej dla sWZM lokalizacji, włącznie ze znacznym osłabieniem mięśnia czworogłowego uda⁽¹³⁾. W preparatach z biopsji mięśniowych pochodzących od tych pacjentów obserwowano cechy typowe dla sWZM: włókna mięśniowe z wakuolami, naciek limfocytarny oraz wtręty zawierające białka charakterystyczne dla sWZM⁽¹³⁾. Jednakże niektóre z patologicznych wykładników, obecne również w omawianych przypadkach, wykazywały podobieństwo do cech, które obserwuje się w dziedzicznej miopatii wtretowej (hWZM), były to: a) stosunkowo niewielka reakcja pozytywna w barwieniu czerwienią Kongo, w postaci zlokalizowanych wewnątrzkomórkowo blaszek; b) nadmiernie ufosforylowane białko tau (p-tau) u tych pacjentów raczej w postaci prostych włókien aniżeli parzystych, helikalnie skręconych włókienek – wykazywało ono brak niektórych p-tau epitopów typowych dla sWZM⁽¹⁴⁾. Biopsja wykonana u jednego z pacjentów w wieku 30 lat ujawniła obecność złogów amyloidowych w obrębie błony mięśniowej naczyń krwionośnych (cecha ta nigdy nie jest obserwowana w typowym wtretowym zapaleniu mięśni). Złogi te nie wykazywały immunopozytywności w badaniu na amyloid-β, transtyretynę oraz łańcuchy lekkie κ i λ⁽¹³⁾. Inny pacjent w wieku 42 lat nadal zachowywał siłę w obrębie palców. Wczesny początek LJ-s-IBM może być zależny od nieznanego jeszcze, *uwrażliwiających genów*, prawdopodobnie powiązanych ze zjawiskiem starzenia się we włóknach mięśniowych⁽¹³⁾. Nietypowe cechy mogą być natomiast wynikiem oddziaływania „młodzieńczego” środowiska komórkowego.

RZADKIE, LECZ POTENCJALNIE WAŻNE ZWIĄZKI WTRĘTOWEGO ZAPALENIA MIĘŚNI Z INNYMI CHOROBYMI UKŁADOWYMI – HIPOTEZY PATOGENEZY sWZM

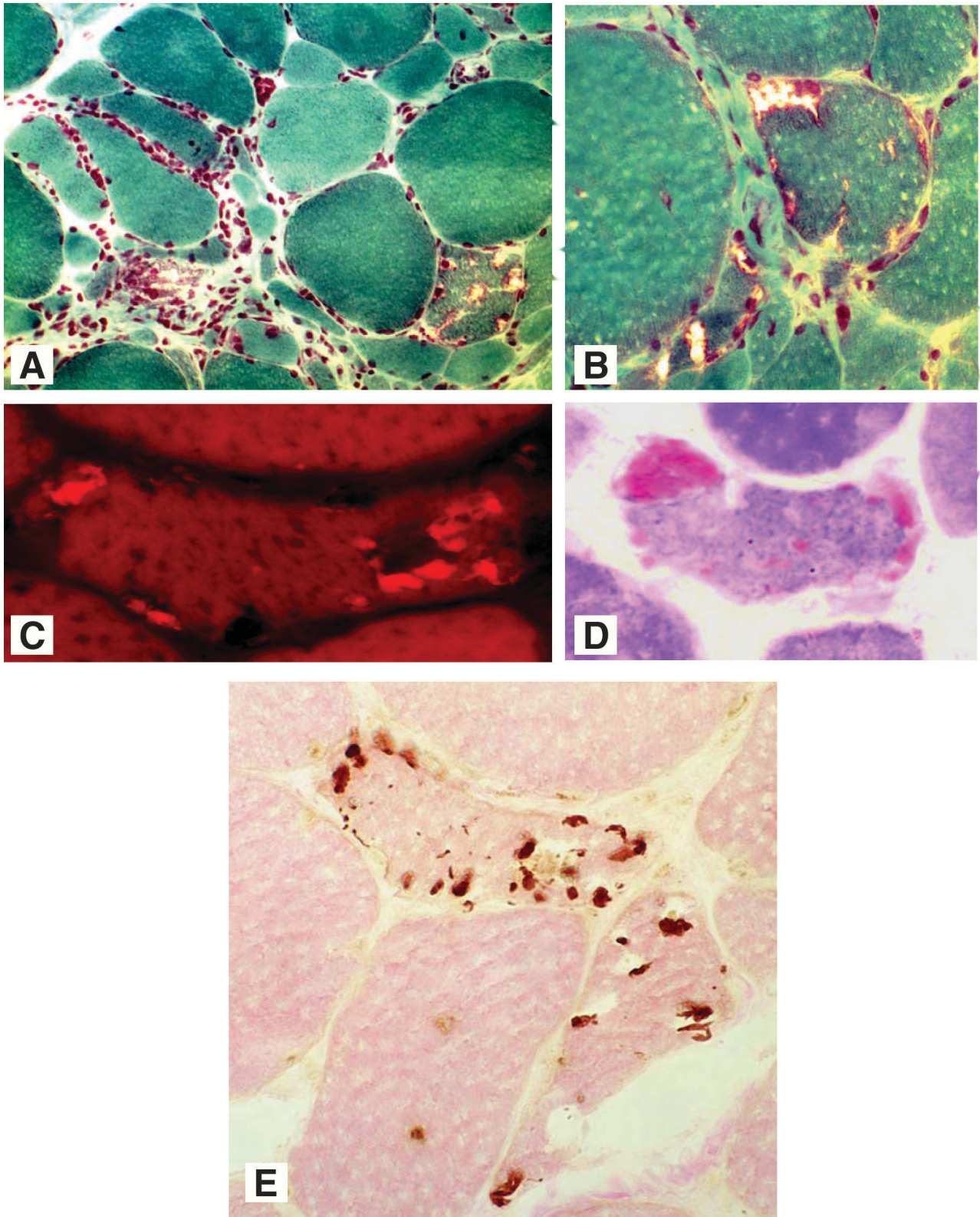
Mutacja genu kodującego transtyretynę i sWZM. 70-letni mężczyzna, Afroamerykanin, prezentował objawy zarówno wtretowego zapalenia mięśni, jak i amyloidozy serca⁽¹⁵⁾. Pacjent ten był homozygotą z mutacją punktową w genie kodującym transtyretynę (TTR), zmieniającą występującą normalnie w pozycji 122. walinę na izo-

leucynę (*Val 122/Ile*)⁽¹⁴⁾. Prócz zmian patologicznych typowych dla sWZM wyniki biopsji mięśniowej tego pacjenta wskazywały na pewne wyjątkowe cechy, obejmujące występowanie: a) wewnątrz włókien mięśniowych z wakuolami kongofilnych złogów, wykazujących immunoreaktywność zarówno dla TTR, jak i Aβ (TTR nie występuje w typowych przypadkach wtretowego zapalenia mięśni); b) w obrębie ścian naczyń krwionośnych kongofilnego amyloidu, również wykazującego immunoreaktywność zarówno dla TTR, jak i Aβ (nigdy nie występuje w naczyniach krwionośnych u „zwykłych” pacjentów z sWZM)⁽²⁾.

Mutacja TTR *Val 122/Ile*, występująca u tego pacjenta, jest zarazem najczęstszą przyczyną starczej amyloidozy sercowej wśród populacji Afroamerykanów⁽¹⁶⁾. Stwierdzona u naszego chorego mutacja TTR mogła odgrywać rolę czynnika ułatwiającego tworzenie i gromadzenie się włókienek Aβ wewnątrz jego włókien mięśniowych i naczyń krwionośnych. W innych układach prawidłowa, niezmutowana TTR działa protekcyjnie – izolując Aβ, zapobiega tworzeniu się włókienek amyloidu *in vitro* i osłabia toksyczność Aβ *in vivo*⁽¹⁷⁾. Zakładając, że u naszego pacjenta amyloidozę serca, amyloidozę w obrębie jego naczyń krwionośnych i wtretowe zapalenie mięśni są związane z występowaniem zmutowanej TTR, wysunęliśmy hipotezę, iż może on być *mutacją uwrażliwiającego genu*^(14,18). Nasze eksperymenty potwierdziły tę teorię⁽¹⁹⁾. W nawiązaniu do tego mutacje lub polimorfizm innych, nieznanego jeszcze *uwrażliwiających genów*, zarówno wrodzone, jak i indukowane przez czynniki środowiskowe, wirusy czy starzenie, mogą promować rozwój choroby u wielu, jeżeli nie u wszystkich pacjentów z wtretowym zapaleniem mięśni. Jeżeli u naszego pacjenta mutacja TTR *Val 122/Ile* była czynnikiem uwrażliwiającym, istniała ona prawdopodobnie od momentu poczęcia, niemniej słabość mięśni rozwinęła się dopiero po 60. roku życia. Fakt ten wskazuje na wpływ procesów starzenia oraz zmienionego przez infekcję wirusową bądź czynniki środowiskowe otoczenia komórkowego na rozwój sWZM.

HTLV-1 seropozytywność i wtretowe zapalenie mięśni.

W materiale uzyskanym od kilku pacjentów z sWZM wykazano obecność przeciwciał przeciw wirusowi HTLV-1, co wzbudziło podejrzenia, że retrowirus ten może być rzadką przyczyną wtretowego zapalenia mięśni^(11,20-24). Byłby to argument potwierdzający naszą hipotezę, że patogenezę sWZM może mieć podłoże wirusowe^(3-5,21,22). U jednego z naszych pacjentów zastosowanie metody immunocytochemicznej umożliwiło wykrycie antygenu p19 HTLV-1 wewnątrz włókien mięśniowych⁽²²⁾. Inne grupy^(20,23), badając biopsje mięśniowe, obserwowały pozytywną reakcję na obecność antygenów HTLV-1 jedynie w obrębie makrofagów. Ostatnio opisany pacjent z wtretowym zapaleniem mięśni i współwystępującą HTLV-1-zależną mielopatią posiadał prowirusowe DNA i wirusowy mRNA transkrypt w obrębie nacie-



Rys. 2. Cechy diagnostyczne wtęretowego zapalenia mięśni (sWZM) obserwowane w biopsji mięśniowej przy pomocy mikroskopu świetlnego, A-D. A-B – widoczne w potrójnym barwieniu w modyfikacji Engela⁽²⁶⁾ włókna mięśniowe z wakuolami i zapalny naciek komórek jednojądrzastych. C – barwienie czerwinią Kongo, obserwowane poprzez Texas Red filtr po zastosowaniu światła fluorescencyjnego, wykazuje obecność nieregularnych złogów amyloidowych wewnątrz nieprawidłowych włókien mięśniowych. D – barwienie fioletem krystalicznym, wykazuje obecność metachromatycznych, różowo-czerwonych wtęretów amyloidowych wewnątrz włókien mięśniowych. A-B – x 900; C-D – x 1200

kających mięśnie komórek zapalnych⁽²⁴⁾. Oparcie się na skutecznym leczeniu immunosupresyjnym HTLV-1 zależnej mielopatii mogłoby dać interesujące efekty w przypadku HTLV-1 sWZM.

Zespół postpolio i wtrętowe zapalenie mięśni. Występowanie wtrętowego zapalenia mięśni opisano u kilku pacjentów z przebytą chorobą polio^(20,21,25). Fakt ten przemawia za hipotezą, że rozwój wtrętowego zapalenia mięśni jest następstwem infekcji wirusowej, którą pacjenci ci przebyli kilkadziesiąt lat wcześniej.

Neuropatia. We wtrętowym zapaleniu mięśni objawy neuropatii były rozpoznawane zarówno przez nas, jak i przez inne grupy badaczy⁽¹¹⁾.

Inne. Rzadkie związki wtrętowego zapalenia mięśni z innymi zespołami chorobowymi zostały omówione przez innych autorów⁽¹¹⁾.

MORFOLOGICZNE KRYTERIA DIAGNOSTYCZNE WTRĘTOWEGO ZAPALENIA MIĘŚNI (sWZM)

Charakterystyczne dla sWZM zmiany patologiczne można zaobserwować w materiale biopsyjnym przy pomocy mikroskopu świetlnego po zastosowaniu potrójnego barwienia metodą Engela⁽²⁶⁾. Zmiany te obejmują: 1) występowanie włókien mięśniowych z jedną lub kilkoma wakuolami, o różnej wielkości i nieregularnych brzegach oraz 2) różnego stopnia naciek limfocytny z obecnością makrofagów (rys. 2A-B). Wbrew powszechnej opinii wiele wakuoli w sWZM nie jest obrzeżonych (ang. *rimmed*) bądź są jedynie nieznacznie obrzeżone. Zwykle 60-80% włókien z wakuolami obecnych na badanym przekroju zawiera złogi amyloidu widoczne po zastosowaniu barwienia czerwienią Kongo (rys. 2C), tioflawiną-S lub fioletem krystalicznym (rys. 2D). Ponieważ złogi te mogą być bardzo małe, a niejednokrotnie ich obecność stwierdza się jedynie w nielicznych włóknach mięśniowych, często pozostają niezauważone, jeżeli analizę przeprowadza się wyłącznie w oparciu o barwienie czerwienią Kongo w świetle spolaryzowanym i pozostałe wyżej wspomniane barwienia. Identyfikację złogów amyloidowych znacznie ułatwia zastosowanie techniki fluorescencyjnej dla wzmocnienia barwienia czerwienią Kongo (rys. 2C)⁽²⁷⁾.

W celu zdiagnozowania sWZM zalecamy stosowanie następujących kryteriów morfologicznych:

1. Barwienie *modified trichrome* metodą Engela⁽²⁶⁾ – w celu uwidocznienia: włókien mięśniowych z wakuolami, nacieku komórek jednojądrzastych (rys. 2A-B) oraz sporadycznej obecności włókien *ragged-red*.
2. Opisane przez Askanasa barwienie czerwienią Kongo z użyciem wzmocnienia fluorescencyjnego – w celu uwidocznienia występujących wewnątrz włókien mięśniowych struktur kongofilnych (rys. 2C).
3. Immunohistochemiczne barwienie na obecność parzystych, helikalnie skręconych włókienek (*paired heli-*

cal filaments, PHFs) przy użyciu monoklonalnych przeciwciał SMI-31 (rys. 2E), które rozpoznają swoje ufosforylowane białko tau w PHFs zarówno u pacjentów z sWZM^(28,29), jak i u chorych z AD⁽³⁰⁾.

4. W przypadku braku przeciwciał SMI-31 zaleca się barwienie na obecność ubikwityny⁽³¹⁾ (pozytywna reakcja ułatwia różnicowanie sWZM i zapalenia wielomięśniowego). Wtręty zawierające ubikwitynę mogą być rozpoznawane zarówno w preparatach mrożeniowych, jak i utrwalonych formaliną preparatach parafinowych jedynie u pacjentów z sWZM. Jest to nie możliwe w przypadku innych miopatii zapalnych^(31,32).

ULTRASTRUKTURALNE ZMIANY WE WŁÓKNACH MIĘŚNIOWYCH W sWZM

Charakterystyczne dla tego schorzenia parzyste, helikalnie skręcone włókienka (*paired helical filaments*, PHFs) są bardzo podobne do tych, które opisano w splotach neurowłókiennych obecnych w mózgowiu chorych na AD. Mają one średnicę około 15-21 nm, występują zwykle w skupiskach i zawierają wielokrotnie fosforylowane białko tau (rys. 3A-B)⁽³⁾. PHFs występują zarówno we włóknach zawierających, jak i niezawierających wakuoli. Od 2 do 6% jąder komórkowych we włóknach mięśniowych zawiera wtręty – skupiska (inkluzje) „tubulofilamentów” o średnicy 15-21 nm, które na niektórych przekrojach mają wygląd PHFs (bardzo zbliżony do tych, które obserwuje się w cytoplazmie).

W sWZM, w cytoplazmie zwakuolizowanych włókien mięśniowych, a często i cytoplazmie włókien bez widocznych wakuoli, obecne są Aβ pozytywnie: 1) zgrupowania 6-10 nm filamentów; 2) drobny kłaczkowo-błoniasty materiał oraz 3) materiał amorficzny^(8,31). W zwakuolizowanych włóknach obserwuje się również mielinopodobne spirale i inne pozostałości lizosomalne. Rzadko występują natomiast mitochondria o nieprawidłowej ultrastrukturze – zawierające wtręty w okolicy grzebieni.

ROZWAŻANIA PATOGENETYCZNE

Tradycyjnie sWZM było uważane za chorobę mięśni o podłożu zapalnym, podobnie jak zapalenie wielomięśniowe i zapalenie skórno-mięśniowe. Istnieje wiele doniesień literaturowych, w których autorzy zajmowali się aspektem zapalnym sWZM^(10,20,33). O ile jednak obecność wykładników zapalenia w materiale biopsyjnym u pacjentów z sWZM jest oczywista, o tyle ich znaczenie w patogenezie tej choroby pozostaje ciągle niepewne. W przeciwieństwie do pacjentów z zapaleniem wielomięśniowym i skórno-mięśniowym chorzy na sWZM, jako grupa, bardzo słabo odpowiadają na leczenie immunosupresyjne^(3,10,33). Zapalenie limfocytarne może występować w wielu uwarunkowanych genetycznie chorobach mięśni uważanych za niezapalne. Dotyczy to między

innymi: dystrofii twarzowo-łopatkowo-ramieniowej, niedoboru lamininy-2 czy niedoboru dysferliny, z kolei praktycznie nie występuje ono w dziedzicznej miopatii wtrętowej. [Jedynie wyjątkowo w preparatach z biopsji mięśniowych pacjentów z hWZM obserwuje się śladowe wykładniki stanu zapalnego (Askanas i Engel, nieopublikowane obserwacje, 2000)]. Dziedziczne miopatie wtrętowe należą do chorób wielogenowych, świadczą o tym opisane przypadki mutacji w obrębie różnych genów. hWZM obejmują szereg zespołów chorobowych, autosomalnych recesywnych i autosomalnych dominujących, charakteryzujących się postępującym osłabieniem mięśni i różnorodnym obrazem klinicznym. Jednak unikalna kombinacja białek wchodzących w skład wtrętów w nieprawidłowych włóknach mięśniowych jest niezwykle podobna w sWZM i hWZM i zgodnie z naszymi obserwacjami nie występuje w innych chorobach mięśniowych. Jedyny wyjątek stanowi dystrofia oczno-gardzielowa (*oculopharyngeal muscular dystrophy*, OPMD)^(9,34), co może być argumentem za klasyfikowaniem tej jednostki chorobowej jako postaci hWZM. W rzadkich przypadkach można znaleźć niektóre cechy sWZM w innych chorobach mięśni (Askanas, dane nieopublikowane⁽³⁵⁾), jednak ich znaczenie jest niepewne. Rośnie również lista dowodów (szczegóły w dalszej części pracy), że mechanizmy inne niż immunologiczne lub/i zapalne odgrywają kluczową rolę w patogenezie wtrętowego zapalenia mięśni.

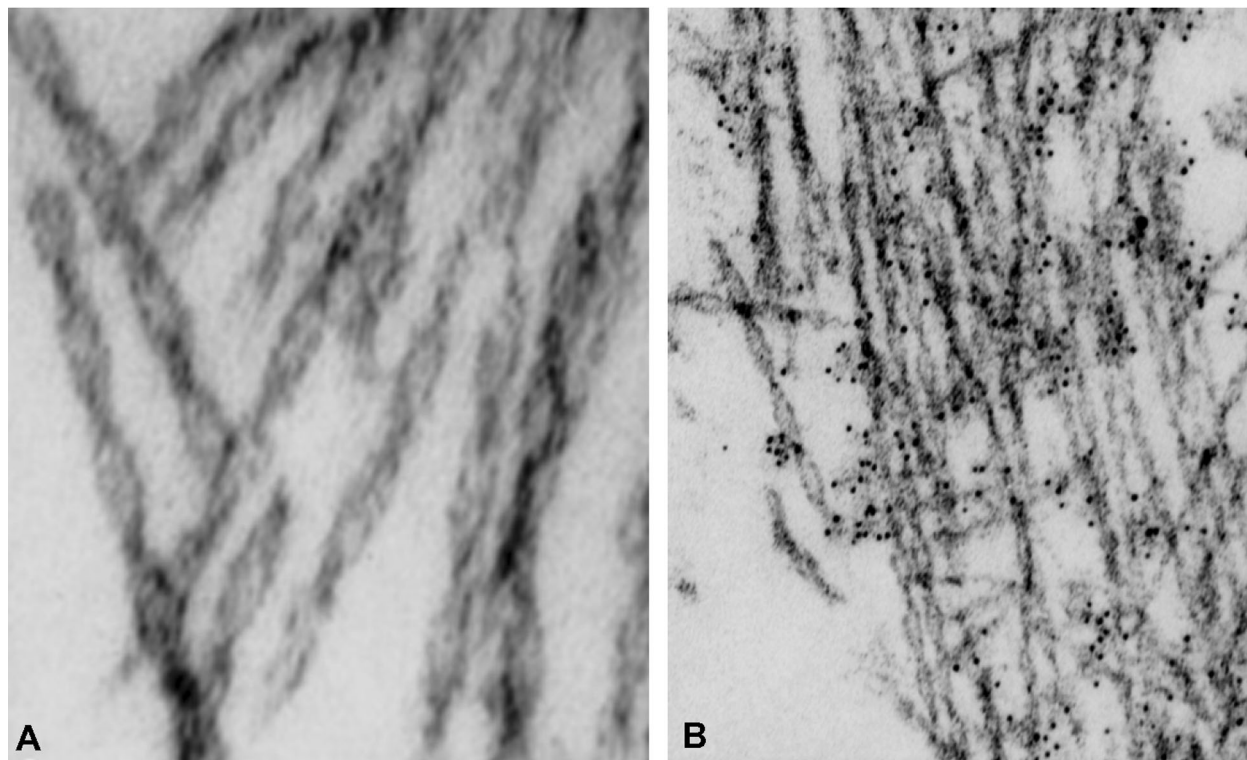
Zgodnie z naszą teorią środowisko starzejących się włókien mięśniowych jest istotne w promowaniu charakterystycznych dla sWZM: 1) rozwoju zwyrodnienia wakuolarnego oraz 2) wieloogniskowej akumulacji różnych, potencjalnie toksycznych białek, które mogą przyspieszać rozwój choroby. W sWZM starzenie się włókien mięśniowych oraz całego organizmu pacjenta może zarówno powodować, jak i być odpowiedzią na zapalenie limfocytarne^(4,5).

Uważamy, że sWZM jest chorobą zwyrodnieniową mięśni: 1) rozwijającą się w starzejących się komórkach; 2) związaną z wewnątrzkomórkową akumulacją i agregacją wielu białek oraz 3) wiążącą się z nieprawidłowym przekazywaniem sygnałów wewnątrzkomórkowych i transkrypcją, co prowadzi do procesu degeneracyjnego specyficznego dla WZM.

Poniżej przedstawiamy najbardziej istotne molekularne aspekty dotyczące włókien mięśniowych o fenotypie sWZM oraz, oparte na najnowszych danych, rozważania dotyczące patogenezy tej choroby.

DOWODY NA WEWNĄTRZKOMÓRKOWĄ TOKSYCZNOŚĆ A β PP/A β ORAZ ROLA W PATOGENEZIE sWZM

Proponowany przez nas model patogenezy sWZM zakłada, że kluczową rolę w procesie chorobowym odgrywa



Rys. 3. Cechy sWZM obserwowane we włóknach mięśniowych przy zastosowaniu mikroskopii elektronowej. A – liczne parzyste, helikalnie skręcone włókienka (PHFs). B – skupiska PHFs z pozytywną reakcją po zastosowaniu przeciwciał SMI-31 (rozpoznających wielokrotnie fosforylowane białko tau) sprzężonych z 5 nm cząsteczkami złota. A – x 120 000; B – x 60 000

wzrost wewnątrzkomórkowej puli białka prekursorowego β -amyloidu (A β PP), amyloidu- β (A β), a prawdopodobnie także oligomerów A β ⁽⁵⁾. Akumulacja tych białek może powodować: 1) zaburzenia przepływu informacji, wpływające na inne geny; 2) wiązanie i zmienianie funkcji różnorodnych białek, normalnie występujących wewnątrzkomórkowo; 3) gromadzenie innych, potencjalnie toksycznych białek oraz cholesterolu; 4) wystąpienie stresu oksydacyjnego oraz 5) powstawanie zaburzeń w mitochondriach i innych organellach komórkowych^(4,5). Dodatkowo doniesienia o prawdopodobnej wewnątrzkomórkowej toksyczności fragmentów A β w AD⁽³⁶⁾ potwierdzają naszą wcześniejszą hipotezę i odpowiadają naszemu modelowi patogenezy sWZM (szczegóły w pracach⁽³⁷⁻⁴⁰⁾). Uważamy także, że nadmierna produkcja A β PP we włóknach mięśniowych pacjentów chorych na sWZM może być odpowiedzialna za „mięśniowo zależne nieprawidłowe unerwienie”⁽³⁾ oraz nieprawidłowości obserwowane w strukturze złączy nerwowo-mięśniowych⁽⁴¹⁾. Zaburzenia w obrębie tych złączy, obecne w sWZM, mają swój odpowiednik w zaburzeniach synaptycznych w AD⁽⁴²⁾. Uważamy, że patomechanizm również tych zmian, analogicznie do sWZM, może być związany z wewnątrzkomórkowymi nieprawidłowościami w komponencie postsynaptycznej.

Dodatkowo naszą hipotezę o roli „wewnątrzkomórkowej puli A β PP/A β ” w patomechanizmie sWZM potwierdzają wyniki badań przeprowadzonych na myszach transgenicznych, u których nadmierna produkcja A β PP we włóknach mięśniowych powoduje zmiany typu sWZM^(43,44). Nasze najnowsze badania wskazują również, że nieprawidłowy system przemian posttranslacyjnych A β PP prowadzi do wzrostu produkcji toksycznego fragmentu A β 42, którego obecność stwierdza się we włóknach mięśniowych chorych na sWZM. W systemie tym należy uwzględnić kompleksy β - i γ -sekretyazy, których elementy składowe, odpowiednio: BACE-1, BACE-2 oraz nikastryna, prese-nilina-1 i presenilina-2, wykazują zwiększoną ekspresję we włóknach mięśniowych pacjentów z sWZM⁽⁴⁵⁻⁴⁸⁾.

ROLA CHOLESTEROLU W PATOGENEZIE WTRĘTOWEGO ZAPALENIA MIĘŚNI

Wolny cholesterol jest nadmiernie gromadzony we włóknach chorych na sWZM⁽⁶⁾, gdzie współwystępuje również z nieprawidłowo gromadzonymi A β i p-tau. Wywołany eksperymentalnie wzrost cholesterolu w hodowlach komórkowych (innych niż mięśniowe – dokładne dane w pracy Jaworskiej-Wilczyńskiej⁽⁶⁾) zwiększał produkcję A β i amyloidogenezę. Także w hodowlach normalnych, ludzkich włókien mięśniowych, w których eksperymentalnie wywołano nadmierną produkcję A β PP, zwiększenie poziomu cholesterolu powodowało odkładanie się A β ⁽⁴⁹⁾. Biorąc pod uwagę powyższe wyniki, uważamy za możliwe, iż wewnątrz mięśniowych włókien pacjentów z wtrętowym zapaleniem mięśni cholesterol, zamiast być

prawidłowo metabolizowany bądź usuwany, jest odkładany w postaci depozytów. Depozyty te lokalizują się w tych samych kompartmentach komórkowych co depozyty A β ; prawdopodobnie są to miejsca, gdzie A β PP podlega obróbce, przez co obecność cholesterolu może zwiększać produkcję A β oraz zaburzać jego prawidłowe składanie i powodować agregację.

STRES OKSYDACYJNY MA POTENCJALNY WPŁYW NA PATOGENEZĘ ZMIAN W sWZM

Istnieje coraz więcej dowodów wskazujących, że toksyczność wolnych rodników może brać udział w patogenezie wtrętowego zapalenia mięśniowego. Wykazano^(7,50,51), iż we włóknach mięśniowych chorych na sWZM gromadzą się zarówno wskaźniki stresu oksydacyjnego, jak i enzymy uznawane za odpowiedzialne w komórkowej obronie przeciw temu procesowi (szczegółowe omówienie tego zagadnienia w pracach przeglądowych^(3,52)).

PRAWDOPODOBNE MECHANIZMY LEŻĄCE U PODSTAW TWORZENIA SIĘ WTRĘTÓW WE WŁÓKNACH MIĘŚNIOWYCH PACJENTÓW Z sWZM

Choroby charakteryzujące się zaburzeniami w prawidłowym fałdowaniu białek (uzyskiwaniu przez białka prawidłowej konformacji) oraz agregacji są uznawane za „choroby konformacyjne” (*conformational diseases*) (opisane szczegółowo w pracach^(53,54)). Zgodnie z wieloma propozycjami w szeregu chorób neurodegeneracyjnych istnieje silny związek pomiędzy agregacją białek i tworzeniem nierozpuszczalnych, wewnątrzkomórkowych kompleksów białkowych, które tworzą ciała wtrętowe⁽⁵⁵⁻⁵⁷⁾. Niektóre białka, np. α -synukleina, komórkowe białko prionowe i SOD1, które są nadmiernie gromadzone we wtrętach/agregatach białkowych wewnątrz włókien mięśniowych u pacjentów z sWZM^(3,5), mają – podobnie jak A β i białko tau – tendencję do nieprawidłowego fałdowania się i tworzenia amyloidu o strukturze β -harmonijki^(58,59). Zgodnie z tymi doniesieniami sugerujemy, iż tworzenie się charakterystycznych dla sWZM ubikwitynowanych, wielobiałkowych wtrętów wewnątrz włókien mięśniowych odbywa się na skutek zaburzenia procesu fałdowania (uzyskiwania przez nie prawidłowej konformacji) białek. Zarówno *in vitro*, jak *in vivo* wykazano, że początkowo prawidłowe białka mogą pozostawać niesfałdowane bądź nieprawidłowo sfalutowane (nie uzyskać prawidłowej konformacji ostatecznej) na skutek działania wielu czynników, takich jak: makromolekularne zagęszczanie (*macromolecular crowding*), stres oksydacyjny, narażenie na substancje toksyczne oraz procesy starzenia się. We włóknach mięśniowych pacjentów z sWZM obserwuje się wzrost ekspresji znaczników stresu oksydacyjnego: nasileniu ulega proces transkrypcji wielu genów, m.in. A β PP-751, komórkowego białka prionowego, en-

zymów zaangażowanych w ochronę komórki przed skutkami stresu oksydacyjnego oraz białka c-Jun. Powyższe czynniki mogą brać udział w nasilaniu transkrypcji, hamowaniu procesu degradacji białek i doprowadzić do nieprawidłowego odkładania się białek oraz zjawiska makromolekularnego zagęszczania. Te z kolei procesy prowadzą do zaburzeń w fałdowaniu białek, najprawdopodobniej także nieprawidłowej glikozylacji oraz innych szkodliwych następstw w funkcjonowaniu zarówno poszczególnych białek, jak i całych włókien mięśniowych. W dalszej części tego rozdziału postaramy się przedstawić przebieg procesów poprzedzających i prowadzących do powstawania ciał wtrętowych w sWZM. Dodatkowymi dowodami na to, że nieprawidłowe fałdowanie białek odgrywa rolę w patogenezie sWZM, są obecność tzw. stresu w retikulum endoplazmatycznym (*ER stress*) i istnienie mechanizmów, poprzez które komórka stara się obronić przed skutkami tego stresu – komórkowa odpowiedź na obecność nieprawidłowo sfalowanych białek w ER (*unfolded protein response*, UPR) (opisane szczegółowo w pracach przeglądowych⁽⁶⁰⁻⁶³⁾).

Zahamowanie proteasomu i tworzenie się agresomów

System ubikwityna-proteasom (*ubiquitin-proteasome system*, UPS) jest główną drogą degradacji białek w komórkach eukariotycznych^(64,65). Jest on zaangażowany w usuwanie szeregu białek, włącznie z prawidłowymi białkami o krótkim okresie życia oraz nieprawidłowo sfalowanymi bądź uszkodzonymi w inny sposób białkami. Zahamowanie UPS prowadzi do wewnątrzkomórkowego gromadzenia i agregacji białek o nieprawidłowej konformacji^(54,66,67) oraz tworzenia się struktur zwanych agresomami⁽⁶⁸⁻⁷⁰⁾. Poza obecnością różnorodnych nieprawidłowo sfalowanych białek agresomy charakteryzuje obecność γ -tubuliny. Zwykle zawierają one również ubikwitynę, różne podjednostki enzymatycznego kompleksu proteasomu, białko szoku termicznego (Hsp)70 i inne białka. Nasze najnowsze badania wykazały zaburzenia funkcjonowania proteasomów w mięśniach chorych na sWZM. Świadczą o tym: 1) gromadzenie się podjednostki 26S proteasomu; 2) obniżenie aktywności proteasomów; 3) gromadzenie się agresomów⁽⁷¹⁻⁷³⁾. Tak więc nieprawidłowości w systemie proteasomu mogą odgrywać ważną rolę w patogenezie sWZM. Zgodnie z naszą teorią białka o nieprawidłowej konformacji mogą być odpowiedzialne za toksyczność wewnątrzkomórkową, zanim jeszcze zaczną wiązać się ze sobą nawzajem i tworzyć ciała wtrętowe. Możliwe jest również, że wskutek agregacji cytotoksyczność białek o nieprawidłowej konformacji zmniejsza się, aczkolwiek nie jest to pewne.

Błędy w procesie transkrypcji; gromadzenie się zmutowanej formy ubikwityny (UBB⁺¹)

UBB⁺¹ produkowana jest na skutek występującego w procesie transkrypcji „molekularnego błędu odczytu”, typowego dla starzejących się komórek. Nieprawidłowy

transkrypt tworzy się jako rezultat utraty dwóch nukleotydów podczas lub po procesie transkrypcji, a następnie podlega procesowi translacji z delecją i przesunięciem ramki odczytu +1^(74,75). Ostatnie doniesienia wykazały nadmierne gromadzenie się UBB⁺¹ w mózgowiu chorych na AD^(74,75). We włóknach mięśniowych chorych na wtrętowe zapalenie mięśni również stwierdzono gromadzenie się UBB⁺¹ i współwystępowanie tego białka z A β oraz p-tau⁽⁷⁶⁾. Procesy starzenia się i stres oksydacyjny najprawdopodobniej nasilają gromadzenie się UBB⁺¹ w mózgowiu osób z AD i zapewne mogą odgrywać podobną rolę we włóknach mięśniowych chorych na sWZM. UBB⁺¹ jest toksyczne dla komórek, ponieważ ubikwitynowana forma tego białka hamuje proteasom⁽⁷⁷⁾. Niewykluczone jest również istnienie innych toksycznych mechanizmów działania UBB⁺¹.

ROLA MIOSTATYNY

Miostatyna należy do nadrodziny białek zwanych transformującymi czynnikami wzrostu- β (szczegółowe informacje w pracy⁽⁷⁸⁾). Ponieważ zanik mięśniowy (atrofia) jest jednym z ważniejszych elementów składających się na obraz fenotypowy sWZM, zbadaliśmy ekspresję miostatyny we włóknach mięśniowych pacjentów z wtrętowym zapaleniem mięśni⁽⁷⁹⁾. Nasze badania wykazały: a) na poziomie mikroskopii świetlnej i elektronowej – gromadzenie miostatyny wewnątrz włókien mięśniowych; współwystępuje tam z A β ; b) przy zastosowaniu techniki Western-blottingu – zwiększoną ilość zarówno miostatyny, jak i jej prekursora; c) przy zastosowaniu techniki immunoprecypitacji – tworzenie przez prekursor miostatyny kompleksu z A β . Wyniki te sugerują, iż miostatyna oraz jej prekursor, samodzielnie bądź wiążąc się z A β , mogą odgrywać nową, prawdopodobnie szkodliwą rolę w patogenezie sWZM.

WNIOSKI KOŃCOWE

W powyższej pracy przedstawiliśmy w skrócie najbardziej istotne odkrycia związane z patogenezą sWZM. Nie stanowią one jeszcze ostatecznej odpowiedzi na pytanie, jakie są przyczyna i najskuteczniejsze leczenie tej choroby, ale wskazują na potencjalnie najatrakcyjniejsze kierunki, w których należy zmierzać, by odpowiedzieć na te pytania i pomóc pacjentom chorym na sWZM. Przykładami potencjalnych dróg terapeutycznych są: 1) obniżenie wewnątrzkomórkowej ekspresji β -sekreazy, co może doprowadzić do obniżenia produkcji toksycznego oligomeru A β wewnątrz włókien mięśniowych; 2) usunięcie wolnych rodników oraz zapobieganie ich tworzeniu wewnątrz włókien mięśniowych; 3) zapobieganie nieprawidłowemu zwijaniu oraz niezwijaniu się białek mięśniowych i/lub ułatwieniu ich usuwania z komórki; 4) zapobieganie nieprawidłowej agregacji białek oraz 5) obniżenie ilości miostatyny.

PIŚMIENNICTWO:

BIBLIOGRAPHY:

- Mendell J.R., Sahenk Z., Gales T., Paul L.: Amyloid filaments in inclusion body myositis. Novel findings provide insight into nature of filaments. *Arch. Neurol.* 1991; 48: 1229-1234.
- Askanas V., Engel W.K., Alvarez R.B.: Light and electron microscopic localization of β -amyloid protein in muscle biopsies of patients with inclusion-body myositis. *Am. J. Pathol.* 1992; 141: 31-36.
- Askanas V., Engel W.K.: Inclusion-body myositis: newest concepts of pathogenesis and relation to aging and Alzheimer disease. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2001; 60: 1-14.
- Askanas V., Engel W.K.: Inclusion-body myositis and myopathies: different etiologies, possibly similar pathogenic mechanisms. *Curr. Opin. Neurol.* 2002; 15: 525-531.
- Askanas V., Engel W.K.: Proposed pathogenetic cascade of inclusion-body myositis: importance of amyloid- β , misfolded proteins, predisposing genes, and aging. *Curr. Opin. Rheumatol.* 2003; 15: 737-744.
- Jaworska-Wilczynska M., Wilczynski G.M., Engel W.K. i wsp.: Three lipoprotein receptors and cholesterol in inclusion-body myositis muscle. *Neurology* 2002; 58: 438-445.
- Yang C.C., Alvarez R.B., Engel W.K., Askanas V.: Increase of nitric oxide synthases and nitrotyrosine in inclusion-body myositis. *Neuroreport* 1996; 8: 153-158.
- Askanas V., Alvarez R.B., Engel W.K.: Beta-amyloid precursor epitopes in muscle fibers of inclusion body myositis. *Ann. Neurol.* 1993; 34: 551-560.
- Askanas V., Engel W.K.: Newest approaches to diagnosis and pathogenesis of sporadic inclusion-body myositis and hereditary inclusion-body myopathies, including molecular-pathologic similarities to Alzheimer disease. W: Askanas V., Serratrice G., Engel W.K. (red.): *Inclusion-Body Myositis and Myopathies*. Cambridge University Press, 1998: 3-78.
- Mastaglia F.L., Garlepp M.J., Phillips B.A., Zilko P.J.: Inflammatory myopathies: clinical, diagnostic and therapeutic aspects. *Muscle Nerve* 2003; 27: 407-425.
- Mikol J., Engel A.G.: Inclusion-body myositis. W: Engel A.G., Franzini-Armstrong C. (red.): *Myology Basic and Clinical*. Wyd. 3, McGraw-Hill Medical Publishing Division, 2004; 2: 1367-1388.
- Engel W.K., Askanas V.: Inclusion-body myositis: clinical, diagnostic, and pathologic aspects. *Neurology w druku* 2006.
- Askanas V., Engel W.K.: Late-juvenile sporadic inclusion body myositis: a newly recognized syndrome. *Ann. Neurol.* 2000; 48: 439-440.
- Askanas V., Engel W.K., Alvarez R.B. i wsp.: Inclusion body myositis, muscle blood vessel and cardiac amyloidosis, and transthyretin Val22Ile allele. *Ann. Neurol.* 2000; 47: 544-549.
- Kula R.W., Engel W.K., Line B.R.: Scanning for soft-tissue amyloid. *Lancet* 1977; 1: 92-93.
- Jacobson D.R., Pastore R.D., Yaghoubian R. i wsp.: Variant-sequence transthyretin (isoleucine 122) in late-onset cardiac amyloidosis in black Americans. *N. Engl. J. Med.* 1997; 336: 466-473.
- Stein T.D., Johnson J.A.: Lack of neurodegeneration in transgenic mice overexpressing mutant amyloid precursor protein is associated with increased levels of transthyretin and the activation of cell survival pathways. *J. Neurosci.* 2002; 22: 7380-7388.
- Askanas V., Engel W.K., McFerrin J., Vattemi G.: Transthyretin Val22Ile, accumulated A β , and inclusion-body myositis aspects in cultured muscle. *Neurology* 2003; 61: 257-260.
- Askanas V., Engel W.K.: Sporadic inclusion-body myositis as a degenerative disease: role of A β , protein misfolding, and proteasome inhibition. *Neurology w druku* 2006.
- Dalakas M.C.: Inflammatory, immune, and viral aspects of inclusion-body myositis. *Neurology w druku* 2006.
- Engel W.K., Askanas V.: Treatment of inclusion-body myositis and hereditary inclusion-body myopathy with reference to pathogenic mechanisms: personal experience. W: Askanas V., Serratrice G., Engel W.K. (red.): *Inclusion-Body Myositis and Myopathies*. Cambridge University Press, 1998: 351-382.
- Engel W.K., Haginoya K., Alvarez R.B. i wsp.: Sporadic inclusion-body myositis (s-IBM) in an HTLV-1-positive Iranian Muslim. *Neurology* 1997; 48: 124.
- Cupler E.J., Leon-Monzon M., Miller J. i wsp.: Inclusion body myositis in HIV-1 and HTLV-1 infected patients. *Brain* 1996; 119 (cz. 6): 1887-1893.
- Ozden S., Gessain A., Gout O., Mikol J.: Sporadic inclusion body myositis in a patient with human T cell leukemia virus type 1-associated myelopathy. *Clin. Infect. Dis.* 2001; 32: 510-514.
- Semino-Mora C., Dalakas M.C.: Rimmed vacuoles with β -amyloid and ubiquitinated filamentous deposits in the muscles of patients with long-standing denervation (post-polio myelitis muscular atrophy): similarities with inclusion body myositis. *Hum. Pathol.* 1998; 29: 1128-1133.
- Engel W.K., Cunningham G.G.: Rapid examination of muscle tissue. An improved trichrome method for fresh-frozen biopsy sections. *Neurology* 1963; 13: 919-923.
- Askanas V., Engel W.K., Alvarez R.B.: Enhanced detection of congo-red-positive amyloid deposits in muscle fibers of inclusion body myositis and brain of Alzheimer's disease using fluorescence technique. *Neurology* 1993; 43: 1265-1267.
- Askanas V., Alvarez R.B., Mirabella M., Engel W.K.: Use of anti-neurofilament antibody to identify paired-helical filaments in inclusion-body myositis. *Ann. Neurol.* 1996; 39: 389-391.
- Mirabella M., Alvarez R.B., Bilak M. i wsp.: Difference in expression of phosphorylated tau epitopes between sporadic inclusion-body myositis and hereditary inclusion-body myopathies. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 1996; 55: 774-786.
- Ksiezak-Reding H., Dickson D.W., Davies P., Yen S.H.: Recognition of tau epitopes by anti-neurofilament antibodies that bind to Alzheimer neurofibrillary tangles. *Proc. Natl Acad. Sci. U S A* 1987; 84: 3410-3414.
- Askanas V., Serdaroglu P., Engel W.K., Alvarez R.B.: Immunocytochemical localization of ubiquitin in inclusion body myositis allows its light-microscopic distinction from polymyositis. *Neurology* 1992; 42: 460-461.
- Prayson R.A., Cohen M.L.: Ubiquitin immunostaining and inclusion body myositis: study of 30 patients with inclusion body myositis. *Hum. Pathol.* 1997; 28: 887-892.
- Hilton-Jones D.: Inflammatory muscle diseases. *Curr. Opin. Neurol.* 2001; 14: 591-596.
- Askanas V., Serdaroglu P., Engel W.K., Alvarez R.B.: Immunolocalization of ubiquitin in muscle biopsies of patients with inclusion body myositis and oculopharyngeal muscular dystrophy. *Neurosci. Lett.* 1991; 130: 73-76.
- Fidzianska A., Rowinska-Marcinska K., Hausmanowa-Petrusewicz I.: Coexistence of X-linked recessive Emery-Dreifuss muscular dystrophy with inclusion body myositis-like morphology. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 2004; 107: 197-203.
- Klein W.L.: ADDLs & protofibrils – the missing links? *Neurobiol. Aging* 2002; 23: 231-235.

37. Askanas V., McFerrin J., Baque S. i wsp.: Transfer of beta-amyloid precursor protein gene using adenovirus vector causes mitochondrial abnormalities in cultured normal human muscle. *Proc. Natl Acad. Sci. U S A* 1996; 93: 1314-1319.
38. Askanas V., McFerrin J., Alvarez R.B. i wsp.: β APP gene transfer into cultured human muscle induces inclusion-body myositis aspects. *Neuroreport* 1997; 8: 2155-2158.
39. McFerrin J., Engel W.K., Askanas V.: Cultured muscle fibers from Iranian Jewish patients with quadriceps-sparing autosomal-recessive inclusion-body myopathy (AR1-IBM) express features of IBM phenotype. *Neurology* 2000; 54: 438.
40. McFerrin J., Engel W.K., Askanas V.: Impaired innervation of cultured human muscle overexpressing β APP experimentally and genetically: relevance to inclusion-body myopathies. *Neuroreport* 1998; 9: 3201-3205.
41. Alvarez R.B., Engel W.K., Askanas V.: Ultrastructural abnormalities of neuromuscular junctions in sporadic inclusion-body myositis. *Neurology* 2000; 54: 240-241.
42. Terry R.D.: The pathogenesis of Alzheimer disease: an alternative to the amyloid hypothesis. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 1996; 55: 1023-1025.
43. Jin L.W., Hearn M.G., Ogburn C.E. i wsp.: Transgenic mice over-expressing the C-99 fragment of betaPP with an alpha-secretase site mutation develop a myopathy similar to human inclusion body myositis. *Am. J. Pathol.* 1998; 153: 1679-1686.
44. Fukuchi K., Pham D., Hart M. i wsp.: Amyloid-beta deposition in skeletal muscle of transgenic mice: possible model of inclusion body myopathy. *Am. J. Pathol.* 1998; 153: 1687-1693.
45. Vattemi G., Engel W.K., McFerrin J. i wsp.: Presence of BACE1 and BACE2 in muscle fibres of patients with sporadic inclusion-body myositis. *Lancet* 2001; 358: 1962-1964.
46. Vattemi G., Engel W.K., McFerrin J. i wsp.: BACE1 and BACE2 in pathologic and normal human muscle. *Exp. Neurol.* 2003; 179: 150-158.
47. Askanas V., Engel W.K., Yang C.C. i wsp.: Light and electron microscopic immunolocalization of presenilin 1 in abnormal muscle fibers of patients with sporadic inclusion-body myositis and autosomal-recessive inclusion-body myopathy. *Am. J. Pathol.* 1998; 152: 889-895.
48. Vattemi G., Kefi M., Engel W.K., Askanas V.: Nicastrin, a novel protein participating in amyloid- β production, is overexpressed in sporadic inclusion-body myositis muscle. *Neurology* 2003; 60: 315.
49. McFerrin J., Engel W.K., Leclerc N., Askanas V.: Combined influence of amyloid- β precursor protein (β APP) gene transfer and cholesterol excess on cultured normal human muscle fibers. *Neurology* 2002; 58: 489.
50. Yang C.C., Askanas V., Engel W.K., Alvarez R.B.: Immunolocalization of transcription factor NF- κ B in inclusion-body myositis muscle and at normal human neuromuscular junctions. *Neurosci. Lett.* 1998; 254: 77-80.
51. Broccolini A., Engel W.K., Alvarez R.B., Askanas V.: Redox factor-1 in muscle biopsies of patients with inclusion-body myositis. *Neurosci. Lett.* 2000; 287: 1-4.
52. Askanas V., Engel W.K.: Sporadic inclusion-body myositis and its similarities to Alzheimer disease brain. Recent approaches to diagnosis and pathogenesis, and relation to aging. *Scand. J. Rheumatol.* 1998; 27: 389-405.
53. Garcia-Mata R., Gao Y.S., Sztul E.: Hassles with taking out the garbage: aggravating aggregates. *Traffic* 2002; 3: 388-396.
54. Kopito R.R., Ron D.: Conformational disease. *Nat. Cell Biol.* 2000; 2: E207-E209.
55. McNaught K.S., Belizaire R., Isacson O. i wsp.: Altered proteasomal function in sporadic Parkinson's disease. *Exp. Neurol.* 2003; 179: 38-46.
56. Keller J.N., Hanni K.B., Markesbery W.R.: Impaired proteasome function in Alzheimer's disease. *J. Neurochem.* 2000; 75: 436-439.
57. Schmidt T., Lindenberg K.S., Krebs A. i wsp.: Protein surveillance machinery in brains with spinocerebellar ataxia type 3: redistribution and differential recruitment of 26S proteasome subunits and chaperones to neuronal intranuclear inclusions. *Ann. Neurol.* 2002; 51: 302-310.
58. Borden K.L.: Structure/function in neuroprotection and apoptosis. *Ann. Neurol.* 1998; 44 (3 suppl. 1): S65-S71.
59. Maiti N.R., Surewicz W.K.: The role of disulfide bridge in the folding and stability of the recombinant human prion protein. *J. Biol. Chem.* 2001; 276: 2427-2431.
60. Mori K.: Tripartite management of unfolded proteins in the endoplasmic reticulum. *Cell* 2000; 101: 451-454.
61. Lee A.S.: The glucose-regulated proteins: stress induction and clinical applications. *Trends Biochem. Sci.* 2001; 26: 504-510.
62. Kaufman R.J.: Orchestrating the unfolded protein response in health and disease. *J. Clin. Invest.* 2002; 110: 1389-1398.
63. Vattemi G., Engel W.K., McFerrin J., Askanas V.: Endoplasmic reticulum stress and unfolded protein response in inclusion body myositis muscle. *Am. J. Pathol.* 2004; 164: 1-7.
64. Voges D., Zwickl P., Baumeister W.: The 26S proteasome: a molecular machine designed for controlled proteolysis. *Annu. Rev. Biochem.* 1999; 68: 1015-1068.
65. Ciechanover A., Brundin P.: The ubiquitin proteasome system in neurodegenerative diseases: sometimes the chicken, sometimes the egg. *Neuron* 2003; 40: 427-446.
66. Berke S.J., Paulson H.L.: Protein aggregation and the ubiquitin proteasome pathway: gaining the UPPER hand on neurodegeneration. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 2003; 13: 253-261.
67. Bennett E.J., Bence N.F., Jayakumar R., Kopito R.R.: Global impairment of the ubiquitin-proteasome system by nuclear or cytoplasmic protein aggregates preceded inclusion body formation. *Mol. Cell* 2005; 17: 351-365.
68. Johnston J.A., Ward C.L., Kopito R.R.: Aggresomes: a cellular response to misfolded proteins. *J. Cell Biol.* 1998; 143: 1883-1898.
69. Wigley W.C., Fabunmi R.P., Lee M.G. i wsp.: Dynamic association of proteasomal machinery with the centrosome. *J. Cell Biol.* 1999; 145: 481-490.
70. Kopito R.R.: Aggresomes, inclusion bodies and protein aggregation. *Trends Cell Biol.* 2000; 10: 524-530.
71. Fratta P., Engel W.K., Askanas V.: Novel identification of aggresomes in sporadic inclusion-body myositis (s-IBM) muscle fibers suggests that inhibition of 26S/20S proteasome and misfolded proteins play a pathogenic role. *Ann. Neurol.* 2003; 54: 845.
72. Fratta P., Engel W.K., Askanas V.: Proteasome abnormalities participate in the pathogenesis of sporadic inclusion body myositis (s-IBM). *Neurology* 2004; 62: 168.
73. Fratta P., Engel W.K., McFerrin J. i wsp.: Proteasome inhibition and aggresome formation in sporadic inclusion-body myositis and in amyloid-beta precursor protein-overexpressing cultured human muscle fibers. *Am. J. Pathol.* 2005; 167: 517-526.
74. van Leeuwen F.W., de Kleijn D.P., van den Hurk H.H. i wsp.: Frameshift mutants of β amyloid precursor protein and ubiquitin-B in Alzheimer's and Down patients. *Science* 1998; 279: 242-247.

75. van Leeuwen F.W., Fischer D.F., Kamel D. i wsp.: Molecular misreading: a new type of transcript mutation expressed during aging. *Neurobiol. Aging* 2000; 21: 879-891.
76. Fratta P., Engel W.K., van Leeuwen F.W. i wsp.: Mutant ubiquitin UBB⁺¹ is accumulated in sporadic inclusion-body myositis muscle fibers. *Neurology* 2004; 63: 1114-1117.
77. Lindsten K., de Vrij F.M.S., Verhoef L.G. i wsp.: Mutant ubiquitin found in neurodegenerative disorders is a ubiquitin fusion degradation substrate that blocks proteasomal degradation. *J. Cell Biol.* 2002; 157: 417-427.
78. Lee S.J.: Regulation of muscle mass by myostatin. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 2004; 20: 61-86.
79. Wojcik S., Engel W.K., McFerrin J., Askanas V.: Myostatin is increased and complexes with amyloid-beta within sporadic inclusion-body myositis muscle fibers. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 2005; 110: 173-177.

Zasady prenumeraty kwartalnika „Aktualności Neurologiczne”

1. Prenumeratę można rozpocząć od każdego numeru pisma.

Prenumerujący otrzyma zamówione numery kwartalnika pocztą na podany adres.

2. Pojedynczy egzemplarz kwartalnika kosztuje 25 zł.

Przy zamówieniu rocznej prenumeraty (4 kolejne numery) koszt całorocznej prenumeraty wynosi 80 zł.

Koszt całorocznej prenumeraty zagranicznej wynosi 25 dolarów.

3. Istnieje możliwość zamówienia numerów archiwalnych (do wyczerpania nakładu).

Cena numeru archiwalnego – 25 zł.

4. Prenumeraty można dokonać za pomocą załączonego blankietu.

Zamówienie proszę przesłać pocztą lub faksem.

5. Istnieje również możliwość zamówienia prenumeraty przez Internet.

Druk zamówienia znajduje się na stronie www.neurologia.com.pl