

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ**

**«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ»**

**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**«ΓΗΡΑΝΣΗ ΚΑΙ ΝΕΥΡΟΕΚΦΥΛΙΣΤΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ: ΝΕΑ  
ΔΕΔΟΜΕΝΑ»**

ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΥ ΠΟΛΥΞΕΝΗ

ΝΟΣΗΛΕΥΤΡΙΑ ΠΑΝΕΠΙΣΤΙΜΙΑΚΗΣ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗΣ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Τραχανά Βαρβάρα, Επίκουρος Καθηγήτρια Κυτταρικής Βιολογίας...(Επιβλέπουσα)

Τσέζου Ασπασία, Καθηγήτρια Ιατρικής Γενετικής.....(Μέλος)

Δήμας Κωνσταντίνος, Αναπληρωτής Καθηγητής Φαρμακολογίας.....(Μέλος)

ΛΑΡΙΣΑ, 2020

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ»

«AGING AND NEURODEGENERATION DISEASES: NEW  
DATA»

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η γήρανση, η οποία χαρακτηρίζεται ευρέως ως μια χρονικά εξαρτώμενη λειτουργική παρακμή που επηρεάζει τους περισσότερους ζώντες οργανισμούς, έχει προσελκύσει την περιέργεια των ανθρώπων από την αρχαιότητα.

Η γήρανση χαρακτηρίζεται από προοδευτική απώλεια της φυσιολογικής ακεραιότητας που οδηγεί σε εξασθενημένη λειτουργία και αυξημένη ευαισθησία στον θάνατο. Παρόλα τα παραπάνω η προσπάθεια διασαφήνισης της έννοιας του γήρατος αποτελεί μία σύνθετη και πολύπλοκη πρόκληση. Έχουμε αρχίσει να κατανοούμε αρκετά μοριακά μονοπάτια αναγνωρίζοντας βασικά γονίδια και αλληλεπιδράσεις μεταξύ τους που εμπλέκονται στη γήρανση, όπως η αυτοφαγία, η απόκριση στις βλάβες στο DNA και η απόκριση στο οξειδωτικό στρες. Παραδείγματος χάριν, σύμφωνα με τη θεωρία του οξειδωτικού στρες υποστηρίζεται ότι οι ελεύθερες ρίζες βλάπτουν διάφορα κυτταρικά συστατικά (ιδιαίτερα τα μιτοχόνδρια) και ότι ο ρυθμός και / ή η ποσότητα της βλάβης συσχετίζεται με την γήρανση.

Νευροεκφυλισμός είναι ένας όρος που χρησιμοποιείται για να περιγράψει νοσήματα του κεντρικού νευρικού συστήματος, στα οποία παρουσιάζεται προοδευτική απώλεια δομής ή λειτουργίας των νευρικών κυττάρων. Οι πιο συχνές νευροεκφυλιστικές νόσοι είναι η νόσος Alzheimer (AD), η νόσος Parkinson (PD), η νόσος Huntington (HD) και η πλάγια μυατροφική σκλήρυνση (ALS).

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η ανάδειξη συσχετισμού μεταξύ της διαδικασίας της γήρανσης και των νευροεκφυλιστικών νόσων. Για το σκοπό αυτό, διεξήχθη μία βιβλιογραφική ανασκόπηση 54 άρθρων με κύριες λέξεις κλειδιά: γήρανση, νευροεκφυλισμός, αυτοφαγία, βλάβες DNA, οξειδωτικό στρες, νόσος Alzheimer, νόσος Parkinson, νόσος Huntington και πλάγια μυατροφική σκλήρυνση.

Στα αποτελέσματα της μελέτης μας φαίνεται ότι οι μηχανισμοί που παρουσιάζονται στην γήρανση ( βλάβες στο DNA, αυτοφαγία, οξειδωτικό στρες) είναι κοινοί και με αυτούς που ευθύνονται για τον νευροεκφυλισμό. Επιπλέον, συμπεριλαμβάνονται οι καθοριστικοί παράγοντες ευπάθειας συγκεκριμένων νευρώνων που φαίνεται να αποτελούνται από τη μεταβολική ή δομική τους ζήτηση, την ύπαρξη δυνητικά τοξικών μεταβολικών ενδιάμεσων, το ρεπερτόριο των οδών μεταγωγής σήματος και τους μηχανισμούς προστασίας κατά του στρες.

Σε αντίθεση με την διαδεδομένη θεωρία ότι κάποιες νευροεκφυλιστικές νόσοι μπορούν να αποτελούν αναπόσπαστο μέρος της διαδικασίας γήρανσης, φαίνεται ότι οι αλλαγές που σχετίζονται με την ηλικία αυξάνουν μόνο την ευπάθεια του νευρικού συστήματος, αλλά πρέπει επίσης να υπάρχουν επιπρόσθετα νευροπαθολογικά ερεθίσματα για να εκδηλωθούν οι παθολογικές καταστάσεις. Σε άλλες περιπτώσεις οι ανωμαλίες σε πρωτεϊνικές αλληλεπιδράσεις επηρεάζουν την κανονική λειτουργία των μιτοχονδρίων, οδηγώντας σε οξειδωτικό στρες και άλλα προς τα κάτω διεγερτικά και φλεγμονώδη γεγονότα, που οδηγούν σε νευρωνικό θάνατο.

## ABSTRACT

Aging, which is widely described as a time-dependent functional decline affecting most living organisms, has fascinated people since the ancient times.

Aging is characterized by a progressive loss of normal integrity leading to impaired function and increased susceptibility to death. Despite the above, trying to clarify the concept of aging is challenging. We have begun to understand several molecular pathways by recognizing key genes and interactions between them that are involved in aging, such as autophagy, the DNA damage response, and the oxidative stress response. For example, according to the theory of oxidative stress, it is argued that free radicals damage various cellular components (especially mitochondria) and that the rate and / or amount of damage is associated with aging.

Neurodegeneration is a term used to describe diseases of the central nervous system in which there is a progressive loss of structure or function of nerve cells. The most common neurodegenerative diseases are Alzheimer's disease (AD), Parkinson's disease (PD), Huntington's disease (HD) and myotrophic lateral sclerosis (ALS).

The aim of the present study is to highlight the correlation between the aging process and neurodegenerative diseases. To this purpose, a literature review of 52 articles was conducted with keywords: aging, neurodegeneration, autophagy, DNA damage, oxidative stress, Alzheimer's disease, Parkinson's disease, Huntington's disease and myotrophic lateral sclerosis.

The results of our study show that the mechanisms that occur in aging (DNA damage, autophagy, oxidative stress) are common to those responsible for neurodegeneration. In addition, the determinants of vulnerability of specific neurons that appear to consist of their metabolic or structural demand, the presence of potentially toxic metabolic intermediates, the receptor of signal transduction pathways, and stress protection mechanisms are included.

Contrary to popular belief that some neurodegenerative diseases may be an integral part of the aging process, it seems that age-related changes only increase the vulnerability of the nervous system, but there must also be additional neuropathological stimuli for the disease to manifest. In other cases, abnormalities in protein interactions affect the normal function of mitochondria, leading to oxidative stress and other down-stimulating and inflammatory events, leading to neuronal death.

## Πίνακας περιεχομένων

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	3
ABSTRACT.....	4
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	7
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΓΗΡΑΝΣΗ.....	10
1.1. Γήρανση και εξελικτική θεωρία .....	10
1.2. Γήρανση και Αυτοφαγία.....	12
1.3. Γήρανση και βλάβες του DNA .....	14
1.4. Γήρανση και οξειδωτικό στρες.....	18
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΝΕΥΡΟΕΚΦΥΛΙΣΜΟΣ .....	20
2.1. Ιστορική αναδρομή .....	20
2.2. Ορισμός .....	21
2.3. Ταξινόμηση νευροεκφυλιστικών νοσημάτων .....	22
2.4. Παθογένεια του νευροεκφυλισμού .....	22
2.5. Νευροεκφυλισμός και Αυτοφαγία .....	25
2.6. Νευροεκφυλισμός και βλάβες του DNA .....	27
2.7. Νευροεκφυλισμός και οξειδωτικό στρες.....	29
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 : ΝΕΥΡΟΕΚΦΥΛΙΣΤΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΓΗΡΑΝΣΗ .....	31
3.1. Νόσος Alzheimer (AD).....	31
3.1.1. Ορισμός.....	31
3.1.2. Παθοφυσιολογία.....	32
3.1.3. Στάδια και κλινικές εκδηλώσεις.....	34
3.1.4. AD και αυτοφαγία .....	36
3.1.5. AD και βλάβες στο DNA.....	38
3.1.6. AD και οξειδωτικό στρες.....	39
3.2. Νόσος Parkinson (PD) .....	39
3.2.1. Ορισμός.....	39
3.2.2. Παθοφυσιολογία.....	40
3.2.3. Κλινικές Εκδηλώσεις.....	41
3.2.4. PD αυτοφαγία και οξειδωτικό στρες.....	43
3.3. Νόσος Huntington (HD).....	45
3.3.1. Ορισμός.....	45

3.3.2. Παθοφυσιολογία.....	46
3.3.3. Κλινικές Εκδηλώσεις.....	47
3.3.4. HD και αυτοφαγία .....	48
3.3.5. HD και οξειδωτικό στρες.....	50
3.4. Πλάγια Μυατροφική Σκλήρυνση (ALS).....	51
3.4.1. Ορισμός.....	51
3.4.2. Παθοφυσιολογία.....	52
3.4.3. Κλινικές Εκδηλώσεις.....	52
3.5.4. ALS και αυτοφαγία.....	53
3.4.4. ALS και οξειδωτικό στρες .....	54
3.5.5. ALS και μιτοχονδριακή δυσλειτουργία.....	55
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	58
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	60
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	73

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η γήρανση, η οποία χαρακτηρίζεται ευρέως ως μια χρονικά εξαρτώμενη λειτουργική παρακμή που επηρεάζει τους περισσότερους ζώντες οργανισμούς, έχει προσελκύσει την περιέργεια των ανθρώπων από την αρχαιότητα.<sup>(1)</sup>

Η γήρανση είναι αναμφισβήτητα η πιο γνωστή αλλά παράλληλα η λιγότερο κατανοητή πτυχή της ανθρώπινης βιολογίας. Αναρωτώμενος κανείς γιατί συμβαίνει η γήρανση, εισέρχεται στη σφαίρα της εξελικτικής βιολογίας, η οποία όλο και περισσότερο θεωρείται σημαντική για την κατανόηση της υγείας και της ασθένειας. Στην περίπτωση της γήρανσης, η πρόκληση στην εξελικτική θεωρία είναι να εξηγήσει γιατί η γήρανση συμβαίνει παρά τα προφανή μειονεκτήματά της. Η γήρανση χαρακτηρίζεται συνήθως ως προοδευτική γενικευμένη βλάβη της λειτουργίας, με αποτέλεσμα την αυξανόμενη ευαισθησία στην περιβαλλοντική πρόκληση και τον αυξανόμενο κίνδυνο εμφάνισης ασθενειών και θανάτου. Συνήθως συνοδεύεται από μείωση της γονιμότητας. Έτσι, η γήρανση σχετίζεται με μεγάλες απώλειες της δαρβινικής ικανότητας λόγω ηλικίας, θέτοντας το ερώτημα γιατί δεν έχει αντιταχθεί πιο αποτελεσματικά η φυσική επιλογή.<sup>(2)</sup>

Σε κυτταρικό επίπεδο, η γήρανση σχετίζεται με αλληλεξαρτώμενες βλάβες και δυσλειτουργίες, συμπεριλαμβανομένων της καταστροφής του DNA στον πυρήνα και τα μιτοχόνδρια, την αυτοφαγία και την απόκριση στο οξειδωτικό στρες.

Οι βλάβες στο DNA μπορούν να προκαλέσουν μιτοχονδριακή δυσλειτουργία που οδηγεί σε αυξημένη παραγωγή δραστικών οξειδωτικών ειδών (ROS) και μειωμένη παραγωγή ATP, οξειδωτική βλάβη σε πρωτεΐνες και άλλα μακρομόρια στα κύτταρα, πρωτεϊνική αναδίπλωση και συσσωμάτωση, πρωτεϊνική γλυκοζυλίωση, επαγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών και telomere shortening. Αυτά θα επηρεάσουν τους μιτωτικά ενεργούς ιστούς με την πάροδο του χρόνου προκαλώντας την εξάντληση των βλαστικών κυττάρων με γήρανση και την απόπτωση προκαλώντας κυτταρική δυσλειτουργία και απώλεια.<sup>(3)</sup>

Όσον αφορά την αυτοφαγία, αυτή συμπεριλαμβάνει τις διαφορετικές οδούς που χρησιμοποιούν τα κύτταρα για να παρέχουν κυτταροπλασματικά υποστρώματα σε

λυσosώματα για αποικοδόμηση. Πρόκειται για μια διαδικασία κυτταρικού αυτοκαταστροφικού στην οποία τμήματα του κυτταροπλάσματος απομονώνονται μέσα σε διπλά ή πολυμεμβρανικά κυστίδια (αυτοφαγosώματα) και στη συνέχεια χορηγούνται σε λυσosώματα για αποικοδόμηση. Η αυτοφαγία είναι κυτταροπροστατευτική (και όχι αυτοκαταστροφική) διαδικασία. Κατά συνέπεια, η αυτοφαγία μπορεί να μεσολαβήσει προστατευτικά σε μεμονωμένα κύτταρα ή όργανα. Πέρα από τη λειτουργία της στην προσαρμογή μεμονωμένων κυττάρων ή οργάνων σε μεταβαλλόμενες συνθήκες, η αυτοφαγία έχει εξέχοντα ρόλο στον προσδιορισμό της διάρκειας ζωής πολλών μοντέλων οργανισμών. Η μειωμένη αυτοφαγία έχει συσχετιστεί με την επιταχυνόμενη γήρανση, ενώ η διέγερση της αυτοφαγίας μπορεί να έχει ισχυρές αντιγηραντικές επιδράσεις.<sup>(4)</sup>

Ένα πιθανό φυσιολογικό κόστος που προκύπτει από μεταβολικά δαπανηρές δραστηριότητες είναι η αυξημένη βλάβη των κυτταρικών συστατικών από μόρια υψηλής αντίδρασης που αποτελούν υποπροϊόντα μεταβολισμού. Η θεωρία του οξειδωτικού στρες σχετιζόμενου με την γήρανση υποστηρίζει ότι οι ελεύθερες ρίζες βλάπτουν διάφορα κυτταρικά συστατικά (π.χ. λιπίδια, πρωτεΐνες και DNA) και ότι ο ρυθμός και / ή η ποσότητα της βλάβης αυξάνεται με την προχωρημένη ηλικία με αποτέλεσμα αυτή η βλάβη να προκαλεί τη γήρανση.<sup>(5)</sup>

Η γήρανση θεωρείται σημαντικός παράγοντας κινδύνου για νευροεκφυλιστικές νόσους (όπως η νόσος Alzheimer και η νόσος Parkinson). Έτσι, η καλύτερη κατανόηση των ομοιοτήτων μεταξύ της διαδικασίας γήρανσης και των νευροεκφυλιστικών ασθενειών σε κυτταρικό και μοριακό επίπεδο μπορεί να αποκαλύψει μία καλύτερη κατανόηση αυτής της καταστροφικής σχέσης.<sup>(6)</sup>

Ο νευροεκφυλισμός είναι ένας όρος που χρησιμοποιείται για να περιγράψει νοσήματα του νευρικού συστήματος, στα οποία παρουσιάζεται προοδευτική απώλεια δομής ή λειτουργίας των νευρικών κυττάρων. Τα νευροεκφυλιστικά νοσήματα αντιπροσωπεύουν μια μεγάλη ομάδα νοσημάτων με ετερογένεια στις κλινικές και παθολογικές εκδηλώσεις τους, κάποιες από τις οποίες αποβαίνουν μοιραίες για τη ζωή του ανθρώπου. Στα νευροεκφυλιστικά νοσήματα κατατάσσονται νοσήματα όπως η νόσος Alzheimer, Parkinson, μυοτονική ατροφία και άλλα. Τα τελευταία χρόνια ο ρυθμός εμφάνισής τους έχει αυξηθεί, ιδιαίτερα στις αναπτυγμένες χώρες καθώς έχει ανέβει ο μέσος όρος ηλικίας και τα νοσήματα αυτά εμφανίζονται κατά κύριο λόγο στα



ηλικιωμένα άτομα. Πολλοί ηλικιωμένοι εμφανίζουν συμπτώματα παρόμοια με αυτά του νευροεκφυλισμού, γεγονός που οδήγησε στην υπόθεση ότι ο νευροεκφυλισμός σχετίζεται με την γήρανση. Οι μηχανισμοί που παρουσιάζονται στην γήρανση ( βλάβες στο DNA, αυτοφαγία, οξειδωτικό στρες) είναι κοινοί και με αυτούς που ευθύνονται για τον νευροεκφυλισμό. <sup>(7)</sup>

Στην παρούσα εργασία θα μελετήσουμε την γήρανση, τον νευροεκφυλισμό, τα νευροεκφυλιστικά νοσήματα και το πώς αλληλοσχετίζονται μεταξύ τους.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΓΗΡΑΝΣΗ

### 1.1. Γήρανση και εξελικτική θεωρία

Η κατανόηση της διαδικασίας γήρανσης αντιπροσωπεύει ένα από τα βασικά προβλήματα της τρέχουσας βασικής και εφαρμοσμένης βιολογίας. Ένας λόγος γι' αυτό είναι ότι η γήρανση είναι μια περίπλοκη και πολυδιάστατη διαδικασία. Η εγγενής πολυπλοκότητά της μπορεί να κατανοηθεί καλύτερα όταν εξετάζεται από μια εξελικτική οπτική. Σε αντίθεση με τη βιογεροντολογική έρευνα, η οποία επικεντρώνεται στη λειτουργική κατανόηση της διαδικασίας γήρανσης και αναζητά πιθανούς τρόπους για την άμβλυνση των παθολογιών, η εξελικτική προοπτική θεωρεί τις λειτουργικές αποκλίσεις ως συνέπεια/απόρροια και όχι ως αιτία γήρανσης. Οι εξελικτικές οπτικές της γήρανσης αποσκοπούν στην κατανόηση της εξέλιξης της γήρανσης, στο γιατί αυτή δεν εξαλείφεται από τη φυσική επιλογή και γιατί τα πρότυπα γήρανσης ποικίλλουν μεταξύ των ατόμων, των πληθυσμών και των διαφόρων ειδών/ζωντανών οργανισμών<sup>(2)</sup>.

Οι εξελικτικές θεωρίες της γήρανσης εξετάζουν την εμφάνιση και την επιμονή των λειτουργικών μειώσεων μέσα στην ευρύτερη έννοια της εξελικτικής βιολογίας. Ο επιπολασμός της γήρανσης είναι αινιγματικός διότι, με ασυνήθιστη σπατάλη, οδηγεί στην καταστροφή ατόμων, τα οποία κατάφεραν να αναπτύξουν ένα πολύπλοκο σωματίδιο από ένα μόνο κύτταρο, ώστε να αποτύχουν αργότερα στο φαινομενικά απλό έργο της διατήρησης όσων έχουν ήδη σχηματιστεί. Η εξελικτική θεωρία προσφέρει μια ικανοποιητική απάντηση σε αυτό το παζλ, δείχνοντάς μας γιατί αυτό είναι απαραίτητο για ορισμένους οργανισμούς, άλλοι ίσως ξεφύγουν από τη διαδικασία γήρανσης<sup>(2)</sup>.

Οι κλασικές εξελικτικές θεωρίες της γήρανσης (CETA) εξαρτώνται από το επιχείρημα ότι η γήρανση εξελίχθηκε και διατηρείται. Αυτό το επιχείρημα αναγνωρίζει ότι όλοι οι οργανισμοί πεθαίνουν αναπόφευκτα από εξωγενείς πηγές, είτε πρόκειται για ατύχημα, θήρευση, ασθένειες ή για εξαιρετικά σκληρές συνθήκες. Ως εκ τούτου, κανένα άτομο δεν είναι αθάνατο, ανεξάρτητα από την ύπαρξη της γήρανσης. Από μια εξελικτική οπτική, αυτό καθιστά τις μεταγενέστερες περιόδους ζωής λιγότερο σημαντικές και σταδιακά λιγότερα άτομα ξεφεύγουν από τις εξωγενείς πηγές θνησιμότητας για να βιώσουν τις επιπτώσεις της φυσικής επιλογής<sup>(8)</sup>.

Η διαδικασία της γήρανσης αποτελεί ένα ενδιαφέρον βιολογικό πρόβλημα που συντελεί στη βαθμιαία εκφύλιση των σωματικών και των πνευματικών λειτουργιών, η οποία επέρχεται με το χρόνο και οδηγεί στην τελική σιγή του ανθρώπινου οργανισμού. Από καθαρά βιολογική άποψη η γήρανση είναι μία εξελικτική διαδικασία που αρχίζει από τη στιγμή της συλλήψεως και διαρκεί σε όλη τη διάρκεια της ζωής του ανθρώπου. Η Βιολογική γήρανση είναι η προοδευτική διαδικασία που χαρακτηρίζεται στις μεταβολές της ιστικής σύνθεσης και λειτουργίας των διαφόρων οργάνων, οι οποίες τελικά οδηγούν στη βιολογική και την πνευματική έκπτωση του ανθρώπου και αυξάνουν προοδευτικά την πιθανότητα θανάτου. Η γήρανση δεν είναι νόσος, αλλά φυσιολογική κατάσταση, που όμως παρουσιάζει πολλές παραδοξότητες. Βασικότερη είναι εκείνη που, ενώ εντάσσεται στο πλαίσιο της φυσιολογικής ανελίξεως της ζωής, εντούτοις αποτελεί κατάληξή της, η οποία συνεπάγεται έκπτωση των λειτουργιών της. Τέλος, η γήρανση έχει περιγραφεί σαν περίοδος εξασθένησης του ανοσολογικού συστήματος, δηλαδή μείωσης της έντασης της ανοσολογικής απάντησης έναντι των φλεγμονωδών νόσων και των άλλων κακοηθών καταστάσεων<sup>(9)</sup>. (Εικόνα 1. Παράρτημα).

Η γήρανση καθορίζεται όταν πληρούνται δύο κριτήρια. Πρώτον, η πιθανότητα θανάτου σε οποιαδήποτε χρονική στιγμή αυξάνεται με την ηλικία του οργανισμού. Αυτός ο στατιστικός ορισμός ισχύει από τους μύκητες μέχρι και τα θηλαστικά και αντανακλά την προοδευτική φύση της γήρανσης. Δεύτερον, χαρακτηριστικές αλλαγές στον φαινότυπο εμφανίζονται σε όλα τα άτομα με την πάροδο του χρόνου λόγω των περιοριστικών διαδικασιών. Ο φαινοτυπικός ορισμός είναι εξίσου γενικός ενώ ταυτόχρονα είναι χρήσιμος στην διάκριση της ίδιας της διαδικασίας γήρανσης από παθήσεις γήρανσης, όπως ο καρκίνος και η καρδιακή νόσος. Οι φαινότυποι γήρανσης επηρεάζουν όλα τα άτομα σε έναν πληθυσμό, ενώ οι παθήσεις της γήρανσης επηρεάζουν μόνο ένα υποσύνολο. Και τα δύο επιδρούν στο προσδόκιμο ζωής αλλά με διαφορετικό τρόπο. Για παράδειγμα, οι πρόοδοι στην ιατρική και τη δημόσια υγεία τα τελευταία χρόνια έχουν προκαλέσει μεγάλη αύξηση στη διάρκεια ζωής των ανθρώπων στις ανεπτυγμένες χώρες. Ωστόσο, επειδή αυτές οι πρόοδοι δεν έχουν αλλάξει τη διαδικασία της γήρανσης δεν έχει υπάρξει ουσιαστική αλλαγή στο προσδόκιμο ζωής.<sup>(2)(8)(9)(10)</sup>

Αρκετοί δρόμοι για τη μελέτη της γήρανσης μας έχουν τοποθετήσει στο κατώφλι της κατανόησης των βασικών μηχανισμών της. Αυτές οι προσεγγίσεις περιλαμβάνουν την αναγνώριση των βασικών γονιδίων και μονοπατιών που είναι σημαντικά στη γήρανση, όπως η αυτοφαγία των κυττάρων, οι βλάβες στο DNA και το οξειδωτικό στρες.

## 1.2. Γήρανση και Αυτοφαγία

Η αυτοφαγία είναι μια εξελικτικά διατηρημένη κυτταρική διεργασία, η οποία χαρακτηρίζεται από την εμφάνιση αυτοφαγοσωμάτων διπλής μεμβράνης που απομονώνονται από τμήματα των κυτταρικών σωμάτων και του κυτταροπλάσματος και στη συνέχεια τα παραδίδουν στα λυσοσώματα για αποικοδόμηση. Μετά την καταστροφή του αυτοφαγικού φορτίου απελευθερώνονται στο κυτταρόπλασμα αμινοξέα, νουκλεοτίδια, λιπαρά οξέα, σάκχαρα, δομικά στοιχεία και επαναχρησιμοποιούνται σε μεταβολικές οδούς. Επομένως, η αυτοφαγία είναι ζωτικής σημασίας για τη διατήρηση της κυτταρικής ομοιόστασης καθώς και για την αναδιαμόρφωση κατά τη διάρκεια της φυσιολογικής ανάπτυξης και διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στην αντιμετώπιση των δυσμενών συνθηκών όπως η λιμοκτονία και οι ενδογενείς ή εξωγενείς κυτταρικές πιέσεις (υποξία, ενδοπλασματικό στρες και βακτηριακές λοιμώξεις).<sup>(11)</sup> Οι δυσλειτουργίες στην αυτοφαγία έχουν συσχετιστεί με μια ποικιλία παθολογιών που περιλαμβάνουν καρκίνο<sup>(12)</sup>, νευροεκφυλιστικές διαταραχές, μεταβολικές ασθένειες<sup>(13)</sup> και καρδιαγγειακά νοσήματα<sup>(10)</sup>.

Ο σχηματισμός του αυτοφαγοσώματος κυριαρχείται από μια σειρά γονιδίων σχετιζόμενα με την αυτοφαγία (ATG) και από συμπλέγματα πρωτεϊνών που δρουν διαδοχικά, έτσι ώστε η αυτοφαγία να διεγείρεται όταν χρειάζεται, αλλά διαφορετικά να διατηρείται σε βασικό επίπεδο. Το σύμπλεγμα ULK1 (ULK1 / 2-ATG13-FIP200-ATG101) ευθύνεται για επαγωγή αυτοφαγίας, το σύμπλεγμα 3 φωσφατιδυλοϊνσιτόλης 3-κινάσης (PI3K) / VPS34 κατηγορίας III (VPS34, Beclin 1, ATG14 και VSP15 αποτελούν τον πυρήνα αυτής ενώ τα Bif, Ambra1 και UVRAG ρυθμίζουν θετικά τη δράση του) είναι υπεύθυνο για την έναρξη των αυτοφαγοσωμάτων, τα ATG12-ATG5-ATG16L1 και LC3-I / LC3-PE (LC3-II) είναι υπεύθυνα για την επέκταση και το κλείσιμο των αυτοφαγοσωματικών διπλών μεμβρανών. Μετά την ωρίμανση του αυτοφαγοσώματος, η εξωτερική μεμβράνη συνδέεται με τη λυσοσωμική μεμβράνη, η εσωτερική μεμβράνη και τα περιεχόμενα αποικοδομούνται με υδρόλυση στο λυσόσωμα, δημιουργώντας έτσι αμινοξέα και άλλα

κυτταρικά δομικά στοιχεία που ανακυκλώνονται από το κύτταρο. Αυτή η διαδικασία είναι ένας ποιοτικός μηχανισμός ελέγχου για τα κυτταρικά οργανίδια και τις πρωτεΐνες.<sup>(11)</sup>

Η πρώτη ένδειξη ότι η αυξημένη αυτοφαγία μπορεί να συμβάλει στη μακροζωία προέρχεται από την παρατήρηση της αναστολής της οδού του ινσουλινοειδούς αυξητικού παράγοντα που προκαλεί αυτοφαγία στο *C. elegans* και από το γεγονός ότι η αναστολή της αυτοφαγίας με μετάλλαξη των βασικών γονιδίων *Atg* οδηγεί σε βράχυνση του προσδόκιμου ζωής.<sup>(4)</sup>

Ο θερμιδικός περιορισμός (CR) ορίζεται ως η απαραίτητη πρόσληψη τροφής χωρίς να επέλθει υποσιτισμός. Είναι η βασική παρέμβαση κατά της γήρανσης που επεκτείνει τη διάρκεια ζωής στα περισσότερα ζώα που έχουν ελεγχθεί μέχρι τώρα συμπεριλαμβανομένων των πιθήκων *rhesus*, στους οποίους μειώνεται η συχνότητα εμφάνισης διαβήτη, καρδιαγγειακής νόσου, καρκίνου, και ατροφία του εγκεφάλου.<sup>(4)</sup> Επιδημιολογικές μελέτες δείχνουν ότι ο CR είναι επίσης ευεργετικός και για την ανθρώπινη υγεία<sup>(4)</sup>. Ο CR είναι ο φυσιολογικός επαγωγέας της αυτοφαγίας και η αναστολή της αυτοφαγίας καταστέλλει τις αντι-γήραντικές δράσεις του CR σε όλα τα είδη που έχουν εξεταστεί μέχρι στιγμής<sup>(4)</sup>. Ο CR προκαλεί αυτοφαγία μέσω της ενεργοποίησης ενός από δύο ενεργειακούς αισθητήρες AMPK και Sirtuin 1 (SIRT1), οι οποίοι εμπλέκονται σε έναν θετικό βρόχο αμοιβαίας ενεργοποίησης. Επιπλέον, ο CR μπορεί να προκαλέσει αυτοφαγία μέσω της αναστολής της σηματοδότησης του ινσουλινόμορφου αυξητικού παράγοντα (IGF), η οποία επίσης έχει ως αποτέλεσμα την αναστολή του mTOR (Mammalian Target Of Rapamycin- στόχος της ραπαμυκίνης στα θηλαστικά).<sup>(14)</sup> Ο mTOR είναι ένας πρωταρχικός αρνητικός ρυθμιστής της αυτοφαγίας στους οργανισμούς από τους μύκητες μέχρι τους ανθρώπους. Ο mTOR αναστέλλεται υπό συνθήκες πείνας και αυτό ενεργοποιεί την αυτοφαγία που επάγεται από την πείνα μέσω ενεργοποίησης των στόχων mTOR *Atg13*, *ULK1* και *ULK2*. Αυτή την διέγερση μπορούν να μιμηθούν φάρμακα, αναστολείς του mTOR, όπως η ραπαμυκίνη.<sup>(4)</sup>

(Εικόνα 2. Παράρτημα)

### 1.3. Γήρανση και βλάβες του DNA

Η βλάβη του DNA προκαλείται από μία μεγάλη ποικιλία περιβαλλοντικών παραγόντων, γενεοτοξικών χημικών ουσιών και κυτταρικού μεταβολισμού. Ανάλογα με την πηγή βλάβης, το DNA μπορεί να αλλοιωθεί με διάφορους τρόπους, συμπεριλαμβανομένων αλλαγών στα νουκλεοτίδια (μετάλλαξη, αντικατάσταση, απαλοιφή και προσθήκη) και σπάσιμο της διπλής έλικας.<sup>(15)</sup>

Πρόσφατα, έχουν απαριθμηθεί οχτώ χαρακτηριστικά γνωρίσματα της γήρανσης: η αστάθεια του γονιδιώματος, η τριβή των τελομερών, οι επιγενετικές αλλοιώσεις, η κυτταρική γήρανση, η μιτοχονδριακή δυσλειτουργία, η απώλεια πρωτεόστασης και η εξάντληση των βλαστοκυττάρων.<sup>(15)</sup> (Εικόνα 3. Παράρτημα)

Στη συνέχεια, θα αναλυθούν εν συντομία τα προαναφερθέντα χαρακτηριστικά.

#### Αστάθεια του γονιδιώματος:

Η αστάθεια του γονιδιώματος έχει από καιρό εμπλακεί ως ο κύριος αιτιώδης παράγοντας στη γήρανση. Τα σωματικά κύτταρα εκτίθενται συνεχώς σε διάφορες πηγές βλάβης του DNA, από αντιδραστικά είδη οξυγόνου έως υπεριώδη ακτινοβολία και περιβαλλοντικά μεταλλαξιογόνα. Για την αντιμετώπιση των δεκάδων χιλιάδων χημικών βλαβών που εισάγονται στο γονιδίωμα ενός τυπικού κυττάρου κάθε μέρα, ένα σύνθετο δίκτυο συντήρησης γονιδιώματος ενεργεί για την απομάκρυνση της ζημιάς και την αποκατάσταση της σωστής ακολουθίας ζευγών βάσεων. Περιστασιακά, ωστόσο, η επισκευή είναι λανθασμένη και τέτοια σφάλματα, καθώς και η περιστασιακή αποτυχία να αναπαράγεται σωστά το γονιδίωμα κατά τη διαίρεση των κυττάρων, είναι η βάση για μεταλλάξεις. Υπάρχουν πλέον άφθονες ενδείξεις ότι οι μεταλλάξεις συσσωρεύονται σε διάφορα όργανα και ιστούς ανώτερων ζώων, συμπεριλαμβανομένων ανθρώπων, ποντικών και μυγών. Αυτό που δεν είναι γνωστό, ωστόσο, είναι εάν η συχνότητα αυτών των τυχαίων αλλαγών είναι αρκετή για να προκαλέσει τα φαινοτυπικά αποτελέσματα που σχετίζονται γενικά με τη γήρανση<sup>(16)</sup>.

Με μια ευρεία έννοια, η γήρανση των πολυκύτταρων οργανισμών είναι η διαδικασία της προοδευτικής απώλειας προσαρμοστικών ικανοτήτων με το πέρασμα του χρόνου. Η γήρανση συνοδεύεται πάντα από λειτουργική πτώση στους περισσότερους ιστούς και όργανα, αλλά το ακριβές μοτίβο αυτών των αλλαγών ποικίλλει από άτομο σε άτομο και εξαρτάται από το γονότυπο και τις περιβαλλοντικές συνθήκες. Είναι πιθανό ότι στις

περισσότερες περιπτώσεις οι κυτταρικές αλλαγές είναι η τελική αιτία των εκφυλιστικών φαινοτύπων που παρατηρούνται σε ηλικιωμένους οργανισμούς. Ως εκ τούτου, η αστάθεια του γονιδιώματος θα μπορούσε, άμεσα ή έμμεσα, να είναι η κύρια αιτία της γήρανσης<sup>(53)</sup>.

Η αστάθεια του πυρηνικού γονιδιώματος είναι μια ευρεία έννοια. Πρέπει να γίνουν διακρίσεις μεταξύ της βλάβης του DNA και των συνεπειών του - απόπτωση, κυτταρική γήρανση, μεταλλάξεις και επιγενετικές μεταβολές. Η βλάβη του DNA είναι ένα πρωταρχικό συμβάν, που προκαλείται τόσο από εξωγενείς όσο και από εγγενείς παράγοντες, και περιλαμβάνει χημικές αλλοιώσεις στη δομή του DNA, οδηγώντας σε ένα μη ενημερωτικό πρότυπο. Δηλαδή, μια δομή που δεν μπορεί πλέον να χρησιμεύσει ως υπόστρωμα για πιστή αναπαραγωγή ή μεταγραφή. Η αυθόρμητη βλάβη του DNA σε ζωικά κύτταρα και ιστούς προκαλείται με υψηλή συχνότητα ως συνέπεια της υδρόλυσης, της οξειδωσης και άλλων φυσικών, χημικών και βιολογικών διεργασιών<sup>(54)</sup>.

Ωστόσο, το επίπεδο σταθερής κατάστασης είναι χαμηλό λόγω αποτελεσματικών μηχανισμών επισκευής. Ενώ έχουν γίνει πολλές προσπάθειες ποσοτικοποίησης της αυθόρμητης βλάβης του DNA, η πιθανότητα για τεχνούργημα έχει μέχρι στιγμής αποκλείσει οποιαδήποτε σταθερά συμπεράσματα σχετικά με μια πιθανή αύξηση που σχετίζεται με την ηλικία. Αυτό που γνωρίζουμε, ωστόσο, είναι ότι υπό κανονικές συνθήκες το επίπεδο είναι εξαιρετικά χαμηλό, δηλαδή όχι περισσότερες από μία ή λίγες βλάβες ανά εκατομμύριο βάσεις. Υπήρξαν επίσης πολλές εικασίες σχετικά με την υποθετική μείωση των δραστηριοτήτων επιδιόρθωσης του DNA ως πιθανός παράγοντας που συμβάλλει στην αύξηση της βλάβης του DNA κατά τη γήρανση<sup>(53)</sup>.

Ωστόσο, η επιδιόρθωση του DNA είναι πολύ δύσκολο να μετρηθεί, ειδικά *in vivo*, και η μείωση μιας συγκεκριμένης ενζυματικής δραστηριότητας με την ηλικία θα μπορούσε απλώς να δείξει μια μετατόπιση στη χρήση οδών ή μια μειωμένη ανάγκη για αυτήν τη δραστηριότητα, για παράδειγμα, λόγω της μείωσης της πολλαπλασιαστική δραστηριότητα κυττάρων. Πρέπει επίσης να διακρίνουμε τη δραστηριότητα επιδιόρθωσης του DNA από την ακρίβεια, γεγονός που καθιστά ακόμη πιο δύσκολη την ερμηνεία του μεγάλου όγκου συχνά συγκρουόμενων δεδομένων. Αντί για άμεση επίδραση της βλάβης του DNA, όπως καθορίζεται από την ικανότητα επιδιόρθωσης του DNA του ιστού ή του οργανισμού, μια πιο πιθανή αιτία γήρανσης και ασθένειας

που σχετίζεται με την ηλικία μπορεί να βρεθεί στις συνέπειες της επεξεργασίας βλάβης του DNA<sup>(16)</sup>.

Μόλις προκληθεί, η βλάβη του DNA ανιχνεύεται από μηχανισμούς check-point control που προκαλούν κυτταρική απόκριση. Ανάλογα με τον τύπο και τη σοβαρότητα των βλαβών του DNA και τον τύπο και τη φυσιολογική κατάσταση του κυττάρου, αυτή η απόκριση μπορεί να είναι διπλή. Πρώτον, το κύτταρο ξεκινά ένα σύνολο δραστηριοτήτων επιδιόρθωσης DNA με αποτέλεσμα την αποκατάσταση της αρχικής χημικής δομής. Αυτό, ωστόσο, μερικές φορές συνοδεύεται από σφάλματα κατά τη σύνθεση νέων κλώνων DNA, τον χειρισμό των άκρων του DNA (σε περίπτωση θραύσεις διπλών κλώνων) ή την αποκατάσταση των κατάλληλων προτύπων τροποποίησης DNA ή ιστόνης. Δεύτερον, όταν η βλάβη είναι σοβαρή, το κύτταρο μπορεί να επιλέξει να αυτοαπομακρυνθεί μέσω μιας διαδικασίας που ονομάζεται προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος ή απόπτωση. Εναλλακτικά, σε περίπτωση μιτωτικά ενεργών κυττάρων, η προσωρινή ή μόνιμη διακοπή του κυτταρικού κύκλου θα αποτρέψει τη συσσώρευση μετάλλαξης<sup>(53)</sup>.

### Βράχυνση τελομερών

Σε πολλούς ανθρώπινους σωματικούς ιστούς, η μείωση της ικανότητας κυτταρικής διαίρεσης με την ηλικία φαίνεται να συνδέεται με το γεγονός ότι τα τελομερή, τα οποία προστατεύουν τα άκρα των χρωμοσωμάτων, σταδιακά μειώνονται καθώς τα κύτταρα διαιρούνται. Αυτό οφείλεται στην απουσία του ενζύμου τελομεράση, η οποία κανονικά εκφράζεται μόνο σε γεννητικά κύτταρα (σε όρχεις και ωοθήκες) και σε ορισμένα ενήλικα βλαστοκύτταρα. Μερικοί επιστήμονες έχουν υποδείξει ότι κατά τον διαχωρισμό των σωματικών κυττάρων τα τελομερή δρουν ως εγγενής "μετρητής διαίρεσης", ίσως για να μας προστατεύσουν από την διαφυγή της κυτταρικής διαίρεσης όπως συμβαίνει στον καρκίνο, αλλά προκαλούν τη γήρανση ως τίμημα για την προστασία αυτή. Ενώ η απώλεια του τελομερούς DNA συνήθως αποδίδεται στο πρόβλημα της λεγόμενης "τελικής αντιγραφής" (η αδυναμία του κανονικού μηχανισμού αντιγραφής DNA να αντιγραφεί ακριβώς προς το άκρο του κλώνου απουσία τελομεράσης) έχει βρεθεί ότι το άγχος, ιδιαίτερα το οξειδωτικό στρες, έχει ακόμη μεγαλύτερη επίδραση στο ρυθμό απώλειας τελομερών. Η μείωση των τελομερών επιταχύνεται (ή επιβραδύνεται) σε κύτταρα με αυξημένα (ή μειωμένα) επίπεδα στρες.<sup>(2)</sup>



### Επιγενετικές αλλοιώσεις

Μια ποικιλία επιγενετικών αλλοιώσεων επηρεάζει όλα τα κύτταρα και τους ιστούς καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής τους. Οι επιγενετικές μεταβολές περιλαμβάνουν μεταβολές στα πρότυπα μεθυλίωσης του DNA, στην μετά μεταφραστική τροποποίηση των ιστονών και στην αναδιαμόρφωση χρωματίνης. Η αυξημένη ακετυλίωση της H4K16 της ιστόνης, η τριμεθυλίωση του H4K20 ή η τριμεθυλίωση του H3K4, καθώς και η μειωμένη μεθυλίωση του H3K9 ή η τριμεθυλίωση του H3K27, αποτελούν επιγενετικά σημάδια που σχετίζονται με την ηλικία. Τα πολλαπλά ενζυματικά συστήματα που εξασφαλίζουν την παραγωγή και διατήρηση επιγενετικών μοτίβων περιλαμβάνουν DNA μεθυλοτρανσφεράσες, ακετυλάσες ιστονών, δεακετυλάσες, μεθυλάσες και απομεθυλάσες, καθώς και σύμπλοκα πρωτεϊνών που εμπλέκονται στην αναδιαμόρφωση της χρωματίνης.<sup>(1)</sup>

### Κυτταρική γήρανση

Τι περιμένουμε όμως σε κυτταρικό επίπεδο; Αναμένεται ότι θα υπάρξει σημαντική μικροετερογένεια στους ηλικιωμένους ιστούς, καθώς η βλάβη είναι εγγενώς στοχαστική. Έτσι, τα κατεστραμμένα κύτταρα είναι πιθανό να συνυπάρχουν παράλληλα με σχετικά μη κατεστραμμένα κύτταρα. Ένα από τα σημαντικότερα ανεπίλυτα ζητήματα αφορά τη συχνότητα εμφάνισης σοβαρών βλαβών στα κύτταρα που μπορεί να οδηγήσουν στο να προκληθεί σημαντική βλάβη στη λειτουργία των ιστών.<sup>(2)</sup>

### Μιτοχονδριακή δυσλειτουργία

Τα μιτοχόνδρια είναι τα μόνα οργανίδια στα κύτταρα, εκτός από τον πυρήνα, που περιέχουν το δικό τους DNA (που ονομάζεται μιτοχονδριακό DNA) και το δικό τους μηχανισμό για τη σύνθεση RNA και πρωτεϊνών. Το μιτοχονδριακό DNA αποτελεί περίπου το 1% του συνολικού κυτταρικού DNA και πιστεύεται ότι είναι ιδιαίτερα ευαίσθητο σε επίθεση ROS (reactive oxygen species) που σχετίζεται με το οξειδωτικό στρες. Η επιμονή της μιτοχονδριακής βλάβης του DNA τελικά οδηγεί σε μεταλλάξεις στο μιτοχονδριακό γονιδίωμα και προκαλεί περαιτέρω μιτοχονδριακή δυσλειτουργία, η οποία επάγει και επιδεινώνει τις ασθένειες.<sup>(17)</sup>

### Απώλεια πρωτεόστασης

Η γήρανση και ορισμένες ασθένειες που σχετίζονται με τη γήρανση συνδέονται με την εξασθένιση της πρωτεϊνικής ομοιόστασης ή της πρωτεόστασης. Όλα τα κύτταρα εκμεταλλεύονται μια σειρά μηχανισμών ελέγχου ποιότητας για τη διατήρηση της σταθερότητας και της λειτουργικότητας των πρωτεομίων τους. Η πρωτεόσταση περιλαμβάνει μηχανισμούς για τη σταθεροποίηση σωστά πτυχωμένων πρωτεϊνών και μηχανισμούς για την αποικοδόμηση πρωτεϊνών από το πρωτεάσωμα ή το λυσόσωμα. Επιπλέον, υπάρχουν ρυθμιστές της σχετιζόμενης με την ηλικία πρωτεϊνοτοξικότητας, όπως το MOAG-4, που δρουν μέσω μιας εναλλακτικής οδού διαφορετικής από τις μοριακές chaperones και τις πρωτεάσες. Όλα αυτά τα συστήματα λειτουργούν με συντονισμένο τρόπο για να αποκαταστήσουν τη δομή των λανθασμένα πτυχωμένων πολυπεπτιδίων ή για να τα αφαιρέσουν και να τα αποικοδομήσουν εντελώς. Με αυτόν τον τρόπο, αποτρέπεται η συσσώρευση κατεστραμμένων συστατικών και εξασφαλίζεται η συνεχής ανανέωση των ενδοκυτταρικών πρωτεϊνών.<sup>(1)</sup>

### Εξάντληση βλαστοκυττάρων.

Η εξάντληση των βλαστοκυττάρων ξεδιπλώνεται ως ενοποιητική συνέπεια πολλαπλών τύπων βλαβών που σχετίζονται με τη γήρανση και αποτελεί πιθανώς έναν από τους τελικούς ενόχους της γήρανσης των ιστών και των οργανισμών.<sup>(18)</sup>

(Εικόνα 4. Παράρτημα)

### 1.4. Γήρανση και οξειδωτικό στρες

Το οξειδωτικό στρες χαρακτηρίζεται από την υπερπαραγωγή των αντιδραστικών ειδών οξυγόνου (ROS), η οποία μπορεί να οδηγήσει σε μιτοχονδριακή βλάβη, σε οξειδωτική βλάβη στα λιπίδια, στο DNA και στις πρωτεΐνες<sup>(19)</sup>.

Τα αντιδραστικά είδη οξυγόνου (ROS) είναι εξαιρετικά αντιδραστικά μόρια που αποτελούνται από διάφορα χημικά είδη, όπως ανιόν υπεροξειδίου ( $O_2^-$ ), ρίζα υδροξυλίου ( $\cdot OH$ ) και υπεροξείδιο του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ). Λόγω των δυνατοτήτων τους μπορεί να προκαλέσουν οξειδωτική επιδείνωση του DNA, των πρωτεϊνών και των λιπιδίων. Τα ROS έχουν αναγνωριστεί ως ένας από τους κύριους παράγοντες που

προκαλούν γήρανση. Καθώς τα ROS παράγονται κυρίως ως υποπροϊόντα μιτοχονδριακής αναπνοής, τα μιτοχόνδρια θεωρούνται πρωταρχικός στόχος οξειδωτικής βλάβης και παίζουν σημαντικό ρόλο στη γήρανση. Τα νέα δεδομένα έχουν συνδέσει τη μιτοχονδριακή δυσλειτουργία με ποικίλες ασθένειες που σχετίζονται με την ηλικία, συμπεριλαμβανομένων των νευροεκφυλιστικών ασθενειών και του καρκίνου<sup>(17)</sup>.

Οι όροι αντιδραστικά είδη οξυγόνου (ROS) και αντιδραστικά είδη αζώτου (RNS) αναφέρονται σε αντιδραστικά ριζικά και μη ριζικά παράγωγα οξυγόνου και αζώτου, αντίστοιχα. Τα αντιδραστικά είδη οξυγόνου και αζώτου (RONS) παράγονται από όλα τα αερόβια κύτταρα και παίζουν σημαντικό ρόλο στη γήρανση καθώς και σε ασθένειες που σχετίζονται με την ηλικία. Η παραγωγή RONS δεν περιορίζεται μόνο στον προσδιορισμό των επιβλαβών επιδράσεων αλλά επίσης εμπλέκεται στην εξαγωγή ενέργειας από οργανικά μόρια και στην ανοσολογική άμυνα του οργανισμού<sup>(19)</sup>.

Η γήρανση είναι η προοδευτική απώλεια της λειτουργίας των ιστών και των οργάνων με την πάροδο του χρόνου. Η θεωρία της γήρανσης των ελεύθερων ριζών ή όπως αργότερα ονομάστηκε η θεωρία της γήρανσης του οξειδωτικού στρες βασίζεται στην υπόθεση structural damage-based που υποστηρίζει ότι οι λειτουργικές απώλειες που σχετίζονται με την ηλικία οφείλονται σε συσσώρευση οξειδωτικής βλάβης στα μακρομόρια ( λιπίδια, DNA και πρωτεΐνες) από τα RON. Ο ακριβής μηχανισμός της γήρανσης που προκαλείται από το οξειδωτικό στρες δεν είναι ακόμα σαφής, αλλά πιθανώς τα αυξημένα επίπεδα RONS οδηγούν σε κυτταρική γήρανση, έναν φυσιολογικό μηχανισμό που σταματάει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό ως απόκριση σε βλάβες που εμφανίζονται κατά την αντιγραφή.

(Εικόνα 5. Παράρτημα)

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΝΕΥΡΟΕΚΦΥΛΙΣΜΟΣ

### 2.1. Ιστορική αναδρομή

Στο τέλος της δεκαετίας του 1960 η αξονική, η μαγνητική και η PET scan δεν ήταν ακόμη διαθέσιμες, οπότε η φυσική εξέταση ήταν ο βασικός τρόπος διάγνωσης των νευροεκφυλιστικών νοσημάτων. Οι λειτουργίες του ανθρώπινου εγκεφάλου άρχισαν να βγαίνουν στην επιφάνεια την δεκαετία του 1980. Ακρογωνιαίο λίθο αποτέλεσε η ανακάλυψη του ότι οι ασθενείς με PD εμφάνιζαν εκφυλισμό στους ντοπαμινεργικούς νευρώνες στη μέλαινα ουσία και στο ραβδωτό σωματίο, οδηγώντας έτσι στη χρήση της L-dopa σε ασθενείς με PD. Περαιτέρω μελέτες στους νευροδιαβιβαστές έδειξαν ότι υπάρχει μείωση των επιπέδων GABA στο ραβδωτό σωματίο ασθενών με HD και ότι στον εγκεφαλικό φλοιό των ασθενών με AD υπάρχουν μειωμένα επίπεδα ακετυλοχολίνης. Το πρώτο εύρημα έδωσε το έναυσμα για χορήγηση αγωνιστών GABA η οποία κατέληξε μη αποτελεσματική ως θεραπεία. Εν αντιθέσει, αποτελεσματική αποδείχθηκε η χορήγηση αναστολέων ακετυλοχολινεστεράσης στους ασθενείς με AD.

Στη δεκαετία του 1980 ξεκίνησε η μελέτη για την προέλευση των εγκλείστων και των πλακών στην AD. Το 1984 βρέθηκε ότι οι πλάκες αυτές περιέχουν β αμυλοειδές πεπτίδιο και ότι τα νευροϊνιδιακά εγκλείστα περιέχουν tau πρωτεΐνη. Περαιτέρω μελέτες έδειξαν ότι πολλές νευροεκφυλιστικές παθήσεις περιέχουν συσσωρεύσεις πρωτεϊνών και ξεκίνησε μετέπειτα η ταυτοποίηση τους.

Από το 1990 και μέχρι σήμερα οι μελέτες έχουν εστιάσει να βρουν την αιτιολογία και τον τρόπο με τον οποίο οι πρωτεΐνες αυτές συσσωρεύονται καθώς και τον μηχανισμό εκφύλισης των νευρώνων. Λόγω της τεχνολογικής ανάπτυξης τα τελευταία χρόνια, αναπτύχθηκε περισσότερο και ο κλάδος της γενετικής. Πιο συγκεκριμένα, το 1993 οι επιστήμονες κατάφεραν να απομονώσουν από το χρωμόσωμα 4 το γονίδιο που οφείλεται για την HD, το 1995 απομόνωσαν το γονίδιο για την AD και το 1999 απομόνωσαν το γονίδιο για την PD.

Στόχος των τελευταίων μελετών είναι η διαλεύκανση της παθογένειας των νευροεκφυλιστικών νοσημάτων. <sup>(20)(21)</sup>

## 2.2. Ορισμός

Νευροεκφυλισμός είναι ένας όρος που χρησιμοποιείται για να περιγράψει νοσήματα του κεντρικού συστήματος, στα οποία παρουσιάζεται προοδευτική απώλεια δομής ή λειτουργίας των νευρικών κυττάρων. Ετυμολογικά, ο όρος αποτελείται από τη λέξη «νευρο-», η οποία προσδιορίζει τα νευρικά κύτταρα (π.χ. νευρώνες) και ως δεύτερο συνθετικό τον εκφυλισμό, οποίος αναφέρεται, σε μια διαδικασία απώλειας δομής ή λειτουργίας, ιδιαίτερα στην περίπτωση των ιστών και των οργάνων. Επομένως, ο νευροεκφυλισμός αναφέρεται σε κάθε παθολογική κατάσταση που επηρεάζει πρωταρχικά τους νευρώνες. <sup>(20)(21)</sup>

Οι νευρώνες στο ανθρώπινο κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ) εκτελούν ένα ευρύ φάσμα κινητικών, αισθητήριων, ρυθμιστικών, συμπεριφορικών και γνωστικών λειτουργιών που εξαρτώνται από την πολύπλοκη οργάνωση ομάδων κυτταρικών πληθυσμών που αποτελούνται από διάφορα νευρωνικά και μη νευρωνικά κύτταρα. Οι νευρώνες του κεντρικού νευρικού συστήματος διαφέρουν μορφολογικά ως προς το μέγεθος, τον αριθμό των δενδριτών, την πολυπλοκότητα του δενδριτικού δένδρου, τον αριθμό και τον τύπο των συνάψεων, το μήκος των αξόνων και τον βαθμό της αξονικής μυελίνωσης, μεταξύ άλλων κυτταρικών χαρακτηριστικών. Αυτό ισχύει, επίσης, και για τα μη νευρωνικά κύτταρα. Από άποψη φυσιολογίας, η νευρωνική ποικιλομορφία μπορεί να εκφραστεί από τη χημική εξειδίκευση των νευροδιαβιβαστών που χρησιμοποιούνται για τη χημική μετάδοση και τη νευροδιαμόρφωση συγκεκριμένων πληθυσμών και από τις ηλεκτρικές τους ιδιότητες. Αυτή η μορφολογική και λειτουργική ποικιλομορφία μεταξύ των νευρωνικών κυττάρων υποδηλώνει ότι, αν και όλοι οι νευρώνες περιέχουν έναν πανομοιότυπο γενετικό κώδικα, κάθε νευρωνικός τύπος έχει το δικό του γονιδιακό προφίλ έκφρασης.<sup>(22)</sup>

Οι νευροεκφυλιστικές διαταραχές είναι μια ετερογενής και συχνά κληρονομική ομάδα διαταραχών που χαρακτηρίζονται από προοδευτική υποβάθμιση των νευρώνων, οδηγώντας σε νευρωνικό θάνατο. Οι νευροεκφυλιστικές ασθένειες (NDs) είναι πολύπλοκες, καθώς περιλαμβάνουν επιλεκτικό εκφυλισμό αρκετών τύπων νευρώνων. Περίπου το 25% των παγκόσμιων θανάτων και αναπηρίας προκαλείται από διαταραχές του εγκεφάλου, οι οποίες αντιπροσωπεύουν περισσότερο από το 34% των συνολικών ασθενειών. Ο ανθρώπινος εγκέφαλος είναι ένα σύνθετο όργανο που αποτελείται από περίπου 100 δισεκατομμύρια νευρώνες και 100 τρισεκατομμύρια συνάψεις. Η

πολυπλοκότητα και η συνεχής λειτουργία του τον καθιστούν ευάλωτο σε μη φυσιολογικές λειτουργίες και τραυματισμούς. Οι ανωμαλίες στις λειτουργίες του εγκεφάλου, όπως η μνήμη, η κίνηση και η γνώση, έχουν ως αποτέλεσμα νευροεκφυλιστικές διαταραχές. Διάφορες μελέτες έχουν αναφέρει ότι ο νευροεκφυλισμός προκαλείται γρήγορα από το συνδυασμό προοδευτικής νευρωνικής απώλειας και δυσλειτουργίας.<sup>(23)</sup> Τα σημαντικότερα χαρακτηριστικά που σχετίζουν τις νευροεκφυλιστικές νόσους μεταξύ τους είναι η συσσώρευση συσσωματωμάτων πρωτεϊνών και αποπτωτικού θανάτου που επηρεάζουν τους νευρώνες σε διάφορα μέρη του ΚΝΣ, ιδιαίτερα στον εγκέφαλο. Οι διαφορές συνήθως αφορούν τις πληγείσες περιοχές του εγκεφάλου, τα παθολογικά σημάδια και τα κλινικά συμπτώματα.<sup>(24)</sup>

### 2.3. Ταξινόμηση νευροεκφυλιστικών νοσημάτων

Ο αριθμός των νευροεκφυλιστικών νοσημάτων υπολογίζεται σε μερικές εκατοντάδες περίπου και ανάμεσά τους φαίνεται να υπάρχει αλληλοεπικάλυψη κλινικά και παθολογικά, κάνοντας την ταξινόμηση τους πιο δύσκολη. Το θέμα γίνεται πιο περίπλοκο από το γεγονός ότι σε κάποιες ασθένειες διαφορετικοί συνδυασμοί περιοχών μπορούν να δώσουν διαφορετική κλινική εικόνα. Επιπρόσθετα, η ίδια νευροεκφυλιστική διαδικασία, ειδικά στην αρχή, μπορεί να επηρεάσει διαφορετικές περιοχές στον εγκέφαλο, κάνοντας μια δεδομένη ασθένεια να φαίνεται πολύ διαφορετική από άποψη συμπτωματολογίας.

Παρ' όλα αυτά, η ταξινόμηση των νευροεκφυλιστικών νοσημάτων βασίζεται στην κυρίαρχη κλινική εικόνα ή στην τοπογραφία των κυρίαρχων αλλοιώσεων:

- a) Εγκεφαλικού φλοιού: Σε αυτές περιλαμβάνονται νόσοι με άνοια (όπως η νόσος Alzheimer), αλλά και χωρίς άνοια.
- b) Βασικών γαγγλίων: εδώ κατατάσσονται νόσοι με υποκινητικότητα (όπως η νόσος Parkinson) και με υπερκινητικότητα (όπως η νόσος Huntington)
- c) Παρεγκεφαλίδας και των συνδέσεων της
- d) Σπονδυλικής στήλης: πλάγια μυοτροφική σκλήρυνση. <sup>(21)</sup>

### 2.4. Παθογένεια του νευροεκφυλισμού

Κοινό γνώρισμα πολλών νευροεκφυλιστικών παθήσεων είναι η διαταραχή της αναδίπλωσης πρωτεϊνών και η συσσώρευση αυτών, οδηγώντας στην δημιουργία χαρακτηριστικών ενδονευρωνικών εγκλειστών ή πλακών. Θεωρείται ότι οι πρωτεΐνες

με διαταραχή της αναδίπλωσης έχουν τοξική δράση και επάγουν την εκφύλιση των νευρώνων. Υπάρχει η υπόθεση ότι οι νευροεκφυλιστικές παθήσεις αποτελούν παθήσεις των πρωτεϊνών.

Η συσσώρευση των πρωτεϊνών αποτελεί μια πολυσταδιακή διαδικασία: Η πρωτεΐνη (συγκεκριμένη σε κάθε νόσο) έχει διαταραχή της αναδίπλωσης/μετάλλαξη και δημιουργεί διμερή και ολιγομερή. Περεταίρω πολυμερισμός οδηγεί σε πρωτοϊνίδια, τα οποία συσσωρεύονται ακόμα περισσότερο σε ίνες που δημιουργούν τις εναποθέσεις με την μορφή ενδονευρωνικών εγκλείστων ή εξωκυττάρων πλακών. Κατά την συσσώρευση, ενεργοποιούνται ενδοκυτταριοί μηχανισμοί «κάθαρσης-αποτοξίνωσης» που οδηγούν στην επαναδίπλωση ή στην αποδόμηση των διαταραγμένων πρωτεϊνών. Οι μηχανισμοί αυτοί είναι οι πρωτεΐνες συνοδοί (chaperons) και τα συστήματα που οδηγούν τις πρωτεΐνες σε αποδόμηση όπως το Ubiquitin-proteasome-system (UPS). Μεταλλάξεις γονιδίων που ευθύνονται για ορισμένες οικογενείς μορφές νευροεκφυλιστικών παθήσεων συνδέονται άμεσα με τα συστήματα αυτά άμυνας ή κάθαρσης όπως στην Νόσο Πάρκινσον ή υπάρχει έμμεση σύνδεση καθώς τα ενδιάμεσα προϊόντα ή τελικές συσσωρεύσεις των παθολογικών πρωτεϊνών αναστέλλουν τα συστήματα αυτά. Υπό φυσιολογικές συνθήκες υπάρχει λεπτή ισορροπία μεταξύ πρωτεϊνών που εμφανίζουν διαταραχή της πτύχωσης τους και των μηχανισμών αναδίπλωσης και αποδόμησης (refolding –degradation). Διαταραχή της ισορροπίας αυτής οδηγεί σε συσσώρευση των παθολογικών πρωτεϊνών. Οι νευρώνες που έχουν έντονη μεταβολική δραστηριότητα, αυξημένη κατανάλωση οξυγόνου και σύνθεση νευροδιαβιβαστών είναι περισσότερο ευάλωτοι σε αλλαγές που οδηγούν στην συσσώρευση των πρωτεϊνών. Οξειδωτικές ρίζες και οξειδωτικά παράγωγα που παράγονται κατά τον μεταβολισμό πχ σύνθεση ντοπαμίνης προκαλούν αλλοιώσεις πρωτεϊνών. Τα ίδια τα ολιγομερή-πολυμερή που συσσωρεύονται αναστέλλουν τα συστήματα αποδόμησης. Με την πρόοδο της ηλικίας μειώνεται η ικανότητα των μηχανισμών “κάθαρσης”. Για αυτό πολλές σποραδικές νευροεκφυλιστικές παθήσεις συνδέονται με μεγάλη ηλικία. Πρόσφατα δεδομένα δείχνουν ότι τα ενδιάμεσα ολιγομερή είναι αυτά με την μεγαλύτερη τοξικότητα ενώ τα μεγάλα συσσωρεύματα πρωτεϊνών που δημιουργούνται μετά την δυσλειτουργία των διορθωτικών μηχανισμών μπορεί σε ορισμένες περιπτώσεις να ασκούν και προστατευτική λειτουργία.

## Σύστημα ουβικουιτίνης-πρωτεασώματος (Ubiquitin-proteasome-system - UPS).

Τα επίπεδα των πρωτεϊνών εξαρτώνται από τον ρυθμό πρωτεϊνικής σύνθεσης και αποδόμησης. Η αποδόμηση είναι ρυθμιζόμενη διαδικασία που παίζει σημαντικό ρόλο στον έλεγχο των επιπέδων πολλών πρωτεϊνών και κατ' επέκταση στον έλεγχο της κυτταρικής λειτουργίας και σηματοδότησης. Στα ευκαρυωτικά κύτταρα επιτυγχάνεται κυρίως μέσω του συστήματος UPS. Η στόχευση των πρωτεϊνών προς αποδόμηση μέσω του συστήματος αυτού είναι μία καλά εξελικτικά συντηρημένη διαδικασία που εξαρτάται από το ATP και διακρίνεται σε δύο διαδοχικά βήματα:

1. Προσθήκη στο υπόστρωμα πολλών καταλοίπων ubiquitin που σημαίνει τις πρωτεΐνες προς αποδόμηση:

Η ubiquitin είναι ένα πεπτίδιο 76 αα που συνδέεται στην πρωτεΐνη υπόστρωμα μέσω σύνδεσης της καρβοξυτελικής γλυκίνης σε κατάλοιπα λυσίνης του υποστρώματος. Όταν το υπόστρωμα δεν έχει κατάλοιπα λυσίνης η σύνδεση γίνεται με την άμινο-τελική περιοχή του υποστρώματος. Η μονοουβικουιτίνωση προάγει διαδικασίες όπως η ενδοκυττάρωση και η ρύθμιση των ιστονών αλλά η σήμανση του υποστρώματος προς αποδόμηση απαιτεί τον πολυμερισμό των μορίων ουβικουιτίνης στο υπόστρωμα (πολύ-ουβικουιτίνωση). Αυτό γίνεται με σύνδεση μέσω καρβοξυ-τελικής γλυκίνης ενός δεύτερου μορίου ubiquitin σε κατάλοιπο λυσίνης του πρώτου μορίου ubiquitin κοκ. Η προσθήκη ενός μορίου ubiquitin στο υπόστρωμα γίνεται μέσω ενζύμων που ονομάζονται E1, E2 και E3 και ο πολυμερισμός των μορίων ubiquitin μέσω ενζύμων E4. Ένα μόριο ubiquitin ενεργοποιείται από το ένζυμο E1 (ubiquitin activating enzyme) με την χρήση ATP και δημιουργείται ένας εστέρας θιόλης ubiquitin-E1 thiol ester. Στην συνέχεια το σύμπλεγμα αυτό αντιδρά με ένζυμο E2 (ubiquitin carrier ή conjugating enzymes) τα οποία δημιουργούν νέο σύμπλεγμα με την ubiquitin, ubiquitin-E2 thiol ester. Στην συνέχεια το σύμπλεγμα ubiquitin-E2 συνδέεται στην λιγάση E3 στην οποία έχει δεσμευτεί το υπόστρωμα και η ουβικουιτίνη προστίθεται στο υπόστρωμα είτε απευθείας (E3 με δομή RING) είτε αφού προηγουμένως δημιουργηθεί εστέρας θιόλης μεταξύ ubiquitin και E3 (E3 με δομή HECT).

2. Αναγνώριση των σημασμένων πρωτεϊνών και πρωτεόλυση από το 26S σύμπλεγμα πρωτεασώματος με ταυτόχρονη απελευθέρωση καταλοίπων Ubiquitin που μπορούν να



ξαναχρησιμοποιηθούν, μια αντίδραση που καταλύεται από ένζυμα αποουβικουϊνίνωσης:

Το σύμπλεγμα πρωτεασώματος είναι ένα γιγάντιο κυτταροπλασματικό συνήθως πρωτεολυτικό σύμπλεγμα αποτελούμενο από το πρωτεάσωμα 20S που περιέχει ένα πρωτεολυτικό πυρήνα και δύο ρυθμιστικές 19S πολυπρωτεϊνικές υπομονάδες. Κάθε 19S εμφανίζει δύο υποσυμπλεγμάτα από πολλές υπομονάδες ένα κορυφάιο (lid) και ένα βασικό (base). Το κορυφάιο έχει ενζυμική δραστηριότητα από-ουβικουϊνίνωσης και το βασικό έχει δραστηριότητα ATPase και προκαλεί το άνοιγμα της στερεοδομής των πρωτεϊνών και την μεταφορά τους στον πρωτεολυτικό πυρήνα. Το 20S πρωτεάσωμα έχει τρεις διαφορετικές δραστηριότητες πεπτιδάσης: cleavage next to acidic amino acids (caspase-like activity), cleavage next to basic amino acids (trypsin-like activity) και cleavage next to hydrophobic amino acids (chymotrypsin-like activity). Μετά το πέρας της αποδόμησης προκύπτουν μόρια ubiquitin που ξαναχρησιμοποιούνται και ολιγοπεπτίδια 5-35 αα που πρωτεολύονται περαιτέρω από κυτταροπλασματικές αμινο- και καρβοξυ- πεπτιδάσες.

Η αιτιολογία των νευροεκφυλιστικών νόσων δεν έχει ακόμη αποσαφηνιστεί πλήρως, ωστόσο κάποιοι κοινοί μηχανισμοί έχουν προταθεί. Αυτοί είναι: η αυτοφαγία, οι βλάβες του DNA και το οξειδωτικό στρες. <sup>(21)(22)(23)(24)</sup>

## 2.5. Νευροεκφυλισμός και Αυτοφαγία

Τα ευκαρυωτικά κύτταρα χρησιμοποιούν δύο κύριες στρατηγικές για την αποικοδόμηση πρωτεϊνών, το σύστημα ουμπικουϊνίνης-πρωτεασώματος και την οδό αυτοφαγίας-λυσosώματος<sup>(25)</sup>. Το τελευταίο είναι μια εξαιρετικά διατηρημένη, εξαρτώμενη από λυσοσώματα, διαδικασία αποικοδόμησης. Η αυτοφαγία απομονώνει κυτοσολικά υλικά μέσα σε ένα κυστίδιο διπλής μεμβράνης που ονομάζεται «αυτοφαγοσώμα» το οποίο, στη συνέχεια, συντήκεται με λυσοσώματα για να αποικοδομήσει τα απομονωμένα υποστρώματα<sup>(25)</sup>. Μέχρι σήμερα, περισσότερα από 30 γονίδια που σχετίζονται με την αυτοφαγία (ATG) και τρία είδη αυτοφαγίας μακροαυτοφαγίας, μικροαυτοφαγίας και αυτοφαγίας με μεσολάβηση συνοδών (CMA) έχουν ταυτοποιηθεί σε μύκητες και θηλαστικά<sup>(25)</sup>. Επιπλέον, διάφορες μορφές επιλεκτικής αυτοφαγίας έχουν αναγνωριστεί. Κάθε μία συμμετέχει στον κύκλο εργασιών διαφόρων κυτταρικών οργανιδίων<sup>(11)</sup>. Η ελαττωματική ρύθμιση του μηχανισμού της αυτοφαγίας και / ή η δυσλειτουργία της λυσοσωμικής διαδικασίας

μπορεί να διαταράξει την κυτταρική ομοιόσταση και να οδηγήσει σε διάφορες διαταραχές.

Οι σημαντικές απορρυθμίσεις αυτοφαγίας που έχουν παρατηρηθεί σε νευροεκφυλιστικές νόσους είναι τρεις:

- a) ανεπαρκής ενεργοποίηση αυτοφαγίας,
- b) δυσλειτουργία αυτοφαγίας λόγω μειωμένης λυσοσωματικής λειτουργίας και
- c) αυτοφαγικό στρες σχετιζόμενο με παθολογική ενεργοποίηση της αυτοφαγίας.

Αυτές οι παρατηρήσεις δείχνουν ότι η αυτοφαγία γενικά παίζει σημαντικό νευροπροστατευτικό ρόλο.<sup>(25)</sup>

Γενικά, η διαδικασία της αυτοφαγίας έχει αναφερθεί ότι προστατεύει τους νευρώνες. Η αυτοφαγία των νευρώνων είναι απαραίτητη για τη συναπτική πλαστικότητα, την αντιφλεγμονώδη λειτουργία στα γλοιακά κύτταρα, την ανάπτυξη ολιγοδενδροκυττάρων και τη διαδικασία μυελίνωσης. Οι συσσωρευμένες πρωτεΐνες στους νευρώνες δεν μπορούν να αραιωθούν με κυτταρική διαίρεση επειδή οι νευρώνες είναι μετα-μιτωτικά κύτταρα. Έτσι, οι νευρώνες απαιτούν καλά ρυθμισμένα συστήματα ελέγχου της ποιότητας των πρωτεϊνών. Κατά συνέπεια, η αλλοιωμένη δραστηριότητα του συστήματος αποικοδόμησης πρωτεϊνών προκαλεί τη συσσώρευση μη φυσιολογικών πρωτεϊνών και τελικά οδηγεί σε νευρωνική δυσλειτουργία όπως η απελευθερωμένη μεταγραφή και η εξασθενημένη μεταφορά αξόνων.<sup>(25)</sup>

Οι αυξανόμενες ενδείξεις επιβεβαίωσαν τη σημασία της αυτοφαγίας στην υγεία των νευρώνων και έχει εδραιωθεί πλέον μια ισχυρή σχέση μεταξύ της αυτοφαγίας και των νευροεκφυλιστικών ασθενειών με βάση τον ρόλο της εκκαθάρισης των ανώμαλων συσσωματωμένων πρωτεϊνών. Στην πραγματικότητα, οι ενδονευρογενείς συσσωματωμένες πρωτεΐνες, οι οποίες εμφανίζονται στις πλέον νωθρές νευροεκφυλιστικές ασθένειες, είναι συνήθως τα υποστρώματα της αυτοφαγικής αποικοδόμησης. Η συντριπτική πλειοψηφία των νευροεκφυλιστικών ασθενειών, συμπεριλαμβανομένων των σποραδικών μορφών, σχετίζεται με κληρονομικές γενετικές μεταλλάξεις και η αξιολόγηση των λειτουργιών αυτών των γονιδίων που σχετίζονται με τη νόσο έχει δείξει αυτοφαγική δυσλειτουργία στην παθογένεση.<sup>(11)</sup>

Οι κυριότερες νευροεκφυλιστικές διαταραχές στις οποίες εμπλέκεται η αυτοφαγία είναι η νόσος του Alzheimer (AD), η νόσος του Πάρκινσον (PD), η νόσος του Huntington (HD) και η πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση (ALS).

## 2.6. Νευροεκφυλισμός και βλάβες του DNA

Η βλάβη του μιτοχονδριακού DNA (mtDNA), η μιτοχονδριακή δυσλειτουργία και τα ελαττώματα του BER (Base Excision repair genes) μπορεί να επηρεάσουν δυσμενώς τις νευρικές λειτουργίες, αυξάνοντας έτσι τον κίνδυνο εμφάνισης νευροεκφυλιστικής νόσου. Τα γονίδια για επιδιόρθωση μέσω αφαίρεσης βάσης (BER) είναι υπεύθυνα για την επιδιόρθωση μικρών λαθών που συμβαίνουν κατά τη φυσιολογική αντιγραφή του DNA ή κατά την έκθεση σε μεταλλαξιγόνους παράγοντες.<sup>(52)</sup>

Σε αρκετές μελέτες, έχει παρατηρηθεί νευρολογική δυσλειτουργία σε υποκείμενα και σε ποντίκια με γενετικά σφάλματα στα γονίδια επιδιόρθωσης DNA. Το γεγονός αυτό ενισχύει τις συνεχείς ενδείξεις ότι οι μηχανισμοί επιδιόρθωσης του DNA καθώς και άλλα συστατικά της απόκρισης στην βλάβη του DNA παίζουν ρόλο στην πρόληψη της νευροπαθολογίας. Η οξειδωτική βλάβη στα νευρωνικά κύτταρα μπορεί να είναι ένα σημαντικό συστατικό του νευροεκφυλισμού, όπως υποδεικνύεται από τις αναφορές ότι ο BER είναι σημαντικός στην πρόληψη του νευροεκφυλισμού. Ο εγκέφαλος των θηλαστικών καταναλώνει οξυγόνο με σχετικά υψηλό ρυθμό, οδηγώντας σε υψηλή έκθεση των νευρώνων στα συνδεδεμένα υποπροϊόντα ROS. Αν τα αντιοξειδωτικά εξαντληθούν στον εγκέφαλο, οι νευρώνες γίνονται επιρρεπείς σε βλάβες του DNA προκαλούμενες από ROS.<sup>(26)</sup>

Ο μηχανισμός απόκρισης των κυττάρων σε πιθανές βλάβες του γενετικού υλικού (DDR) είναι υπεύθυνος για την επίβλεψη και την επιδιόρθωση των βλαβών που μπορεί να προέρχονται από το εσωτερικό ή/και από το εξωτερικό τους περιβάλλον. Ο DDR είναι ένα σύνθετο δίκτυο που αποτελείται από πολλούς μηχανισμούς και μόρια και έχει ως σκοπό την εξασφάλιση της γενετικής σταθερότητας και πιστότητας, καθώς και την αποφυγή ανεπιθύμητων για το κύτταρο καταστάσεων<sup>(26)</sup>.

Οι θραύσεις διπλής έλικας (DSBs) θεωρούνται από τις πιο θανατηφόρες μορφές βλάβης του DNA και είναι ισχυροί επαγωγείς του DDR, τα οποία είναι ικανά να επάγουν την απόπτωση ή την γήρανση σε ευκαρυωτικά κύτταρα. Τα DSB

συσσωρεύονται σε διάφορους ιστούς ηλικιωμένων ποντικών, όπως το ήπαρ, ο πνεύμονας, ο εγκέφαλος και τα κύτταρα σε γήρανση. Μπορούν να δημιουργηθούν μέσω πολλαπλών μηχανισμών και πηγών: η ακτινοβολία μπορεί να προκαλέσει βλάβη στο DNA είτε με άμεσο ιονισμό βάσεων είτε με επίθεση μορίων H<sub>2</sub>O και δημιουργία ελεύθερων ριζών που, στη συνέχεια, αντιδρούν με τη ραχοκοκκαλιά του DNA. Τα ROS έχουν ισχυρή τοξική επίδραση στους νευρώνες, καταστρέφοντας τόσο τα μακρομόρια όσο και το DNA. Τα ROS μπορούν να προκαλέσουν DSBs σε κύτταρα G<sub>0</sub> / G<sub>1</sub>, με παρόμοιο τρόπο με τις θραύσεις που προκαλούνται από την ακτινοβολία, και στα ευχρωματικά και ετεροχρωματικά DNA. Η δομή αυτών των θραύσεων μπορεί να ποικίλλει. Σε κύτταρα που αναπαράγουν ενεργά το DNA, μπορούν να δημιουργηθούν θραύσματα όταν επιχειρείται αναδιπλασιασμός σε ένα DNA nick, κατά τη φάση S. Πολλαπλές μονές θραύσεις της αλυσίδας κοντά η μία στην άλλη μπορούν επίσης να εξασθενίσουν το DNA αρκετά, ώστε να σχηματίσουν ένα διχλωτό σπάσιμο με έναν μεταβαλλόμενο αριθμό ζευγών βάσεων στις προκύπτουσες προεξοχές.<sup>(27)</sup>

Η βλάβη του DNA έχει εμπλακεί στην παθολογία της γήρανσης του εγκεφάλου, των εγκεφαλικών βλαβών και των νευροεκφυλιστικών καταστάσεων και των ελαττωμάτων στους μηχανισμούς επιδιόρθωσης του DNA που συχνά εμφανίζονται με προγερία και νευροεκφυλισμό. Δεδομένου ότι ο αναδιπλασιασμός του DNA περιορίζεται σε μεγάλο βαθμό στους νευρώνες, η πλειονότητα των θραυσμάτων επισκευάζονται μέσω του NHEJ. Ωστόσο, τα επίπεδα πρωτεϊνών NHEJ και η αποτελεσματικότητα της επισκευής μειώνονται με την ηλικία στους νευρώνες των τρωκτικών, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένη σηματοδότηση στο DDR. Η επισκευή του DNA εξαρτάται από την οργάνωση της χρωματίνης, ενώ τα διαλείμματα εντός της ευχρωματίνης είναι πιο προσιτά στους παράγοντες NHEJ και πιο εύκολα να επιδιορθωθούν, ενώ τα διαλείμματα στην ετεροχρωματίνη τείνουν να γίνονται πιο πολύπλοκα και επίμονα. Αυτό είναι σημαντικό, καθώς τα γηραιά κύτταρα σχηματίζουν ειδικές περιοχές ετεροχρωματίνης, συνδεδεμένες με γηραιές ετεροχρωματικές εστίες, οι οποίες μπορεί να συμβάλλουν στην επιμονή του DDR στη γήρανση. Ομοίως στους νευρώνες, η συσσώρευση βλάβης του DNA επηρεάζει την οργάνωση της χρωματίνης, με μακροχρόνια βλάβη του DNA που συνδέεται με την ετεροχρωματίνη. Αυτό, σε συνδυασμό με τον επιγενετικό αποκλεισμό της γονιδιακής μεταγραφής μπορεί να συνεισφέρει στον νευροεκφυλισμό.<sup>(27)</sup>

## 2.7. Νευροεκφυλισμός και οξειδωτικό στρες

Από καιρό έχει αναγνωρισθεί ότι το οξειδωτικό στρες μπορεί να είναι σημαντικό στην αιτιολογία της καθυστερημένης έναρξης των νευροεκφυλιστικών νοσημάτων.

Το οξυγόνο είναι απαραίτητο για την κανονική λειτουργία των ευκαρυωτικών οργανισμών. Ο ρόλος του στην επιβίωση συνδέεται με το υψηλό δυναμικό οξειδοαναγωγής του, το οποίο το καθιστά εξαιρετικό οξειδωτικό παράγοντα ικανό να δέχεται ηλεκτρόνια εύκολα από μειωμένα υποστρώματα. Διαφορετικοί ιστοί έχουν διαφορετικές απαιτήσεις οξυγόνου ανάλογα με τις μεταβολικές τους ανάγκες. Οι νευρώνες και τα αστροκύτταρα, οι δύο κύριοι τύποι εγκεφαλικών κυττάρων, ευθύνονται σε μεγάλο βαθμό για τη μαζική κατανάλωση οξυγόνου και γλυκόζης από τον εγκέφαλο. Πράγματι, ο εγκέφαλος αντιπροσωπεύει περίπου 2% του συνολικού σωματικού βάρους και, παράυτα, αντιπροσωπεύει περισσότερο από το 20% της συνολικής κατανάλωσης οξυγόνου. Παρά την αναγκαιότητα οξυγόνου στους ζωντανούς οργανισμούς, η κατάσταση υπεροξίας προκαλεί τοξικότητα, συμπεριλαμβανομένης της νευροτοξικότητας. Η τοξικότητα και η χημική δραστηριότητα του οξυγόνου εξαρτώνται από την ηλεκτρονιακή του δομή. Οι ίδιες καταστάσεις περιστροφής των δύο εξωτερικών τροχιακών ηλεκτρονίων του καθιστούν το οξυγόνο σταθερό, εκτός από την παρουσία κατάλληλων καταλυτών, οι οποίοι αναγκάζονται να παράγουν μερικώς μειωμένες μορφές οξυγόνου. Οι μερικώς μειωμένες μορφές οξυγόνου είναι ιδιαίτερα δραστικές επειδή η ελεύθερη ρίζα είναι πολύ ασταθής και πρέπει είτε να δέχεται είτε να δίνει ηλεκτρόνια. Υπάρχουν πολλές διαφορετικές ποικιλίες μερικώς μειωμένων αντιδραστικών ειδών οξυγόνου (ROS) που περιλαμβάνουν το υπεροξειδίο ( $O_2^-$ ), το υπεροξειδίο του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ) και τη ρίζα υδροξυλίου ( $OH^\bullet$ ). Η σύγχρονη χρήση του όρου "ROS" περιλαμβάνει τόσο ρίζες οξυγόνου όσο και μη ριζικά μόρια που μετατρέπονται εύκολα σε ελεύθερες ρίζες ( $O_3$ ,  $H_2O_2$ ,  $HO_2$ ). Τα ROS έχουν διαφορετικές αντιδραστικές ικανότητες και ένα από τα πιο δραστικά ROS είναι η ρίζα υδροξυλίου  $OH^\bullet$ . Λόγω της υψηλής αντιδραστικής δραστηριότητας των ROS, αλληλεπιδρούν χημικά με βιολογικά μόρια που οδηγούν σε αλλαγές στη λειτουργία των κυττάρων και στον κυτταρικό θάνατο. Ως αποτέλεσμα, το οξυγόνο έχει τη δυνατότητα να είναι δηλητηριώδες, και οι αερόβιοι οργανισμοί επιβιώνουν στην παρουσία του μόνο επειδή περιέχουν αντιοξειδωτικές άμυνες. Τα

κύτταρα του εγκεφάλου και, ειδικά οι νευρώνες, απαιτούν αποτελεσματική αντιοξειδωτική προστασία για τρεις κύριους λόγους.

- a) Εμφανίζουν μεγαλύτερη (περίπου 10 φορές) κατανάλωση οξυγόνου σε σύγκριση με άλλους ιστούς.
- b) Τα μη διαχωρισμένα κύτταρα, όπως οι νευρώνες, έχουν μεγάλη διάρκεια ζωής.
- c) Το οξείδιο του αζώτου έχει εξέχοντα ρόλο στον εγκέφαλο και μπορεί να σχηματίσει αντιδραστικά είδη αζώτου, όπως υπεροξυνιτρώδη, σε συνδυασμό με ορισμένες μορφές οξυγόνου όπως το υπεροξείδιο. Το νιτρικό οξείδιο μπορεί να συμμετέχει στη νιτροζυλίωση των πρωτεϊνών. Ωστόσο, το υπεροξυνιτρώδες είναι ένα εξαιρετικά δραστικό είδος αζώτου που μπορεί να νιτροζυλίωσε τα υπολείμματα τυροσίνης των πρωτεϊνών και να μεταβάλλει τη λειτουργία τους. <sup>(28)</sup>

Το οξειδωτικό στρες είναι μια κατάσταση στην οποία η ισορροπία μεταξύ της παραγωγής ROS και του επιπέδου των αντιοξειδωτικών διαταράσσεται σημαντικά και προκαλεί βλάβη στα κύτταρα από την υπερβολική παραγωγή ROS. Τα ROS συμβάλλουν στην ανάπτυξη νευροεκφυλισμού μέσω της διαμόρφωσης της λειτουργίας των βιομορίων. Τα ROS μπορεί να στοχεύουν πολλά διαφορετικά υποστρώματα στο κύτταρο, προκαλώντας βλάβες στο DNA, οξείδωση του RNA ή υπεροξείδωση των λιπιδίων. Τα προϊόντα οξείδωσης των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, ιδιαίτερα του αραχιδονικού οξέος και του εικοσιεξανοϊκού οξέος που είναι άφθονα στον εγκέφαλο, είναι μαλονιοδιαλδεΰδη και 4-υδροξυεπενάλη. Τα ROS προσβάλλουν την πρωτεΐνη, οξειδώνοντας τόσο τη ραχοκοκαλιά όσο και την πλευρική αλυσίδα, η οποία με τη σειρά της αντιδρά με πλευρικές αλυσίδες αμινοξέων για να σχηματίσουν καρβονυλικές λειτουργίες. Τα ROS επιτίθενται σε νουκλεϊνικά οξέα με διάφορους τρόπους, προκαλώντας διασυνδέσεις DNA-πρωτεΐνης, θραύσεις στον κλώνο και τροποποιούν βάσεις πουρίνης και πυριδίνης που έχουν ως αποτέλεσμα μεταλλάξεις DNA. <sup>(29)(30)</sup>

(Εικόνα 6. Παράρτημα)

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 : ΝΕΥΡΟΕΚΦΥΛΙΣΤΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΓΗΡΑΝΣΗ

### 3.1. Νόσος Alzheimer (AD)

#### 3.1.1. Ορισμός

Η νόσος Alzheimer (AD) (λέγεται και άνοια τύπου Alzheimer) είναι ένας τύπος άνοιας που χαρακτηρίζεται από προοδευτική, μη αναστρέψιμη έκπτωση των νοητικών λειτουργιών. Εμφανίζεται στην μέση και στην τρίτη ηλικία και είναι η συχνότερη μορφή άνοιας. Προσβάλλει σχεδόν σε διπλάσιο ποσοστό τις γυναίκες από ό,τι τους άνδρες, αν και πιστεύεται ότι το φαινόμενο αυτό οφείλεται στο ότι οι γυναίκες ζουν περισσότερο από τους άνδρες. Οι ασθενείς με AD πεθαίνουν κατά μέσο όρο 4 έως 6 χρόνια μετά την διάγνωση, αν και η διάρκεια της νόσου κυμαίνεται μεταξύ 3 και 20 χρόνων.

Αν και η αιτία είναι άγνωστη, φαίνεται ότι πολλαπλή παράγοντες αλληλεπιδρούν για την εμφάνιση της. Η ηλικία είναι ο μείζων παράγων κινδύνου, ενώ στους υπόλοιπους παράγοντες περιλαμβάνονται οι κρανιοεγκεφαλικές κακώσεις, φλεγμονώδεις παράγοντες και το οξειδωτικό στρες. Επιπλέον, άλλοι παράγοντες υπό διερεύνηση είναι το χαμηλό επίπεδο εκπαίδευσης, η έλλειψη πνευματικών δραστηριοτήτων, οι ημικρανίες και η κατάχρηση καπνού και αλκοόλ. Οι ασθενείς που εμφανίζουν AD πριν την ηλικία των 65 ετών λέγεται ότι έχουν πρόωμη AD, ενώ όσοι εμφανίζουν μετά τα 65 έτη λέγεται ότι έχουν όψιμη AD. Ένα μικρό ποσοστό της νόσου προκαλείται από γενετικά αίτια και χαρακτηρίζεται από πολύ πρόωμη έναρξη, ενίοτε προσβάλλοντας άτομα έως 30 ετών. Η έρευνα στην γενετική της AD έχει καταδείξει μεταλλάξεις σε τουλάχιστον τρία γονίδια: το γονίδιο APP στο χρωμόσωμα 21, το γονίδιο PS1 στο χρωμόσωμα 14 και το γονίδιο PS2 στο χρωμόσωμα 1. Το γονίδιο ApoE στο χρωμόσωμα 19 αυξάνει τον κίνδυνο ανάπτυξης όψιμης AD και σχετίζεται με ελάττωση της ηλικίας εμφάνισής της, αν και ο μηχανισμός παραμένει άγνωστος.

Η απώλεια της μνήμης είναι συνήθως το πρώτο σημείο της AD. Οι διαταραχές της μνήμης είναι στην αρχή ήπιες και τα μέλη της οικογένειας και οι φίλοι μπορεί να μην υποψιασθούν το πρόβλημα έως ότου η νόσος προχωρήσει και τα συμπτώματα γίνουν πιο εμφανή. Τα μέλη της οικογένειας μπορεί ακόμη να αρνούνται τα συμπτώματα και

να καλύπτουν την διαταραχή έως ότου το άτομο εκδηλώσει επικίνδυνη ή άκρως ασυνήθιστη συμπεριφορά. Η πρόοδος της νόσου ποικίλλει, αλλά η φυσική πορεία της περιλαμβάνει μια σταδιακή απώλεια της αντίληψης και της κρίσης και τελικά, έκπτωση των σωματικών λειτουργιών και απώλεια της ικανότητας του ατόμου να εκτελέσει τις καθημερινές του δραστηριότητες. Με την απώλεια της ικανότητας του ατόμου να ανταποκριθεί ακόμη και στις πιο βασικές δραστηριότητες της καθημερινής ζωής, το βάρος της αντιμετώπισης των αναγκών του ασθενή μεταπίπτει στα άτομα που του παρέχουν φροντίδα. <sup>(31)(32)</sup>

### 3.1.2. Παθοφυσιολογία

Η παθοφυσιολογία της AD είναι πολύπλοκη και περιλαμβάνει πολλά συστήματα νευροδιαβιβαστών και παθοφυσιολογικές διεργασίες.

Χαρακτηριστικά ευρήματα στους εγκεφάλους ασθενών με AD είναι η απώλεια νευρώνων και η παρουσία νευριτικών πλακών, θυσάνων νευρικών ινιδίων και αμυλοειδική αγγειοπάθεια. Έχουν προταθεί αρκετές θεωρίες για το αίτιο της AD, μεταξύ των οποίων η θεωρία του αμυλοειδούς (η AD είναι το αποτέλεσμα συσσώρευσης βήτα- αμυλοειδούς στις πλάκες), η θεωρία των tau ( η AD είναι το αποτέλεσμα δυσλειτουργίας της πρωτεΐνης tau) και η αγγειακή θεωρία ( πολλοί ασθενείς με AD έχουν επίσης αγγειακή άνοια, ως αποτέλεσμα καρδιαγγειακής νόσου και αγγειακής νόσου του εγκεφάλου που προκαλούν βλάβη του ενδοθηλίου). Η διάγνωση δυσχεραίνεται από το γεγονός ότι κάποιοι ασθενείς έχουν αυτές τις παθοφυσιολογικές μεταβολές, αλλά δεν εμφανίζουν AD.

Οι νευριτικές πλάκες είναι ομάδες νευρικών κυττάρων ( και ιδιαιτέρως οι τελικοί άξονες) που εκφυλίζονται και συσσωρεύονται γύρω από έναν αμυλοειδή πυρήνα, σχηματίζοντας μια πλάκα στους διάμεσους χώρους μεταξύ των νευρώνων του εγκεφάλου. Αναπτύσσονται πρώτα σε περιοχές που χρησιμεύουν για την αντίληψη και την μνήμη, όπου και διακόπτουν την μεταβίβαση των νευρικών ώσεων. Οι πλάκες αποτελούνται, κυρίως, από αδιάλυτα ιζήματα β- αμυλοειδούς, ενός πρωτεϊνικού θραύσματος από μια μεγαλύτερη πρωτεΐνη που λέγεται πρόδρομος πρωτεΐνη του αμυλοειδούς, αναμειγμένα με νευρώνες και άλλα μη νευρικά κύτταρα. Πολλοί



επιστήμονες πιστεύουν ότι το β- αμυλοειδές είναι το κριτικό στοιχείο για την ανάπτυξη της AD.

Οι θύσανοι νευρικών ινιδίων εντοπίζονται στο κυτταρόπλασμα των παθολογικών νευρώνων και αποτελούνται από ινώδεις πρωτεΐνες που διαπλέκονται η μία γύρω από την άλλη σε ελικοειδή μορφή. Οι ινώδεις αυτές πρωτεΐνες περιέχουν μία άλλη πρωτεΐνη, την tau. Η πρωτεΐνη tau φυσιολογικά διαδραματίζει ρόλο στην ακεραιότητα των μικροσωληνίσκων, οι οποίοι οδηγούν θρεπτικές ουσίες και άλλα μόρια προς τους νευράξονες. Καθώς οι πρωτεΐνες tau δεν συντηρούν πλέον την ακεραιότητα του συστήματος μεταφοράς, η επικοινωνία μεταξύ των νευρώνων χάνεται και ακολουθεί ο θάνατός τους, που συμβάλλει στην εκδήλωση της άνοιας.

Η αιματική ροή προς τις προσβεβλημένες περιοχές του εγκεφάλου είναι μειωμένη. Ο εγκέφαλος ατροφεί και αντιστοίχως διευρύνονται οι κοιλίες και οι αύλακες. Καθώς η νόσος εξελίσσεται, προσβάλλονται ολοένα και περισσότερες περιοχές του εγκεφάλου. Η απώλεια νευρώνων και νευροδιαβιβαστών (ιδίως της ακετυλτρανσφεράσης της χολίνης, απαραίτητης για την σύνθεση της ακετυλχολίνης, ενός νευροδιαβιβαστή που σχετίζεται με την μνήμη) συσχετίζεται με τον αριθμό των νευριτικών πλακών και την βαρύτητα της AD.

Η AD χαρακτηρίζεται από ατροφία της φλοιώδους περιοχής του εγκεφάλου και από απώλεια νευρώνων, ιδίως στους βρεγματικούς και κροταφικούς λοβούς. Ως συνέπεια της σημαντικής ατροφίας και της απώλειας νευρώνων, οι κοιλίες του εγκεφάλου διευρύνονται ( μια μορφή υδροκέφαλου). Η AD χαρακτηρίζεται από διάφορες δομικές και χημικές μεταβολές στον εγκέφαλο, ιδίως στον ιπόκαμπο και το φλοιό του μετωπιαίου και του κροταφικού λοβού. Καθώς η νόσος αυτή καταστρέφει τους νευρώνες στον ιπόκαμπο και τις σχετιζόμενες με αυτόν δομές, παραβλάπτονται η πρόσφατη μνήμη και η ικανότητα του ατόμου να επιτελεί τις απλές και γνώριμες για αυτό δραστηριότητες. Οι επιπτώσεις της νόσου στους νευρώνες του φλοιού του εγκεφάλου επιφέρουν απώλεια στις γλωσσικές δεξιότητες και την κρίση. Αρχίζουν να παρατηρούνται συναισθηματικές εκρήξεις και διαταραχές της συμπεριφοράς (όπως άσκοπη περιπλάνηση και ευερεθιστότητα) και, καθώς η νόσος εξελίσσεται, καθίστανται όλο και πιο συχνές. Τελικά, προσβάλλονται και άλλες περιοχές του εγκεφάλου, οι οποίες αρχίζουν να ατροφούν, με τελικό αποτέλεσμα το άτομο να καθίσταται απαθές και ανίκανο να φροντίσει τον εαυτό του. <sup>(33)(34)</sup>

(Εικόνα 7. Παράρτημα)

### 3.1.3. Στάδια και κλινικές εκδηλώσεις

Η AD ταξινομείται σε επτά στάδια, ανάλογα με τις εκδηλώσεις του ασθενούς και τις λειτουργικές του ικανότητες. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι η εξέλιξη της νόσου διαφέρει από άτομο σε άτομο και μπορεί να μην ακολουθεί ακριβώς την παρακάτω πορεία.

#### Στάδιο 1: Χωρίς γνωστικές διαταραχές

Δεν παρατηρούνται προβλήματα μνήμης, ούτε καθίστανται αντιληπτά από τρίτους.

#### Στάδιο 2: Πολύ ήπια γνωστική έκπτωση

Οι ασθενείς παρουσιάζουν κενά μνήμης, ξεχνούν ονόματα των οικείων τους, ή χάνουν τα καθημερινά τους αντικείμενα, όπως κλειδιά και τα γυαλιά τους. Οι διαταραχές αυτές δεν είναι εμφανείς στους τρίτους ούτε αναγνωρίζονται κατά την κλινική εξέταση.

#### Στάδιο 3: Ήπια γνωστική έκπτωση

Η νόσος διαγιγνώσκεται στο αρχικό αυτό στάδιο σε κάποιους ασθενείς με AD, αλλά όχι σε όλους. Οι συγγενείς και οι φίλοι αρχίζουν να συνειδητοποιούν το πρόβλημα, το οποίο εντοπίζεται και κατά την ιατρική εξέταση. Ο ασθενής δυσκολεύεται να βρει λέξεις και ονόματα, να συγκρατεί ονόματα (όταν γνωρίζει καινούριους ανθρώπους) ή πληροφορίες (όταν διαβάσει ένα κείμενο), να προγραμματίζει ή να οργανώνει. Ακόμα, χάνει πολύτιμα αντικείμενα ή τα τοποθετεί σε λάθος μέρη και παρουσιάζει προβλήματα στην απόδοσή του στην εργασία του και τις κοινωνικές εκδηλώσεις, που γίνονται αντιληπτά από τρίτους.

#### Στάδιο 4: Μέτρια γνωστική έκπτωση

Κατά την προσεχτική λήψη του ιστορικού, θα διαπιστωθούν ανεπάρκεια στη γνώση πρόσφατων γεγονότων, μειωμένη ικανότητα επιτέλεσης μαθηματικών υπολογισμών (όπως να μετρήσει αντίστροφα από το 100, αφαιρώντας 7 κάθε φορά) και σύμπλοκων ενεργειών (όπως να κάνει ψώνια ή να πληρώνει λογαριασμούς) και έκπτωση μνήμης προσωπικών γεγονότων. Το άτομο μοιάζει υποταγμένο και να έχει αποσυρθεί, ιδίως σε κοινωνικές ή πνευματικά απαιτητικές καταστάσεις.

### Στάδιο 5: Μέτρια σοβαρή γνωστική έκπτωση

Εμφανίζονται μείζονα ελλείμματα στη μνήμη και έκπτωση των γνωστικών λειτουργιών. Θεωρείται απαραίτητη κάποιου βαθμού βοήθεια σε καθημερινές δραστηριότητες, αλλά ο ασθενής παραμένει συνήθως ικανός να τρώει και να χρησιμοποιεί μόνος του την τουαλέτα. Σε αυτό το στάδιο, οι ασθενείς συνήθως διατηρούν κάποια αντίληψη του εαυτού τους και θυμούνται τα ονόματά τους ή τα ονόματα των μελών της οικογένειάς τους. Δεν θυμούνται την παρούσα διεύθυνση και το τηλέφωνο τους, μπερδεύουν το πού βρίσκονται, την ημερομηνία, τη μέρα ή την εποχή και δυσκολεύονται σε ευκολότερους μαθηματικούς υπολογισμούς (όπως μετρώντας από το 40 αφαιρώντας 4 κάθε φορά)

### Στάδιο 6: Σοβαρή γνωστική έκπτωση

Το στάδιο αυτό χαρακτηρίζεται από επιδεινούμενη μνήμη, εμφάνιση διαταραχών προσωπικότητας και ανάγκη για εκτεταμένη βοήθεια στις καθημερινές δραστηριότητες της ζωής. Ο ασθενής χάνει την αντίληψη των πρόσφατων εμπειριών και γεγονότων, καθώς και του περιβάλλοντος του. Συνήθως, θυμάται ακόμα το όνομά του, αλλά όχι τις περισσότερες προσωπικές πληροφορίες. Σε αυτό το στάδιο, οι ασθενείς ξεχνούν ενίοτε τα ονόματα των οικείων τους, αν και συνήθως μπορούν ακόμα να ξεχωρίζουν τα γνωστά από τα άγνωστα πρόσωπα. Χωρίς επίβλεψη, μπορεί να φορέσουν, για παράδειγμα, τις πιζάμες πάνω από τα ρούχα τους ή τα παπούτσια τους ανάποδα. Χρειάζονται βοήθεια στις λεπτομέρειες των δραστηριοτήτων (π.χ. να τραβήξουν καζανάκι, να σκουπιστούν και να πετάξουν το χαρτί όταν πηγαίνουν τουαλέτα) και εμφανίζουν ολοένα και περισσότερο ακράτεια ούρων και κοπράνων. Ο φυσιολογικός κύκλος ύπνου/εγρήγορσης διασπάται. Περιπλανώνται και χάνονται. Η προσωπικότητα και η συμπεριφορά τους μεταβάλλεται σημαντικά και εμφανίζονται καχυποψία, παραισθήσεις, ψευδαισθήσεις και ψυχαναγκαστική ή επαναλαμβανόμενη συμπεριφορά (όπως δισταγμοί ή σκίσιμο χαρτοπετεστών).

### Στάδιο 7: Πολύ σοβαρή γνωστική έκπτωση

Αυτό είναι το τελευταίο στάδιο. Ο ασθενής χάνει την ικανότητα να ανταποκρίνεται στο περιβάλλον του, την ικανότητα ομιλίας και την ικανότητα ελέγχου των κινήσεων του. Μπορεί να λέει κάποιες λέξεις ή φράσεις, αλλά είναι μη αναγνωρίσιμες. Χρειάζεται συνεχή φροντίδα για να φάει και να πάει στην τουαλέτα (γενικά έχει πλήρη ακράτεια).

Πρώτα χάνεται η ικανότητα να περπατάει χωρίς βοήθεια, μετά να κάθεται, να χαμογελάει και να κρατάει όρθιο το κεφάλι του. Τα αντανακλαστικά του γίνονται ανώμαλα, οι μύες γίνονται δύσκαμπτοι και υπάρχει διαταραχή στην κατάποση. Ο θάνατος επέρχεται με συνέπεια πολλών αιτιών στο τελικό αυτό στάδιο. Η απώλεια των νευρώνων διαταράσσει το αίσθημα της πείνας και της δίψας, οδηγώντας στις επιπλοκές της αφυδάτωσης και της υποθρεψίας. Οι λοιμώξεις μπορεί να οδηγήσουν σε σήψη.<sup>(35)</sup>

#### 3.1.4. AD και αυτοφαγία

Τα κύρια παθολογικά σημάδια της AD είναι εξωκυτταρικές γεροντικές πλάκες οι οποίες αποτελούνται από συσσωματωμένα β-αμυλοειδή (Αβ) και ενδοκυτταρικά νευροϊνιδιακά πλέγματα (NFT), τα οποία είναι κατασκευασμένα από συσσωματωμένη υπερφωσφορυλιωμένη tau πρωτεΐνη. Τα Αβ προέρχεται από την πρωτεόλυση της πρόδρομης πρωτεΐνης αμυλοειδούς (APP) με τις διαδοχικές ενζυμικές δράσεις του ενζύμου 1 (BACE1), της β-σεκρετάσης και της γ-σεκρετάσης, ενός πρωτεϊνικού συμπλόκου με presenilin 1 (PS1) καταλυτικό πυρήνα. Στους εγκέφαλους των ασθενών με AD, ένα υψηλό επίπεδο πρωτεϊνών APP, Αβ και PS1, συσσωρεύεται σε AVs σε διογκωμένους δυστροφικούς νευρίτες και η ενεργοποίηση της αυτοφαγίας αυξάνεται μετά από την διέγερση των Αβ, υποδεικνύοντας ότι η αυτοφαγία εμπλέκεται στην παθογένεση της AD. Υπάρχει μια πολύπλοκη σχέση μεταξύ των Αβ και της αυτοφαγίας. Τα Αβ μπορεί να δημιουργηθούν σε AVs κατά τη διάρκεια της αυτοφαγίας. Η αφαίρεση ATG7 οδηγεί σε χαμηλότερη έκκριση εξωκυττάρων Αβ και σχηματισμό πλάκας σε διαγονιδιακά ποντίκια APP, υποδηλώνοντας ότι η ενεργοποίηση της αυτοφαγίας μπορεί να επιδεινώσει περαιτέρω την παθογένεση της AD στους εγκέφαλους των ασθενών με AD. Ωστόσο, τα Αβ μπορούν επίσης να υποβαθμιστούν από την αυτοφαγία. Έχει αναφερθεί ότι η αύξηση της αυτοφαγίας μπορεί να μειώσει τα επίπεδα των Αβ σε ένα αριθμό συστημάτων. Η υπερφωσφορυλιωμένη συσσώρευση tau σε ενδοκυτταρικά πλεγμένα είναι ένα άλλο παθολογικό χαρακτηριστικό γνώρισμα της AD και βρίσκεται επίσης σε άλλες νευρικές νόσους, όπως οι μετωπιαγωγικές άνοιες (FTDs). Η μη φυσιολογική tau διαταράσσει τη μεταφορά κυστιδίων σε νευρώνες καταστρέφοντας το σύμπλοκο δυσυνίνης - δυνίνης, αυξάνοντας έτσι τον αριθμό των αυτοφαγοσωμάτων και οδηγώντας στην τοξικότητα που προκαλούν τα tau στη AD και στις FTD. Νέα δεδομένα υποδηλώνουν ότι η αυτοφαγία είναι ικανή να αποικοδομεί τόσο τις διαλυτές όσο και τις συσσωματωμένες

μορφές tau. Έτσι, η αναστολή της αυτοφαγίας επιταχύνει τη συσσωμάτωση και την τοξικότητα της tau και, αντιθέτως, η θεραπεία με ραπαμυκίνη, έναν ενεργοποιητή αυτοφαγίας, μειώνει την παθολογία της tau πρωτεΐνης. Επιπλέον, παρατηρήθηκε επίσης εξασθένηση της ακεραιότητας της λυσοσωματικής μεμβράνης σε ασθενείς με AD και έχει αναφερθεί ότι η πρωτεΐνη tau διαταράσσει τη διαπερατότητα του λυσοσωματίου μέσω δέσμωσης της μεμβράνης των λυσοσωμάτων τόσο *in vitro* όσο και *in vivo*.

Στους υγιείς νευρώνες, τα AVs διατίθενται αποτελεσματικά, αλλά στον εγκέφαλο των ασθενών με μειωμένη κάθαρση των AV και όχι η επαγωγή της αυτοφαγίας, έχει ως αποτέλεσμα τη συσσώρευση αυτοφαγικών κενοδοπιών, υποδηλώνοντας ότι η ρύθμιση προσαρμογής των καθυστερημένων σταδίων της αυτοφαγίας μπορεί να είναι πιθανή θεραπευτική στρατηγική για την AD. Μια περαιτέρω μελέτη έδειξε ότι η ενίσχυση των AVs βρίσκεται σε πλούσιες σε PS1 θέσεις και η αποδυνάμωση του PS1 οδηγεί σε ελαττώματα στην κάθαρση του αυτοφαγοσώματος, στην λυσοσωμική όξυνση και στη δραστικότητα της λυσοσωματικής πρωτεολυτικής δράσης. Οι μεταλλάξεις του PS1 οδηγούν σε παρόμοιες ανωμαλίες στην αυτολυσοσωμική οδό και σχετίζονται με την αρχική AD. Μια πρόσφατη μελέτη επισημαίνει ότι το φωσφορυλιωμένο PS1 είναι ικανό να αλληλεπιδρά με την Anexin A2 που ρυθμίζει τη συγχώνευση αυτοφαγοσωμάτων-αυτολυσοσώματος προάγοντας τον συνδυασμό Vamp8 και αυτοφαγοσωματικής SNARE Syn-ταξίνης 17. Με βάση αυτές τις παρατηρήσεις, είναι λογικό να προτείνουμε ότι η ανάκτηση της λυσοσωμικής λειτουργίας μπορεί να ενισχύσει την κάθαρση των πρωτεϊνικών συσσωματωμάτων.

Πρόσφατα, τα μηχανιστικά δεδομένα πρότειναν ότι η αυτοφαγική παθολογία στην AD προκαλείται από μία ανωμαλία στην νευραξονική οπισθοδρομική μεταφορά AV. Τα ολιγομερή Αβ μπορούν να δεσμευθούν στην ενδιάμεση αλυσίδα της δινεΐνης (DIC) και να προκαλέσουν την ανεπάρκεια των κινητήρων δικίνης, οι οποίες εμποδίζουν τη λειτουργία της παροχής κινητικότητας για την οπισθοδρομική μεταφορά και την αποστολή AVs σε λυσοσωμάτια για πέψη. Ως εκ τούτου, η οπισθοδρομική μεταφορά των αξονικών αυτοφαγοσωμάτων παρεμποδίζεται και οδηγεί σε αυτοφαγικό στρες στους νευρώνες των ασθενών με AD.<sup>(11)</sup>

(Εικόνα 8. Παράρτημα)

### 3.1.5. AD και βλάβες στο DNA

Πρόσφατα, τα μιτοχόνδρια έχουν καταταχθεί ως βασικός παράγοντας που συμβάλλει στην φυσιολογική γήρανση και στην παθογένεια της AD. Οι έρευνες πάνω στα μιτοχόνδρια των ασθενών με AD υποδηλώνουν ότι η δυσλειτουργία των μιτοχονδρίων και το οξειδωτικό στρες είναι συμβάντα πρώιμης συμβολής στην πρόοδο της AD, καθιστώντας έτσι τα μιτοχόνδρια έναν ελκυστικό θεραπευτικό στόχο. Υποστηρίζοντας αυτήν την υπόθεση, οι μελέτες απεικόνισης του εγκεφάλου έχουν δείξει ελαττώματα στο μεταβολισμό της γλυκόζης σε ασθενείς με AD, μια ανωμαλία που μπορεί να εμφανιστεί πολύ πριν από την έναρξη των κλινικών συμπτωμάτων. Είναι ενδιαφέρον ότι οι μιτοχονδριακές ανωμαλίες έχουν αναφερθεί ως ένα πρώιμο και εμφανές χαρακτηριστικό στους εγκεφάλους των ασθενών με AD και σε μοντέλα διαγονιδιακών ποντικών AD.

Στους ανθρώπους, το μιτοχονδριακό DNA (mtDNA) έχει περίπου 37 γονίδια, τα οποία είναι όλα απαραίτητα για την κανονική λειτουργία των μιτοχονδρίων. Η μεθυλίωση του DNA είναι ένας πολύ γνωστός επιγενετικός μηχανισμός που ρυθμίζει τη μεταγραφή του πυρηνικού γονιδίου. Οι πρώτες μελέτες έδειξαν ότι οι εγκεφαλοι των ασθενών με AD είχαν συνεπείς μειώσεις στις τροποποιήσεις του DNA της 5-μεθυλοκυτοσίνης (5mC) και της 5-υδροξυμεθυλοκυτοσίνης. Δεδομένων των υψηλών εκτιμήσεων της κληρονομικότητας για την εμφάνιση της AD, υπάρχουν πρόσθετα αποδεικτικά στοιχεία που υποδηλώνουν ότι οι επιγενετικά μεσολαβούμενες μειώσεις στην έκφραση γονιδίων που σχηματίζουν σύνθετες υπομονάδες I-και-IV της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων (για παράδειγμα ND4), κυριαρχούν ιδιαίτερα στους εγκεφάλους των ασθενών με AD. Επιπλέον, οι γενετικές μελέτες έχουν εντοπίσει σωματικές μεταλλάξεις σε αρκετά μιτοχονδριακά κωδικοποιημένα γονίδια οξειδάσης του κυτοχρώματος-c, καθώς και στον βρόχο μετατόπισης του πρώιμου μιτοχονδριακού αναδιπλασιασμού (D-loop). Οι μεταλλάξεις αυτές πιθανόν να μεταβάλλουν τη μιτοχονδριακή μεταγραφή και αντιγραφή του mtDNA στους εγκεφάλους των ασθενών με AD.<sup>(36)</sup>

(Εικόνα 9. Παράρτημα)

### 3.1.6. AD και οξειδωτικό στρες

Οι πλάκες Αβ βρέθηκαν να καταστρέφουν την αποθήκευση ιόντων  $Ca_2^+$  στο ενδοπλασματικό δίκτυο (ER), με αποτέλεσμα την υπερφόρτωση του κυτοσολικού  $Ca_2^+$ , γεγονός που προκαλεί μείωση των ενδογενών επιπέδων GSH και συσσώρευση ROS. Το οξειδωτικό στρες που προκαλείται από ROS είναι ένας από τους κύριους σημαντικούς παράγοντες στην παθογένεση της AD, καθώς η υπερπαραγωγή ROS θεωρείται ότι παίζει έναν κρίσιμο ρόλο στη συσσώρευση και απόθεση των πεπτιδίων Αβ στην AD. Η συσσωμάτωση των πεπτιδίων Αβ οδηγεί σε οξειδωτικό στρες, μιτοχονδριακή δυσλειτουργία και ενεργειακή ανεπάρκεια πριν από την ανάπτυξη της παθολογίας της πλάκας και μπορεί να μειώσει τη μιτοχονδριακή αναπνοή σε νευρώνες και αστροκύτταρα μέσω της αναστολής των συμπλεγμάτων I και IV, προκαλώντας έτσι παραγωγή ROS. Έχει αναφερθεί ότι η παραγωγή  $H_2O_2$  από τα συναπτικά μιτοχόνδρια ήταν περισσότερο από πενταπλάσια από εκείνη των μη-συναπτικών μιτοχονδρίων. Αυτό το γεγονός δείχνει ότι οι νευρώνες είναι πιο επιρρεπείς στην οξειδωτική βλάβη από τα γλοιακά κύτταρα.<sup>(39)</sup>

(Εικόνα 10. Παράρτημα)

## 3.2. Νόσος Parkinson (PD)

### 3.2.1. Ορισμός

Η νόσος του Πάρκινσον (PD) είναι η δεύτερη πιο συχνή νευροεκφυλιστική νόσος. Είναι μια προοδευτική, εκφυλιστική νευρολογική νόσος που χαρακτηρίζεται από τρόμο στην ηρεμία, μυϊκή δυσκαμψία, βραδυκίνηση (βραδύτητα στις κινήσεις) και αστάθεια θέσης. Τα άτομα με PD αντιμετωπίζουν πολλαπλά προβλήματα σε ό, τι αφορά την αυτονομία τους κατά την εκτέλεση των δραστηριοτήτων της καθημερινής τους ζωής, την συναισθηματική τους ευεξία, την οικονομική τους ασφάλεια και τις σχέσεις τους με τους άλλους. Η πρόγνωση είναι πτωχή, λόγω του προοδευτικού εκφυλιστικού χαρακτήρα της νόσου, η οποία τελικά προσβάλλει πολλαπλά συστήματα του οργανισμού και επηρεάζει τη λειτουργία τους. Οι ψυχοκοινωνικές επιπτώσεις είναι εξίσου καταστροφικές και η οικογένεια χρειάζεται όλο και μεγαλύτερη υποστήριξη όσο η ανικανότητα του ασθενούς αυξάνεται. Η ολική αναπηρία επέρχεται συνήθως σε 10 έως 20 χρόνια μετά τη διάγνωση και το προσδόκιμο επιβίωσης ελαττώνεται, ιδίως στους ασθενείς με πρόωμη έναρξη της νόσου. Η κύρια αιτία θανάτου είναι η πνευμονία.

Η PD είναι μια από τις συχνότερες νευρολογικές νόσους που προσβάλλει περισσότερο από 1 εκατομμύρια άτομα στις ΗΠΑ και πάνω από 4 εκατομμύρια ανθρώπους στον κόσμο. Υπολογίζεται ότι κάθε χρόνο διαγιγνώσκονται 50000 νέα περιστατικά στις ΗΠΑ. Η νόσος συνήθως εμφανίζεται μετά την ηλικία των 50 ετών (καλείται και όψιμη PD), αλλά ενίοτε εμφανίζεται και σε νεότερους ενήλικες ( πριν την ηλικία των 50, καλείται πρώιμη PD). Δεν παρατηρείται φυλετική επιβάρυνση. Επίσης, υπάρχει γενετική συσχέτιση, με το 15% των ασθενών να έχουν οικογενειακό ιστορικό της νόσου. Η αιτία της PD παραμένει άγνωστη, αλλά πιστεύεται ότι είναι αποτέλεσμα περιβαλλοντικών και γενετικών παραγόντων. Οι γενετικές μεταλλάξεις αφορούν κυρίως την πρώιμη μορφή.

Παρκινσονικού τύπου εκδηλώσεις, που αποκαλούνται δευτεροπαθής παρκινσονισμός, μπορεί να προκύψουν και από άλλες αιτίες όπως τα αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια, οι εγκεφαλικές κακώσεις, οι εγκεφαλίτιδες, οι όγκοι του εγκεφάλου, οι τοξίνες και τα φάρμακα. Ο φαρμακευτικός παρκινσονισμός, που είναι συνήθως αναστρέψιμος, μπορεί να παρατηρηθεί σε άτομα που παίρνουν νευροληπτικά, αντιεμετικά, αντιυπερτασικά και παράνομα ναρκωτικά που περιέχουν την χημική ουσία MPTP, μια τοξική χημική ουσία. Η δηλητηρίαση με μονοξειδίο του άνθρακα και κυανιούχα είναι δυνατόν, επίσης, να προκαλέσουν δευτεροπαθή παρκινσονισμό. <sup>(38)(39)</sup>

### 3.2.2. Παθοφυσιολογία

Οι συντονισμένες εκούσιες κινήσεις του σώματος επιτυγχάνονται μέσω της δράσης νευροδιαβιβαστών στα βασικά γάγγλια του εγκεφάλου. Μερικοί νευροδιαβιβαστές διευκολύνουν την μετάδοση των διεγερτικών νευρικών ώσεων, ενώ άλλοι αναστέλλουν τη μετάδοσή τους. Χάρη στην ταυτόχρονη δράση αυτών των δύο στοιχείων, το σύστημα αυτό επιτρέπει τον έλεγχο της κίνησης. Η διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ των διεγερτικών και ανασταλτικών νευροδιαβιβαστών προκαλεί διαταραχές της εκούσιας κινητικής λειτουργίας, όπως η PD.

Στη PD, ένας αριθμός νευρώνων του εγκεφαλικού φλοιού ατροφούν και χάνονται, ενώ και το ντοπαμινεργικό μελαιοραβδωτό δεμάτιο εκφυλίζεται. Επίσης, μειώνεται ο αριθμός των ειδικών ντοπαμινεργικών υποδοχέων στα βασικά γάγγλια. Αυτές οι παθολογικές διεργασίες προκαλούν μείωση της παραγωγής ντοπαμίνης (ενός νευροδιαβιβαστή που βοηθά στη ρύθμιση των νευρικών ώσεων που μετέχουν στην κινητική λειτουργία) από την μέλανα ουσία. Η συνήθης ισορροπία μεταξύ της



ντοπαμίνης (ενός ανασταλτικού νευροδιαβιβαστή) και της ακετυλοχολίνης (ενός διεγερτικού νευροδιαβιβαστή) στον εγκέφαλο διαταράσσεται και η ντοπαμίνη παύει να αναστέλλει την ακετυλοχολίνη. Η ανεπαρκής αναστολή της ακετυλοχολίνης είναι η υποκειμενική παθοφυσιολογική βάση των εκδηλώσεων της PD.<sup>(49)</sup>

### 3.2.3. Κλινικές Εκδηλώσεις

Η PD αρχίζει με ήπια συμπτώματα. Οι ασθενείς με PD παραπονιούνται ότι αισθάνονται καταπονημένοι και φαίνονται να κινούνται αργά. Ένας ελαφρύς τρόμος μπορεί να συνοδεύει την κόπωση. Με την πάροδο του χρόνου, αυξάνεται η βαρύτητα των κλινικών εκδηλώσεων. Άλλα, λιγότερο συχνά, συμπτώματα είναι η μείωση της όσφρησης ( που μπορεί να εμφανίζεται πρώιμα) και ο πόνος.

#### Τρόμος ηρεμίας

Ο τρόμος ηρεμίας είναι συνήθως η πιο ορατή εκδήλωση, προσβάλλοντας τα χέρια και τα πόδια, το κεφάλι, τον τράχηλο, το πρόσωπο, τα χείλη, τη γλώσσα και το σαγόι. Ο χαρακτηριστικός τρόμος είναι ρυθμικός, με εναλλασσόμενη κάμψη και σύσπαση και είναι αρχικά μονόπλευρος. Σταματά με τις σκόπιμες, εκούσιες κινήσεις καθώς και στον ύπνο. Καθώς η νόσος προχωρά, ο τρόμος γίνεται αμφοτερόπλευρος. Οι ασθενείς παρουσιάζουν προοδευτικά αυξανόμενη δυσχέρεια στην εκτέλεση κινήσεων που απαιτούν επιδεξιότητα και λεπτές, ελεγχόμενες κινήσεις, όπως το φαγητό και το γράψιμο.

#### Δυσκαμψία και Βραδυκινησία

Οι εκδηλώσεις που σχετίζονται με την κινητικότητα και τη στάση του σώματος είναι η δυσκαμψία, η ακινησία και η έλλειψη συντονισμού των κινήσεων. Η δυσκαμψία ( από ακούσια σύσπαση όλων των σκελετικών μυών) δυσκολεύει τόσο τις ενεργητικές όσο και τις παθητικές κινήσεις. Αν και το άκρο κινείται, κινείται με ένα διακοπτόμενο τρόπο, που λέγεται δυσκαμψία δίκην οδοντωτού τροχού. Οι πρώτες εκδηλώσεις δυσκαμψίας μπορεί να είναι μυϊκές κράμπες στα δάκτυλα των ποδιών ή των χεριών, αλλά και πιο συχνά ο ασθενής περιγράφει κάτι σαν σφίξιμο, βάρος ή και πόνο στους μυς του. Η δυσκαμψία, που μπορεί να οδηγήσει σε συγκάμψεις, ξεκινάει από τη μια πλευρά του σώματος και με την πρόοδο της νόσου γίνεται αμφοτερόπλευρη.

Η βραδυκινησία (βραδεία κίνηση), που βιώνεται συνήθως ως δυσκολία στην έναρξη, τη συνέχιση ή το συντονισμό των κινήσεων, είναι η πιο συχνή και βασανιστική

εκδήλωση. Όλοι οι γραμμωτοί μύες προσβάλλονται, περιλαμβανομένων και εκείνων που επιτελούν τη βάδιση, τη στροφή του σώματος, τη μάσηση, την κατάποση και την ομιλία. Η επιβράδυνση των κινήσεων αφορά τα μάτια, το στόμα και την ομιλία, οδηγώντας σε ένα ανέκφραστο πρόσωπο σαν μάσκα και σιγανή, ψιθυριστή φωνή. Διαταραχές στην κατάποση προκαλούν προβλήματα στη σίτιση και σιελόρροια. Οι ασθενείς έχουν απλανές βλέμμα με ελάχιστη μεταβολή της έκφρασης. Οι ασθενείς περιγράφουν ότι νοιώθουν σαν να είναι «παγωμένου» στη θέση τους, καθώς η ικανότητα εκούσιων κινήσεων έχει χαθεί και στέκονται, κάθονται ή ξαπλώνουν σε μια θέση χωρίς να κινούνται για μεγάλα χρονικά διαστήματα. Η κίνηση διακόπτεται από «πάγωμα», το οποίο μπορεί να εκλυθεί από στροφικές κινήσεις, αύξηση της προσπάθειας του ασθενούς να κινηθεί ή και μια οπτική ή απτική επαφή.

#### Ανώμαλη στάση του σώματος

Η απώλεια των φυσιολογικών αντανακλαστικών της στάσης του σώματος προκαλεί διαταραχές, όπως καθήλωση σε μια στάση και διαταραχές της ισορροπίας και της επαναφοράς στη μέση θέση. Η ακούσια κάμψη της κεφαλής και των ώμων σημαίνει ότι το άτομο με PD δεν έχει τη δυνατότητα να διατηρήσει τον κορμό του σε ευθεία όταν κάθεται ή όταν είναι όρθιο. Αυτή η διαταραχή της στάσης προκαλεί τη χαρακτηριστική σκυφτή θέση, με λύγισμα του κορμού προς τα εμπρός. Οι διαταραχές της ισορροπίας ακολουθούν την απώλεια της ικανότητας ελέγχου της στάσης του σώματος. Ο πάσχων αδυνατεί να κάνει προσαρμογές όταν γέρνει προς μια πλευρά ή πέφτει, με αποτέλεσμα να αυξάνεται ο κίνδυνος των τραυματισμών από πτώσεις (προς τα εμπρός ή προς τα πίσω). Ο ασθενής κάνει μικρά, γρήγορα βήματα, σαν να προσπαθεί κατά την βάδιση του να διατηρήσει την όρθια στάση του και να μην πέσει.

#### Επιπτώσεις στο Αυτόνομο Νευρικό και το Νευροενδοκρινικό Σύστημα

Πολλές εκδηλώσεις οφείλονται στην απώλεια λειτουργιών που ελέγχονται από το αυτόνομο νευρικό σύστημα. Μπορεί να εκδηλωθούν προβλήματα απέκκρισης, όπως δυσκοιλιότητα, δυσχέρεια έναρξης της ούρησης ή συχνουρία. Οι ασθενείς μπορεί να παρουσιάζουν προβλήματα που σχετίζονται με ορθοστατική υπόταση, συμπεριλαμβανομένης της ζάλης με την αλλαγή θέσεων. Οι εκζεματώδεις βλάβες του δέρματος και η σημηγατόρροια σχετίζονται με την αύξηση της δραστηριότητας των

ιδρωτοποιών αδένων, λόγω της αυξημένης παραγωγής ορμονών με σημηματογόνο δράση.

#### Διάθεση και Νοητική Λειτουργία

Τόσο η κατάθλιψη όσο και η άνοια είναι παθολογικές καταστάσεις που συνοδεύουν τη PD. Κατάθλιψη παρατηρείται στο 50% των ασθενών με τη νόσο αυτή και άνοια στο 1/3 αυτών. Άνοια προκαλούμενη από απώλεια των χολινεργικών κυττάρων, εκφύλιση νευρώνων, γεροντικές πλάκες, θυσάνους νευρικών ινιδίων και αμυλοειδικές μεταβολές στα μικρά αιμοφόρα αγγεία παρατηρείται στο 20% των ασθενών με PD και εμφανίζεται όψιμα. Ο ασθενής εμφανίζει συμπτώματα παρόμοια με την AD, όπως η σύγχυση, ο αποπροσανατολισμός, η απώλεια μνήμης, η διάσπαση προσοχής και οι μεταβολές στην αφαιρετική σκέψη και την κρίση του. Μπορεί επίσης να παρατηρηθεί βραδυφρένεια, η οποία προκαλεί βραδύτητα στη σκέψη και μειωμένη ικανότητα διαμόρφωσης σκέψεων, σχεδίων και λήψης αποφάσεων.

#### Διαταραχές του ύπνου

Οι ασθενείς με PD παρουσιάζουν, επίσης, διαταραχές του ύπνου, αν και στα πρώτα στάδια οι εκδηλώσεις τους μπορεί να βελτιώνονται κατά τη διάρκεια του ύπνου. Η ικανότητα να αποκοιμηθούν και να παραμείνουν κοιμισμένοι επηρεάζεται από την ακετυλοχολίνη. Η μυϊκή δυσκαμψία μπορεί να δυσχεραίνει τον ύπνο λόγω της αδυναμίας τους να αλλάξουν θέση. Αυτή η έλλειψη μυϊκών κινήσεων αφυπνίζει τους ασθενείς ώστε συνειδητά πλέον να αλλάξουν θέση.

#### Επιπτώσεις Πολυπαραγοντικής Αιτιολογίας

Μερικές από τις εκδηλώσεις των ασθενών με PD προκύπτουν από τη συνέργεια πολλαπλών παραγόντων. Για παράδειγμα, η δυσκοιλιότητα είναι συνήθης επειδή μειώνεται ο περισταλισμός του εντέρου. Ωστόσο, ο μειωμένος περισταλισμός δεν είναι η μόνη αιτία: η ακινησία, ο τρόμος (που δυσκολεύουν τους πάσχοντες να πιουν νερό με το ποτήρι) και οι διαιτητικές μεταβολές από τη δυσφαγία, επιδεινώνουν το πρόβλημα της υπάρχουσας δυσκοιλιότητας. <sup>(41)</sup>

#### 3.2.4. PD αυτοφαγία και οξειδωτικό στρες

Ο αυτοφαγικός εκφυλισμός στους μελανωμένους νευρώνες του substantia nigra σε ασθενείς με PD παρέχει στοιχεία ότι η αυτοφαγία σχετίζεται με PD. Οι αναδυόμενες

ενδείξεις συνεπάγονται με το γεγονός ότι οι πρωτεΐνες που κωδικοποιούνται από τα γονίδια που σχετίζονται με τη PD μπορούν να ρυθμίζουν τις οδούς της αυτοφαγίας.

Η μακροαυτοφαγία, η αυτοφαγία με μεσολάβηση συνοδείας (CMA) και η μιτοφαγία εμπλέκονται στην PD. Το επίπεδο SNCA είναι ένας βασικός καθοριστικός παράγοντας της νευροτοξικότητάς τους και σχετίζεται με το σχηματισμό των Lewy σωμάτων. Έτσι, η υποβάθμιση του SNCA είναι απαραίτητη στη θεραπευτική αγωγή της PD. Πρόσφατες μελέτες υποδεικνύουν ότι η από ουβουκοποιημένη SNCA αποκοδομείται κυρίως από την αυτοφαγία, ενώ η μη από ουβουκοποιημένη SNCA απομακρύνεται κατά προτίμηση από το πρωτεάσωμα. Σε διαγονιδιακούς ποντικούς SNCA, το σύστημα ουμπικουϊτίνης-πρωτεασώματος είναι η κύρια οδός αποδόμησης για SNCA υπό φυσιολογικές συνθήκες, ενώ η αυτοφαγία είναι λειτουργική ενάντια στην αυξημένη ενδοκυτταρική SNCA. Οι μεταλλάξεις στο γονίδιο LRRK2 εντοπίστηκαν για πρώτη φορά το 2004 σε οικογένειες με αυτοσωματικά επικρατή PD και μετάλλαξη G2019S στο LRRK2 τώρα βρίσκεται όχι μόνο στο 5-6% της οικογενειακής PD, αλλά και στο 1-2% των ασθενών με σποραδικό PD. Αρκετές αναφορές έδειξαν ότι η LRRK2 μπορεί να ρυθμίζει τη μακροαυτοφαγία. Η μείωση του LRRK2 αυξάνει την αυτοφαγική ροή υπό συνθήκες πείνας και η αναστολή της δραστηριότητας κινάσης LRRK2 διεγείρει μακροαυτοφαγία απουσία οποιασδήποτε μεταβολής του TORC1.

Επιπλέον, το οξειδωτικό στρες, το οποίο αποτελεί βασικό παράγοντα στην απώλεια ντοπαμινεργικών νευρώνων, είναι γνωστό ότι προκαλεί PD. Έτσι, η μείωση του οξειδωτικού στρες μέσω της αυτοφαγίας μπορεί να είναι αποτελεσματική θεραπευτική στρατηγική για την PD. Τα αντιοξειδωτικά όπως οι θειόλες, το ασκορβικό οξύ και οι πολυφαινόλες εξαλείφουν τις ενδιάμεσες ενώσεις των ελεύθερων ριζών και αναστέλλουν την αντίδραση οξείδωσης. Το ιδανικό αντιοξειδωτικό για τη θεραπεία της PD πρέπει να έχει τόσο ανώμαλες ιδιότητες εκκαθάρισης ROS όσο και ιδιότητες επαγωγής της αυτοφαγίας επειδή ορισμένα επίπεδα οξειδωτικού στρες είναι απαραίτητα για την ενεργοποίηση της αυτοφαγίας. Αρκετές πολυφαινόλες μπορούν να είναι αποτελεσματικοί παράγοντες θεραπείας της PD, επειδή μπορούν να προκαλέσουν αυτοφαγία καθώς και να μειώσουν το οξειδωτικό στρες. Για παράδειγμα, η κουρκουμίνη, ένα διαρυπτανοειδές που έχει αντιοξειδωτικές ιδιότητες, βελτιώνει την νευροτοξικότητα στο κυτταρικό μοντέλο του A53T των SNCA κυττάρων της PD μέσω της ανάκτησης της μακροαυτοφαγίας.

Επειδή το βασικό επίπεδο της αυτοφαγίας είναι ουσιαστικά απαραίτητο για τη διατήρηση της νευρωνικής ομοιόστασης, η ενίσχυση της βασικής αυτοφαγίας διερευνάται ως θεραπευτικός στόχος. Πρώτα απ'όλα, η μεταφορά του γονιδίου BECN1 βελτιώνει τη νευροεκφυλιστική παθολογία στο μοντέλο SNCA της PD. Η υπερέκφραση του RAB1A, ενός βασικού ρυθμιστή ενδοκυτταρικής μεμβρανικής διακίνησης και αυτοφαγοσωματικής συναρμολόγησης, αποδείχθηκε ότι μερικώς βελτιώνει τα κινητικά ελλείμματα στους ντοπαμινεργικούς νευρώνες που εκφράζουν το SNCA. Η δεακετυλάση 6 της ιστοσίνης (HDAC6), η οποία ελέγχει την ωρίμανση των αυτοφαγοσωμάτων, είναι ικανή να καταστείλει την επαγόμενη από τα SNCA ντοπαμινεργική νευρωνική απώλεια στην *drosophila*. Επιπλέον, η υπερέκφραση του μεταγραφικού παράγοντα EB (TFEB) διασώζει τους νευρώνες της ντοπαμίνης μέσω της αυτοφαγικής κάθαρσης των ολιγομερών SNCA. Τέλος, τα μειωμένα επίπεδα πρωτεϊνών LAMP2A και HSC70, τα κύρια συστατικά της CMA, έχουν παρατηρηθεί στον εγκέφαλο των ασθενών με PD. Έτσι, αυτά τα ευρήματα παρέχουν σημαντικό ρόλο της αυτοφαγίας στην παθογένεση της PD. Η αυτοφαγία αντιπροσωπεύει έναν καλό στόχο για τη θεραπεία του PD.<sup>(11)</sup>

(Εικόνα 11 και 12. Παράρτημα)

### 3.3. Νόσος Huntington (HD)

#### 3.3.1. Ορισμός

Η νόσος του Huntington (HD), που λέγεται και χορεία του Huntington, είναι μια προοδευτική, εκφυλιστική, κληρονομούμενη νευρολογική νόσος, χαρακτηριζόμενη από αυξανόμενη άνοια και χορεία (απότομες, ταχείες, ακούσιες κινήσεις). Κληρονομείται κατά τον αυτοσωμικό επικρατούντα χαρακτήρα και προκαλεί εντοπισμένο θάνατο των νευρώνων των βασικών γάγγλιων. Η ακριβής αιτία της είναι άγνωστη, αλλά νεκροτομικές μελέτες έχουν δείξει μείωση του GABA (γαμμα-αμινοβουτυρικού οξέος), ενός ανασταλτικού νευροδιαβιβαστή των βασικών γαγγλίων. Παρατηρείται επίσης μείωση στα επίπεδα της ακετυλοχολίνης, γεγονός που υποδηλώνει ότι η εκδηλώσεις πιθανότατα οφείλονται σε διαταραχή της ισορροπίας ντοπαμίνης- ακετυλοχολίνης. Η νόσος έχει οικογενή χαρακτήρα. Κάθε απόγονος πάσχοντα γονέα έχει 50% πιθανότητα να κληρονομήσει το γονίδιο και συνεπώς να εμφανίσει την νόσο κάποια στιγμή κατά τη διάρκεια της ζωής του. Μέχρι στιγμής δεν έχει βρεθεί θεραπεία.

Επειδή ο ασθενής είναι συνήθως ασυμπτωματικός μέχρι την ηλικία των 30 έως 40 ετών, είναι πολύ πιθανόν να έχει ήδη περάσει το γονίδιο στην επόμενη γενεά. Ο ψυχολογικός αντίκτυπος είναι τεράστιος για τους ασθενείς και την οικογένεια τους. Η οικογένεια όχι μόνο νιώθει ένοχη λόγω του ότι κληροδότησαν τη νόσο στην επόμενη γενεά, αλλά επίσης αντιμετωπίζει και τις εξαντλητικές ανάγκες μακροχρόνιας νοσηλευτικής φροντίδας των πασχόντων. Είναι συχνό να υποφέρουν από τη νόσο περισσότερο του ενός μέλη της οικογένειας. <sup>(42)</sup>

### 3.3.2. Παθοφυσιολογία

Η HD προκαλεί καταστροφή των κυττάρων σε περιοχές του κερκοφόρου πυρήνα και της ωχράς σφαίρας στα βασικά γάγγλια. Άλλες περιοχές του εγκεφάλου, όπως οι μετωπιαίοι λοβοί, μπορεί εκλεκτικώς να ατροφήσουν. Διάφοροι νευροδιαβιβαστές και οι υποδοχείς τους είναι μειωμένοι, συμπεριλαμβανομένων του GABA και της ακετυλοχολίνης. Ο νευροδιαβιβαστής ντοπαμίνη δεν προσβάλλεται από τη HD, αλλά η μείωση της ακετυλοχολίνης προκαλεί σχετική περίσσεια ντοπαμίνης στα βασικά γάγγλια. Ενώ στη PD η έλλειψη ντοπαμίνης προκαλεί βραδυκινησία ή ακινησία, στη HD συμβαίνει το αντίθετο: υπάρχει μια σχετική περίσσεια της ντοπαμίνης η οποία προκαλεί υπερβολικές, ανεξέλεγκτες κινήσεις.

Περιστασιακά η νόσος εμφανίζεται και σε ανήλικους (νεανική μορφή ή τύπος Westphal). Σε αυτές τις περιπτώσεις η νόσος κληρονομείται από τον πατέρα, τα συμπτώματα είναι πολύ πιο βαριά, και η εξέλιξη της νόσου ταχύτερη. Η μοριακή βάση της νόσου είναι η επέκταση των επαναλήψεων της τριάδας νουκλεοτιδίων CAG στο εξόνιο 1 του γονιδίου IT15 στο χρωμόσωμα 4p16.52. Φυσιολογικά αλληλόμορφα φέρουν 8-30 τριάδες, ενώ πάσχοντα άτομα έχουν 39-75 τριάδες σε τουλάχιστον ένα χρωμόσωμα.

Οι τριάδες μεταφράζονται σε μια πολυγλουταμινική αλυσίδα, η οποία φαίνεται να προσδίδει μία επιβλαβή λειτουργία στην πρωτεΐνη huntingtin με αποτέλεσμα νευρωνική δυσλειτουργία και νευροεκφύλιση. Αυτό οφείλεται στη δημιουργία ενδοπυρηνικών εγκλειστών στα νευρώνια, τα οποία συνίστανται από δύο πρωτεΐνες, huntingtin και ubiquitin. Τα εγκλειστα παρατηρούνται περισσότερο στις περιοχές του εγκεφάλου που είναι πιο επιρρεπείς στη μετάλλαξη και φαίνονται να είναι πιο αυξημένες σε ανήλικους ασθενείς με μεγαλύτερες επεκτάσεις της τριάδας. Ο τρόπος δημιουργίας των εγκλειστών και ο λόγος που καταστρέφουν μόνο ειδικούς τύπους

νευρικών κυττάρων, παρά την ευρεία έκφραση του γονιδίου στον οργανισμό, παραμένουν άγνωστα.

Το μέγεθος της επέκτασης της τριάδας σε παθολογικά χρωμοσώματα είναι αντιστρόφως ανάλογο της ηλικίας έναρξης της νόσου αλλά εξηγεί μόνο το 70% της διαφοράς στη βαρύτητα του φαινοτύπου σε πάσχοντα άτομα<sup>4</sup>. Ο καθορισμός του αριθμού των αλληλουχιών σε ένα άτομο δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για πρόβλεψη της πορείας ή της βαρύτητας της νόσου. <sup>(42)(43)</sup>

### 3.3.3. Κλινικές Εκδηλώσεις

Οι κλινικές εκδηλώσεις και οι επιπλοκές περιλαμβάνουν, κυρίως, ανώμαλες κινήσεις και προοδευτικά επιδεινούμενη άνοια. Η εξέλιξη και η σειρά εμφάνισης των εκδηλώσεων ποικίλλουν από άτομο σε άτομο. Ωστόσο, οι ψυχολογικές διαταραχές προξενούν αρχικά μεγαλύτερο πρόβλημα από τις χορειόμορφες (γρήγορες, απότομες) κινήσεις.

Τα πρώιμα σημεία μεταβολής της προσωπικότητας αφορούν την βαριά κατάθλιψη, την απώλεια μνήμης, τη μείωση της ικανότητας της αυτοσυγκέντρωσης, την συναισθηματική αστάθεια και την παρορμητικότητα. Ο ασθενής βιώνει συχνά διακυμάνσεις στη διάθεση του, μεταπίπτοντας από ανεξέλεγκτες περιόδους οργής σε περιόδους απάθειας. Τελικά, εμφανίζονται σημεία άνοιας με αποπροσανατολισμό, σύγχυση και απώλεια αίσθησης του χρόνου, δυσχεραίνοντας την αυτοεξυπηρέτηση του.

Τα κινητικά συμπτώματα συνήθως εξελίσσονται παράλληλα με τις αλλαγές της προσωπικότητας και της διάθεσης. Επιδεινώνονται με τα ερεθίσματα του περιβάλλοντος και το συναισθηματικό στρες, αλλά απουσιάζουν όταν ο ασθενής κοιμάται. Αρχικώς, τα κινητικά προβλήματα περιγράφονται ως νευρική ή ανησυχία, τις οποίες ακολουθεί προοδευτική επιδείνωση των ανώμαλων κινήσεων. Οι χορειόμορφες κινήσεις, που αρχίζουν από το πρόσωπο και τα χέρια και στη συνέχεια, επεκτείνονται σε όλο το σώμα, εκδηλώνονται με μορφασμούς, προβολή της γλώσσας, απότομες κινήσεις των περιφερικών μερών των χεριών και των ποδιών και ρυθμικό βάδισμα με κλίση του κορμού προς τα εμπρός ή προς τα πλάγια που σχεδόν μοιάζει με χορό. Στις διαταραχές του βαδίσματος περιλαμβάνεται η έλλειψη συντονισμού των κινήσεων με αποτέλεσμα τις συχνές πτώσεις.

Προσβάλλονται οι μύες της κατάποσης, της μάσησης και της ομιλίας, γεγονός που οδηγεί σε δυσφαγία, δυσαρθρία και προβλήματα που σχετίζονται με την επικοινωνία και την θρέψη. Η συνεχής κίνηση του ασθενούς και η δυσκολία στην κατάποση συμβάλλουν στην απώλεια βάρους και τελικά οδηγούν σε καχεξία. Η αναπνοή δυσχεραίνεται επίσης, λόγω διαταραχής της κινητικότητας του διαφράγματος.

Οι εκδηλώσεις επιδεινώνονται σταδιακά μέσα σε ένα διάστημα 15 με 20 ετών μετά την αρχική εμφάνιση των συμπτωμάτων. Η πρόγνωση είναι πτωχή, με αναπόφευκτες συνέπειες την αναπηρία και την ολική εξάρτηση. Ο θάνατος συνήθως επέρχεται από πνευμονία λόγω εισρόφησης ή από άλλη λοιμώδη διεργασία. <sup>(42)(44)</sup>

(Εικόνα 13. Παράρτημα)

### 3.3.4. HD και αυτοφαγία

Η HD είναι μια αυτοσωματική επικρατής ασθένεια που προκαλείται από την επέκταση μιας τριπλής επανάληψης CAG (κυτοσίνη-αδενίνη-γουανίνη) στο εξόνιο 1 του γονιδίου που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη huntingtin (HTT). Η πολυγλουταμίνη (polyQ) οδός στην μεταλλαγμένη πρωτεΐνη HTT που κωδικοποιείται από την επανάληψη των CAG είναι υπεύθυνη για το σχηματισμό τοξικών ολιγομερών και συσσωματωμάτων. Το κατά πόσον αυτά τα συσσωματώματα είναι τοξικά παραμένει άγνωστο. Η επέκταση της HTT polyQ οδού είναι 6-34 σε φυσιολογικά άτομα και 36-121 στα προσβεβλημένα άτομα. Όσο μεγαλύτερο είναι το μήκος των επαναλαμβανόμενων αλληλεπιδράσεων στο μεταλλαγμένο HTT, τόσο πιο εύκολο είναι να σχηματιστούν συσσωματώματα και τόσο νωρίτερα είναι η ηλικία της εκδήλωσης HD. Από την άλλη πλευρά, η λειτουργία HTT άγριου τύπου δεν έχει ακόμη διευκρινιστεί, αλλά είναι απαραίτητη για την εμβρυϊκή ανάπτυξη. Επομένως, η θεραπευτική προσέγγιση της HD πρέπει να εξετάσει τη σημασία της εκλεκτικότητας χωρίς να παρεμβαίνει στο HTT άγριου τύπου. Το μεταλλαγμένο HTT σχηματίζει περιπυρηνικά κυτταροπλασματικά συσσωματώματα και ενδοκυτταρικά εγκλείσματα, τα οποία μπορούν να απομακρυνθούν με τη διαδικασία της αυτοφαγίας. Προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει ότι η αυτοφαγία προκαλεί την αποικοδόμηση τόσο των συσσωματωμένων όσο και των διαλυτών μορφών της HTT και μειώνει την τοξικότητα στα μοντέλα κυττάρων, μυγών και ποντικών με HD. Επιπλέον, παρατηρήθηκε αλλοίωση της αυτοφαγίας σε διάφορους τύπους μοντέλων HD όπως σε πρωτογενείς νευρώνες ραβδωτού τύπου από ποντικούς HD ή λεμφοβλάστες ασθενών με HD. Γενικά, η αναποτελεσματική μακροαυτοφαγία



είναι γνωστό ότι συμβάλλει στην παθογένεση της HD. Ειδικότερα, η ικανότητα των AVs να αναγνωρίζουν τα κυτοσολικά φορτία είναι σε μεγάλο βαθμό ελαττωματικά σε κύτταρα με HD. Η αυτοφαγοσωματική-λυσosomalική οδός είναι φυσιολογική ή ακόμα και αυξημένη στα κύτταρα με HD, αλλά τα AA αποτυγχάνουν να αναγνωρίσουν αποτελεσματικά και να παγιδεύσουν κυτοσολικά φορτία λόγω της αλληλεπίδρασης μεταξύ μεταλλαγμένου HTT και του p62. Επιπλέον, το συσσωρευμένο μεταλλαγμένο HTT μπορεί να στρατολογήσει κυτοσολικό BECN1 και να υποβαθμίσει την διαδικασία της αυτοφαγίας που μεσολαβεί στο σύμπλοκο BECN1, προκαλώντας τη συσσώρευση μεταλλαγμένου HTT και οδηγώντας σε νευρωνική τοξικότητα σε ασθενείς με HD. Η παθογένεση της HD επηρεάζεται έντονα από δυσλειτουργία της νευρωνικής αυτοφαγίας. Ωστόσο, τα μοριακά συμβάντα, που οδηγούν στην δυσλειτουργία της αυτοφαγίας, παραμένουν ασαφή. Πολλές θεραπευτικές προσεγγίσεις για τη θεραπεία της HD αναπτύσσονται για να χειριστούν την αυτοφαγία. Αρκετές αναφορές υποδεικνύουν ότι η ενεργοποίηση της αυτοφαγίας ανακουφίζει τις κινητικές ανωμαλίες συμπεριφοράς και τη νευροπαθολογία σε συστήματα μοντέλων HD. Η ραπαμυκίνη και η αναλογική CCI-779 μειώνουν την τοξικότητα πολυοξειθυλενίου και βελτιώνουν τους κινητικούς φαινοτύπους συμπεριφοράς σε μοντέλο ποντικού HD. Επιπλέον, ο ενισχυτής αυτοφαγίας ανεξάρτητος από mTOR αυξάνει την κάθαρση του HTT και βελτιώνει τον κινητικό φαινότυπο HD.

Η τρεαλόζη, ένας δισακχαρίτης που υπάρχει σε πολλά είδη μη θηλαστικών, προκαλεί μακροαυτοφαγία με τρόπο ανεξάρτητο από mTOR και βελτιώνει την παθολογία που προκαλείται από polyQ σε μοντέλο ποντικού HD. Ομοίως, η ριλιμιδίνη, ένας αγωνιστής του υποδοχέα της ιμιδαζολίνης-1, επάγει την αυτοφαγία ανεξάρτητα από mTOR και μειώνει τα παθολογικά σημάδια της νόσου σε μοντέλο ποντικού HD. Επιπλέον, η N (10) -υποκατεστημένη φαινοξαζίνη ρυθμίζει με ασφάλεια την αυτοφαγία με ανεξάρτητο από AKT και mTOR τρόπο στους νευρώνες. Σε ένα μοντέλο νευρώνων HD, η N (10) -υποκατεστημένη φαινοξαζίνη είναι νευροπροστατευτική και μειώνει τη συσσώρευση συσσωματωμένου μεταλλαγμένου HTT. Η αναστολή της αποακετυλάσης ιστόνης (HDAC) έχει θεωρηθεί ως θεραπευτική στρατηγική για HD. Η HDAC6 έχει αποδειχθεί προηγουμένως ότι είναι ένας ουσιαστικός δεσμός μεταξύ της ενεργοποίησης της αυτοφαγίας και της βλάβης της UPS για τη μείωση του νευροεκφυλισμού.<sup>(11)</sup>

(Εικόνα 14. Παράρτημα)

### 3.3.5. HD και οξειδωτικό στρες

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, η HD κληρονομείται με αυτοσωμικό τρόπο. Κλινικά η HD χαρακτηρίζεται από ψυχιατρικές διαταραχές, προοδευτική νοητική εξασθένηση και χορευτικές κινήσεις. Η παθολογική HD χαρακτηρίζεται από την απώλεια νευρώνων μεγάλης προβολής, με αποτέλεσμα την προοδευτική ατροφία του πυρήνα του caudate, του κέλυφους και της ωχράς σφαίρας.

Η μετάλλαξη HD είναι μια επέκταση της επαναλαμβανόμενης τριπλέτας του CAG εντός του εξονίου 1 του γονιδίου της κυνοτοπλασμίνης (HTT), μια κυτταροπλασματική πρωτεΐνη άγνωστης λειτουργίας. Επειδή η τριάδα CAG κωδικοποιεί την επέκταση της γλουταμίνης, μετά από μετάλλαξη, η πρωτεΐνη παρουσιάζει μια πολυγλουταμινική οδό στο N-τελικό άκρο, οδηγώντας σε μια μεταμόρφωση της πρωτεΐνης και τελικά προκαλώντας μη φυσιολογική αλληλεπίδραση πρωτεΐνης-πρωτεΐνης. Στον άνθρωπο, η υπέρταση ενηλίκων HD εμφανίζεται όταν υπάρχουν περισσότερες από 40 επαναλήψεις CAG, σε σύγκριση με τον κανονικό αριθμό που είναι μικρότερος από 36 επαναλήψεις. Σε νεανικές περιπτώσεις η επέκταση αυξάνεται σε 70 επαναλήψεις ή και περισσότερο. Το μεταλλαγμένο HTT προσδίδει στην πρωτεΐνη κυρίαρχη "απολαβή της λειτουργίας", λόγω του εκτεταμένου τμήματος πολυγλουταμίνης, που τελικά οδηγεί σε νευροεκφυλισμό. Διάφορες ενδείξεις δείχνουν ότι μία από τις κυριότερες συνέπειες της επέκτασης του γονιδίου μπορεί να είναι το μιτοχονδριακό μεταβολικό ελάττωμα που έχει ως αποτέλεσμα τον εξασθενημένο ενεργειακό μεταβολισμό. Η μειωμένη μιτοχονδριακή ενέργεια αυξάνει πιθανώς περισσότερη παραγωγή ελεύθερων ριζών η οποία με τη σειρά της οδηγεί σε αυξημένη οξειδωτική βλάβη.

Πολλές πρόσφατες ενδείξεις από ασθενείς με HD δείχνουν εμπλοκή της μιτοχονδριακής δυσλειτουργίας στην παθογένεση. Οι εγκέφαλοι των ασθενών με HD αποκαλύπτουν αυξημένη παραγωγή γαλακτικού στον εγκεφαλικό φλοιό και στα βασικά γάγγλια με φασματοσκοπία απεικόνισης πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού. Μια άλλη μελέτη ανέφερε μειωμένη δραστηριότητα σύνθετου I και καμία αλλαγή στις δραστηριότητες των συμπλεγμάτων II-III και IV στα αιμοπετάλια. Οι βιοχημικές μελέτες του εγκεφαλικού ιστού από ανθρώπινο εγκέφαλο HD έδειξαν πολλαπλές ατέλειες στο υπεζωκότα: μειωμένη σύμπλεξη II και σύμπλεξη II-III, δραστηριότητα χωρίς αλλοίωση των πολύπλοκων δραστηριοτήτων I ή IV. Επίσης, οι υπερδομικές

διαταραχές στα μιτοχόνδρια έχουν περιγραφεί σε HD φλοιώδη ιστό. Παρόλο που το οξειδωτικό στρες δεν έχει πολύ βαθιά επίδραση στη HD σε σύγκριση με άλλες κύριες νευροεκφυλιστικές ασθένειες, οι ασθενείς με HD εμφανίζουν χαμηλή δραστηριότητα καταλάσης σε καλλιέργειες ινοβλαστών δέρματος. Σε μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε μεταλλαγμένα έμβρυα ποντικού HTT-knock-in, παρατηρήθηκε σημαντική εξασθένιση της μιτοχονδριακής αναπνοής και της παραγωγής ATP.

Συνοπτικά, το μεταλλαγμένο HTT προκαλεί ανώμαλες πρωτεϊνικές αλληλεπιδράσεις οι οποίες επηρεάζουν την κανονική λειτουργία των μιτοχονδρίων, οδηγώντας σε οξειδωτικό στρες και άλλα προς τα κάτω διεγερτικά και φλεγμονώδη γεγονότα, που οδηγούν σε νευρωνικό θάνατο. <sup>(45)</sup>

(Εικόνα 15. Παράρτημα)

### 3.4. Πλάγια Μυατροφική Σκλήρυνση (ALS)

#### 3.4.1. Ορισμός

Η πλάγια μυατροφική σκλήρυνση (ALS), ή νόσος του Lou Gehrig (ονομάστηκε έτσι από έναν διάσημο παίχτη του μπέιζμπολ που πέθανε από τη νόσο), είναι μια ταχέως εξελισσόμενη και θανάσιμη εκφυλιστική νευρολογική νόσος, χαρακτηριζόμενη από αδυναμία και ατροφία των ακούσιων μυών, χωρίς συνοδό αισθητική συμμετοχή. Όλο και περισσότερα είναι τα δεδομένα που καταδεικνύουν ότι κάποιοι ασθενείς θα εμφανίσουν και συνοδό άνοια.

Η νόσος διαγιγνώσκεται σε 1 έως 2 άτομα ανά 100.000 πληθυσμού ετησίως. Στο 90 έως 95% των περιστατικών δεν αναγνωρίζονται παράγοντες κινδύνου και η νόσος εμφανίζεται σποραδικά. Στο 5 με 10% των περιστατικών υπάρχει γενετική προδιάθεση, με την έννοια της οικογενούς μορφής της νόσου. Η μέση διάρκεια επιβίωσης μετά την έναρξη των συμπτωμάτων είναι 2 έως 5 χρόνια και ο θάνατος επέρχεται συνήθως από αναπνευστική ανεπάρκεια. Η πλειονότητα των ασθενών είναι μεσήλικες έως και ηλικιωμένοι τη στιγμή της διάγνωσης. Η συχνότητα είναι δύο φορές υψηλότερη στους άνδρες από ότι σε γυναίκες. Τα περισσότερα από τα σωματικά προβλήματα που παρουσιάζουν οι ασθενείς με ALS σχετίζονται με την κατάποση και την αποβολή των εκκρίσεων, την επικοινωνία και την δυσλειτουργία των αναπνευστικών μυών. <sup>(46)(47)</sup>

### 3.4.2. Παθοφυσιολογία

Η ALS προσβάλλει τους κινητικούς νευρώνες σε τρεις περιοχές: τα πρόσθια κέρατα (κατώτερος κινητικός νευρώνας) του νωτιαίου μυελού, τους κινητικούς πυρήνες του εγκεφαλικού στελέχους και τους ανώτερους κινητικούς νευρώνες του εγκεφαλικού φλοιού. Ο θάνατος των νευρώνων προκαλεί εκφύλιση των αξόνων, απομυελίνωση, υπερπλασία της νευρογλοίας και ουλοποίηση κατά μήκος του φλοιονωτιαίου δεματίου. Στα πρώτα στάδια της νόσου, νέοι κλάδοι εκφύονται από τους επιζώντες κινητικούς νευρώνες για να επανανευρώσουν τις προσβεβλημένες μυϊκές ίνες και να διατηρήσουν την μυϊκή ισχύ. Ωστόσο, όταν προσβληθούν περισσότεροι από τους μισούς κατώτερους κινητικούς νευρώνες, η επανεύρωση δεν επαρκεί και η μυϊκή αδυναμία καθίσταται έκδηλη.

Αν και η παθογένεση της νόσου δεν είναι σαφής, ο ρόλος της βλάβης από τις ελεύθερες ρίζες, τα υψηλότερα του φυσιολογικού επίπεδα γλουταμινικού και της αυτοάνοσης απάντησης βρίσκονται υπό μελέτη. Έχει, επίσης, απομονωθεί RNA του ιού Echo σε ιστό του νωτιαίου μυελού κάποιων ασθενών με μη οικογενή ALS. Ερευνώνται επίσης περιβαλλοντικοί παράγοντες, η αύξηση του ενδοκυττάριου ασβεστίου καθώς και αντισώματα έναντι των διαύλων ασβεστίου. Άλλοι παράγοντες κινδύνου είναι η ηλικία, η διαίτα και η στρατιωτική θητεία.<sup>(46)(47)</sup>

(Εικόνα 16. Παράρτημα)

### 3.4.3. Κλινικές Εκδηλώσεις

Οι αρχικές εκδηλώσεις μπορεί να σχετίζονται με δυσλειτουργία των ανώτερων κινητικών νευρώνων, των κατώτερων κινητικών νευρώνων ή και των δύο. Η δυσλειτουργία των ανώτερων κινητικών νευρώνων προκαλεί σπαστικότητα, μυϊκή αδυναμία και αυξημένα εν τω βάθει αντανακλαστικά. Η δυσλειτουργία των κατώτερων κινητικών νευρώνων προκαλεί απώλεια του μυϊκού τόνου, πάρεση, παράλυση και μυϊκή ατροφία.

Συνήθεις πρώιμες εκδηλώσεις είναι οι μυϊκές δεσμιδώσεις, η μυϊκή αδυναμία ενός άκρου και η κακή άρθρωση του λόγου. Η μυϊκή αδυναμία μπορεί στην αρχή να προσβάλλει μία μόνο μυϊκή ομάδα, προκαλώντας και τις ανάλογες εκδηλώσεις. Δεσμιδώσεις ή τοπικά τινάγματα των προσβεβλημένων μυών, είναι συνήθη στα πρώιμα στάδια της νόσου. Με την απώλεια της νευρώσής τους, οι μύες ατροφούν και

αναπτύσσεται παράλυση. Κλινικώς, η μυϊκή μάζα μειώνεται και ο ασθενής παραπονείται για προοδευτικά επιδεινούμενη κόπωση. Τυπικώς, η νόσος στην αρχή προσβάλλει τα χέρια, κατόπιν τους ώμους, τους βραχίονες και τελικά τα κάτω άκρα.

Η αυξανόμενη συμμετοχή του εγκεφαλικού στελέχους προκαλεί προοδευτική ατροφία της γλώσσας και των μυών του προσώπου, με τελική κατάληξη τη δυσφαγία και τη δυσαρθρία. Είναι πιθανό να παρατηρηθεί συναισθηματική αστάθεια και απώλεια του ελέγχου της συμπεριφοράς. Τελικά, η μυϊκή αδυναμία και η ατροφία που επέρχονται κατά την εξέλιξη της νόσου, καθιστούν τον ασθενή ανίκανο να σταθεί όρθιος, να περπατήσει, να χρησιμοποιήσει τα χέρια του και να αναπνεύσει χωρίς τη βοήθεια αναπνευστήρα. <sup>(48)</sup>

#### 3.5.4. ALS και αυτοφαγία

Από το 1993, έχουν ταυτοποιηθεί αρκετά γονίδια που σχετίζονται τόσο με την οικογενειακή ALS όσο και με την σποραδική ALS, συμπεριλαμβανομένης της δισμουτάσης υπεροξειδίου 1 (SOD1), της πρωτεΐνης FUS που δεσμεύεται με RNA και της πρωτεΐνης 43 που δεσμεύεται με το TAR DNA (TDP43). Πολλοί παράγοντες όπως το οξειδωτικό στρες, η μιτοχondριακή δυσλειτουργία, οι ανωμαλίες του ανοσοποιητικού συστήματος και η τοξικότητα του γλουταμικού είναι γνωστό ότι προκαλούν σποραδική ALS.

Πρόσφατα, η δυσλειτουργία του αυτοφαγικού / λυσοσωμικού συστήματος έχει επίσης αποδειχθεί ότι συνδέεται στενά με την ALS. Η πρώτη απόδειξη προέκυψε από το μοντέλο ποντικού ALS που εκφράζει το SOD1G93A. Αν και η αυτοφαγία φαίνεται να είναι μειωμένη στο μοντέλο ALS, πολλοί ερευνητές έδειξαν την επαγωγή της σε μοντέλα ποντικών ALS. Σε ασθενείς με σποραδική ALS, τα χαρακτηριστικά αυτοφαγίας παρατηρήθηκαν υπό ηλεκτρονική μικροσκοπία στο κυτταρόπλασμα κανονικών κινητικών νευρώνων και πιο συχνά σε εκφυλισμένους κινητικούς νευρώνες. Ωστόσο, αυτό το χαρακτηριστικό δεν μπορεί να διασφαλίσει ποιος παράγοντας προκαλεί την ενίσχυση του LC3-II στην ALS. Παρά τις ορισμένες διαμάχες σχετικά με το ρόλο της αυτοφαγίας στην ALS, πολλές μελέτες υποδεικνύουν ότι η αυτοφαγική κάθαρση του μεταλλαγμένου SOD1 είναι επωφελής για την ALS. Η μικρή πρωτεΐνη θερμικού σοκ B8 (HSPB8) μειώνει τη συσσωμάτωση του μεταλλαγμένου SOD1 και αυξάνει την διαλυτότητα και την κάθαρσή του αυξάνοντας την αυτοφαγία χωρίς να επηρεάζει τον κύκλο εργασίας SOD1 άγριου τύπου στους ποντικούς μοντέλου

SOD1G93A ALS. Μια δραματική μείωση στην μεταλλακτική τοξικότητα SOD1 παρατηρήθηκε επίσης σε πρωτεΐνη-1 που συνδέεται με X-box (XBP-1), ένα βασικό μόριο στην αποκλιωτή πρωτεϊνική απόκριση, σε ελλειμματικούς ποντικούς, σε συσχετισμό με τα αυξημένα επίπεδα αυτοφαγίας και την μειωμένη συσσώρευση μεταλλαγμένου SOD1 συσσωματώματα στο νωτιαίο μυελό. Επιπλέον, το FYVE (Alfy) που συνδέεται με αυτοφαγία προάγει την αυτοφαγική υποβάθμιση των λανθασμένα πτυχωμένων πρωτεϊνών που εμπλέκονται στην ALS. Η υπερέκφραση του Alfy μειώνει την έκφραση των μεταλλαγμένων πρωτεϊνών μέσω της αυτοφαγίας και μειώνει την τοξικότητα της μεταλλαγμένης πρωτεΐνης. Από την άλλη πλευρά, οι μεταλλαγμένοι SOD1 διαγονιδιακοί ποντικοί είναι απλά ανεπαρκείς για το BECN1 και παρουσιάζουν μια απροσδόκητη αύξηση στη διάρκεια ζωής, παρουσιάζοντας έναν παθογόνο και αντίθετο ρόλο του BECN1 στην ανάπτυξη της ALS. Επιπρόσθετα, οι λειτουργίες αρκετών σχετιζόμενων με ALS γονιδίων αναφέρθηκαν ότι συσχετίζονται με την αυτοφαγία. Η ALS2 / αλσίνη είναι ένας παράγοντας ανταλλαγής νουκλεοτιδίων γουανίνης για τη μικρή GTPase Rab5 και εμπλέκεται στη συγχώνευση και εμπορία ενδοσώματος που σχετίζεται με τη μικροπυκνότητα. Πρόσφατα, η απώλεια ALS2 έχει αποδειχθεί ότι επιδεινώνει τη νευροτοξικότητα με τη μεσολάβηση του SOD1H46R διαταράσσοντας τη διακίνηση ενδοσωμάτων-αυτοφαγοσωμάτων. Μια άλλη πρωτεϊνική μετάλλαξη που προκαλεί την ALS είναι η TDP43, μια πυρηνική πρωτεΐνη δέσμησης RNA που εμπλέκεται σε διάφορες πτυχές της επεξεργασίας του RNA. Ο κύκλος TDP43 είναι γνωστό ότι ενισχύεται με ενεργοποίηση αυτοφαγίας και ότι οι ενώσεις που ενεργοποιούν την αυτοφαγία βελτιώνουν την κάθαρση του TDP43 και ενισχύουν την επιβίωση σε νευρωνικά μοντέλα ALS.<sup>(25)</sup>

(Εικόνα 17. Παράρτημα)

#### 3.4.4. ALS και οξειδωτικό στρες

Οι περισσότερες μελέτες της τελευταίας δεκαετίας, που αποσκοπούν στην αποσαφήνιση των μηχανιστικών πτυχών της παθογένειας της ALS, επικεντρώθηκαν σε μοντέλα ποντικών που εκφράζουν τις μεταλλαγμένες ανθρώπινες μορφές SOD1, καθώς αυτά τα ζώα βιώνουν εκφυλισμό κινητικού νευρώνα εξαρτώμενο από την ηλικία με σταδιακή κυτταρική και βιοχημική βλάβη των νευρικών ινών και της σπονδυλικής στήλης του νωτιαίου μυελού καθώς και αυξημένη οξείδωση πρωτεϊνών και λιπιδίων. Αρχικά προτάθηκε ότι η τοξικότητα του μεταλλαγμένου SOD1 μπορεί να οφείλεται σε

οξειδωτικό στρες που προέρχεται από έλλειψη επαρκούς SOD δραστηριότητας. Ωστόσο, επειδή τα διαφορετικά μεταλλαγμένα ένζυμα βρέθηκαν πάντοτε να διατηρούν την κανονική δραστηριότητα SOD, προτάθηκε αντ' αυτού ότι τα μεταλλαγμένα ένζυμα άσκησαν μια δραστηριότητα "κέρδους της λειτουργίας", όπου κάποια άλλη δηλητηριώδης ενζυματική δραστηριότητα καταλυόμενη από χαλκό μπορούσε να συμβεί επιπροσθέτως προς τη δραστηριότητα του SOD. Τέτοιες αντιδράσεις που καταλύτηκαν από χαλκό, για παράδειγμα τη δραστηριότητα που μοιάζει με υπεροξειδάση ή ενισχυμένη επεξεργασία NO για να δώσει RNS όπως υπεροξυνιτρίτη, επιδείχθηκαν *in vitro*, αλλά επί του παρόντος είναι ασαφές αν αυτές οι δραστηριότητες είναι υπεύθυνες για την τοξικότητα *in vivo*. Στην πραγματικότητα, άλλες μελέτες υποδεικνύουν έλλειψη αφαιρετικής χημείας χαλκού που ασκείται από τις μεταλλαγμένες μορφές SOD1, συμπεριλαμβανομένης της διαπίστωσης ότι η τοξικότητα δεν μειώνεται σε μεταλλαγμένους ποντικούς SOD1 είτε στερούνται του προστάτη για την εισαγωγή χαλκού σε SOD1 (CCS) είτε όπου η δέσμευση SOD1 του χαλκού αναιρείται από τη μετάλλαξη των βασικών συνδέσμων ιστιδίνης σε αλανίνη.

Ένα μεταλλαγμένο μοντέλο ποντικού SOD1 που υπερεκφράζει CCS επέδειξε επιταχυνόμενα νευρολογικά ελλείμματα, αλλά αυτό φάνηκε να αντικατοπτρίζει μια μιτοχονδριοπάθεια που δεν περιλαμβάνει οξειδωτικό στρες. Αν και η μιτοχονδριοπάθεια που είναι ήδη εμφανής στους κινητικούς νευρώνες των ποντικών G93ASOD1 εμφανίζει χαρακτηριστικά νεκρωτικού νευρικού θανάτου που σχετίζεται με βλάβη οξειδωτικού στρες, αυτό φαίνεται ξεχωριστό από τον μηχανισμό που ομοιάζει με τον αποπτωτικό που φαίνεται να συνεισφέρει στον εκφυλισμό κινητικού νευρώνα σε ανθρώπινα sALS και fALS. Συνολικά, μελέτες σχετικά με την παραγωγή ROS και την οξειδωτική βλάβη *in vivo* προκάλεσαν μικτά αποτελέσματα και οι δοκιμές αντιοξειδωτικών θεραπειών ήταν απογοητευτικές. Επομένως, είναι ασαφές, όπως στην AD, σε ποιο βαθμό οι πιθανές θεραπευτικές στρατηγικές που βασίζονται στα μοντέλα ποντικών θα μεταφραστούν στη θεραπεία της νόσου του ανθρώπου.<sup>(49)(50)</sup>

(Εικόνα 18. Παράρτημα)

### 3.5.5. ALS και μιτοχονδριακή δυσλειτουργία

Τα τροποποιημένα και συσσωματωμένα μιτοχόνδρια, με πρησμένα και κενοτοπική εμφάνιση, ήταν μια από τις πρώτες αλλαγές που παρατηρήθηκαν στους κινητικούς νευρώνες των ασθενών ALS και στα σωματίδια Bunina. Τα περιστατικά ALS

παρουσιάζουν περιστασιακά επιπλέον αξονικά οίδημα που συνίστανται σε συσσωρεύσεις νευροϊνών, διογκωμένα μιτοχόνδρια και δευτερογενή λυσοσώματα. Τα μη φυσιολογικά μιτοχόνδρια αναφέρονται επίσης σταθερά σε ζωικά και κυτταρικά μοντέλα της ALS, με παρατήρηση προς τον εκφρασμένο μιτοχονδριακό πληθυσμό. Η έκφραση του άγριου τύπου ή του μεταλλαγμένου ALS TDP 43 (M337V, Q331K, A315T) κατέληξε σε συσσωματωμένα, τεμαχισμένα και κενотоμημένα μιτοχόνδρια.

Η υπερέκφραση του SOD1G93A είχε παρόμοια αποτελέσματα και τα μιτοχόνδρια ήταν σημαντικά λιγότερο επιμήκη και περισσότερο σφαιρικά σε κινητικούς νευρώνες που απομονώθηκαν από διαγονιδιακούς ποντικούς SOD1G93A και *in vivo* στον κινητικό νευρώνα τόσο φοβισμένων συμπτωματικών SOD1G37R και SOD1G85R διαγονιδιακών ποντικών. Επιπλέον, στα SOD1G93 τα μιτοχόνδρια των μεταγονιδιακών ποντικών βρέθηκαν σε μη φυσιολογικές συστάδες κατά μήκος του άξονα. Η υπερέκφραση του μεταλλαγμένου ALS FUSR521G ή R521H σε καλλιεργημένους κινητικούς νευρώνες οδήγησε σε μιτοχονδριακή σύμπτυξη, η οποία επιδεινώθηκε από την παρουσία FUS στο κυτταρόπλασμα. Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν τόσο σε κύτταρα HT22 όσο και σε πρωτογενείς φλοιώδεις νευρώνες που εκφράζουν μεταλλαγμένο FUSP525L που προκαλεί βοηθητική μορφή ALS και σε μοντέλο διαγονιδιακού ποντικού FUSP525L. Ο λεπτός θρυμματισμός του μιτοχονδριακού δικτύου έχει επίσης αναγνωριστεί σε ινοβλάστες ασθενών με ALS με επαναλαμβανόμενες επεκτάσεις C9 ή f72 και τα πρησμένα μιτοχόνδρια αναφέρθηκαν στο μοντέλο aniPSC της ALS που σχετίζεται με C9 ή f72. Η ανασκόπηση των δομικά αλλαγμένων μιτοχονδρίων αναφέρθηκε σε φλοιώδεις νευρώνες από *Als* knock out ποντικούς, που συσσωματώθηκαν με TDP-43 σε ετερόζυγα ποντίκια που έφεραν μια ALS-συνδεδεμένη R155H μετάλλαξη σε πρωτεΐνη που περιείχε βαλοσίνη (VCP, επίσης αποκαλούμενη ρ97). Άμεση απόδειξη ότι η διάσπαση της μιτοχονδριακής δομής (και ως συνέπεια της λειτουργίας της) μπορεί να συμβάλει στην αιτιολογία της ALS που προέρχεται από την ανακάλυψη αιτιολογικών μεταλλάξεων στη μιτοχονδριακή πρωτεΐνη CHCHD10, η οποία εντοπίζεται στα σημεία επαφής μεταξύ της εσωτερικής και της εξωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης. Οι σχετιζόμενες με ALS μεταλλάξεις στο CHCHD10 διαταράσσουν τους μιτοχονδριακούς κρυστάλλους και έχουν βαθιά επίδραση στη μιτοχονδριακή δομή. Η μόλυνση και η απώλεια των μιτοχονδριακών κρυστάλλων έχει επίσης αναφερθεί σε ινοβλάστες ασθενών ALS και FTD (C9ALS /



FTD) που σχετίζονται με C9 ή F72, in vitro και in vivo SOD1G93A, TDP-43A513T και FUSP525L ALS μοντέλα και σε AIs knock out ποντίκια. Στα διαγονιδιακά ποντίκια SOD1G93A και FUSP525L υπάρχουν ήδη διασταλμένοι κρύσταλλοι στην παρούσα νόσο. Έτσι, η μιτοχονδριακή δομή και το μιτοχονδριακό δίκτυο εμφανίζονται να διαταράσσονται στα περισσότερα, αν όχι σε όλα τα μοντέλα της οικογενούς ALS και στους ασθενείς με ALS. Επιπλέον, οι δομικές βλάβες στα μιτοχόνδρια και ο θρυμματισμός του μιτοχονδριακού δικτύου αναφέρθηκαν σε στάδια ασθένειας σε in vivo μοντέλα ALS που δείχνουν ότι οι μιτοχονδριακές μορφολογικές αλλοιώσεις εμφανίζονται δυνητικά ως αντίθετη πηγή εκφυλισμού αντί για συνέπεια. <sup>(51)</sup>

(Εικόνα 19. Παράρτημα)

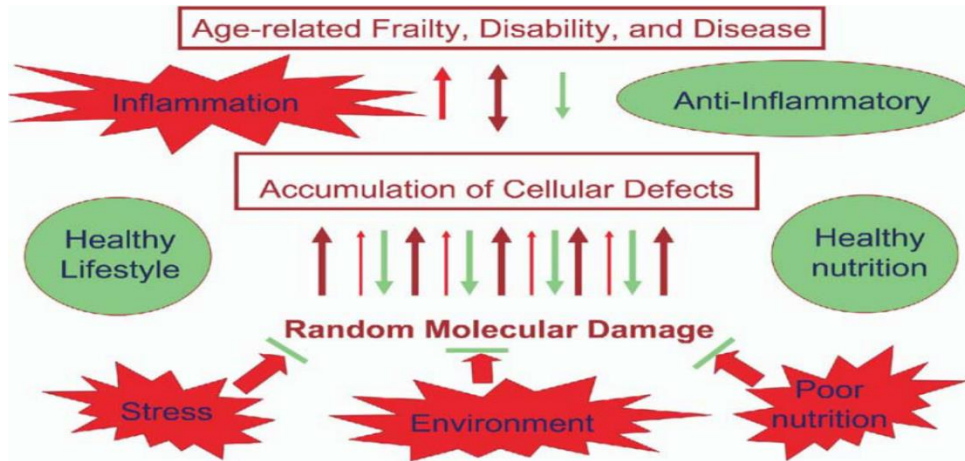
## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η γήρανση αποτελεί το ζήτημα του να μείνει κάποιος ζωντανός όσο το δυνατόν περισσότερο και έχει ως αποτέλεσμα χαρακτηριστικές μεταβολές των μορίων και των κυττάρων. Ωστόσο, μόνο ορισμένα άτομα θα αναπτύξουν μια νευροεκφυλιστική ασθένεια κατά τη διάρκεια της ζωής τους. Η σχετιζόμενη με την ηλικία αύξηση της οξειδωτικής, μεταβολικής, φλεγμονώδους ενεργοποίησης ή άλλου τύπου ομοιοστατικού στρες, που έχει ως αποτέλεσμα τη συσσώρευση κατεστραμμένων υποκυτταρικών δομών, DNA και πρωτεϊνών, εμπλέκονται σε μηχανισμούς ασθενειών. Αρκετές από αυτές τις διεργασίες σχετίζονται με την ενεργοποίηση της μικρογλοίας, αν και η ιδιαίτερη ευπάθεια των νευρώνων φαίνεται να εξαρτάται τουλάχιστον εν μέρει από τη μετα-μιτωτική τους φύση και από τον υψηλό ρυθμό οξειδωτικού μεταβολισμού τους. Επιπλέον, οι καθοριστικοί παράγοντες ευπάθειας συγκεκριμένων νευρώνων θα μπορούσαν να περιλαμβάνουν τη μεταβολική ή δομική τους ζήτηση, την ύπαρξη δυνητικά τοξικών μεταβολικών ενδιάμεσων, το ρεπερτόριο των οδών μεταγωγής σήματος και τους μηχανισμούς προστασίας κατά του στρες. Η ευπάθεια εκδηλώνεται στη AD, όπου η νευρωνική δυσλειτουργία και ο νευροεκφυλισμός οδηγούν σε βαθύ συμβιβασμό των γνωστικών ικανοτήτων. Υπάρχουν ενδείξεις ότι τόσο οι γνωστικές διαταραχές που σχετίζονται με την ηλικία όσο και η AD αντανακλούν την ευαισθησία παρόμοιων νευρωνικών κυκλωμάτων. Ωστόσο, ενώ ο νευρωνικός θάνατος επικρατεί στις νευροεκφυλιστικές ασθένειες, η γήρανση σχετίζεται κυρίως με συναπτικές αλλαγές. Ανεξάρτητα από τις ομοιότητές τους, σε αντίθεση με την εναλλακτική λύση ότι η AD μπορεί να αποτελεί αναπόσπαστο μέρος της διαδικασίας γήρανσης, φαίνεται ότι οι αλλαγές που σχετίζονται με την ηλικία αυξάνουν μόνο την ευπάθεια του νευρικού συστήματος, αλλά πρέπει επίσης να υπάρχουν επιπρόσθετα νευροπαθολογικά ερεθίσματα που χρειάζονται για να προκαλέσουν AD. Η παθολογία της PD είναι σύνθετη και οφείλεται στη συνδυασμένη δράση της κληρονομικότητας και των περιβαλλοντικών παραγόντων. Μεταλλάξεις μονογονιδιακών ή πολλαπλών γονιδίων θα μπορούσαν να επιδεινώσουν τις επιπτώσεις των περιβαλλοντικών νευροτοξινών. Η παθογένεση των μεταλλάξεων που συνδέονται με την PD σχετίζεται με δυσλειτουργίες των μιτοχονδρίων και του ενδοπλασματικού δικτύου, με την εξασθένηση της αυτοφαγίας και την απορρύθμιση της ανοσίας. Αντιστρόφως, οι περιβαλλοντικές νευροτοξίνες θα μπορούσαν επίσης να απορυθμίσουν την έκφραση γονιδίων που συνδέονται με τη PD. Στη HD το μεταλλαγμένο HTT προκαλεί ανώμαλες πρωτεϊνικές

αλληλεπιδράσεις οι οποίες επηρεάζουν την κανονική λειτουργία των μιτοχονδρίων, οδηγώντας σε οξειδωτικό στρες και άλλα προς τα κάτω διεγερτικά και φλεγμονώδη γεγονότα, που οδηγούν σε νευρωνικό θάνατο. Επιπλέον, παρατηρείται περίσσεια ντοπαμίνης που προκαλεί υπερβολικές ανεξέλεγκτες κινήσεις. Η σημαντική γενετική πρόοδος έχει επιτευχθεί τις τελευταίες δεκαετίες με την ανακάλυψη αρκετών οικογενειακών γονιδίων ALS. Αυτά τα γονίδια προσέφεραν μια μοναδική ευκαιρία να αποκρυπτογραφηθούν οι μοριακοί μηχανισμοί νευρωνικού εκφυλισμού. Η τεχνολογική καινοτομία τα τελευταία χρόνια επέτρεψε τη βελτιωμένη μοντελοποίηση της νόσου, συμπεριλαμβανομένης της δημιουργίας επαγόμενων πολυδύναμων βλαστικών κυττάρων και την ταχύτερη δοκιμασία της θεραπείας.

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

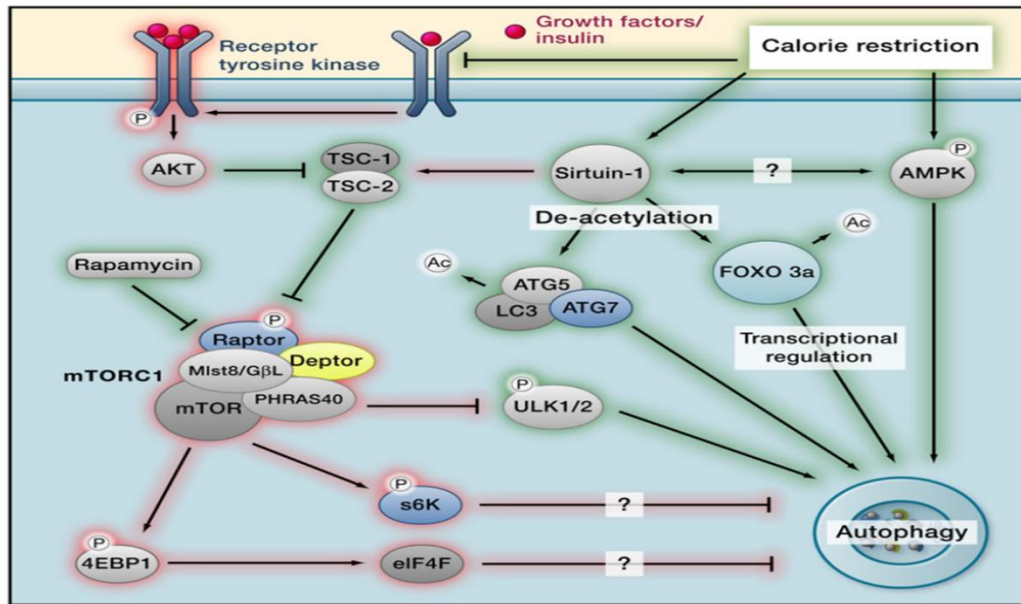
Εικόνα 1. (2)



Η διαδικασία γήρανσης είναι μια δια βίου συσσώρευση μοριακών βλαβών. Αυτή η βλάβη είναι εγγενώς τυχαία στη φύση, αλλά ο ρυθμός της συσσώρευσης ρυθμίζεται από γενετικούς μηχανισμούς συντήρησης και επισκευής. Καθώς τα κυτταρικά ελαττώματα συσσωρεύονται, οι επιδράσεις στο σώμα ως σύνολο αποκαλύπτονται τελικά ως αδυναμία, αναπηρία και ασθένεια που σχετίζεται με την ηλικία. Αυτό το μοντέλο δείχνει τις γενετικές, περιβαλλοντικές και εγγενείς πιθανότητες για τη διαδικασία γήρανσης. Τα γενετικά αποτελέσματα εκφράζονται κυρίως μέσω των λειτουργιών συντήρησης, ενώ το περιβάλλον (συμπεριλαμβανομένης της διατροφής και του τρόπου ζωής) μπορεί είτε να αυξήσει είτε να βοηθήσει στη μείωση της συσσώρευσης μοριακών βλαβών. Τα κυτταρικά ελαττώματα προκαλούν συχνά φλεγμονώδεις αντιδράσεις, οι οποίες μπορούν να επιδεινώσουν τις υπάρχουσες βλάβες. Έτσι, οι φλεγμονώδεις και αντιφλεγμονώδεις παράγοντες μπορούν να παίξουν ρόλο στη διαμόρφωση των αποτελεσμάτων της διαδικασίας γήρανσης.

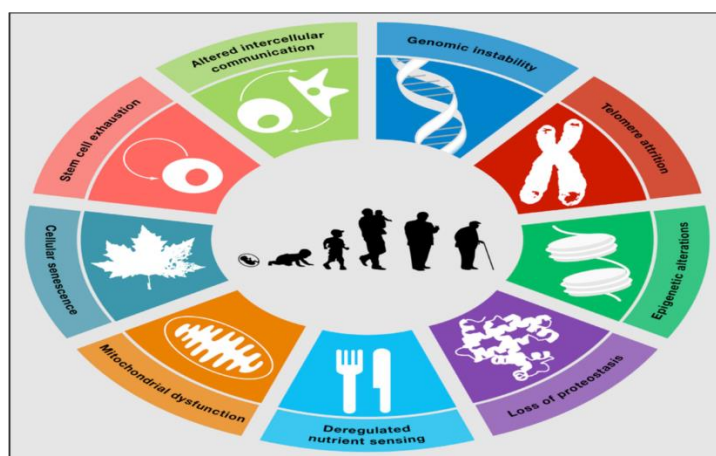
- Το πράσινο χρώμα και τα βέλη υποδεικνύουν επιδράσεις που αντισταθμίζουν τη συσσώρευση ζημιών
- το κόκκινο χρώμα και τα βέλη δείχνουν αντίθετα αποτελέσματα
- Τα καφέ βέλη υποδεικνύουν ζημιά που προκύπτει ως υποπροϊόν ενδογενών βιοχημικών αντιδράσεων, σφαλμάτων και θερμικού θορύβου.

Εικόνα 2. (4)



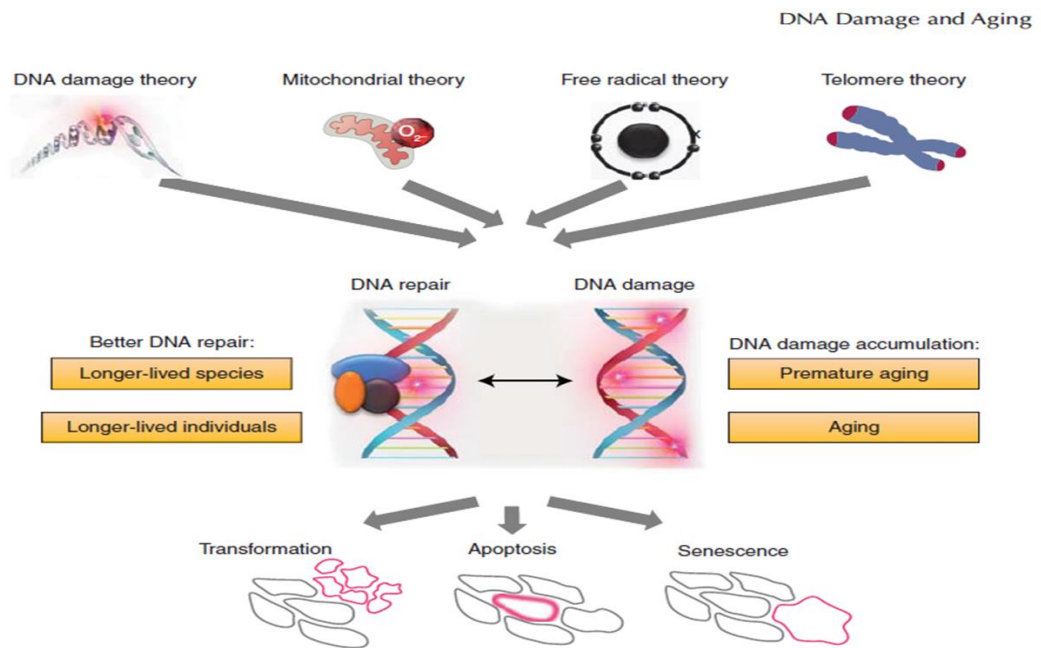
Αυτοφαγία και διάρκειας ζωής: Το σχήμα αντιπροσωπεύει μια απλοποιημένη επισκόπηση των οδών σηματοδότησης που ρυθμίζουν την αυτοφαγία και τη διάρκεια ζωής. Τα πράσινα σημάδια κυκλώματος πρωτεϊνών / σηματοδότησης αυξάνουν τη μακροζωία, ενώ τα σήματα μείωσης της διάρκειας ζωής σημειώνονται με κόκκινο χρώμα. Η αυτοφαγία είναι μόνο μία από τις συνέπειες των απεικονιζόμενων διαδρομών μεταγωγής σήματος.

Εικόνα 3. (1)



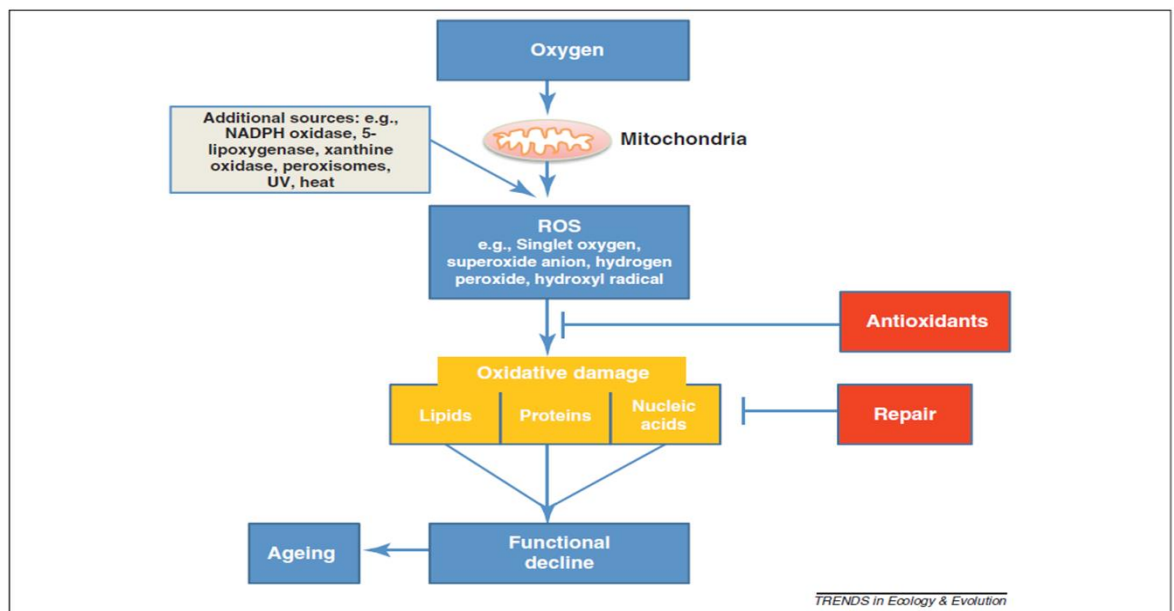
Τα ορόσημα της γήρανσης

Εικόνα 4. (26)



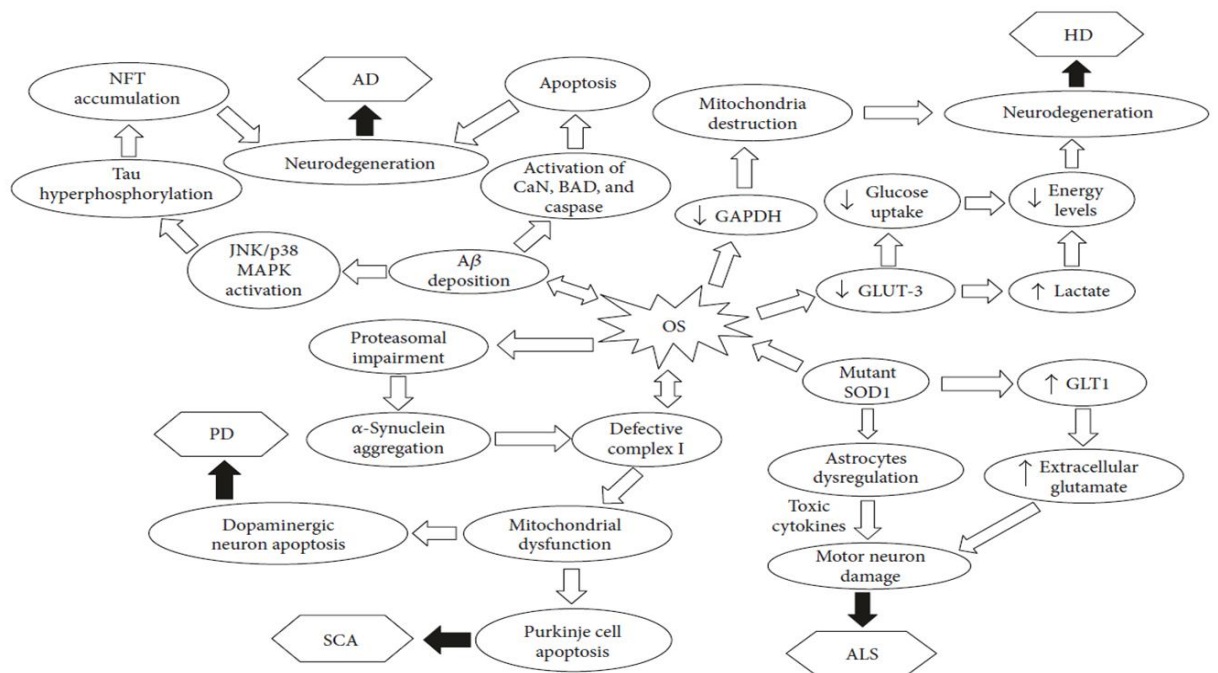
**Figure 2.** Four major theories of aging. Each theory has DNA damage accumulation and DNA repair as a major component. A variety of evidence, not always consistent (Moskalev et al. 2013), indicates that DNA damage accumulation is associated with aging.

Εικόνα 5. (5)



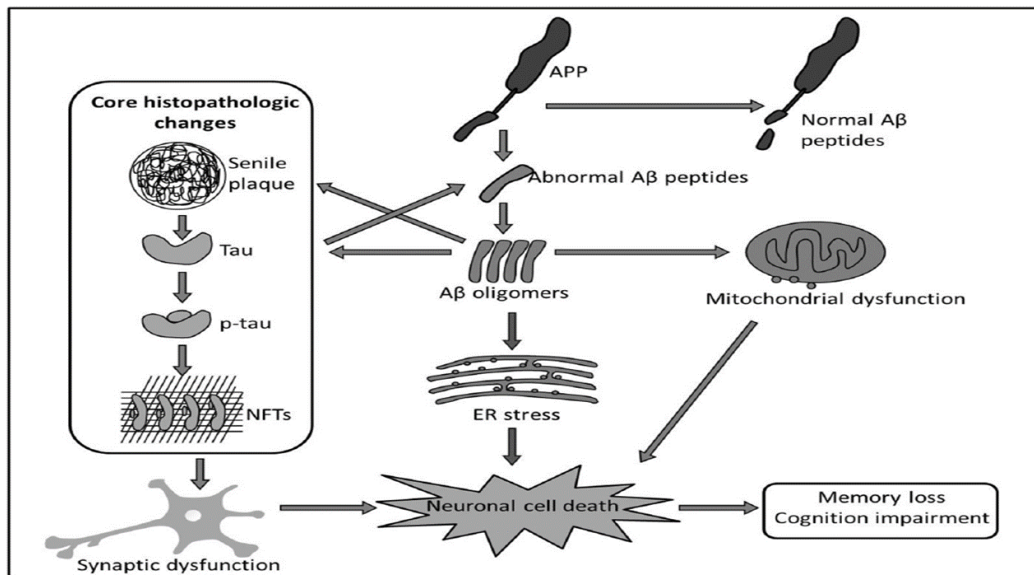
**Figure 1.** Schematic showing premise behind the oxidative stress theory of ageing (OSTA). Reactive oxygen species (ROS) are produced primarily within mitochondria during oxidative phosphorylation, although they are also produced by additional endogenous and exogenous factors. ROS are subsequently neutralised by a network of endogenous and exogenous antioxidants, although some ROS always evade these protective systems. It is these ROS that induce oxidative damage to cellular components, such as lipids, proteins, and nucleic acids. Although mechanisms exist to repair oxidatively-damaged biomolecules, some damage remains. The OSTA hypothesises that it is this oxidative damage that causes cellular attrition, physiological decline, ageing, and ultimately death.

Εικόνα 6. <sup>(55)</sup>



Οξειδωτικό στρες και Νευροεκφυλιστικές ασθένειες.

Εικόνα 7. <sup>(56)</sup>

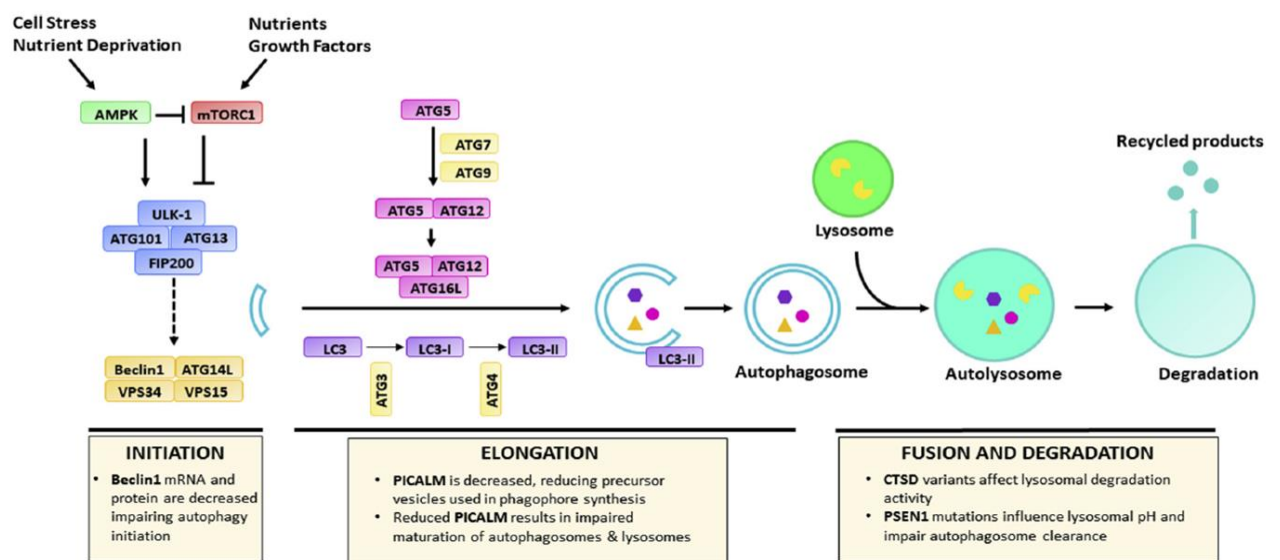


Η παθογένεση της AD οφείλεται σε ανώμαλη συσσώρευση πεπτιδίων Αβ που δημιουργείται από πρωτεολυτική διάσπαση της APP από βσεκρετάση και γ-

σεκρέταση. Τα ανώμαλα πεπτίδια Αβ όχι μόνο σχηματίζουν διασπώμενα ολιγομερή και αδιάλυτη γεροντική πλάκα με υψηλή νευροτοξικότητα, αλλά επίσης επάγουν ταυ φωσφορυλίωση και συσσωμάτωση για να σχηματίσουν NFTs, τα οποία προκαλούν την απώλεια νευρώνων και συναπτική δυσλειτουργία. Η συσσώρευση Αβ σε εξωκυτταρικούς χώρους και στα τοιχώματα των αιμοφόρων αγγείων, καθώς και η εναπόθεση p-tau για σχηματισμό NFTs σε νευρώνες κατηγορούνται ως βασικές ιστοπαθολογικές αλλαγές της AD. Επιπλέον, τα ολιγομερή Αβ οδηγούν σε μιτοχονδριακό τραυματισμό και προκαλούν άγχος ER, οδηγώντας σε νευρωνικό θάνατο και συναπτική απώλεια, όλα εμπλεκόμενα στη νευροεκφυλιστική διαδικασία της AD.

Εικόνα 8.<sup>(57)</sup>

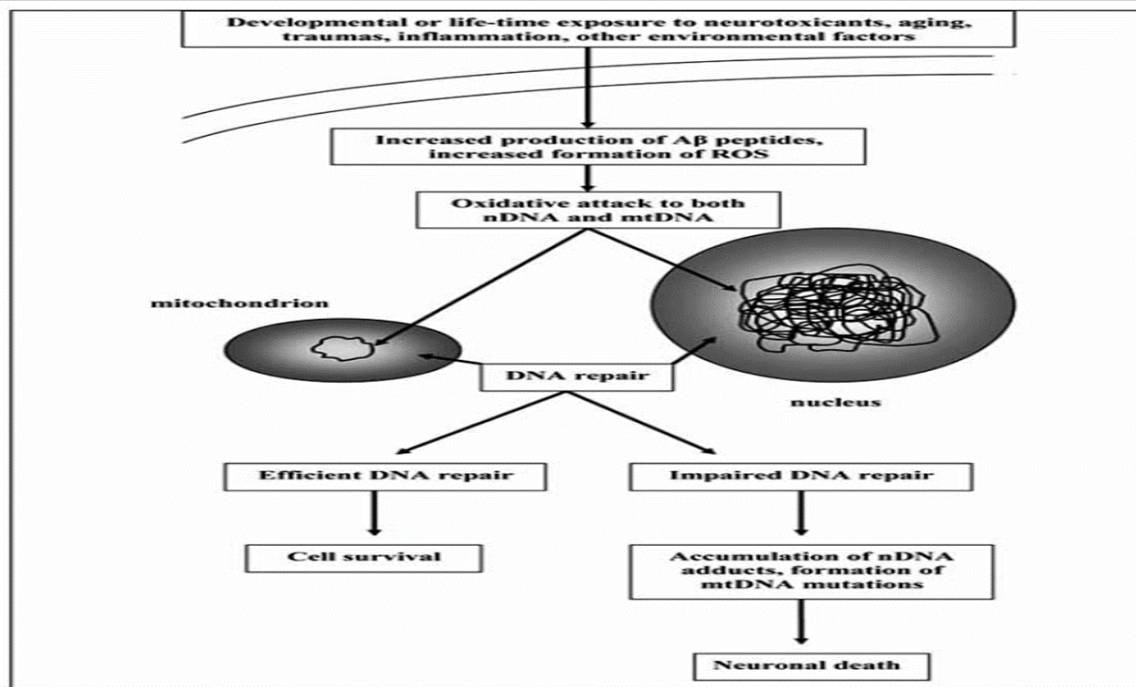
Autophagy and Alzheimer's Disease



Σχηματική αναπαράσταση των κύριων μηχανισμών που ρυθμίζουν τις διάφορες φάσεις της αυτοφαγίας: έναρξη, επιμήκυνση και λυσοσωμική σύντηξη και υποβάθμιση

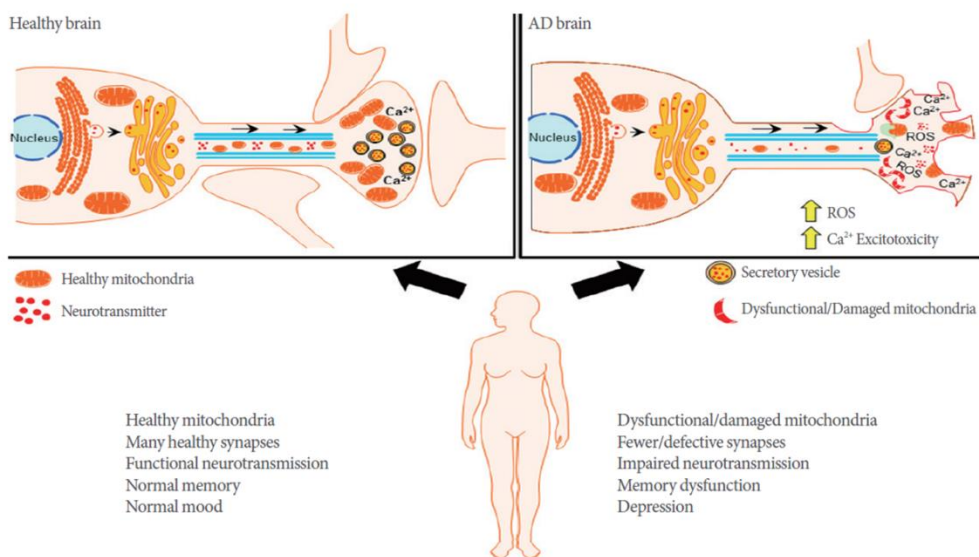


Εικόνα 9.<sup>(58)</sup>



Σχηματική αναπαράσταση των πιθανών συνεπειών της βλάβης του DNA που σχετίζεται με τη νόσο του Alzheimer

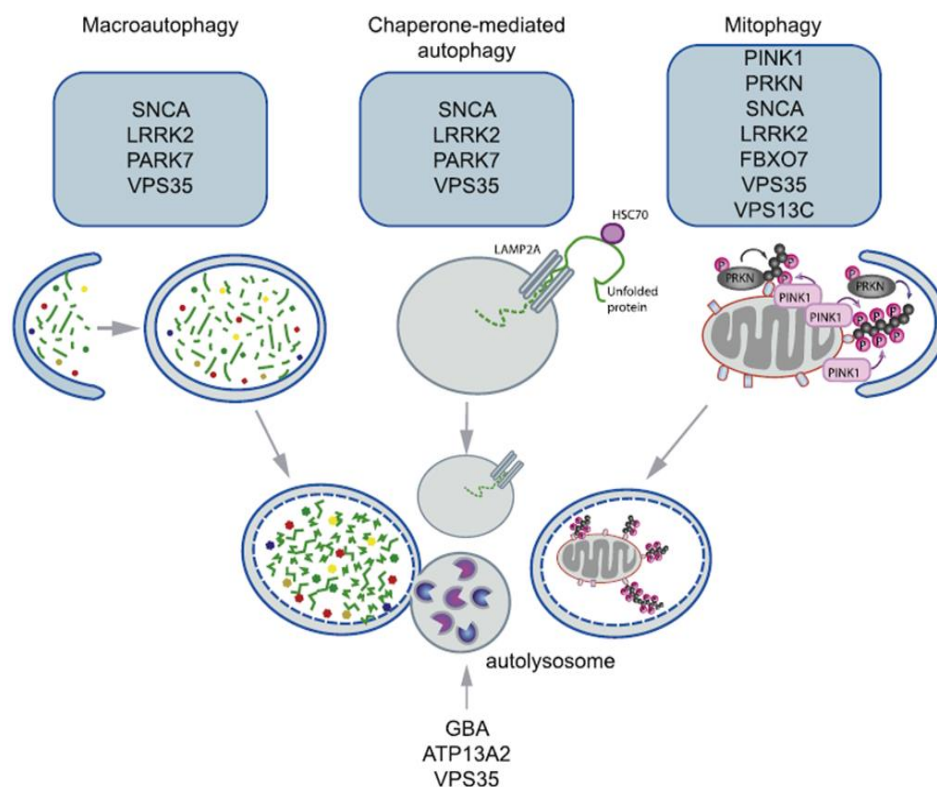
Εικόνα 10.<sup>(36)</sup>



Στον εγκέφαλο ασθενών με AD, η νευροπαθολογία των μιτοχονδρίων μεταβάλλει τη διακίνηση και την πυκνότητα των μιτοχονδρίων. Κατά συνέπεια, το ρυθμιστικό

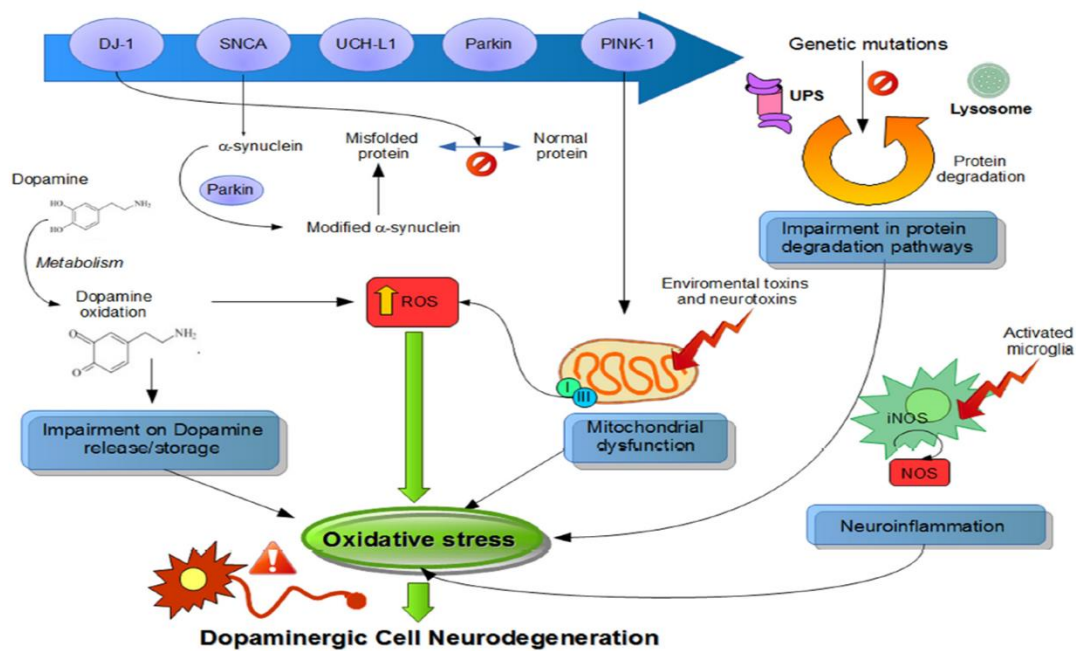
διάλυμα Ca<sup>2+</sup> + εξασθενεί, με αποτέλεσμα την παράκαμψη της δημιουργίας ROS, καθώς και την επιτάχυνση του συναπτικού εκφυλισμού και της γνωστικής δυσλειτουργίας.

Εικόνα 11.<sup>(59)</sup>



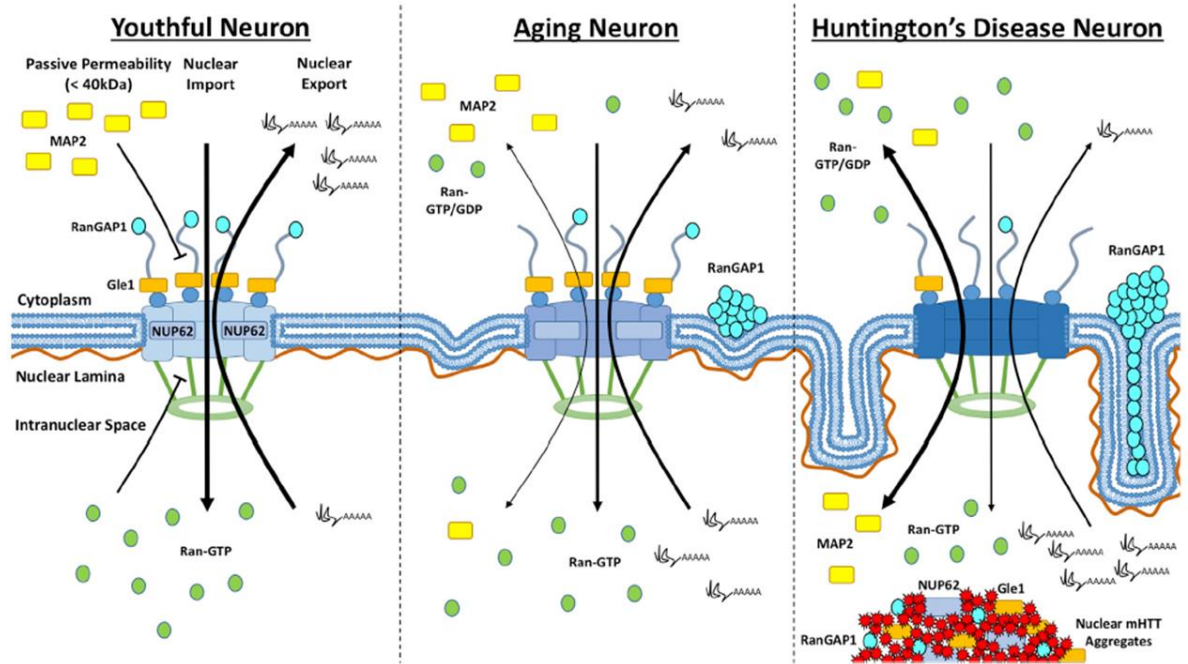
Σχηματική απεικόνιση γονιδίων που σχετίζονται με PD και με τις διαφορετικές οδούς αυτοφαγίας. Μια μεγάλη ομάδα γονιδίων που σχετίζονται με την οικογενειακή και σποραδική PD συνδέεται στενά με τη μακροαυτοφαγία, την αυτοφαγία, τη μιτοφαγία και την λυσοσωμική λειτουργία. Η μακροαυτοφαγία, η κύρια οδός της κυτταρικής αποδόμησης, ξεκινά από μια απομονωμένη μεμβράνη (φαγοφόρος), σχηματίζοντας διπλή μεμβράνη αυτοφαγοσωμάτων για την απομόνωση κυτοσολικού υλικού. Η επακόλουθη σύντηξη αυτοφαγοσωμάτων με λυσοσώματα σχηματίζει το αυτόλυσοσωμάτιο για υποβάθμιση των περιεχομένων της μεσολαβούμενης υδρολότητας. Στην αυτοφαγική μεσολαβούμενη από υπερόνη, η κυτοσολική πρωτεΐνη συνοδείας HSC70 στοχεύει και μετατοπίζει τις ξεδιπλωμένες πρωτεΐνες απευθείας σε λυσοσώματα μέσω σύνδεσης στον λυσοσωμικό υποδοχέα LAMP2A. Σε σύγκριση με τη μη εκλεκτική / μαζική μακροφαγοφαγία, οι επιλεκτικές ετικέτες μιτοφάγου υπέστησαν ζημιά μόνο στα μιτοχόνδρια για κατάντη αυτοφαγική αποδόμηση.

Εικόνα 12. (60)



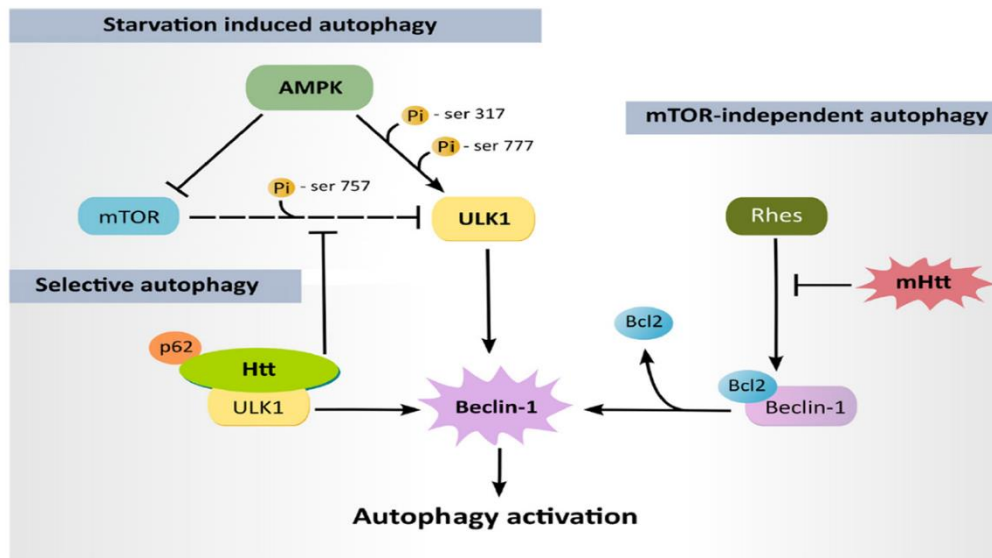
Διαφορετικά μονοπάτια και οι δυσλειτουργίες τους που προκύπτουν από γενετικές τροποποιήσεις σε γονίδια που σχετίζονται με την PD και οδηγεί σε αυξημένο οξειδωτικό στρες: ο μεταβολισμός της ντοπαμίνης μπορεί να οξειδωθεί σε αντιδραστικές ντοπαμινικές κινόνες συμβάλλοντας σε αυξημένα επίπεδα αντιδραστικών ειδών οξυγόνου. Η α-Συνουκλείνη τροποποιείται και επιταχύνει τη συσσωμάτωσή της. Το αυξημένο οξειδωτικό στρες προκαλεί εξασθενημένη λειτουργία του UPS που αποικοδομεί τις λανθασμένες ή κατεστραμμένες πρωτεΐνες και εδώ επηρεάζει περαιτέρω την επιβίωση των κυττάρων. Οι περιβαλλοντικές τοξίνες μειώνουν τη μιτοχονδριακή λειτουργία, αυξάνουν τη δημιουργία ελεύθερων ριζών και οδηγούν σε συσσώρευση πρωτεϊνών, συμπεριλαμβανομένης της α συνουκλείνης. Η μιτοχονδριακή δυσλειτουργία λόγω της σύνθετης αναστολής επηρεάζει την προσθήκη αύξησης στο οξειδωτικό στρες και τη μείωση της παραγωγής ATP, οδηγώντας σε βλάβη των ενδοκυτταρικών συστατικών και στον κυτταρικό θάνατο. Επίσης, οι νευροφλεγμονώδεις μηχανισμοί θα μπορούσαν να συμβάλουν στον καταρράκτη των συνεπειών που οδηγούν στον κυτταρικό θάνατο. Συνοπτικά, όλα αυτά είναι αρκετοί κυτταρικοί μηχανισμοί που αποδίδονται στο οξειδωτικό στρες και εμπλέκονται στον εκλεκτικό εκφυλισμό των ντοπαμινεργικών νευρώνων.

Εικόνα 13. (42)



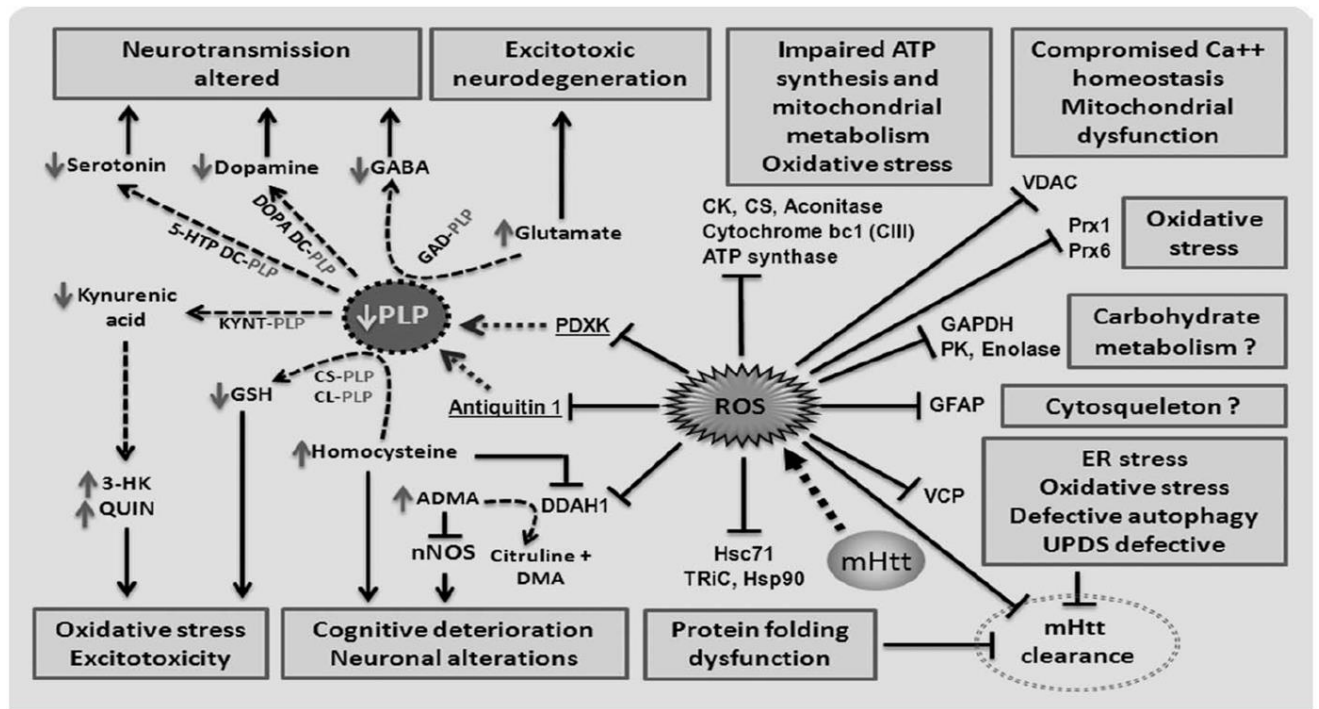
**Figure 1. The Balance of Passive and Active Nuclear Transport Is Disrupted in Aging and Huntington's Disease**  
 Youthful neurons (left) exhibit a passive permeability for proteins of <math>< 40\text{ kDa}</math>, helping to maintain a segregation of cytoplasmic, MAP2, and nuclear Ran-GTP proteins. mRNA is efficiently transported out of the nucleus. In aging neurons (center), the nuclear envelope and lamina begin to fold, pore permeability is increased, mRNA accumulates in the nucleus, and RanGAP1 aggregates on the perinuclear surface. During Huntington's disease (right), mutant Huntingtin (mHTT) aggregates in the nucleus, partially sequestering nuclear pore components NUP62, Gle1, and RanGAP1. Very large RanGAP1 perinuclear aggregates are observed, and the nuclear envelope and lamina is severely folded. Passive permeability is compromised, allowing cytoplasmic proteins such as MAP2 to leak in, and active transport is decreased, such that Ran-GTP and Ran-GDP accumulate in the cytoplasm and mRNA remains in the nucleus.

Εικόνα 14. (61)



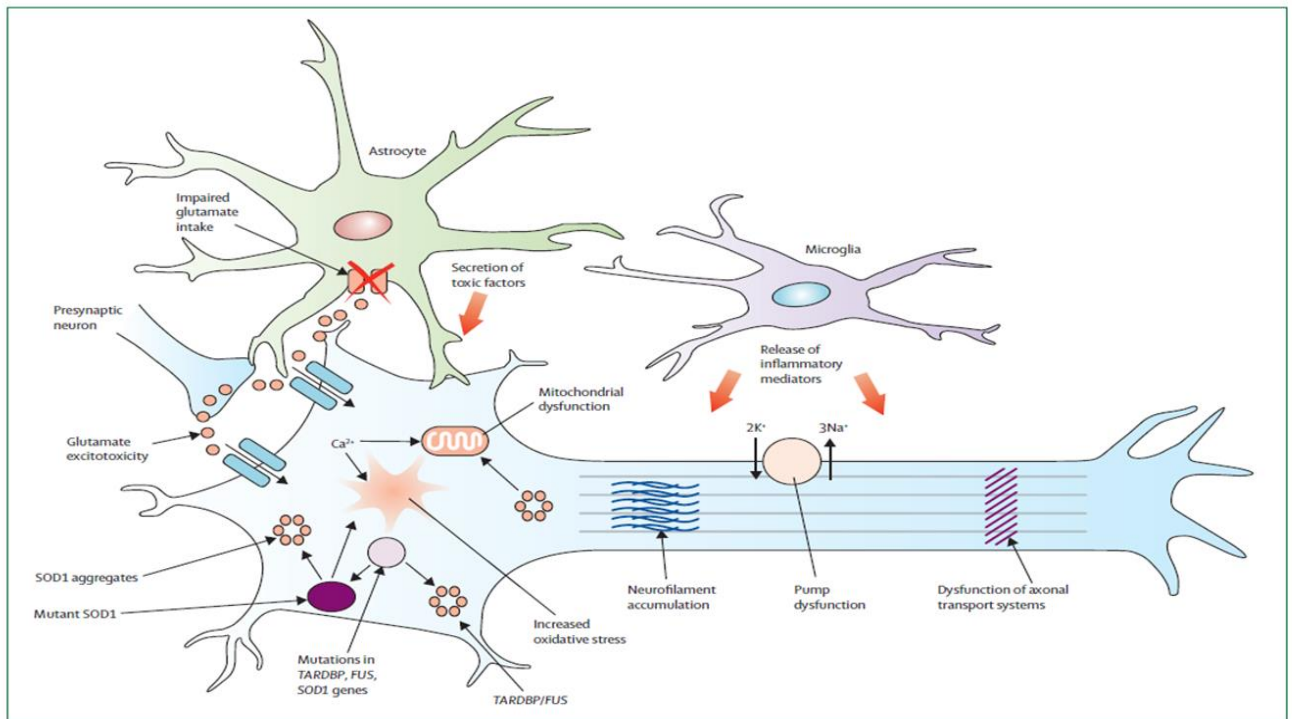
Διαμόρφωση αυτοφαγίας στην HD

Εικόνα 15.<sup>(62)</sup>



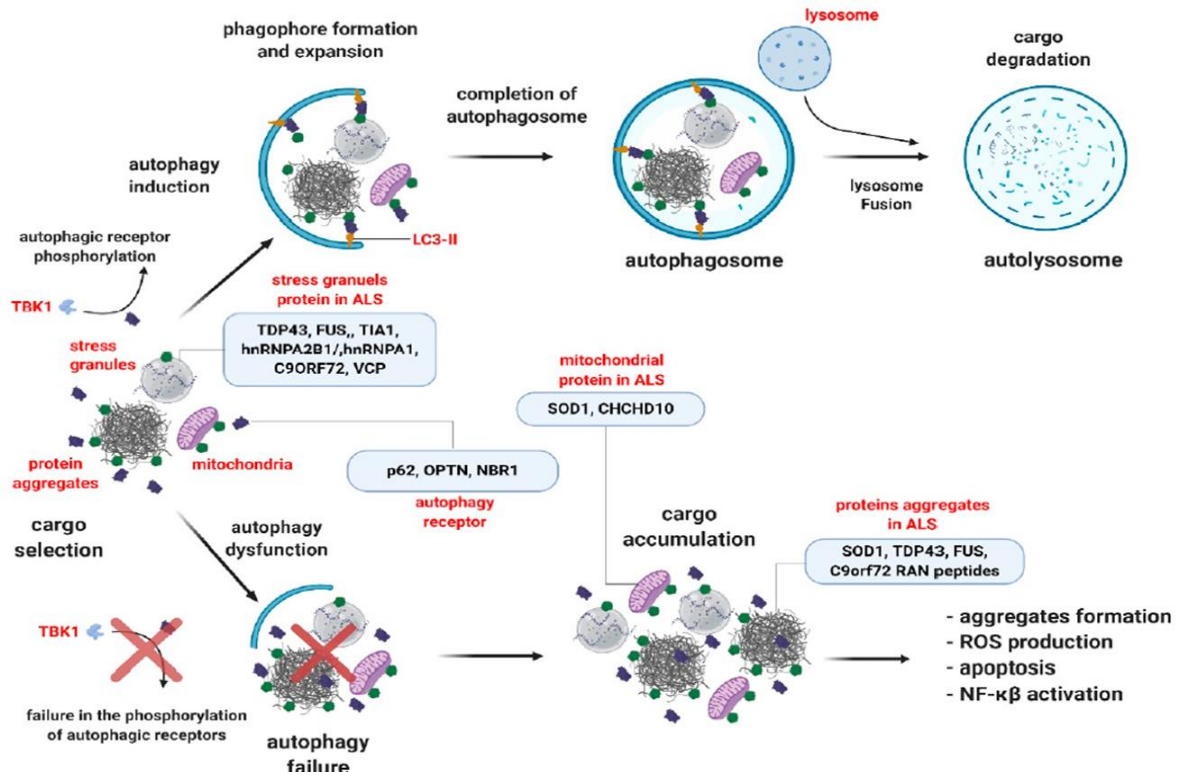
Η οξειδωτική βλάβη των πρωτεϊνών στόχων σε HD μπορεί να οδηγήσει σε δυσλειτουργία πολλαπλών διεργασιών εντός του κυττάρου.

Εικόνα 16. <sup>(46)</sup>



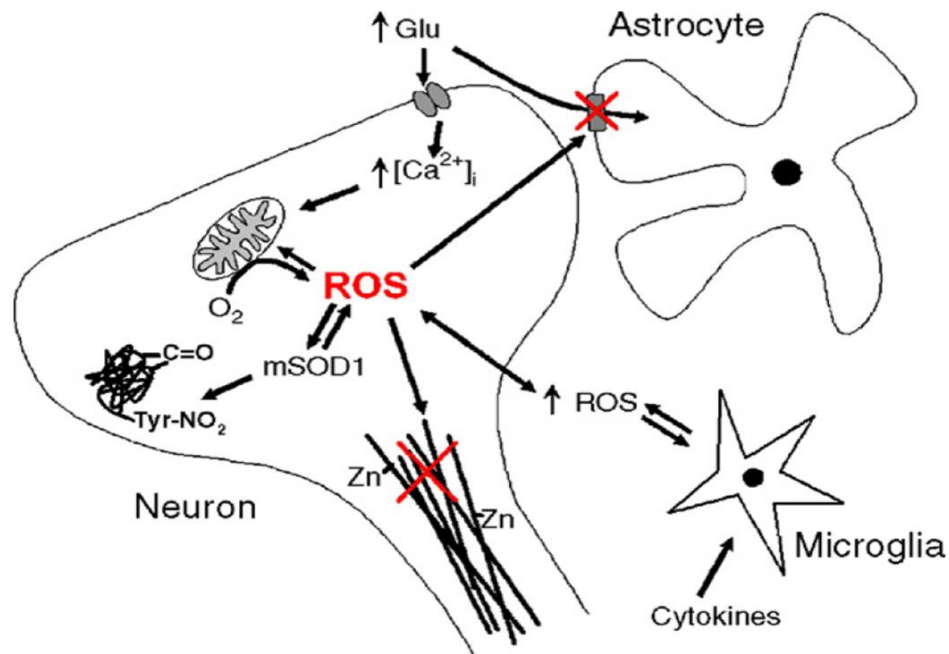
**Figure 2: Cellular and molecular processes mediating neurodegeneration in ALS**  
 The mechanisms underlying neurodegeneration in ALS are multifactorial and operate through inter-related molecular and genetic pathways. Specifically, neurodegeneration in ALS might result from a complex interaction of glutamate excitotoxicity, generation of free radicals, cytoplasmic protein aggregates, SOD1 enzymes, combined with mitochondrial dysfunction, and disruption of axonal transport processes through accumulation of neurofilament intracellular aggregates. Mutations in *TARDBP* and *FUS* result in formation of intracellular aggregates, which are harmful to neurons. Activation of microglia results in secretion of proinflammatory cytokines, resulting in further toxicity. Ultimately, motor neuron degeneration occurs through activation of calcium-dependent enzymatic pathways. ALS=amyotrophic lateral sclerosis.

Εικόνα 17.<sup>(63)</sup>



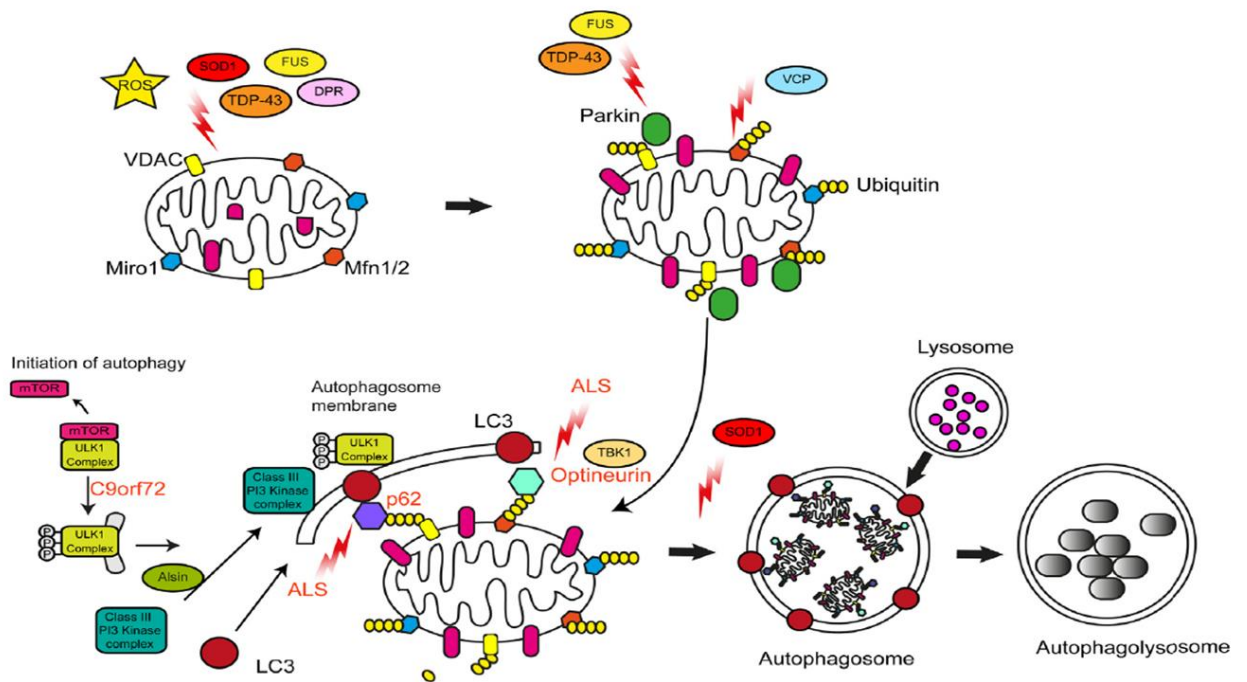
Επιλεκτική αυτοφαγία υπό φυσιολογικές και παθολογικές συνθήκες ALS. Τα συσσωματώματα πρωτεΐνης, οι κόκκοι του στρες και τα δυσλειτουργικά μιτοχόνδρια είναι υποστρώματα για επιλεκτική αποικοδόμηση της αυτοφαγίας. Υπό φυσιολογικές συνθήκες (άνω πάνελ), τα υποστρώματα δεσμεύονται από επιλεκτικούς υποδοχείς αυτοφαγίας, όπως p62, OPTN και NBR1 (αντιπροσωπεύονται σε σκούρο μπλε) μέσω περιοχών δέσμησης ουβικιτίνης (ουβικιτίνη, σε πράσινο). Οι επιλεκτικοί υποδοχείς αυτοφαγίας συσχετίζονται με πρωτεΐνες LC3 στο αυτοφαγόσωμα (αντιπροσωπεύονται με κίτρινο χρώμα) ή με άλλα μέλη της μηχανής αυτοφαγίας. Οι μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις στους υποδοχείς μπορούν να ενισχύσουν τη δέσμηση με ουβικιτινωμένα υποστρώματα ή την πρωτεΐνη LC3. Το TBK1 είναι μια από τις κύριες κινάσες που δρουν σε αυτή τη διαδικασία. Τα σύμπλοκα φορτίου-υποδοχέα-LC3 στη συνέχεια δένονται με κυστίδια διπλής μεμβράνης de novo που ονομάζονται αυτοφάγο, το οποίο συντήκεται με το λυσόσωμα για την τελική αποδόμηση. Υπό συνθήκες ALS (κάτω πλαίσιο), η αποτυχία στην επιλεκτική αυτοφαγία μπορεί να συμβεί μέσω μεταλλάξεων στα γονίδια που κωδικοποιούν τους ίδιους τους υποδοχείς ή στο γονίδιο TBK1, μειώνοντας τη δραστηριότητα της οδού, προωθώντας τη συσσώρευση τοξικών υποστρωμάτων για κινητικούς νευρώνες.

Εικόνα 18. (49)



Το οξειδωτικό στρες επηρεάζει δυνητικά άλλους προτεινόμενους μηχανισμούς νευροεκφυλισμού στο ALS. Η διεγερτική τοξικότητα οδηγεί σε αυξημένα επίπεδα ενδοκυτταρικού ασβεστίου που ρυθμίζονται από τα μιτοχόνδρια οδηγώντας σε αυξημένη παραγωγή ROS. Το ROS, με τη σειρά του, αναστέλλει την πρόσληψη γλουταμικού μέσω του μεταφορέα EAAT2 σε γλοιακά κύτταρα. Το ROS μπορεί επίσης να διασχίσει την κυτταρική μεμβράνη και να ενεργοποιήσει τα μικρογλοία, τα οποία αποκρίνονται απελευθερώνοντας κυτοκίνες και περαιτέρω ROS. Οι αποτρεπτικές οξειδωτικές αντιδράσεις που καταλύονται από το mSOD1 αυξάνουν την παραγωγή του πολύ αντιδραστικού ριζικού υπεροξυνιτρώδους και υδροξυλίου, προκαλώντας νίτρωση και συσσωμάτωση πρωτεϊνών συμπεριλαμβανομένου του ίδιου του mSOD1, και μπορεί επίσης να αναστέλλει τη συναρμολόγηση νευρονημάτων και τη μεταφορά κυτταροσκελετών. Η πρόσδεση ψευδαργύρου σε νευροφίλμ μπορεί να μειώσει τη σύνδεση ψευδαργύρου στο mSOD1 και να επιδεινώσει την παρεκκλίνουσα χημεία SOD1.

Εικόνα 19.



Διαταραγμένη αυτοφαγία / μιτοφαγία. Η μιτοφαγία αφαιρεί τα δυσλειτουργικά μιτοχόνδρια από το κύτταρο. Τα μιτοχόνδρια εκτίθενται σε υψηλά επίπεδα στρες λόγω αυξήσεων στα επίπεδα ROS και συσσωματωμάτων μεταλλαγμένης πρωτεΐνης ALS που σχετίζονται με τα μιτοχόνδρια. Η μιτοφαγία επηρεάζεται σε πολλαπλά στάδια την ALS. Η μετατόπιση των μεταλλαγμένων TDP-43 και FUS μπορεί να επηρεάσει τα επίπεδα του Parkin. Η απομάκρυνση του αδρανοποιημένου Mfn1 / 2 μπορεί να επηρεαστεί από το μεταλλαγμένο VCP / p97. Η αναγνώριση των ουσιωδών μιτοχονδριακών φορτίων από τα νεογέννητα αυτοφαγισώματα μπορεί να επηρεαστεί από μεταλλάξεις inr62 / Sequestosome-1, Optineurin και TBK1. Άλλα γονίδια της ALS όπως τα SOD1, Alsin και C9orf72 έχουν επίσης συνδεθεί με αυτοφαγία.



## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Lopez-Otin, C. et al. (2013). The Hallmarks of Aging, *Cell* 153: 1194-1217
2. Kirkwood, T.B.L. (2005). Understanding the odd science of Aging, *Cell*, Vol. 120: 437–447
3. Guarente, L. (2014). Aging Research: Where Do We Stand and Where Are We Going?. *Cell* 159: 15-19.
4. Rubinsztein, D.C., et al. (2011). Autophagy and Aging. *Cell* 146: 682- 695.
5. Selman, C., et al. (2012). Oxidative damage, ageing, and life-history evolution: where now?. *Trends in Ecology and Evolution*, Vol. 27 (10): 570- 577.
6. Mukherjee, S., et al. (2019). A Microglial Signature Directing Human Aging and Neurodegeneration-Related Gene Networks. *Frontiers in Neuroscience*, Vol 13(2): 1-12.
7. Bernhardt, R., et al. (2010). Aging – dependent changes of microglial cells and their relevance for neurodegenerative disorders. *J. Neurochem.* 112: 1099–1114.
8. Reichard, M. (2017). Evolutionary perspectives on ageing, *Seminars in Cell & Developmental Biology* 70: 99–107
9. Kirkwood, T.B.L, Melov, S. (2011). On the Programmed/Non-Programmed Nature of Ageing within the Life History, *Current Biology* 21, R701–R707
10. Kennedy, B.K., et al. (2014). Geroscience: Linking Aging to Chronic Disease, *Cell* 159: 709- 713
11. Meng, T., et al. (2019). Recent progress in the role of autophagy in neurological diseases, *Cell Stress*, Vol. 3 No. 5: 141- 161.
12. Campisi, J. ( 2013). Aging, Cellular Senescence and Cancer, *Annu. Rev. Physiol.* 75:685-705.
13. Fleming, T.,H., et al. (2011). Reactive Metabolites and AGE/RAGE Mediated Cellular Dysfunction Affect the Aging Process – A Mini-Review, *Gerontology* 57:435–443
14. Joseph, J., et al. (2009). Nutrition, Brain Aging, and Neurodegeneration. *The Journal of Neuroscience*, 29(41):12795–12801

15. Pan, M.R., et al. (2016). Connecting the Dots: From DNA Damage and Repair to Aging, *Int. J. Mol. Sci.*, 17, 685
16. Maslov, A.Y., et al. (2009). Genome instability, cancer and aging. *Biochimica et Biophysica Acta* 1790, 963–969
17. Guo, C., et al. (2013). Oxidative stress, mitochondrial damage and neurodegenerative diseases, *Neural Regen Res*, 8(21): 2003–2014.
18. Rando, T.A., and Chang, H.Y. (2012). Aging, rejuvenation, and epigenetic reprogramming: resetting the aging clock. *Cell* 148, 46–57.
19. Cui, H., et al. (2011). Oxidative Stress, Mitochondrial Dysfunction, and Aging, *Journal of Signal Transduction*, Volume 2012 : 1-13.
20. Błaszczyk, W., J. (2016). Parkinson's Disease and Neurodegeneration: GABA-Collapse Hypothesis, *Hypothesis and Theory*, Vol.10, Article 269, pp. 1- 8
21. Μυλωνά, Ι. και Λογοθέτη, Ι. *Νευρολογία*. Θεσσαλονίκη, 1996, University City Press, Τρίτη έκδοση.
22. Jove, M., et al. (2014). Metabolomics of Human Brain Aging and Age-Related Neurodegenerative Diseases, *J Neuropathol Exp Neurol*, Vol. 73, No.7, 640-657
23. Ahmad, K., et al. (2017). Commonalities in Biological Pathways, Genetics, and Cellular Mechanism between Alzheimer Disease and Other Neurodegenerative Diseases: An In Silico-Updated Overview, *Curr Alzheimer Res*. Vol. 14(11): 1190–1197.
24. Szybińska, A. and Leśniak, W. (2017). P53 Dysfunction in Neurodegenerative Diseases – The Cause or Effect of Pathological Changes? *Aging and disease*, Volume 8(4): 506-518.
25. Nah, J., et al. (2015). Autophagy in Neurodegenerative Diseases: From Mechanism to Therapeutic Approach, *Mol. Cells*, 38(5): 381-389
26. Maynard, S., et al. (2015). DNA Damage, DNA Repair, Aging, and Neurodegeneration, *Cold Spring Harb Perspect Med*, 5: 1-18
27. Fielder, E., et al. (2017). The DNA Damage Response in Neurons: Die by Apoptosis or Survive in a Senescence-Like State? *J Alzheimers Dis*. 60(s1): S107-S131

28. Gandhi, S. and Abramov, A.,Y. (2012). Mechanism of Oxidative Stress in Neurodegeneration, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1-11
29. Kim, G.,H., et al. (2015). The Role of Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases, *Exp Neurobiol.* (4):325-340.
30. Cecini, G., et al. ( 2019). Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases: From a Mitochondrial Point of View, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* Volume 2019, 18 pages.
31. Poirier, Y., et al. (2019). Link between the unfolded protein response and dysregulation of mitochondrial bioenergetics in Alzheimer's disease, *Cellular and Molecular Life Sciences* 76:1419–1431.
32. Luchena, C., et al. (2018). Contribution of Neurons and Glial Cells to Complement-Mediated Synapse Removal during Development, Aging and in Alzheimer's Disease, *Hindawi Mediators of Inflammation* Vol. 2018
33. Kumar, A., et al. (2015). A review on Alzheimer's disease pathophysiology and its management: an update, *Pharmacological Reports*, Vol. 67, Issue 2, pages 195-203
34. Clifford, J. et al. (2013). Tracking pathophysiological processes in Alzheimer's disease: an updated hypothetical model of dynamic biomarkers, *Neurology*, Volume 12, Issue 2, pages 207-216
35. Alzheimer's Association. (2007). Stages of Alzheimer's disease. <http://www.alz.org>
36. Tang, J., et al. (2019). Dysfunctional Mitochondrial Bioenergetics and Synaptic Degeneration in Alzheimer Disease, *Int Neurorol J.* (23):S5-10
37. Zeng, X., et al. (2018). Cellular and Molecular Basis of
38. Neurodegeneration in Parkinson Disease, *Frontiers in Aging Neuroscience*, Vol. 10, Article 109
39. Ishihara, L., et al. (2007). Estimated life expectancy of Parkinson's patients compared with the UK population, *Journal of neurology, neurosurgery and psychiatry*, 78, 1304-1309
40. Van de Brug, M.P., et al. (2015). Parkinson's disease: From human genetics to clinical trials, *Sci Transl Med*, 7(305)
41. Parkinson's Disease Foundation. <https://www.parkinson.org/>

42. Veldman, M.B., et al. (2017). Huntington's Disease: Nuclear Gatekeepers Under Attack, *Neuron* 94.
43. Saudou, F. and Sandrine, H. (2016). The Biology of Huntingtin, *Neuron* 89
44. Margolis, R.L, et al. (2003). Diagnosis of Huntington Disease, *Clinical Chemistry* 49:10, 1726–1732
45. Shukla, V., et al. (2011). Oxidative Stress in Neurodegeneration, *Advances in Pharmacological Sciences*, Volume 2011
46. Kiernan, M.C., et al. (2011). Amyotrophic lateral sclerosis, *Lancet*, 377: 942–55
47. Ajroud-Driss, S. and Siddique, T. (2015). Sporadic and hereditary amyotrophic lateral sclerosis (ALS), *Biochimica et Biophysica Acta* 1852 (2015) 679–684
48. ALS Association. <http://als.org/>
49. Barber, S.C., et al. (2006). Oxidative stress in ALS: A mechanism of neurodegeneration and a therapeutic target, *Biochimica et Biophysica Acta* 1762 (2006) 1051–1067
50. Sayre, L., et al. (2008). Oxidative Stress and Neurotoxicity, *Chem. Res. Toxicol.* 2008, 21, 172–188
51. Smith, E., et al. (2017). The role of mitochondria in amyotrophic lateral sclerosis, *Neuroscience Letters*
52. Λογοθέτη, Σ. και συν. (2009). Καρκινικά Γονίδια και τα μονοπάτια που ελέγχουν. *Ογκολογική Ενημέρωση*, 210-217
53. Ving, J., et al. (2013). Genome Instability and Aging. *Annu. Rev. Physiol.* 75:645-668.
54. Ving, J., et al. (2007). Genome instability: Cancer or aging? *Mechanisms of Ageing and Development* 128, 466–468
55. Liu, Z., et al. (2017). Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases: From Molecular Mechanisms to Clinical Applications, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, Volume 2017
56. Zeng, Q., et al. (2019). Autophagy in Alzheimer's disease and promising modulatory effects of herbal medicine, *Experimental Gerontology* 119, 100–110

57. Meco, A., et al. (2019). Autophagy Dysfunction in Alzheimer's Disease: Mechanistic Insights and New Therapeutic Opportunities. Society of Biological Psychiatry
58. Coppede, F., Migliore, L.(2009) DNA Damage and Repair in Alzheimer's Disease, Current Alzheimer Research, 6, 36-47
59. Hou, X., et al. (2020) Autophagy in Parkinson's Disease. Journal of Molecular Biology, 432
60. Blesa, J., et al. (2015) Oxidative stress and Parkinson's disease. Frontiers in Neuroanatomy. Volume 9, Article 91
61. Soares, T., et al.(2019) Targeting the proteostasis network in Huntington's disease. Ageing Research Reviews 49, 92–103
62. Sorolla, M., et al.( 2012) Protein oxidation in Huntington disease. International Union of Biochemistry and Molecular Biology, Inc. Volume 38, Number 3, Pages 173–185
63. Vicencio, E., et al (2020) Implications of Selective Autophagy Dysfunction for ALS Pathology, Cells, 9, 381