

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ-ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

Διευθυντής: Καθηγητής Αλέξανδρος Παπαδημητρίου

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΛΕΠΤΙΝΗΣ ΤΟΥ ΟΡΟΥ ΣΕ ΑΤΟΜΑ ΜΕ
ΝΕΥΡΟΕΚΦΥΛΙΣΤΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΤΟΥ Κ.Ν.Σ. ΚΑΙ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ
ΕΠΙΠΕΔΑ ΑΛΛΩΝ ΟΡΜΟΝΩΝ**

ΑΝΔΡΕΑΣ Α. ΡΙΖΟΥΛΗΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΛΑΡΙΣΑ 2011

Η Τριμελής Επιτροπή

Παπαδημητρίου Αλέξανδρος Καθηγητής Νευρολογίας

Χατζηγεωργίου Γεώργιος, Αναπληρωτής Καθηγητής Νευρολογίας

Στεφανίδης Ιωάννης, Αναπληρωτής Καθηγητής Νεφρολογίας

Η Επταμελής Επιτροπή

Παπαδημητρίου Αλέξανδρος Καθηγητής Νευρολογίας

Τρυποσκιάδης Φίλιππος, Καθηγητής Καρδιολογίας

Κουκούλης Γεώργιος, Αναπληρωτής Καθηγητής Ενδοκρινολογίας

Χατζηγεωργίου Γεώργιος, Αναπληρωτής Καθηγητής Νευρολογίας

Στεφανίδης Ιωάννης, Αναπληρωτής Καθηγητής Νεφρολογίας

Μπαργιώτα Αλεξάνδρα, Λέκτορας Ενδοκρινολογίας

Δαρδιώτης Ευθύμιος, Λέκτορας Νευρολογίας

(Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής υπό της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας δεν υποδηλεί αποδοχή των γνωμών του συγγραφέως) (Νόμος 5343/32, άρθρο 2000 παρ. 2)

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Ένα από τα κύρια χαρακτηριστικά της σύγχρονης εποχής είναι η παράταση του προσδόκιμου επιβίωσης. Αυτό , όμως έχει ως αποτέλεσμα και την αύξηση των εκφυλιστικών παθήσεων και ιδιαίτερα των παθήσεων του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος. Και αυτό γιατί ο νευρικός ιστός δεν αναγεννάται με συνέπεια οι εκφυλιστικές του βλάβες να είναι μη αναστρέψιμες. Για το λόγο αυτό υπάρχει έντονο ερευνητικό ενδιαφέρον σχετικά με την ανακάλυψη μηχανισμών και παραγόντων που είτε δρουν εκφυλιστικά και προάγουν βλάβες του νευρικού ιστού είτε δρουν νευροπροστατευτικά και προφυλάσσουν το νευρικό ιστό.

Η λεπτίνη είναι μία ορμόνη που ανακαλύφθηκε πρόσφατα και φαίνεται ότι έχει νευροπροστατευτική δράση. Θα είχε ιδιαίτερο επιστημονικό ενδιαφέρον η μελέτη της με σκοπό την αντιμετώπιση των νοσημάτων αυτών. Έχει μελετηθεί ιδιαιτέρως η σχέση της λεπτίνης με την άνοια τύπου Alzheimer. Το θέμα αυτό διαπραγματεύεται και η παρούσα διδακτορική διατριβή.

Η διατριβή αυτή δεν εξετάζει μεμονωμένα το ρόλο της λεπτίνης στην Alzheimer, αλλά μελετάει συνολικά το ενδοκρινολογικό υπόβαθρο της νόσου σε σχέση με τη λεπτίνη. Συγκεκριμένα, εξετάζει τα επίπεδα της λεπτίνης σε σχέση με εκείνα των θυρεοειδικών ορμονών, της προλακτίνης και της κορτιζόλης σε ασθενείς με Alzheimer και σε μάρτυρες. Σκοπός της μελέτης είναι να εξεταστεί κατά πόσο η λεπτίνη έχει ένα μεμονωμένο νευροπροστατευτικό ρόλο ή η δράση της αποτελεί τμήμα ενός ευρύτερου ενδοκρινολογικού μηχανισμού στον οποίο συμμετέχουν και άλλες ορμόνες.

Μέχρι τώρα δεν έχει μελετηθεί αυτό το αντικείμενο, αλλά έχει εξεταστεί μεμονωμένα ο ρόλος της λεπτίνης στην άνοια τύπου Alzheimer.

Στον επιβλέποντα της διδακτορικής μου διατριβής Καθηγητή Νευρολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και Διευθυντή της Νευρολογικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας, κ. Παπαδημητρίου Αλέξανδρο εκφράζω τη βαθύτατη ευγνωμοσύνη μου, τόσο για την ανάθεση του συγκεκριμένου θέματος, τη στενή παρακολούθηση και την καθοδήγησή του σε όλα τα στάδια της μελέτης, όσο και για την πολύτιμη συμβολή του στην εκπαίδευση μου. Τις θερμές μου ευχαριστίες εκφράζω επίσης στα άλλα δύο μέλη της Τριμελούς Επιτροπής, τον Αναπληρωτή Καθηγητή Νευρολογίας κ. Χατζηγεωργίου και τον Αναπληρωτή Καθηγητή Νεφρολογίας κ. Στεφανίδη.

Πολύτιμη για τη συλλογή του υλικού της μελέτης υπήρξε η βοήθεια του Καθηγητή Νοσηλευτικής κ. Σιδέρη Μπακούρα στον οποίο εκφράζω τις βαθιές μου ευχαριστίες.

Τέλος, ευχαριστώ την αδερφή μου Κατερίνα για την πολύτιμη βοήθεια που μου παρείχε στην εργαστηριακή επεξεργασία των δειγμάτων καθώς και τους γονείς μου για την ηθική συμπαράσταση που μου παρείχαν κατά τη διάρκεια της εκπόνησης της διατριβής μου.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός: Η λεπτίνη είναι μια ορμόνη που έχει βρεθεί ότι μεταξύ των άλλων ασκεί νευροπροστατευτική δράση. Σκοπός της συγκεκριμένης μελέτης ήταν να διερευνηθεί ο ρόλος της λεπτίνης στη νόσο Alzheimer και να διερευνηθεί αν τα επίπεδά της μεταβάλλονται σε σχέση με άλλες ορμόνες όπως η προλακτίνη, η κορτιζόλη και θυρεοειδοτρόπο ορμόνη.

Υλικό και Μέθοδος: Η επιλογή του πληθυσμού της μελέτης έγινε από ασθενείς με Alzheimer που παρακολουθούνται στα εξωτερικά ιατρεία της Νευρολογικής κλινικής. Η ομάδα των μαρτύρων αποτελούνταν από υγιείς εθελοντές με παρόμοιες ηλικίες με αυτές των ασθενών. Συνολικά 195 άτομα συμμετείχαν στη μελέτη εκ των οποίων τα 90 έπασχαν από Alzheimer, ενώ τα 95 ήταν υγιείς μάρτυρες. Οι ασθενείς πληρούσαν τα κριτήρια του ταξινομικού συστήματος DSM-IV για εκφυλιστική άνοια και τα κριτήρια NINDS-ADRDA για πιθανή νόσο Alzheimer. Οι ασθενείς της μελέτης υποβλήθηκαν σε απεικονιστικό έλεγχο με αξονική ή μαγνητική τομογραφία στον οποίο πλην των εκφυλιστικών αλλοιώσεων και της ατροφίας, απουσίαζε κάποια παθολογία που να παραπέμπει σε άλλη νοσολογική οντότητα. Χρησιμοποιήθηκε το Mini – Mental state examination (MMSE) προκειμένου να γίνει αδρή εκτίμηση της βαρύτητας της νοητικής έκπτωσης. Στο δείγμα της μελέτης έγινε μέτρηση των επιπέδων της λεπτίνης, της προλακτίνης, της κορτιζόλης και της TSH σε ορό των ατόμων με τις μεθόδους ELISA και ECLIA.

Αποτελέσματα: Από την παρούσα μελέτη διαπιστώθηκε ότι οι ασθενείς με νόσο Alzheimer στο δείγμα μας είχαν χαμηλότερα επίπεδα λεπτίνης σε σχέση με τους φυσιολογικούς μάρτυρες ανεξάρτητα από άλλους παράγοντες όπως ηλικία, φύλο BMI, ιστορικό καπνίσματος, χρήση αντιψυχωσικών φαρμάκων και ορμονολογικό προφίλ (επίπεδα TSH, κορτιζόλης, προλακτίνης). Επιπλέον η βαρύτητα της νοητικής έκπτωσης με βάση το MMSE δε βρέθηκε να σχετίζεται με τα επίπεδα λεπτίνης. Στους ασθενείς του δείγματός μας επίσης διαπιστώθηκαν υψηλότερα επίπεδα προλακτίνης και κορτιζόλης αλλά όχι TSH σε σχέση με τους φυσιολογικούς μάρτυρες.

Συμπεράσματα: Υπάρχουν ενδείξεις ότι τα επίπεδα λεπτίνης στον ορό του αίματος είναι χαμηλότερα στους ασθενείς με νόσο Alzheimer. Ωστόσο περαιτέρω μελέτες απαιτούνται για την εξακρίβωση του μηχανισμού με τον οποίο η λεπτίνη συσχετίζεται με την Alzheimer.

Abstract

Aim: Leptin is a hormone that to among other functions is found to exert neuroprotective action. The aim of this study was to investigate the role of leptin in Alzheimer dementia and to find out if the levels of leptin are related to the levels of other hormones such as prolactin, cortisol and TSH.

Material and methods: The patients with Alzheimer were outpatients visiting the Neurologic Department of the University Hospital in Larisa. The control group consisted of healthy volunteers with similar age with demented people. 185 subjects participated in the study, 90 suffering from Alzheimer and 95 normal controls. The patients met the DSM-IV criteria for possible Alzheimer

disease and NINDS-ADRDA criteria for neurodegenerated dementia. Mini Mental State Examination (MMSE) was used in order to estimate the level of mental deterioration. The patients of our study had a CT or an MRI scanning. No other pathologic entity was found apart from the neurodegenerated deteriorations and the cerebral atrophy. In our study we measured leptin's, prolactin's, cortisol's and TSH concentrations in the serum using ELISA and ECLIA methods.

Results: In our study, it was found that leptin's concentration was lower in the study group of patients with Alzheimer disease in comparison to the healthy ones regardless the sex, age, BMI, smoking habits, use of antipsychotic drugs and hormonal profile (TSH – cortisol – PRL levels). In addition no correlation was found between the severity of mental deterioration using the MMSE and the levels of leptin measured in the serum. In the study group of Alzheimer disease it was also noted higher levels of prolactin and cortisol but not TSH in comparison to the healthy ones.

Conclusions: There is strong evidence that leptin levels in the serum of people with Alzheimer disease are much lower compared to the levels of leptin in healthy people. However more research is needed in order to clear up the mechanism with which leptin correlates to Alzheimer disease.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΝΟΣΟΣ ALZHEIMER

Η άνοια αυτή καθαυτή είναι σύμπτωμα και όχι διάγνωση. Η άνοια ορίζεται ως μία επίκτητη προοδευτική απώλεια των ανώτερων νοητικών λειτουργιών που δε μπορεί να αποδοθεί σε φυσιολογική έκπτωση λόγω γήρατος. Αυτό τη διαχωρίζει από την πνευματική – αναπτυξιακή καθυστέρηση και από περιπτώσεις της οξείας έκπτωσης των γνωστικών λειτουργιών όπως συμβαίνει στο κώμα ή στο delirium.

ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Η νόσος του Alzheimer είναι ο πιο κοινός τύπος άνοιας και ευθύνεται για το 65 – 75% της άνοιας ειδικά σε ηλικιωμένους. Είναι μια ασθένεια μη θεραπεύσιμη, εκφυλιστική και θανατηφόρα η οποία περιγράφηκε αρχικά από το Γερμανό ψυχίατρο και νευροπαθολόγο Alois Alzheimer το 1906.

Κατ' εκτίμηση 26,6 εκατομμύρια άνθρωποι είχαν παγκοσμίως Alzheimer το 2006, και αυτός ο αριθμός μπορεί να τετραπλασιάσει μέχρι το 2050. Η νόσος εμφανίζεται περισσότερο σε άτομα προχωρημένης ηλικίας. Η συχνότητα εμφάνισης της νόσου διαφοροποιείται με την ηλικία: κάθε πέντε έτη μετά από την ηλικία των 65, ο κίνδυνος εμφάνισης της νόσου περίπου διπλασιάζεται. Υπάρχουν επίσης διαφορές μεταξύ των φύλων. Οι γυναίκες έχουν υψηλότερο κίνδυνο για Alzheimer, ιδιαίτερα σε πληθυσμό μεγαλύτερο από 85.

Στις Ηνωμένες Πολιτείες, η επίπτωση της νόσου Alzheimer υπολογίστηκε να είναι 1.6 ανά 1000 το έτος 2000 στη ηλικιακή ομάδα 65-74,

με το ποσοστό να αυξάνεται σε 19 ανά 1000 στην ομάδα 75-84 και 42 ανά 1000 στην ομάδα 84 και άνω.

Σήμερα υπολογίζεται ότι υπάρχουν 160.000 ασθενείς με άνοια στην Ελλάδα, 7.300.000 στην Ευρώπη και 35.000.000 παγκοσμίως. Η Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας υπολόγισε ότι το 2005, 0.379% των ανθρώπων παγκοσμίως είχε άνοια, και ότι η εξάπλωση θα αυξανόταν σε 0.441% το 2015 και σε 0.556% το 2030. Άλλες μελέτες έχουν συναγάγει παρόμοια συμπεράσματα.

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ

Γενικά είναι γνωστό ότι υπάρχουν δύο κύριες μορφές της νόσου Alzheimer: Η γενετική ή κληρονομική και η σποραδική, που αφορούν το 5% και το 95 % των περιπτώσεων, αντίστοιχα. Όσον αφορά την κληρονομική μορφή, έχει βρεθεί ότι μεταλλάξεις (αλλαγές στην δομή) στο γονίδιο που κωδικοποιεί για την πρόδρομη πρωτεΐνη του αμυλοειδούς προκαλούν τη νόσο σε ηλικίες μεταξύ 30 και 60 ετών. Επιπλέον, έχει βρεθεί ότι μεταλλάξεις στα γονίδια που κωδικοποιούν για τις πρωτεΐνες πρεσενιλίνη 1 και πρεσενιλίνη 2 προκαλούν τη νόσο Alzheimer σε ηλικίες μικρότερες των 50 ετών. Ο μηχανισμός μέσω του οποίου οι μεταλλάξεις προκαλούν την νόσο Alzheimer δεν είναι ξεκάθαρος. Ένας επιπλέον γενετικός παράγοντας που αυξάνει σημαντικά τον κίνδυνο για την ανάπτυξη της νόσου Alzheimer είναι η κληρονόμηση του αλληλομόρφου E4 του γονιδίου της απολιποπρωτεΐνης E. Το γονίδιο αυτό υπάρχει σε τρεις μορφές (E2, E3 και E4) και η πρωτεΐνη που κωδικοποιεί είναι υπεύθυνη για την μεταφορά της χοληστερόλης στους νευρώνες. Η νόσος Alzheimer εμφανίζεται επίσης και στους ασθενείς με σύνδρομο Down κατά την τέταρτη και πέμπτη δεκαετία της

ζωής τους. Σε αυτή την περίπτωση αυτή, λόγω του επιπρόσθετου χρωμοσώματος 21, έχουμε και ένα επιπλέον αντίγραφο του γονιδίου που κωδικοποιεί την πρόδρομη πρωτεΐνη του αμυλοειδούς. Όσον αφορά την σποραδική μορφή, επιδημιολογικές αλλά και νευροπαθολογικές παρατηρήσεις δείχνουν ότι διάφοροι παράγοντες όπως η οξειδωτική βλάβη, η φλεγμονή, ορμονικές ανωμαλίες (εμμηνόπαυση), τα υψηλά επίπεδα χοληστερόλης, η αθηροσκλήρωση, η υψηλή πίεση και το εγκεφαλικό τραύμα σε συνδυασμό με άγνωστους γενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες μπορεί να εμπλέκονται στην εμφάνισή της. Πρέπει όμως να σημειωθεί ότι οι κλινικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν για να ελεγχθούν φαρμακευτικές ουσίες που τροποποιούν τους παραπάνω παράγοντες δεν έχουν δώσει ξεκάθαρα ενθαρρυντικά αποτελέσματα.

ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ

Η εξωκυτταρική συγκέντρωση του β αμυλοειδούς (Αβ) αποτελεί κύριο χαρακτηριστικό της νόσου του Alzheimer και αυτή εξαρτάται από το ρυθμό παραγωγής του, από την έκκρισή του και από το ρυθμό εκκαθάρισής του. Η παραγωγή Αβ από τους νευρώνες εξαρτάται από την αλληλεπίδραση μεταξύ προσενηλινίνης-1 και της πρωτεΐνης CLIP-170 (Cytoplasmic-Linker Protein 170). Εκτός από αυτή την αλληλεπίδραση, η παραγωγή του Αβ εξαρτάται και από τη συγκέντρωση πρωτεϊνών στα συσσωματώματα λιπιδίων [lipid rafts (LRs)]. Τα LRs αποτελούν τμήματα της κυτταρικής μεμβράνης που είναι εμπλουτισμένα σε χοληστερόλη, γλυκοσφιγγολιπίδια και πρωτεΐνες συνδεδεμένες με γλυκοσυλφωσφατιδυλινοσιτόλη (GPI). Τα LRs σχετίζονται με τη μετάδοση πληροφοριών, τη μεταφορά πρωτεϊνών και την πρωτεόλυση. Μέσα στα LRs φαίνεται ότι το πρόδρομο μόριο της πρωτεΐνης Αβ (ΑβPP)

μεταβολίζεται από τη β-σεκρετάση (BACE) και σχηματίζει το ενδιάμεσο μόριο CAPPβ, το οποίο στη συνέχεια αντιδρά με τη γ-σεκρετάση. Όταν το Αβ βρεθεί έξω από το νευρικό κύτταρο μπορεί α) να ασκήσει τη δράση του με το να συνδέεται και να ενεργοποιεί συγκεκριμένους υποδοχείς, β) να απομακρύνεται από μηχανισμούς ενδοκυττάρωσης, όπως αυτός της απολιποπρωτεΐνης E (ApoE) και γ) να αποδομείται από εξωκυτταρικές πρωτεάσες, όπως η νεπριλυσίνη (Farris et al 2003).

Τα νευροϊνιδιακά τολύπια αποτελούν ενδοκυττάρια συσσωματώματα πρωτεϊνών Tau, οι οποίες έχουν υποστεί σε εκτεταμένο βαθμό φωσφορυλίωση. Τα νευροϊνιδιακά τολύπια σχετίζονται άμεσα με την έκπτωση των ανωτέρων νοητικών λειτουργιών στη νόσο του Alzheimer. Οι πρωτεΐνες Tau εντοπίζονται κατά κύριο λόγο στους νευράξονες, όπου συμβάλλουν στη σταθεροποίηση των μικροσωληνίσκων. Η λειτουργία αυτή επιτελείται κατά κύριο λόγο με τη φωσφορυλίωση των πρωτεϊνών Tau. Όμως, η υπερβολική φωσφορυλίωση οδηγεί σε μειωμένη ικανότητα προσκόλλησης στους μικροσωληνίσκους. Έτσι, η παθολογική φωσφορυλίωση των πρωτεϊνών Tau οδηγεί σε διαταραγμένη λειτουργία των μικροσωληνίσκων, με συνέπεια να μη γίνεται σωστά η μεταφορά των πρωτεϊνών, να σχηματίζονται νευροϊνιδιακά τολύπια και να επέρχεται ο κυτταρικός θάνατος των νευρικών κυττάρων. Επιπροσθέτως, η αυξημένη φωσφορυλίωση των Tau πρωτεϊνών οδηγεί σε συσσώρευση των πρωτεϊνών αυτών. Η αυξημένη συγκέντρωση των νευροϊνιδιακών τολυπίων σχετίζεται με τη βαρύτητα της κλινικής εικόνας της νόσου του Alzheimer (Thal et al 2000), καθώς και με την εμφάνιση ψυχωσικών συμπτωμάτων σε ανοϊκούς ασθενείς (Farber et al 2000). Για το

λόγο αυτό είναι σημαντική η ανεύρεση θεραπευτικών λύσεων που να αναστέλλουν τη συγκεκριμένη οδό.

Υποστηρίζεται ότι η κινάση-3β της συνθάσης του γλυκογόνου (GSK-3β) είναι μία από τις σημαντικότερες κινάσες της πρωτεΐνης Ταυ στον εγκέφαλο. Η αυξημένη έκφραση της GSK-3β στον εγκέφαλο πειραματόζων οδηγεί σε νευροεκφύλιση (Lucas et al 2001, Munoz et al 1997), ενώ στη Δροσόφιλα επάγει τη συσσωμάτωση των Ταυ σε τολύπια παρόμοια με αυτά που παρατηρούνται στη νόσο του Alzheimer (Jackson et al 2002).

ΚΛΙΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ

Συνήθως τα αρχικά συμπτώματα της νόσου Alzheimer είναι πολύ ήπια και η εμφάνιση της νόσου μπορεί να μην είναι αντιληπτή από τους ίδιους τους ασθενείς, τα αγαπημένα τους πρόσωπα ή ακόμη και από τους επαγγελματίες υγείας. Τα τρία στάδια που παρατίθενται παρακάτω αντιπροσωπεύουν τη γενικότερη εξέλιξη της νόσου. Αν και τα συμπτώματα αυτά διαφέρουν ως προς το βαθμό της σοβαρότητάς τους, το χρόνο έναρξης, αλληλεπικαλύπτουν συχνά το ένα το άλλο και έχουν μεγάλες διακυμάνσεις, η συνολική πρόοδος της ασθένειας είναι συνήθως γνωστή. Η νόσος Alzheimer δεν επηρεάζει το κάθε άτομο με τον ίδιο τρόπο, αλλά τα συμπτώματα μπορούν να ενταχθούν στα παρακάτω στάδια.

Στάδιο 1 – Ήπιας βαρύτητας: Το στάδιο αυτό μπορεί να διαρκέσει από 2 έως 4 χρόνια. Στα αρχικά στάδια οι ασθενείς με νόσο Alzheimer είναι λιγότερο δραστήριοι και αυθόρμητοι. Διαπιστώνεται πολύ μικρή απώλεια μνήμης, έχουν εναλλαγές του θυμικού τους και οι αντιδράσεις τους καθώς και η εκμάθηση νέων πληροφοριών είναι πολύ αργές. Αποσύρονται από την καθημερινότητα, αποφεύγουν να γνωρίσουν νέα άτομα και νέα μέρη και

γενικά προτιμούν τα οικεία σε αυτούς πράγματα. Επίσης τα άτομα αυτά μπερδεύονται συχνά, έχουν δυσκολία στο να σχεδιάσουν και να οργανώσουν πράγματα, χάνονται εύκολα ενώ η κρίση τους είναι πολύ φτωχή. Μπορεί να έχουν δυσκολία στο να πραγματοποιήσουν απλά καθημερινά πράγματα και δυσκολεύονται στην κατανόηση του γραπτού λόγου αλλά και στην επικοινωνία τους με τους υπόλοιπους. Αν το άτομο εργάζεται, τότε η απώλεια μνήμης μπορεί να επηρεάσει την επαγγελματική του απόδοση και αυτό μπορεί να έχει ως συνέπεια τον εκνευρισμό – θυμό τους.

Στάδιο 2 – μέσης βαρύτητας: Αυτό είναι το μεγαλύτερο χρονικά στάδιο και μπορεί να διαρκέσει από 2 έως 10 έτη. Τα άτομα σε αυτό το στάδιο μπορούν ακόμη να εκτελέσουν από μόνα τους απλές καθημερινές πράξεις, όμως για πιο περίπλοκες ενέργειες χρειάζονται τη συνδρομή τρίτων. Ξεχνούν πρόσφατα γεγονότα και το ατομικό τους ιστορικό και αποπροσανατολίζονται – αποκόβονται από την πραγματικότητα ευκολότερα. Οι αναμνήσεις του πρόσφατου παρελθόντος μπορεί να αναμιχθούν με το παρόν ενώ επηρεάζεται η ικανότητα του ατόμου στην αντίληψη της παρούσας κατάστασης, της ημέρας και της ώρας. Μπορεί να έχουν δυσκολία στην αναγνώριση οικείων προσώπων. Εμφανίζονται διαταραχές λόγου, ενώ η ανάγνωση και η γραφή είναι πολύ πιο δύσκολες και ο ασθενής μπορεί να αντιστρέφει λέξεις. Δεν είναι ασφαλείς μόνοι τους και μπορεί να περιπλανώνται. Καθώς ο ανοϊκός ασθενής αντιλαμβάνεται την κατάσταση στην οποία βρίσκεται, μπορεί να γίνει καταθλιπτικός, ευερέθιστος, ανήσυχος ή απαθής και να αποσυρθεί από την καθημερινότητα. Υπάρχουν επίσης διαταραχές ύπνου, δυσκολία στο φαγητό, την προσωπική υγιεινή και την ένδυση.

Στάδιο 3 – σοβαρής βαρύτητας: Το στάδιο αυτό μπορεί να διαρκέσει από 1 έως 3 έτη. Κατά το τελικό αυτό στάδιο τα άτομα έχουν χάσει την ικανότητα να τρέφονται μόνα τους, να μιλάνε, να αναγνωρίζουν πρόσωπα και να ελέγχουν σωματικές τους λειτουργίες όπως η κατάποση, η ουροδόχος κύστη τους και το έντερό τους. Η μνήμη τους επιδεινώνεται και μπορεί να υπάρχει βαριά έκπτωση της. Κοιμούνται συχνά και βγάζουν βογγητά. Είναι απαραίτητη η συνεχής και ακατάπαυτη φροντίδα. Οι ασθενείς είναι επιρρεπείς σε άλλες ασθένειες, δερματικές μολύνσεις και λοιμώξεις του αναπνευστικού ιδιαίτερα όταν είναι ανίκανοι να μετακινηθούν.

ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΑ ΚΡΙΤΗΡΙΑ

Η νόσος Alzheimer είναι επίσης από τις πρώτες νευρολογικές διαταραχές η οποία είχε ομάδα κωδικοποιημένων διαγνωστικών κριτηρίων βασισμένα στην εργασία των McKhann et al. οι οποίοι δημοσίευσαν τα κριτήρια αυτά το 1984. Τα NINCDS/ADRDA κριτήρια χρησίμευσαν ως μοντέλο για πολλά μελλοντικά κριτήρια με έμφαση στη διάγνωση πιθανής, μη πιθανής ή σίγουρης νόσου Alzheimer. Από τότε, πολλές μελέτες διερεύνησαν την ειδικότητα και την ευαισθησία των κλινικών αυτών κριτηρίων, χρησιμοποιώντας συσχετισμούς σε μελέτες αυτοψίας για να καθορίσουν την ακρίβεια και την ικανότητα άλλων ομάδων κριτηρίων στη διαφορική διάγνωση της νόσου Alzheimer με άλλες γνωσιακές διαταραχές.

Τα NINCDS/ADRDA κριτήρια διαφέρουν από τα DSM – IV κριτήρια στο γεγονός ότι το πρώτο απαιτεί 2 ή περισσότερες περιοχές των γνωσιακών λειτουργιών να είναι επηρεασμένες, ενώ τα DSM – IV κριτήρια απαιτούν τη λειτουργία της μνήμης καθώς και μία ακόμη διαταραχή από τις γνωστικές

λειτουργίες. Ειδικά σε μελέτες που θέτουν τη διάγνωση της νόσου Alzheimer με βάση τη μνήμη, τα τελευταία κριτήρια μπορεί να αποκλίνουν των αποτελεσμάτων αποκλείοντας περιπτώσεις που δεν έχουν καμία ή δεν έχουν εμφανή διαταραχή της λειτουργίας της μνήμης. Επίσης υπογραμμίζεται ότι τα κριτήρια για μέτρια γνωστική διαταραχή έχουν ως βασικό στοιχείο τη μνήμη και η κατάσταση αυτή συνοψίζεται ως διαταραχές της μνήμης χωρίς άνοια πχ το άτομο δεν παρουσιάζει διαταραχές στις κοινωνικές και επαγγελματικές του λειτουργίες και διατηρεί άθικτες τις λειτουργίες στην καθημερινή του ζωή.

Καθώς τα κριτήρια αυτά έχουν επηρεάσει και έχουν χρησιμοποιηθεί ως οδηγός για τη δημιουργία άλλων, είναι σημαντικό να κοιτάξουμε προσεχτικά στην ορολογία που χρησιμοποιείται. Για να έχουμε “πιθανή νόσο Alzheimer” κάποιος θα πρέπει να έχει έλλειμμα σε τουλάχιστον δύο περιοχές της γνωστικής λειτουργίας. Το τι όμως συνιστά το “έλλειμμα” ή τη “δυσλειτουργία” δεν ορίζεται ακριβώς από τους συγγραφείς αφήνοντας έτσι ανοιχτό σε μεγάλο βαθμό την ερμηνεία τους.

Η σχέση των διαταραχών συμπεριφοράς στα βασικά κριτήρια της νόσου Alzheimer πρέπει επίσης να ληφθούν πολύ σοβαρά υπόψιν. Αυτές οι συμπεριφορικές διαταραχές αναφέρονται ως υποστηρικτικές αλλά όχι ως βασικές στην κλινική διάγνωση της νόσου Alzheimer. Ασχέτως της επίδρασης της κατάθλιψης, του άγχους και της ψυχωσικής συμπεριφοράς στους ασθενείς και τις οικογένειές τους, αυτή η προσέγγιση δηλώνει ότι τέτοιου είδους προβλήματα στις γνωσιακές λειτουργίες δεν σχετίζονται με τις συμπεριφορικές διαταραχές. Είναι αδύνατο να γίνει διαχωρισμός μεταξύ των αυτών των δύο, ιδιαίτερα καθώς έχουμε πρόοδο της νόσου Alzheimer. Αν κάποιος δε μπορεί να θυμηθεί μία πρόσφατη απαντημένη ερώτηση, δεν είναι

λογικό να ρωτήσει ξανά; Και καθώς η όλη διαδικασία προοδευτικά επιδεινώνεται, με συνέπεια ο ασθενής με νόσο Alzheimer να είναι ανήσυχος καθώς πιστεύει ότι η πληροφορία αποκρύπτεται από αυτόν, είναι ολοένα και δυσκολότερο να διακρίνει κανείς το συναισθηματικό από το πραγματικά γνωσιακό κομμάτι διαταραχής. Σε ένα πιο πρακτικό επίπεδο, έχει παρατηρηθεί ότι τα βασικά κριτήρια για την έγκριση ενός φαρμακευτικού προϊόντος στη θεραπεία της νόσου Alzheimer στις Ηνωμένες Πολιτείες περιλαμβάνει ένα γνωσιακό τεστ και μία παγκόσμια κλίμακα βαθμονόμησης. Συμπεριφορές *per se* μπορεί να μην συμβάλλουν ιδιαίτερα στη διαδικασία αυτή.

Η σχέση με την άνοια αγγειακής αιτιολογίας αξίζει επισταμένης έρευνας επίσης. Ευρήματα με αιφνίδια έναρξη αποκλείονται ως πρόωρα. Παραταύτα, η νόσος Alzheimer μπορεί να εμφανίζεται με όχι και τόσο χαρακτηριστικά κλινικά ευρήματα όπως είναι η προοδευτική αφασία ή με περίπλοκες διαταραχές όρασης, όπως είναι στο σύνδρομο Balinty. Σε πολλές μελέτες έως τώρα, αφού οι ασθενείς έχουν εξεταστεί πολύ προσεχτικά, έχουν αποκλειστεί διαγνωσμένοι με αγγειακής αιτιολογίας νόσο, σύμφωνα με την κλίμακα ισχαιμίας κατά Hachinski. Παρόλ' αυτά το θέμα της διάγνωσης της νόσου Alzheimer ενέχει κάποιες δυσκολίες όπως για παράδειγμα στην περίπτωση που στη μαγνητική τομογραφία αναδειχθούν αλλοιώσεις μικροαγγειοπάθειας. Επίσης πολλές φορές συνυπάρχουν ευρήματα που να παραπέμπουν σε μικτού τύπου άνοια (δηλαδή εκφυλιστική και αγγειακά).

Τα ηλικιακά όρια πλέον δεν θεωρούνται ως πρωτεύουσας σημασίας στη διάγνωση της νόσου Alzheimer, αν και προσφέρουν κάποιες κατευθυντήριες οδηγίες. Χρησιμοποιούνται πλέον ειδικά γενετικά τεστ για τις

οικογενείς περιπτώσεις πρόσφατης έναρξης που μπορεί να έχουν μετάλλαξη στην πρόδρομη πρωτεΐνη του αμυλοϊδούς (χρωμόσωμα 21) ή μετάλλαξη f στο presinilin 1- ή 2 γονίδιο (χρωμόσωμα 14 και 1 αντίστοιχα). Γενετικές μελέτες του γονοτύπου της απολιποπρωτεΐνης E (APOE) δεν φαίνεται να είναι σημαντικές στη διάγνωση της νόσου Alzheimer. Αυτό το συμπέρασμα επιβεβαιώνεται από τον πολύ μικρό αριθμό περιστατικών της πρόωρης έναρξης οικογενούς μορφής της νόσου. Όταν το άτομο έχει ένα ή περισσότερα APOE ε4 αλλήλια, αυξάνεται απλά η πιθανότητα της εκδήλωσης της νόσου, χωρίς όμως να θεωρείται το καθοριστικό γονίδιο. Στους περισσότερους ασθενείς με νόσο Alzheimer δεν ανευρίσκονται τα APOE ε4 αλλήλια και η κλινική εξέταση παραμένει ο βασικός τρόπος επιβεβαίωσης της νόσου.

Με την εξέλιξη της απεικόνισης του Κ.Ν.Σ. πιστεύουμε ότι η επόμενη γενιά διαγνωστικών κριτηρίων της νόσου Alzheimer να περιλαμβάνει επιπλέον απεικονιστικά χαρακτηριστικά και ποσοτικοποιημένα γνωρίσματα όπως για παράδειγμα μέτρηση του όγκου του ιππόκαμπου.

Πιθανή νόσος Alzheimer σύμφωνα με τα κριτήρια κατά NINCDS – ADRDA

1. Κριτήρια για την κλινική διάγνωση πιθανής νόσου Alzheimer

- α) Άνοια που διαπιστώνεται με την κλινική εξέταση και με το mini-mental τεστ, το Blessed Dementia Scale ή άλλα αντίστοιχα τεστ και επιβεβαιώνεται με επιπλέον νευροψυχολογικά τεστ.
- β) Διαταραχές σε 2 ή περισσότερα πεδία των γνωστικών λειτουργιών.

γ) Προοδευτική επιδείνωση της μνήμης και των υπόλοιπων γνωστικών λειτουργιών.

δ) Καμία διαταραχή του επιπέδου συνείδησης.

ε) Έναρξη μεταξύ ηλικιών 40 και 90, συνήθως μετά τα 65.

στ) Απουσία άλλων συστηματικών διαταραχών του νευρικού συστήματος οι οποίες θα μπορούσαν να δικαιολογήσουν την προοδευτική απώλεια της λειτουργίας της μνήμης και των υπόλοιπων γνωστικών λειτουργιών.

2. Η διάγνωση της πιθανής νόσου Alzheimer υποστηρίζεται από τα ακόλουθα:

α) Προοδευτική επιδείνωση συγκεκριμένων γνωσιακών λειτουργιών όπως είναι η γλώσσα (αφασία), κινητικές δεξιότητες (απραξία) και η αντίληψη (αγνωσία).

β) Διαταραχή των καθημερινών λειτουργιών του ατόμου και αλλαγή στα πρότυπα συμπεριφοράς.

γ) Θετικό οικογενειακό ιστορικό παρόμοιων διαταραχών, ιδιαίτερα αν αυτά έχουν επιβεβαιωθεί και νευροπαθολογικά.

δ) Εργαστηριακά αποτελέσματα από:

- Φυσιολογική οσφυονωτιαία παρακέντηση
- Φυσιολογικά πρότυπα μη ειδικών αλλαγών στο Η.Ε.Γ. όπως είναι ή αύξηση της βραδείας δραστηριότητας.
- Ενδείξεις εγκεφαλικής ατροφίας με προοδευτική επιδείνωση σε τακτικούς ελέγχους με MRI.

3) Άλλα κλινικά χαρακτηριστικά που συμβαδίζουν με τη διάγνωση πιθανής νόσου Alzheimer αφού έχουν αποκλειστεί άλλα αίτια άνοιας, είναι τα εξής:

α) Σταθεροποίηση της προόδου της νόσου

β) Συνοδά συμπτώματα όπως κατάθλιψη, αϋπνία, συναισθηματική ακράτεια, παραισθήσεις, ψευδαισθήσεις, καταστροφικές λεκτικές – συναισθηματικές ή σωματικές εκρήξεις, σεξουαλικές διαταραχές και απώλεια βάρους.

γ) Άλλα νευρολογικά προβλήματα σε ορισμένους ασθενείς με πιο προχωρημένη νόσο με κινητικές διαταραχές όπως είναι οι μυοκλονίες, αυξημένος μυϊκός τόνος, διαταραχή βάδισης.

δ) Επιληπτικές κρίσεις σε προχωρημένη ηλικία.

ε) Φυσιολογικός απεικονιστικός έλεγχος για την ηλικία του ασθενή.

4) Στοιχεία που καθιστούν τη διάγνωση πιθανής νόσου Alzheimer αβέβαιη ή σχεδόν αδύνατη είναι τα ακόλουθα:

α) Αιφνίδιας έναρξης (ως αποπληξίας).

β) Νευρολογικά ευρήματα όπως ημιπάρεση, απώλεια αισθητικότητας, διαταραχές όρασης και μη συντονισμός των κινήσεων στα αρχικά στάδια της νόσου.

γ) Επιληπτικές κρίσεις ή διαταραχή βάδισης κατά τα αρχικά στάδια της νόσου.

DSM-IV αναθεωρημένα κριτήρια για τη διάγνωση άνοιας τύπου Alzheimer.

A) Ανάπτυξη πολλαπλών γνωσιακών ελλειμμάτων που εκδηλώνονται με:

1) Διαταραχή μνήμης (αδυναμία εκμάθησης νέων πληροφοριών ή αδυναμία ανάκλησης παλαιότερων αποθηκευμένων πληροφοριών).

2) Μία (ή περισσότερες) από τις ακόλουθες νοητικές διαταραχές:

α) Αφασία

β) απραξία

γ) αγνωσία

δ) διαταραχές σε ανώτερες νοητικές λειτουργίες (σχεδιασμός, οργάνωση, κατηγοριοποίηση κ.α.)

Β) Τα ελλείμματα των νοητικών λειτουργιών που αναφέρονται στα κριτήρια Α1 και Α2 έχουν ως αποτέλεσμα τη διαταραχή στην κοινωνική και επαγγελματική ζωή του ατόμου και αντιπροσωπεύουν σοβαρή απόκλιση από ένα προηγούμενο επίπεδο λειτουργικότητας.

Γ) Η έναρξη της νόσου είναι σταδιακή και παρατηρείται μία σταθερή επιδείνωση των νοητικών λειτουργιών.

Δ) Η έκπτωση των γνωσιακών λειτουργιών στα κριτήρια Α1 και Α2 δεν προκαλείται από κάποια από τις ακόλουθες καταστάσεις:

1) Άλλα νοσήματα του Κ.Ν.Σ. που προκαλούν προοδευτική έκπτωση των νοητικών λειτουργιών (π.χ. Νόσος Parkinson, αγγειακής αιτιολογίας συμβάματα, νόσος Huntington, υποσκληρίδιο αιμάτωμα, όγκοι εγκεφάλου, υδροκέφαλος).

2) Συστηματικές νόσοι που είναι γνωστό ότι προκαλούν άνοια (υποθυρεοειδισμός, ανεπάρκεια βιταμίνης D ή φυλλικού οξέος, έλλειψη νιασίνης, υπερασβεστιαμία, λοίμωξη με τον ιό HIV).

ΔΙΑΦΟΡΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Άλλες άνοιες πλην της νόσου Alzheimer είναι:

α) Αγγειακής αιτιολογίας άνοια: Είναι ο δεύτερος κατά σειρά συχνότητας τύπος άνοιας. Εξελίσσεται κυρίως κατά ώσεις, επιδεινούμενη μετά από κάθε έμφρακτο και σε αντίθεση με τη νόσο Alzheimer η έναρξή της είναι ξαφνική.

Συνήθως προσβάλλονται τα εγκεφαλικά αγγεία μέσης και μικρής διαμέτρου (μεμονωμένο έμφρακτο, πολλαπλά έμφρακτα, μεγάλο έμφρακτο, κενотоπιώδη έμφρακτα, νόσος του Binswanger, αιμοδυναμικές διαταραχές).

β) Μετωποκροταφική άνοια: Πρόκειται για μια σπάνια σχετικά πρωτοπαθή εκφυλιστική άνοια που ευθύνεται για το 5% όλων των μη αναστρέψιμων ανοιών. Κατά κύριο λόγο προσβάλλεται ο μετωπιαίος λοβός ή ο κροταφικός λοβός.

γ) Νόσος του Creutzfeldt – Jakob: Ταχείας εξέλιξης εκφυλιστική άνοια που οφείλεται σε λοίμωξη από πρωτεΐνη prion.

δ) Νόσος του Huntington: Πρόκειται για κληρονομικό νόσημα το οποίο χαρακτηρίζεται από χοραιοαθετωσικές κινήσεις και άνοια με αυτοσωμική επικρατητική μεταβίβαση.

ε) Νόσος του Parkinson: Ιδιοπαθής διαταραχή της κινητικότητας που εισβάλλει κυρίως στην όψιμη ενήλικη ζωή. Χαρακτηρίζεται από βραδυκίνηση, τρόμο ηρεμίας, τρόμο τύπου «παρασκευής καταποτίων», δυσκαμψία «οδοντωτού τροχού», υπομιμία και βάδιση με μικρά συρτά βήματα.

στ) Άλλα αίτια άνοιας: Όγκοι Κ.Ν.Σ. (πρωτοπαθείς ή δευτεροπαθείς), κακώσεις (αιματώματα, μετατραυματικά αίτια), χρόνιες λοιμώξεις (μεταστατικές, σύφιλη, ανοϊκό σύνδρομο από ιό HIV), καρδιαγγειακά, συγγενή – κληρονομικά (μεταχρωματική λευκοδυστροφία), μεταβολικές διαταραχές (ένδεις βιταμινών, χρόνιες μεταβολικές διαταραχές, χρόνιες καταστάσεις ανοξίας, χρόνιες ενδοκρinoπάθειες), ιδιοπαθής εγκεφαλική σιδηρασβέστωση, νόσος του Wilson), απομυελινωτικά νοσήματα (σκλήρυνση κατά πλάκας), άλλες εγκεφαλικοί νόσοι (επιληψία, υδροκέφαλος φυσιολογικής πίεσεως),

φάρμακα και τοξίνες (οινόπνευμα, βαρέα μέταλλα, δηλητηρίαση από μονοξείδιο του άνθρακα, φάρμακα, ακτινοβολίες).

ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΝΟΣΟΥ ALZHEIMER

Οι αναστολείς της ακετυλοχολινεστεράσης

Οι αναστολείς της ακετυλοχολινεστεράσης (ΑΑΧΕ): δονεπεζίλη, ριβαστιγμίνη και γκαλανταμίνη, έχουν ως στόχο τη σταθεροποίηση (μερικές φορές και την βελτίωση για ένα διάστημα μηνών) της νοητικής κατάστασης των ασθενών με νόσο του Alzheimer. Η εγκεκριμένη τους ένδειξη είναι για τη θεραπεία της ήπιας έως μέσης βαρύτητας νόσου του Alzheimer. Οι μελέτες σύγκρισης μεταξύ των τριών ΑΑΧΕ δεν έχουν δείξει υπεροχή καμιάς από τις τρεις έναντι των άλλων. Ωστόσο, το ένα τρίτο περίπου των ασθενών με νόσο Alzheimer δεν φαίνεται να επωφελούνται από τη χολινεργική θεραπεία, ενώ μέχρι σήμερα δεν έχουν καθοριστεί ποια κλινικά χαρακτηριστικά θα μπορούσαν να προβλέψουν αν ένας ασθενής πρόκειται να επωφεληθεί από τη θεραπεία με έναν ΑΑΧΕ. Είναι σωστό να δοκιμαστούν και οι τρεις ουσίες προτού να χαρακτηριστεί ο ασθενής ως μη ανταποκρινόμενος στους ΑΑΧΕ.

Ανταγωνιστές γλουταμινικού

Η μεμαντίνη, ένας μερικός ανταγωνιστής των υποδοχέων NMDA, έχει επίσημη ένδειξη χορήγησης για την αντιμετώπιση της μέτριας έως βαριάς νόσου Alzheimer. Τα ευεργετικά της αποτελέσματα είναι στις νοητικές λειτουργίες, στις διαταραχές της συμπεριφοράς και την καθημερινή λειτουργικότητα των ασθενών. Η μεμαντίνη είναι ένα γενικά καλά ανεκτό φάρμακο και οι σπάνιες παρενέργειες που παρατηρούνται με αυτήν είναι: εκνευρισμός, σύγχυση και γριππώδης συνδρομή.

Συγχορήγηση: Οι μελέτες συγχορήγησης της μεμαντίνης με έναν AAXE έχουν δείξει αντικρουόμενα μέχρι στιγμής αποτελέσματα. Έτσι, η «διπλή θεραπεία» δεν είναι, προς το παρόν τουλάχιστον, ενδεδειγμένη.

Οδηγίες χορήγησης της ειδικής φαρμακευτικής αγωγής για τη νόσο του Alzheimer με βάση την αποτελεσματικότητα των φαρμάκων ανάλογα με το στάδιο της νόσου (Με βάση τις ενδείξεις χορήγησης από την EMEA)

- Νόσος Alzheimer ήπιου σταδίου ($MMSE > 20$): χορήγηση ενός AAXE (δονεπεζίλη, ριβαστιγμίνη, γαλανταμίνη)
- Νόσος Alzheimer μέσου σταδίου ($10 < MMSE < 20$): χορήγηση ενός AAXE ή της μεμαντίνης
- Νόσος Alzheimer προχωρημένου σταδίου ($MMSE < 10$): χορήγηση της μεμαντίνης

Διακοπή της θεραπείας: Στο πολύ προχωρημένο στάδιο της νόσου ($MMSE < 2$) και όταν ο ασθενής φαίνεται να μην έχει πλέον συνειδητή επικοινωνία με το περιβάλλον μπορεί να κανείς να δοκιμάσει τη διακοπή χορήγησης της ειδικής φαρμακευτικής αγωγής.

Η χορήγηση πληθώρας άλλων παραγόντων δεν έχει αποδεδειγμένα αποτελέσματα για την αντιμετώπιση της νόσου του Alzheimer. Τέτοιοι παράγοντες είναι: η βιταμίνη Ε, η σελεγιλίνη, τα εκχυλίσματα του ginkgo biloba, η πιρακετάμη, η ανιρασσετάμη, τα ΜΣΑΦ, οι ορμόνες (DHEA και οιστρογόνα), οι στατίνες και τα ω3 λιπαρά οξέα.

2.Λεπτίνη και νευροπροστασία

Η ορμόνη λεπτίνη ανακαλύφθηκε το 1994 ως παράγοντας του ομοιοστατικού μηχανισμού ρύθμισης του βάρους του σώματος (Halaas et al 1995). Πρόκειται για μία πρωτεΐνη που κωδικοποιείται από το γονίδιο της παχυσαρκίας, συντίθεται στο λιπώδη ιστό και σχετίζεται με την παχυσαρκία, αφού συμβάλλει στη ρύθμιση της μάζας σώματος, μέσω της αναστολής της όρεξης. Η λεπτίνη μεταφέρεται στον εγκέφαλο, αφού διαπεράσει τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, και εκεί ασκεί τη δράση της μέσω του υποθαλάμου αναστέλλοντας τον επικλινή πυρήνα. Εκτός από τη ρύθμιση βάρους, η λεπτίνη ενέχεται και σε άλλες λειτουργίες, όπως η αναπαραγωγή, η θερμογένεση, η πλαστικότητα των συνάψεων και φαίνεται ότι έχει νευροπροστατευτική δράση σε περιοχές του εγκεφάλου που σχετίζονται με νευροεκφυλιστικές παθήσεις (Weng et al 2007, Zhang et al 2007).

Έτσι, η έρευνα προσανατολίζεται στη χρησιμοποίηση της λεπτίνης για την αντιμετώπιση νευροεκφυλιστικών παθήσεων, αφού αυτή φαίνεται να έχει νευροπροστατευτική και αντιαποπτωτική δράση.

1.1. Σύνθεση λεπτίνης και μεταφορά της στον εγκέφαλο

Η ποσότητα της λεπτίνης που διαπερνά τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό είναι μικρή σε σχέση με τη συνολική ποσότητα της λεπτίνης στο περιφερικό αίμα. Η λεπτίνη απελευθερώνεται από το λιπώδη ιστό στην κυκλοφορία του αίματος και στη συνέχεια με διάφορους μηχανισμούς διαπερνά τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό και εισέρχεται στον εγκέφαλο. Στους μηχανισμούς αυτούς σημαντικό ρόλο διαδραματίζουν οι υποδοχείς της λεπτίνης. Συγκεκριμένα, υπάρχει μεγάλος αριθμός υποδοχέων λεπτίνης στο χοριοειδές

πλέγμα, στα εγκεφαλικά αγγεία και στις λεπτομήνιγγες. Φαίνεται ότι οι υποδοχείς αυτοί βοηθούν στη δέσμευση και μεταφορά της λεπτίνης στον εγκέφαλο. Μία εναλλακτική υπόθεση αναφέρεται σε πρωτεΐνες που λειτουργούν ως μεταφορείς της λεπτίνης. Κύριος εκπρόσωπος των πρωτεϊνών αυτών είναι η μεγαλίνη. Έχει αναφερθεί ότι η μεταφορά της λεπτίνης στους νεφρούς δια μέσω των εγγύς εσπειραμένων σωληναρίων γίνεται με τη βοήθεια της μεγαλίνης (Hama et al 2004). Στον εγκέφαλο, η μεγαλίνη ανευρίσκεται στο χοριοειδές πλέγμα και συμβάλλει στη μεταφορά της λεπτίνης καθώς και στο νευροπροστατευτικό της ρόλο (Dietrich et al 2007). Πάντως, η μεταφορά της λεπτίνης δεν γίνεται με τον ίδιο τρόπο και στον ίδιο βαθμό σε όλα τα σημεία του εγκεφάλου. Το τμήμα του Κ.Ν.Σ. στο οποίο παρατηρείται εντονότερη μεταφορά της λεπτίνης είναι ο υποθάλαμος (Faouzi et al 2007), ενώ άλλες περιοχές με υψηλά επίπεδα μεταφοράς είναι ο ιππόκαμπος, ο φλοιός, ο θάλαμος, το ραβδωτό σώμα και ο μεσεγκέφαλος (Banks et al 2000).

Η λεπτίνη εκτός από το λιπώδη ιστό, παράγεται και σε άλλα μέρη του σώματος συμπεριλαμβανομένου και του εγκεφάλου. Αυτό όμως δεν ισχύει για όλα τα είδη. Για παράδειγμα, λεπτίνη δεν παράγεται στον εγκέφαλο ενήλικων αρσενικών ποντικών, ενώ παράγεται στους αρουραίους, στα πρόβατα, στους χοίρους και φαίνεται ότι παράγεται και στον εγκέφαλο των ανθρώπων (Kneerr et al 2001).

Η παρουσία της λεπτίνης στον εγκέφαλο είναι πολύ σημαντική για την άσκηση της δράσης της. Αυτό φαίνεται στην περίπτωση της παχυσαρκίας, όπου ενώ υπάρχει μεγάλη συγκέντρωση λεπτίνης στο περιφερικό αίμα λόγω πλεονάζοντος λιπώδους ιστού, δεν παρατηρείται μείωση βάρους. Η λεπτίνη

για να ασκήσει την ανορεξιογόνο της δράση, πρέπει να φτάσει στον υποθάλαμο. Στην παχυσαρκία παρατηρήθηκε ότι η αυξημένη συγκέντρωση τριγλυκεριδίων, εμποδίζει τη μεταφορά της λεπτίνης στον εγκέφαλο (Banks et al 2004). Για το λόγο αυτό η χορήγηση λεπτίνης σε παχύσαρκα άτομα δεν οδηγεί σε απώλεια βάρους.

1.2 Ρόλος των υποδοχέων της λεπτίνης

Υπάρχουν 6 τύποι υποδοχέων της λεπτίνης (ObR,a-f). Ανήκουν στην οικογένεια των υποδοχέων της ιντερλευκίνης-6, οι οποίοι ανήκουν στην ευρύτερη οικογένεια των υποδοχέων κυτταροκινών τάξης I. Υπάρχουν τρεις δομικές μορφές στις οποίες κατηγοριοποιούνται οι υποδοχείς της λεπτίνης. Αυτές είναι: η μακριά (ObRb), η κοντή (ObRa,c,d,f) και η διαλυτή (ObRe) μορφή. Υποστηρίζεται ότι η λεπτίνη ασκεί τη δράση της κατά κύριο λόγο μέσω του υποδοχέα ObRb. Αυτός είναι, δηλαδή, που υπεισέρχεται κατά κύριο λόγο στη διαμόρφωση του ισοζυγίου της διατροφής και της ενέργειας. Αντίθετα, οι υποδοχείς κοντού τύπου διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη μεταφορά της λεπτίνης από το περιφερικό αίμα στον εγκέφαλο, μέσω του αιματοεγκεφαλικού φραγμού. Η διαλυτή μορφή του υποδοχέα ObRe ρυθμίζει γενικότερα τη βιοδιαθεσιμότητα της λεπτίνης (Tu et al 2008).

Μετά τη σύνδεση της λεπτίνης στον υποδοχέα, ο υποδοχέας δημιουργεί ένα σύμπλεγμα με την Janus κινάση της τυροσίνης (JAK). Ειδικότερα η JAK2 κινάση είναι αυτή που εμπλέκεται στην όλη διαδικασία. Συγκεκριμένα, η σύνδεση της λεπτίνης με το σύμπλεγμα υποδοχέα-JAK2 οδηγεί στην ενεργοποίηση της JAK2 που επιτυγχάνεται με το μηχανισμό της αυτοφωσφορυλίωσης. Η ενεργοποίηση της JAK2 οδηγεί σε μία αλυσιδωτή

αντίδραση που περιλαμβάνει την ενεργοποίηση μίας σειράς και άλλων μορίων. Το κυριότερο μόριο που συμμετέχει σε αυτήν την αντίδραση είναι το STAT (signal transducer and activators of transcription) και ειδικότερα η μορφή STAT3 κατά κύριο λόγο και λιγότερο η μορφή STAT5B. Η ενεργοποίηση του STAT3 οδηγεί στη μεταφορά του στον πυρήνα του κυττάρου, όπου ρυθμίζει την έκφραση μίας σειράς γονιδίων, όπως του *socs3*. Εκτός από το STAT η JAK2 ενεργοποιεί και ένα άλλο μόριο στόχο, το GRB2 (growth factor receptor-bound protein 2. Το GRB2 με τη σειρά του ενεργοποιεί τη MEK, η οποία προάγει τη δραστηριότητα της ERK1/2 (extracellular signal-regulated kinase) και κατ' επέκταση της έκφρασης γονιδίων, όπως το *c-fos* (Banks et al 2000).

Ο υποδοχέας της λεπτίνης ObRb εμπλέκεται σε δύο επιπλέον μηχανισμούς με τους οποίους ενεργοποιεί το STAT3 με τη βοήθεια του GRB2. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι ο υποδοχέας αυτός περιέχει τρία επιπλέον τμήματα τυροσίνης που δεν έχουν οι άλλοι υποδοχείς. Ένα από τα τμήματα αυτά είναι το Y1138 η φωσφορυλίωση του οποίου από το JAK2 οδηγεί σε περαιτέρω ενεργοποίηση του STAT3. Κάτι αντίστοιχο συμβαίνει και με την τυροσίνη Y985, η οποία όταν φωσφορυλιώνεται ενεργοποιεί τη φωσφατάση PTPN11. Άρα, η μακριά μορφή του υποδοχέα της λεπτίνης έχει δύο επιπλέον μηχανισμούς με τους οποίους η λεπτίνη ασκεί τη δράση της σε σχέση με την κοντή μορφή του υποδοχέα.

Εκτός από την ενεργοποίηση της οδού που περιλαμβάνει τα μόρια MAPK/ERK1/2 και STAT3 οι υποδοχείς της λεπτίνης ασκούν τη δράση τους και μέσω της οδού της ινσουλίνης. Αυτή η αλληλοεπικάλυψη δεν είναι περίεργη εφόσον και η λεπτίνη και η ινσουλίνη ενέχονται στην ομοιόσταση της

ενέργειας και στη διατροφή. Για παράδειγμα, όπως η λεπτίνη έτσι και η ινσουλίνη αν ενεθεί ενδοεγκεφαλικά προκαλεί ελάττωση της πρόσληψης τροφής και μείωση βάρους στους πιθήκους. Η ινσουλίνη δεσμεύεται στον υποδοχέα της και στη συνέχεια φωσφορυλιώνει ειδικά τμήματα του υποδοχέα [(insulin receptor substrates) IRS]. Μετά ενεργοποιούνται οι οδοί του MAPK και της φωσφατιδυλινोσιτόλης 3 κινάσης (PI3-K) με τελικό αποδέκτη την ενεργοποίηση του παράγοντα AKT/πρωτεϊνική κινάση B. Πιθανώς και η λεπτίνη να εμπλέκεται στην οδό του PI3-K, αφού έχει αναφερθεί ότι η ανορεξία που προέρχεται από τη λεπτίνη αναστέλλεται από τους αναστολείς του PI3-K (Niswender et al 2001). Επίσης, έχει αναφερθεί ότι οι υποδοχείς της λεπτίνης αλληλεπιδρούν με τους υποδοχείς IRS-1 στη μικρογλοία (Tang et al 2007) και με τους υποδοχείς IRS-4 στον υποθάλαμο (Wauman et al 2007). Για την επίτευξη αυτής της αλληλεπίδρασης απαιτείται η φωσφορυλίωση της τυροσίνης Y1077 του υποδοχέα ObRb. Το σύστημα υποδοχέων της ινσουλίνης έχει ευρεία κατανομή στον εγκέφαλο και περιλαμβάνει περιοχές του εγκεφάλου που ενέχονται σε νευροεκφυλιστικές παθήσεις. Οπότε, η ικανότητα των υποδοχέων της λεπτίνης να αλληλεπιδρούν με τους υποδοχείς της ινσουλίνης έχει ως αποτέλεσμα την ύπαρξη ενός τρίτου δρόμου δράσης της λεπτίνης που είναι μέσω της PI3-K.

1.3 Κατανομή των υποδοχέων της λεπτίνης στον εγκέφαλο

Υποδοχείς της λεπτίνης υπάρχουν σε διάφορα σημεία του εγκεφάλου. Όμως η μεγαλύτερη πυκνότητα υποδοχέων παρατηρείται στον υποθάλαμο και ιδιαίτερα στον τοξοειδή πυρήνα του υποθαλάμου (Schwartz et al 1996). Αυτό είναι αναμενόμενο, αφού η περιοχή αυτή σχετίζεται με τη διατροφή.

Εκτός από τον υποθάλαμο υπάρχουν και άλλες περιοχές του εγκεφάλου όπου εντοπίζονται υποδοχείς της λεπτίνης, όπως ο οσφρητικός φλοιός, ο θάλαμος η παρεγκεφαλίδα, ο μεσεγκέφαλος και άλλα σημεία του νευροφλοιού. Ο μεσεγκέφαλος περιέχει δύο πυρήνες με ντοπαμινεργικούς νευρώνες, οι οποίες επιτελούν διαφορετικές λειτουργίες, αλλά περιέχουν και οι δύο υψηλό αριθμό υποδοχέων λεπτίνης (Figlewicz et al 2003). Ο ένας πυρήνας, η κοιλιακή ωχρά σφαίρα, ενέχεται στο σύστημα ανταμοιβής. Οι υποδοχείς της λεπτίνης που βρίσκονται στον πυρήνα αυτό συμβάλλουν όχι μόνο στη διατροφή, αλλά και στην ηδονική αντίδραση του οργανισμού στο φαγητό (Hommel et al 2006). Ο άλλος πυρήνας είναι η μέλαινα ουσία. Αυτή συμμετέχει στη ρύθμιση των κινήσεων. Και σε αυτόν τον πυρήνα παρατηρούνται υποδοχείς της λεπτίνης, χωρίς όμως να έχει διευκρινιστεί ο ρόλος που διαδραματίζουν στην περιοχή αυτή. Τέλος, η λεπτίνη συμμετέχει στην αίσθηση της όσφρησης (Julliard et al 2007).

1.4 Νευροπροστασία από τη λεπτίνη

Οι νευροεκφυλιστικές παθήσεις του Κεντρικού Νευρικού συστήματος, όπως η νόσος του Parkinson σχετίζονται με την εμφάνιση κάποιων παραγόντων, όπως οι κυτταροκίνες, φλεγμονώδεις παράγοντες και με τη δυσλειτουργία αυξητικών παραγόντων. Στο πλαίσιο αυτό η λεπτίνη αναστέλλει την απόπτωση κυτταρικών τύπων, όπως τα λεμφοκύτταρα, τα β-κύτταρα του παγκρέατος και τα ηπατικά κύτταρα.

Πειραματικές μελέτες που έγιναν με τη χρήση καρκινικών κυττάρων έδειξαν ότι η λεπτίνη αναστέλλει τον κυτταρικό θάνατο (Somasundar et al 2003, Hoda et al 2007). Τα νευρικά κύτταρα που καλλιεργούνται απαιτούν την

παρουσία νευροτροφικών παραγόντων ή ορού για να μπορέσουν να επιβιώσουν. Η παρουσία λεπτίνης μειώνει τον κυτταρικό θάνατο που προέρχεται από την αφαίρεση ορού σε κύτταρα νευροβλαστώματος (Russo et al 2004) ή από την απόσυρση νευροτροφικών παραγόντων από νευρικά κύτταρα ιπποκάμπου (Guo et al 2008). Για το λόγο αυτό η εξωγενής χορήγηση λεπτίνης θα μπορούσε να αποτελέσει ένα βήμα για την αντιμετώπιση νευροεκφυλιστικών παθήσεων.

1.5 Λεπτίνη και νόσος του Parkinson

Η νόσος του Parkinson είναι η δεύτερη πιο συχνή νευροεκφυλιστική πάθηση μετά τη νόσο του Alzheimer. Σημαντικό ρόλο στην παθογένεση της νόσου του Parkinson διαδραματίζει η απώλεια ντοπαμινεργικών νευρώνων, με αποτέλεσμα να παρατηρούνται διαταραχές της κινητικότητας. Οι νευρώνες αυτοί εντοπίζονται στη μέλαινα ουσία, συμμετέχουν στη μελαινοραβδωτή οδό και ελέγχουν τις κινήσεις. Η λεπτίνη επηρεάζει τον ομοιοστατικό μηχανισμό ρύθμισης της μελαινοραβδωτής οδού. Παρατηρήθηκε ότι σε ποντικούς που είχαν έλλειψη λεπτίνης εμφανίζονταν λιγότερα αποθέματα ντοπαμίνης στους ντοπαμινεργικούς νευρώνες του μεσεγκεφάλου, με συνέπεια να ελαττώνεται η ικανότητα νευροδιαβίβασης (Roseberry et al 2007). Αντίστοιχα, έχει βρεθεί μείωση του αριθμού των D₂ υποδοχέων στο ραβδωτό σώμα των παχύσαρκων (Wang et al 2001). Ο αυξημένος δείκτης μάζας σώματος σχετίζεται με χαμηλά επίπεδα λεπτίνης στον εγκέφαλο, ενώ φαίνεται ότι υπάρχει μία αλληλεπίδραση ανάμεσα στη λεπτίνη και στη λειτουργία της ντοπαμίνης στον εγκέφαλο των ασθενών με νόσο του Parkinson.

Η λεπτίνη αναστέλλει την απώλεια ντοπαμινεργικών νευρώνων σε ένα πρότυπο μοντέλο νόσου του Parkinson που χρησιμοποιεί τη νευροτοξίνη 6-υδροξυντοπαμίνη (6-OHDA) (Weng et al 2007). Η λεπτίνη, δηλαδή, προστατεύει τα νευρικά κύτταρα που περιέχουν ντοπαμίνη από την τοξική δράση της 6-OHDA. Μάλιστα, στην περίπτωση αυτή η εξωγενής χορήγηση λεπτίνης προστάτευσε τη λειτουργικότητα της μελαινοραβδωτής οδού για 2 μήνες μετά το πέρας της θεραπείας. Ο νευροπροστατευτικός ρόλος της λεπτίνης στους ντοπαμινεργικούς νευρώνες ασκείται μέσω της ενεργοποίησης των οδών των JAK/STAT, MEK/ERK, GRB2. Στη συνέχεια, η ενεργοποίηση του ERK1/2 βοηθά στη διεκπεραίωση του ρόλου της λεπτίνης. Η λεπτίνη δρα αντιαποπτωτικά με το να αναστέλλει προαποπτωτικούς παράγοντες, όπως οι κασπάσες 3 και 9. Η αντιαποπτωτική αυτή δράση ασκείται μέσω του υποδοχέα ObR. Η χορήγηση αναστολέα του υποδοχέα ObR οδηγεί σε άρση της νευροπροστασίας και απώλεια της ενεργοποίησης του παράγοντα ERK1/2 (Weng et al 2007).

Η νευροπροστασία είναι μία πολύπλοκη λειτουργία που περιλαμβάνει τη συνεργική δράση διάφορων νευροτροφικών παραγόντων (Levy et al 2005, Tardito et al 2006). Όπως αναφέρθηκε, η λεπτίνη μπορεί να δράσει και μέσω του υποδοχέα της ινσουλίνης ενεργοποιώντας την οδό του PI3-K. Ελαττωμένη έκφραση του υποδοχέα της ινσουλίνης στον εγκέφαλο παρατηρείται στη νόσο του Parkinson, όπως και στη νόσο του Alzheimer (de laMonte and Wands 2005). Επομένως, κάποια μείωση της λεπτίνης και της ινσουλίνης μπορούν να δράσουν συνεργικά στην εμφάνιση νευροεκφυλιστικών παθήσεων, όπως η νόσος του Parkinson.

Ένας άλλος τρόπος με τον οποίο η λεπτίνη προστατεύει από την εμφάνιση νόσου του Parkinson, είναι με το να αυξάνει την έκφραση του BDNF (brain derived neurotrophic factor) (Komori et al 2006, Weng et al 2007). Ο BDNF βοηθά στην επιβίωση των ντοπαμινεργικών νευρώνων και είναι ελαττωμένος στη νόσο του Parkinson (Nagatsu et al 2000). Ο BDNF ασκεί τη δράση του με το να συνδέεται με τον υποδοχέα TrkB και κατ'επέκταση με την ενεργοποίηση των οδών του PI3-K και του MAPK/ERK. Συνεπώς, χρησιμοποιεί κοινές οδούς με τη λεπτίνη.

Κάτι αντίστοιχο συμβαίνει με την αιματοποιητική ορμόνη ερυθροποιητίνη. Συγκεκριμένα, η ερυθροποιητίνη ασκεί νευροπροστατευτική δράση με την ενεργοποίηση του PI3-K (Signore et al 2006). Η παράλληλη ενεργοποίηση των δύο αυτών οδών, δηλαδή του MAPK από τη λεπτίνη και του PI3-K από την ερυθροποιητίνη έχει αθροιστική συνεργική δράση και έτσι προσφέρει περισσότερη νευροπροστασία απ'ότι η μεμονωμένη ενεργοποίησή τους. Στην περιφέρεια η λεπτίνη αυξάνει την έκκριση ερυθροποιητίνης και με τον τρόπο αυτό προκαλεί την παραγωγή ερυθρών αιμοσφαιρίων (Axelsson et al 2005). Πάντως μέχρι στιγμής δεν έχει αποδειχθεί συνεργική νευροπροστατευτική δράση των δύο ορμονών. Όμως, έχει βρεθεί ότι ο μεταφραστικός παράγοντας (hypoxia inducible factor-1) που επάγει την έκκριση της ερυθροποιητίνης επάγει και την έκκριση της λεπτίνης (Grosfeld et al 2002, Meissner et al 2005).

1.6 Λεπτίνη και ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο

Το ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο είναι μία επείγουσα ιατρική κατάσταση που οφείλεται σε απότομη μείωση της αιματικής ροής σε τμήματα

του εγκεφάλου, λόγω θρόμβωσης ή εμβολής εγκεφαλικού αγγείου. Η κατάσταση αυτή έχει ως αποτέλεσμα τη δυσλειτουργία και το θάνατο των νευρικών κυττάρων. Τα αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια αποτελούν την τρίτη αιτία θανάτου και την κύρια αιτία μακροχρόνια αναπηρίας στην Ευρώπη και στις Η.Π.Α. Οι κύριοι μηχανισμοί με τους οποίους επέρχεται ο κυτταρικός θάνατος στα ισχαιμικά επεισόδια είναι η στέρηση οξυγόνου και γλυκόζης, η τοξική δράση του γλουταμικού οξέος, το οξειδωτικό στρες και η επακόλουθη κυτταρική απόπτωση (Lipton 1999).

Είναι δύσκολο να βρεθεί αποτελεσματική θεραπεία για τα ισχαιμικά επεισόδια, γιατί τα νευρικά κύτταρα είναι εξαιρετικά ευαίσθητα στην έλλειψη οξυγόνου. Η μόνη θεραπεία που χρησιμοποιείται στην παρούσα φάση είναι η θρομβόλυση με τη χρήση ιστικού ενεργοποιητή πλασμινογόνου (tPA). Αυτός, όμως, πρέπει να χορηγηθεί μέσα σε τρεις ώρες από την έναρξη του επεισοδίου. Για το λόγο αυτό πρακτικά χρησιμοποιείται μόνο στο 5% των εγκεφαλικών επεισοδίων. Έτσι, άλλες θεραπείες αναζητώνται για την αντιμετώπισή του. Εξέχουσα θέση στις θεραπείες αυτές κατέχει η νευροπροστασία. Όσον αφορά τη λεπτήνη έχει αναφερθεί ότι ασκεί νευροπροστατευτική δράση στους ισχαιμικούς νευρώνες (Zhang et al 2007).

Το εγκεφαλικό προκαλεί σημαντικές μεταβολές στους νευρώνες που επιβιώνουν από την αρχική προσβολή. Και αυτό γιατί παρατηρούνται πολλές μεταβολές σε βιοχημικό επίπεδο στους νευρώνες αυτούς με συνέπεια η καταστροφή των νευρικών κυττάρων να συνεχίζεται και μετά την αποδρομή του επεισοδίου. Σημαντικό ρόλο στη διαδικασία αυτή διαδραματίζουν οι αλλαγές που προκαλούνται από την επαναιμάτωση του νευρικού ιστού. Η αναστολή των εκφυλιστικών αυτών διεργασιών θα μείωνε σημαντικά την

επαγόμενη βλάβη από το εγκεφαλικό. Φαίνεται ότι η λεπτίνη μπορεί να αναστείλει κάποιες από αυτές τις διεργασίες και με τον τρόπο αυτό να καταπολεμηθούν το οξειδωτικό στρες, η απόπτωση και ο κυτταρικός θάνατος.

Ένας από τους κύριους βλαπτικούς παράγοντες που δημιουργεί η ισχαιμία είναι η τοξική δράση του γλουταμικού οξέος. Η λεπτίνη προστατεύει το νευρικό κύτταρο από το γλουταμικό οξύ, όπως αναφέρεται από τον Dicou, ο οποίος μελέτησε νευρώνες ποντικών (Dicou et al 2001). Συγκεκριμένα, αναφέρθηκε ότι η χορήγηση λεπτίνης σε καλλιέργειες νευρικών κυττάρων έδρασε προστατευτικά όσον αφορά τη δράση του NMDA. Η παρατήρηση αυτή επιβεβαιώθηκε και στη συνέχεια από τη μελέτη της ομάδας του Guo (Guo et al 2008).

Ένας ακόμη επιβαρυντικός παράγοντας που προκαλεί νέκρωση των νευρικών κυττάρων μετά από ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο είναι το οξειδωτικό στρες. Η έκθεση των νευρώνων σε σίδηρο οδηγεί σε οξειδωτικό στρες και υπεροξειδωση των λιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης μέσω της παραγωγής ελευθέρων ριζών. Η λεπτίνη αντιτίθεται στη δράση του σιδήρου, με συνέπεια, με αποτέλεσμα να προάγει την επιβίωση των νευρώνων (Guo et al 2008).

Η τελική συνισταμένη των εκφυλιστικών παραγόντων του ισχαιμικού επεισοδίου είναι η κυτταρική απόπτωση. Η λεπτίνη έχει αντιαποπτωτική δράση, όπως φάνηκε σε μελέτες με κύτταρα νευροβλαστώματος (Russo et al 2004, Guo et al 2008). Στις μελέτες αυτές η αντιαποπτωτική δράση της λεπτίνης ασκείται με την ενεργοποίηση των οδών JAK2-STAT3, MEK/ERK και PI3-K/AKT. Επίσης, ο αντιαποπτωτικός ρόλος της λεπτίνης περιλαμβάνει την επαγωγή της δισμουτάσης του σουπεροξειδίου του μαγγανίου και της Bcl-xL

(Guo et al 2008), καθώς και την αναστολή της κασπάσης 10 και του TNF (Russo et al 2004).

Σε πειραματόζωα έχει βρεθεί ότι η ενδοπεριτοναϊκή έγχυση λεπτίνης οδήγησε σε μείωση του όγκου της εμφραγματικής περιοχής σε ποντικούς που είχαν απόφραξη της μέσης εγκεφαλικής αρτηρίας (Zhang et al 2007). Επίσης, η λεπτίνη ήταν αποτελεσματική στην αντιμετώπιση των διαταραχών συμπεριφοράς που προκαλούνται από την ισχαιμική βλάβη. Αυτό γινόταν με την ενεργοποίηση της οδού του ERK1/2 κατά κύριο λόγο, ενώ φαίνεται ότι συμμετείχαν και η ενεργοποίηση του STAT3 και των υποδοχέων c-AMP.

Φαίνεται, λοιπόν ότι η λεπτίνη έχει νευροπροστατευτική δράση στο ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο. Θα ήταν ενδιαφέρουσα η συγχορήγησή της με τον tPA. Ίσως με τον τρόπο αυτό καθίστατο εφικτή η χορήγηση του tPA σε χρονικό διάστημα μεγαλύτερο των τριών ωρών μετά το εγκεφαλικό επεισόδιο.

1.7 Ο ρόλος της λεπτίνης στην επιληψία

Η επιληψία είναι μία συχνή νευρολογική διαταραχή και η επιληπτική δραστηριότητα σχετίζεται με θάνατο των κυτταρικών νευρώνων. Φαίνεται ότι η λεπτίνη έχει αντιεπιληπτογόνες ιδιότητες. Ο ιππόκαμπος θεωρείται ένα από τα πιο επιρρεπή σημεία του εγκεφάλου για την πυροδότηση επιληπτικών κρίσεων. Στον ιππόκαμπο υπάρχουν υποδοχείς της λεπτίνης που ασκούν τη δράση τους μέσω της οδού του STAT3 (Shanley et al 2002, Guo et al 2008). Η λεπτίνη αναστέλλει την πυροδότηση των νευρώνων του ιπποκάμπου με την ενεργοποίηση διαύλων καλίου, οι οποίοι επάγονται από ιόντα ασβεστίου. Όμως, υπάρχει και μία μελέτη που υποστηρίζει ότι η λεπτίνη μπορεί να έχει επιληπτογόνο δράση στα ποντίκια (Ayyildiz et al 2006).

Συνεπώς, φαίνεται ότι η λεπτίνη εμπλέκεται στην επιληψία, αλλά δεν είναι ξεκάθαρος ο μηχανισμός με τον οποίο γίνεται αυτό. Πρόσφατα, αναφέρθηκε ότι η λεπτίνη προστατεύει τους νευρώνες του ιπποκάμπτου από την επιληπτική κρίση σε ποντικούς με έλλειψη του ob/ob, οι οποίοι λόγω της έλλειψης αυτής καθίστανται ευάλωτοι στην επιληψία (Erbayat-Altay et al 2006). Επίσης, έχει βρεθεί ότι η επιληπτική κρίση που πυροδοτείται στους ποντικούς είτε από την ενδεδειγμένη έγχυση 4-αμινοπυριδίνης είτε από την ενδοπεριτοναϊκή έγχυση πεντυλενοτετραζόλης αναστέλεται όταν έχει προηγηθεί η χορήγηση λεπτίνης (Xu et al 2008). Στην έρευνα αυτή αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι η λεπτίνη χορηγήθηκε στα πειραματόζωα από τη μύτη. Αυτό σημαίνει ότι η λεπτίνη μπορεί να ασκήσει τη δράση και όταν δίδεται μέσω μίας απλής και ασφαλούς οδού, όπως είναι η ενδορινική. Μάλιστα, στη μελέτη αυτή μετρήθηκαν τα επίπεδα της λεπτίνης και στον ορό και στον εγκέφαλο και βρέθηκαν αυξημένες και στα δύο 30 λεπτά μετά την ένεση της λεπτίνης. Επίσης, η χρήση ραδιοσημασμένης λεπτίνης έδειξε ότι η ενδορινική ένεση λεπτίνης είναι επαρκής για την αποτελεσματική κατανομή της λεπτίνης στον οργανισμό (Fliedner et al 2006). Διαπιστώνουμε λοιπόν ότι η ενδορινική ένεση λεπτίνης μπορεί να αποτελέσει μία εύκολη και ασφαλή λύση για την αντιμετώπιση νευροεκφυλιστικών παθήσεων του εγκεφάλου.

1.8 Ο ρόλος της λεπτίνης στην πλαστικότητα του εγκεφάλου

Εκτός από το νευροπροστατευτικό της ρόλο η λεπτίνη ρυθμίζει και την πλαστικότητα των συνάψεων στον εγκέφαλο. Ειδικότερα, σημαντική είναι η δράση της λεπτίνης στη λειτουργία της μνήμης.

Η δράση της στο επίπεδο αυτό ασκείται με διάφορους τρόπους. Ένας από αυτούς είναι η ευοδωτική δράση που έχει η λεπτίνη στους υποδοχείς NMDA, οι οποίοι ενέχονται στις λειτουργίες της μνήμης και της μάθησης (Oomura et al 2006). Ένας άλλος μηχανισμός είναι η υπερπόλωση των νευρικών κυττάρων του ιπποκάμπου μέσω της ενεργοποίησης από τη λεπτίνη διαύλων καλίου. Επίσης, η πλαστικότητα των νευρώνων σχετίζεται με τη δομική ανασυγκρότηση των δενδριτικών απολήξεων, η οποία επηρεάζεται από τη λεπτίνη μέσω της δράσης της στους υποδοχείς NMDA και στην οδό της MEK/ERK (O' Malley et al 2007).

Εφόσον η λεπτίνη προάγει την πλαστικότητα των συνάψεων στον εγκέφαλο, θα ήταν αναμενόμενο η έλλειψή της να οδηγεί σε διαταραχές μνήμης. Η υπόθεση αυτή επιβεβαιώθηκε με πειράματα που έγιναν σε ποντίκια που παρουσίαζαν έλλειψη υποδοχέων λεπτίνης (Li et al 2002). Οι διαταραχές στην πλαστικότητα των νευρώνων που οφείλονται σε έλλειψη λεπτίνης είναι παρόμοιες αυτές που παρατηρούνται σε ποντίκια που έχουν διαβήτη (Biessels et al 1996,1998) και σε ανθρώπους με διαβήτη τύπου I και τύπου II (Desrocher and Rovet 2004, Greenwood and Winocur 2005, Messier 2005). Στις περιπτώσεις αυτές οι διαταραχές στην πλαστικότητα δεν σχετίζονται με τα επίπεδα ινσουλίνης, με συνέπεια να χρειάζεται πιθανώς η ταυτόχρονη διαταραχή λεπτίνης και ινσουλίνης για να παρατηρηθούν τα φαινόμενα αυτά (van der Heide et al 2005).

1.9 Λεπτίνη και νόσος του Alzheimer

1.9.1 Λεπτίνη και νευροβιολογία της νόσου του Alzheimer

Υπάρχουν διάφορες μελέτες που δείχνουν ότι υπάρχει θετική συσχέτιση ανάμεσα σε χαμηλά επίπεδα κυκλοφορούσης λεπτίνης και κινδύνου εμφάνισης νόσου του Alzheimer. Οι πρώτες μελέτες έγιναν σε μικρό αριθμό ατόμων (Olsson et al 1998, Power et al 2001). Στη μελέτη του Olsson συμμετείχαν 5 ασθενείς με Alzheimer και 5 μάρτυρες και βρέθηκε ότι τα επίπεδα λεπτίνης δεν διέφεραν μεταξύ των δύο ομάδων. Στη μελέτη των Power et al αναζητήθηκε η σχέση μεταξύ των επιπέδων λεπτίνης και του βάρους, σε 8 ασθενείς με άνοια (τύπου Alzheimer και αγγειακής αιτιολογίας). Το συμπέρασμα από τη μικρή αυτή μελέτη ήταν ότι τα παραδόξως αυξημένα επίπεδα λεπτίνης δεν παίζουν κανένα ρόλο στην απώλεια βάρους που παρατηρείται στη νόσο Alzheimer. Στη συνέχεια, έγιναν μελέτες σε μεγαλύτερο αριθμό συμμετεχόντων με αντικρουόμενα όμως αποτελέσματα. Συγκεκριμένα, έχει αναφερθεί αρνητική συσχέτιση μεταξύ χαμηλών επιπέδων λεπτίνης και βαρύτητας της άνοιας (Ray and Wyss 2005). Αντίθετα, μεγάλη προοπτική μελέτη στην οποία συμμετείχαν 3000 υπερήλικες και οι οποίοι παρακολουθήθηκαν για χρονικό διάστημα μεγαλύτερο των 4 ετών, έδειξε ότι τα άτομα με χαμηλά επίπεδα λεπτίνης είχαν μεγαλύτερο κίνδυνο για έκπτωση των ανωτέρων νοητικών τους λειτουργιών (Holden et al 2006, Holden et al 2008). Μια άλλη μελέτη κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η κεντρική παχυσαρκία στη μέση ηλικία αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης άνοιας ανεξάρτητα από την συννοσηρότητα με σακχαρώδη διαβήτη ή καρδιαγγειακή νόσο (Whitmer et al 2008).

Με βάση τα ευρήματα από τις παραπάνω μελέτες θα μπορούσαμε να υποθέσουμε ότι η ανεπάρκεια λεπτίνης είναι συχνή στη νόσο του Alzheimer και σχετίζεται με την εμφάνιση παχυσαρκίας στη μέση ηλικία, η οποία χαρακτηρίζεται από αντίσταση στη λεπτίνη ή ανεπάρκεια της λεπτίνης.

Ο κομβικός ρόλος της λεπτίνης στην εμφάνιση άνοιας ενισχύεται και από την παρατήρηση ότι παρατηρείται μεγάλη συγκέντρωση υποδοχέων λεπτίνης στον ιππόκαμπο, ο οποίος διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη μνημονική λειτουργία (Huang et al 1996). Επιπλέον, έχει αναφερθεί ότι η απευθείας έγχυση λεπτίνης στον ιππόκαμπο τρωκτικών μπορεί να βελτιώσει τη μνήμη και την πλαστικότητα των συνάψεων στην περιοχή αυτή (Harvey et al 2005). Επίσης, βελτίωση της μνήμης παρατηρήθηκε από τη χορήγηση λεπτίνης σε ποντίκια SAMP-8, τα οποία χρησιμοποιούνται ως πρότυπο μοντέλο τρωκτικού που αναπτύσσει αμυλοειδείς πλάκες (Farr et al 2006).

Αμυλοειδές

Έχει φανεί σε μελέτες *in vitro* ότι η χορήγηση λεπτίνης σε νευρικά κύτταρα μειώνει τη συγκέντρωση του Αβ σε δόσοεξαρτώμενη βάση. Δηλαδή, όσο μεγαλύτερη είναι η συγκέντρωση της λεπτίνης τόσο μικρότερη είναι η συγκέντρωση του Αβ (Fewlass et al 2004). Η δράση αυτή της λεπτίνης φαίνεται ότι οφείλεται στις λιπολυτικές ιδιότητες που έχει. Στη διαπίστωση αυτή συντείνει και το γεγονός ότι αναστολείς της λιπογένεσης, όπως η σερουλινίνη, αναστέλλουν την παραγωγή Αβ, ενώ αναστολείς της λιπόλυσης, όπως η ετομοξίρη, έχουν την αντίθετη δράση από τη λεπτίνη, δηλαδή αυξάνουν την παραγωγή του Αβ. Ειδικότερα, μία παθολογική συσσώρευση λιπιδίων σε μη λιπώδεις ιστούς, όπως ο νευρικός, ευνοεί την παραγωγή

αμυλοειδούς, κάτι το οποίο μπορεί να αποφευχθεί αν υπάρχει επαρκής συγκέντρωση λεπτίνης.

Η πρόσληψη σωματιδίων τύπου λιποπρωτεΐνης από τα νευρικά κύτταρα αποτελεί ένα μηχανισμό με τον οποίο οι νευρώνες αποκτούν λιπίδια για το σχηματισμό των μεμβρανών τους, καθώς και μία οδό με την οποία οι νευρώνες προμηθεύονται πρόδρομες ουσίες για το σχηματισμό μεταβολιτών των λιπιδίων καθώς και δευτερογενών αγγελιοφόρων. Οι ουσίες αυτές είναι απαραίτητες για τη λειτουργία του νευρώνα. Επίσης, η πρόσληψη του συμπλέγματος απολιποπρωτεΐνης E/αμυλοειδούς (ApoE/Aβ) αποτελεί ένα μηχανισμό για την αποβολή του αμυλοειδούς από τον εγκέφαλο. Η λειτουργία αυτή εξαρτάται από τον τύπο της απολιποπρωτεΐνης E. Συγκεκριμένα, η απολιποπρωτεΐνη E τύπου 3 (ApoE3) είναι πιο αποτελεσματική από την απολιποπρωτεΐνη E τύπου 4 (ApoE4). Η λεπτίνη αποτελεί έναν παράγοντα που διευκολύνει την πρόσληψη του συμπλέγματος ApoE/Aβ (Fewlass et al 2004).

Φωσφορυλίωση της πρωτεΐνης Tau

Έχει αναφερθεί ότι η λεπτίνη φωσφορυλιώνει το GSK-3β στη θέση Ser-9 και με τον τρόπο αυτό το απενεργοποιεί (Valerio et al 2006), ενώ παράλληλα έχει δημοσιευθεί ότι η θεραπεία με λεπτίνη οδηγεί σε μείωση της φωσφορυλίωσης της Tau, μέσω της αναστολής που προκαλεί στο GSK-3β (Greco et al 2009). Συγκεκριμένα, η λεπτίνη μειώνει τη φωσφορυλίωση της Tau στις θέσεις Ser-202, Ser-396, Ser-404 (Greco et al 2008), οι οποίες παρουσιάζουν έντονη φωσφορυλίωση στα νευροϊνιδιακά τούλγπια

(Trojanowski et al 1993, Su et al 1994). Παρόμοια δραστηριότητα έχει αναφερθεί ότι ασκεί η ινσουλίνη (Hong and Lee 1997, Planel et al 2007, Lesort et al 1999). Φαίνεται, όμως, ότι η λεπτίνη είναι τουλάχιστον δύο φορές πιο δραστική από ότι η ινσουλίνη. Αυτό είναι σημαντικό, γιατί έχει υποστηριχθεί ότι η αντίσταση στην ινσουλίνη στην περιοχή του εγκεφάλου μπορεί να αποτελεί αιτία για την εμφάνιση της νόσου του Alzheimer (Hoyer 1998).

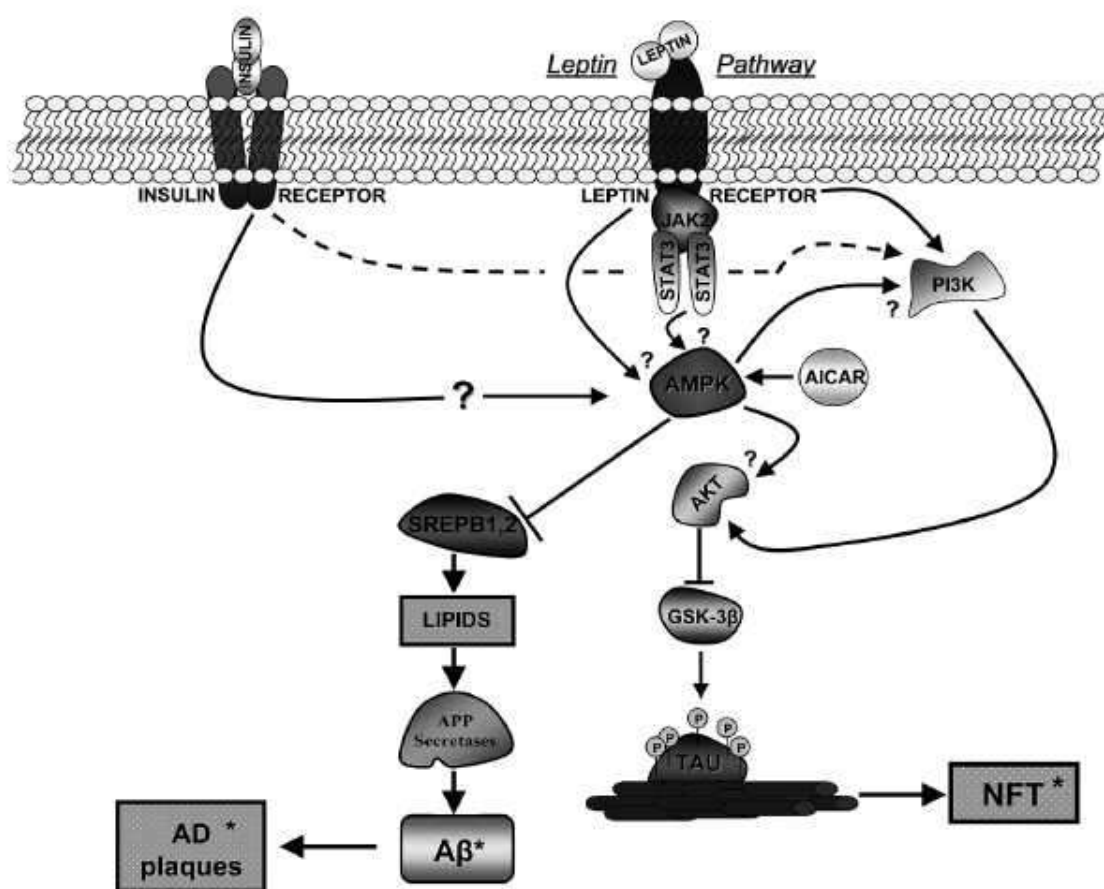
Διαπιστώνεται, λοιπόν, ότι η λεπτίνη υπεισέρχεται και στο σχηματισμό του αμυλοειδούς και στη φωσφορυλίωση της Ταυ, δηλαδή στους δύο κύριους παθογενετικούς μηχανισμούς της νόσου του Alzheimer. Επιπλέον, η λεπτίνη δρα στη λειτουργία της σύναψης, η διαταραχή της οποίας αποτελεί έναν ακόμη σημαντικό παθογενετικό μηχανισμό της Alzheimer. Ειδικότερα, έχει φανεί ότι σε ποντίκια με ανεπάρκεια λεπτίνης, παρουσιάζεται διαταραγμένη λειτουργία των συνάψεων, η οποία όμως επανέρχεται με τη χορήγηση λεπτίνης (Pinto et al 2004).

1.9.2 Μεταβολικές οδοί και νόσος του Alzheimer

Υποστηρίζεται ότι οι μεταβολικές οδοί διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση της νόσου του Alzheimer. Γενετικές μελέτες έχουν δείξει ότι οι φορείς του ApoE4 είναι επιρρεπείς στην εμφάνιση νόσου του Alzheimer (Strittmatter et al 1993). Ακόμη, φαίνεται ότι η δίαιτα και γενικότερα οι διατροφικές συνήθειες επηρεάζουν τον επιπολασμό της νόσου του Alzheimer (Grant 1999, Grant 2004, Smith et al 1999), ενώ απώλεια βάρους παρατηρείται συχνά στους ανοϊκούς λίγο πριν από την έναρξη της Alzheimer (Barrett-Connor et al 1996, Mazzali et al 2002). Επίσης, η κεντρική

παχυσαρκία αποτελεί παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση άνοιας (Whitmer et al 2008). Επιπλέον, σε μελέτες που έγιναν σε καλλιέργειες κυττάρων και σε πειραματόζωα, βρέθηκε ότι τα λιπίδια παίζουν σημαντικό ρόλο στην οδό της αμυλοειδογένεσης (Puglielli et al 2003). Επιπροσθέτως, έχει βρεθεί ότι η αντίσταση στην ινσουλίνη, η υπερινσουλιναίμία και ο διαβήτης τύπου II, αποτελούν παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση νόσου Alzheimer (Finkel et al 2005).

Επομένως, δεν προξενεί έκπληξη το γεγονός ότι σκευάσματα που ρυθμίζουν τα επίπεδα της χοληστερόλης, όπως οι στατίνες, καθώς και σκευάσματα που ρυθμίζουν τα επίπεδα της γλυκόζης, όπως η ροσιγλιδαζόνη (Risner et al 2006), δοκιμάζονται θεραπευτικά για τη θεραπεία της νόσου του Alzheimer. Ουσιαστικά, μελέτες *in vitro* και *in vivo* έδειξαν ότι ουσίες που μειώνουν τα επίπεδα χοληστερόλης μειώνουν ταυτόχρονα και την εναπόθεση αμυλοειδούς (Sparks et al 2006). Η παρατήρηση αυτή έρχεται σε συμφωνία με επιδημιολογικές μελέτες που δείχνουν ότι παρατηρείται μείωση του επιπολασμού της Alzheimer σε ανθρώπους που ελάμβαναν στατίνες (Simons et al 2001). Επίσης, υπάρχουν μελέτες που δείχνουν ότι η αποτελεσματικότητα της ροσιγλιδαζόνης στη βελτίωση των ανώτερων νοητικών λειτουργιών σε ασθενείς με Alzheimer, εξαρτάται από τον ApoE γονότυπο των ασθενών αυτών (Jiang et al 2008). Στη θεραπευτική φαρέτρα της νόσου του Alzheimer θα μπορούσε να συμπεριληφθεί και η λεπτίνη με την προϋπόθεση τα αυξημένα επίπεδα στον ορό να συνεπάγονται και αυξημένη συγκέντρωση στον εγκέφαλο και στο ENY, για να μπορέσει να ασκήσει τη δράση της, όπως φαίνεται στην παρακάτω εικόνα.



AMPK= AMP activated kinase, GSK-3β= glycogen synthase kinase 3β, STAT3= signal transducer and activator 3, MAPK= mitogen activated protein kinase, AICAR= 5 – aminoimidazole 4 carboxy amide ribonucleodide, NFT's= νευροϊνιδιακά τολύπια

Στην παραπάνω εικόνα παρατηρούμε ότι η λεπτίνη αλλάζει τη δραστηριότητα του AMPK με αποτέλεσμα τη δέσμευσή της στον υποδοχέα. Ο ακριβής μηχανισμός δεν είναι έως τώρα γνωστός αλλά ενδεχομένως να εμπλέκεται το STAT3. Υπάρχουν αρκετές πληροφορίες όσον αφορά το μηχανισμό καταρράκτη του AMPK που οδηγεί στη φωσφορυλίωση της πρωτεΐνης Tau η οποία εμπλέκει την αλλαγή του μορίου του GSK-3β μέσω του Akt. Αντίθετα, ο καταρράκτης από το AMPK στην ομοιοστασία του β αμυλοειδούς είναι λιγότερο κατανοητός. Η ενεργοποίηση του AMPK μπορεί να σταματήσει τους μεταγραφικούς παράγοντες SREBP1,2 που είναι γνωστό ότι παίζουν ρυθμιστικό ρόλο στο μεταβολισμό των λιπιδίων. Υπάρχουν στοιχεία ότι και η ινσουλίνη επίσης ρυθμίζει τη δραστηριότητα του AMPK. Η ινσουλίνη και η λεπτίνη μοιράζονται έναν ακόμη στόχο, το PI3K το οποίο επίσης ρυθμίζει την GSK-3β διάμέσω του Act. Ενεργοποίηση του Act από το AMPK έχει ως συνέπεια τη φωσφορυλίωση του GSK-3β στη θέση 9 σερίνης που το απενεργοποιεί. GSK-3β είναι κύρια φωσφορική κινάση της Tau. Σύμφωνα με μελέτες, η AMPK εξελίσσεται ως ο κεντρικός ρυθμιστής του βασικού παθολογικού μονοπατιού της νόσου Alzheimer. Υποθέτουμε ότι η έλλειψη της λεπτίνης στους ασθενείς με Alzheimer συμβάλλει στην αρνητική ανάδραση του συστήματος της AMPK. Αυτό με τη σειρά του προκαλεί αύξηση του β

αμυλοειδούς και της φωσφορυλιωμένης Tau. Μία χαμηλή δραστικότητα της AMPK μπορεί επίσης να σχετίζεται με ένα γενικότερο χαμηλό μεταβολικό επίπεδο μέσα στο περιβάλλον των νευρώνων και με μία γενικότερη «κούραση» των τελευταίων. Ενύοντας λεπτίνη στον εγκέφαλο των ατόμων με νόσο Alzheimer μπορούμε να βελτιώσουμε τη γενικότερη κλινική εικόνα του ασθενή ενεργοποιώντας μεταβολικές οδούς και μειώνοντας τα επίπεδα του β αμυλοειδούς και της φωσφορυλιωμένης πρωτεΐνης Tau.

Όπως φαίνεται και στην εικόνα το AMPK αποτελεί ένα ένζυμο που ασκεί καθοριστικό ρόλο στο μεταβολισμό του κυττάρου. Συγκεκριμένα, το AMPK συμμετέχει στη ρύθμιση της ενδοκυττάριας πρόσληψης της γλυκόζης, στη β-οξειδωση των λιπαρών οξέων και στη βιογένεση του μεταφορέα 4 της γλυκόζης (GLUT4) (Winder and Hardie 1999).

Η λεπτίνη ενεργοποιεί άμεσα το AMPK και η δράση της στη ρύθμιση της φωσφορυλίωσης της tau καθώς και της παραγωγής του β-αμυλοειδούς ασκείται μέσω του AMPK. Πιθανώς, λοιπόν, στη νόσο του Alzheimer κάποιες ομάδες νευρικών κυττάρων να εμφανίζουν διαταραχές στην οδό της AMPK για κάποιον από τους παρακάτω λόγους: χαμηλά επίπεδα λεπτίνης ή ινσουλίνης, χαμηλή ευαισθησία στη λεπτίνη ή στην ινσουλίνη, υπερδραστηριότητα της GSK-3β, διαταραχές στην περιεκτικότητα της κυτταρικής μεμβράνης σε χοληστερόλη και λιπαρά οξέα, χαμηλή πρόσληψη γλυκόζης. Αυτό θα μπορούσε να οδηγήσει σε μεταβολές στη λειτουργία των συνάψεων, σε αύξηση της εναπόθεσης αμυλοειδούς, σε αύξηση της φωσφορυλίωσης της tau και τελικά σε θάνατο του νευρικού κυττάρου.

1.9.3 Ανοσοποιητικό σύστημα και νόσος του Alzheimer

Το ανοσοποιητικό σύστημα εμπλέκεται στην παθοβιολογία της νευροεκφύλισης που εμφανίζεται στη νόσο του Alzheimer. Οι αμυλοειδείς πλάκες συσσωρεύουν πρωτεΐνες του συστήματος του συμπληρώματος, εΐκοσανοειδή και κυτταροκίνες, τα οποία αποτελούν συστατικά της φλεγμονώδους διεργασίας και επιτείνουν τις βλαπτικές επιδράσεις του β-αμυλοειδούς (Emmerling et al 2000). Δηλαδή, οι κυτταροκίνες και οι χυμοκίνες αποτελούν σημαντικούς ρυθμιστές του ανοσοποιητικού συστήματος και παράγονται από τα λευκοκύτταρα (B ή T) καθώς και από τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (μικρογλοιακά κύτταρα, περιαγγειακά μακροφάγα, αστροκύτταρα του εγκεφάλου). Στον εγκέφαλο ασθενών με νόσο του Alzheimer εμφανίζονται επιπλέον φλεγμονώδεις κυτταροκίνες (IFN-γ, TNF-α, IL-12, IL-1, IL-2, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18) και αντιφλεγμονώδεις κυτταροκίνες (IL-4, IL-5, IL-10, IL-13, IL-14, TGF-β) (Benveniste et al 2001). Εκτός από τη συμμετοχή τους στο ανοσοποιητικό σύστημα, οι κυτταροκίνες μπορούν να επηρεάσουν άμεσα την παραγωγή του β-αμυλοειδούς (Blasko et al 1999).

Η λεπτίνη έχει παρόμοια δομή και λειτουργία με τις κυταροκίνες και χρησιμοποιεί τις ίδιες οδούς, ενώ συμμετέχει στην ανοσιακή απάντηση του οργανισμού σε παθογόνους μικροοργανισμούς και γενικότερα στη διαδικασία της φλεγμονής. Η ανεπάρκεια της λεπτίνης σχετίζεται με διαταραχές στην ανοσιακή απάντηση που επάγεται από τα T κύτταρα (Faggioni et al 2001), καθώς και με αυξημένη ευαισθησία στη δράση της βακτηριακής ενδοτοξίνης και του TNF-α. Τα φαινόμενα αυτά μπορούν να αναστραφούν με τη χορήγηση

λεπτίνης, η οποία εξασθενίζει τη δράση των φλεγμονωδών κυτταροκινών, καθώς και ευρύτερα την απάντηση του νευροενδοκρινικού συστήματος στη φλεγμονή (Xiao et al 2003). Επίσης, σε σηπτικούς ασθενείς που βρίσκονται σε κρίσιμη κατάσταση, τα υψηλά επίπεδα λεπτίνης σχετίζονται με υψηλότερα ποσοστά επιβίωσης (Arnalich et al 1999).

Διαπιστώνεται, λοιπόν, ότι η λεπτίνη θα μπορούσε να αποτελέσει μία καινούργια θεραπευτική μέθοδο για την αντιμετώπιση της νόσου του Alzheimer (Tezapsidis et al 2009).

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1) ΣΚΟΠΟΣ

Από την επισκόπηση της ανωτέρω βιβλιογραφικής ανασκόπησης εξάγεται το συμπέρασμα ότι η λεπτίνη οδηγεί σε μείωση της παραγωγής του Αβ πεπτιδίου τόσο *in vitro* όσο και *in vivo* και παρεμβαίνει αρνητικά στην ΤΑΥ φωσφορυλίωση *in vitro*. Έτσι στην κλασσική υπόθεση του «αμυλοειδούς καταρράκτη» και των νευροϊνιδικών τολουπίων, που κατά μεγάλο μέρος εξηγούν την παθοβιολογία της νόσου Alzheimer, η λεπτίνη έρχεται να προστεθεί στην σωρεία πολλαπλών άλλων παραγόντων που διαπλέκονται μεταξύ των μοριακών διαβάσεων του Αβ πεπτιδίου και της ΤΑΥ φωσφορυλίωσης και μπορούν να βελτιώσουν την παθογένεια και να επιβραδύνουν το ρυθμό της γνωστικής έκπτωσης της νόσου.

Υπάρχουν αντικρουόμενα αποτελέσματα στις έρευνες όσον αφορά τα αποτελέσματα των μελετών για τα επίπεδα λεπτίνης και νόσου Alzheimer. Σε ορισμένες από αυτές έχει παρατηρηθεί αρνητική συσχέτιση μεταξύ χαμηλών επιπέδων λεπτίνης και άνοιας, ενώ σε άλλες διαπιστώθηκε ότι τα χαμηλά επίπεδα λεπτίνης συνδυάζονταν με μεγαλύτερο κίνδυνο για έκπτωση των νοητικών λειτουργιών.

Ο στόχος της διατριβής αυτής δεν είναι η μελέτη μεμονωμένα του ρόλου της λεπτίνης στη νόσο Alzheimer αλλά το ολοκληρωμένο ενδοκρινολογικό υπόβαθρο της νόσου σε σχέση με τη λεπτίνη. Ειδικότερα, θα εξετάσουμε τον νευροπροστατευτικό ρόλο της λεπτίνης ως τμήμα ενός ευρύτερου ενδοκρινολογικού μηχανισμού στον οποίο συμμετέχουν και άλλοι ορμονολογικοί δείκτες, πεδίο το οποίο έως τώρα δεν έχει διερευνηθεί. Επομένως, θα προσπαθήσουμε να διαπιστώσουμε εάν και κατά πόσο

υπάρχει σχέση μεταξύ της λεπτίνης και της πορείας - βαρύτητας της άνοιας τύπου Alzheimer, καθώς επίσης και την ανάδειξη οποιασδήποτε σχέσης ανάμεσα στη λεπτίνη και στην θυρεοειδοτρόπο ορμόνη (TSH), στην κορτιζόλη (compound F) και στην προλακτίνη (PRL) σε άτομα με νόσο Alzheimer.

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

1. ΕΠΙΛΟΓΗ ΑΤΟΜΩΝ

α) Στη μελέτη συμπεριλήφθησαν ασθενείς που παρακολουθούνται στα Ε.Ι. της Νευρολογικής κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας. Επίσης έγινε συλλογή υγιών ατόμων με παρόμοια με τους ασθενείς ηλικία, φύλλο, δείκτη μάζας σώματος και τόπο κατοικίας (αγροτικός – αστικός). Οι υγιείς μάρτυρες συλλέχθηκαν από τα Ε.Ι. της Νευρολογικής κλινικής και της Ενδοκρινολογικής κλινικής όπου προσήλθαν για άλλη αιτία και δεν πληρούσαν τα κριτήρια για νόσο Alzheimer.

β) Χρησιμοποιήθηκαν έγκυρα διαγνωστικά κριτήρια για τη διάγνωση της νόσου Alzheimer όπως περιγράφηκαν αναλυτικά στο γενικό μέρος. Συγκεκριμένα οι ασθενείς πληρούσαν τα κριτήρια DSM-IV κριτήρια για εκφυλιστική άνοια και τα κριτήρια για πιθανή νόσο Alzheimer του Εθνικού Ιδρύματος Νευρολογικών διαταραχών και Εγκεφαλικών του Συλλόγου για τη Νόσο Alzheimer και σχετικών διαταραχών των Η.Π.Α. (NINDS-ADRDA) (McKhann et al 1984). Οι ασθενείς της μελέτης για να συμπεριληφθούν στη μελέτη έπρεπε να παρουσιάσουν σταδιακή απώλεια μνήμης και μίας ακόμη ανώτερης νοητικής λειτουργίας, απουσία άλλης συνυπάρχουσας νοσολογίας

η οποία θα μπορούσε να συμβάλλει δυνητικά στην παραπάνω συμπτωματολογία, φυσιολογικά επίπεδα βιταμίνης B12, θυρεοειδικών ορμονών και αρνητική εξέταση για HIV, σύφιλη και φυσιολογικό βιοχημικό έλεγχο. Όλοι οι ασθενείς της μελέτης είχαν απεικονιστικό έλεγχο με αξονική ή μαγνητική τομογραφία στις οποίες πλην των εκφυλιστικών αλλοιώσεων και της ατροφίας απουσίαζε άλλη παθολογία που να παραπέμπει σε άλλη νοσολογική οντότητα (π.χ. όγκος, HIV, υδροκεφαλία).

γ) Από τη μελέτη σύμφωνα με τα κριτήρια DSM-IV και NINDS-ADRDA αποκλείστηκαν άτομα με λοιμώδη νοσήματα, με συστηματικά κακοήθη νοσήματα, ενδοκρινολογικές και μεταβολικές νόσους, ασθενείς με κατάθλιψη, ιστορικό σχιζοφρένειας, σχιζοσυναισθηματικές διαταραχές πριν από την εμφάνιση της άνοιας, και ασθενείς με νευρολογικές παθήσεις αγγειακής αιτιολογίας, άνοια ή εγκεφαλοπάθεια οφειλόμενη σε άλλες νευρολογικές ή παθολογικές καταστάσεις (σκλήρυνση κατά πλάκας, νόσος Parkinson, παρκινσονισμός, άνοια με σωμάτια Lewy, AEE, τραύμα, χωροκατακτητική εξεργασία, λοίμωξη εγκεφάλου, αβιταμινώσεις). Επίσης οποιαδήποτε κλινική υποψία ή πλήρωση των κριτηρίων της μετωποκροταφικής άνοιας αποτελούσε κριτήριο αποκλεισμού.

2. ΣΥΓΚΑΤΑΘΕΣΗ

Η συμμετοχή των ατόμων που συμμετείχαν στη έρευνα ήταν εθελοντική και απαιτούνταν η ενυπόγραφη συγκατάθεση των ιδίων και του κοντινότερου συγγενικού τους προσώπου για το λόγο ότι οι ίδιοι ενδεχομένως

δεν κατανοούσαν τους σκοπούς της μελέτης λόγω της πνευματικής τους κατάστασης.

3. ΕΜΠΙΣΤΕΥΤΙΚΟΤΗΤΑ

Η μελέτη που έγινε δεσμεύει τον ερευνητή, ο οποίος δηλώνει υπεύθυνα πως μόνο ο ίδιος καθώς και η τριμελής επιτροπή που επιβλέπει την πορεία της έρευνάς του θα έχει πρόσβαση στα προσωπικά δεδομένα των ασθενών και στα στοιχεία που προέκυψαν.

4. ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ ΑΓΩΓΗΣ

Έγινε καταγραφή της φαρμακευτικής αγωγής που ελάμβαναν οι ασθενείς. Επίσης καταγράφηκε η λήψη ή όχι αντιψυχωσικών φαρμάκων κλασσικών ή άτυπων. Στην πρώτη κατηγορία ανήκουν κυρίως τα παράγωγα της φαινοθειαζίνης που είναι τα αλειφατικά παράγωγα (χλωροπρομαζίνη, λεβομεπρομαζίνη), τα πιπεριδινικά και τα πιπεραζινικά (τριφθοριοπεραζίνη), τα παράγωγα της βουτυροφαινόνης (αλοπεριδόλη, πιπαμπερόνη), τα παράγωγα της διφαινυλοβουτυλοπιπεριδίνης (πιμοζίδη, πενφλουριδόλη), τα παράγωγα του θειοξανθενίου (ζουκλοπενθιξόλη) και οι υποκατεστημένες βενζαμίδες (σουλπιρίδη, τιαπρίδη). Στη δεύτερη κατηγορία περιλαμβάνονται τα άτυπα αντιψυχωσικά αμισουλπρίδη, αριπιπραζόλη, κλοζαπίνη, ολανζαπίνη, κουετιαπίνη, ρισπεριδόνη, ζιπρασιδόνη, σερτινδόλη και ζοτεπίνη.

Με βάση την αντιψυχωσική αγωγή οι ασθενείς με άνοια χωρίστηκαν σε δύο υποκατηγορίες, ανάλογα με το αν λάμβαναν αντιψυχωσική αγωγή ή όχι.

Η καταγραφή της αγωγής περιλάμβανε τη φαρμακευτική ουσία που ελάμβαναν και στο χρονικό διάστημα για το οποίο την ελάμβαναν.

5. ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΔΗΜΟΓΡΑΦΙΚΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

Στο δείγμα έγινε καταγραφή διάφορων δημογραφικών δεδομένων συμπεριλαμβανομένων του φύλου, της ηλικίας, του βάρους, του δείκτη μάζας σώματος (BMI), της κατανάλωσης αλκοόλ και του καπνίσματος. Όσον αφορά το κάπνισμα το δείγμα χωρίστηκε σε τρεις ομάδες: στους εν ενεργεία καπνιστές, στους πρώην καπνιστές και στους μη καπνιστές. Επίσης καταγράφηκε αν το δείγμα μας είχε ιστορικό αρτηριακής υπέρτασης, σακχαρώδη διαβήτη, υπερλιπιδαιμίας και στεφανιαίας νόσου.

6. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΒΑΡΥΤΗΤΑΣ ΝΟΗΤΙΚΗΣ ΕΚΠΤΩΣΗΣ

Προκειμένου να γίνει μία αδρή εκτίμηση της βαρύτητας της νοητικής έκπτωσης και της νοητικής επίδοσης, χρησιμοποιήθηκε το Mini Mental State Examination (MMSE).

Το mini –mental state examination (MMSE) ή αλλιώς Folstein test είναι ένα σύντομο τεστ 30 ερωτήσεων που χρησιμοποιείται για την εκτίμηση της σοβαρότητας της γνωστικής βλάβης σε μία χρονική στιγμή και για την παρακολούθηση της πορείας των γνωστικών αλλαγών σε ένα άτομο με το πέρασμα του χρόνου, καθιστώντας το με τον τρόπο αυτό ένα χρήσιμο εργαλείο στην καταγραφή της πορείας της νόσου και της απάντησης ενός ασθενή στη θεραπεία.

Σε χρονικό διάστημα 10 λεπτών μας δίνει μία εικόνα διάφορων πνευματικών λειτουργιών όπως ο προσανατολισμός, η εγχάραξη και η καταγραφή για την άμεση μνήμη, η ανάκληση για τον έλεγχο της πρόσφατης μνήμης, η συγκέντρωση και η εκτίμηση για πιθανή αφασία, αγνωσία, απραξία με την εξέταση της κατονομασίας, της επανάκλησης προτάσεων, την αυτόματη γραφή, την εκτέλεση οπτικών και ακουστικών εντολών και την εκτίμηση των οπτικοχωρικών λειτουργιών με την αντιγραφή σχημάτων δύο διαστάσεων. Το χρησιμοποιούμενο στην κλινική πράξη MMSE βασίζεται στο αρχικό πρότυπο του 1975, με μικρές μόνο αλλαγές από τους συγγραφείς.

Αν και η επαναλαμβανόμενη διατύπωση πανομοιότυπων ερωτήσεων αυξάνει την αξιοπιστία των συγκρίσεων που γίνονται χρησιμοποιώντας την κλίμακα, το τεστ πολλές φορές εξατομικεύεται (για παράδειγμα για ασθενείς που είναι τυφλοί ή μερικώς ακινητοποιημένοι. Επίσης κάποιοι έχουν θέσει θέμα χρήσης του τεστ σε ασθενείς με απώλεια ακοής). Μολαταύτα, ο αριθμός των σημείων που αντιστοιχούν ανά κατηγορία είναι συνήθως σταθερός και φαίνεται ακολούθως:

Κατηγορία	Πιθανά σημεία	Περιγραφή
Προσανατολισμός στο χρόνο	5	Από το πιο γενικό στο πιο ειδικό. Ο προσανατολισμός στο χρόνο σχετίζεται με μελλοντική έκπτωση.
Προσανατολισμός στον τόπο	5	Από το πιο γενικό στο πιο ειδικό. Μερικές φορές φτάνει έως και ονόματα δρόμων και

επίπεδο ορόφων.

Εγγραφή	3	Άμεση επανάληψη ονομάτων
Προσοχή & παρακολούθηση	5	Διαδοχική αφαίρεση του 7 ή συλλαβισμός λέξεων ανάποδα. Έχει προταθεί ότι η δοκιμασία serial sevens είναι πιο χρήσιμη σε πληθυσμούς όπου τα Αγγλικά δεν είναι η πρώτη γλώσσα.
Μνήμη	3	Ανάκληση εγγραφής
Γλώσσα	2	Ονοματισμός μολυβιού και ρολογιού
Επανάληψη	1	Λεκτική επανάληψη μίας πρότασης
Σύνθετες εντολές	6	Διαφέρει. Μπορεί να περιλαμβάνει το σχεδιασμό μιας εικόνας που έχουμε δείξει.

Με βάση διάφορες πληθυσμιακές μελέτες και σταθεροποίηση των ερωτηματολογίων σε Ελληνικό πληθυσμό, βαθμολογία άνω ή ίσο του 25 (από το 30) θεωρείται φυσιολογικό. Κάτω από αυτή το όριο, η βαθμολογία μπορεί να υποδεικνύει σοβαρή (≤ 9), μέτρια (10 -20 βαθμούς ή ήπια έκπτωση (21 -24 βαθμούς). Η βαθμολογία μπορεί επίσης να χρειάζεται να διορθωθεί λόγω αντικειμενικών δυσκολιών του ασθενή και της ηλικίας του. Χαμηλό έως πολύ χαμηλό σκορ σχετίζεται με την παρουσία άνοιας, αν και άλλες πνευματικές διαταραχές μπορεί επίσης να σχετίζονται με παθολογικά ευρήματα στο MMSE τεστ. Η παρουσία άλλων καθαρά σωματικών προβλημάτων του ασθενή μπορεί επίσης να σχετίζεται με μη σωστή αξιολόγηση του αποτελέσματος όπως πχ. ο ασθενής μπορεί να είναι σωματικά ανίκανος να ακούσει ή να διαβάσει τις οδηγίες ορθά ή μπορεί να

έχει μία κινητική δυσλειτουργία που μπορεί να επηρεάζει τη γραφή και τη σχεδιαστική του ικανότητα.

7. ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΑΙΜΑΤΟΣ

Για τη μέτρηση των ορμονικών και ανοσολογικών δεικτών της μελέτης πραγματοποιήθηκε αιμοληψία με λήψη περίπου 15cc αίματος. Αυτή γινόταν τις πρωινές ώρες (8-10 π.μ) για το λόγο ότι οι ορμονολογικοί δείκτες μεταβάλλονται με το πέρασμα της ημέρας και μπορεί να μας δώσουν διαφορετικά αποτελέσματα. Το αίμα συλλεγόταν σε ξηρά φιαλίδια. Στη συνέχεια γινόταν η φυγοκέντρωση των δειγμάτων στις 3.500 στροφές για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και η παραλαβή του ορού. Αυτός κατόπιν τοποθετείτο σε βαθιά ψύξη (-80°C) για να επιτευκτεί η καλύτερη δυνατή διατήρηση των βιοχημικών και ορμονολογικών δεικτών. Το χρονικό διάστημα από την αιμοληψία μέχρι και την τοποθέτηση του ορού στο ψυγείο δεν ξεπερνούσε τα 30 λεπτά, για να μην αλλοιωθούν οι δείκτες που επρόκειτο να μετρηθούν.

8. ΜΕΤΡΗΣΗ ΟΡΜΟΝΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ

Μετά την συγκέντρωση ολόκληρου του πληθυσμού της μελέτης που αποτελείτο από 90 ασθενείς και 95 μάρτυρες, ακολούθησε η διαδικασία μέτρησης των ορμονικών και ανοσολογικών δεικτών. Συγκεκριμένα, έγινε απόψυξη του αποθηκευμένου ορού αργά σε θερμοκρασία δωματίου.

Ο υπολογισμός των ορμονικών δεικτών θυρεοειδοτρόπου ορμόνης – TSH, προλακτίνης – PRL και κορτιζόλης – compound F έγινε με την ανοσολογική μέθοδο ηλεκτροχημειοφωταύγειας ECLIA. Η μέθοδος αυτή

χρησιμοποιήθηκε στον ανοσολογικό αναλυτή MODULAR ANALYTICS E170 της εταιρίας ROCHE. Τα πλεονεκτήματα της μεθόδου αυτής είναι ότι διαθέτει μεγάλη γραμμικότητα χωρίς αραίωση δείγματος, αυξημένη ευαισθησία στις χαμηλές τιμές και μικρούς χρόνους επώασης. Η διαδικασία της μεθόδου περιελάμβανε τα εξής: Το αντιγόνο που βρίσκεται στο δείγμα σχηματίζει ένα σύμπλοκο τύπου sandwich με δύο αντισώματα. Το πρώτο είναι ένα ειδικό βιοτυνυλο – μονοκλωνικό αντίσωμα για το συγκεκριμένο ορμονικό δείκτη που μετράμε κάθε φορά και το δεύτερο είναι ένα μονοκλωνικό αντίσωμα για την συγκεκριμένη ορμόνη, επισημασμένο όμως με ρουθίνιο. Στη συνέχεια στο δείγμα προστίθενται ειδικά μικροσωματίδια που έχουν επάνω τους δεσμευμένη στρεπταβιδίνη. Το σύμπλοκο του δείγματος με τα δύο αντισώματα δεσμεύεται στα μικροσωματίδια μέσω δέσμευσης της βιοτίνης στη στρεπταβιδίνη. Το μίγμα τοποθετείται στη συνέχεια στην κλεψύδρα μέτρησης όπου μέσω μαγνητικών δυνάμεων τα μικροσωματίδια έλκονται και δεσμεύονται στο ηλεκτρόδιο. Εν συνεχεία η κλεψύδρα ξεπλένεται με ρυθμιστικό διάλυμα για την απομάκρυνση των μη δεσμευμένων συστατικών του μίγματος. Η εφαρμογή τάσης στη συνέχεια στο ηλεκτρόδιο επάγει την εκπομπή χημειοφωταύγειας η οποία μετράται από έναν φωτοπολλαπλασιαστή και τα αποτελέσματα υπολογίζονται βάση καμπύλης αναφοράς. Θα πρέπει να υπογραμμιστεί ότι η μέθοδος δεν επηρεάζεται από την αυξημένη παρουσία στον ορό χολερυθρίνης, αιμόλυσης ή λιπαιμίας.

Η ποσοτικοποίηση της λεπτίνης έγινε ανοσοενζυμικά με μέθοδο ELISA. Συγκεκριμένα, ένα μονοκλωνικό αντίσωμα ειδικό για τη λεπτίνη προσροφήθηκε σε μία μικροπλάκα. Τα δείγματα των μαρτύρων και των ασθενών εν συνεχεία μέσω μιας πιπέτας μεταφέρονταν στα πηγαδάκια και η

λεπτίνη που ήταν παρούσα συνδέονταν με το αντίσωμα. Αφού ξεπλύθηκε κάθε ελεύθερη ουσία, ένα ενζυμικά συνδεδεμένο μονοκλωνικό αντίσωμα ειδικό για τη λεπτίνη προστέθηκε στα πηγαδάκια. Έγινε ξέπλυμα ξανά για να αποβληθεί κάθε ασύνδετη αντίσωμα – ενζυμική ουσία και προστέθηκε ένα διάλυμα υποστρώματος με αποτέλεσμα να προκύψει χρώση σε αναλογία με το ποσό της λεπτίνης που ήταν συνδεδεμένη στο αρχικό βήμα. Η ανάπτυξη του χρώματος σταματούσε και μετρούνταν η ένταση του χρώματος.

Το εύρος των φυσιολογικών τιμών για τις ορμόνες κορτιζόλη (compound F), TSH και PRL ήταν:

Compound F: 6,2 – 19,4μg/dl (πρωί)

TSH: 0,55 – 4,78μIU/ml

PRL: 2,1 – 17,7ng/ml

9. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια του στατιστικού πακέτου SPSS 15.0 . Το επίπεδο σημαντικότητας τέθηκε στο $\alpha=0.05$ για δίπλευρους ελέγχους. Δεν πραγματοποιήθηκε διόρθωση κατά Bonterroni. Έτσι, λόγω του μεγάλου πλήθους στατιστικών ελέγχων που πραγματοποιήθηκαν τιμές σημαντικότητας μεταξύ 0.01 και 0.05 θεωρήθηκαν οριακά σημαντικές.

Υπολογίστηκαν περιγραφικά στατιστικά μέτρα. Εφαρμόστηκε ο έλεγχος Shapiro-Wilk για την αξιολόγηση της υπόθεσης ότι τα δεδομένα για τις καταγεγραμμένες ποσοτικές μεταβλητές ακολουθούν την κανονική κατανομή. Εφαρμόστηκε το t-test για τη σύγκριση μεταξύ μέσων τιμών ποσοτικών

μεταβλητών (π.χ. εργαστηριακών μετρήσεων). Εφαρμόστηκαν επίσης οι μη-παραμετρικοί έλεγχοι Wilcoxon-Mann-Whitney και Kruskal-Wallis για τη σύγκριση μεταξύ ποσοτικών μετρήσεων σε δύο και σε τρεις ομάδες αντίστοιχα. Για τον υπολογισμό των συσχετίσεων μεταξύ ποσοτικών ή ποιοτικών διατεταγμένων μεταβλητών υπολογίστηκε ο συντελεστής συσχέτισης κατά Pearson ρ .

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

ΔΗΜΟΓΡΑΦΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

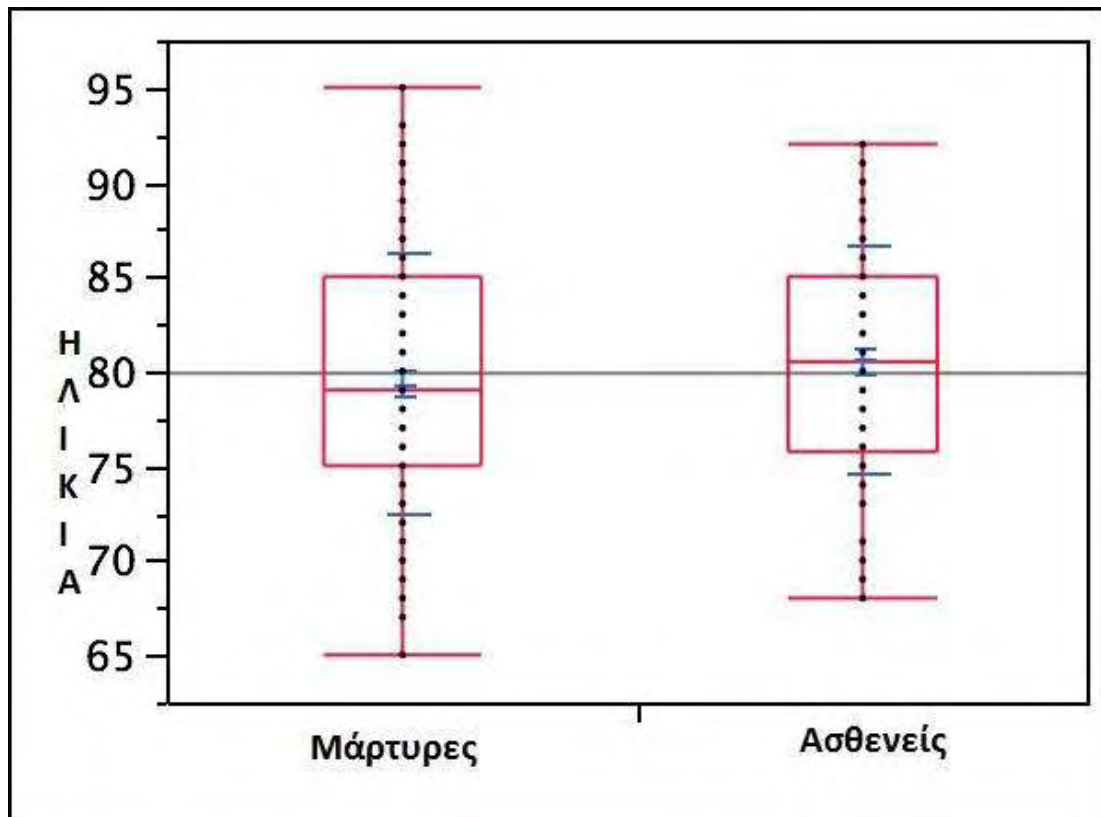
Έγινε αρχικά ανάλυση των διαφόρων δημογραφικών χαρακτηριστικών του δείγματος. Συλλέχθηκαν συνολικά 90 ασθενείς με νόσο Alzheimer και 95 φυσιολογικοί μάρτυρες.

Ηλικία: Η ηλικιακή κατανομή των ασθενών και των μαρτύρων φαίνονται στον πίνακα 1 και στο γράφημα 1. Στην ομάδα των ασθενών το νεότερο άτομο ήταν 68 ετών και το γηραιότερο ήταν 92 ετών, ενώ στην ομάδα των μαρτύρων ήταν 65 ετών και 95 ετών αντίστοιχα.

Τα χαρακτηριστικά της ηλικίας των ομάδων του δείγματος είναι τα παρακάτω:

Ομάδες	N	Min(yrs)	Max(yrs)	Mean(yrs)	SD	p-value (t-test)
Alzheimer	90	68	92	80,53	6,03	p=0,186 (ns)
Μάρτυρες	95	65	95	79,27	6,86	

Πίνακας 1. Ηλικιακή κατανομή των ομάδων του δείγματος και σύγκριση μεταξύ τους



Γράφημα 1. Σύγκριση της ηλικίας μεταξύ των ασθενών με Alzheimer και των μαρτύρων.

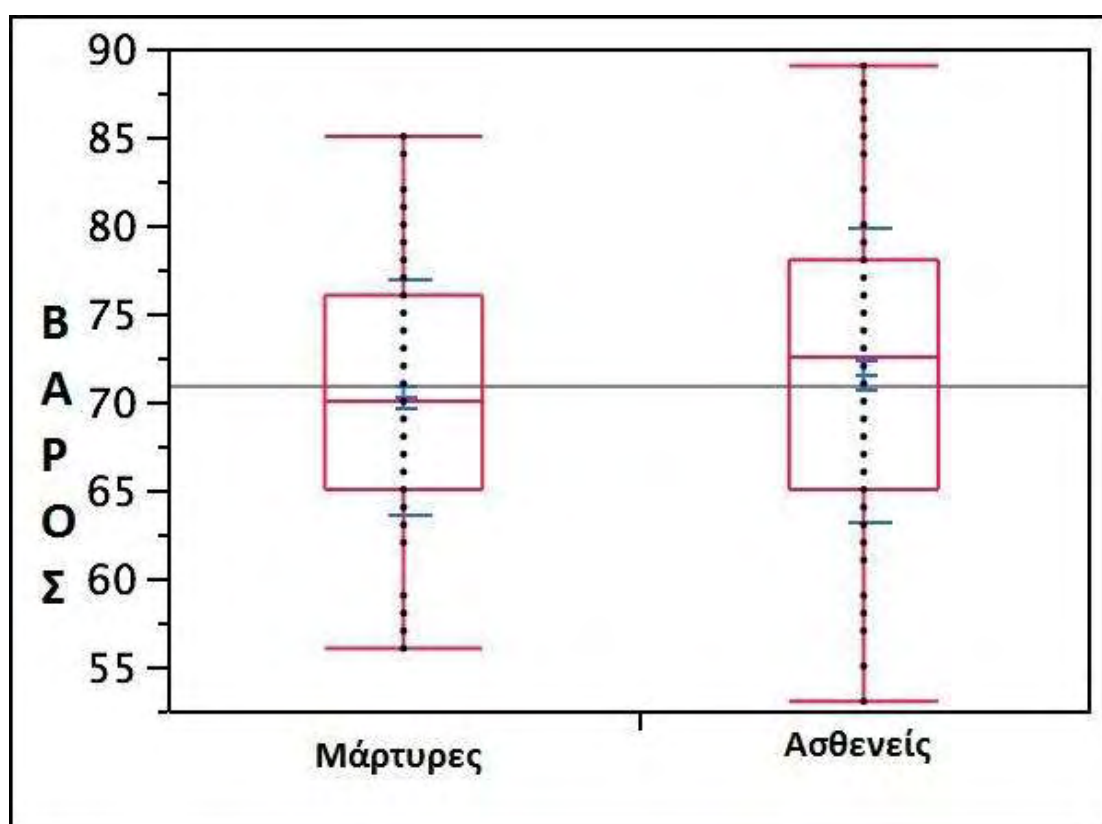
Η σύγκριση ασθενών και μαρτύρων ως προς την ηλικία με τη χρήση του t-test έδειξε ότι δεν παρουσίαζαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p=0,186$).

Σωματικό βάρος: Η κατανομή του σωματικού βάρους στους ασθενείς και στους μάρτυρες φαίνονται στον πίνακα 2 και στο γράφημα 2. Στην ομάδα των ασθενών το ελαφρύτερο άτομο ζύγιζε 53 κιλά και το βαρύτερο 89, ενώ στην ομάδα των μαρτύρων ήταν 56 και 85 κιλά αντίστοιχα.

Τα χαρακτηριστικά του βάρους των ομάδων του δείγματος είναι τα παρακάτω:

Ομάδες	N	Min(Kgr)	Max(Kgr)	Mean(Kgr)	SD	p-value (t-test)
Alzheimer	90	53	89	71,49	8,33	p=0,262(ns)
Μάρτυρες	95	56	85	70,23	6,73	

Πίνακας 2. Κατανομή του βάρους στις ομάδες του δείγματος και σύγκριση μεταξύ τους



Γράφημα 2. Το βάρος δεν παρουσιάζει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ασθενών και των μαρτύρων.

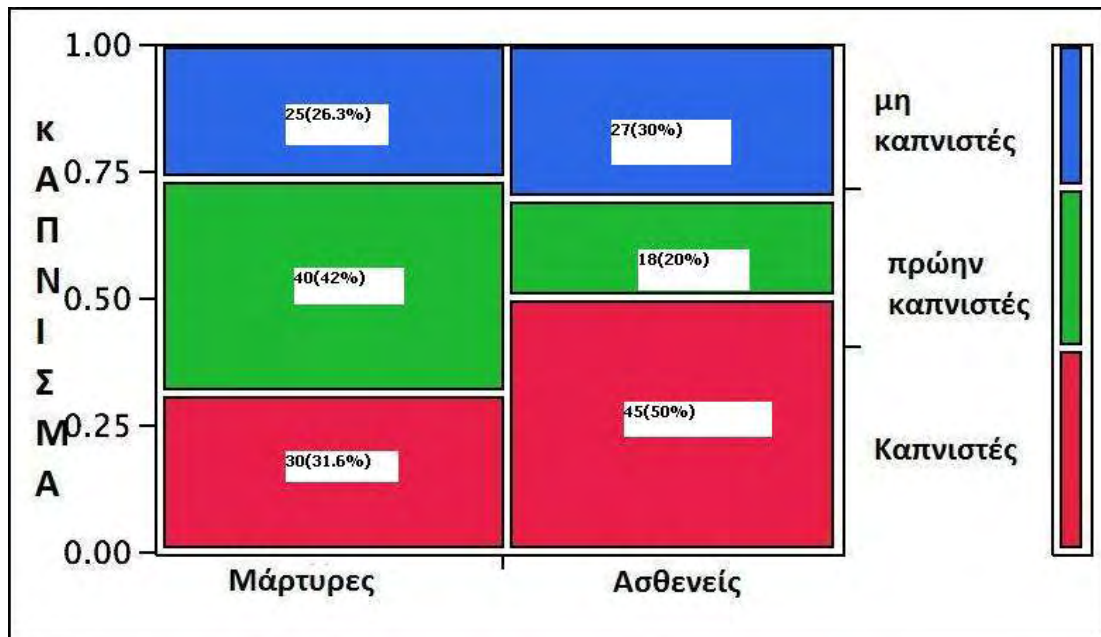
Η σύγκριση ασθενών και μαρτύρων ως προς το σωματικό βάρος με τη χρήση του t-test έδειξε ότι δεν παρουσίαζαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (p=0,262).

Παρόμοια ανάλυση (t-test) έγινε και όσον αφορά το δείκτη μάζας-σώματος (BMI) μεταξύ των δύο ομάδων χωρίς να προκύψει κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά ($p=0,323$).

Κάπνισμα: Στις δύο ομάδες του δείγματος φάνηκε ότι οι ασθενείς με νόσο του Alzheimer κάπνιζαν σε υψηλότερο ποσοστό από ότι οι υγιείς μάρτυρες ($p=0,004$, $df=2$), καθώς επίσης και ότι οι υγιείς ήταν σε σημαντικά μεγαλύτερο ποσοστό πρώην καπνιστές. Για τη σύγκριση αυτή χρησιμοποιήθηκε η στατιστική δοκιμασία χ^2 . Τα αποτελέσματα αυτά απεικονίζονται στο στον πίνακα 3 και στο γράφημα 3.

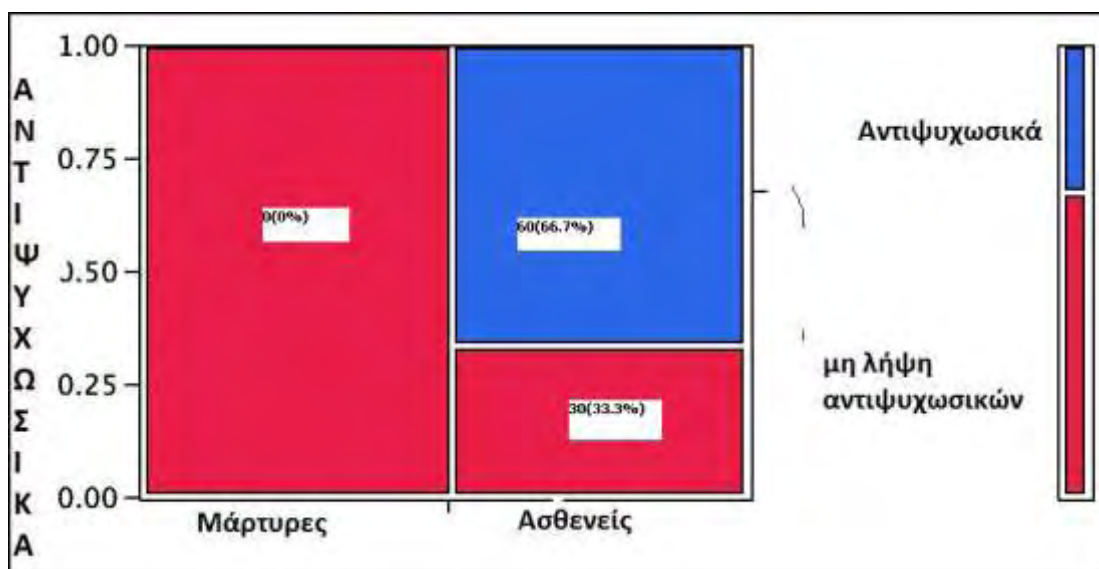
Ομάδες	N	Καπνιστές n(%)	Πρώην καπνιστές n(%)	Μη καπνιστές n(%)	p-value <u>chi-square</u>
Alzheimer	90	45(50%)	18(20%)	27(30%)	p=0,004
Controls	95	30(31,6%)	40(42,1%)	25(26,3%)	

Πίνακας 3. Ποσοστά καπνίσματος στους ασθενείς με Alzheimer και στους υγιείς μάρτυρες και σύγκριση μεταξύ των δύο ομάδων.



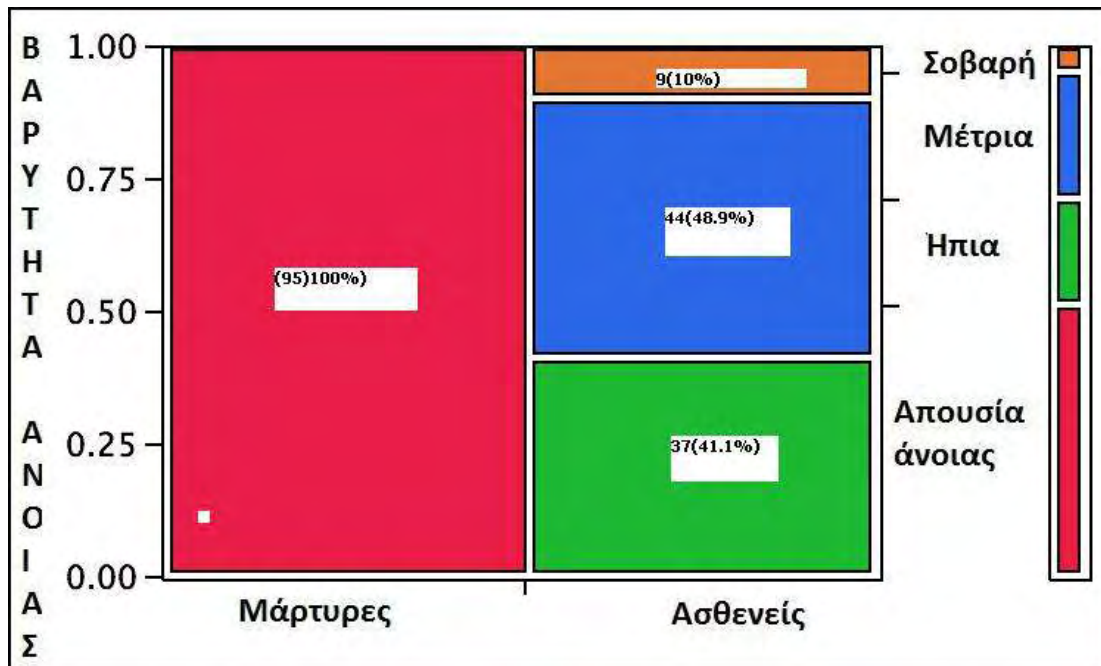
Γράφημα 3. Οι ασθενείς με νόσο του Alzheimer κάπνιζαν σε υψηλότερο ποσοστό από ότι οι υγιείς μάρτυρες

Λήψη αντιψυχωσικής αγωγής: Επίσης, καταγράφηκε η λήψη αντιψυχωσικής αγωγής. Οι μάρτυρες δεν ελάμβαναν αντιψυχωσικά φάρμακα, ενώ από τους ασθενείς με Alzheimer 60 άτομα ελάμβαναν αντιψυχωσικά (66,7%), ενώ 30 άτομα όχι (33,3%) (γράφημα 4).



Γράφημα 4. Ποσοστό των ατόμων που ελάμβανε αντιψυχωσικά φάρμακα.

Βαρύτητα άνοιας με βάση το MMSE: Στην ομάδα των ασθενών η βαρύτητα της άνοιας διέφερε. Έτσι, με βάση το αποτέλεσμα που έδωσαν στο Mini Mental State Examination, χωρίστηκαν σε τρεις ομάδες. Δηλαδή, σε αυτούς με ήπια (mild) άνοια, σε αυτούς με μέτρια άνοια (moderate) και σε αυτούς με βαριά άνοια (severe). Συγκεκριμένα, 37 άτομα εμφάνιζαν ήπια άνοια (41,1%), 44 άτομα εμφάνιζαν μέτρια άνοια (48,9%) και 9 άτομα εμφάνιζαν βαριά άνοια (10%) (γράφημα 5).



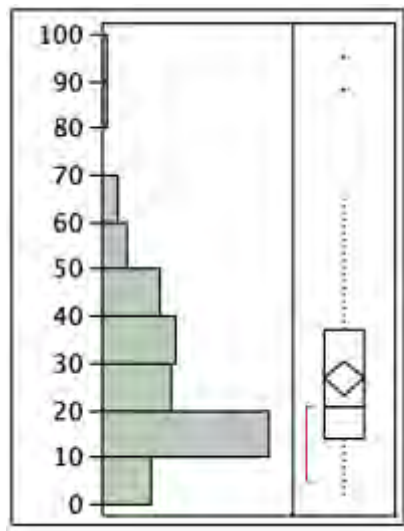
Γράφημα 5. Βαρύτητα της άνοιας στους ασθενείς με Alzheimer.

Επίπεδα λεπτίνης στη νόσο του Alzheimer: Η βασική υπόθεση της παρούσας διατριβής που ελέγχθηκε αφορά στην ύπαρξη διαφοράς στα επίπεδα λεπτίνης ανάμεσα στους ανοϊκούς με Alzheimer και στους υγιείς μάρτυρες. Οι τιμές της λεπτίνης στις δύο ομάδες δεν ακολουθούσαν την κανονική κατανομή. Αυτό παρουσιάζεται στους πίνακες 4 και 5 καθώς και στα γραφήματα 6 και 7, όπου αναγράφεται η κατανομή των τιμών. Χωρίζεται, δηλαδή, η κάθε ομάδα σε 4 ή 10 ίσες υποομάδες (min, 10%, 20%....90%, max) και αναγράφεται ο μέσος όρος των τιμών στην καθεμία από αυτές. Βρέθηκε, λοιπόν, ότι οι ασθενείς με Alzheimer είχαν σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα λεπτίνης σε σχέση με τους μάρτυρες ($p < 0,0001$, $Z = -5,348$). Η σύγκριση έγινε με τη στατιστική δοκιμασία Mann-Whitney U (πίνακας 4, γράφημα 8).

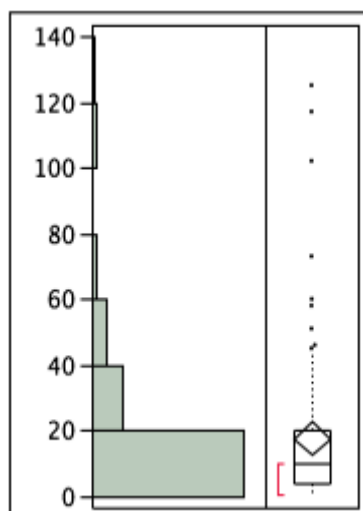
Quantiles

Level	Min	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum
Μάρτυρες	2	8.6	14	21	37	51.4	95
Alzheimer	0.5	2	4	10	20.25	44.9	125

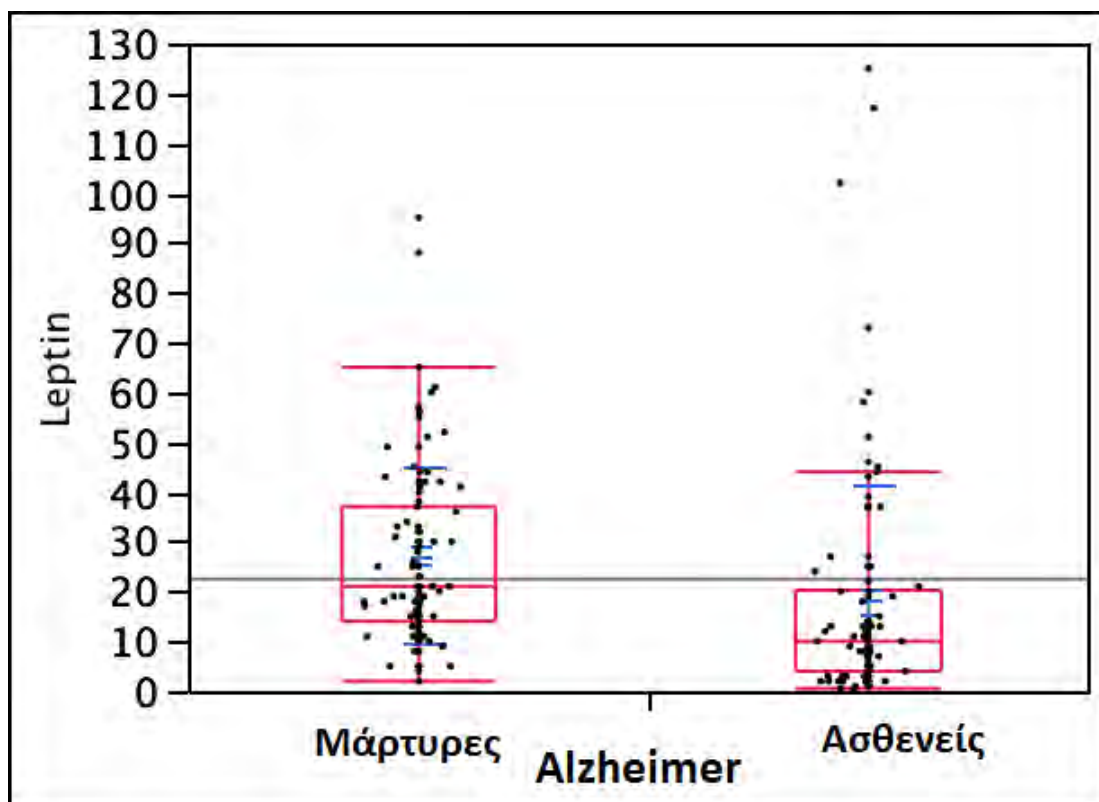
Πίνακας 4. Κατανομή των τιμών της λεπτίνης στους ασθενείς με Alzheimer και στους υγιείς μάρτυρες.



Γράφημα 6. Κατανομή των τιμών της λεπτίνης στους μάρτυρες.



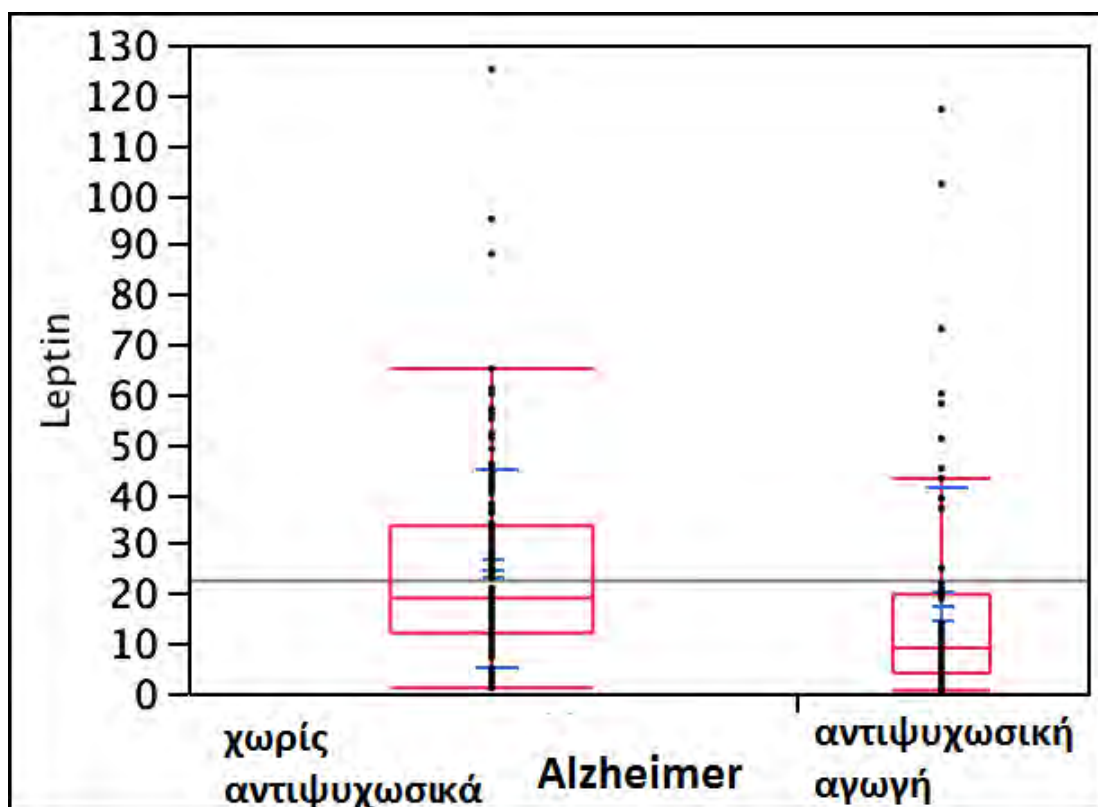
Γράφημα 7. Κατανομή των τιμών της λεπτίνης στους ασθενείς με Alzheimer



Γράφημα 8. Οι ασθενείς με Alzheimer είχαν χαμηλότερες τιμές λεπτίνης σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες.

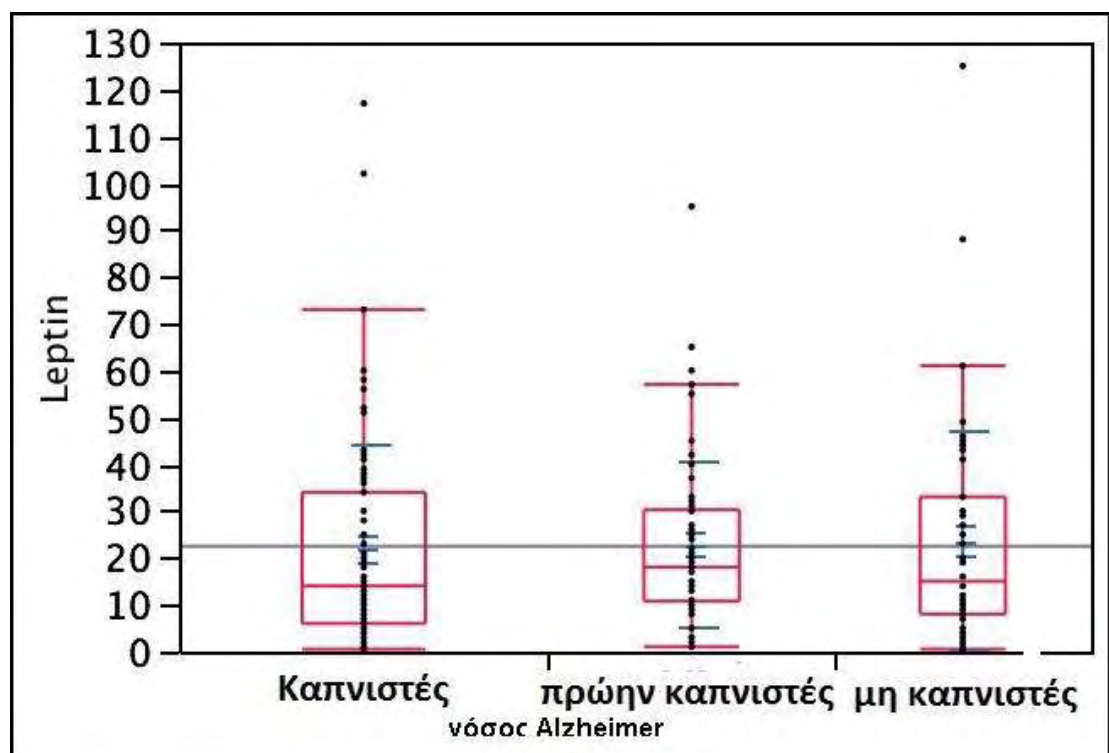
Στη συνέχεια εξετάστηκε αν τα επίπεδα της λεπτίνης στο δείγμα εξαρτώνται από άλλους παράγοντες όπως η λήψη αντιψυχωσικών φαρμάκων, το κάπνισμα, η ηλικία, το φύλο και το σωματικό βάρος.

Όσον αφορά τη λήψη αντιψυχωσικών στους ασθενείς με AD και τα επίπεδα λεπτίνης βρέθηκε ότι τα επίπεδα λεπτίνης ήταν σημαντικά χαμηλότερα στους ασθενείς με AD που ελάμβαναν αντιψυχωσική αγωγή. Δηλαδή, η λήψη αντιψυχωσικών φαρμάκων επηρέαζε τα επίπεδα λεπτίνης ($p < 0.0001$) (γράφημα 9). Χρησιμοποιήθηκε η στατιστική δοκιμασία Kruskal-Wallis.



Γράφημα 9. Οι τιμές της λεπτίνης ήταν χαμηλότερες σε όσους ελάμβαναν αντιψυχωσική αγωγή ($p < 0,0001$).

Επίσης, εξετάστηκε κατά πόσο το κάπνισμα επηρεάζει τα επίπεδα λεπτίνης. Το δείγμα χωρίστηκε σε τρεις ομάδες, στους καπνιστές, στους πρώην καπνιστές και στους μη καπνιστές. Βρέθηκε ότι το κάπνισμα δεν επηρεάζει τα επίπεδα λεπτίνης ($p=0,421$, $df=2$). Χρησιμοποιήθηκε η στατιστική δοκιμασία Kruskal-Wallis.



Γράφημα 10. Οι τιμές της λεπτίνης δε differed μεταξύ καπνιστών, πρώην καπνιστών και μη καπνιστών.

Στη συνέχεια ερευνήθηκε αν το σωματικό βάρος επηρεάζει τα επίπεδα λεπτίνης. Στο συνολικό δείγμα βρέθηκε ότι το βάρος δεν επηρεάζει τη συγκέντρωση της λεπτίνης ($p=0,085$, correlation coefficient=0,098). Για τις παραπάνω συγκρίσεις χρησιμοποιήθηκε η στατιστική δοκιμασία Spearman's correlation.

Επίσης, μελετήθηκε αν η ηλικία και το φύλο έχουν κάποια σχέση με τα επίπεδα λεπτίνης. Στο συνολικό δείγμα δεν βρέθηκε κάποια σχέση της ηλικίας ($p=0,185$) ή του φύλου ($p=0,983$) με τη λεπτίνη. Χρησιμοποιήθηκε η στατιστική δοκιμασία Spearman's correlation.

Ακολούθως εξετάστηκε η σχέση των επιπέδων της λεπτίνης σε σχέση με τους άλλους σημαντικούς παράγοντες για τη νόσο Alzheimer που αναδείχθηκαν στο δείγμα μας, δηλαδή το κάπνισμα και τη λήψη των αντιψυχωσικών φαρμάκων. Χρησιμοποιήθηκε το μοντέλο της λογιστικής παλινδρόμησης για να ελεγχθεί κατά πόσο τα επίπεδα της λεπτίνης είναι ανεξάρτητα προγνωστικών δεικτών για τη νόσο Alzheimer.

Για τις σημαντικές μεταβλητές που χαρακτηρίζουν ασθενείς και υγιείς (κάπνισμα, λήψη φαρμάκων) υπολογίστηκε το μοντέλο παρουσία της επίδρασης της λεπτίνης. Από την ανάλυση βρέθηκε ότι ήταν ανεξάρτητοι σημαντικοί παράγοντες στο πολυπαραγοντικό μοντέλο ($p<0.001$)

Παράγοντας	Nparm	DF	L-R ChiSquare	Prob>ChiSq
Κάπνισμα	2	2	4.99534466	0.0823
Φάρμακα	1	1	108.079901	<.0001*
Λεπτίνη	1	1	4.62054739	0.0316*

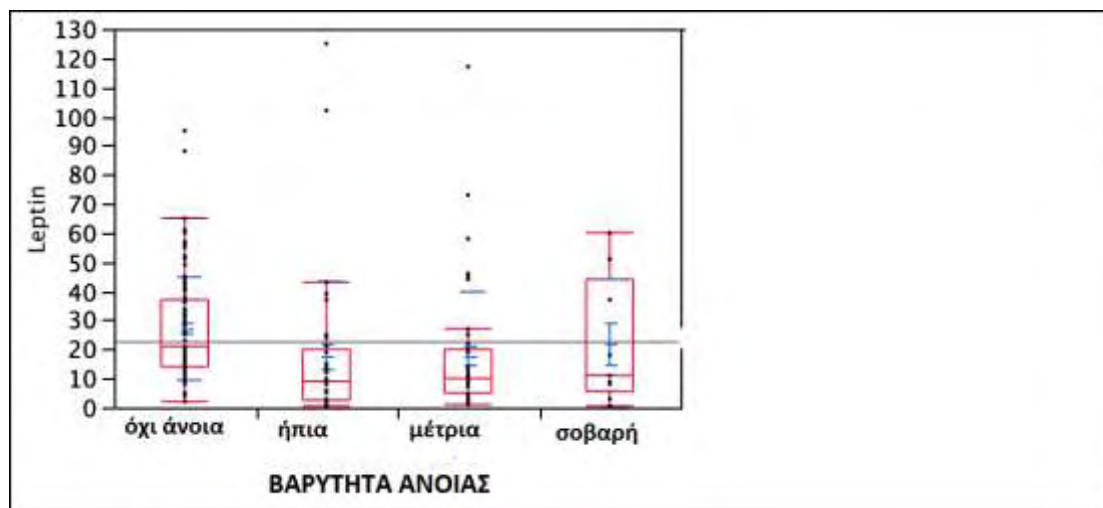
Πίνακας 5. Πολυπαραγοντικό μοντέλο

Η ηλικία, το φύλο και το σωματικό βάρος δεν επηρεάζουν αυτό το αποτέλεσμα καθώς δεν διαφέρουν μεταξύ ασθενών-υγιών στη μελέτη. Οι συνήθειες του καπνίσματος είναι οριακά μη σημαντικές ($p=0,08$).

Λεπτίνη και βαρύτητα της άνοιας

Μία άλλη παράμετρος που μελετήθηκε ήταν η βαρύτητα της άνοιας σε σχέση με τα επίπεδα λεπτίνης. Οι ασθενείς χωρίστηκαν και πάλι σε τρεις ομάδες ανάλογα με τη βαρύτητα της άνοιας (ήπια, μέτρια, σοβαρή). Χρησιμοποιήθηκε η στατιστική δοκιμασία Kruskal-Wallis.

Βρέθηκε ότι δεν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων λεπτίνης και της βαρύτητας της άνοιας με βάση τις κατηγορίες των MMSE ($p=0,640$, $df=2$, $\chi^2=0,894$) (γράφημα 11).



Γράφημα 11. Η βαρύτητα της άνοιας δεν επηρεάζει τα επίπεδα λεπτίνης.

Επίπεδα ορμονών στη νόσο του Alzheimer

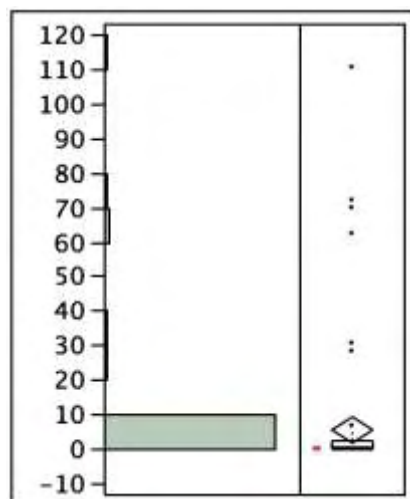
Ελέγχθηκαν τα επίπεδα TSH σε ασθενείς και μάρτυρες. Οι τιμές της TSH στις δύο ομάδες δεν ακολουθούσαν την κανονική κατανομή. Για το λόγο αυτό οι δύο ομάδες χωρίστηκαν σε 4 (πίνακας 6) ή σε 10 (γράφημα 12,13) ίσες υποομάδες και αναγράφεται ο μέσος όρος των τιμών στην καθεμία από

αυτές. Η σύγκριση έγινε με τη στατιστική δοκιμασία Mann-Whitney U. Από την ανάλυση δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις τιμές της μεταξύ των δύο ομάδων, ($p=0.414$, $Z=-0,816$). (γράφημα 14).

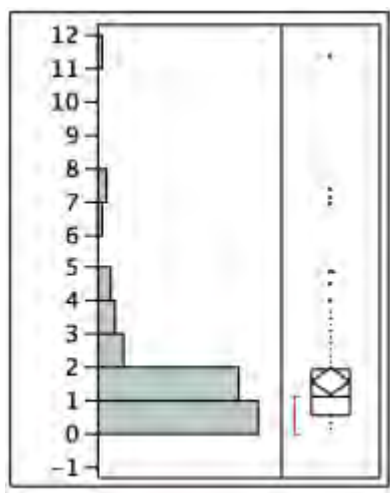
Quantiles

Level	Min	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum
Μάρτυρες	0.01	0.01	0.01	0.98	2.72	6.292	110.6
Alzheimer	0.01	0.01	0.59	1.11	1.93	3.742	11.34

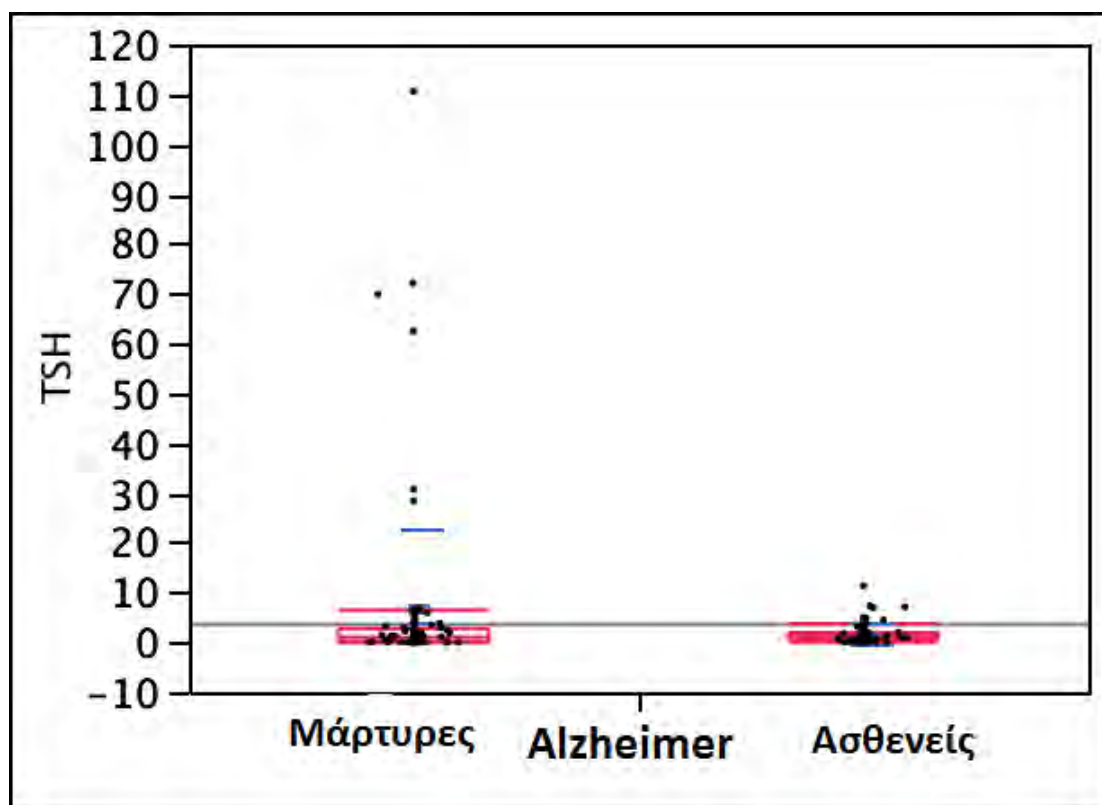
Πίνακας 6. Κατανομή των τιμών της TSH στους ασθενείς με Alzheimer και στους υγιείς μάρτυρες.



Γράφημα 12. Κατανομή των τιμών της TSH στους μάρτυρες.



Γράφημα 13. Κατανομή των τιμών της TSH στους ασθενείς με Alzheimer



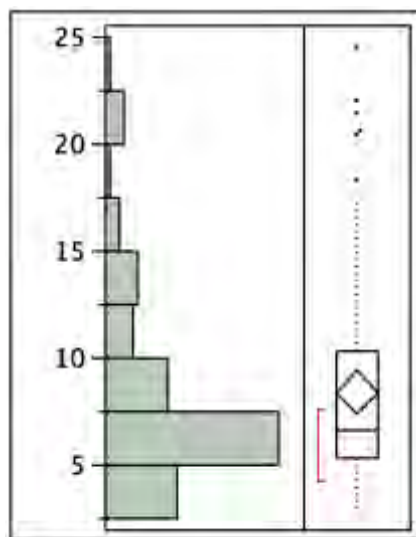
Γράφημα 14. Οι τιμές της TSH δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ των ασθενών και των μαρτύρων.

Αντίθετα, οι τιμές της προλακτίνης ήταν σημαντικά υψηλότερες στους ανοϊκούς ($p < 0.0001$, $Z = -3.758$). Η σύγκριση έγινε με τη στατιστική δοκιμασία Mann-Whitney U (πίνακας 7, γραφήματα 15,16,17).

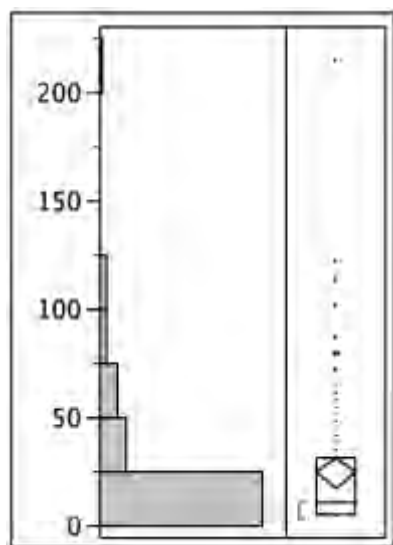
Quantiles

Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum
Μάρτυρες	2.7	4.07	5.3	6.6	10.325	15.75	24.5
Alzheimer	2.4	4.2	5.85	10.4	31.2	65.49	214.4

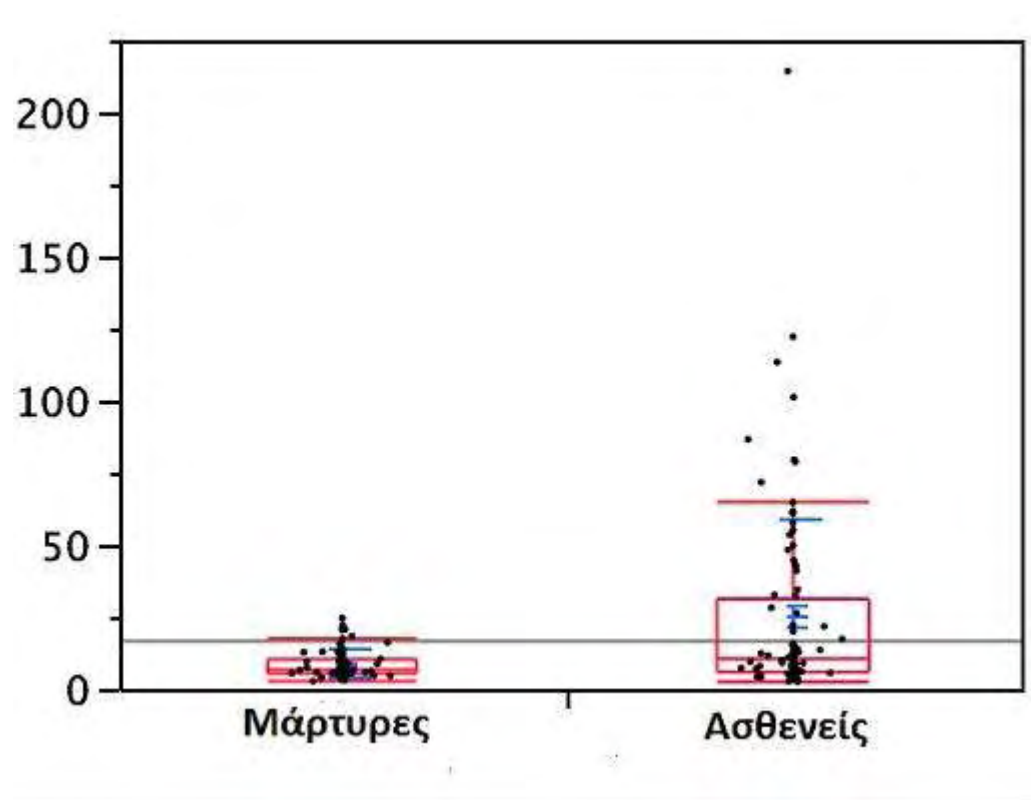
Πίνακας 7. Κατανομή των τιμών της προλακτίνης στους ασθενείς με Alzheimer και στους υγιείς μάρτυρες.



Γράφημα 15. Κατανομή των τιμών της προλακτίνης στους μάρτυρες.



Γράφημα 16. Κατανομή των τιμών της προλακτίνης στους ασθενείς με Alzheimer.



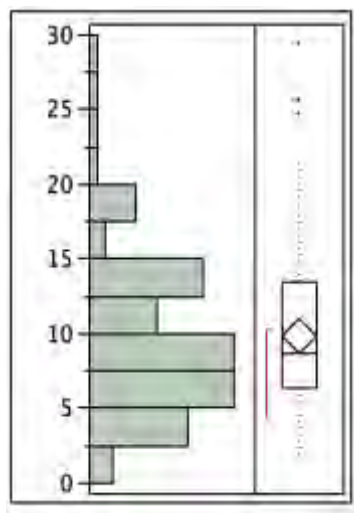
Γράφημα 17. Οι τιμές της προλακτίνης ήταν υψηλότερες στους ασθενείς με Alzheimer.

Παρόμοια, οι τιμές της κορτιζόλης ήταν σημαντικά υψηλότερες στους ασθενείς με Alzheimer ($p < 0.001$, $Z = -5.743$). Η σύγκριση έγινε με τη στατιστική δοκιμασία Mann-Whitney U (πίνακας 8, γραφήματα 18,19,20).

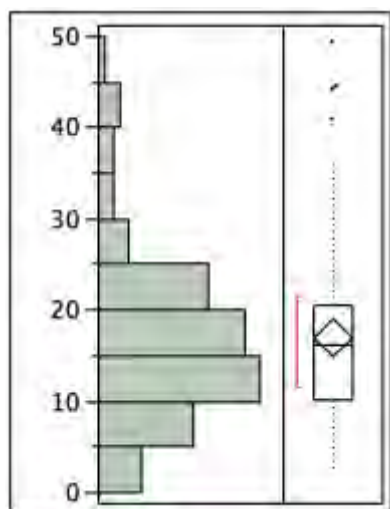
Quantiles

Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum
Μάρτυρες	1.5	3.54	6.375	8.75	13.525	17.96	29.4
Alzheimer	2.4	6.22	10.075	16.1	20.6	28.67	49.4

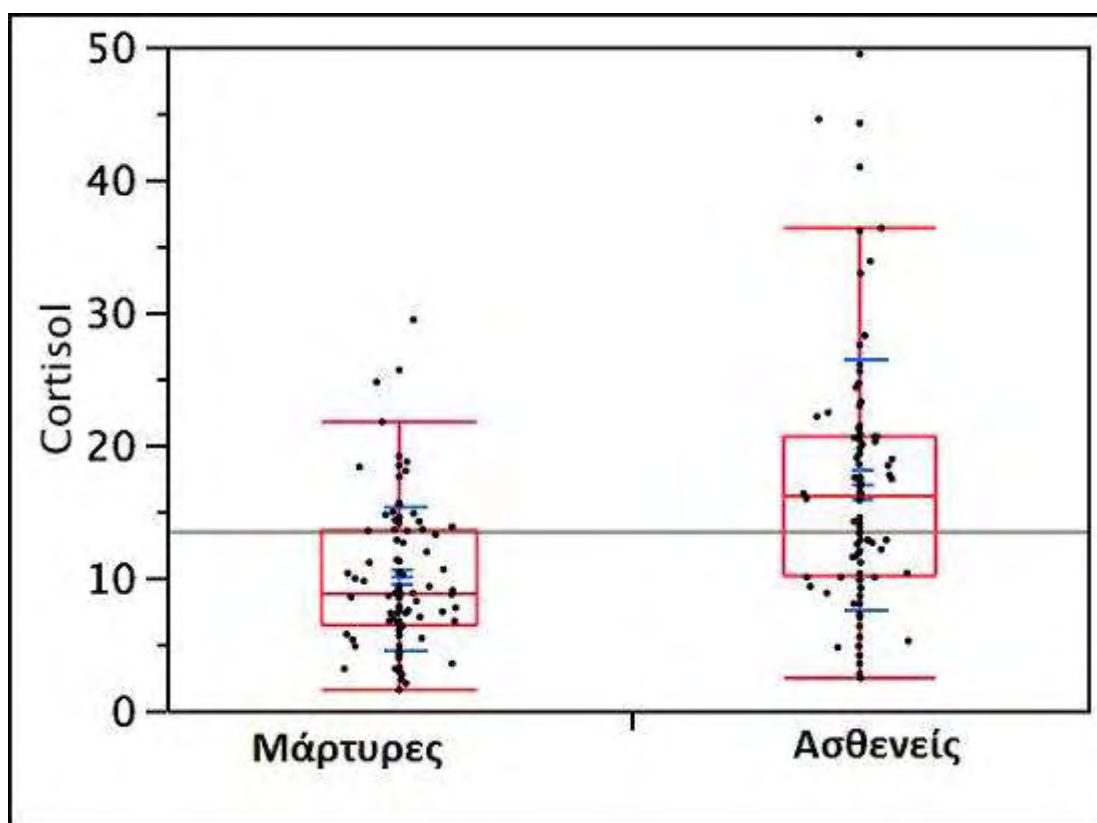
Πίνακας 8.



Γράφημα 18. Κατανομή των τιμών της κορτιζόλης στους μάρτυρες



Γράφημα 19. Κατανομή των τιμών της κορτιζόλης στους ασθενείς με Alzheimer.









Γράφημα 20. Οι τιμές της κορτιζόλης ήταν υψηλότερες στους ασθενείς με Alzheimer.

Έλεγχος συσχέτισης επιπέδων λεπτίνης με άλλες ορμόνες στη νόσο Alzheimer.

Επίσης στη μελέτη εξετάσθηκε η ύπαρξη πιθανής επίδρασης στα επίπεδα της λεπτίνης των άλλων ορμονών και συγκεκριμένα με τη θυρεοειδοτρόπο ορμόνη (TSH), την κορτιζόλη και την προλακτίνη στους ασθενείς με νόσο Alzheimer.

Η σύγκριση έγινε με τη βοήθεια της στατιστικής δοκιμασίας Spearman's correlation. Τα αποτελέσματα της σύγκρισης φαίνονται στον πίνακα 9.

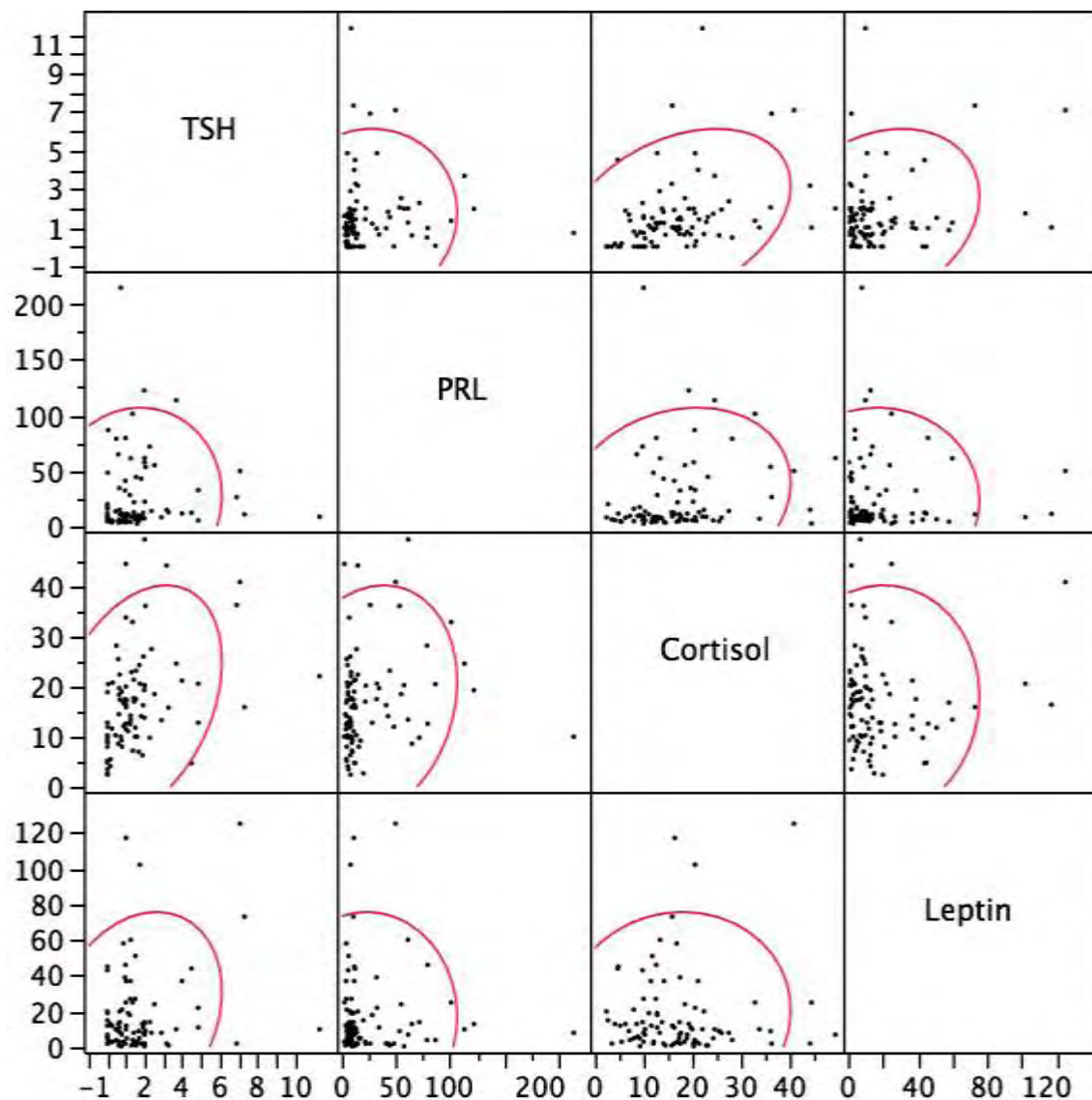
Variable	by Variable	Spearman ρ	Prob> ρ	Plot
PRL	TSH	0.2447	0.0224*	
Cortisol	TSH	0.4425	<.0001*	
Cortisol	PRL	0.2322	0.0305*	
Leptin	TSH	0.0581	0.5927	
Leptin	PRL	-0.0409	0.7049	
Leptin	Cortisol	-0.1457	0.1755	

Πίνακας 9. Σύγκριση και αναζήτηση πιθανής συχέτισης μεταξύ ορμονικών δεικτών στους ασθενείς με Alzheimer.

Όπως φαίνεται και στον πίνακα 8 στους ασθενείς ανευρέθηκε θετική συσχέτιση μεταξύ προλακτίνης και TSH ($p=0.02$), κορτιζόλης και TSH

($p < 0.001$), κορτιζόλης και προλακτίνης ($p = 0.03$). Αντίθετα, η λεπτίνη δεν εμφάνισε κάποια στατιστικά σημαντική συσχέτιση με τις άλλες ορμόνες (TSH, κορτιζόλη και προλακτίνη).

Σχηματικά αυτό απεικονίζεται στο γράφημα 21.

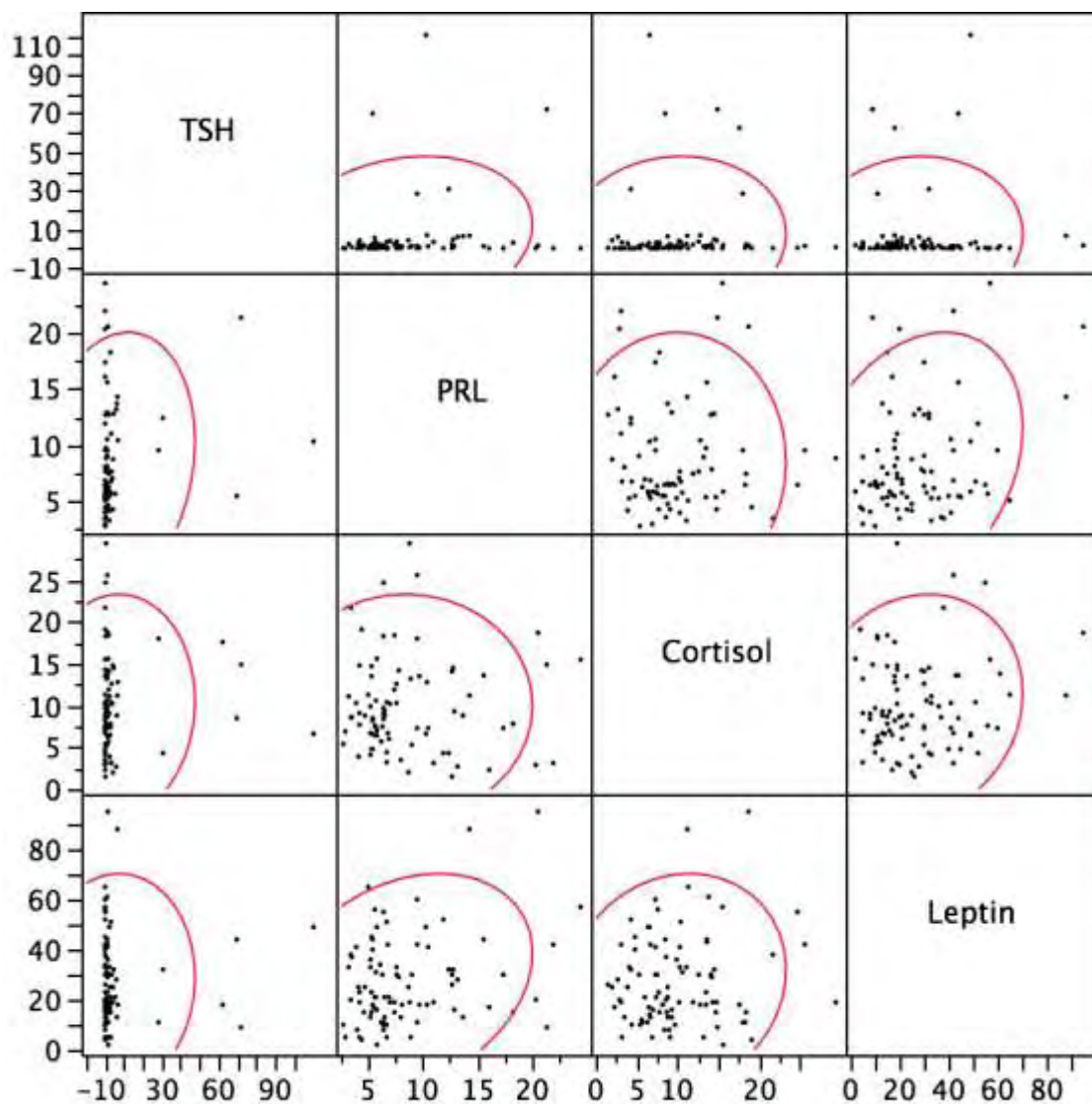


Γράφημα 21. Θετική συσχέτιση μεταξύ προλακτίνης και TSH ($p = 0.02$), κορτιζόλης και TSH ($p < 0.001$), κορτιζόλης και προλακτίνης ($p = 0.03$) στους ασθενείς με Alzheimer.

Αντίστοιχα, στην ομάδα των μαρτύρων ανευρέθηκε θετική συσχέτιση μόνο μεταξύ της προλακτίνης και της TSH (πίνακας 10, γράφημα 22). Η λεπτίνη και πάλι δεν εμφάνιζε στατιστικά σημαντική συσχέτιση με κάποια από τις άλλες ορμόνες.

Variable	by Variable	Spearman ρ	Prob> ρ	Plot
PRL	TSH	0.2337	0.0346*	
Cortisol	TSH	0.1852	0.0957	
Cortisol	PRL	-0.0325	0.7717	
Leptin	TSH	-0.0192	0.8596	
Leptin	PRL	0.1488	0.1715	
Leptin	Cortisol	0.0440	0.6805	

Πίνακας 10. Σύγκριση και αναζήτηση πιθανής συσχέτισης μεταξύ ορμονικών δεικτών στην ομάδα των μαρτύρων.



Γράφημα 22. Θετική συσχέτιση μόνο μεταξύ της προλακτίνης και της TSH στην ομάδα των μαρτύρων.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Από την παρούσα μελέτη διαπιστώθηκε ότι οι ασθενείς με νόσο Alzheimer στο δείγμα μας είχαν χαμηλότερα επίπεδα λεπτίνης σε σχέση με τους φυσιολογικούς μάρτυρες ανεξάρτητα από άλλους παράγοντες όπως ηλικία, φύλο BMI, ιστορικό καπνίσματος, χρήση αντιψυχωσικών φαρμάκων και ορμονολογικό προφίλ (επίπεδα TSH, κορτιζόλης, προλακτίνης). Επιπλέον η βαρύτητα της νοητικής έκπτωσης με βάση το MMSE δε βρέθηκε να σχετίζεται με τα επίπεδα λεπτίνης. Στους ασθενείς του δείγματός μας επίσης διαπιστώθηκαν υψηλότερα επίπεδα προλακτίνης και κορτιζόλης αλλά όχι TSH σε σχέση με τους φυσιολογικούς μάρτυρες.

Η άνοια τύπου Alzheimer αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα προβλήματα της σύγχρονης ιατρικής δεδομένης της αύξησης ηλικίας του πληθυσμού που συνεπάγεται και την αύξηση του επιπολασμού της νόσου. Οι θεραπευτικές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται στις μέρες μας έχουν ως κύριο στόχο την επιβράδυνση της ταχείας επιδείνωσης της νόσου, αλλά όχι και την πλήρη αναστολή της εξέλιξής της, επομένως η έρευνα στον τομέα αυτό αποτελεί μία από τις σημαντικότερες θεραπευτικές προκλήσεις. Προς την κατεύθυνση αυτή, η λεπτίνη αποτελεί μία από τις πιο πρόσφατες εξελίξεις στον τομέα της έρευνας για τη νόσο Alzheimer.

Η πιο πρόσφατη μελέτη δημοσιεύτηκε στο Journal of American Medical Association το Δεκέμβριο του 2009 και κατέληξε στο συμπέρασμα ότι τα αυξημένα επίπεδα λεπτίνης σχετίζονται με μείωση της επίπτωσης της άνοιας τύπου Alzheimer, καθώς επίσης και ότι η λεπτίνη ασκεί προστατευτικό ρόλο σχετικά με τη μείωση του όγκου του εγκεφάλου και κατ' επέκταση την εγκεφαλική ατροφία (Lieb et al 2009). Σε αντίστοιχο αποτέλεσμα κατέληξε και

η Health ABC Study, μία μεγάλη προοπτική μελέτη σειράς στην οποία συμμετείχαν 2871 ηλικιωμένοι και η οποία βρήκε ότι τα υψηλά επίπεδα λεπτίνης προστατεύουν τους υπερήλικες από την έκπτωση των γνωσιακών τους λειτουργιών (Holden et al 2009). Από την άλλη μεριά, στη μελέτη των Olsson et al το 1998 στην οποία συμμετείχαν 5 ασθενείς με Alzheimer και 5 μάρτυρες, βρέθηκε ότι τα επίπεδα λεπτίνης δεν διέφεραν μεταξύ των δύο ομάδων ενώ σε παρόμοιο συμπέρασμα κατάληξε και η μελέτη των Power et al το 2001 που έγινε σε 8 ασθενείς με νόσο Alzheimer και σε 8 μάρτυρες.

Φαίνεται, λοιπόν, ότι με βάση κλινικές μελέτες και εργαστηριακά ευρήματα, η λεπτίνη δρα προστατευτικά στην εμφάνιση της Alzheimer. Το ερώτημα που παραμένει είναι αν η δράση της λεπτίνης είναι μεμονωμένη ή αποτελεί μέρος μίας ευρύτερης και πολυπλοκότερης ενδοκρινικής οδού. Αυτό είναι ένα πεδίο για το οποίο δεν υπάρχουν βιβλιογραφικά δεδομένα και αυτό το κομμάτι προσπάθησε να καλύψει η παρούσα διατριβή. Ασχολείται, δηλαδή, κατ' αρχάς εξετάζοντας αν υπάρχει συσχέτιση ανάμεσα στα επίπεδα της λεπτίνης και στη νόσο Alzheimer αλλά και κατά πόσον η ορμόνη αυτή επηρεάζεται από άλλες ορμόνες και συγκεκριμένα, από την προλακτίνη, την κορτιζόλη και την TSH. Επίσης η μελέτη διενεργήθηκε για να δούμε αν η συσχέτιση των επιπέδων της λεπτίνης με τον κίνδυνο για νόσο Alzheimer είναι ανεξάρτητος προγνωστικός δείκτης ή αν επηρεάζεται από άλλους παράγοντες όπως η ηλικία, το φύλο, το βάρος – BMI, το κάπνισμα, η χρήση φαρμάκων όπως τα αντιψυχωσικά και με το ορμονολογικό προφίλ του ασθενή.

Να σημειωθεί ότι παρόμοια έρευνα δεν έχει διενεργηθεί ξανά σε ελληνικό πληθυσμό. Η επιλογή της μελέτης μαζί με τη λεπτίνη, της TSH της

κορτιζόλης και της προλακτίνης έγινε για συγκεκριμένους λόγους. Κατ'αρχάς είναι γνωστό ότι η προλακτίνη παράγεται στην υπόφυση και βρίσκεται κάτω από τον ανασταλτικό έλεγχο της ντοπαμίνης η οποία εκκρίνεται από τον υποθάλαμο. Πολλά φάρμακα παρεμβάλλονται στη διαδικασία παραγωγής ή δράσης της ντοπαμίνης, είτε μπλοκάροντας το μηχανισμό λειτουργίας της στην υπόφυση (φαινοθειαζίδες, βουτυροφαινόνης, μετοκλοπραμίδη, ρισπεριδόνη), είτε απλώς καταστέλλοντάς την (μέθυλντόπα, ρεσερπίνη). Είναι γεγονός ότι η προλακτίνη πολύ συχνά έχει βρεθεί αυξημένη στους ασθενείς με Alzheimer οι οποίοι λαμβάνουν αντιψυχωσικά φάρμακα. Είναι επίσης γεγονός ότι τα αντιψυχωσικά φάρμακα μπορούν να επηρεάσουν τις γνωσιακές λειτουργίες (Riedel et al 2010, van Veelen et al 2010). Το ερώτημα που τίθεται λοιπόν είναι εάν η θεραπεία με αντιψυχωσικά φάρμακα από μόνη της επηρεάζει την πορεία της νόσου Alzheimer ή εάν εμπλέκεται σε ένα πιο σύνθετο ορμονολογικό μονοπάτι στο οποίο περιλαμβάνεται η προλακτίνη και μέσω αυτής και η λεπτίνη αφού η αύξηση της πρώτης θα μπορούσε να επηρεάσει και την τελευταία. Για τη διερεύνηση της παραπάνω σχέσης μετρήσαμε τα επίπεδα της προλακτίνης και της λεπτίνης σε ασθενείς με Alzheimer οι οποίοι προηγουμένως είχαν διαχωριστεί ανάλογα με τη βαρύτητα της νόσου αλλά και με το αν λαμβάνουν ή όχι αντιψυχωσική θεραπεία.

Όσον αφορά τη θυρεοειδική λειτουργία, τα αποτελέσματα των ερευνών είναι αντικρουόμενα. Έχει υποστηριχθεί ότι τόσο ο υποθυρεοειδισμός όσο και ο υπερθυρεοειδισμός αυξάνουν τον κίνδυνο για ανάπτυξη νόσου Alzheimer (The Framingham Study, Tan ZS et al 2008) ενώ σε άλλες μελέτες δε

διαπιστώνεται κάποια συσχέτιση μεταξύ TSH και Alzheimer (Annerbo S et al 2009).

Επίσης η κορτιζόλη είναι μία ορμόνη που εμπλέκεται στις ανώτερες νοητικές λειτουργίες. Έχει αναφερθεί ότι αυξημένα επίπεδα κορτιζόλης σχετίζονται με μειωμένο όγκο του ιπποκάμπου και έκπτωση των ανώτερων νοητικών λειτουργιών σε ασθενείς με Alzheimer (Huang et al 2009). Γενικότερα, φαίνεται ότι η ενεργοποίηση του άξονα υποθάλμου-υπόφυσης που εκφράζεται με την αύξηση της κορτιζόλης οδηγεί σε ταχύτερη εξέλιξη της άνοιας τύπου Alzheimer (Csernansky et al 2006). Αυτό μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι ο ιππόκαμπος εμφανίζει πολλούς υποδοχείς κορτικοστεροειδών, με αποτέλεσμα να καθίσταται ευάλωτος και να επηρεάζεται έντονα από τις μεταβολές της συγκέντρωσης της κορτιζόλης, η οποία είναι αυξημένη στους ασθενείς με Alzheimer (Magri et al 2006).

Από τα παραπάνω τίθεται λοιπόν το ερώτημα κατά πόσο η θυρεοτρόφος ορμόνη και η κορτιζόλη από μόνες τους αποτελούν ρυθμιστικό παράγοντα στην εξέλιξη της άνοιας τύπου Alzheimer ή αποτελούν μέρος ενός πιο σύνθετου ορμονολογικού μηχανισμού σε συνάρτηση με την λαμβανόμενη αντιψυχωσική θεραπεία των ασθενών και τη λεπτίνη. Η έρευνά μας προσπάθησε να προσδιορίσει ακριβώς τη σχέση αυτή, με μετρήσεις των προαναφερθέντων ορμονών (κορτιζόλη, θυρεοτρόφος ορμόνη, λεπτίνη) σε ασθενείς με νόσο Alzheimer και σε υγιή άτομα.

Εξετάζοντας τα αποτελέσματα της μελέτης και ξεκινώντας από την αρχική υπόθεση, διαπιστώνουμε ότι οι ασθενείς με άνοια τύπου Alzheimer έχουν χαμηλότερη συγκέντρωση λεπτίνης συγκριτικά με τα υγιή άτομα, (παρατήρηση που έρχεται σε συμφωνία με τις μέχρι τώρα μελέτες) και ότι τα

επίπεδά της ορμόνης αυτής δεν επηρεάζονται από την ηλικία, το φύλο, το βάρος, το BMI, και το κάπνισμα. Επιπλέον, η λεπτίνη δεν έχει κάποια συσχέτιση με την προλακτίνη, την κορτιζόλη και την θυρεοτρόφο ορμόνη στους ασθενείς με Alzheimer. Ένα πρόβλημα που υπήρξε στη μελέτη ήταν το γεγονός ότι ένα μεγάλο ποσοστό των ανοϊκών ελάμβανε φαρμακευτική αγωγή με αντιψυχωσικά φάρμακα. Όμως, η σύγκριση των τιμών της λεπτίνης μεταξύ των ανοϊκών που ελάμβαναν αντιψυχωσικά και αυτών που δεν ελάμβαναν έδειξε ότι η λεπτίνη δεν επηρεάζεται από τη λήψη αντιψυχωσικών. Μία σημαντική παρατήρηση είναι ότι δεν διαπιστώνεται κάποια σχέση μεταξύ της βαρύτητας της άνοιας και της λεπτίνης. Όσον αφορά τον υπόλοιπο ορμονολογικό έλεγχο, τα αποτελέσματα της έρευνάς μας έδειξαν ότι οι ασθενείς με Alzheimer είχαν υψηλότερα επίπεδα προλακτίνης σε σύγκριση με τους υγιείς, που πιθανότατα οφείλεται στη λήψη αντιψυχωσικών φαρμάκων. Τέλος, αξίζει να σημειώσουμε ότι όσον αφορά την πιθανή εμπλοκή ενδοκρινολογικού μηχανισμού στην Alzheimer που πιθανώς να περιλαμβάνει και τη λεπτίνη, η παρούσα διατριβή δεν βρήκε να υφίσταται. Πάντως, οι ανοϊκοί βρέθηκε να έχουν υψηλά επίπεδα κορτιζόλης, εύρημα που συνάδει και με τη βιβλιογραφία. Σχετικά με την TSH, τα αποτελέσματα στη διεθνή βιβλιογραφία είναι αντιφατικά. Στην παρούσα διατριβή δε βρέθηκε να υπάρχει κάποια συσχέτιση ανάμεσα στην TSH και στην Alzheimer.

Να σημειωθεί βέβαια ότι η συγκέντρωση στον ορό πιθανώς να μην αντικατοπτρίζει και τη συγκέντρωση της λεπτίνης στον εγκέφαλο. Δεν έχουμε διερευνήσει δηλαδή την πιθανότητα να υφίσταται διαφορετική συγκέντρωση λεπτίνης στο εκγεφαλονωτιαίο υγρό και κατά συνέπεια στον εγκέφαλο, συγκριτικά με αυτή που βρίσκουμε στο πλάσμα λόγω αδυναμίας μεταφοράς

της από το ένα σύστημα στο άλλο. Αυτή η διαπίστωση μπορεί να αποτελέσει το πεδίο μιας άλλης ερευνητικής προσπάθειας στο μέλλον.

Συμπεράσματα

Από τα αποτελέσματα της μελέτης προκύπτουν τα ακόλουθα συμπεράσματα:

1. Οι ασθενείς με νόσο Alzheimer εμφανίζουν χαμηλότερα επίπεδα λεπτίνης συγκριτικά με τους φυσιολογικούς μάρτυρες τα οποία είναι ανεξάρτητα από την ηλικία, το φύλο, το βάρος, το BMI, το κάπνισμα, τη λήψη αντιψυχωσικών φαρμάκων και τη συγκέντρωση της κορτιζόλης, της προλακτίνης και της TSH.
2. Τα επίπεδα λεπτίνης στους ασθενείς με νόσο Alzheimer δεν σχετίζονται με τη βαρύτητα της νόσου με βάση το MMSE.
3. Οι ασθενείς με νόσο Alzheimer έχουν υψηλότερα επίπεδα κορτιζόλης και προλακτίνης

Από τα παραπάνω συνάγεται το τελικό συμπέρασμα ότι η λεπτίνη πιθανώς να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση της νόσου Alzheimer. Είναι δηλαδή πιθανόν η λεπτίνη να αντιπροσωπεύει ένα βιολογικό δείκτη της νόσου Alzheimer. Ωστόσο περαιτέρω μελέτες απαιτούνται για την εξακρίβωση του μηχανισμού με τον οποίο η λεπτίνη σχετίζεται με τη νόσο Alzheimer.

Βιβλιογραφία

- Arnalich F, Lopez J, Codoceo R, Jim nez M, Madero R, Montiel C (1999)
Relationship of plasma leptin to plasma cytokines and human survival in
Sepsis and septic shock. *J Infect Dis* 180, 908-911
- Axelsson J, Qureshi A.R, Heimbürger O, Lindholm B, Stenvinkel P, Barany P
(2005) Body fat mass and serum leptin levels influence epoetin
sensitivity in patients with ESRD. *Am J Kidney Dis.* 46, 628-634
- Ayyildiz M, Yildirim M, Agar E, Baltaci A.K. (2006) The effect of leptin on
penicillin-induced epileptiform activity in rats. *Brain Res. Bull.* 68, 374-
378
- Banks A.S, Davis S.M, Bates S, Myers M.G. (2000) Activation of downstream
signals by the long form of the leptin receptor.
J. Biol. Chem. 275, 14563-14572
- Banks W.A, Clever C.M, Farelli C.L. (2000) Partial saturation and regional
variation in the blood-to-brain transport of leptin in normal weight mice.
Am. J. Physiol Endocrinol. Metab. 278, E1158-E1165
- Barrett-Connor E, Edelstein SL, Corey-Bloom J, Wiederholt WC (1996)
Weight loss precedes dementia in community-dwelling older adults. *J*
Am Geriatr Soc 44, 1147-1152
- Benveniste EN, Nguyen VT, O'Keefe GM (2001) Immunological aspects of
Microglia: relevance to Alzheimer's disease. *Neurochem Int* 39, 381-
391

- Biessels G.J, Kamal A, Ramakers G.M, Urban I.J, Spruijt B.M, Erkelens D.W, Gispen W.H. (1996) Place learning and hippocampal synaptic plasticity in streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes* 45, 1259-1266
- Biessels G.J, Kamal A, Urban I.J.A, Spruijt B.M, Erkelens D.W, Gispen W.H. (1998) Water maze learning and hippocampal synaptic plasticity in streptozotocin- diabetic rats: effects of insulin treatment. *Brain. Res.* 800, 125-135
- Blasko I, Marx F, Steiner E, Hartmann T, Grubeck-Loebenstein B (1999) TNFalpha plus IFNgamma induce the production of Alzheimer beta-amyloid peptides and decrease the secretion of APPs. *FASEB J* 15, 2565-2571
- Csernansky JG, Dong H, Fagan AM, Wang L, Xiong C, Holtzman DM, Morris JC(2006) Plasma cortisol and progression of dementia in subjects with Alzheimer-type dementia. *Am J Psychiatry* 163(12), 2164-2169
- Desrocher M, Rovet J. (2004) Neurocognitive correlates of type 1 diabetes mellitus in childhood. *Child Neuropsychol* 10, 36-52
- Dietrich M.O, Spuch C, Antequera D, Rodal I, de Yebenesd J.G, Molina J.A, Bernejo F, Eva Carro E. (2007) Megalin mediates the transport of leptin across the Blood-CSF barrier. *Neurobiol. Aging* 29, 902-912
- Emmerling MR, Watson MD, Raby CA, Spiegel K (2000) The role of complement in Alzheimer's disease pathology. *Biochim Biophys Acta* 1502, 158-171
- Faouzi M, Leshan R, Bjornholm M, Henessey T, Jones J, Muzberg H. (2007) Differential accessibility of circulating leptin to individual hypothalamic sites. *Endocrinology* 148, 5414-5423

- Farber NB, Rubin EH, Newcomer JW, Kinscherff DA, Miller JP, Morris JC, Olney JW, McKeel DW (2000) Increased neocortical neurofibrillary tangle density in subjects with Alzheimer disease and psychosis. *Arch Gen Psychiatry* 57, 1165-1173
- Farr SA, Banks WA, Morley JE (2006) Effects of leptin on memory processing. *Peptides* 27, 1420-1425
- Farris W, Mansourian S, Chang Y, Lindsley L, Eckman EA, Frosch MP, Eckman CB, Tanzi RE, Selkoe DJ, Guenette S (2003) Insulin-degrading enzyme regulates the levels of insulin, amyloid beta-protein and the beta-amyloid precursor protein intracellular domain in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 100, 4162-4167
- Fewlass DC, Noboa K, Pi-Sunyer FX, Johnston JM, Yan SD, Tezapsidis N. (2004) Obesity-related leptin regulates Alzheimer's Abeta *FASEB J* 18, 1870-1878
- Fischell MA, Watson GS, Montine TJ, Wang Q, Green PS, Kulstad JJ, Cook DG, Peskind ER, Baker LD, Goldgaber D, Nie W, Asthana S, Plymate SR, Schwartz MW, Craft S (2005) Hyperinsulinemia provokes synchronous increases in central inflammation and beta-amyloid in normal adults. *Arch Neurol* 62, 1539-1544
- Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR (1975). ""Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician". *Journal of psychiatric research* 12 (3): 189–98.
- Grant WB (1999) Dietary links to Alzheimer's disease;1999 update *J Alzheimer's Dis* 1,197-201
- Grant WB (2004) Obesity and Alzheimer's disease: roles of diet and genetics. *Arch Intern Med* 164,109-110

- Greenwood C.E, Winocur G. (2005) High-fat diets, insulin, resistance and declining cognitive function. *Neurobiol Aging* 26, S42-S45
- Greco SJ, Sarkar S, Johnston JM, Zhu X, Su B, Casadesus G, Ashford JW, Smith M, Tezapsidis N. (2008) Leptin reduces Alzheimer's disease-related tau phosphorylation in neuronal cells. *Biochem Biophys Res Commun* 376, 536-541
- Greco SJ, Sarkar S, Johnston JM, Tezapsidis N (2009) Leptin regulates tau phosphorylation and amyloid through AMPK in neuronal cells. *Biochem Biophys Res Commun* 380, 98-104
- Grosfeld A, Andre J, Hauguel-de-Mouzon S, Berra E, Pouyssegur J, Guerremillo M. (2002) Hypoxia-inducible factor 1 transactivates the human leptin gene promoter. *J. Biol. Chem.* 277, 42953-42957
- Guo Z, Jiang H.Y, Xu.X.R, Duan W.Z, Mattson M.P. (2008) Leptin-mediated cell survival signaling in hippocampal neurons mediated by JAK STAT3 and mitochondrial stabilization. *J. Biol. Chem.* 283, 1754-1763
- Halaas J.L, Gajiwala K.S, Maffei M, Cohen S.L, Chait B.T, Rabinowitz D, Lallone R.L, Burley S.K, Friedman J.M (1995) Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese. *Gene. Sci.* 269, 543-546
- Hama H, Saito A, Takeda T, Tanuma A, Xie Y.S, Sato K, Kazama J.J, Gejyo FR. (2004) Evidence indicating that renal tubular metabolism of leptin is mediated by megalin but not by the leptin receptors. *Endocrinology* 145, 3935-3940
- Harvey J, Shanley LJ, O'Malley D, Irving AJ (2005) Leptin: a potential cognitive enhancer? *Biochem Soc Trans* 33, 1029-1032

- Van der Heide L.P, Kamal A, Artola A, Gispen W.H, Ramakers G.M.J. (2005) Insulin modulates hippocampal activity-dependent synaptic plasticity in a N-methyl-D aspartate receptor and phosphatidyl-inositol-3-kinase-dependent manner. *J. Neurochem.* 94, 1158-1166
- Hoda M.R, keely S.J, Bertelsen L.S, Junger W.G, Dharmasena D, Barrett K.A. (2007) Leptin acts as a mitogenic and antiapoptotic factor for colonic cancer cells. *Br. J. Surg.* 94, 1158-1166
- Holden KF, Lindquist K, Tylavsky FA, Rosano C, Harris TB, Yaffe K (2006) Low serum leptin is associated with poor cognitive performance in the elderly. *American Academy of Neurology, 58th Annual Meeting (San Diego)* p. S41.006
- Holden KF, Lindquist K, Tylavsky FA, Rosano C, Harris TB, Yaffe K (2009) Serum leptin level and cognition in the elderly: Findings from the Health ABC Study. *Neurobiol Aging* 30, 1483-1489
- Hong M, Lee VM (1997) Insulin and insulin-like growth factor-1 regulate tau phosphorylation in cultured human neurons. *J Biol Chem* 281, 12950-12958
- Hoyer S (1998) Is sporadic Alzheimer disease the brain type of non-insulin dependent diabetes mellitus? A challenging hypothesis *J Neural Transm* 105, 415-422
- Huang XF, Koutcherov I, Lin S, Wang HQ, Storlien L (1996) Localization of leptin receptor mRNA expression in mouse brain. *Neuroreport* 7, 2635-2638
- Jackson GR, Wiedau-Pazos M, Sang TK, Wagle N, Brown CA, Massachi S, Geschwind DH (2002) Human wild-type tau interacts with

- wingless pathway components and produces neurofibrillary pathology in *Drosophilla* *Neuron* 34, 509-519
- Jiang Q, Heneka M, Landreth GE (2008) The role of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (PPARgamma) in Alzheimer's disease: therapeutic implications. *CNS Drugs* 22, 1-14
- Julliard A.K, Chaput M.A, Appelbaum A, Aime P, Mahfouz M, Duchamp-Viret P(2007) Changes in rat olfactory detection performance induced by orexin and leptin mimicking fasting and satiation. *Behav. Brain. Res.* 183, 123-129
- Knerr I, Schuster S, Nomikos P, Buchfelder M, Dotsch J, Schoof E, Fahlbusch R, Rascher W. (2001) Gene expression of adrenomedullin, leptin, their receptors and neuropeptide Y in hormone secreting and non-functioning pituitary adenomas, meningiomas and malignant intracranial tumors in humans. *Neuropathol. Appl. Neurol.* 27, 215-222
- Komori T, Morikawa Y, Nanjo K, Senba E. (2006) Induction of brain-derived neurotrophic factor by leptin in the ventromedial hypothalamus. *Neuroscience* 123, 1107-1115
- Lesort M, Jope RS, Johnson GV (1999) Insulin transiently increases tau phosphorylation: involvement of glycogen synthase kinase-3beta and Fyn tyrosine kinase *J Neurochem* 72, 576-584
- Levy Y.S, Gilgun-Sherki Y, Melamed E, Offen D. (2005) Therapeutic potential of neurotrophic factors in neurodegenerative diseases. *Biodrugs* 19, 97-127
- Lieb W, Beiser AS, Vasan RS, Tan ZS, Au R, Harris TB, Roubenoff R, Auerbach S, De Carli C, Wolf PA, Seshad M (2009) Association of plasma leptin levels with incident Alzheimer's disease and MRI measures of brain aging *JAMA* 302(23), 2565-72

- Li.X.L, Aou S, Oomura Y, Hori N, Fukunaga K, Hori T. (2002) Impairment of long term potentiation and spatial memory in leptin receptor-deficient rodents. *Neuroscience* 113, 607-615
- Lipton P. (1999) Ischemic cell death in brain neurons. *Physiol. Rev.* 79, 1431-1568
- Lucas JJ, Hernandez F, Gomez-Ramos P, Moran MA, Hen R, Avila J(2001) Decreased nuclear beta-catenin, tau-hyperphosphorylation and neurodegeneration in GSK-3 β conditional transgenic mice *EMBO J* 20, 27-39
- Magri F, Cravello L, Barili L, Sarra S, Cinchetti W, Salmoiraghi F, Micale G, Ferrari E (2006) Stress and dementia: the role of hypothalamic-pituitary- adrenal axis. *Aging Clin Exp Res* 18(2), 167-170
- Mazzali G, Bissoli L, Cambina S, Residori L, Pagliari P, Guariento S, Sun M, Broggio E, Bosello O, Zamboni M (2002) Energy balance in Alzheimer's Disease. *J Nutr Health Aging* 6, 247-253
- Meissner U, Hanisch C, Ostreicher I, Knerr I, Hofbauer K, Blum W.F, Allabauer I, Rascher W, Dotsch J. (2005) Differential regulation of leptin synthesis in rats during short-term hypoxia and short term carbon monoxide inhalation. *Endocrinology* 146, 215-220
- Messier C (2005). Impact of impaired glucose tolerance and type 2 diabetes on cognitive aging. *Neurobiol. Aging* 26, S26-S30
- De la Monte S.M, Wands J.R. (2005) Review of insulin and insulin-like growth factor expression, signaling and malfunction in the central nervous system: relevance to Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.* 7, 45-61

- Munoz-Montano JR, Moreno FJ, Avila J, Diaz-Nido J (1997) Lithium inhibits Alzheimer's disease-like tau protein phosphorylation in neurons *FEBS Lett* 411, 183-188
- Nagatsu T, Mogi M, Ichinose H, Togari A. (2000) Cytokines in Parkinson's disease. *J. Neural. Transm. Suppl.* 58, 143-151
- Niswender K.D, Morrison C.D, Clegg D.J, Olson R, Baskin D.G, Myers M, Seeley R.J, Schwartz M.W. (2003) Insulin activation of phosphatidylinositol 3-kinase in the hypothalamic arcuate nucleus- a key mediator of insulin- induced anorexia. *Diabetes* 52, 227-231
- Niswender K.D, Baskin D.G, Schwartz M.W (2004) Insulin and its evolving partnership with leptin in the hypothalamic control of energy homeostasis. *Trends Endocrinol Met.* 15, 362-369
- Olsson T, Nasman B, Rasmuson S, Ahren B. (1998) Dual relation between leptin and cortisol in humans is disturbed in Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry* 44, 374-376
- O'Malley D, MacDonald N, Mizielinska S, Conolly C.N, Irving A.J, Harvey J. (2007) Leptin promotes rapid dynamic changes in hippocampal dendritic morphology *Mol. Cell. Neurosci.* 35, 559-572
- Oomura Y, Hori N, Shiraishi T, et al. (2006) Leptin facilitates learning and memory performance and enhances hippocampal CA1 long-term potentiation and CaMK II phosphorylation in rats. *Peptides* 27, 2738-2749
- Pinto S, Roseberry AG, Liu H, Diano S, Shanabrough M, Cai X, Friedman JM, Horvath TL, (2004) Rapid rewiring of arcuate nucleus feeding circuits by leptin *Science* 304, 110-115

- Planel E, Tatebayashi Y, Miyasaka T, Liu L, Wang L, Herman M, Yu WH, Luchsinger JA, Wadzinski B, Duff KE, Takashima A (2007) Insulin dysfunction induces in vivo tau hyperphosphorylation through distinct mechanisms. *J Neurosci* 27, 13635-13648
- Power DA, Noel J, Collins R, O'Neill D (2001) Circulating leptin levels and weight loss in Alzheimer's disease patients. *Dement Geriatr Cogn Disord* 12, 167-170
- Puglielli L, Tanzi RE, Kovacs DM (2003) Alzheimer's disease: the cholesterol connection. *Nat Neurosci* 6, 345-351
- Ray S, Wyss-Corray A (2005) Methods for diagnosis, stratification and monitoring of Alzheimer's disease. *World Intellectual Property Organization*, WO2005/052592 A2 (Satoris Inc)
- Riedel M, Spellman I, Schennach –Wolff R, Musil R, Dehning S, Cerovecki A, Opgen-Rhein M, Matz J, Seemuller M, Obenmeier M, Severus E, Engel RR, Muller N, Moller HJ (2010) Effect of aripiprazole on cognition in the treatment of patients with schizophrenia 43(2):50-57
- Risner ME, Saunders AM, Altman JF, Ormandy GC, Craft S, Foley IM, Zvartau-Hind ME, Hosford DA, Roses AD (2006) Efficacy of rosiglitazone in a genetically defined population with mild-to-moderate Alzheimer's disease. *Pharmacogenomics J* 6, 246-254
- Roseberry A.G, Painter T, Mark G.P, Williams J.T. (2007) Decreased vesicular somatodendritic dopamine stores in leptin-deficient mice. *J Neurosci* 27,7021-7027
- Russo V.C, Metaxas S, Kobayashi K, Harris M, Werther G.A (2004) Antiapoptotic effects of leptin in human neuroblastoma cells. *Endocrinology* 145, 4103-4112
- Schwartz M.W, Seeley R.J, Campfield L.A, Burn P, Baskin D.G. (1996)

- Identification of targets of leptin action in rat hypothalamus. *J. Clin. Invest.* 98, 1101-1106
- Shanley L.G, Irving A.J, Rae M.G, Ashford M.L.J, Harvey J. (2002) Leptin inhibits rat hippocampal neurons via activation of large conductance calcium-activated K^+ channels. *Nat. Neurosci.* 5, 299-300
- Signore A.P, Weng Z.F, Hastings T, van Laar A.D, Liang Q.H, Lee Y.J, Chen J. (2006) Erythropoietin protects against 6-hydroxydopamine-induced dopaminergic cell death. *J. Neurochem.* 96, 428-443
- Simons M, Keller P, Dichgans J, Schulz JB (2001) Cholesterol and Alzheimer's disease: is there a link? *Neurology* 57, 1089-1093
- Smith MA, Petot GJ, Perry G (1999) Diet and oxidative stress: a novel synthesis of epidemiological data on Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 1, 203-206
- Somasundar P, Yu A.K, Vona-Davis L, McFadden D.W. (2003) Differential effects of leptin on cancer in vitro. *J. Surg. Res.* 113, 50-55
- Sparks DL, Sabbagh M, Connor D, Soares H, Lopez J, Stankovic G, Johnson-Traver S, Ziolkowski C, Browne P (2006) Statin therapy in Alzheimer's disease. *Acta Neurol Scand Suppl* 185, 78-86
- Strittmatter WJ, Saunders AM, Scmechel D, Pericak-Vance M, Enghild J, Salvesen GS, Roses AD (1993) Apolipoprotein E: high avidity binding to beta-amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 90, 1977-1981
- Su JH, Cummings BJ, Cotman CW (1994) Early phosphorylation of tau in Alzheimer's disease occurs at Ser-202 and is preferentially located within neurites. *Neuroreport* 5, 2358-2362

- Tan ZS, Vasan RS (2009) Thyroid function and Alzheimer's disease. *J Alzheimer's Disease* 16, 503-507
- Tang C.H, Lu D.Y, Yang R.S, Tsai H.Y, Kao M.C, Fu W.M, Chen Y.F. (2007) Leptin-induced IL-6 production is mediated by leptin-receptor, insulin receptor substrate-1, phosphatidylinositol 3-kinase, Akt, NF-Kappa B, and p300 pathway in microglia. *J Immunol* 179, 1292-1302
- Tardito D, Perez J, Tiraboschi E, Mussazi L, Racagni G, Popoli M. (2006) Signaling Pathways regulating gene expression, neuroplasticity, and neurotrophic mechanisms in the action of antidepressants; a critical overview. *Pharmacol. Rev.* 58, 115-134
- Thal DR, Holzer M, Rub U, Waldmann G, Gunzel S, Zedlick D, Schober R (2000) Alzheimer-related tau-pathology in the perforant path target zone and in the hippocampal stratum oriens and radiatum correlates with onset and degree of dementia. *Exp Neurol* 163, 98-110
- Trojanowski JQ, Schmidt ML, Shin RW, Bramblett GT, Rao D, Lee VM (1993) Altered tau and neurofilament proteins in neurodegenerative diseases; diagnostic implications for Alzheimer's disease and Lewy body dementias. *Brain Pathol* 3, 45-54
- Tu H, Kastin A.J, Hsueh H, Pan W.H (2008) Soluble receptor inhibits leptin transport. *J Cell Physiol* 14, 301-305
- Valerio A, Ghisi V, Dossena M, Tonello C, Giordano A, Frontini A, Ferrario M, Pizzi M, Spano P, Carruba MO, Nisoli E (2006) Leptin increases axonal growth cone size in developing mouse cortical neurons by convergent signals inactivating glycogen synthase kinase-3beta. *J Biol Chem* 281, 12950-12958
- Van Veelen NM, Grootens KP, Peuskens J, Sabbe BG, Salden ME, Verkes RJ, Kahn RS, Sitskoorn MM (2010) Short term neurocognitive effects

of treatment with ziprasidone and olanzapine in recent onset schizophrenia. *Schizophr Res epub*

Wang G.J, Volkow N.D, Logan J, Pappas N.R, Wong C.T, Zhu W, Netusil N, Fowler J.S. (2001) Brain dopamine and obesity. *Lancet* 357, 354-357

Wauman J, De Smet A.S, Catteeuw D, Belsham D, Jan Tavernier J. (2007) Insulin receptor substrate 4 couples the leptin receptor to multiple signaling pathways. *Mol. Endocrinol.* 22, 965-977

Weng Z, Signore A. P, Gao Y, Wang S, Zhang F, Hastings T, Yin X.M, Chen J(2007) Leptin protects against 6-hydroxy-dopaminergic cell death via mitogen activated protein kinase signaling. *J. Biol. Biochem* 282, 503-505

Whitmer RA, Gustafson DR, Barrett-Connor E, Haan MN, Gunderson EP, Yaffe K (2008) Central obesity and increased risk of dementia more than three decades later. *Neurology*, 71, 1057-1064

Winder WW, Hardie DG (1999) AMP-activated protein kinase, a metabolic master switch: possible roles in type 2 diabetes. *Am J Physiol* 277, E1-10

Xiao E, Xia-Zhang L, Vulliemoz NR, Ferin M, Wardlaw SL (2003) Leptin modulates inflammatory cytokine and neuroendocrine responses to endotoxin in the primate. *Endocrinology* 144, 4350-4353

Zhang F, Wang S.P, Signore A. P, Chen J (2007) Neuroprotective effects of leptin against ischemic injury induced by oxygen-glycose deprivation and transient cerebral ischemia. (2007) *Stroke* 38, 2329-29