

24-tygodniowe, podwójnie ślepe, kontrolowane użyciem placebo badanie trzech dawek cerebrolizyny u pacjentów z łagodną do umiarkowanej chorobą Alzheimera

X. A. Alvarez^a, R. Cacabelos^a, M. Laredo^a, V. Couceiro^a, C. Sampedro^a, M. Varela^a, L. Corzo^a, L. Fernandez-Novoa^a, M. Vargas^b, M. Aleixandre^b, C. Linares^c, E. Granizo^c, D. Muresanu^d i H. Moessler^e

^aEurospes Biomedical Research Centre, Santa Maria de Babio, Bergondo, La Conma, Hiszpania; ^bComplejo Sociosunitario Fuente Salinas, C/Fuente Salinas, Granada, Hiszpania; ^cClinica de Memoria, C/Marlinz, Malaga, Hiszpania; ^dClinica de Neurologia, Uniwersytet Cluj-Napoca, Via Barsei, Cluj-Napoca, Rumunia; oraz ^eEBEWE Pharma, Mondsecstrasse, Umerach, Austria

Słowa kluczowe:

Choroba Alzheimera, cerebrolizyna, funkcje poznawcze, ogólne funkcjonowanie neurodegeneracja, terapia czynnikami neurotroficznymi, randomizowana próba kliniczna

Otrzymano 17 listopada 2004
Przyjęto 28 grudnia 2004

Cerebrolizyna (Cerebrolysin, Cere) jest związkami o działaniu neurotroficznym, który jest skuteczny, jak wykazały wcześniejsze próby, w chorobie Alzheimera. W niniejszym randomizowanym, podwójnie ślepym, kontrolowanym placebo badaniu sprawdzono skuteczność i bezpieczeństwo trzech dawek Cere. Zapisano dwustu siedemdziesięciu dziewięciu pacjentów (69 Cere 10 ml; 70 Cere 30 ml; 71 Cere 60 ml i 69 placebo). Pacjenci otrzymywali wlewy iv 10, 30, 60 ml Cere lub placebo 5 dni/tydzień przez pierwsze 4 tygodnie, a następnie dwa wlewy iv na tydzień przez 8 tygodni. Wpływ na funkcje poznawcze i ogólne wrażenia kliniczne oceniano 4, 12 i 24 tygodnie po rozpoczęciu wlewów przy zastosowaniu CIBIC+ i zmodyfikowanej Skali Oceny Choroby Alzheimera (ADAS)-cog. W tygodniu 24. zaobserwowano znaczącą poprawę czynności poznawczych w skali ADAS-cog ($P = 0,038$) oraz ogólnego funkcjonowania (CIBIC+; $P > 0,001$) dla dawki 10 ml. Dawki 30 i 60 ml wykazały znaczącą poprawę wyniku ogólnego, ale nie wykazały znaczącej poprawy funkcji poznawczych. Wyniki są zgodne z odwróconą U-kształtną zależnością dawka-odpowiedź dla Cere. Odsetek pacjentów zgłaszających niepożądane zdarzenia był podobny we wszystkich grupach badania. Leczenie Cere było dobrze tolerowane i prowadziło do znaczącej, zależnej od dawki, poprawy funkcji poznawczych i ogólnego wrażenia klinicznego.

Wprowadzenie

Zamiana transmittera cholinergicznego, która doprowadziła do rozwoju inhibitorów cholinesterazy, jest dominującym celem terapii w chorobie Alzheimera (AD). Ogólnie jednak, skuteczność leków cholinergicznymi jest co najwyżej umiarkowana, i zapewniają one tylko korzyść objawową w ograniczonym czasie [1]. W ostatnim czasie dodano do naszego arsenału terapeutycznego AD memantynę, inhibitor NMDA. Skuteczność zdaje się być podobna do skuteczności leków cholinergicznymi, przy czym najlepsze rezultaty osiąga się w umiarkowanej do ostrej formie choroby [2,3].

Strategie stabilizacji zmierzające raczej do opóźnienia rozwoju choroby niż poprawy objawowej są w centrum uwagi bieżącego rozwoju leków. Prace badawcze prowadzone są w kilku kierunkach, obejmując antyoksydanty, leki przeciwzapalne, statyny, leki, które przeciwdziałają odkładaniu się amyloidów lub toksyczności jak również czynniki neurotroficzne [4]. Pośród tych ostatnich najczęściej uwagi poświęcono czynnikowi wzrostu nerwu (NGF), jako że białko to odgrywa ważną rolę dla przeżycia neuronów

cholinergicznymi i dało obiecujące wyniki w modelach zwierzęcych [5-8]. Pierwsza kliniczna próba z zastosowaniem NGF do żył mózgowych w AD [9], nie dostarczyła jednak jasnych wyników, prawdopodobnie z uwagi na inwazyjną metodę podawania.

Lek cerebrolizyna (Cere) to preparat peptydowy produkowany metodami biotechnologicznymi przy użyciu standaryzowanego rozkładu proteolitycznego oczyszczonych białek mózgu świni. Składa się z około 25% biologicznie czynnych peptydów o niskiej wadze cząsteczkowej i aminokwasów. Jeden mililitr Cere zawiera 9 mg peptydów, a stały skład jakościowy i ilościowy związku zapewniają rygorystyczne procedury kontroli jakości, łącznie z analizą aminokwasów i mapowaniem peptydów przy zastosowaniu HPLC.

Cerebrolizyna naśladuje działanie neuronowych czynników wzrostu, a Satou *i in.* [10,11] donieśli, że Cere wywiera działanie neurotroficzne podobne do NGF na zwoje nerwowe korzenia grzbietowego. Akai *i in.* [12] zademonstrowali ocalenie przyśrodkowych przegrodowych neuronów cholinergicznymi w modelu przecięcia sklepienia strzępka po obwodowym wstrzyknięciu Cere, wskazując na to, że małe cząsteczki potrafią przenikać przez barierę krew-mózg w ilościach farmakodynamicznie znaczących. Od tamtej pory wykazano neurotroficzne i prokognitywne skutki obwodowo podawanej Cere w różnych modelach

zwierzęcych zwyrodnienia neuronalnego, łącznie z wszczepami beta-amyloidu do hipokampu szczura [13,14], myszy pozbawionej ApoE [15] i szczurów w podeszłym wieku [16,17]. Niedawno, Rockenstein *i in.* [18] wykazali, że Cere ogranicza powstawanie amyloidu (stężenie A β 1-42) jak również średnią wielkość płytek amyloidu w modelu AD u myszy transgenicznej, czemu towarzyszyła poprawa fenotypu behawioralnego i wzrost gęstości synaptycznej u danych zwierząt.

W oparciu o dane farmakologiczne, przeprowadzono kilka randomizowanych prób klinicznych (RCT) z Cere w AD. Ruether *i in.* [19] ogłosili znaczącą poprawę funkcji poznawczych oceny ogólnej i czynności życia codziennego u pacjentów z AD po 4-tygodniowym leczeniu 30 ml Cere, która utrzymywała się przynajmniej częściowo 6 miesięcy po zaprzestaniu leczenia [20]. Panisset *i in.* [21] ogłosili znaczącą poprawę ogólnego wrażenia klinicznego (CIBIC+) i tendencję do poprawy czynności życia codziennego po leczeniu Cere w grupie 192 pacjentów z AD. W niedawnej RCT przeprowadzonej przez Ruethera *i in.* [22], pacjenci otrzymali dwie 4-tygodniowe tury leczenia iv 30 ml dawką Cere lub placebo z dwumiesięczną przerwą bez leczenia. Zgodnie z odkryciami z wcześniejszych studiów, widoczny był, po drugiej turze leczenia, korzystny wpływ leczenia Cere na funkcje poznawcze i wynik ogólny, który to wpływ utrzymywał się w dużym stopniu do 3 miesięcy po zakończeniu aktywnej terapii. Stan chorych otrzymujących Cere nie pogorszył się, zachowali też oni swoje zdolności poznawcze w całym okresie badania, co wskazuje na stabilizujący wpływ leczenia.

Pomimo bogactwa informacji, które są dostępne na temat klinicznej skuteczności Cere, nie wykonano żadnego formalnego badania z miareczkowaniem dawki Cere. Ogólnie, dawki około 30 ml zdają się dawać najlepszą skuteczność, ale musi to zostać potwierdzone w przyszłym badaniu klinicznym. Nasze badanie zostało zatem zaprojektowane tak, by ocenić bezpieczeństwo i skuteczność trzech dawek Cere w porównaniu z placebo.

Metody

Konstrukcja badania

Było to 6-miesięczne, randomizowane, podwójnie ślepe, kontrolowane użyciem placebo, czteroramiennie badanie przeprowadzone jako wspólne badanie obejmujące trzy ośrodki rekrutacji w Hiszpanii, z 279 pacjentami zapisanymi do czterech grup: Cere 10 ml ($n = 69$), Cere 30 ml ($n = 70$), Cere 60 ml ($n = 71$) i placebo ($n = 69$). Pacjentów poddano badaniom przesiewowym w ciągu 14 dni od początkowej wizyty, i w tym czasie nadających się pacjentów przydzielono losowo do badania. Następnie pacjenci otrzymywali wlewy iv Cere lub placebo 5 dni/tydzień przez 4 tygodnie. W ciągu kolejnych 8 tygodni chorzy otrzymywali badany lek 2 dni/tydzień.

Przeprowadzono trzy wizyty z celu dokonania oceny, w tygodniu 4., tygodniu 12. (po zakończeniu leczenia) oraz wizytę kontrolną w tygodniu 24., 3

miesiące po zakończeniu aktywnego leczenia. Badanie przeprowadzono w warunkach podwójnie ślepej próby aż do wizyty po tygodniu 24., a zatem zgodnie z aktualnie zalecanymi wytycznymi, które wymagają 6-miesięcznego okresu podwójnie ślepego badania.

Populacja pacjentów

Pacjentów oceniano na podstawie wywiadu klinicznego, oceny stanu psychicznego, badania fizykalnego i neurologicznego, neuroobrazowania oraz badań laboratoryjnych. Kwalifikowali się pacjenci ambulatoryjni, mężczyźni i kobiety, w wieku od 50 lat, jeżeli mieli diagnozę prawdopodobnej AD według kryteriów NINCDS-ADRDA [23] i kryteriów DSM-IV, Krótkiej Skali Oceny Stanu Psychicznego (MMSE) [24], wyniki od 14 do 25 (oba łącznie) oraz Zmodyfikowanej Skali Niedokrwienia [25], wyniki <4.

Kryteria wykluczające opracowano tak, aby zapewnić, że przyczyną otępienia u pacjentów była AD. Wykluczono pacjentów z poważną depresją, zaburzeniami dwubiegunowymi, schizofrenią lub zaburzeniami schizoafektywnymi, przejściowymi zaburzeniami organiczno-psychotycznymi lub uzależnieniem od substancji psychoaktywnych. Konieczna była tomografia komputerowa (CT) albo rezonans magnetyczny (MRI) z ostatnich 12 miesięcy, żeby wykluczyć pacjentów z chorobą naczyniowo-mózgową, wodogłowiem bądź mnogimi guzami wewnątrzczaszkowymi. Oceniono poziomy hormonu tarczycy i serologię kiły, aby wykluczyć chorych z otępieniem niealzheimerowskim. Ponadto, wykluczono także chorych z wywiadem urazu mózgu, innej choroby neurologicznej lub polineuropatii. Chorzy z poważnymi chorobami współistniejącymi również zostali wykluczeni. Zabronione było równoczesne stosowanie, w okresie 30 dni przed badaniem początkowym, substancji psychoaktywnych, leków nootropowych, leków o działaniu rozszerzającym na mózgowe naczynia krwionośne, cimetidine, kortykosteroidów ogólnoustrojowych bądź jakiegokolwiek leku będącego w fazie badań. Chorym pozwolono na współistniejącą terapię serca, przyjmowanie leków przeciwnadciśnieniowych, przeciwzapalnych, związków zubożających kwasy jak również na leczenie z powodu innych zaburzeń metabolicznych, jeżeli leki te były brane w stałej dawce co najmniej od 30 dni przed rozpoczęciem badania. Dla niskiego poziomu uspokojenia polekowego i pobudzenia snu zezwolono na niskie dawki krótko działających benzodiazepin i leków przeciwdepresyjnych.

Badanie przeprowadzono zgodnie z wytycznymi ICH-GCP, uzyskano też aprobatę komitetu etyki. Pacjenci oraz ich opiekunowie lub przedstawiciele prawni podpisali formularz świadomej zgody.

Reżim leczenia i przydział pacjentów

Aktywny środek leczniczy zawierał 10, 30 lub 60 ml Cere zmieszanej z odpowiednio 50, 30 lub 0 ml roztworu izotonicznego soli kuchennej. Placebo składało się z 60 ml roztworu izotonicznego soli kuchennej. Zarówno lek aktywny jak też placebo były zapakowane w brązowych buteleczkach do wlewów i

były nierozróżnialne pod względem wyglądu. Badany środek leczniczy był wlewany dożylnie w czasie 20 minut, raz dziennie w pięć kolejnych dni w tygodniu przez 4 tygodnie oraz w dwa dni w tygodniu (wtorek i piątek) przez następne 8 tygodni, co daje w sumie 36 wlewów. Ten reżim dawkowania opiera się na niepublikowanych obserwacjach klinicznych (E. Ruether, X.A. Alvarez, dane niepublikowane) i został wybrany, ponieważ długoterminowe, codzienne podawanie dożylne nie jest wykonalne.

Chorych, którzy spełniali wszystkie kryteria wstępne przypisano do grup leczenia w stosunku 1:1:1:1, według kodu randomizacji wygenerowanego przy pomocy programu Microsoft Excel. Randomizację przeprowadzono w blokach po 12 chorych. Badacze, jak też cały personel badawczy byli 'ślepi' co do przypisywania kodu randomizacji aż do zakończenia analizy statystycznej.

Miary skuteczności

Pierwotnymi miarami skuteczności były zmodyfikowana Skala Oceny Choroby Alzheimera – podczęść kognitywna (ADAS-cog+, wersja ADCS; [26]) oraz Ocena Funkcjonowania w Oparciu o Wywiad z Pacjentem i Opiekunem (CIBIC+, wersja ADCS; [27]).

Wtórne miary wyników obejmowały MMSE, Inwentarz Neuropsychiatryczny (NPI; [28]), test łączenia punktów [29] oraz Ocenę utraty czynności w otępieniu (Disability Assessment in Dementia, DAD); [30].

Dane z pierwotnych miar wyników w tygodniu 24. wykorzystano do analizy pierwotnej. Wyniki ADAS-cog+ i CIBIC+ analizowano stosując średnią zmianę wyniku od stanu początkowego jak również odpowiedzi na leczenie. Dla ADAS-cog+, zdefiniowano odpowiadających jako mających poprawę wynoszącą > 4 punkty w stosunku do stanu początkowego. Odpowiadający (respondenci) w CIBIC+ zostali zdefiniowani jako mający wynik 1-3, co wskazuje na minimalną (3), umiarkowaną (2) lub znaczną (1) poprawę od stanu początkowego. Analiza wtórna obejmowała zmiany wyników parametrów wtórnych w tygodniach 4., 12. i 24. w stosunku do stanu początkowego jak również parametrów pierwotnych w tygodniach 4. i 12.

Miary bezpieczeństwa

Oceniono zdarzenia niepożądane (AE) pojawiające się w czasie leczenia, występowanie nieprawidłowych wyników badań laboratoryjnych, zmiany w klinicznych testach laboratoryjnych jak również zmiany w objawach czynności życiowych, a także ogólne badania fizykalne i neurologiczne. AE oceniano jako łagodne, umiarkowane lub poważne. Związek z badanym lekiem oceniano stosując jedną z następujących kategorii: brak, mało prawdopodobny, możliwy lub wyraźny.

Analiza statystyczna

Docelową wielkością próby dla niniejszego badania było 240 możliwych do oceny przypadków, a wybrana została w oparciu o wynik funkcji ogólnych

wcześniejszych prób. Analizy skuteczności w niniejszym badaniu zostały przeprowadzone na dwóch populacjach pacjentów: analiza „zamiaru leczenia” (Intent-to-Treat, ITT) i analiza „według protokołu” (Per Protocol, PP). Analiza ITT obejmowała wszystkich osobników, którzy zostali zrandomizowani, otrzymali przynajmniej jedną dawkę badanego leku i przeszli ocenę stanu początkowego i w późniejszym okresie co najmniej jeszcze jedną ocenę obydwu głównych kryteriów. W wypadku braku danych, stosowano metodę przeniesienia z ostatniej obserwacji. Analiza PP została zdefiniowana jako wszyscy pacjenci, którzy zostali zrandomizowani, spełnili kryteria wstępne badania i otrzymali co najmniej 80% wlewów. Przeprowadzono analizę podgrupy w populacji pacjentów w wyniku MMSE w stanie początkowym niższym lub równym 20.

Porównywalność grup przy stanie początkowym oceniono przy zastosowaniu statystyki opisowej oraz odpowiednich parametrycznych i nieparametrycznych testów statystycznych. Zmienne skuteczności analizowano stosując testy statystyczne two-tailed. Analizy uznawano za znamienne, jeżeli osiągnięty został poziom prawdopodobieństwa $P < 0,05$. Nie robiono poprawek na porównania wielokrotne, jako że dla ogłoszenia pozytywnego wyniku badania wymagana była znacząca poprawa obu parametrów pierwotnych. Wszystkie analizy statystyczne przeprowadzono przy użyciu programu komputerowego SAS (SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA).

Aby uzyskać wynik CIBIC+, przy każdej wizycie wykonano test CMH (Cochran-Mantel-Haenszel) dla każdej dawki Cere w porównaniu z placebo. Dla ADAS-cog+, zmianę w tygodniu 24. w odniesieniu do wyniku stanu początkowego poddano analizie kowariancji (ANCOVA), przy czym ADAS-cog+ stanu początkowego przyjęto jako zmienną towarzyszącą. Oszacowano średnie najmniejszych kwadratów (LS Means) dla każdego ramienia badania, a różnicę między poszczególnymi dawkami Cere a placebo obliczono razem z odpowiednim 95% przedziałem ufności (CI). Zmianę punktacji od stanu początkowego dla wtórnych miar rezultatu analizowano stosując podobny model ANCOVA. Wskaźniki odpowiedzi na leczenie analizowano stosując logistyczny model regresji. Oszacowano ilorazy szans osiągnięcia odpowiedzi na leczenie i 95% CI.

Analizę bezpieczeństwa przeprowadzono, porównując badane grupy pod względem częstości występowania AE, nieprawidłowości laboratoryjnych oraz wyników badań neurologicznych i fizykalnych. Oszacowano również i porównano między grupami zmiany od stanu początkowego w objawach czynności życiowych, testach laboratoryjnych i wadze. AE zakodowano stosując terminologię WHO dotyczącą niepożądanych reakcji.

Rezultaty

Rozmieszczenie pacjentów

Randomizacji poddano dwustu siedemdziesięciu dziewięciu pacjentów: 69 pacjentów do Cere 10 ml, 70 do Cere 30 ml, 71 do Cere 60 ml i 69 pacjentów do placebo. Spośród 279 pacjentów, 269 otrzymało

przynajmniej jedną dawkę środka leczniczego, a 237 ukończyło badanie. Powody przerwania badania, w rozbiciu na grupy leczenia, pokazano na Ryc. 1.

W populacji ITT ujęto w sumie 251 pacjentów (60 Cere 10 ml, 65 Cere 30 ml, 68 Cere 60 ml i 58 placebo). Pacjenci wykluczeni z analizy albo nie otrzymali żadnego leczenia ($n = 10$), albo nie mieli żadnych danych po stanie początkowym ($n = 18$). Zbiór danych PP składał się z 207 pacjentów (49 Cere 10 ml, 56 Cere 30 ml, 59 Cere 60 ml i 43 placebo).

Dane demograficzne i charakterystyka choroby w stanie początkowym

Nie zauważono znaczących różnic między grupami w stanie początkowym (Tabela 1). Średnia punktacja CIBIS+ była porównywalna między grupami, przy czym odsetek pacjentów z łagodną chorobą do umiarkowanej wahał się od 82 do 91%. Podobnie, punktacje stanu początkowego MMSE i ADAS-cog+ były zgodne z populacją pacjentów z łagodną do umiarkowanej AD i nie wykazywały istotnych różnic między grupami.

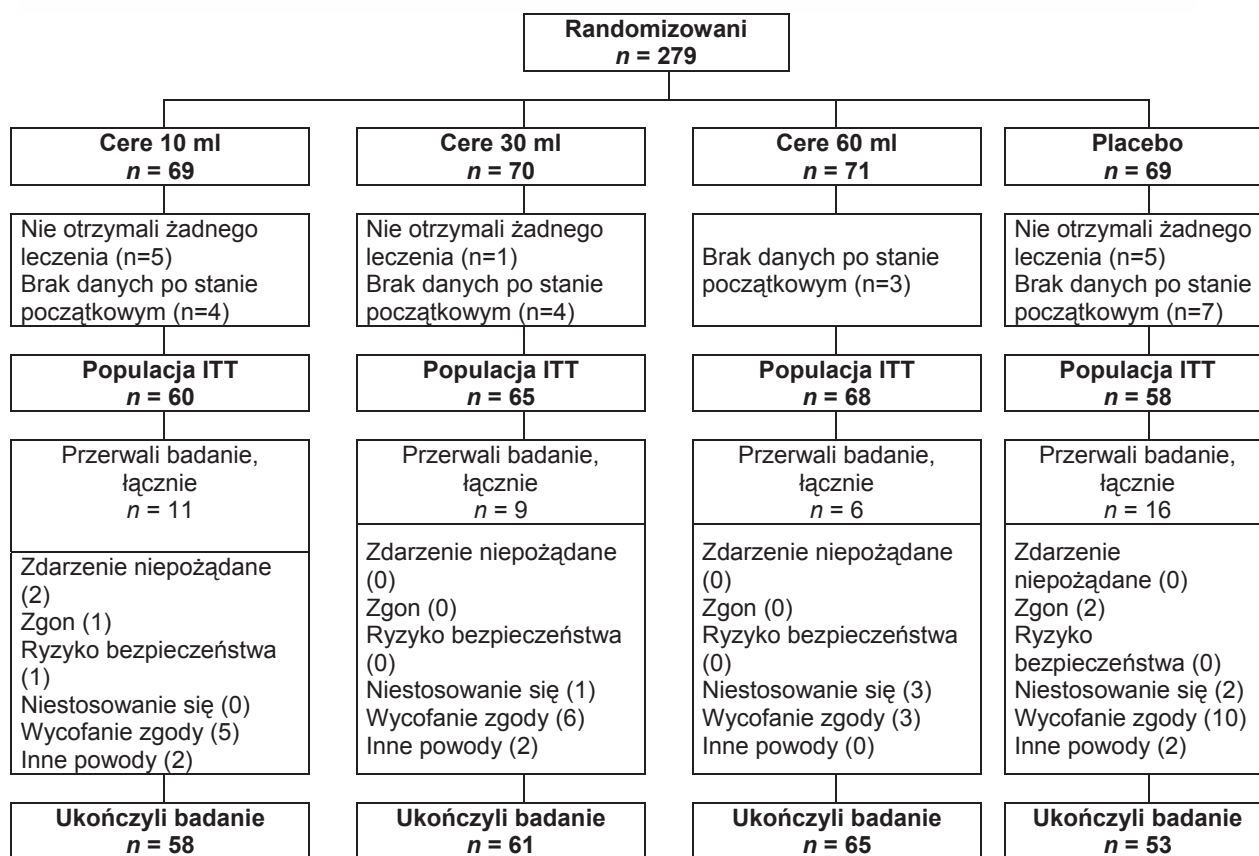
Genotypowanie ApoE nie ujawniło znaczących

różnic między grupami. Częstość występowania allelu ApoE4 wahała się od 17% (10 ml Cere) do 26% (60 ml Cere). Status farmakogenetyczny (przenosiciel ApoE4 kontra nie-przenosiciel ApoE4) został przetestowany jako zmienna towarzysząca w modelu ANCOVA, nie miał żadnego wpływu na odpowiedź pacjenta na leczenie.

Stosowanie towarzyszącego leczenia, włącznie z substancjami psychoaktywnymi, przy stanie początkowym jak również w trakcie eksperymentu nie wykazało żadnych oczywistych różnic między grupami. Nie było ważnych różnic pod względem częstości stosowania towarzyszącego leczenia, ani też pod względem typów stosowanych leków.

Skuteczność

W domenie kognitywnej, na ADAS-cog+, znaczący ogólny skutek leczenia zaobserwowano w modelu ANCOVA przy pierwotnym punkcie końcowym, wizycie w 24. tygodniu. Tabela 2 podsumowuje statystykę dla ADAS-cog+ dla populacji ITT.



Rycina 1 Nabór i rozmieszczenie pacjentów uczestniczących w próbie klinicznej. Pacjenci ujęci w rubryce „Przerwali badanie, łącznie” obejmują pacjentów, którzy nie otrzymali żadnego leczenia lub nie mieli żadnych danych po stanie początkowym.

Tabela 1 Wybrane dane demograficzne i charakterystyka choroby przy stanie początkowym

	Cerebrolizyna			
	10 ml (n = 60)	30 ml (n = 65)	60 ml (n = 68)	Placebo (n = 58)
Płeć				
Mężczyźni	17 (28,3)	16 (24,6)	20 (29,4)	20 (34,5)
Kobiety	43 (71,7)	49 (75,4)	48 (70,6)	38 (65,5)
Wiek (lata)	72,2 ± 1,28	73,4 ± 1,08	74,6 ± 0,89	73,9 ± 1,29
Czas trwania choroby (lata)	4,4 ± 0,37	3,9 ± 0,29	3,8 ± 0,30	4,9 ± 0,38
MMSE				
Średnia ± SE	19,7 ± 0,5	19,7 ± 0,4	19,6 ± 0,5	19,8 ± 0,5
Przedział	14-25	14-25	14-25	14-25
ADAS-cog +				
Średnia ± SE	38,2 ± 2,2	36,2 ± 1,6	35,4 ± 1,7	34,6 ± 2,0
Przedział	11-73	12-67	10-68	12-69
CIBIS +				
Łagodnie chorzy	19 (31,7)	20 (30,8)	26 (38,2)	17 (29,3)
Umiarkowanie chorzy	30 (50,0)	39 (60,0)	34 (50,0)	30 (51,7)
Wyraźnie chorzy (5)	U (18,3)	6 (9,2)	8 (11,8)	11 (19,0)

Wartości to n (%) dla płci oraz punktacja i średnia CIBIS+ ± błąd standardowy dla wieku, czasu trwania choroby, Krótkiej Skali Oceny Stanu Psychicznego i Skali Oceny Choroby Alzheimera (ADAS)-cog+; zbiór danych Zamiaru Leczenia.

Tabela 2 Pierwotne analizy skuteczności: Skala Oceny Choroby Alzheimera-cog+ w tygodniu 24.

	N	Wynik stanu początkowego	Zmiana średniej LS	SE	Różnica w leczeniu ^a	95% CI	Wartość P
Placebo	58	34,61	2,266	1,182			
10 ml Cere	60	38,17	-1,833	1,163	-4,099	-8,016/-0,182	0,038
30 ml Cere	65	36,23	-1,356	1,115	-3,622	-7,454/0,210	0,069
60 ml Cere	68	35,40	-0,063	1,090	-2,329	-6,119/1,461	0,330

Wartości P tłustym drukiem wskazują na znaczącą różnicę leczenia wobec placebo.

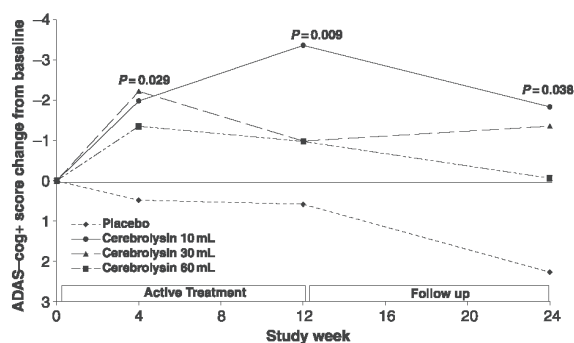
^a Różnica grupami z dawkami cerebrolizyny (Cere) a grupą placebo – ujemne różnice sposobów leczenia wskazują na korzystny wpływ leczenia Cere w porównaniu z placebo.

Statystyczne testy *post hoc* ujawniły znaczący skutek terapeutyczny dawki 10 ml Cere w porównaniu z placebo ($P = 0,038$). Po 24 tygodniach z dawką 10 ml Cere odnotowali poprawę o 1,833 punktu od stanu początkowego, podczas gdy pacjenci z placebo odnotowali pogorszenie o 2,266, co stanowi zatem różnicę w sposobach leczenia wynoszącą -4,099 punktu. (95% CI: -8,016/-0,182). Nie zaobserwowano znaczących skutków dla dawek 60 i 30 ml Cere, chociaż dla tej drugiej grupy, widoczna była różnica wobec placebo granicząca ze znaczącą (różnica w leczeniu: -3,622; 95% CI: -7,454/0,210; $P = 0,069$). Rezultaty te zostały potwierdzone w populacji PP ze znaczącym skutkiem dla grupy 10 ml, lecz nie dla grup 30 i 60 ml.

Analiza odpowiedzi na rezultat funkcji poznawczych potwierdziła wyniki analizy zmiany punktacji. Po 24 tygodniu najwyższy wskaźnik odpowiedzi stwierdzono w grupie 10 ml Cere, wynoszący 41,7% w porównaniu do 36,9% grupy z dawką 30 ml, 29,4% grupy z dawką 60 ml i 24,1% u pacjentów leczonych placebo. Iloraz szans dla odpowiedzi klinicznej w ADAS-cog+ był statystycznie zmienny dla grupy z dawką 10 ml (OR = 2,24; 95% CI:

1,02/4,95; $P < 0,05$), ale nie osiągnął poziomu znamienności dla grup 30 i 60 ml.

Wszystkie grupy z dawkami Cere wykazały znaczną korzyść terapeutyczną po 4 tygodniach leczenia, podczas gdy nie dostrzeżono żadnej takiej korzyści dla grupy placebo (Ryc. 2). Podczas gdy pacjenci z dawką 10 ml Cere wykazywali dalszą poprawę do 12. tygodnia, nie zaobserwowano dalszej poprawy dla grup z dawkami 30 i 60 ml. Przy końcowym punkcie badania, stan pacjentów na placebo pogorszył się w przybliżeniu o 2 punkty na ADAS-cog+, podczas gdy wszystkie grupy na dawkach Cere wykazały się lepszym wynikiem niż przy stanie początkowym. Jak naszkicowano powyżej, najlepsze i najbardziej znaczące rezultaty dostrzeżono w grupie z dawką 10 ml. W grupie tej pacjenci doświadczyli maksimum korzyści w tygodniu 12., przy końcu leczenia aktywnego. W tym punkcie pacjenci w grupie 10 ml zaczęli tracić nieco korzyści, jednak skutek leczenia został w dużym stopniu utrzymany 3 miesiące po zaprzestaniu aktywnego leczenia z poprawą wynoszącą prawie 2 punkty ponad poziom wyniku przy stanie początkowym.



Rycina 2 Przebieg czasowy ADAS-cog+: zmiana średniej LS od stanu początkowego. Analiza "zamiaru leczenia", $n = 60$ dla cerebrolizyny (Cere) 10 ml, $n = 65$ dla Cere 30 ml, $n = 68$ dla Cere 60 ml oraz $n = 58$ dla placebo. Ujemne różnice punktacji wskazują na poprawę. Dokładne wartości P do porównania z placebo podano dla grupy z 10 ml dawką Cere.

Ogólny rezultat funkcji klinicznych różnił się znacząco między badanymi grupami w punkcie końcowym badania i został przedstawiony w Tabeli 3. W przeciwieństwie do wyniku kognitywnego, dla którego zauważono znaczącą poprawę tylko dla dawki 10 ml, porównania grup parami porządkowych odpowiedzi CIBIC+ ujawniły znacząco lepszy skutek terapeutyczny dla wszystkich dawek Cere w porównaniu z placebo ($P < 0,001$). Nie zauważono znaczących różnic między poszczególnymi dawkami Cere, jednak najlepsze efekty leczenia osiągnięto dawką 10 ml Cere, a następnie dawką 30 ml Cere, co jest zgodne z danymi kognitywnymi. Szacowane prawdopodobieństwa brzegowe poprawy wskazywały na to, że każda grupa z dawką Cere miała większe prawdopodobieństwo poprawy niż grupa placebo. Dawka 10 ml wykazała najkorzystniejszy efekt z ponad trzykrotnie zwiększonym prawdopodobieństwem poprawy funkcji ogólnych po 24 tygodniach w porównaniu z placebo.

Tabela 3 Pierwotne analizy skuteczności: CIBIC+ w tygodniu 24.

	Cerebrolizyna			
	10 ml ($n = 60$)	30 ml ($n = 65$)	60 ml ($n = 68$)	Placebo ($n = 58$)
Punktacja CIBIC+				
Znaczna poprawa (1)	11 (18,2)	5 (7,7)	4 (5,9)	0 (0,0)
Umiarkowana poprawa (2)	13 (21,7)	16 (24,6)	15 (22,1)	3 (5,2)
Minimalna poprawa (3)	15 (25,0)	18 (27,7)	21 (30,9)	9 (15,5)
Bez zmian (4)	7 (11,7)	13 (20,0)	15 (22,1)	14 (24,1)
Minimalne pogorszenie (5)	7 (11,7)	10 (15,4)	10 (14,7)	16 (27,6)
Umiarkowane pogorszenie (6)	6 (10,0)	3 (4,6)	3 (4,4)	9 (15,5)
Znaczne pogorszenie (7)	1 (1,7)	0 (0,0)	0 (0,0)	7 (12,1)
Wartość P^a	< 0,001	< 0,001	< 0,001	—

^a Wartości P uzyskane z Row Mean Score Differ statystyki Cochran-Mantel-Haenszel poszczególnych grup z dawką cerebrolizyny wobec grupy placebo. Wartości n (%): zbiór danych Zamiaru leczenia (Intent-to-Treat).

Analiza odpowiedzi CIBIC+ potwierdziła rezultaty analizy punktacji CIBIC+. Większość pacjentów ze wszystkich trzech grup leczenia aktywnego zanotowało poprawę od początkowego stanu choroby, podczas gdy u większości pacjentów z placebo stan pogorszył się lub pozostał niezmienny po 24 tygodniach. Dokładniej, 65% pacjentów w grupie 10 ml, 60% w grupie 30 ml i 58,8% w grupie 60 ml doświadczyło poprawy ogólnej funkcji klinicznej od stanu początkowego. Natomiast tylko 20,7% pacjentów placebo odpowiedziało na terapię zgodnie z CIBIC+. A zatem, wszystkie uczestniczące w badaniu grupy Cere miały znacząco wyższe wskaźniki odpowiedzi niż grupa placebo. Nie było znaczącej różnicy między trzema grupami z aktywnymi dawkami, ale znowu najlepsze rezultaty otrzymano stosując dawkę 10 ml Cere.

Podsumowując, dane wskazują na odwrócony, zależny od dawki skutek terapeutyczny Cere. Dawka 10 ml Cere znacząco poprawiała funkcję poznawczą ($P = 0,038$) i ogólną funkcję kliniczną ($P < 0,001$) w porównaniu z leczeniem placebo po 24 tygodniach. Graniczące ze znaczącymi dowody skuteczności zaobserwowano dla dawki 30 ml Cere, podczas gdy dawka 60 ml nie przyniosła znaczącej korzyści.

Analiza wtórnych miar wyniku dostarczyła dowodów na poparcie skuteczności Cere wobec placebo. W ocenie czynności życia codziennego, punktacja zmiany średniej LS dla DAD od stanu początkowego do tygodnia 24. ujawniła, że wszystkie trzy grupy z dawką Cere radziły sobie lepiej niż grupa placebo, ale ta różnica w leczeniu nie osiągnęła poziomu znamienności statystycznej (Tabela 4). Ponownie, najlepsze rezultaty były widoczne w grupie z dawką 10 ml, a następnie 30 ml. Po 24 tygodniach 45% pacjentów z grupy z dawką 10 ml osiągnęło poprawę punktacji DAD w porównaniu do zaledwie 24,1% pacjentów z placebo, przy różnicy leczenia wynoszącej 2,65 (95% CI: -2,62/7,93; $P > 0,05$) punktów na skali DAD na korzyść grupy 10 ml.

Ciekawe wyniki otrzymano dalej na poziomie zaburzeń behawioralnych u pacjentów. Zmiany punktacji NPI średniej LS i różnice leczenia wobec placebo w punktacji zmiany średniej LS ujawniły, że we wszystkich grupach z dawkami Cere nastąpiła poprawa pod względem zaburzeń neuropsychiatrycznych u pacjentów i grupy te przewyższały placebo we wszystkich punktach czasowych badania. Rezultaty z modelu ANCOVA wykazały ogólną wartość F wynoszącą 0,041 skutku leczenia czynnikiem w tygodniu 24. Co ciekawe i sprzeczne z wynikami wszystkich pozostałych miar, najskuteczniejszą dawką Cere była dawka 60 ml, a następnie dawki 30 oraz 10 ml. Dla grupy z dawką 60 ml, znaczący efekt leczenia z szacunkową różnicą lek-placebo wynoszącą -5,4 punktów (95% CI: -9,1/-7,1; $P < 0,05$) na korzyść leczenia aktywnego był widoczny po 24

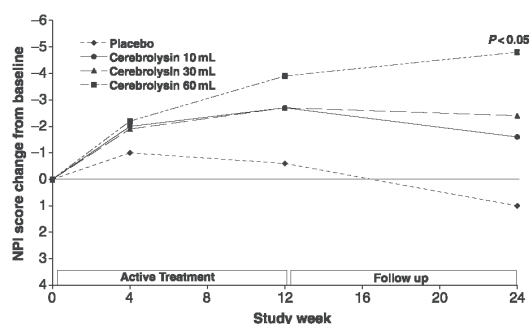
tygodniach. Poprawa NPI w pozostałych dwóch dawkach Cere nie osiągnęła poziomu statystycznie znaczącego (Tabela 4).

Ewolucja punktacji NPI w czasie pokazała, że pacjenci ze wszystkich badanych grup doświadczali poprawy objawów neuropsychiatrycznych aż do tygodnia 12. Od tego punktu stan pacjentów otrzymujących placebo zaczął się pogarszać, a po 24 tygodniach pacjenci placebo mieli stan pogorszony w stosunku do początkowego poziomu NPI, podczas gdy wszystkie grupy z aktywną dawką utrzymały poprawę objawów neuropsychiatrycznych. W grupie z dawką 60 ml, która miała największy efekt terapeutyczny we wszystkich punktach czasu, widoczna była nawet jeszcze dalsza poprawa od tygodnia 12. do tygodnia 24. (Ryc. 3).

Co do pozostałych wtórnych miar wyniku, MMSE i test łączenia punktów A (Trails-A), nie udało się wykryć żadnych większych różnic między badanymi grupami w jakimkolwiek z punktów czasowych badania. Rezultaty z modelu ANCOVA ujawniły nieistotne statystycznie ogólne wartości *P* dla zmiany średniej LS w punktacji MMSE jak również dla zmiany średniej LS czasu do ukończenia Trails-A. Zasadniczo podobne rezultaty widoczne były w zbiorze danych PP.

Analiza podgrup

Analizę podgrup opartą na zbiorze danych ITT z pacjentami mającymi punktację MMSE ≤ 20 przeprowadzono w celu oszacowania skutków u pacjentów z umiarkowaną do umiarkowanie ciężką AD. Łącznie włączono do tego podzbioru 133 pacjentów, 32 z Cere 10 ml, 34 Cere 30 ml, 35 Cere 60 ml i 32 z grupy placebo. W podgrupie tej potwierdzone zostały wyniki analizy ITT z znaczącą poprawą funkcjonowania poznawczego i czynności ogólnych dla grupy 10 ml Cere.



Rycina 3 Przebieg czasowy dla Inwentarza Neuropsychiatrycznego: zmiana średniej LS od czasu początkowego. Analiza „zamiaru leczenia”, $n = 60$ dla cerebrolizyny (Cere) 10 ml, $n = 65$ dla Cere 30 ml, $n = 68$ dla Cere 60 ml i $n = 58$ dla placebo. Ujemne różnice wyników wskazują na poprawę. $P < 0,05$ dla dawki Cere 60 ml wobec placebo po 24 tygodniach.

Różnice lek–placebo były nieco bardziej wyraziste w porównaniu z próbką ITT, wskazując na większą korzyść terapeutyczną. Było tak w dużym stopniu z uwagi na bardziej wyraziste pogorszenie w czasie stanu pacjentów placebo, podczas gdy odpowiedź pacjentów na Cere albo pozostała niezmienną, albo była tylko minimalnie wyższa.

Bezpieczeństwo

Dwustu sześćdziesięciu dziewięciu pacjentów stanowiło populację do analizy bezpieczeństwa, z 64 pacjentami z Cere 10 ml, 69 Cere 30 ml, 71 Cere 60 ml i 65 placebo. Dziesięciu pacjentów, którzy nie otrzymali żadnego leczenia wykluczono z analizy bezpieczeństwa.

Tabela 4 Wtórne analizy skuteczności: zmiany punktacji NPI i DAD po 24 tygodniach

	N	Punktacja początkowa	Zmiana średniej LS	SE	Różnica w leczeniu ^a	95% CI	Wartość <i>P</i>
NPI							
Placebo	58	13,1	0,5	1,4			
10 ml Cere	60	15,6	-1,6	1,4	-2,1	-6,0/1,7	ns
30 ml Cere	65	10,5	-2,4	1,3	-2,9	-6,7/0,9	ns
60 ml Cere	68	13,1	-4,8	1,3	-5,4 ^b	-6,119/1,461	<i>P</i> < 0,05
DAD							
Placebo	58	64,43	-3,28	1,91			
10 ml Cere	60	67,51	-0,63	1,88	2,65	-2,62/7,93	ns
30 ml Cere	65	72,46	0,95	1,81	4,23	-0,97/9,43	ns
60 ml Cere	68	63,84	-2,01	1,76	1,76	-3,85/6,40	ns

ns – statystycznie nieistotna; analiza zamiaru leczenia.

^a Różnica średnich LS między grupami z dawkami Cere a grupą placebo – dla inwentarza neuropsychiatrycznego (NPI) ujemne różnice w leczeniu wskazują na korzystny wpływ leczenia Cere w porównaniu z placebo; dla oceny upośledzenia w otepieniu (DAD) dodatnie różnice w leczeniu wskazują na korzystne działanie leczenia Cere w porównaniu z placebo.

^b Odchylenie z powodu błędu zaokrąglenia.

Częstość występowania zdarzeń niepożądanych (AE) była podobna we wszystkich grupach leczenia: 51,6% pacjentów z Cere 10 ml, 50,7% Cere 30 ml, 59,2% Cere 60 ml i 60,0% pacjentów z placebo doświadczyło przynajmniej jednego AE. Ośmiu pacjentów donosiło o poważnych AE, trzech z grupy Cere 10 ml, dwóch z grupy Cere 30 ml i trzech z grupy placebo. W siedmiu z ośmiu przypadków nie było związku przyczynowego z badanym lekiem według oceny badaczy. W jednym przypadku (gorączka, złe samopoczucie, bakteriemia) pacjenta otrzymującego 30 ml Cere badacz założył możliwy związek z procedurą podawania dożylnego, ale nie z badanym lekiem. W trakcie badania nastąpiły trzy zgony. Jeden pacjent z grupy 10 ml Cere popełnił samobójstwo, a dwóch pacjentów z grupy placebo umarło z powodu niewydolności serca. Żadne z tych zdarzeń nie miało związku z badanym lekiem.

Większość AE oceniono we wszystkich grupach leczenia jako łagodne. Częstość zgłaszania zdarzeń ocenionych jako poważne była niska i podobna we wszystkich grupach leczenia (Cere 10 ml: 3,1%; Cere 30 ml: 2,9%; Cere 60 ml: 0%; placebo: 4,6%). AE ze wskaźnikiem częstości występowania wynoszącym co najmniej 3% w jednej z grup leczenia przedstawiono w Tabeli 5. Najczęstszymi AE zgłaszanymi przez pacjentów z Cere były: zakażenie dróg moczowych, objawy depresyjne, zawroty głowy i gorączka. Te AE występowały jednak z podobną częstością w grupie placebo (Tabela 5).

Nie zaobserwowano istotnej klinicznie różnicy między grupami leczenia co do testów laboratoryjnych, takich jak hematologia, biochemia krwi i analiza moczu. Ponadto, Cere nie spowodował klinicznie znamiennych zmian w objawach czynności życiowych. Ogólnie, wszystkie dawki Cere były dobrze tolerowane aż do najwyższej podawanej dawki 60 ml/dzień, nie zaobserwowano też ogólnoustrojowego wzorca toksyczności dla Cere.

Tabela 5 Częstość występowania zdarzeń niepożądanych

Terminologia Costart	Cerebrolizyna			
	10 ml (n = 64)	30 ml (n = 69)	60 ml (n = 71)	Placebo (n = 65)
Zakażenie dróg moczowych	4 (6,3)	6 (8,7)	13 (18,3)	11 (16,9)
Depresja	6 (9,4)	6 (8,7)	3 (4,2)	3 (4,6)
Zawroty głowy	2 (3,1)	3 (4,3)	5 (7,0)	3 (4,6)
Gorączka	5 (7,8)	3 (4,3)	1 (1,4)	1 (1,5)
Nadciśnienie	1 (1,6)	3 (4,3)	2 (2,8)	3 (4,6)
Zapalenie żyły	1 (1,6)	3 (4,3)	2 (2,8)	3 (4,6)
Lęk	1 (1,6)	1 (1,4)	4 (5,6)	3 (4,6)
Anemia	2 (3,1)	1 (1,4)	3 (4,2)	1 (1,5)
Bezsennaść	3 (4,7)	1 (1,4)	2 (2,8)	1 (1,5)
Zespół pozapiramidowy	3 (4,7)	0 (0,0)	3 (4,2)	0 (0,0)
Zakażenie	4 (6,3)	1 (1,4)	0 (0,0)	1 (1,5)

Wartości: n (%). Pacjentów liczono tylko raz dla konkretnego zdarzenia niepożądanego. Odsetki opierają się na łącznej liczbie pacjentów w zbiorze analizy bezpieczeństwa: Tabela obejmuje zdarzenia niepożądane o wskaźniku częstości występowania > 3% w co najmniej jednej grupie leczenia.

Niniejsze rezultaty badania wykazują odwrócony zależny od dawki skutek leczniczy Cere w poprawie funkcjonowania poznawczego i ogólnej funkcji klinicznej u pacjentów z łagodną do umiarkowanej AD.

Dawka 10 ml Cere skutkowała znaczącą poprawą obu parametrów pierwotnych, ADAS-cog+ oraz CIBIC+ w punkcie końcowym pierwotnego badania, 6 miesięcy od oceny stanu początkowego. Zostało to wykazane w oparciu o zmianę punktacji od analizy stanu początkowego parametrów pierwotnych, jak również w oparciu o analizę odpowiedzi na leczenie według skali ADAS-cog+ i CIBIC+ dla zbioru danych ITT. Dane dowodzą, że dawka 10 ml Cere przewyższa placebo w leczeniu AD. Efekt ten jest statystycznie znamienny, a także wysoce istotny klinicznie, czego dowodzą rezultaty analizy odpowiedzi. Ogólnie, 10 ml Cere okazało się być optymalną dawką dla leczenia pacjentów z łagodną do umiarkowanej AD.

Nieco mniej wyraźny skutek terapeutyczny zaobserwowano dla dawki 30 ml Cere. Dawka 30 ml znacząco poprawiała ogólne funkcje kliniczne po 24 tygodniach, ale zabrakło jej nieco do osiągnięcia statystycznie znamiennej poprawy co do zmiany od stanu początkowego pod względem czynności poznawczych jak również odpowiadającego jej wskaźnika odpowiedzi ADAS-cog+. W obu analizach wyniku kognitywnego wykazano wyraźną tendencję w kierunku statystycznie znamiennej wyższości dawki 30 ml nad placebo. Wielkość próby, około 60 pacjentów na jedną grupę z daną dawką była raczej niewielka, nie można zatem wykluczyć, że większe badanie wykazałoby również znaczący wpływ dawki 30 ml na wynik kognitywny. Rezultaty te zgodne są z wynikami wcześniejszych prób z Cere [19,21,22], gdzie donoszono o znaczącej poprawie w ocenie ogólnej i funkcjonowaniu poznawczym dla 30 ml dawki Cere.

Nie wykazano znaczących efektów leczniczych dla grupy z dawką 60 ml Cere. Chociaż wynik w tej grupie dawkowania był wyższy niż dla placebo, nie osiągnął on znamienności statystycznej. Dlatego wyciągamy wniosek, że dawka 60 ml Cere nie dostarcza korzyści terapeutycznej co do poprawy funkcji poznawczych w pacjentów z łagodną do umiarkowanej AD. Niespodziewanie jednak, zauważono znaczące efekty dawki 60 ml pod względem poprawy funkcji ogólnych, pomimo braku poprawy kognitywnej. Stoi to w sprzeczności do innych badań AD, gdzie wykazywano, że poprawa ogólna koreluje z poprawą funkcji poznawczych. Ocena ogólnego funkcjonowania obejmuje jednak także oszacowanie parametrów behawioralnych i funkcjonalnych, oprócz poznania. Stąd, inne parametry w naszym badaniu, jak wpływ na objawy behawioralne, musiały wymuszać odpowiedź grupy z dawką 60 ml w zakresie funkcji ogólnych. W rzeczy samej, poprawa ogólna stwierdzona w tej grupie dawkowania nie jest zaskakująca, jeżeli weźmiemy pod uwagę to, że dawka 60 ml skutkowała znaczącą poprawą zaburzeń neuropsychiatrycznych, czego dowodzą rezultaty NPI, oprócz nieistotnej statystycznie poprawy funkcjonowania poznawczego i czynności życia codziennego.

Ponadto, rezultaty NPI, pokazujące, że 60 ml było najskuteczniejszą dawką w ograniczaniu objawów neuropsychiatrycznych, sugerują inny zależny od

dawki profil oddziaływania Cere na funkcje poznawcze i behawioralne w AD, w którym niższe dawki poprawiają funkcjonowanie poznawcze, a wyższe dawki w przeważającej mierze łagodzą zaburzenia behawioralne. Ta rozbieżność między dawką a działaniem sugeruje również, że za skutki kognitywne i behawioralne Cere mogą odpowiadać różne mechanizmy działania. Taką możliwość potwierdzają niedawne badania nad etiologią objawów neuropsychiatrycznych w AD. Doniesiono [31], że negatywne objawy behawioralne w AD (jak hamowanie i apatia) mają związek z upośledzeniem pamięci, ale nie ze zmianami nastroju. Przeciwnie, powszechnie przyjmuje się, że objawy depresyjne, behawioralne i psychologiczne otępienia łączą się z mechanizmami molekularnymi, np. w układzie serotonergicznym, które są odmienne od mechanizmów związanych ze spadkiem funkcji poznawczych. W szczególności, psychoza i zachowania zakłócające spokój mogą być spowodowane takimi niekognitywnymi mechanizmami, ale mogą z kolei upośledzać czynności funkcjonalne i poznawcze w AD i stanowić zapowiedź szybszego pogorszenia [32,33]. Dlatego też Cere mógłby poprawiać negatywne objawy w AD w dawkach wzmacniających funkcje poznawcze i wywierać działanie uspokajające i/lub podobne do przeciwdepresyjnego przy wyższych dawkach. Przeciwnie, możliwe jest również to, że poprawa objawów neuropsychiatrycznych wywoływana przez Cere u chorych z AD może, przynajmniej częściowo, wynikać z uspokajającego działania związku przy wysokich dawkach. Faktycznie, badanie kliniczne fazy I na zdrowych ochotnikach wykazało, że wysokie dawki Cere do 1 ml/kg ciężaru ciała może wywoływać łagodne działanie uspokajające (M. Rother, dane niepublikowane), czego dowodzi wzrost wolnych fal EEG i niższe wyniki w testach psychometrycznych. Jest to zgodne z naszym odkryciem, że 60 ml prowadzi do poprawy behawioralnej, ale nie funkcji poznawczych, jako że nawet łagodny wpływ uspokajający może skutecznie przeciwdziałać wszelkim próbom poprawy funkcjonowania poznawczego w punktacji testów psychometrycznych.

Odwrócona krzywa U zależności odpowiedzi od dawki otrzymana dla skutków terapeutycznych Cere dla funkcji ogólnych i poznawczych zgodna jest z peptyderycznym sposobem działania leku. Podobny odwrócony wzorec relacji zależności odpowiedzi od dawki był zgłaszany na przykład dla skutków behawioralnych hormonu wzrostu [34] i dla działania regeneracyjnego BDNF na aksony serotonergiczne [35]. Sądzi się, że ten odwrócony U-kształtny profil zależności odpowiedzi od dawki, powszechnie obserwowany z różnymi peptydami, wiąże się ze zmniejszaniem ilości receptorów przy wysokich dawkach. Co ciekawe, podobne odwrócone U-kształtne odpowiedzi dla Cere, z pośrednimi dawkami prowadzącymi do najlepszych efektów, zaobserwowano również w kilku badaniach eksperymentalnych z tym związkiem, co jest zgodne z naszymi odkryciami u ludzi.

Pomimo ogromnych wysiłków w badaniach nad AD, dostępne obecnie są tylko objawowe sposoby leczenia. Nowoczesne inhibitory cholinesterazy, jak Donepezil [36], Rivastigmin [37] czy Galanthamine [38,39], jak

również współczesne inhibitory NMDA, jak Memantine [2] są dobrze tolerowane i bezpieczne, lecz przynoszą jedynie korzyść objawową w ograniczonym czasie. Kliniczna korzyść z takiego podejścia do AD, polegającego na leczeniu objawowym, wyrażona jako różnica lek/placebo w poprawianiu funkcji poznawczych, wahała się na ADAS-cog od 1,6 do 3,9 punktu. Zaobserwowaliśmy podobną korzyść z różnicą 4.1 punktu na ADCS ADAS-cog+ dla dawki 10 ml Cere. Wraz z poprawką na dodatkowe pozycje tej rozszerzonej wersji ADAS-cog, różnica w leczeniu odpowiada poprawie o 3,1 punktu na oryginalnej skali ADAS-cog, co jest porównywalne lub nieco lepsze niż to, co zostało osiągnięte przy pomocy większości innych sposobów leczenia AD oraz zgodne z wcześniejszymi badaniami nad Cere.

W wypadku środków cholinergicznym ten efekt terapeutyczny znika natychmiast po wycofaniu leku. Rogers *i in.* [40] donieśli, że efekt Donepezilu został utracony w ciągu 6 tygodni po zaprzestaniu ciągłego, 26-tygodniowego leczenia. Cere, przejawia jednak całkiem inne własności farmakologiczne i kliniczne w odróżnieniu od inhibitorów cholinesterazy. Ruether *i in.* [20] donieśli o utrzymującej się skuteczności Cere w okresie 6 miesięcy po zaprzestaniu aktywnego leczenia. Panisset *i in.* [21] wykryli znaczący efekt terapeutyczny dla Cere 2 miesiące po zatrzymaniu leczenia, a Ruether *i in.* [22] znowu donieśli o utrzymującym się efekcie 3 miesiące po wycofaniu się z leczenia Cere. We wszystkich tych badaniach stosowano dawkę 30 ml Cere. Podobnie, w naszym badaniu pozytywne skutki dla funkcji ogólnych i czynności poznawczych utrzymywały się w dużym stopniu 3 miesiące po wycofaniu leku. Chociaż korzystny wpływ zaczynał powoli znikać po zaprzestaniu leczenia, statystycznie znamienne wyższość Cere nad placebo była nadal widoczna przy wizycie w 24. tygodniu dla dawki 10 ml. Dane te mogą wskazywać na możliwe działanie modyfikujące chorobę oraz efekt stabilizujący Cere, daleko przekracza czysty efekt objawowy. O ile te utrzymujące się skutki leczenia zostały już wcześniej wykazane dla 30 ml dawki Cere, nasze badanie wykazało, że również dawka 10 ml wywiera wpływ stabilizujący.

Ten wpływ na funkcje poznawcze jest wysoce istotny klinicznie. Oceny wskaźnika obniżenia zdolności poznawczych w przebiegu czasu sięgały do 9 punktów na skali ADAS-cog w ciągu 1 roku [41]. Stabilizacja obniżenia zdolności poznawczych obserwowana przez 24 tygodnie w niniejszej próbie jest zatem znacząco użyteczna dla praktyki klinicznej.

Długotrwały efekt leczenia Cere znakomicie zgadza się także z profilem farmakologicznym i domniemanym działaniem neurotroficznym Cere. Badania eksperymentalne z Cere na szczurach konsekwentnie wykazywały wpływ na histologię mózgu i zachowanie. Po 1-miesięcznym leczeniu, obserwowano utrzymującą się długotrwałą poprawę [15,16,42]. Cere prowadził do zwiększonej gęstości rozgałęzienia dendrytowego i do zwiększonej gęstości synaptycznej u tych zwierząt [15,17]. Można oczekiwać, że takie poważne oddziaływanie na cytoarchitekturę neuronową potrafi wywołać długotrwałe korzyści kliniczne. Ponadto, wykazano, że Cere ogranicza powstawanie płytek amyloidu u zwierząt transgenicznym [18], a zatem bezpośrednio

przeciwdziała leżącym u podłoża patologicznym zdarzeniom AD.

Co ciekawe, odwrócone, U-kształtne krzywe odpowiedzi w zależności od dawki dla Cere, z dawkami pośrednimi prowadzącymi do najlepszych efektów, również zostały zaobserwowane w tych modelach eksperymentalnych, co jest zgodne z naszymi odkryciami u ludzi.

Oprócz rezultatów skuteczności, nasza próba kliniczna potwierdza również odkrycia dotyczące bezpieczeństwa i tolerowalności pochodzące z wcześniejszych prób klinicznych z Cere, które wykazały znakomity profil bezpieczeństwa dla tego związku. Panisset *i in.* [21] jak też Ruether *i in.* [22] zgłaszali AE o podobnej częstości występowania dla leczenia 30 ml dawką Cere i placebo. Również w tym badaniu AE występowały z podobną częstością we wszystkich badanych grupach. Ponadto, nie zauważono żadnych zmian parametrów laboratoryjnych ani objawów czynności życiowych. Ogólnie, dawki do 60 ml Cere były dobrze tolerowane przez pacjentów, i nie zaobserwowano żadnego ogólnoustrojowego wzorca toksyczności dla Cere.

Podsumowując, związek neurotroficzny Cere jest bezpieczny i skuteczny w leczeniu chorych z AD i prowadzi do statystycznie znamiennej i klinicznie użytecznej poprawy czynności poznawczych i ogólnych funkcji klinicznych. Krzywa zależności odpowiedzi w zależności od dawki jest dla Cere odwrócona, przy czym dawka 10 ml jest najskuteczniejsza w leczeniu łagodnej do umiarkowanej AD, gdzie przeważają objawy poznawcze, podczas gdy wyższe dawki, do 60 ml mogłyby być klinicznie przydatne dla chorych z bardziej poważnymi formami choroby, kiedy dominującymi stają się zaburzenia behawioralne.

Co najważniejsze, korzyść terapeutyczna utrzymuje się częściowo przez co najmniej 3 miesiące po wycofaniu leku, co sugeruje wpływ stabilizujący Cere na chorych z AD. Potrzebne są dalsze badania w celu zbadania możliwości spowalniania przez Cere rozwoju AD oraz w celu zajęcia się kwestiami takimi jak minimalna skuteczna dawka Cere, optymalny reżim leczenia dla Cere jak również potencjalne efekty synergiczne Cere i strategii leczenia cholinergicznego.

Konflikt interesów

Herbert Moessler jest pracownikiem EBEWE Pharma, Research Department [Dział badań]. Nie posiada żadnych udziałów w spółce, a jego wynagrodzenie nie jest powiązane z wynikami projektów badawczych. Nie ma żadnych innych zależności do ujawnienia.

Podziękowanie

Badanie zostało sfinansowane z grantu od EBEWE Pharma, Unterach, Austria.

Piśmiennictwo

- Gauthier S. Acetylcholinesterase inhibitors in the treatment of Alzheimer's disease. *Expert Opinion on Inrestitutional Drugs* 1999; 8: 1511-1520.
- Reisberg B, Doody R, Stoffier A, Schmitt F, Ferris S, Möbius HJ. Memantine in moderate-to-severe Alzheimer disease. *New England Journal of Medicine* 2003; 348: 1333-1341.

- Tariot PN, Farlow MR, Grossberg GT, Graham SM, McDonald S, Gergel I. Memantine treatment in patients with moderate to severe Alzheimer's disease already receiving donepezil. *Journal of the American Medical Association* 2004; 291: 317-324.
- Gray J, Gauthier S. Stabilization approaches to Alzheimer disease. In: Gauthier S., ed. *Clinical Diagnosis and Management of Alzheimer's Disease*. London: Martin Dunitz. 1999; pp. 269-278.
- Hagg T, Fass-Holmes B, Vahlsing HL, Manthorpe M, Conner JM, Varon S. Nerve growth factor (NGF) reverses axotomy-induced decreases in choline acetyltransferase, NGF receptor and size of medial septum cholinergic neurons. *Brain Research* 1989; 505: 129-138.
- Fischer W, Björklund A, Chen K, Gage FH. NGF improves spatial memory in aged rodents as a function of age. *Journal of Neuroscience* 1991; 11: 1889-1906.
- Koliatsos VE, Applegate MD, Kniisel B *et al.* Recombinant human nerve growth factor prevents retrograde degeneration of axotomized basal forebrain cholinergic neurons in the rat. *Experimental Neurology* 1991; 112: 161-173.
- Frick KM, Price DL, Koliatsos VE, Markowska AL. The effects of nerve growth factor on spatial recent memory in aged rats persist after discontinuation of treatment. *Journal of Neuroscience* 1997; 17: 2543-2550.
- Seiger A, Nordberg A, Von-Holst H *et al.* Intracranial infusion of purified nerve growth factor to an Alzheimer patient: the first attempt of a possible future treatment strategy. *Behavioural Brain Research* 1993; 57: 255-261.
- Satou T, Imano M, Akai F, Hashimoto S, Itoh T, Fuji-moto M. Morphological observation of effects of Cerebrolysin on cultured neural cells. *Advances in the Biosciences* 1993; 87: 195-196.
- Satou T, Itoh T, Fujimoto M, Hashimoto S. Neurotrophic-like effects of FPF-1070 on cultured neurons from chick embryonic dorsal root ganglia. *Japanese Journal of Pharmacological Therapy* 1994; 22: 205-212.
- Akai F, Hiruma S, Sato T. Neurotrophic factor-like effect of FPF1070 on septal cholinergic neurons after transections of fimbria-fornix in the rat brain. *Histology and Histopathology* 1992; 7: 213-221.
- Alvarez XA, de Olano M, Sampedro C, *et al.* Cerebrolysin protects against neurodegeneration induced by β -amyloid implants in rats. *The International Journal of Neuropsychopharmacology* 2000a; 3: S359.
- Alvarez XA, Lombardi V, Fernandez-Novoa L, *et al.* Cerebrolysin reduces microglial activation in vivo and in vitro: a potential mechanism of neuroprotection. *Journal of Neural Transmission* 2000b; 59: 281-292.
- Masliah E, Armasolo F, Veinbergs I, Mallory M, Samuel W. Cerebrolysin ameliorates performance deficits, and neuronal damage in apolipoprotein E-deficient mice. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior* 1999; 62: 239-245.
- Gschanes A, Windisch M. The influence of Cerebrolysin and E021 on spatial navigation of 24-month-old rats. *Journal of Neural Transmission* 1998; 53(Suppl.): 313-321.
- Reinprecht I, Gschanes A, Windisch M, Fachbach G. Two peptidergic drugs increase the synaptophysin immunoreactivity in brains of 24-month-old rats. *Histochemical Journal* 1999; 31: 395-401.
- Rockenstein E, Mallory M, Mantę M, *et al.* Effects of Cerebrolysin on amyloid- β deposition in a transgenic model of Alzheimer's disease. *Journal of Neural Transmission* 2002; 62: 325-334.
- Ruether E, Ritter R, Apecechea M, Freytag S, Windisch M. Efficacy of the peptidergic nootropic drug Cerebrolysin in patients with senile dementia of the Alzheimer type (SDAT). *Pharmacopsychiatry* 1994; 27: 32-40.
- Ruether E, Ritter R, Apecechea M, Freytag S, Gmeinbauer R, Windisch M. Sustained improvements in patients with dementia of Alzheimer's type (DAT) 6

months after termination of Cerebrolysin therapy. *Journal of Neural Transmission* 2000; **107**: 815-829.

21. Panisset M, Gauthier S, Moessler H, Windisch M. Treatment of Alzheimer's disease; a randomized, double-blind, placebo-controlled trial with a neurotrophic agent. *Newobiology of Aging* 2000; **21**: S28.
22. Ruether E, Husmann R, Kinzler E, et al. A 28 week, double-blind, placebo-controlled study with Cerebrolysin in patients with mild to moderate Alzheimer's disease. *International Clinical Psychopharmacology* 2001; **16**: 253-263.
23. Mc Khann G, Drachman D, Folstein M. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of the Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology* 1984; **34**: 39-44.
24. Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-Mental State". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *Journal of Psychiatric Research* 1975; **12**: 189-198.
25. Rosen WG, Terry RD, Fuld P. Pathological verification of ischemia score in differentiation of dementias. *Annals of Neurology* 1980; **7**: 486-488.
26. Mohs RC, Knopman D, Petersen RC, et al. Development of cognitive instruments for use in clinical trials of antidementia drugs: additions to the Alzheimer's disease assessment scale that broaden its scope. *Alzheimer's Disease and Associated Disorders* 1997; **11**: S13-S21.
27. Knopman DS, Knapp MJ, Gracon SI, Davis CS. The clinician interview-base impression: a clinician's global change rating scale in Alzheimer's disease. *Neurology* 1994; **44**: 2315-2321.
28. Cummings JL, Mega M, Gray K, Rosenberg-Thompson S, Carusi DA, Gornbein J. The Neuropsychiatric Inventory: comprehensive assessment of psychopathology in dementia. *Neurology* 1994; **44**: 2308-2314.
29. Oswald WD, Roth E. *Der Zahletnerhindungstest ZYT*. Göttingen, Germany: Verlag für Psychologie, 1978.
30. Gelinas I, Gauthier L, McIntyre M, Gauthier S. Development of a functional measure for persons with Alzheimer's disease: the disability assessment for dementia. *American Journal of Occupational therapy* 1998; **53**: 471 — 481.
31. De Jonghe JF, Goedhart AW, Ooms ME, et al. Negative symptoms in Alzheimer's disease: a confirmatory factor analysis. *International Journal of Geriatric Psychiatry* 2003; **18**: 748-753.
32. Assal F, Alarcon M, Solomon EC, Masterman D, Geschwind DH, Cummings JL. Association of the serotonin transporter and receptor gene polymorphisms in neuropsychiatric symptoms in Alzheimer disease. *Archives of Neurology* 2004; **61**: 1249-1253.
33. Alvarez XA, Laredo M, Couceiro V, et al. Frequency and severity of neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: Influence of the APOE genotype. *The International Journal of Neuropsychopharmacology* 2004; **7**: S384.
34. Alvarez XA, Cacabelos R. Influence of growth hormone (GH) and GH-releasing factor on locomotor activity in rats. *Peptides* 1993; **14**: 707-712.
35. Mamounas LA, Altar CA, Blue ME, Kaplan DR, Tessarollo L, Lyons WE. BDNF promotes the regenerative sprouting, but not survival, of injured serotonergic axons in the adult rat brain. *Journal of Neuroscience* 2000; **20**: 771-782.
36. Doody RS. Clinical profile of donepezil in Alzheimer's disease. *Gerontology* 1999; **45**(Suppl.): 123-132.
37. Anand R, Gharabawi G, Enz A. Efficacy and safety results of the early phase studies with Exelon (ENA 713) in Alzheimer's Disease: an overview. *Journal of Drug Development and Clinical Practice* 1996; **8**: 109-116.
38. Raskind MA, Peskind ER, Wessel T, Yuan W and the Galantamine USA-1 Study Group Galantamine in

AD: a 6-months randomized, placebo-controlled trial with a 6-month extension. *Neurology* 2000; **54**: 2261-2268.

39. Tariot PN, Solomon PR, Morris JC, Kershaw P, Lilienfeld S, Ding C and the Galantamine USA-10 Study Group A 5-month randomized, placebo-controlled trial of galantamine in AD. *Neurology* 2000; **54**: 2269-2276.
40. Rogers SL, Farlow MR, Doody RS. A 24-week, double-blind, placebo-controlled trial of donepezil in patients with Alzheimer's disease. *Neurology* 1998; **50**: 136— 145.
41. Stern RG, Mohs RC, Davidson M, Schmeidler J, Silverman J, Kramer-Ginsberg E. A longitudinal study of Alzheimer's disease: measurement, rate and predictors of cognitive deterioration. *American Journal of Psychiatry* 1994; **151**: 390-396.
42. Valouskova V, Francis-Turner L. Can Cerebrolysin influence chronic deterioration of spatial learning and memory? *Journal of Neural Transmission* 1998; **52** (Suppl.): 343-349.