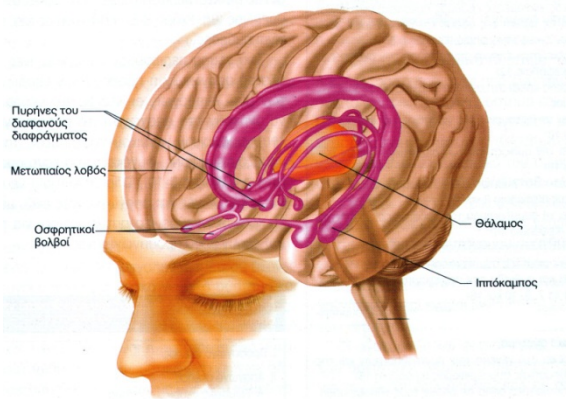




## ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗΣ ΑΕΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΠΙΚΑΙΡΟΠΟΙΗΣΗ ΓΝΩΣΕΩΝ ΑΠΟΦΟΙΤΩΝ ΑΕΙ (ΠΕΓΑ)

*«Οι σύγχρονες τεχνικές βιο-ανάλυσης στην υγεία, τη γεωργία,  
το περιβάλλον και τη διατροφή»*



## Νευροεκφυλιστικές Ασθένειες: Βιοδείκτες

Ως **βιοδείκτες** ορίζονται μετρήσιμες ουσίες σε ένα βιολογικό σύστημα που οι διαφορές στην συγκέντρωσή τους αντανακλούν διαταραχές στην φυσιολογική λειτουργία του συστήματος.

- μια μετρήσιμη κλινική εκτίμηση
- μια βιοχημική μέθοδος
- μια απεικονιστική μέθοδος

Ιδανικός βιοδείκτης:

- Μπορεί να μετρηθεί εύκολα και φτηνά κυρίως στο αίμα, αλλά και στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό ή στα ούρα
- Υψηλή ειδικότητα
- Υψηλή ευαισθησία
- Σχετίζεται άμεσα με την κλινική κατάσταση και την πρόγνωση του ασθενούς
- Πρέπει να αντανακλά την πρόοδο της ασθένειας

Για την ανακάλυψη βιοδεικτών πρέπει πρώτον να γνωρίζουμε τη μοριακή βάση της ασθένειας και δεύτερον να έχουμε την απαραίτητη τεχνογνωσία για να ανιχνεύσουμε στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό, στο αίμα ή στα ούρα, την ουσία ή τις ουσίες, η συγκέντρωση ή η διαμόρφωση των οποίων είναι προβληματική στους ασθενείς.

Στη συνέχεια, θα αναφερθούμε στις σημαντικότερες νευροεκφυλιστικές ασθένειες, Parkinson και Alzheimer, όπου θα παρουσιάσουμε τις δυσλειτουργίες σε μοριακό επίπεδο που έχουν ανιχνευθεί, και τις προσπάθειες για τη μέτρηση βιοδεικτών. Ωστόσο, σήμερα δεν υπάρχουν **ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ ΙΚΑΝΟΙ** για διάγνωση ή πρόγνωση **ΝΕΥΡΟΕΚΦΥΛΙΣΤΙΚΩΝ ΑΣΘΕΝΕΙΩΝ** αλλά ούτε και γενικότερα για ασθένειες του **ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ**.

## ΑΣΘΕΝΕΙΑ ΤΟΥ ΠΑΡΚΙΝΣΟΝ και ΑΠΩΛΕΙΑ ΝΤΟΠΑΜΙΝΕΡΓΙΚΩΝ ΝΕΥΡΩΝΩΝ

Τα συμπτώματα της ασθένειας περιέγραψε πρώτος ο Γαλλνός. Το 1817, ο Άγγλος χειρουργός James Parkinson (1755-1824) αναγνώρισε την ασθένεια ως μεμονωμένη κλινική ενότητα σε 6 ασθενείς, και την ονόμασε “*shaking palsy*” ή “*paralysis agitans*”. Το 1877 ο Γάλλος νευροβιολόγος Jean-Martin Charcot ονόμασε την ασθένεια Parkinson.



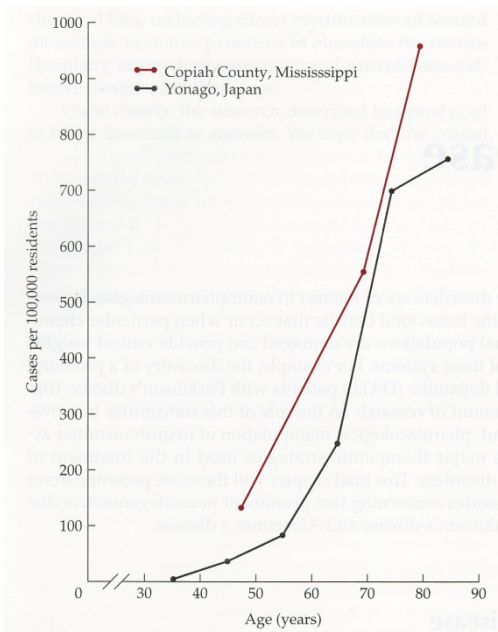
**James Parkinson  
(1755-1824)**

Τα κύρια συμπτώματα της ασθένειας είναι βλάβη στην εκτέλεση των εκούσιων κινήσεων, βραδυκινησία (βραδύτητα έναρξης των κινήσεων), συνεχές τρέμουλο, μυϊκή ακαμνία (αυξανόμενη αντίσταση των μυών σε παθητικές κινήσεις), ανωμαλίες στη στάση και το βάδισμα (ιδιόμορφη στάση, βάδισμα σημειωτόν με σύρσιμο των ποδιών) και ανικανότητα εκτέλεσης καθηκόντων που απαιτούν δεξιότητα. Σύμφωνα με τα κλινικά αυτά συμπτώματα αυτά γίνεται

μέχρι σήμερα η διάγνωση της ασθένειας. Ωστόσο, όπως θα δούμε παρακάτω, τα συμπτώματα εμφανίζονται μετά την καταστροφή του 80% των ντοπαμινεργικών νευρώνων, οπότε είναι πολύ δύσκολο να παρέμβουμε φαρμακευτικά.

Μέσα σε 5 χρόνια από την έναρξη των συμπτωμάτων το 20% των ασθενών είτε είναι ανάπηροι είτε πεθαίνουν. Μέσα σε 10-12 χρόνια από την έναρξη των συμπτωμάτων το 80% των ασθενών είτε είναι ανάπηροι είτε πεθαίνουν. Υπάρχει και ένα ελάχιστο ποσοστό που μπορεί να ζήσει έως 20 χρόνια.

Η ασθένεια του Parkinson χαρακτηρίζεται ως μια ασθένεια λόγω γήρατος. Η πιθανότητα να νοσήσει κανείς αυξάνεται δραματικά σε μεγάλες ηλικίες (Schonberg, 1987).



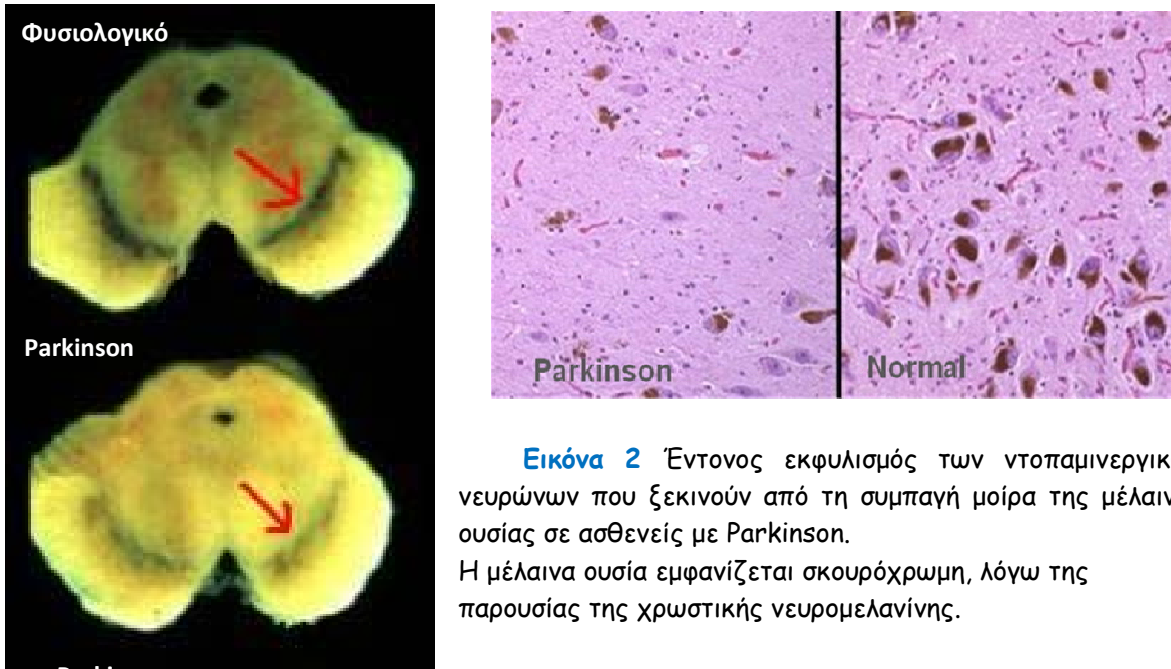
**Εικόνα 1** Η συχνότητα εμφάνισης των συμπτωμάτων της ασθένειας του Parkinson αυξάνεται δραματικά σε ηλικίες πάνω των 60 ετών, ανεξάρτητα από τη γεωγραφική περιοχή ή την εθνικότητα.

Η μία έρευνα διεξήχθη στο Mississippi και η άλλη στην Ιαπωνία (Από Schonberg, 1987).

### Νευροπαθολογικά Χαρακτηριστικά της Ασθένειας Parkinson

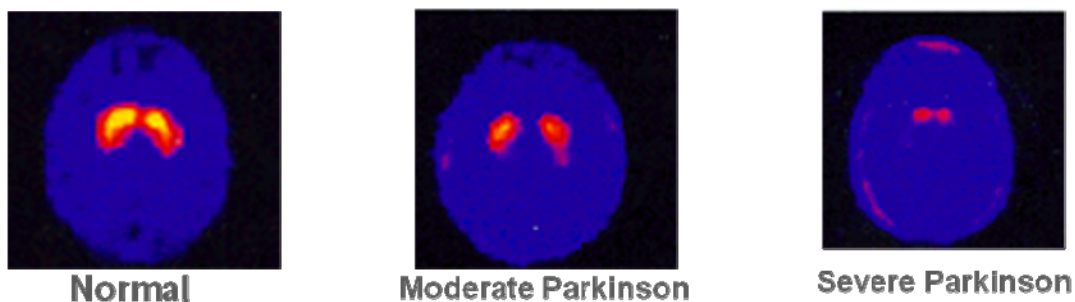
Οι πρώτες ιστοπαθολογικές μελέτες σε εγκεφάλους ασθενών με Parkinson πραγματοποιήθηκαν στις αρχές του 1900. Το 1919, ο Tretiakoff ανακάλυψε μια σημαντική απώλεια των μελανοφόρων νευρώνων της μέλαινας ουσίας (substantia nigra) σε ασθενείς με Parkinson. Πρόκειται για ντοπαμινεργικούς νευρώνες που ξεκινούν από τη συμπαγή μούρα της μέλαινας ουσίας (substantia nigra pars compacta, SNC), η οποία εμφανίζεται

σκουρόχρωμη, ακόμη και χωρίς προσθήκη χρωστικής, λόγω της παρουσίας μέσα στους DA νευρώνες της χρωστικής **νευρομελανίνης**. Σημαντική απώλεια αυτών των DA νευρώνων λαμβάνει χώρα και κατά τη διάρκεια της φυσιολογικής γήρανσης, ωστόσο, το επίπεδο εκφυλισμού των DA νευρώνων στο Parkinson είναι πολύ μεγαλύτερο.



**Εικόνα 2** Έντονος εκφυλισμός των ντοπαμινεργικών νευρώνων που ξεκινούν από τη συμπαγή μοίρα της μέλαινας ουσίας σε ασθενείς με Parkinson. Η μέλαινα ουσία εμφανίζεται σκουρόχρωμη, λόγω της παρουσίας της χρωστικής νευρομελανίνης.

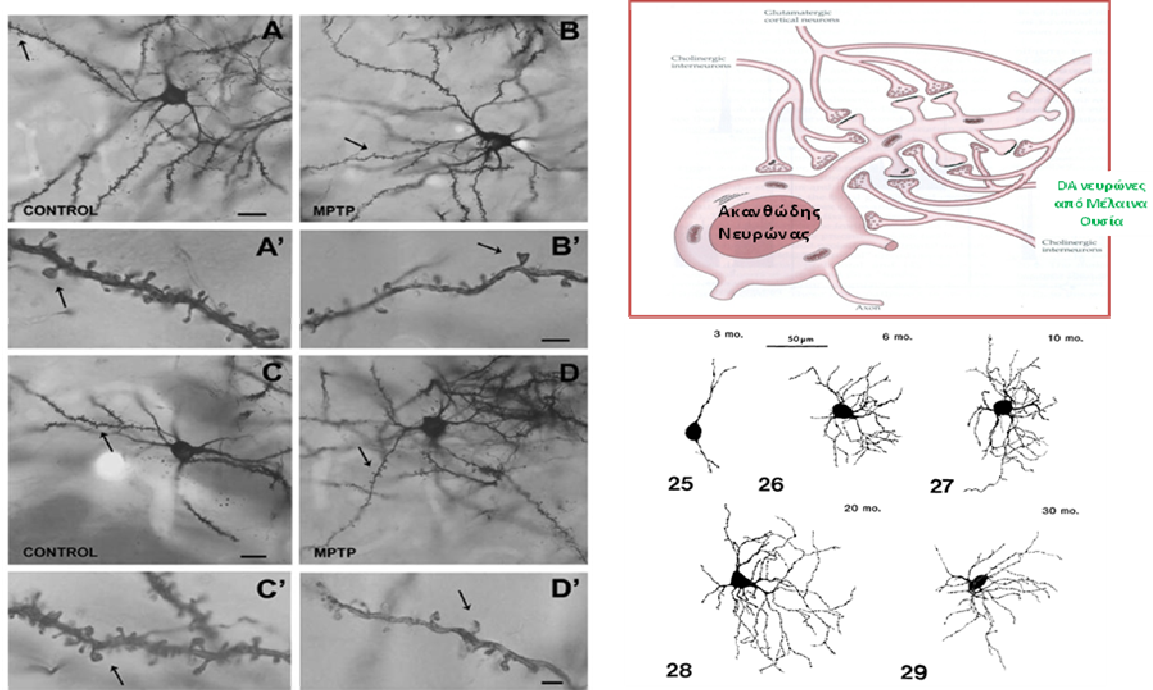
Οι DA νευρώνες που ξεκινούν από τη συμπαγή μοίρα της μέλαινας ουσίας καταλήγουν στο ραβδωτό σώμα (corpus striatum): κέλυφος (putamen) και κερκοφόρος πυρήνας (caudate nucleus). Με ανίχνευση των συναπτικών απολήξεων των DA νευρώνων, μέσω ραδιενεργής ιχνηθέτησης με [ $^{18}\text{F}$ ]DOPA του μεταφορέα επαναπρόσληψης της DA που βρίσκεται στη συναπτική μεμβράνη, βρέθηκε μειωμένος αριθμός συναπτικών DA απολήξεων στο ραβδωτό σώμα σε ασθενείς με Parkinson. Η ανίχνευση της απώλειας των ντοπαμινεργικών συνάψεων μέσω PET scan είναι ένας απεικονιστικός δείκτης που πληροί αρκετά κριτήρια, με μόνο πρόβλημα ότι ανιχνεύει την απώλεια των νευρώνων μετά την εμφάνιση των συμπτωμάτων.



**Εικόνα 3** Προοδευτικός εκφυλισμός των ντοπαμινεργικών απολήξεων στο ραβδωτό σώμα, μέσω ραδιενεργής ιχνηθέτησης με [ $^{18}\text{F}$ ]DOPA του μεταφορέα επαναπρόσληψης της DA που βρίσκεται στη συναπτική μεμβράνη, σε ασθενείς με Parkinson.

Οι DA νευρώνες που καταλήγουν στο ραβδωτό σώμα, δημιουργούν συνάψεις με έναν ειδικό τύπο νευρώνων, τους μέσους ακανθώδεις νευρώνες. Το 1988, ο McNeil ανέφερε μια μετρήσιμη μείωση του μήκους, των δενδριτικών απολήξεων, αλλά και του αριθμού των ακανθωδών νευρώνων στο ραβδωτό σώμα ασθενών με Parkinson. Το γεγονός αυτό

υποδηλώνει ότι η μακρόχρονη απώλεια των DA νευρώνων, που οδηγεί σε μειωμένη διέγερση των ακανθωδών νευρώνων του ραβδωτού σώματος, έχει ως αποτέλεσμα την ατροφία αυτών των νευρώνων, η οποία μπορεί να είναι υπεύθυνη για την μερική ανικανότητα της αποτελεσματικότητας της θεραπείας που έχει ως στόχο την αύξηση της DA.



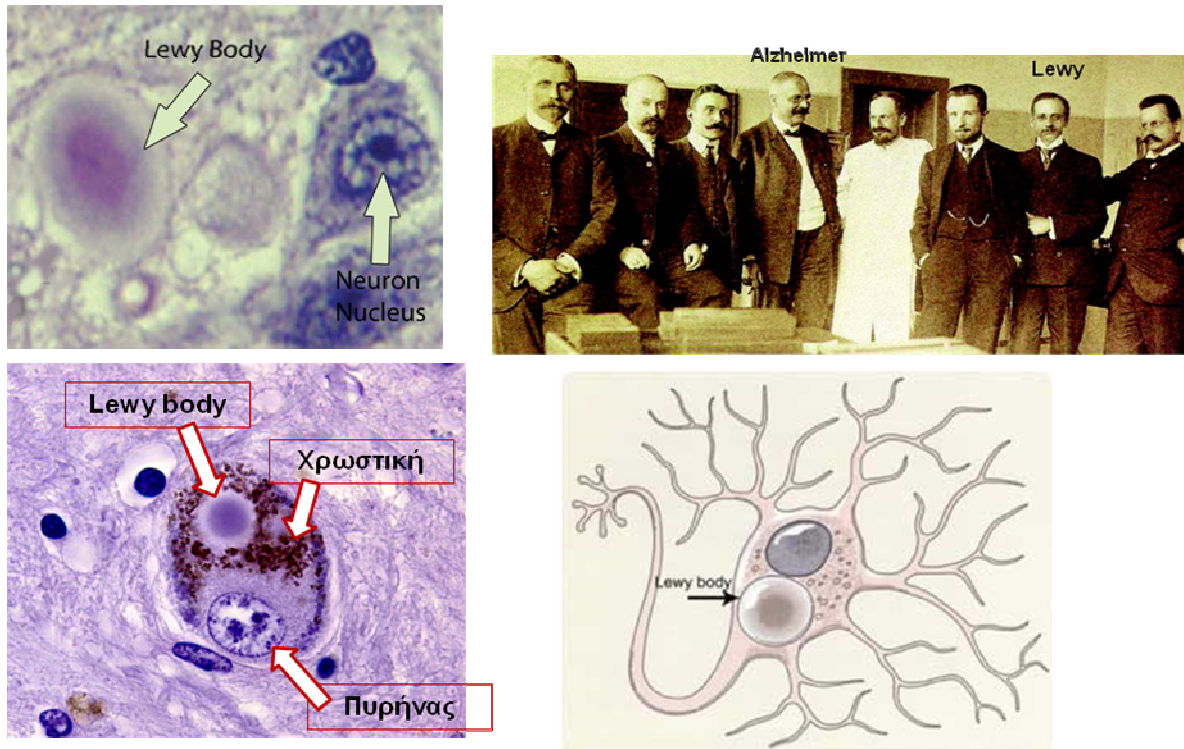
**Εικόνα 4** Ελάττωση του μήκους, των δενδριτικών διακλαδώσεων αλλά και της συγκέντρωσης των ακανθωδών νευρώνων στο ραβδωτό σώμα στο Parkinson (McNeil, 1988).

Εκτός από την απώλεια των νευρώνων, ένα άλλο κύριο ιστοπαθολογικό χαρακτηριστικό στο Parkinson αναφέρθηκε το 1913, από τον Γερμανό νευρολόγο Frederick Lewy, ο οποίος περιέγραψε την παρουσία ανώμαλων κυτταροπλασματικών εγκλίσεων σε εκφυλισμένους νευρώνες.

Τα Lewy bodies, όπως ονομάζονται σήμερα, είναι σφαιρικές ηωσινόφιλες (βάφονται από την όξινη χρωστική ηωσίνη) δομές 5-25μm από ανώμαλα συσσωματώματα πρωτεϊνών (τουμπουλίνη, ουβικιτίνη, α-συνουκλεΐνη). Η ανακάλυψη πολύ αργότερα μεταλλάξεων της α-συνουκλεΐνης σε ασθενείς με Parkinson έδωσε νέα ώθηση στην έρευνα των Lewy bodies. Η α-συνουκλεΐνη μεταφέρεται μεταξύ των νευρώνων γι'αυτό και έχει πρόσβαση στο εξωκυττάριο υγρό.

Σήμερα, η ανίχνευση χαμηλής συγκέντρωσης της α-συνουκλεΐνης στο αίμα / σάλιο / εγκεφαλονωτιαίο υγρό ασθενών με Parkinson είναι ο πιο υποσχόμενος αλλά και συνάμα ο πιο αμφιλεγόμενος μοριακός δείκτης για τη διάγνωση της ασθένειας. Η αιτία της μειωμένης συγκέντρωσης δεν είναι γνωστή, πιθανόν να αντανακλά αλλαγές σε μεταγραφικό επίπεδο ή σε επίπεδο απομάκρυνσης από τον οργανισμό. Ωστόσο, τα αποτελέσματα των μετρήσεων στο αίμα και στο σάλιο δεν έχουν την απαραίτητη επαναληψιμότητα, δεδομένου του γεγονότος ότι σωμάτια Lewy συναντώνται και στο 10% των φυσιολογικών ατόμων πάνω από 50. Επιπλέον, η φωσφορυλιωμένη μετα-μεταγραφικά μορφή της α-συνουκλεΐνης, η οποία αφθονεί στα σώματα του Lewy, μπορεί να ανιχνευθεί με ραδιενεργή σήμανση.





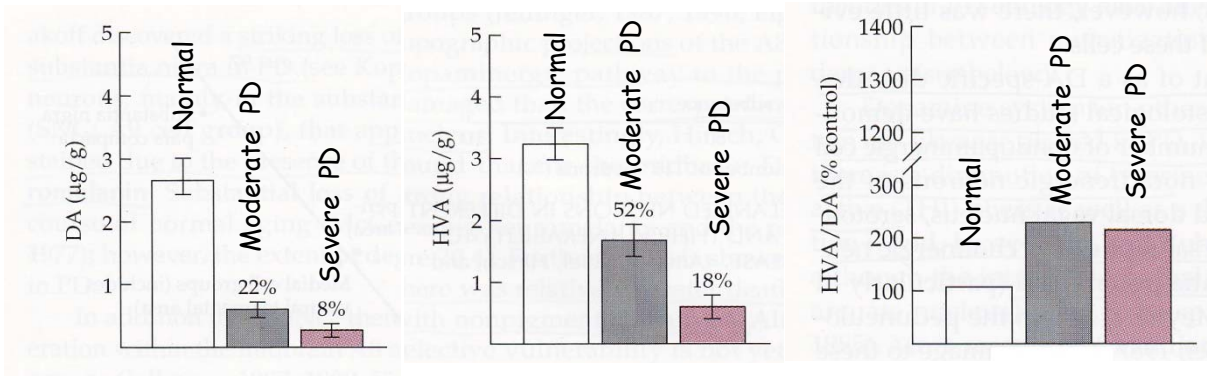
**Εικόνα 5** Ο Γερμανός νευρολόγος Frederick Lewy περιέγραψε την παρουσία ανώμαλων κυτταροπλασματικών σφαιρικών ηωσινοφίλων δομών 5-25 μm από ανώμαλα συσσωματώματα πρωτεϊνών.

Αν και το Parkinson θεωρείται μια ντοπαμινεργική πάθηση, πολλές ιστολογικές μελέτες έχουν δείξει σημαντική απώλεια νοραδρενεργικών νευρώνων στον υπομέλανα τόπο, σεροτονινεργικών νευρώνων στη ραφή και χολινεργικών νευρώνων στον βασικό πυρήνα του Meynert. Η καταστροφή αυτών των νευρώνων πιθανόν να παίζει ρόλο στα μη-κινητικά συμπτώματα του Parkinson.

### **Ανωμαλίες στα συστήματα των νευροδιαβιβαστών**

Στις αρχές του 1960, μελέτες του Oleh Hornykiewicz έδειξαν έντονη μείωση της συγκέντρωσης της DA στο ραβδωτό σώμα, στην ωχρά σφαίρα και στη μέλαινα ουσία των ασθενών με Parkinson. Μέσα στο ραβδωτό σώμα, το κέλυφος εμφάνιζε πολύ μεγαλύτερη μείωση από ότι ο κερκοφόρος πυρήνας. Σημαντική ελάττωση παρατηρήθηκε και στο μεταβολίτη της DA, ομοβαλλινικό οξύ (HVA).

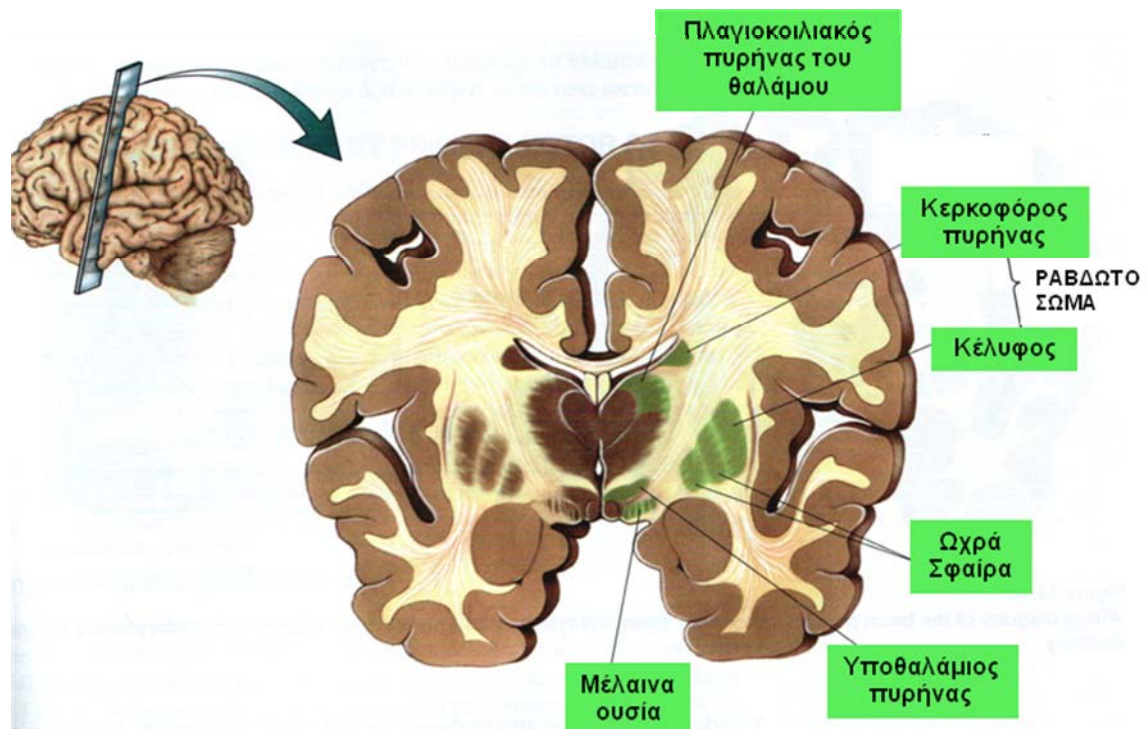
Είναι ενδιαφέρον να σημειώσουμε ότι τα συμπτώματα του Parkinson, δεν ξεκινούν πριν την καταστροφή τουλάχιστον του 70-80% των DA νευρώνων της μέλαινας ουσίας (Agid, 1987). Συνεπώς, υπάρχουν μηχανισμοί αναπλήρωσης από τους εναπομείναντες DA νευρώνες προσπαθώντας να διατηρήσουν τη φυσιολογική λειτουργία της νευρικής οδού. Ένας ανάλογος μηχανισμός είναι η ελάττωση του ρυθμού καταβολισμού της DA. Δηλαδή, ενώ τα επίπεδα DA και HVA στο Parkinson εμφανίζονται μειωμένα, η αναλογία DA/HVA αυξάνεται.



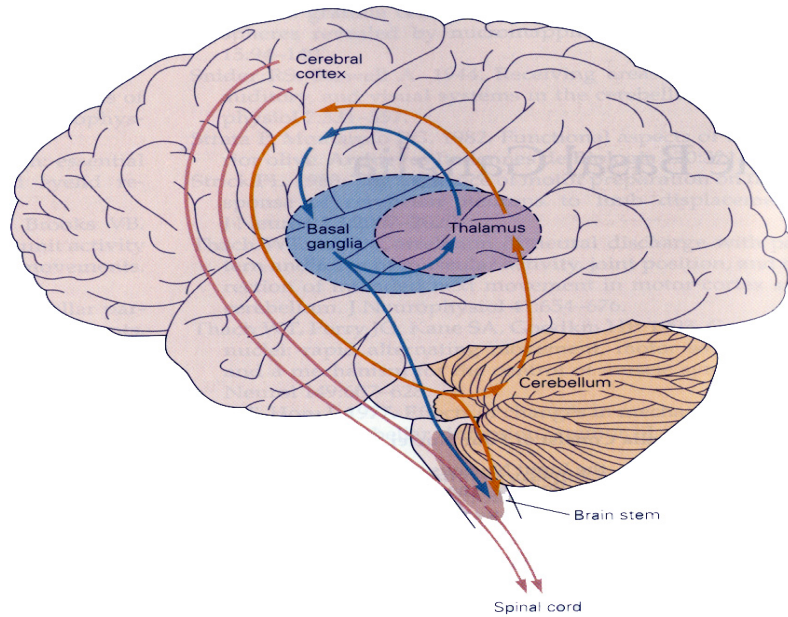
**Εικόνα 6** Η η συγκέντρωση HVA (ένα προϊόν καταβολισμού της DA) στο Parkinson ελαττώνεται λιγότερο από ότι η συγκέντρωση της DA, και κατά συνέπεια η αναλογία DA/HVA αυξάνεται. Ως αποτέλεσμα τα συμπτώματα του Parkinson εμφανίζονται μετά την καταστροφή 70-80% των DA νευρώνων.

### Τα βασικά γάγγλια και η ρύθμιση της κίνησης

Τα βασικά γάγγλια αποτελούνται από πολλές λειτουργικά διακριτές ομάδες πυρήνων: η υποομάδα που παίζει ρόλο στη λειτουργία της κίνησης είναι ο **κερκοφόρος πυρήνας** (caudate nucleus), το **κέλυφος** (putamen) και η **ωχρά σφαίρα** (globus pallidus). Δυο επιπλέον δομές στενά συνδεδεμένες με τη κινητική δράση αυτών των βασικών γαγγλίων είναι η **μέλαινα ουσία** (substantia nigra) και ο **υποθαλάμιος πυρήνας** (subthalamic nucleus).



**Εικόνα 7** Τα βασικά γάγγλια αποτελούνται από πολλές λειτουργικά διακριτές ομάδες πυρήνων: ο κερκοφόρος πυρήνας, το κέλυφος, η ωχρά σφαίρα, η μέλαινα ουσία και ο υποθαλάμιος πυρήνας.



**Εικόνα 8** Το εξωπυραμιδικό κινητικό σύστημα των βασικών γαγγλίων.

Οι δομές αυτές επηρεάζουν την κίνηση ρυθμίζοντας τη δραστηριότητα των άνω κινητήριων νευρώνων στον κινητικό φλοιό. Η δράση τους είναι απαραίτητη για την κανονική έναρξη των εκούσιων κινήσεων.

Όταν κάποιος από τα συστατικά των βασικών γαγγλίων έχει πρόβλημα, ο ασθενής δεν μπορεί να ελέγξει την έναρξη και το τέλος μιας ηθελημένης κίνησης.

### **ΔΙΠΛΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΩΝ ΒΑΣΙΚΩΝ ΓΑΓΓΛΙΩΝ ΑΠΟ ΤΟΥΣ DA ΝΕΥΡΩΝΕΣ**

Οι ντοπαμινεργικοί νευρώνες της συμπαγούς μοίρας της μέλαινας ουσίας ελέγχουν το output του ραβδώτου σώματος. Η ντοπαμινεργική επίδραση πάνω στους μέσους ακανθώδεις νευρώνες είναι διπλή: Ενεργοποιεί την άμεση οδό και αναστέλλει την έμμεση.

Ο ίδιος μέλανας ντοπαμινεργικός νευρώνας ενεργοποιεί τους ακανθώδεις νευρώνες που προβάλλουν στην εσωτερική ωχρή σφαίρα (άμεση οδός), μέσω των **D1 υποδοχέων** του, και αναστέλλει τους ακανθώδεις νευρώνες που προβάλλουν στην εξωτερική ωχρή σφαίρα (έμμεση οδός), μέσω των **D2 υποδοχέων** του. Αν και αυτές οι δυο δράσεις είναι ανταγωνιστικές μεταξύ τους, έχουν το ίδιο τελικό αποτέλεσμα: την ΑΡΣΗ της ΑΝΑΣΤΟΛΗΣ ΠΟΥ ΑΣΚΟΥΝ ΤΑ ΒΑΣΙΚΑ ΓΑΓΓΛΙΑ στο θάλαμο, και συνεπώς τη διέγερση των κινητήριων νευρώνων του φλοιού από το θάλαμο.

Αυτός ο ρυθμιστικός ντοπαμινεργικός έλεγχος έχει χαθεί στην ασθένεια του Parkinson, λόγω εκφυλισμού των ντοπαμινεργικών νευρώνων της συμπαγούς μοίρας της μέλαινας ουσίας. Συνεπώς, η αναστολή που ασκούν τα βασικά γάγγλια στο θάλαμο είναι ανώμαλα υψηλή, με αποτέλεσμα να ενεργοποιούνται «δύσκολα» οι άνω κινητικοί νευρώνες. Στο Parkinson, κάθε κίνηση είναι δύσκολο να ξεκινήσει, ενώ όταν ξεκινήσει είναι δύσκολο να σταματήσει: βραδυκίνησια και προοδευτικά ακαμψία.

Ωστόσο το τρέμουλο που εμφανίζουν οι ασθενείς του Parkinson δεν είναι ακόμη γνωστό πώς προκαλείται. Πιστεύεται ότι προέρχεται από τονική δραστηριότητα μέσα στη θηλιά βασικά γάγγλια-θάλαμος-φλοιός.

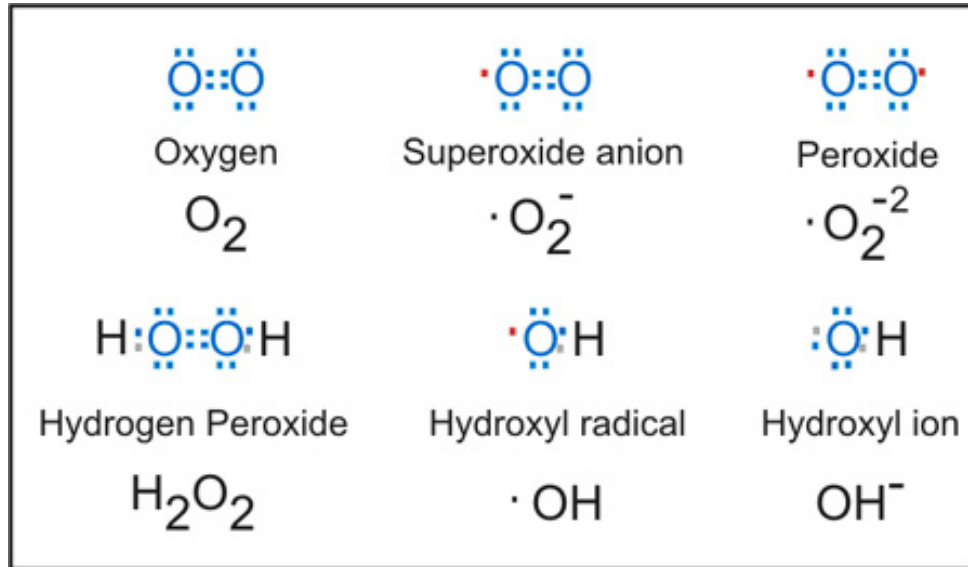
### **Η Υπόθεση του Οξειδωτικού Stress στην ασθένεια του Parkinson**

Η έρευνα για την παθογένεια του Parkinson εστιάστηκε στο μελανοραβδώτο ντοπαμινεργικό σύστημα, καθώς το σύστημα αυτό είναι το περισσότερο προσβεβλημένο, και



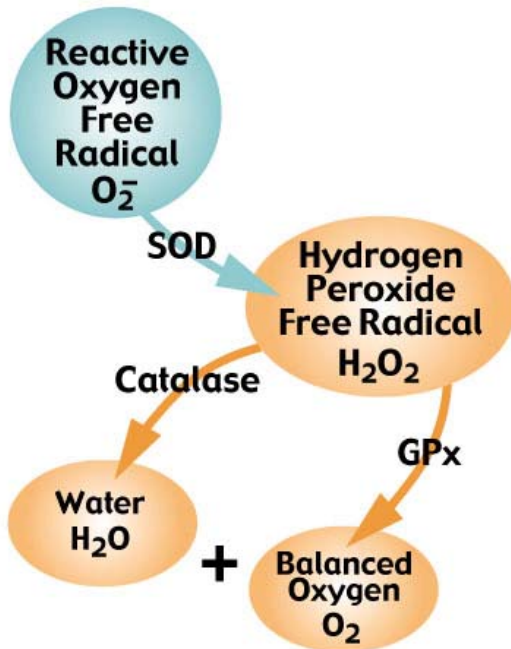
στον εκφυλισμό του αποδίδονται κατά κύριο λόγο τα κινητικά προβλήματα του Parkinson. Οι επιστήμονες δεν έχουν ακόμη μια ξεκάθαρη άποψη για την αιτία καταστροφής των DA νευρώνων της συμπαγούς μοίρας της μέλαινας ουσίας. Ωστόσο οι σύγχρονες θεωρίες εστιάζουν στην ιδέα ότι αυτή η καταστροφή οφείλεται κυρίως στο οξειδωτικό stress.

Οι αντιδράσεις μεταφοράς ηλεκτρονίων, μπορούν να μετατρέψουν το μοριακό οξυγόνο ( $O_2$ ) σε υπεροξειδίο του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ) και σε ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (reactive oxyradicals, ROS): υπεροξειδίου ( $O_2^-$ ) και υδροξυλίου ( $\cdot OH$ )<sup>1</sup>.



**Εικόνα 9** Με προσθήκη ηλεκτρονίων στο μοριακό οξυγόνο ( $O_2$ ) δημιουργούνται υπεροξειδίο του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ) και ελεύθερες ρίζες οξυγόνου: υπεροξειδίου ( $O_2^-$ ) και υδροξυλίου ( $\cdot OH$ ).

Οι συγκεκριμένες ελεύθερες ρίζες οξυγόνου είναι ισχυροί οξειδωτικοί παράγοντες που μπορούν να προκαλέσουν εκτεταμένη καταστροφή, ακόμη και το θάνατο του κυττάρου μέσω πολλαπλών μηχανισμών: καταστροφή των νουκλεϊνικών οξέων, οξείδωση πρωτεϊνών και υπεροξειδωση λιπιδίων, η οποία οδηγεί στη διαταραχή της λειτουργίας της μεμβράνης.



**Εικόνα 10** Ενζυμικές αντιδράσεις που οδηγούν στην απομάκρυνση των ελεύθερων ριζών οξυγόνου και του υπεροξειδίου του υδρογόνου.

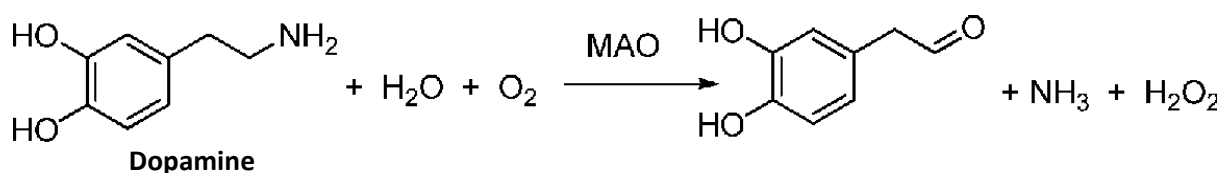
Η υπεροξειδική δισμουτάση (SOD, superoxide dismutase) μετατρέπει το  $O_2^-$  σε  $H_2O_2$ . Η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx, glutathione peroxidase) και η καταλάση μετατρέπουν το  $H_2O_2$  σε  $O_2$  και  $H_2O$ .

<sup>1</sup> Ελεύθερη ρίζα είναι οποιοδήποτε μόριο με ένα μονήρες ηλεκτρόνιο. Ορισμένες ρίζες αντιδρούν ισχυρά με άλλα στοιχεία και συνεπώς έχουν μικρό χρόνο ζωής, μετά το σχηματισμό τους.

Σε φυσιολογικές συνθήκες, οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου διατηρούνται σε χαμηλές συγκεντρώσεις λόγω της ισορροπίας ανάμεσα στη δημιουργία και στην απομάκρυνσή τους. Δύο είναι οι κύριοι μηχανισμοί απομάκρυνσης: (1) κυτταρικά αντιοξειδωτικά, όπως η βιταμίνη E και η βιταμίνη C, που αντιδρούν με τα ROS και σταματούν την αλυσίδα αντιδράσεων, και (2) ένζυμα όπως **υπεροξειδική δισμουτάση** και η **υπεροξειδάση της γλουταθειόνης** που καταλύουν την απομάκρυνση των ROS.

Η εμφάνιση οξειδωτικού stress στους ντοπαμινεργικούς νευρώνες μπορεί να οφείλεται σε διάφορους μηχανισμούς:

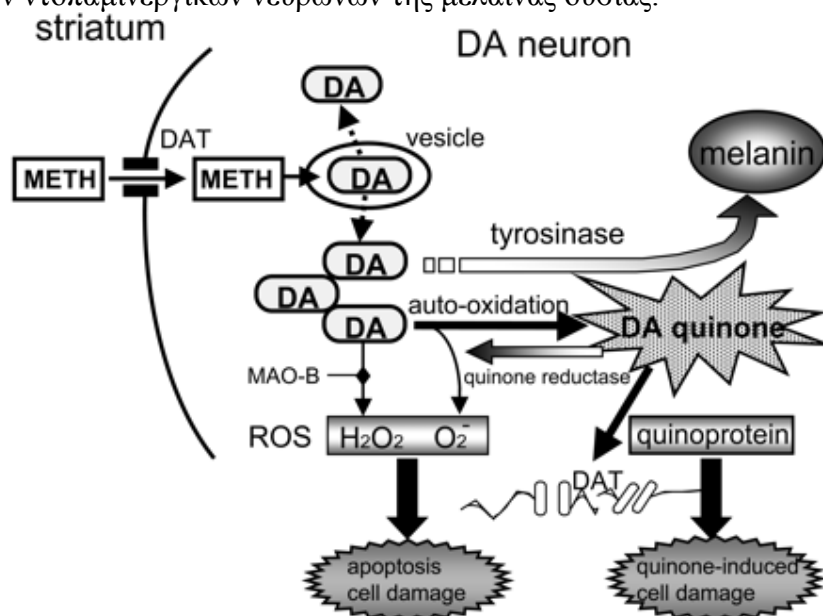
1. Το  $H_2O_2$  είναι ένα από τα προϊόντα της απαμίνωσης της DA από τις MAO-B. Συνεπώς, το κάθε μόριο DA που καταβολίζεται μέσα στο νευρώνα δημιουργεί και ένα μόριο  $H_2O_2$ .



Ο Cohen (1983) πρότεινε ότι η αντίδραση των MAO μπορεί να είναι η πηγή του οξειδωτικού stress στο Parkinson.

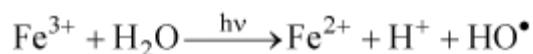
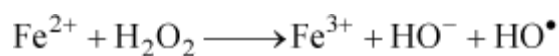
2. Οι κατεχολαμίνες υπόκεινται επίσης σε μη-ενζυματική αυτο-οξείδωση παρουσία μοριακού οξυγόνου ( $O_2$ ). Αυτή η αντίδραση οδηγεί σε δημιουργία τοξικών κινόνων (quinones), όπως επίσης και σε δημιουργία υπεροξειδίου του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ) και δραστικών ριζών οξυγόνου (ROS).

Επιπλέον η αυτο-οξείδωση της DA θεωρείται ότι είναι ο μηχανισμός δημιουργίας της νευρομελανίνης. Συνεπώς, η αυτο-οξείδωση μπορεί να παίζει σημαντικό ρόλο στην καταστροφή των ντοπαμινεργικών νευρώνων της μέλαινας ουσίας.



**Εικόνα 11** Μηχανισμοί δημιουργίας τοξικών προϊόντων καταβολισμού της DA, όπως ελεύθερων ριζών οξυγόνου,  $H_2O_2$  και  $O_2^-$  μέσω της απαμίνωσης της DA από τη MAO-B, και DA-κινόνης μέσω της αυτό-οξείδωσης της DA. Τα τοξικά αυτά προϊόντα ενδέχεται να οδηγούν στην εξειδικευμένη καταστροφή των ντοπαμινεργικών νευρώνων της μέλαινας ουσίας.

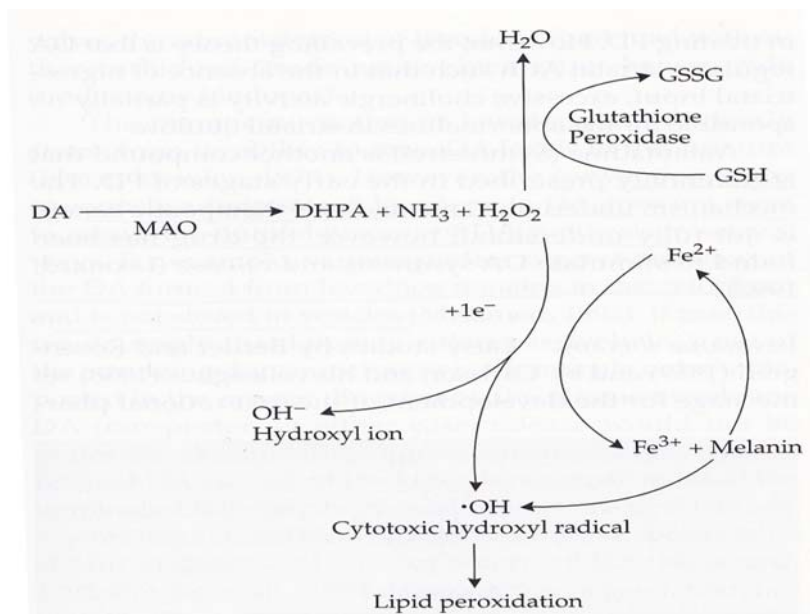
3. Ένας τρίτος πιθανός μηχανισμός παραγωγής τοξικών ελεύθερων ριζών στηρίζεται στο ρόλο του σιδήρου. Η δημιουργία ROS από  $\text{H}_2\text{O}_2$  μπορεί να καταλυθεί μη ενζυματικά από ιόντα σιδήρου σε μια αντίδραση τύπου Fenton. Παραπροϊόν της αντίδρασης αυτής είναι το  $\text{Fe}^{3+}$  που προήλθε από το  $\text{Fe}^{2+}$ .



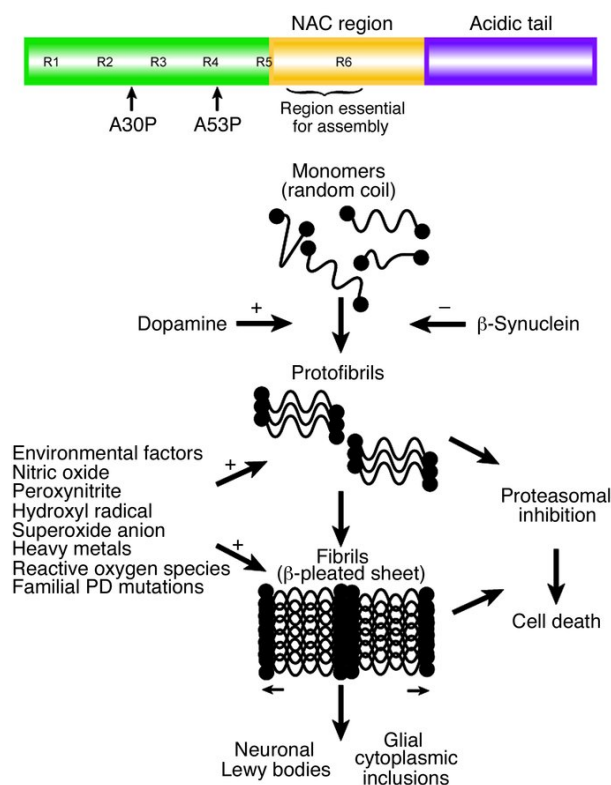
Το 1984, οι Triggs και Wilmore έδειξαν ότι ενδοεγκεφαλική χορήγηση  $\text{Fe}^{2+}$  σε αρουραίους, προκαλεί αύξηση της υπεροξειδωσής των λιπιδίων. Η μέλαινα ουσία περιέχει μεγάλη συγκέντρωση σιδήρου και νευρομελανίνης, και μπορεί να ανάγει το  $\text{Fe}^{3+}$  σε  $\text{Fe}^{2+}$ , οδηγώντας σε μια αντίδραση τύπου Fenton.

Υπάρχουν πολλές ενδείξεις ότι οι ντοπαμινεργικοί νευρώνες της μέλαινας ουσίας βρίσκονται κάτω από οξειδωτικό stress στους ασθενείς με Parkinson. Πρώτον, έχει παρατηρηθεί αυξημένη υπεροξειδωση λιπιδίων στη μέλαινα ουσία ασθενών με Parkinson, postmortem (Jenner, 1992). Δεύτερον, τα επίπεδα του σιδήρου είναι αυξημένα στη μέλαινα ουσία ασθενών με Parkinson (Gerlach, 1994). Τρίτον, τα επίπεδα της ολικής αλλά και της αναγμένης γλουταθειόνης είναι σημαντικά μειωμένα στη μέλαινα ουσία ασθενών με Parkinson (Jenner, 1992).

Επιπλέον, διάφορα εργαστήρια (Schapira, 1990 και DiMauro, 1993) έδειξαν ξεχωριστά μια δυσλειτουργία στο complex I της αναπνευστικής αλυσίδας των μιτοχονδρίων, ειδικά στη μέλαινα ουσία ασθενών με Parkinson. Το αποτέλεσμα αυτό μπορεί να συνδυαστεί με το γεγονός ότι η αναστολή του complex I από το  $\text{MPP}^+$  οδηγεί στην καταστροφή των ντοπαμινεργικών νευρώνων.



**Εικόνα 12** Βιοχημικές αντιδράσεις που οδηγούν σε οξειδωτικό stress και σε υπεροξειδωση των λιπιδίων σε ένα ντοπαμινεργικό νευρώνα. Η απαμίνωση της DA σε DHPA (3,4-dihydrphenyl-acetaldehyde) από τις MAO οδηγεί στη δημιουργία  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Αν και το  $\text{H}_2\text{O}_2$  μπορεί να απενεργοποιηθεί από την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, μπορεί επίσης να μετατραπεί σε τοξική ρίζα υδροξειδίου ( $\cdot\text{OH}$ ) από ιόντα  $\text{Fe}^{2+}$  (αντίδραση τύπου Fenton). Η μελανίνη παρούσα μέσα στους νευρώνες βοηθά την αναγωγή του  $\text{Fe}^{3+}$  πίσω σε  $\text{Fe}^{2+}$  διευκολύνοντας τη δημιουργία  $\cdot\text{OH}$  και κατά συνέπεια την υπεροξειδωση των λιπιδίων.



**Εικόνα 13** Μονομερή α-συνουκλεΐνης δημιουργούν ελικοειδή πρωτο-ινίδια, τα οποία κάτω από την επίδραση οξειδωτικού stress (που μπορεί να προκληθεί από διάφορους παράγοντες) ή λόγω μεταλλάξεων της πρωτεΐνης μετατρέπονται σε ινίδια με μορφή β-πτυχωτού φύλλου. Τα ινίδια συσσωματώνονται ανώμαλα δημιουργώντας Lewy bodies.

Μεταλλάξεις της πρωτεΐνης DJ-1 είναι σπάνια αιτία παρκινσονισμού. Η πλήρης δράση της DJ-1 είναι άγνωστη, ωστόσο φαίνεται να παίζει ρόλο στο οξειδωτικό stress που οφείλεται στα μιτοχόνδρια. Η συγκέντρωσή της βρέθηκε αυξημένη, μειωμένη ακόμη και μη τροποποιημένη, στο πλάσμα και στο ENY, σε ασθενείς με Parkinson συγκρινόμενους με controls.

Το Parkinson δεν είναι μόνο μια ασθένεια με κινητικά προβλήματα, αλλά το 30% εμφανίζει και άνοια, όπως και το 75% των ασθενών μετά από 10 χρόνια ασθένειας. Ως δείκτης για την εμφάνιση της άνοιας είναι το πεπτίδιο Αβ42, του οποίου η συγκέντρωση βρέθηκε μειωμένη στο ENY σε ασθενείς με Parkinson, όπως και σε ασθενείς με Alzheimer.

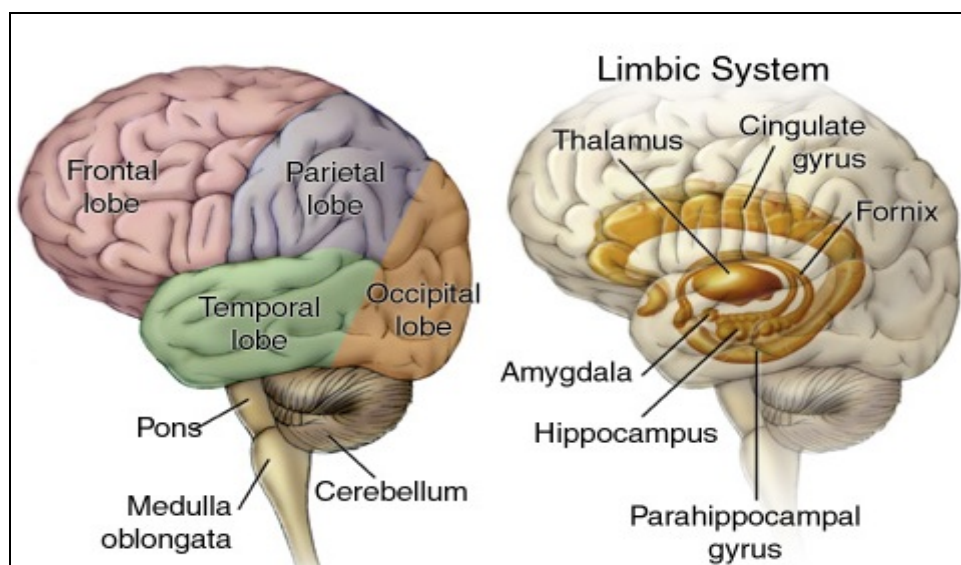
Ο ρόλος των -omics. Η μεταγραφωμική (transcriptomics), η πρωτεομική (proteomics), η μεταβολομική (metabolomics), αποτελούν πολύ χρήσιμα και ισχυρά εργαλεία ικανά να αναγνωρίσουν ακόμη και μικρές αλλαγές στο mRNA, στις πρωτεΐνες ή στο μεταβολικό προφίλ των ασθενών. Πάνω από 300 πρωτεΐνες έχουν βρεθεί τροποποιημένες στο ENY ασθενών με Νευροεκφυλιστικές ασθένειες.

**Δεν υπάρχει βιοδείκτης για το Parkinson που να πληροί όλα τα κριτήρια, αλλά πρέπει να υπάρχει ένας συνδυασμός: κλινικής εικόνας του ασθενή, βιοχημικών μετρήσεων και νευροαπεικονιστικών δεδομένων, ο οποίος μπορεί να αναδείξει την πιθανότητα εμφάνισης της ασθένειας.**



## ΑΣΘΕΝΕΙΑ ΤΟΥ ALZHEIMER και ΑΠΩΛΕΙΑ ΧΟΛΙΝΕΡΓΙΚΩΝ ΝΕΥΡΩΝΩΝ

Η ασθένεια του Alzheimer (AD), γνωστή και ως γεροντική άνοια τύπου Alzheimer (SDAT), είναι η πιο κοινή μορφή άνοιας. Αυτή η ανίατη, εκφυλιστική, και καταληκτική ασθένεια περιγράφηκε για πρώτη φορά από τον Γερμανό ψυχίατρο και νευροπαθολόγο Alois Alzheimer το 1906 από τον οποίο πήρε το όνομά της. Γενικά, η ασθένεια διαγιγνώσκεται σε ανθρώπους ηλικίας άνω των 65 ετών, παρόλο η ασθένεια μπορεί να εμφανιστεί και σε μικρότερες ηλικίες. Το 2006, υπήρχαν 26,6 εκατομμύρια ασθενείς παγκοσμίως, ενώ το 2050 ο αριθμός υπολογίζεται να τετραπλασιαστεί. Οι περιοχές του εγκεφάλου που πλήττονται περισσότερο είναι ο φλοιός, ο ιππόκαμπος, η αμυγδαλή, ο μετωπικός, κροταφικός, πλευρικός και ινιακός λοβός.

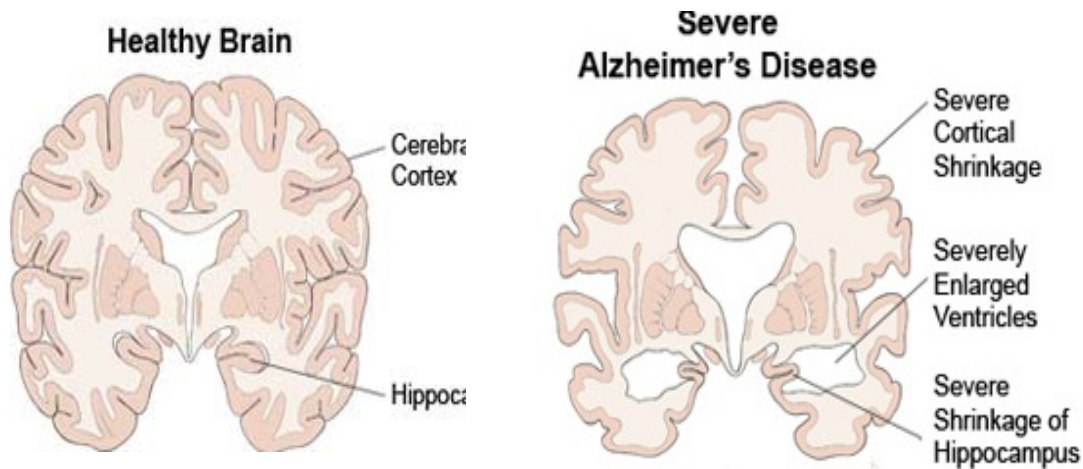


**Εικόνα 14** Απεικόνιση των περιοχών του εγκεφάλου

Τα κλινικά συμπτώματα που εμφανίζονται αρχικά συχνά θεωρείται ότι οφείλονται στην προχωρημένη ηλικία. Στα πρώιμα στάδια, το πιο κοινά αναγνωρίσιμο σύμπτωμα είναι δυσκολία στην ανάκληση πρόσφατων δεδομένων. Όταν υπάρχουν υποψίες για AD, η διάγνωση συνήθως επιβεβαιώνεται με δοκιμασίες της γνωστικής ικανότητας, οι οποίες σπανίως ακολουθούνται από την χρήση νευροαπεικονιστικών μεθόδων. Γενικότερα, η διάγνωση του AD απαιτεί έναν συνδυασμό ψυχολογικών δοκιμασιών, μεθόδων απεικόνισης και αποκλεισμό άλλων νευρολογικών διαταραχών, αλλά η οριστική διάγνωση μπορεί να γίνει μόνο κατά την νεκροψία. Κατά την εξέλιξη της ασθένειας, τα συμπτώματα που παρουσιάζονται περιλαμβάνουν σύγχυση, ευερεθιστότητα και επιθετικότητα, κυκλοθυμία, απώλεια της ευγλωττίας, απώλεια της μακροπρόθεσμης μνήμης, και η γενική αποξένωση του ασθενούς καθώς οι αισθήσεις του φθίνουν και σταδιακά, οι σωματικές λειτουργίες χάνονται.

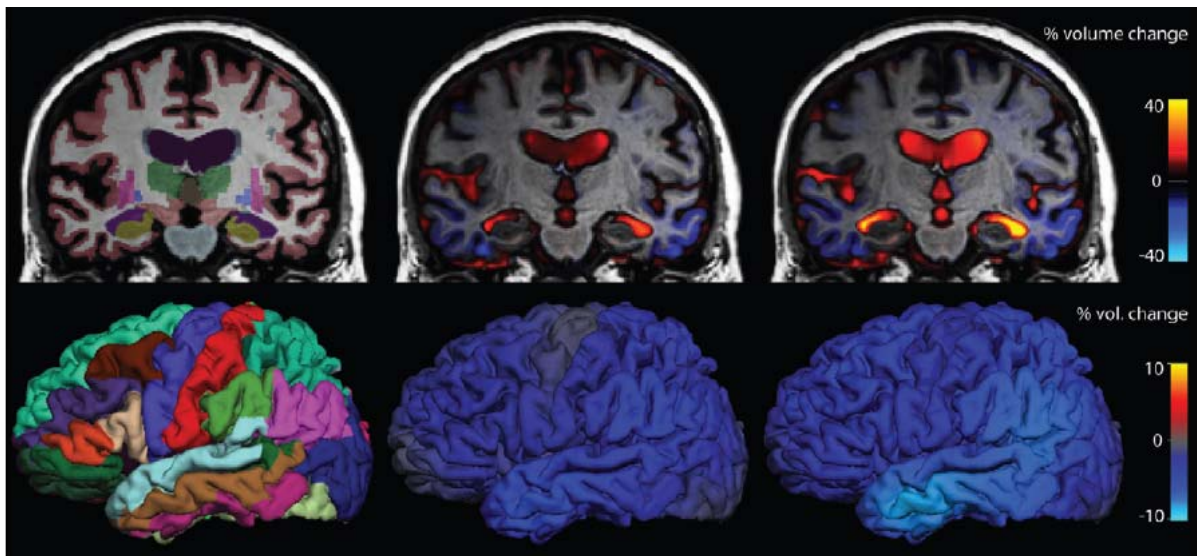
Διαταραχές εμφανίζονται όμως και στο επίπεδο της συμπεριφοράς. Συγκεκριμένα αναπτύσσονται ψυχικές διαταραχές όπως κατάθλιψη, άγχος και επιθετικότητα. Οι περιοχές του εγκεφάλου που πλήττονται περισσότερο είναι ο φλοιός, ο ιππόκαμπος, η αμυγδαλή. Στη νόσο του Alzheimer, υπάρχει μια συνολική συρρίκνωση του ιστού του εγκεφάλου. Οι αύλακες στον εγκέφαλο παρουσιάζονται αισθητά διευρυμένες ενώ ταυτόχρονα παρατηρείται συρρίκνωση των ελίκων, που αποτελούν τις καλά ανεπτυγμένες πτυχώσεις του εξωτερικού στρώματος του εγκεφάλου. Επιπλέον, οι κοιλίες εντός του εγκεφάλου που περιέχουν το εγκεφαλονωτιαίο υγρό, είναι και αυτές ιδιαίτερα διευρυμένες.

Δυστυχώς, τα συμπτώματα και κυρίως η απώλεια μνήμης εμφανίζονται περίπου 20 χρόνια μετά την αρχή του εκφυλισμού των νευρώνων.



**Εικόνα 15** Σχηματική αναπαράσταση του εγκεφάλου ενός φυσιολογικού ατόμου και του εγκεφάλου ενός ασθενούς που παρουσιάζει τις χαρακτηριστικές συρρικνώσεις και διευρύνσεις.

Στα αρχικά στάδια της νόσου του Alzheimer, η βραχυπρόθεσμη μνήμη αρχίζει να εξασθενεί, όταν τα κύτταρα στον ιππόκαμπο, (μέρος του μεταχιακού συστήματος), εκφυλίζονται. Καθώς η νόσος εξελίσσεται, περισσότερα νευρικά κύτταρα πεθαίνουν, οδηγώντας τελικά σε αλλαγές στη συμπεριφορά.



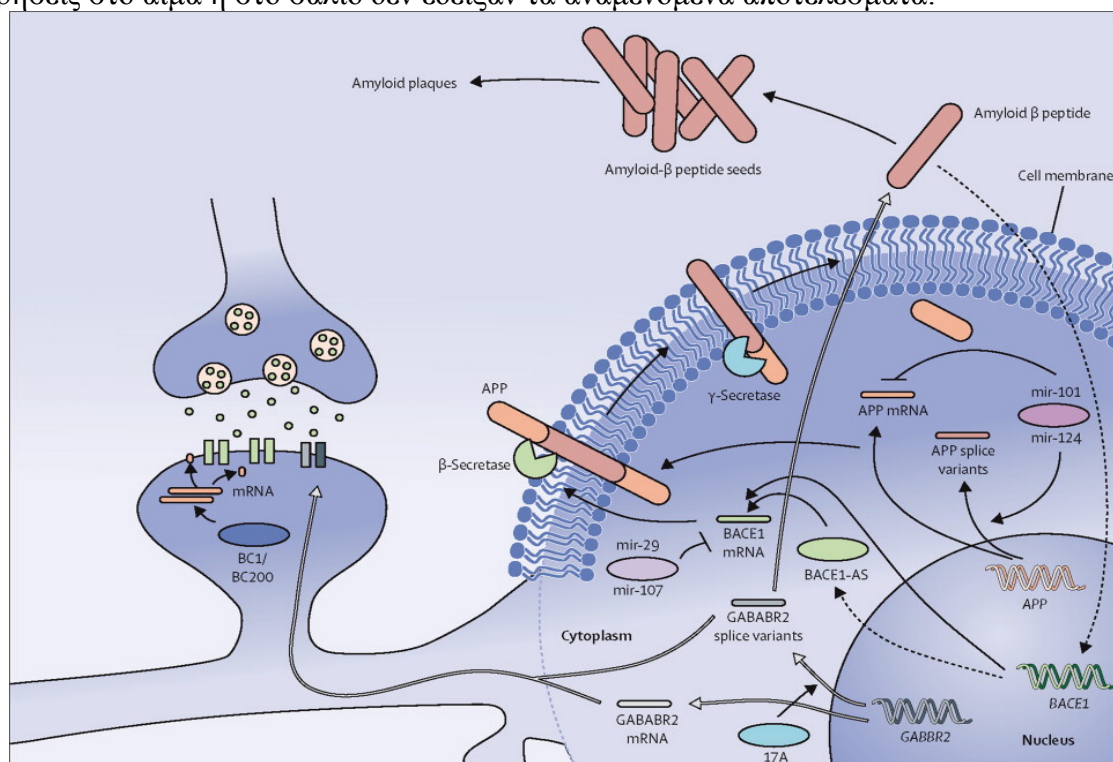
**Figure 9:** Image depicts example of automated segmentation of the cortex and subcortical structures in an individual subject displayed as a multicolor overlay on a coronal T1-weighted image (top left panel) and left lateral surface rendering of the brain (bottom left panel). Changes in cortical thickness, and in hippocampal and ventricular volume, over 6- (center panels) and 12- (right panels) month periods are shown. Blue = volume or thickness decrease and red = volume or thickness increase over time. (Courtesy of Drs Dominic Holland and James Brewer, UCSD; Reprinted, with permission from reference 103.)

### Παθολογικά χαρακτηριστικά του Alzheimer

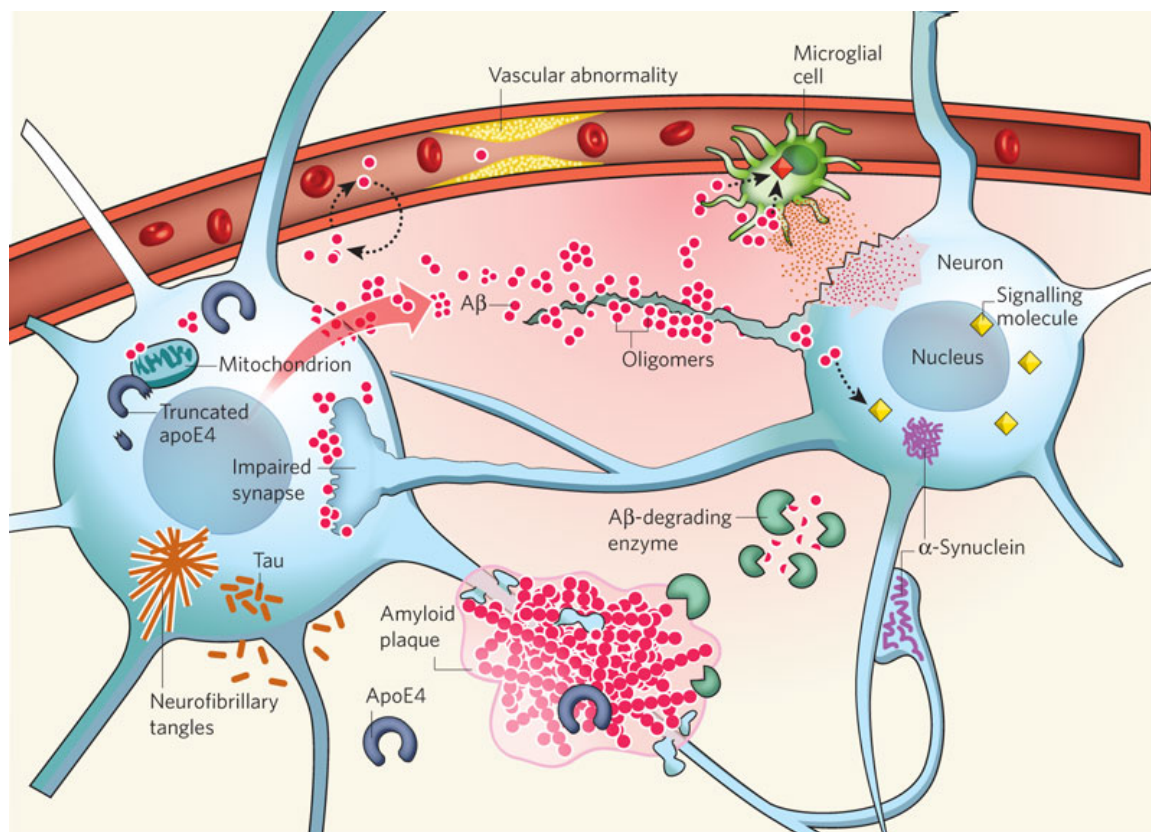
Τα παθολογικά χαρακτηριστικά του Alzheimer είναι η απώλεια των χολινεργικών νευρώνων, η παρουσία εξωκυτταρικών πλακών που περιέχουν το πεπτίδιο του βήτα αμυλοειδούς (Aβ) και η παρουσία νευροϊνιδίων, τα οποία αποτελούνται από μία υπερφωσφορυλιωμένη μορφή της πρωτεΐνης των μικροσωληνίσκων tau.

Αναλυτικότερα, οι αμυλοειδείς πλάκες αποτελούνται από τα πεπτίδια Aβ, μήκους 38-42 αμινοξέων, τα οποία προέρχονται από πέψη μίας μεγαλύτερης πρωτεΐνης που ονομάζεται πρόδρομη πρωτεΐνη του αμυλοειδούς (APP), μία διαμεμβρανική πρωτεΐνη που βρίσκεται στην κυτταρική μεμβράνη των νευρώνων. Η APP είναι καθοριστικής σημασίας για την ανάπτυξη, την επιβίωση και την επιδιόρθωση του νευρώνα μετά από τραυματισμό. Στο Alzheimer μία άγνωστη διεργασία προκαλεί την διάσπαση της APP σε μικρότερα τμήματα μέσω ενζυμικής πρωτεόλυσης. Ένα από αυτά τα τμήματα οδηγεί στην δημιουργία ινιδίων Aβ αμυλοειδούς, τα οποία δημιουργούν συσσωματώματα που καθιζάνουν στο εξωτερικό των νευρώνων σε πυκνούς σχηματισμούς που ονομάζονται αμυλοειδείς πλάκες.

Ως ο κύριος παράγοντας παθογένειας, τα διαφορετικά πεπτίδια του Aβ αμυλοειδούς είναι και ο πιθανότερος βιοδείκτης γι' αυτό και έχει ευρέως μελετηθεί. Ωστόσο, μικρή μόνο μείωση της συγκέντρωσης του Aβ42 αμυλοειδούς έδειξαν οι περισσότερες μελέτες στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό των ασθενών με Alzheimer, ενώ αρκετές μελέτες δεν βρήκαν καμία μεταβολή, ενώ μερικές ανέφεραν μια ελαφρά αύξηση. Πιθανόν για τα αντικρουόμενα αυτά αποτελέσματα να οφείλονται οι διαφορετικές μέθοδοι μέτρησης που χρησιμοποιήθηκαν. Επίσης είναι πιθανόν, τα επίπεδα του Aβ42 πεπτιδίου να μειώνονται στα αρχικά στάδια της ασθένειας, και να αυξάνονται σε προχωρημένο στάδιο. Αν ισχύει αυτό, η μέτρηση του Aβ42 θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως βιοδείκτης για την πρόοδο της ασθένειας. Επιπλέον, μετρήσεις στο αίμα ή στο σάλιο δεν έδειξαν τα αναμενόμενα αποτελέσματα.

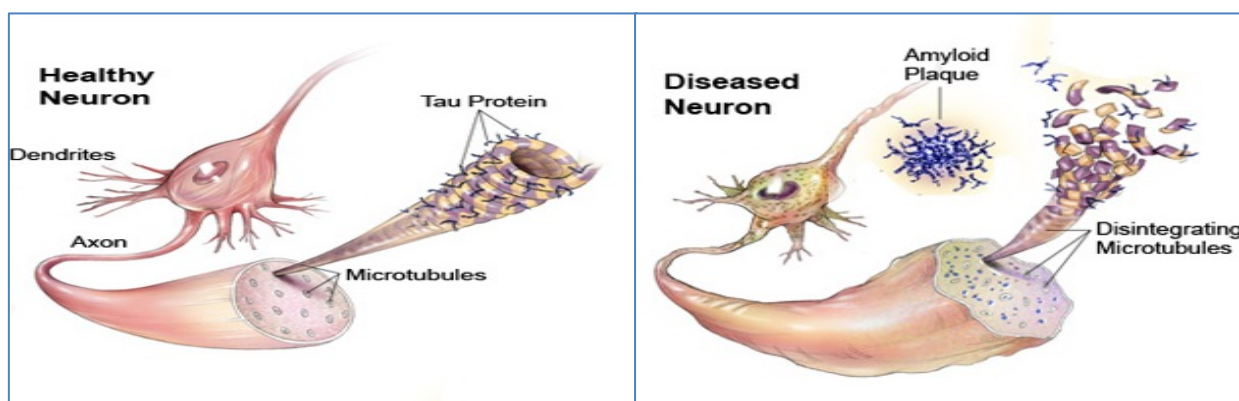






**Εικόνα 16** Σχηματική απεικόνιση της δημιουργίας των αμυλοειδών πλακών.

Η πρωτεΐνη ταυ σταθεροποιεί τους μικροσωληνίσκους όταν βρίσκεται σε φωσφορυλιωμένη μορφή, για αυτό λέγεται ότι είναι μία σχετιζόμενη με τους μικροσωληνίσκους πρωτεΐνη. Οι μικροσωληνίσκοι αποτελούν μέρος του κυτταροσκελετού κάθε κυττάρου. Στους νευρώνες οι μικροσωληνίσκοι δρουν ως διάδρομοι, και έτσι καθοδηγούν την μεταφορά θρεπτικών στοιχείων και άλλων μορίων από το σώμα του νευρώνα στις συνάψεις του άξονα και αντίστροφα. Στο AD, η ταυ υπερφωσφορυλιώνεται σε διάφορες θέσεις Thr181, Thr231, Ser199, 235, 3956 και 404, και αρχίζει να συνδέεται με άλλα μόρια ταυ δημιουργώντας συσσωματώματα νευροϊνιδίων οδηγώντας έτσι στην ολική καταστροφή του συστήματος μεταφοράς των νευρώνων.



**Εικόνα 17** Σχηματική απεικόνιση ενός φυσιολογικού νευρώνα (αριστερά) και ενός παθολογικού (δεξιά). Παρατηρούνται τόσο οι αμυλοειδείς πλάκες, όσο και ο σχηματισμός των σωρών λόγω της μη φυσιολογικής λειτουργίας της πρωτεΐνη ταυ.



Αρκετές μελέτες βρήκαν αυξημένη συγκέντρωση της μη φωσφορυλιωμένης tau στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό ασθενών Alzheimer σε σχέση με άτομα controls, ωστόσο, ανάλογες αυξημένες συγκεντρώσεις βρέθηκαν και σε ασθενείς με άλλες νευροεκφυλιστικές ασθένειες, οπότε δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως βιοδείκτης για το Alzheimer. Η υπερφωσφορυλιωμένη tau (p-tau) έχει βρεθεί σε αυξημένες συγκεντρώσεις σε ασθενείς με Alzheimer στο ENY, ωστόσο μόνο η ptau231 μπορεί να διαχωρίσει τους ασθενείς με Alzheimer από τους ασθενείς με άλλες νευροεκφυλιστικές νόσους.

Πιθανόν ένας συνδυασμός μελέτης του Αβ42 αμυλοειδούς πεπτιδίου και της ptau231 θα έδινε πιο σίγουρα αποτελέσματα.

### **Γενετική του Alzheimer**

Η πλειοψηφία των περιπτώσεων Alzheimer είναι σποραδικές, το οποίο σημαίνει ότι δεν κληρονομούνται γενετικά, παρόλα αυτά κάποια γονίδια πιθανώς δρουν ως παράγοντες κινδύνου. Από την άλλη πλευρά, περίπου 0,1% των περιπτώσεων είναι οικογενείς μορφές που παρουσιάζουν αυτοσωμική επικρατή κληρονομικότητα, και εμφανίζονται συνήθως πριν την ηλικία των 65 ετών.

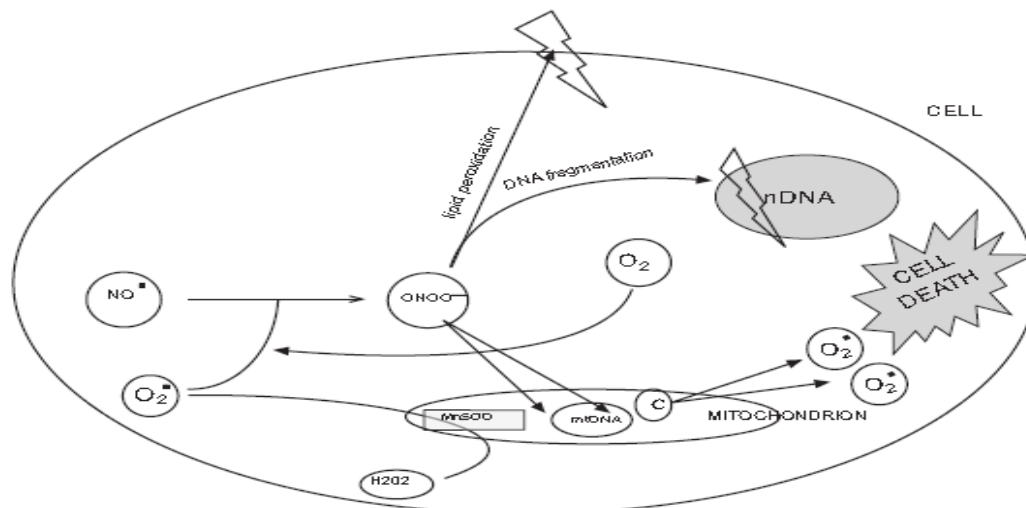
Η **πλειοψηφία** των αυτοσωμικών επικρατών οικογενών AD μπορεί να αποδοθεί σε μεταλλάξεις ενός από τρία γονίδια: το γονίδιο της πρόδρομης πρωτεΐνης του αμυλοειδούς (APP) και τα γονίδια της πρεσενιλίνης (PS) 1 και 2. Οι περισσότερες μεταλλάξεις στα γονίδια APP και PS αυξάνουν την παραγωγή μίας μικρής πρωτεΐνης που ονομάζεται Αβ42, η οποία είναι το κύριο συστατικό των αμυλοϊδών πλακών. Μερικές από τις μεταλλάξεις απλά αλλάζουν τον λόγο μεγέθους μεταξύ της Αβ42 και των άλλων μείζονων - π.χ. Αβ40 – χωρίς να αυξάνουν τα επίπεδα της Αβ42. Αυτό υποδηλώνει ότι οι μεταλλάξεις του PS μπορούν να προκαλέσουν την ασθένεια με τρόπο ανεξάρτητο της επίδρασής τους στην παραγωγή του Αβ είτε λόγω της ύπαρξης κάποιων άλλων λειτουργιών της πρεσενιλίνης ή λόγω της πρόκλησης μεταβολών στην λειτουργία της APP και/ή των τμημάτων της εκτός του Αβ. Ωστόσο, έχουν βρεθεί 424 μεταλλάξεις σε γονίδια και έχουν συνδεθεί με την ασθένεια Alzheimer.

Οι περισσότερες περιπτώσεις της ασθένειας Alzheimer δεν παρουσιάζουν αυτοσωμική επικρατή κληρονομικότητα και χαρακτηρίζονται σποραδικό AD. Παρόλα αυτά γενετικές διαφορές μπορεί να δρουν ως παράγοντες κινδύνου. Ο πιο γνωστός γενετικός παράγοντας κινδύνου είναι η κληρονόμηση του ε4 αλληλομόρφου της απολιποπρωτεΐνης Ε (APOE). Περίπου το 40 με 80% των ασθενών με AD φέρουν τουλάχιστον ένα αλληλόμορφο apoE4. Το αλληλόμορφο APOE4 αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης της νόσου κατά τρεις φορές στους ετεροζυγώτες και κατά 15 φορές στους ομοζυγώτες. Υπάρχει η γενική παραδοχή ότι πολλά άλλα γονίδια δρουν και αυτά ως παράγοντες κινδύνου ή έχουν προστατευτικά αποτελέσματα που επηρεάζουν την εξέλιξη της νόσου. Πάνω από 400 γονίδια έχουν εξεταστεί για συσχέτιση με το σποραδικό AD, και τα περισσότερα δεν εμφάνισαν κάποια συσχέτιση.

### **Η συμμετοχή των μιτοχονδρίων και του οξειδωτικού στρες στο Alzheimer**

Η πιο σημαντική λειτουργία του μιτοχονδρίου είναι η παραγωγή ενέργειας στην μορφή τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP), μέσω της λειτουργίας της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων (ETC). Όμως, τα μιτοχόνδρια έχουν κεντρικό ρόλο και στον αποπτωτικό κυτταρικό θάνατο, και φαίνεται ότι η μιτοχονδριακή δυσλειτουργία έχει μεγάλη επίπτωση στην παθογένεια αρκετών νευροεκφυλιστικών διαταραχών, όπως το Alzheimer (AD). Στη βιβλιογραφία συγκεντρώνονται όλο και περισσότερα στοιχεία που προτείνουν ότι στον εγκέφαλο και στους περιφερικούς ιστούς ασθενών με AD παρουσιάζεται μιτοχονδριακή δυσλειτουργία και οξειδωτικό στρες, και όλο και περισσότερα στοιχεία υποδεικνύουν ότι το οξειδωτικό στρες, το οποίο αυξάνεται στα μιτοχόνδρια που παρουσιάζουν βλάβη, είναι ένα πρώιμο γεγονός που σχετίζεται με την νευροεκφύλιση. Όμως παρόλο των στοιχείων που

αναφέρουν την ύπαρξη μορφολογικών, βιοχημικών και μοριακών ανωμαλιών των μιτοχονδρίων σε διάφορους ιστούς ασθενών με AD, ο ρόλος του μιτοχονδριακού γονιδιώματος και των απλοτύπων του ως παράγοντες κινδύνου παραμένει αμφισβητήσιμος. Ακόμα υπάρχει αντιπαράθεση αν το οξειδωτικό στρες και η βλάβη των μιτοχονδρίων εμπλέκονται στην εκδήλωση και εξέλιξη των νευροεκφυλιστικών διαταραχών ή απλά είναι συνέπεια της νευροεκφύλισης.



**Εικόνα 18.** Ο μεταβολισμός του μονοξειδίου του αζώτου και ο κυτταρικός θάνατος που επάγεται από ROS. Υπό παθολογικές καταστάσεις που περιλαμβάνουν την παραγωγή ROS, το μονοξείδιο του αζώτου (NO) είναι ιδιαίτερα επιβλαβές και αυξάνει τις κυτταρικές βλάβες μέσω του σχηματισμού του ιδιαίτερα αντιδραστικού υπεροξυνιτρώδους ανιόντος (ONOO<sup>-</sup>). Το ONOO<sup>-</sup> και τα ROS μπορούν να προκαλέσουν βλάβη σε αρκετά βιομόρια, συμπεριλαμβανομένων των λιπιδίων, των πρωτεϊνών και των νουκλεϊκών οξέων, και μπορεί να ενεργοποιήσουν κυτταρικά μονοπάτια που οδηγούν στον κυτταρικό θάνατο.

### Βιοχημικές ανωμαλίες των μιτοχονδρίων στο Alzheimer

Η μεταφορά ηλεκτρονίων υψηλής ενέργειας μέσω της μιτοχονδριακής ETC είναι ένα απαραίτητο βήμα για την παραγωγή ATP, αλλά μπορεί να προκαλέσει επίσης την παραγωγή ενεργών ελευθέρων ριζών οξυγόνου (ROS). Στα σύμπλοκα I-III της αναπνευστικής αλυσίδας, τα ηλεκτρόνια υψηλής ενέργειας μπορούν να αντιδράσουν με μοριακό οξυγόνο (O<sub>2</sub>) και να οδηγήσουν στον σχηματισμό υπεροξειδίου (O<sub>2</sub>•<sup>-</sup>). Περίπου το 4-5% του O<sub>2</sub> που καταναλώνεται από υγιή μιτοχόνδρια μετατρέπεται σε υπεροξείδιο, και αυτή η ποσότητα αυξάνεται σε μιτοχόνδρια που παρουσιάζουν βλάβη ή είναι γηρασμένα. Όταν η ETC παρεμποδίζεται τα ηλεκτρόνια συσσωρεύονται στα αρχικά στάδια της ETC (σύμπλοκο I και CoQ10), όπου αυτά προσφέρονται απευθείας στο μοριακό οξυγόνο για να δημιουργήσουν ανιόντα υπεροξειδίου. Η συσσώρευση ROS μπορεί να προκαλέσει βλάβη σε αρκετά βιομόρια, συμπεριλαμβανομένων λιπιδίων, πρωτεϊνών και νουκλεϊκών οξέων. Ο εγκέφαλος είναι πολύ πιο επιρρεπής στο οξειδωτικό στρες λόγω της αυξημένης κατανάλωσης οξυγόνου που συμβαίνει σε αυτόν. Επίσης, σε σύγκριση με άλλους ιστούς, ο εγκέφαλος έχει χαμηλότερη ενεργότητα αντιοξειδωτικών ενζύμων όπως η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης και η καταλάση, και περιέχει αυξημένες συγκεντρώσεις πολυακόρεστων λιπαρών οξέων τα οποία είναι πολύ επιρρεπή σε λιπιδική υπεροξειδωση. Τα υπεροξείδια μπορούν να αντιδράσουν με το μονοξείδιο του αζώτου (NO), ένα μόριο το οποίο στον εγκέφαλο δρα ως νευροδιαβιβαστής, για να σχηματίσει το υπεροξυνιτρώδες ανιόν (ONOO<sup>-</sup>), το οποίο είναι πολύ επιβλαβές για το DNA. Η συσσώρευση βλαβών στο nDNA και στο mtDNA θεωρείται ότι είναι πολύ επιβλαβής στα μεταμιτωτικά κύτταρα όπως οι νευρώνες, τα οποία δεν μπορούν

να αντικατασταθούν μέσω ενός μηχανισμού κυτταρικής διαίρεσης. Όντως, οι αλλαγές των βάσεων στο mtDNA λόγω οξειδωτικής βλάβης θα μπορούσε πιθανώς να προκαλέσει βιοενεργητικές δυσλειτουργίες που οδηγούν στον θάνατο των νευρώνων. Τα κύτταρα διαθέτουν ένα περίπλοκο δίκτυο αμυντικών μηχανισμών (μιτοχονδριακή υπεροξειδική δισμουτάση του μαγγανίου, υπεροξειδάση της γλουταθειόνης και άλλα μόρια) για να αδρανοποιήσουν την εκτεταμένη συσσώρευση των ROS και, υπό φυσιολογικές συνθήκες, μπορούν να αντεπεξέλθουν με τις αυξομειώσεις των ROS. Το οξειδωτικό στρες περιγράφει μία κατάσταση στην οποία οι κυτταρικές αντιοξειδωτικές άμυνες δεν επαρκούν για να διατηρήσουν τα επίπεδα των ROS χαμηλότερα από μία τοξική ουδό.

Το mtDNA είναι ιδιαίτερα επιρρεπές στην οξειδωτική βλάβη λόγω της εγγύτητάς του στην εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη, στην οποία σχηματίζονται οξειδωτικές ουσίες, και λόγω της μη προστασίας του από ιστόνες και λόγω της ανεπαρκούς επιδιόρθωσής του. Επειδή αρκετά από τα γονίδια του mtDNA κωδικοποιούν υπομονάδες της μιτοχονδριακής αναπνευστικής αλυσίδας, οι οξειδωτικές βλάβες του mtDNA, αν δεν επιδιορθωθούν σωστά, μπορεί να οδηγήσουν σε μεταλλάξεις και ελλείψεις που διαταράσσουν την λειτουργία των γονιδίων που εμπλέκονται στην παραγωγή του ATP, οδηγώντας τελικά σε μιτοχονδριακές δυσλειτουργίες, αυξημένη παραγωγή ROS, και κυτταρικό θάνατο.

Όλο και περισσότερα στοιχεία υποδεικνύουν ότι η οξείδωση του DNA και του RNA λόγω του οξειδωτικού στρες παίζουν ρόλο στην παθοφυσιολογία του AD. Σε εγκεφάλους με AD έχει ακόμα παρατηρηθεί αυξημένη υπεροξειδωση των λιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης, σχηματισμός καρβονυλίων στις πρωτεΐνες, αυξημένα επίπεδα νιτροτυροσίνωσης και αυξημένα επίπεδα 8-υδρόξυ-2'-δεοξυγουανωσίνης (8-OHdG) στο nDNA και στο mtDNA. Επειδή τα RNA είναι κυρίως μονόκλινα και πιθανώς λιγότερα προστατευμένα από το DNA, ίσως είναι περισσότερο επιρρεπή στην οξειδωτική βλάβη. Ανοσοκυτταροχημικές μελέτες αποκάλυψαν ότι η περιφερειακή κατανομή της οξείδωσης του RNA στον εγκέφαλο ήταν σύμφωνη με την επιλεκτική περιφερειακή ευπάθεια των νευρώνων στο AD. Υπήρχαν αυξημένα επίπεδα 8-υδροξυγουανωσίνης (8-OHG) στον ιππόκαμπο και στον εγκεφαλικό νεοφλοιό στο AD, ενώ δεν παρατηρήθηκαν αλλαγές στα επίπεδα 8-OHG στην παρεγκεφαλίδα. Τα οξειδωμένα RNA εντοπίζονται κυρίως σε νευρωνικά και ενδοθηλιακά κύτταρα και λιγότερο στα κύτταρα γλοίας. Η πρώιμη εμπλοκή της οξείδωσης του RNA στην παθοφυσιολογία της ασθένειας υποδεικνύει ότι το οξειδωμένο RNA έχει έναν κύριο ρόλο στην νευροεκφύλιση. Παρουσιάζει ενδιαφέρον το γεγονός ότι τα επίπεδα του 8-OHG είναι αντιστρόφως ανάλογα της ποσότητας των ενδοκυτταρικών ολιγομερικών μορφών του Αβ, το οποίο υποδεικνύει μία περίπλοκη αλληλεπίδραση μεταξύ των ROS και του Αβ.

Μία πρόσφατη μελέτη έδειξε i) ότι το mtDNA είχε κατά προσέγγιση 10 φορές υψηλότερα επίπεδα οξειδωμένων βάσεων σε σύγκριση με το nDNA, ii) ότι η γουανίνη είναι η πιο επιρρεπής βάση σε βλάβες του DNA, και iii) ότι τα επίπεδα πολλαπλών οξειδωμένων βάσεων ήταν σημαντικά αυξημένα σε δείγματα εγκεφάλων με AD σε σύγκριση με τα δείγματα ελέγχου. Ακόμα, με την χρήση της πρωτεομικής ταυτοποιήθηκαν οξειδωμένες πρωτεΐνες, των οποίων η τροποποιημένη λειτουργία είναι σύμφωνη με την ασθένεια.

Η ελαφρά γνωστική εξασθένηση (MCI) είναι μία κλινική κατάσταση μεταξύ της κανονικής γήρανσης και του AD, που χαρακτηρίζεται από απώλεια μνήμης χωρίς απώλεια των γενικών γνωστικών και λειτουργικών δεξιοτήτων. Αρκετές πρόσφατες μελέτες σε ασθενείς με MCI υποδεικνύουν ότι η οξειδωτική βλάβη μπορεί να είναι ένα από τα πιο πρώιμα γεγονότα στην διαδικασία νευροεκφύλισης που οδηγεί σε AD. Μία μελέτη που αξιολόγησε τα επίπεδα πρωτοπαθούς και οξειδωτικής βλάβης του DNA σε λευκοκύτταρα ατόμων με AD, MCI και υγιών ατόμων ελέγχου έδειξε ότι τα επίπεδα και της πρωτοπαθούς βλάβης του DNA και των οξειδωμένων βάσεων ήταν σημαντικά αυξημένα στους ασθενείς με AD και MCI, σε σύγκριση με τα άτομα ελέγχου. Αυτό δίνει ακόμα περισσότερες ενδείξεις ότι

η οξειδωτική βλάβη, τουλάχιστον στο επίπεδο του DNA, είναι πιο πρώιμο γεγονός στην παθογένεση του AD. Δεν είναι ακόμα ξεκάθαρο αν η αυξημένη οξειδωτική βλάβη στο MCI και στο AD αντιπροσωπεύει μία επιτάχυνση του “φυσιολογικού” σχετιζόμενου με την ηλικία οξειδωτικού στρες ή αν οφείλεται σε εναλλακτικά μονοπάτια.

Ακόμα, έχει μελετηθεί η πιθανή επίδραση των μετάλλων στις νευροεκφυλιστικές ασθένειες. Ο προκαλούμενος από μέταλλα σχηματισμός ROS (διαδικασία Fenton) μπορεί να συμβάλλει στο οξειδωτικό στρες. Μέταλλα, όπως σίδηρος, χαλκός, και μαγγάνιο, είναι απαραίτητα στην πλειοψηφία των κυτταρικών αντιδράσεων, και ο εγκέφαλος είναι το πιο ικανό όργανο στο να συγκεντρώνει μέταλλα. Η ομοιόσταση του ψευδαργύρου, του χαλκού και του σιδήρου υπόκειται σε αλλαγές στον εγκέφαλο ατόμων με AD, και υπό ελαφρά όξινες συνθήκες, όπως αυτές που θεωρείται ότι επικρατούν στον εγκέφαλο με AD, αυτά τα μεταλλικά ιόντα έχει παρατηρηθεί ότι επάγουν την συσσωμάτωση του Αβ, υποδηλώνοντας έτσι την πιθανή τους εμπλοκή στον σχηματισμό των συσσωματωμάτων Αβ στον εγκέφαλο με AD. Πρόσφατα αποτελέσματα επίσης υποστηρίζουν την ιδέα ότι η οξειδωτική βλάβη στις πλάκες του αμυλοειδούς μπορεί να είναι αποτέλεσμα της διαδικασίας Fenton η οποία καταλύεται από την συντοποθέτηση των πεπτιδίων Αβ με μέταλλα όπως Fe(II)/Fe(III) και Al(III). Έχει ήδη αναφερθεί ο ρόλος της οξειδωτικής μεταβολής του RNA στο AD. Σε μία μελέτη χρησιμοποιήθηκε χρώση 3,3'-διαμινοβενζιδίνης (DAB) και χρώση Fe(II) {μία τροποποίηση της αντίδρασης μπλε της Πρωσίας (Prussian blue) για την ανίχνευση in situ της ενεργότητας οξειδοαναγωγής και διασθενούς σιδήρου αντίστοιχα σε δείγματα ιστών εγκεφάλων με AD τα οποία έπειτα υπέστησαν επεξεργασία με RNase A (η επεξεργασία με RNase A καταστρέφει το RNA που υπάρχει στον ιστό). Στο κυτταρόπλασμα των νευρώνων του ιππόκαμπου παρατηρήθηκε σημαντικά υψηλότερη ενεργότητα οξειδοαναγωγής και χρώση Fe(II) σε σύγκριση με άτομα ελέγχου ίδιας ηλικίας. Και οι δύο παραπάνω χρώσεις μειώθηκαν ή/και εξαφανίστηκαν μετά την επεξεργασία με RNase. Αυτό υποδηλώνει μία φυσιολογική συγγένεια του Fe(II) με το RNA. Το rRNA πιθανώς προσφέρει τον μεγαλύτερο αριθμό θέσεων πρόσδεσης σιδήρου μεταξύ των κυτταροπλασματικών RNA. Αντανακλώντας την διαφορά της ικανότητας πρόσδεσης σιδήρου, η οξείδωση του rRNA από την αντίδραση Fenton δημιούργησε 13 φορές περισσότερη 8-υδρόξυ-2'-δεοξυγουανοσίνη (8-OHdG) από την οξείδωση του tRNA. Επομένως, ο σίδηρος που προσδένεται στο RNA (και ειδικότερα στο rRNA) φαίνεται να παίζει έναν καίριο ρόλο στην οξείδωση του RNA σε επιρρεπείς νευρώνες στον εγκέφαλο με AD.

Στους ασθενείς με AD, οι μετρήσεις φθοροδεοξυγλυκόζης μέσω τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων (FDG PET) δείχνουν περιφερειακές μειώσεις του εγκεφαλικού μεταβολικού ρυθμού της γλυκόζης, οι οποίες φαίνεται να σχετίζονται με τις κλινικές αναπηρίες των ασθενών με AD και μπορεί ακόμα να παρουσιαστούν δεκαετίες ολόκληρες πριν την εμφάνιση των κλινικών συμπτωμάτων. Ο μειωμένος εγκεφαλικός μεταβολισμός έχει παρατηρηθεί στους βρεγματικούς φλοιούς, και έχει προηγηθεί και της νευροφυσιολογικής βλάβης και της ατροφίας του φλοιού που εντοπίστηκαν με παραδοσιακές μεθόδους νευροαπεικόνισης.

Μία πρόσφατη μελέτη του τρανσκριπτώματος σύγκρινε την έκφραση 80 σχετιζόμενων με τον μεταβολισμό πυρηνικών γονιδίων σε εγκεφάλους ατόμων με AD και φυσιολογικών ατόμων ελέγχου. Τα άτομα με AD είχαν σημαντικά μειωμένη έκφραση των πυρηνικών γονιδίων που κωδικοποιούσαν υπομονάδες της μιτοχονδριακής ETC στον οπίσθιο φλοιό του προσαγωγίου, στην μέση βρεγματική έλικα, στα κύτταρα CA1 του ιππόκαμπου, στον ενδορινικό φλοιό, και σε άλλες περιοχές του εγκεφάλου. Επομένως, οι μεταβολικές ανωμαλίες σε μελέτες για το AD με χρήση FDG PET σχετίζονται με μειωμένη νευρωνική έκφραση των πυρηνικών γονιδίων που κωδικοποιούν υπομονάδες της μιτοχονδριακής ETC.



### 1.1.1 Γενετικές αλλαγές των μιτοχονδρίων στο Alzheimer

Έχει παρατηρηθεί μία αύξηση στις σωματικές ανακατατάξεις του mtDNA σε εγκεφάλους AD. Η “κοινή έλλειψη” 4977 ζευγών βάσεων μεταξύ των θέσεων 8469:13447 του mtDNA φαίνεται να παρουσιάζεται σε 15 φορές υψηλότερα επίπεδα στους εγκεφάλους ασθενών με AD. Επίσης, η μετάπτωση A4336G στο mtDNA έχει παρατηρηθεί με μεγαλύτερη συχνότητα σε ασθενείς με AD. Αυτή η μετάλλαξη έχει παρατηρηθεί σε περίπου 5% των ασθενών με όψιμης εμφάνισης AD, και αυτή η συσχέτιση έχει υποστηριχθεί σε 3 από 4 ανεξάρτητες Ευρωπαϊκές μελέτες.

Ακόμα, έχουν αναφερθεί μεταλλάξεις της περιοχής ελέγχου (CR) του mtDNA σε μεγαλύτερη συχνότητα στους εγκεφάλους με AD σε σχέση με τα άτομα ελέγχου. Πιο συγκεκριμένα, δύο ετεροπλασμικές αλλαγές παρουσιάστηκαν μόνο σε εγκεφάλους με AD (T414C και T477C). Το 65% των εγκεφάλων με AD παρουσίασαν την μετάλλαξη T414C, ενώ αυτή η μετάλλαξη δεν παρουσιάστηκε σε κανένα από τα άτομα ελέγχου. Η CR του mtDNA από εγκεφάλους ασθενών και ατόμων ελέγχου έχει κλωνοποιηθεί και αλληλουχηθεί. Οι εγκεφαλοι με AD είχαν μία κατά μέσο όρο 63% αύξηση στις ετεροπλασμικές μεταλλάξεις της CR του mtDNA (και μία 130% αύξηση σε ασθενείς άνω των 80 χρόνων). Αυτές οι μεταλλάξεις άλλαξαν επιλεκτικά κάποια γνωστά ρυθμιστικά στοιχεία του mtDNA. Οι εγκεφαλοι με AD παρουσίασαν επίσης μία κατά μέσο όρο 50% μείωση στο περιεχόμενο mtDNA και στο μετάγραφο ND6 του συμπλόκου I, τα οποία πιθανώς μείωσαν την μιτοχονδριακή οξειδωτική φωσφορυλίωση.

Μία άλλη μελέτη, που περιλάμβανε έναν μεγαλύτερο αριθμό δειγμάτων ιστού, δεν εντόπισε την μετάλλαξη T414C σε εγκεφάλους ασθενών με AD. Σε μία διαφορετική μελέτη, έγινε αλληλούχιση ολόκληρων των κωδικών περιοχών από 145 δείγματα εγκεφάλων AD από νεκροψία και από 128 δείγματα φυσιολογικών ατόμων ελέγχου. Παρατηρήθηκε ότι και για τις συνώνυμες και τις μη-σιωπηλές μεταλλάξεις ο συνολικός αριθμός των νουκλεοτιδικών αλλαγών ήταν ο ίδιος και για τις αλληλουχίες των ασθενών AD και των ατόμων ελέγχου.

Μέχρι σήμερα δεν έχουν ανακαλυφθεί σίγουρες αιτιολογικές μεταλλάξεις του mtDNA σε ασθενείς με AD. Ακόμα μελέτες που προσπαθούν να ταυτοποιήσουν μεταλλάξεις του mtDNA σε εγκεφάλους ασθενών με AD είχαν αμφιλεγόμενα αποτελέσματα.

Μία εναλλακτική μέθοδος είναι να αναλυθούν οι συχνότητες των πολυμορφισμών του mtDNA που μπορεί να προκαλέσουν ή να σχετίζονται με μικρές διαφορές στις κωδικοποιούμενες πρωτεΐνες και, επομένως, με ελάχιστες αλλαγές στην ενεργότητα της μιτοχονδριακής αναπνοής και της υπερπαραγωγής ROS. Αυτό μπορεί να προδιαθέσει ένα άτομο, ή έναν πληθυσμό που φέρει τον ίδιο γονότυπο mtDNA, σε μία πιο πρόωμη έναρξη των αποπτωτικών διεργασιών, όπως η συσσώρευση σωματικών μεταλλάξεων του mtDNA και η εξασθένηση της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων (ETC). Το αντίθετο θα μπορούσε να ισχύει για διαφορετικούς πολυμορφισμούς, οι οποίοι θα μπορούσαν να είναι ευεργετικοί προκαλώντας αύξηση της ενεργότητας της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης και/ή μείωση της παραγωγής ROS. Κοινοί πολυμορφισμοί του mtDNA καθορίζουν κλάσεις ειδικών για κάθε ήπειρο γονότυπων, απλότυπων, που μπορούν να ταυτοποιηθούν με ανάλυση πολυμορφισμών μήκους τμημάτων περιορισμού (RFLP). Στην Ευρώπη, έχουν ταυτοποιηθεί εννέα διαφορετικοί μιτοχονδριακοί απλότυποι (H, I, J, K, T, U, V, W, X), οι οποίοι αντιπροσωπεύουν περισσότερο από το 90% όλων των μιτοχονδριακών γονιδιωμάτων στον πληθυσμό. Η κατανομή τους φάνηκε να διαφέρει μεταξύ των φυσιολογικών ατόμων ελέγχου και των ασθενών που υποφέρουν από κάποιες νευροεκφυλιστικές ασθένειες, όπως το Parkinson.

Μία μελέτη ανέφερε ότι ο απλότυπος T εμφανίζεται με μικρότερη συχνότητα σε ασθενείς με AD, ενώ ο απλότυπος J φαίνεται να εμφανίζεται με μεγαλύτερη συχνότητα. Σε μία άλλη μελέτη σε ένα δείγμα ατόμων από την Ιταλία βρέθηκε ότι οι απλότυποι K και U παρουσιάζονται με μικρότερη συχνότητα σε φορείς της *Απολιποπρωτεΐνης (Apo) E4* σε σχέση

με ασθενείς AD που δεν ήταν φορείς (ενώ στα φυσιολογικά άτομα ελέγχου οι απλότυποι του mtDNA και το αλληλόμορφο *ApoE4* ήταν ανεξάρτητα μεταξύ τους). Αυτό υποδηλώνει ότι οι K και U μπορεί να δρουν αντισταθμιστικά στον μείζονα παράγοντα κινδύνου του AD, το αλληλόμορφο *ApoE4*. Η ίδια ομάδα ανακάλυψε μία μείωση του λόγου οφέλους του αλληλόμορφου *ApoE4* από στατιστικά σημαντικές σε μη στατιστικά σημαντικές τιμές σε ασθενείς με τους απλότυπους K και U. Μία άλλη μελέτη έδειξε ότι (ανεξάρτητα από τον γονότυπο του *ApoE*) τα αρσενικά άτομα που είχαν τον γονότυπο U είχαν μία σημαντική αύξηση στον κίνδυνο για AD, ενώ τα θηλυκά άτομα παρουσίασαν μία σημαντική μείωση στον κίνδυνο για AD έχοντας τον απλότυπο U. Αυτό υποδηλώνει ότι η κληρονόμηση του απλότυπου U μπορεί να έχει αρνητικές συνέπειες στην γήρανση των Καυκάσιων ανδρών.

Πρόσφατα, μία άλλη μελέτη αξιολόγησε την συμμετοχή των μιτοχονδριακών απλότυπων, των συμπλεγμάτων απλοτύπων (HV, UK, TJ, IWX) και δύο λειτουργικών πολυμορφισμών ενός νουκλεοτιδίου στο mtDNA (mtSNP 4216 και 4917) στην παθογένεση του AD στον Πολωνικό πληθυσμό. Αυτή η ομάδα παρατήρησε ότι το σύμπλεγμα HV φαινόταν να σχετίζεται σημαντικά με τον κίνδυνο για AD, ανεξάρτητα από την ύπαρξη ή όχι του *ApoE4* (OR = 1,59, 95% CI 1,04 -2,44, p = 0,032).

Η ίδια πρόσφατη μελέτη δεν βρήκε κανένα στοιχείο για την συμμετοχή των απλοτύπων U, K, J ή T στον κίνδυνο για AD. Δύο άλλες μελέτες (που περιλάμβαναν μόνο νευροπαθολογικά αποδεδειγμένες περιπτώσεις AD με Ευρωπαϊκή καταγωγή) υποδεικνύουν ότι οι απλότυποι του mtDNA δεν σχετίζονται με το AD.

Σε ακόμα μία μελέτη δεν βρέθηκαν στοιχεία για έναν αιτιολογικό ρόλο των πολυμορφισμών που σχετίζονται με τους απλότυπους. Σε αυτή τη μελέτη μελετήθηκε η συχνότητα των Ευρωπαϊκών απλότυπων του mtDNA σε μία καλά καθορισμένη κλινικά ομάδα 209 μη συγγενών μεταξύ τους ασθενών και 191 φυσιολογικών ατόμων με ξεκάθαρη καταγωγή από την Τοσκάνη (ώστε να ελαχιστοποιηθεί ο κίνδυνος ψευδών συσχετισμών μεταξύ γενετικών δεικτών και ασθένειας). Οι συχνότητες των απλοτύπων H, I, J, K, T, U, V, W, και X δεν ήταν σημαντικά διαφορετικές μεταξύ των AD και των ατόμων ελέγχου. Ακόμα, δεν υπήρχε σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο φύλων όσον αφορά την κατανομή των απλοτύπων mtDNA και στους ασθενείς AD και στις ομάδες ατόμων ελέγχου. Το αλληλόμορφο *ApoE4* επιβεβαιώθηκε ως παράγοντας κινδύνου για το AD, αλλά δεν παρατηρήθηκε καμία συσχέτιση μεταξύ των αλληλομόρφων *ApoE* και των απλοτύπων του mtDNA. Ακόμα αποκλείστηκε κάθε συσχέτιση μεταξύ των απλοτύπων του mtDNA, της ηλικίας εμφάνισης και του μέσου χρόνου επιβίωσης.

Τελικά, έχει προταθεί ότι οι κληρονομούμενοι απλότυποι K και U μπορεί να επηρεάσουν την προδιάθεση για AD στους Καυκάσιους, αλλά αυτή η συσχέτιση δεν έχει εξακριβωθεί πλήρως. Επειδή απαιτούνται πολύ μεγάλες ομάδες ατόμων για να εντοπιστεί αξιόπιστα ένας συσχετισμός με περίπλοκες ανθρώπινες ασθένειες, θα χρειαστεί περαιτέρω ανάλυση με μεγαλύτερα δείγματα για να αποκαλυφθεί με μεγαλύτερη βεβαιότητα η συμβολή των μεταλλάξεων του mtDNA ή των απλοτύπων, αν υπάρχει, στην παθογένεση του σποραδικού AD. Μέχρι σήμερα, οι απλότυποι του mtDNA δεν φαίνεται να παίζουν σημαντικό ρόλο στο AD. Οι αλλαγές του mtDNA που παρατηρούνται στα μοντέλα των κυτταροπλασματικών υβριδίων μπορεί να οφείλονται σε σωματικούς παράγοντες, π.χ. στην οξειδωτική βλάβη.

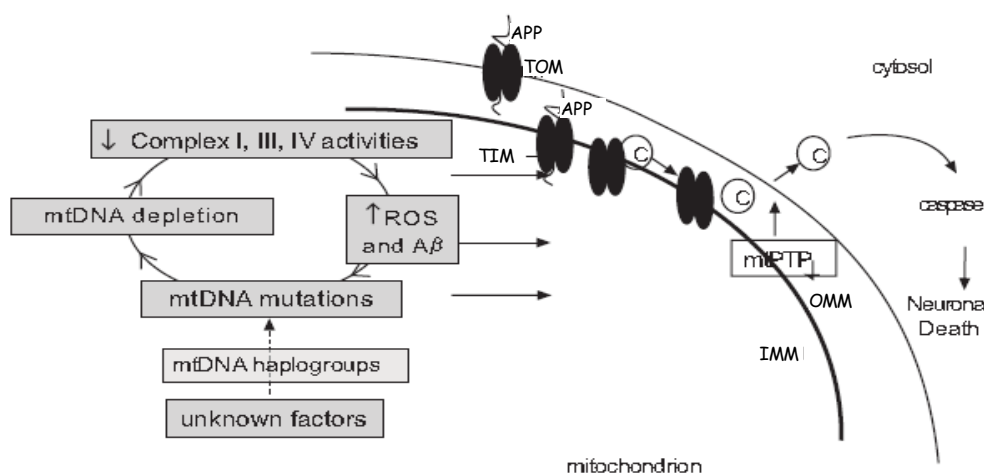
### **Η υπόθεση του μιτοχονδριακού καταρράκτη**

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η “υπόθεση του μιτοχονδριακού καταρράκτη” θα μπορούσε να εξηγήσει πολλά από τα βιοχημικά χαρακτηριστικά του σποραδικού AD. Η συσσώρευση των σωματικών μεταλλάξεων του mtDNA επιταχύνει την φυσιολογική γήρανση, οδηγεί σε οξειδωτική βλάβη, προκαλεί ανεπάρκεια του μηχανισμού παραγωγής ενέργειας, αυξημένη παραγωγή ROS και συσσώρευση του Αβ, τα οποία με έναν βίαιο τρόπο ενισχύουν την βλάβη στο mtDNA, την εξασθένηση της μιτοχονδριακής αναπνοής και το

οξειδωτικό στρες. Αυτά τα γεγονότα οδηγούν στο άνοιγμα του PTP, επάγοντας την απελευθέρωση του *cyt c* και την επαγωγή της ρυθμιζόμενης από τις κασπάσες απόπτωση. Η παραγωγή ROS από τα μιτοχόνδρια φαίνεται να επάγει απόπτωση και με έναν εναλλακτικό τρόπο που ρυθμίζεται από το PARP-1 και το AIF. Αυτή η υπόθεση μπορεί να έχει μία ισχυρή σύνδεση με την υπόθεση του καταρράκτη αμυλοειδούς.

Πριν παρατηρηθούν οι πλάκες, σχηματίζονται πρώιμα στα ποντίκια που υπερεκφράζουν APP ενδοκυτταρικά συσσωματώματα του Αβ τα οποία σχετίζονται ισχυρά με την εξασθένηση της νοητικής λειτουργίας. Το Αβ μπορεί να προκαλεί κυτταρική δυσλειτουργία μέσω της δράσης του στο μιτοχόνδριο. Σε διαγονιδιακά ποντίκια μοντέλα για το AD έχει παρατηρηθεί ότι το APP, η πηγή του τοξικού Αβ, κατευθύνεται προς τα νευρωνικά μιτοχόνδρια. Η χημική σταυροσύνδεση μαζί με ανοσοηλεκτρονική μικροσκοπία έδειξε ότι το μιτοχονδριακό APP υπάρχει σε μία διαμεμβρανική μορφή με το N-τελικό άκρο προς το εσωτερικό και βρίσκεται σε επαφή με τις μιτοχονδριακές μετατοπάσες. Η συσσώρευση των APP πλήρους μήκους στο μιτοχονδριακό διαμέρισμα, παγιδευμένα σε μία διαμεμβρανική μορφή, προκάλεσε μιτοχονδριακή δυσλειτουργία και εξασθενημένο ενεργειακό μεταβολισμό.

Η αιτιολογία του AD είναι περίπλοκη, και μόνο μία μειοψηφία των περιπτώσεων φαίνεται να έχει κυρίως γενετική αιτιολογία. Οι πολλαπλές αλληλεπιδράσεις μεταξύ γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων φαίνεται να είναι αιτιολογικές για τις εναπομένουσες περιπτώσεις. Τα δεδομένα που παρουσιάστηκαν παραπάνω ενισχύουν την ιδέα ότι το APP, η επαγόμενη από το Αβ τοξικότητα του μιτοχονδρίου, το οξειδωτικό στρες, η σωματική βλάβη του mtDNA, η μιτοχονδριακή δυσλειτουργία και η απόπτωση μπορεί να συνδέονται στον καταρράκτη που οδηγεί στην νευροεκφύλιση και την άνοια. Ο προτεινόμενος μηχανισμός του επαγόμενου από τα μιτοχόνδρια κυτταρικού θανάτου στο AD συνοψίζεται στην Εικόνα 19.



**Εικ. 19.** Ο προτεινόμενος μηχανισμός του κυτταρικού θανάτου που επάγεται από τα μιτοχόνδρια στο AD. Η "υπόθεση του μιτοχονδριακού καταρράκτη" θα μπορούσε να εξηγήσει πολλά από τα βιοχημικά, γενετικά και παθολογικά χαρακτηριστικά του σποραδικού AD. Οι σωματικές μεταλλάξεις του mtDNA θα μπορούσαν να προκαλέσουν απώλεια ενέργειας, αυξημένη παραγωγή αντιδραστικών ελευθέρων ριζών οξυγόνου (ROS) και συσσώρευση του αμυλοειδούς-β (Αβ), τα οποία σε έναν φαύλο κύκλο ενισχύουν την βλάβη του mtDNA και το οξειδωτικό στρες και μπορεί να διευκολύνουν το άνοιγμα του πόρου μετάπτωσης της διαπερατότητας (mPTP), ο οποίος επάγει τον κυτταρικό θάνατο στην απόπτωση. Ακόμα, η συσσώρευση της πρόδρομης πρωτεΐνης του αμυλοειδούς (APP) ανάμεσα στα μιτοχονδριακά κανάλια εισαγωγής (TIM και TOM) μπορεί να εμποδίζει την είσοδο των κωδικοποιούμενων από τον πυρήνα υπομονάδων του συμπλόκου IV, εξηγώντας έτσι την παρατηρούμενη μείωση της ενεργότητας του συμπλόκου IV και τα αυξημένα επίπεδα του  $H_2O_2$ .  
Υπόμνημα: C, κυτόχρωμα c, IMM εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη, OMM εξωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη, APP πρόδρομη πρωτεΐνη του αμυλοειδούς, TOM και TIM μετατοπάσες εισαγωγής πρωτεϊνών της μιτοχονδριακής εξωτερικής και εσωτερικής μεμβράνης αντίστοιχα.

**Τα κριτήρια που πρέπει να πληροί ένας βιοδείκτης για την ασθένεια του Alzheimer**

1. Change with neurodegeneration (i.e. degeneration of cortical neurons);
2. Show an association with the clinical phenotype arising secondary to this degenerative process;
3. Have a direct association with disease progression, without intermediate variables;
4. Have robust longitudinal data linking it to disease progression;
5. Not be influenced by symptomatic treatment, but only by a true change in the neurodegenerative process;
6. Predict long-term changes in disease progression by short-term changes in the biomarker;
7. Be generalisable to people with differing characteristics (e.g. age, gender, race);
8. Be continually variable (ideally linearly for simplicity);
9. Be sensitive, reflecting small changes in disease progression;
10. Be quick and cheap to measure, and amenable to blinded assessment;
11. Be suitable for measurement reliably across different centres;
12. Be suitable for repeated measurement in the same patient;
13. Be safe and tolerable to the patient.



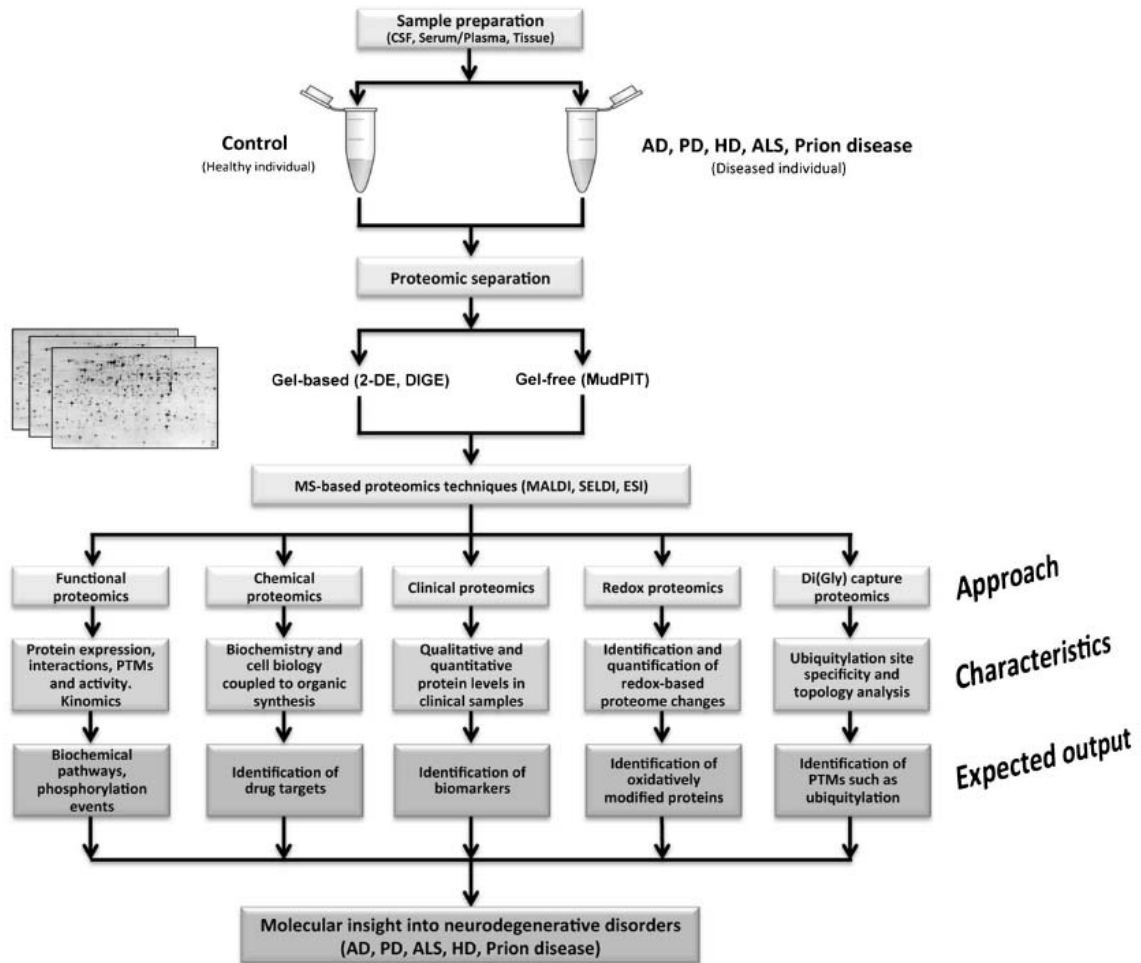
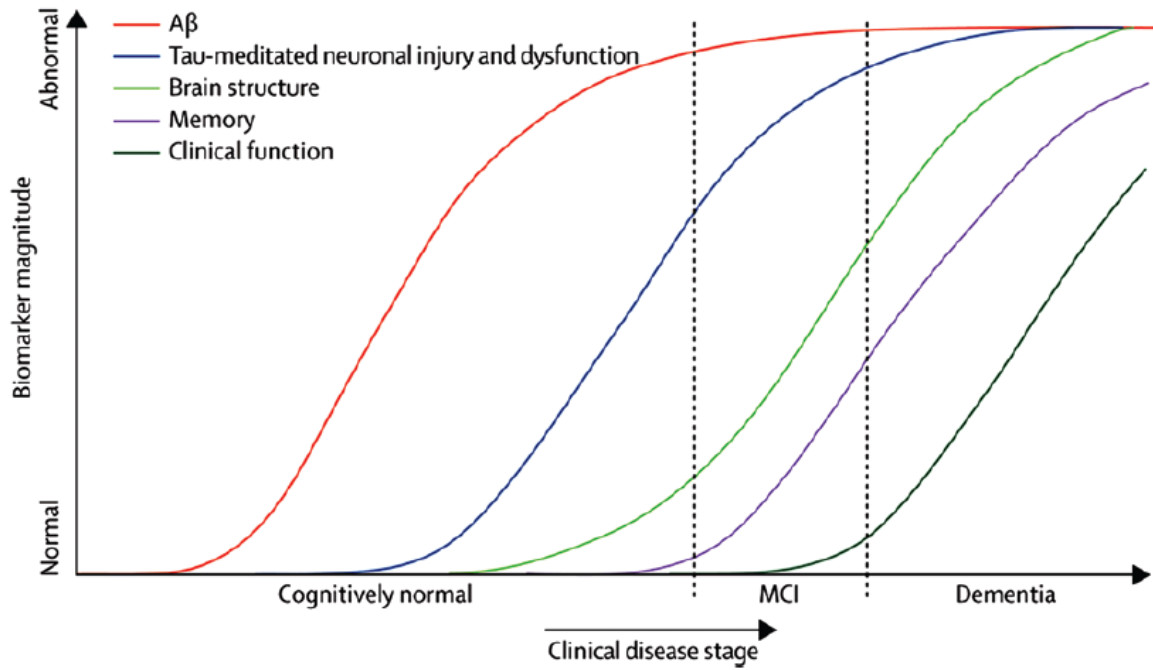
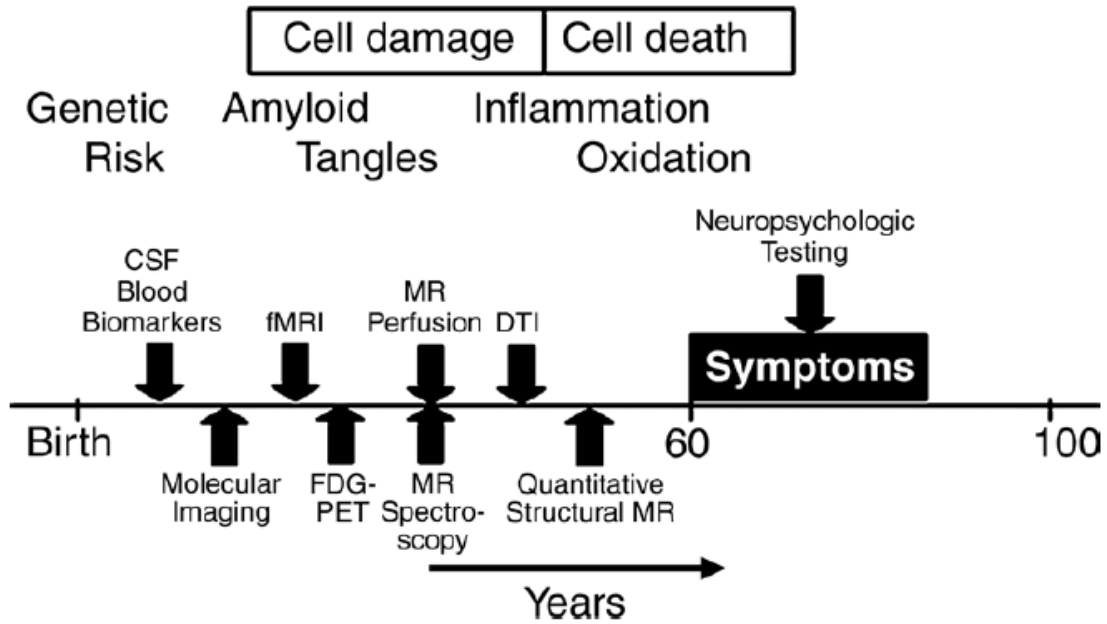


Fig. 1 Schematic diagram showing the workflow of proteomics approaches applicable to neurodegenerative diseases. The diagram shows the different proteomics approaches used in the field, their main characteristics, and the expected outputs from each approach



**Figure 12:** Hypothetical model of AD pathologic cascade, characterized by biomarker data. A $\beta$  protein is deposited initially, while the patient is asymptomatic, and may be measured by amyloid markers in the CSF or by amyloid PET imaging (red curve). Neuronal injury subsequently occurs and may be measured by tau markers in the CSF or by FDG-PET (blue curve). Neuronal injury is followed by neuronal death, and may be measured by atrophic changes on MR imaging (light green curve). Patients then become symptomatic, their memory first affected (purple curve). This MCI phase is followed by deficits in other domains, leading to impaired daily function (dark green curve), dementia, and, eventually, total dependence. (Reprinted, with permission, from reference 29.)



**Figure 14:** Demonstration of the concept of mechanistic imaging for use in clinical trials of new therapeutics in AD. Horizontal line represents a schematic of the pathophysiological progression of AD from birth to through death. Arrows denote points in the pathophysiology where various imaging biomarkers may prove most sensitive. Pairing an imaging biomarker to the appropriate pathophysiological events presents an opportunity for early diagnosis, prognosis, and as a means to monitor the effectiveness of a therapeutic to affect its intended target. *DTI* = diffusion tensor imaging, *fMRI* = functional MR imaging.