

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**



ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ-ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ»**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«ΓΗΡΑΙΟΛΥΤΙΚΑ : ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΔΡΑΣΗΣ ΚΑΙ ΝΕΟΙ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΟΙ ΟΡΙΖΟΝΤΕΣ»

**ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ ΦΟΙΤΗΤΗ
ΚΑΡΚΑΝΤΟΥ ΔΗΜΗΤΡΑ-ΜΑΡΙΑ**

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ
ΤΡΑΧΑΝΑ ΒΑΡΒΑΡΑ, ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ,
ΠΑΝ/ΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ, ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ
ΤΣΕΖΟΥ ΑΣΠΑΣΙΑ, ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΠΑΝ/ΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΔΗΜΑΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ, ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑΣ
ΠΑΝ/ΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**

UNIVERSITY OF THESSALY
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES
FACULTY OF MEDICINE



POSTGRADUATE MASTER PROGRAM
“HUMAN GENETICS – GENETIC COUNSELING”

MASTER’S THESIS
«SENOLYTICS: ACTION MECHANISM AND NEW THERAPEUTIC HORIZONS»

NAME
KARKANTOU DIMITRA-MARIA

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα εργασία αφιερώνεται στους σεβαστούς μου καθηγητές για όλη την πολύτιμη καθοδήγησή τους, καθώς και στους γονείς και τον σύζυγό μου για την υποστήριξη και την υπομονή που επέδειξαν κατά την διάρκεια εκπόνησης της.

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα εργασία με τίτλο " Senolytics : Μηχανισμός δράσης και νέοι θεραπευτικοί ορίζοντες "έχει ως αντικείμενο τη μελέτη της σχέσης μεταξύ παθήσεων που σχετίζονται με την κυτταρική γήρανση και το μηχανισμό δράσης των γηραιολυτικών φαρμάκων (senolytics).

Πρόκειται για μια βιβλιογραφική ανασκόπηση (review) που άπτεται των ενδιαφερόντων του τομέα της βιολογίας , της γενετικής και της ιατρικής. Στόχος της, είναι η συγκέντρωση όσο το δυνατόν περισσότερων στοιχείων και πληροφοριών σχετικά με τον τρόπο που οι ηλικιοεξαρτώμενες παθήσεις μπορούν να επιβραδυνθούν και να αμβλυνθεί η βαρύτητα των συμπτωμάτων τους με τη χρήση των γηραιολυτικών (senolytics), όπως προκύπτει από πληθώρα επιστημονικών συγγραφικών έργων που έχουν δημοσιευτεί κατά καιρούς

Η επιλογή της συγκεκριμένης θεματολογίας για την εργασία οφείλεται στο έντονο ενδιαφέρον που εμφανίζουν οι ηλικιοεξαρτώμενες παθήσεις, με τον καρκίνο να αποτελεί την κύρια οντότητα με διαρκώς αυξανόμενη νοσηρότητα και θνητότητα, αλλά και της σημαντικής συνεισφοράς και του ρόλου των γηραιολυτικών σε ό,τι αφορά στην ομαλή λειτουργία του ανθρώπινου οργανισμού.

Η εργασία αποτελείται από πέντε (5) κεφάλαια. Αρχικά (Κεφάλαιο 1), γίνεται αναφορά στον ορισμό της κυτταρικής απόπτωσης. Στο εν λόγω κεφάλαιο περιγράφονται οι τροποποιήσεις που υφίστανται τα γηράσκοντα κύτταρα, καθώς και τα αίτια που προκαλούν τη γήρανση αυτών. Στο τέλος του κεφαλαίου αναφέρονται οι παθήσεις που σχετίζονται με την ηλικία, συμπεριλαμβανομένων του καρκίνου, των νευροεκφυλιστικών αλλοιώσεων, του μεταβολικού συνδρόμου και ορθοπαιδικών νοσημάτων (οστεοαρθρίτιδας). Στο δεύτερο κεφάλαιο (Κεφάλαιο 2) γίνεται εκτενής αναφορά στα σηματοδοτικά μονοπάτια που σχετίζονται με την απόπτωση. Εν συνεχεία, στο τρίτο μέρος (Κεφάλαιο 3) αναλύονται οι μηχανισμοί των ηλικιοεξαρτώμενων νοσημάτων με συνοδά παραδείγματα αντιστοίχως. Έπειτα, στο επόμενο κομμάτι της εργασίας (Κεφάλαιο 4) γίνεται αναφορά στα γηραιολυτικά και στο μονοπάτι που εμπλέκεται το καθένα ξεχωριστά στις παθήσεις που αναφέρθηκαν σε προηγούμενα κεφάλαια. Η εργασία ολοκληρώνεται (Κεφάλαιο 5) με μελλοντικές θεραπευτικές επιλογές γηραιολυτικών που βρίσκονται υπό μελέτη.

Περιεχόμενα

Περίληψη

Abstract

Κεφάλαιο 1. Κατηγορίες ΗΛΙΚΙΟΕΞΑΡΤΩΜΕΝΩΝ νοσημάτων

1.1 Καρκίνος

1.1.α. Ορισμός

1.1.β. Σύγκριση καρκινικών κυττάρων με τα φυσιολογικά

1.1.γ. Καρκίνος: μια διαδικασία πολλών σταδίων

1.1.δ. Παραδείγματα καρκίνων με μεταλλαζογόνο βάση:

1.2 Οστεοαρθρίτιδα

1.2.α. Δομικές αλλαγές στην οστεοαρθρίτιδα

1.2.β. Βιολογικό υπόβαθρο της ΟΑ- Επιγενετικές και φλεγμονώδεις αλλαγές στην ΟΑ

1.3. Μεταβολικό σύνδρομο

1.3.α. Ορισμός μεταβολικού συνδρόμου.

1.3.β. Αίτια μεταβολικού συνδρόμου

1.3.β.1. Αντίσταση στην ινσουλίνη

1.3.β.2. Δυσλειτουργία των β-κυττάρων του

παγκρέατος

1.3.β.3. Κυτταρική δυσλειτουργία από πρωτεϊνικές

κινάσες και φωσφατάσες

1.4 Νευροεκφυλιστικές παθήσεις σχετιζόμενες με την ηλικία

1.4.α. Αμυλοειδώσεις

1.4.β. Παθήσεις που σχετίζονται με συσσώρευση πρωτεΐνης tau

1.4.γ. Παθήσεις σχετιζόμενες με συσσώρευση συνουκλεοτιδίων

• Κεφάλαιο 2. Κυτταρική γήρανση

2.1 Γιατί τα κύτταρα γηράσκουν?

2.2 Τι τροποποιήσεις υφίστανται τα γηρασμένα κύτταρα

2.2.α Βράχυνση τελομεράσης

2.2.β Βλάβες στο dna

2.2.β.1 Ενδογενείς βλάβες

2.2.β.2. Εξωγενείς παράγοντες

2.2.γ Αλλαγή σχήματος και αύξηση λυσοσωμικού περιεχομένου σε κύτταρα που γηράσκουν

2.2.γ.1 Ρόλος λυσοσωμάτων

2.2.γ.2 Ορισμός της δημιουργίας διαπερατότητας της

λυσοσωμικής μεμβράνης

2.2.γ.3. Διόγκωση των λυσοσωμάτων προ της διαπερατότητας

της λυσοσωμικής μεμβράνης

2.2.δ. Είσοδος του γηράσκοντος κυττάρου σε φάση γήρανσης

(senescence):

2.2.ε. Δείκτες εντοπισμού γηρασμένων κυττάρων:

• Κεφάλαιο 3. Προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος (αποπτωση)

- Κεφάλαιο 4. γηραιολυτικά (Senolytics)

4.1. Δράση γηραιολυτικών φαρμάκων (senolytics) μέσω των αντιαποπτωτικών μηχανισμών των γηρασκόντων κυττάρων (Senescent Cells Antiapoptotic Pathways - SCAPs).

4.2. Γηραιολυτικά φάρμακα και η χρήση τους στη θεραπεία του καρκίνου.

4.3. Γηραιολυτικά φάρμακα και η χρήση τους στη θεραπεία της οστεοαρθρίτιδας.

4.4. Γηραιολυτικά φάρμακα και η χρήση τους στη θεραπεία του μεταβολικού συνδρόμου.

4.5. Γηραιολυτικά φάρμακα στην αντιμετώπιση νευροεκφυλιστικών νοσημάτων.

- Κεφάλαιο 5: Senolytics και πιθανές νέες εφαρμογές

- Συμπεράσματα

- Βιβλιογραφία

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η γήρανση των κυττάρων και η επαγόμενη με το χρόνο φθίση της λειτουργίας αυτών αποτελούν αντικείμενο έρευνας εδώ και χρόνια με σκοπό να βρεθούν μηχανισμοί οι οποίοι αναστέλουν τη γήρανση. Για την κατανόηση της διαδικασίας της γήρανσης και πώς μπορεί να επιτευχθεί η αναστολή της αυξημένης σημαντικότητας κατέχει η κατανόηση των μηχανισμών γήρανσης, τι συμβαίνει στα κύτταρα όταν γηράσκουν και των σηματοδοτικών μονοπατιών που εμπλέκονται. Τα γηραιολυτικά φάρμακα τα οποία σχετίζονται με την αναστολή της γήρανσης ανοίγουν νέους ορίζοντες τόσο σε βιολογικό όσο και σε ιατρικό επίπεδο για την ίαση ασθενειών που σχετίζονται με τη γήρανση, επί παραδείγματι της οστεοαρθρίτιδας, των νευροεκφυλιστικών παθήσεων και του μεταβολικού συνδρόμου. Ο καρκίνος, ο οποίος αποτελεί μία ηλικιοεξααρτόμενη πάθηση λόγω της συσσώρευσης πολλαπλών μεταλλάξεων αποτελεί τον κύριο στόχο των γηραιολυτικών φαρμάκων.

Λέξεις κλειδιά : γήρανση, γηραιολυτικά φάρμακα, καρκίνος, οστεοαρθρίτιδα, νευροεκφυλιστικές παθήσεις, μεταβολικό σύνδρομο

ABSTRACT

The senescence of cells and the induced decline of their function over time have been the subject of research for years in order to find mechanisms that inhibit senescence. Understanding the mechanisms of senescence, what happens to cells as they age, and the signaling pathways involved is important for understanding the aging process and how inhibition can be achieved. Senolytics drugs open new horizons both biological and medical level for the treatment of aging-related diseases, for example, osteoarthritis, neurodegenerative diseases and metabolic syndrome. Cancer, which is an age-dependent disease due to the accumulation of multiple mutations, is the main target of senolytics drugs.

Key words : senescence, senolytics drugs, cancer, osteoarthritis, neurodegeneration diseases, metabolic syndrome

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΗΛΙΚΙΟΕΞΑΡΤΩΜΕΝΩΝ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ

1.1.Καρκίνος

1.1.α. Ορισμός

Η εμφάνιση καρκίνου είναι αποτέλεσμα διαταραγμένης κυτταρικής λειτουργίας . Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη συσσώρευση πολυάριθμων γενετικών και επιγενετικών αλλαγών με αποτέλεσμα τη γενετική αστάθεια και τελικά την καρκινογένεση . Ο καρκίνος αποτελεί γενετικό νόσημα καθώς προκύπτει από παθολογικές μεταβολές στις πληροφορίες του γενετικού υλικού. Επιδημιολογικές μελέτες καταδεικνύουν ότι περιβαλλοντικοί, εξωγενείς και ενδογενείς παράγοντες ευθύνονται για την εμφάνιση καρκίνου , με το 80-90% των κακοηθειών να σχετίζονται με περιβαλλοντικούς παράγοντες. Υπεύθυνοι παράγοντες για μεγάλο ποσοστό νεοπλασιών αποτελούν το κάπνισμα, η σημαντική κατανάλωση αλκοόλ και η διατροφή. Στους εξωγενείς παράγοντες περιλαμβάνονται η ιοντίζουσα ακτινοβολία και η υπεριώδης ακτινοβολία(UV). Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO) το 2020 10 εκατ. άνθρωποι κατέληξαν από νεοπλασίες με τα 7-8 εκατ. να παρατηρούνται σε αναπτυσσόμενες χώρες(Anna Maria Lewandowska et. Al)¹

Στις κύριες κατηγορίες καρκίνων κατά ποσοστιαία φθίνουσα σειρά ανήκουν οι λευχαιμίες (37%), ακολουθούμενες από καρκίνους του εγκεφάλου και του νευρικού συστήματος (16%) και τα λεμφώματα (13%) ως πιο διαδεδομένες κακοήθειες σε άτομα ηλικίας 14 ετών και κάτω. Στις ηλικίες 15-49 ετών, ο καρκίνος του μαστού (13%) είναι ο συχνότερος κακοήθης όγκος, ακολουθούμενος από καρκίνο του ήπατος (12%) και του πνεύμονα (9%). Στην ηλικία 50-59 ετών, ο καρκίνος του πνεύμονα είναι η συχνότερη κακοήθης νόσος (18%), ακολουθούμενος από καρκίνο του ήπατος (11%) και του μαστού (9%), ενώ οι πιο συχνές κακοήθειες σε άτομα ηλικίας 60 ετών και άνω είναι καρκίνο του πνεύμονα (21%), του παχέος εντέρου (9%), του στομάχου (9%) και του ήπατος (9%).(WHO Cancer Fact Sheets, 2019))²

1.1.β. Σύγκριση καρκινικών κυττάρων με τα φυσιολογικά

Τα καρκινικά κύτταρα έχουν διακριτά χαρακτηριστικά σε σχέση με τα φυσιολογικά κύτταρα διαθέτοντας ένα συναγωνιστικό πλεονέκτημα έναντι των γειτονικών κυττάρων με καταστροφικές συνέπειες.

Τα χαρακτηριστικά αυτά είναι :

- 1) Τα καρκινικά κύτταρα υπακούν λιγότερο σε σήματα από άλλα για την αύξηση, την επιβίωση και τη διαίρεση τους και αυτό γιατί διαθέτουν τα δικά τους σηματοδοτικά μονοπάτια. Χαρακτηριστικό παράδειγμα το γονίδιο *ras* το οποίο οδηγεί σε παραγωγή ενδοκυττάριου σήματος παρά την απουσία εξωκυττάριου σήματος.
- 2) Τα καρκινικά κύτταρα είναι λιγότερο ευπαθή στο θάνατο και την απόπτωση . Γονίδια τα οποία ελέγχουν ενδοκυττάρια σήματα θανάτου όντας μεταλλαγμένα αποτρέπουν τον κυτταρικό θάνατο. Αντιπροσωπευτικό παράδειγμα αποτελεί η πρωτεΐνη p53, πρωτεΐνη που συμμετέχει σε μηχανισμό ελέγχου που αναγκάζει τα κύτταρα να σταματήσουν τη διαίρεση ή να οδηγηθούν στο θάνατο όταν το γενετικό τους υλικό έχει υποστεί βλάβη. Σε περίπτωση μετάλλαξης στο εν λόγω γονίδιο το κύτταρο συνεχίζει να διαιρείται φέροντας τη μετάλλαξη.
- 3) Ένα άλλο χαρακτηριστικό των καρκινικών κυττάρων αποτελεί ο ανεξέλεγκτος κυτταρικός πολλαπλασιασμός. Τα φυσιολογικά κύτταρα με το πέρας του χρόνου διαθέτουν βραχύτερα τελομερή στα άκρα των χρωμοσωμάτων τους, εν αντιθέσει με τα καρκινικά τα οποία επανεργοποιούν το ένζυμο τελομεράση.
- 4) Τα καρκινικά κύτταρα είναι γενετικά ασταθή με αυξημένη συχνότητα μεταλλάξεων.
- 5) Τα παθολογικά κύτταρα μεταναστεύουν σε γειτονικούς ιστούς.
- 6) Τα καρκινικά κύτταρα επιβιώνουν και πολλαπλασιάζονται αν βρεθούν σε απομακρυσμένη εστία σε αντίθεση με τα φυσιολογικά τα οποία αποπίπτουν.

3.1.γ. Καρκίνος: μια διαδικασία πολλών σταδίων

Από τη δεκαετία του 1940, έγινε φανερό ότι η διαδικασία της καρκινογένεσης περιλαμβάνει τουλάχιστον δύο διακριτά βήματα. Το 1944, ο Mottram έδειξε ότι μια μόνο εφαρμογή καρκινογόνου παράγοντα, όπως το βένζο-α-πυρένιο (B [a] P) σε συνδυασμό με έλαιο κρότωνα ως ογκογόνο στα ζώα (Berenblum et al)³.

Οι Berenblum και Shunik συνέχισαν αυτήν τη μελέτη με την εφαρμογή είτε B [a] P είτε 7,12-διμεθυλ-α -ανθρακενίου (DMBA) και ελαίου κρότωνα , και απέδειξαν ότι το έλαιο κρότωνα δε σχετιζόταν με καρκινογένεση από μόνο του ,αλλά η συγχορήγηση του με B(a)P είτε με DMBA οδηγούσε σε καρκινικούς όγκους στο δέρμα ποντίκων (Berenblum et al)³.Αυτά τα αποτελέσματα οδήγησαν στην υπόθεση της εκκίνησης της καρκινογένεσης (αποτέλεσμα εφαρμογής του καρκινογόνου παράγοντα όπως το B [a] P) ακολουθούμενη από έναν επαγωγικό παράγοντα ,που στην εν λόγω μελέτη ήταν το έλαιο του κρότωνα (Hecker, 1967).⁴

Μελέτες που έγιναν έπειτα από την παραπάνω παρατήρηση που έγινε το 1949 κατέδειξαν ότι ο καρκίνος αποτελεί μία διαδικασία “δύο χτυπημάτων”. Ο παράγοντας εκκίνησης της μεταλλαξιγένεσης και εν τελεί της καρκινογένεσης είναι ένας αμιγώς καρκινογόνος παράγοντας ο οποίος είτε μετά από επανειλημμένη έκθεση σε μικρή δοσολογία είτε με μία εφάπαξ δόση οδηγεί σε καρκινογένεση, ενώ ένας παράγοντας «προώθησης» δεν είναι από μόνος του καρκινογόνος. Η επίδραση ενός παράγοντα εκκίνησης, επιπλέον, είναι μη αναστρέψιμη και προσθετική, σε αντίθεση με την αναστρέψιμη δράση ενός παράγοντα προώθησης στα αρχικά στάδια. Οι παράγοντες έναρξης είναι μεταλλαξιογόνοι , ενώ οι παράγοντες προώθησης δεν είναι μεταλλαξιογόνοι (Kraemer et al)⁵.

Μελέτες σε τρωκτικά όπου εφαρμόστηκε το μοντέλο δύο σταδίων της καρκινογένεσης, ωστόσο, έδειξαν ότι κυρίως καλοήθεις όγκοι αναπτύχθηκαν από παράγοντες προώθησης όγκων (Ohkawa et al)⁶.

Σταδιακά έγινε αποδεκτό ότι η καρκινογένεση περιλαμβάνει πολλαπλά στάδια, τα οποία περιλαμβάνουν την έναρξη, την προώθηση και την κακοήθη εξαλλαγή, για να μετατραπεί τελικά ένας καλοήθης όγκος σε κακοήθεια.(Ohkawa et al)⁶ . Η ανακάλυψη ογκογονιδίων και ογκοκατασταλτικών γονιδίων ενίσχυσε το γεγονός ότι η καρκινογένεση είναι μία διαδικασία πολλαπλών σταδίων (Kinzler et al 1996)⁷.

Αξιοσημείωτο είναι ότι το συνεχές οξειδωτικό στρες και η χρόνια φλεγμονή οδηγούν σε νεοπλασία και προωθούν την εξέλιξη του όγκου. Η φλεγμονή έχει συσχετιστεί με την ανάπτυξη καρκίνου και φλεγμονώδεις μεσολαβητές, όπως οι κυτοκίνες, οι χημειοκίνες και τα εικοσανοειδή, έχουν αποδειχθεί ότι οδηγούν τόσο σε υπερπλασία των κυττάρων όσο και σε καρκινογένεση. Ορισμένοι παράγοντες εκκίνησης, όπως η υπεριώδης ακτινοβολία και ο καπνός καπνού εμφανίζουν επίσης ισχυρή δραστηριότητα δημιουργίας όγκων (Nahoum et al 2006).⁸

Για την καλύτερη κατανόηση της διαδικασίας καρκινογένεσης έγιναν πειράματα στο δέρμα τρωκτικών (Kemp 2015)⁹. Το επαγωγικό στάδιο στην καρκινογένεση προκαλεί μια σειρά επιγενετικών αλλαγών, συμπεριλαμβανομένου του πολλαπλασιασμού των επιδερμικών κυττάρων και της ενεργοποίησης της αποκαρβοξυλάσης της ορνιθίνης που οδηγεί στη σύνθεση πολυαμινών (DiGiovanni et al 1992)¹⁰. Συνολικά, το στάδιο επαγωγής χαρακτηρίζεται από υπερπλασία, η οποία οδηγεί τα επιδερμικά κύτταρα να σχηματίσουν θηλώματα. Ισχυροί προαγωγείς όγκων, όπως οι εστέρες της φορβόλης, ενεργοποιούν τους μεμβρανικούς υποδοχείς όπως η πρωτεϊνική κινάση C (Castagna et al 1982)¹¹. Η ενεργοποίηση της φωσφορυλίωσης της πρωτεϊνικής κινάσης C οδηγεί στο σχηματισμό όγκων του δέρματος. Άλλοι παράγοντες που οδηγούν επίσης σε καρκινογένεση και συμπεριφέρονται ως προαγωγείς όγκων αποτελούν το υπεροξειδίο του βενζοϋλίου, το οποίο εμπλέκεται στο μηχανισμό σχηματισμού ελεύθερων ριζών, οδηγώντας έμμεσα σε φωσφορυλίωση ορισμένων πρωτεϊνών (Slaga et al 1981)¹².

Η δημιουργία όγκων χαρακτηρίζεται επίσης από μιτογόνο δράση και γενετική αστάθεια, με αποτέλεσμα χρωμοσωμικές αλλοιώσεις. Κατά συνέπεια, ο σχηματισμός του όγκου περιλαμβάνει μια σειρά περίπλοκων επιγενετικών σταδίων που οδηγούν στο σχηματισμό θηλωμάτων στην επιδερμίδα των τρωκτικών. Η ογκογένεση και η νέκρωση του όγκου προκαλείται μέσω του παράγοντα νέκρωσης των όγκων (TNF-α) και της μείωσης της TNF-α πρωτεΐνη.. Πρόσφατες μελέτες στην ανάπτυξη

καρκίνου στον άνθρωπο περιλαμβάνουν τη ρύθμιση του TNF-α και την ενεργοποίηση του NF-κB, ενός σημαντικού παράγοντα μεταγραφής (Fujiki et al, 2013)¹³,(Basu, 2018)¹⁴.

3.1.δ. Παραδείγματα καρκίνων με μεταλλαξογόνο βάση:

Είναι γνωστό από την έρευνα των Knudson et al.ότι το ρετινοβλάστωμα αποτελεί κακοήθεια που σχετίζεται με τη θεωρία των “δύο χτυπημάτων”(Knudson et al. 1971¹⁵). Η πρωτεΐνη του ρετινοβλαστώματος κωδικοποιείται από το γονίδιο ογκοκατασταλτικό γονίδιο RB1 που βρίσκεται στην περιοχή 13q14. Το εν λόγω γονίδιο προτάθηκε τη δεκαετία του 1970 από τον Alfred Knudson ο οποίος μελέτησε το μηχανισμό κληρονομησης παθήσεων του αμφιβληστροειδούς. Σε περίπτωση ομόζυγης μετάλλαξης η παραγόμενη πρωτεΐνη αδρανοποιείται μέσω απαλοιφής βάσης και οδηγεί σε εμφάνιση ρετινοβλαστώματος. Η πρώτη μετάλλαξη μπορεί να είναι είτε γαμετικά είτε σωματικά κύτταρα με τη δεύτερη είναι πάντα σε σωματικά. (Alzahem et al.,2019¹⁶).

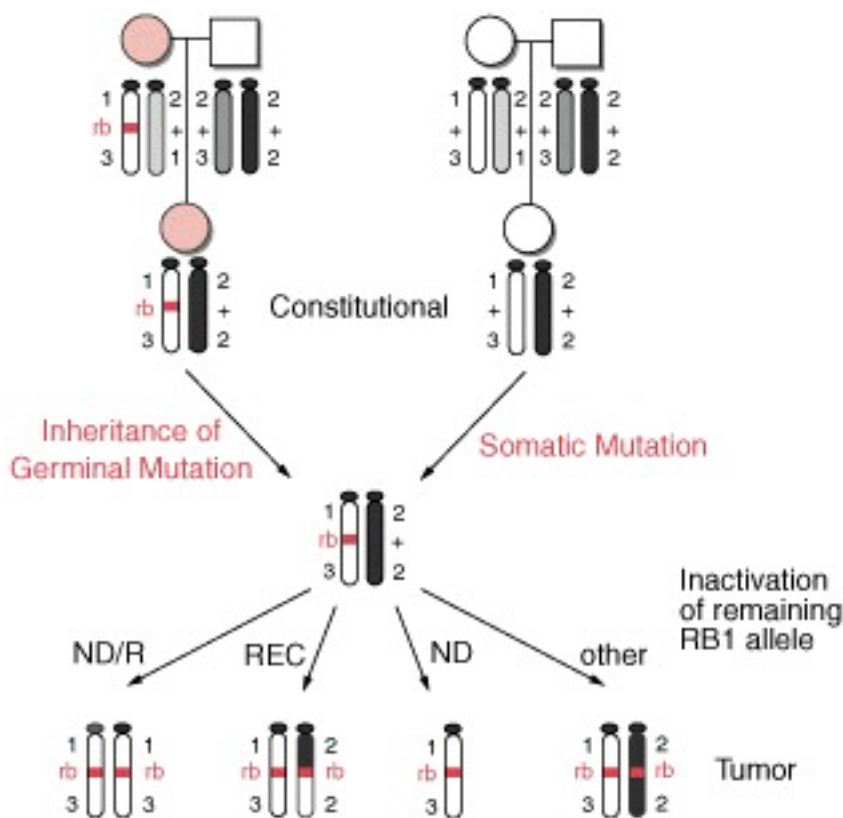
Συγκεκριμένα στο χρωμόσωμα 13q14 παρατηρήθηκε απαλοιφή βάσης. Τα επίπεδα της εστεράσης D, ενός ενζύμου άγνωστης φυσιολογικής λειτουργίας, βρέθηκαν να μειωμένα στα άτομα στο 13q14 σε σύγκριση με φυσιολογικά μέλη της ίδιας οικογένειας. Αυτό το εύρημα δημιούργησε την υπόθεση ότι το γονίδιο της εστεράσης D μπορεί να περιέχεται στο χρωμόσωμα 13q14. Πράγματι, η ανάλυση διαχωρισμού των ισοενζύμων της εστεράσης D και η ανάπτυξη του ρετινοβλαστώματος σε οικογένειες με κληρονομικό ρετινοβλάστωμα έδειξε ότι οι εστίες της εστεράσης D και RB1 ήταν γενετικά συνδεδεμένες (Park et al., 2003¹⁷).

Σε άλλη περίπτωση παιδιού με κληρονομικό ρετινοβλάστωμα τα επίπεδα εστεράσης D ανευρέθησαν περίπου στο ήμισυ των φυσιολογικών,χωρίς όμως να συνυπάρχει απαλοιφή βάσης στο χρωμόσωμα 13. Ενδιαφέρον αποτέλεσε το γεγονός ότι τα επίπεδα εστεράσης στο συγκεκριμένο παιδί ήταν αρκετά υψηλά παρά το γεγονός ότι έπασχε από ρετινοβλάστωμα. Με βάση αυτά τα ευρήματα, προτάθηκε ότι το αντίγραφο του χρωμοσώματος 13 χαρακτηριζόταν από μία μικρή απαλοιφή τόσο στις θέσεις που κωδικοποιούσαν την εστεράσης D όσο και των RB1.

Συμπερασματικά, η αρχική μετάλλαξη RB1 ήταν υπολειπόμενη (δηλαδή υπήρχε ένα φυσιολογικό και ένα μεταλλαγμένο αλληλόμορφο). Η εμφάνιση ρετινοβλαστώματος για κάποιον ο οποίος εμφάνιζε επιρρέπεια έχοντας ένα παθολογικό αλληλόμορφο θα συνέβαινε από ένα δεύτερο συμβάν, όπως η απώλεια του χρωμοσώματος 13 του άλλου αλληλόμορφου.

Αυτή η πρόταση ήταν απολύτως σύμφωνη με την υπόθεση των “δύο χτυπημάτων του ”Knudson.

Για να διαπιστωθεί η γενικότητα αυτών των παρατηρήσεων, οι Cavenee et al (Cavenee et al., 1983¹⁸)_προέβησαν σε μελέτες ρετινοβλαστωμάτων, κληρονομικών και σποραδικών τύπων, χρησιμοποιώντας ανιχνευτές DNA για το χρωμόσωμα 13 για την ανίχνευση πολυμορφισμών προς σύγκριση παθολογικών και φυσιολογικών αντιγράφων. Με τη χρήση των ανιχνευτών απέδειξαν ότι η απώλεια ετεροζυγωτίας στο χρωμόσωμα 13 ανιχνεύθηκε σε περισσότερο από το 60% των περιπτώσεων. Η απώλεια ετεροζυγωτίας (Loss of heterozygosity - LOH) για το χρωμόσωμα 13, και συγκεκριμένα για την περιοχή του χρωμοσώματος που περιέχει το γονίδιο RB1, συνέβη μέσω ενός αριθμού διαφορετικών μηχανισμών. Επιπλέον, μέσω μελέτης κληρονομικών περιπτώσεων, αποδείχθηκε ότι το αντίγραφο του χρωμοσώματος 13 που διατηρείται στα κύτταρα του όγκου προήλθε από τον γονέα που είχε προσβληθεί. Αυτά τα δεδομένα έδειξαν ότι είτε η αρχική μετάλλαξη είχε κληρονομηθεί είτε είχε εμφανιστεί σωματικά σε έναν αναπτυσσόμενο ρετινοβλάστη, η αποκάλυψη μιας προδιαθεσικής μετάλλαξης στο γονίδιο RB1 έγινε με τους ίδιους χρωμοσωμικούς μηχανισμούς.



Εικόνα 4: Μηχανισμοί που οδηγούν σε απώλεια ετεροζυγωτίας για το γονίδιο του ρετινοβλαστώματος (RB1) στη χρωμοσωμική ζώνη 13q14. Στην κληρονομική μορφή της νόσου (επάνω αριστερά), η προσβεβλημένη κόρη κληρονομεί ένα μεταλλαγμένο αλληλόμορφο RB1 (rb) από την προσβεβλημένη μητέρα της και ένα κανονικό αλληλόμορφο RB1 (+) από τον πατέρα της. Έτσι, έχει ένα φυσιολογικό αλληλόμορφο και ένα μεταλλαγμένο αλληλόμορφο RB1 σε όλα τα κύτταρά της (δηλαδή, ο γονότυπος για το RB1 είναι rb/+). Τα δύο αντίγραφα του χρωμοσώματος 13 στα φυσιολογικά του κύτταρα διακρίνονται χρησιμοποιώντας ανιχνευτές DNA για το γονίδιο RB1. Το ρετινοβλάστωμα μπορεί να προκύψει μετά την αδρανοποίηση του φυσιολογικού αλληλόμορφου. Μεταξύ των γενετικών μηχανισμών που βρέθηκαν να αδρανοποιούν το φυσιολογικό αλληλόμορφο RB1 είναι η μη διάσπαση του χρωμοσώματος και η αναπαραγωγή του υπολοίπου αντιγράφου του χρωμοσώματος 13 (ND/R), μιτωτικός ανασυνδυασμός (REC), μη διασύνδεση (ND). Επάνω δεξιά φαίνεται η κατάσταση στη μη κληρονομική (σποραδική) μορφή της νόσου. Μια σωματική μετάλλαξη εμφανίζεται σε ένα αναπτυσσόμενο κύτταρο αμφιβληστροειδούς και αδρανοποιεί ένα από τα αλληλόμορφα RB1. Ένα ρετινοβλάστωμα θα αναπτυχθεί εάν το άλλο RB1 αλληλόμορφο απενεργοποιηθεί με έναν από τους μηχανισμούς που παρουσιάζονται. (Holland et al., 1997)¹⁹.

Ασθενείς με κληρονομική μορφή ρετινοβλαστώματος ήταν γνωστό ότι διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο για την ανάπτυξη άλλων τύπων καρκίνου, ιδιαίτερα των οστεοσαρκωμάτων. Η απώλεια ετεροζυγωτίας στην περιοχή του χρωμοσώματος 13q που περιέχει το γονίδιο RB1 παρατηρήθηκε σε οστεοσάρκωμα που εμφανίστηκε σε ασθενείς με κληρονομική μορφή ρετινοβλαστώματος, υποδηλώνοντας ότι η αδρανοποίηση και των δύο αλληλόμορφων RB1 ήταν κρίσιμη για την ανάπτυξη οστεοσαρκώματος σε εκείνους με το κληρονομικό ρετινοβλάστωμα. (Hansen et al., 1985²⁰).

Επιπλέον, σε σποραδικές μορφές καρκίνου οστεοσαρκωμάτων βρέθηκε ετεροζυγωτία στο χρωμοσώματος 13q. Οι εν λόγω μελέτες ενίσχυσαν την υπόθεση του Knudso ότι ο συγκεκριμένος καρκίνος και καρκίνοι στους οποίους εμπλέκονται ογκοκατασταλτικά γονίδια ακολουθούν την πορεία των “δύο χτυπημάτων”, με χαρακτηριστικούς καρκίνους το ρετινοβλαστωμα και το οστεοσάρκωμα. Επιπλέον, μελέτες έδειξαν ότι τόσο οι κληρονομικές όσο και οι σποραδικές μορφές καρκίνου ήταν αποτέλεσμα παρόμοιων γενετικών αλλαγών. Επιπλέον, βρέθηκαν παρόμοιοι

παθολογικοί μηχανισμοί που συσχετίστηκαν με την εμφάνιση οστεοσαρκώματος και ρετινοβλαστώματος.

3.2. Οστεοαρθρίτιδα

Η οστεοαρθρίτιδα (ΟΑ) είναι η πιο συνήθης χρόνια ασθένεια των αρθρώσεων και παραμένει μία από τις λίγες παθήσεις που σχετίζονται με την ηλικία για την οποία δεν υπάρχει φαρμακευτική αποτελεσματική θεραπεία για να την επιβραδύνει και να τη θεραπεύσει πλήρως. Η οστεοαρθρίτιδα μπορεί να επηρεάσει όλες τις αρθρώσεις με την πιο συχνά προσβεβλημένη άρθρωση να είναι το γόνατο. Η ΟΑ είναι η κύρια αιτία αναπηρίας σε ηλικιωμένους και είναι μία από τις κύριες αιτίες περιορισμού της κινητικότητας αυτών. Ο πόνος αποτελεί το κυριότερο σύμπτωμα της ΟΑ και είναι αυτό που συνήθως οδηγεί τους πάσχοντες να αναζητήσουν ιατρική φροντίδα. Στα αρχικά στάδια της νόσου, τα συμπτώματα συμπεριλαμβανομένου του πόνου είναι διαλείποντα και γίνονται πιο συχνά και σοβαρά καθώς η ασθένεια εξελίσσεται.

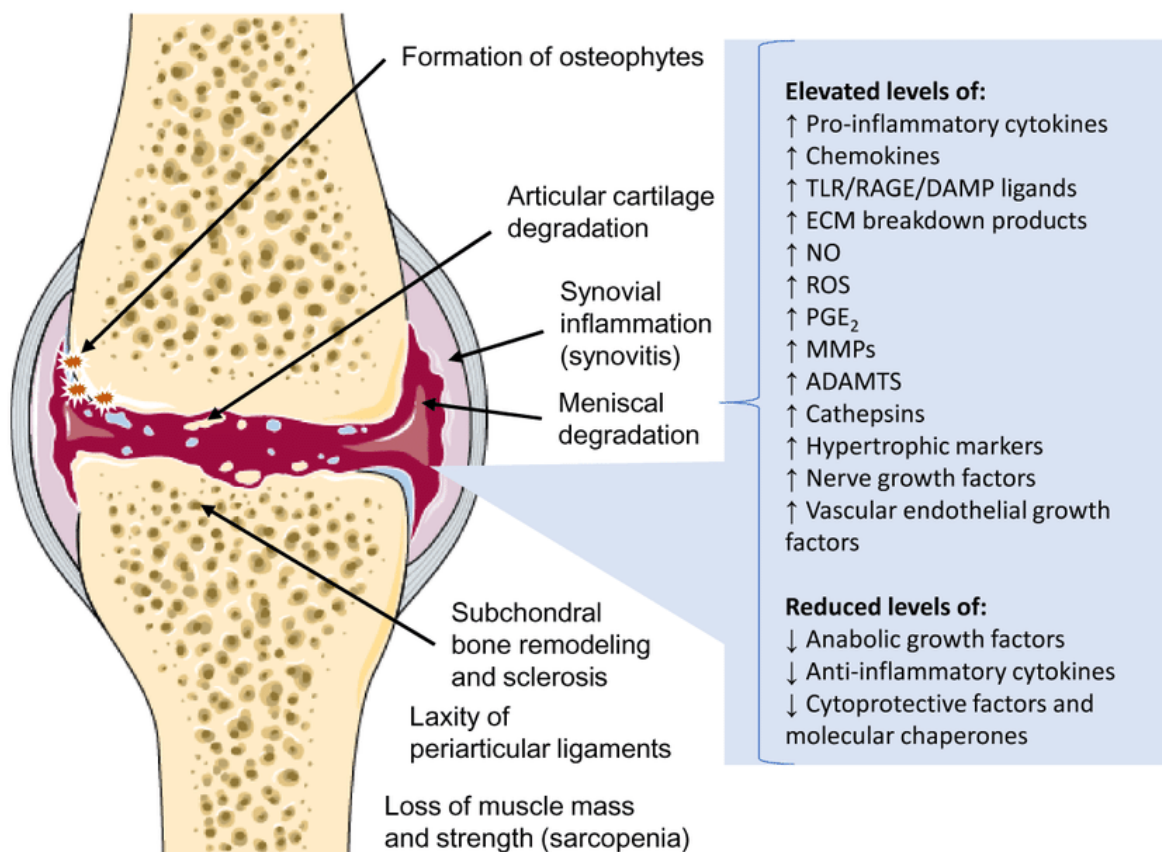
Ο προσδιορισμός των πηγών και των μηχανισμών του πόνου στην ΟΑ είναι σημαντικός. Η κατανόηση της αιτίας και της παθοφυσιολογίας του πόνου μπορεί να βοηθήσει ώστε να βρεθεί η καλύτερη στοχευμένη θεραπεία για τους πάσχοντες, αρχικά προς ανακούφιση των συμπτωμάτων και προς βελτίωση της λειτουργικότητας της προσβεβλημένης άρθρωσης.

3.2.α. Δομικές αλλαγές στην οστεοαρθρίτιδα

Το χαρακτηριστικό παθολογικό χαρακτηριστικό της ΟΑ είναι η απώλεια αρθρικού χόνδρου, η οποία γίνεται εμφανής με απλές ακτινογραφίες. Η απώλεια του χόνδρου με συνοδό υποχονδρική πάχυνση και σκλήρυνση και ο σχηματισμός οστεόφυτων (οστεοποίησης πέραν του φυσιολογικού στην προσβεβλημένη άρθρωση) είναι χαρακτηριστικά της νόσου. Μέσω της απεικόνισης με μαγνητική τομογραφία (MRI), καταδεικνύεται αναλυτικότερα η προσβολή της άρθρωσης με συνοδό προσβολή των συνδεσμικών υποστηρικτικών συστημάτων της άρθρωσης. Σε μελέτες μαγνητικής τομογραφίας ανευρίσκονται επίσης στοιχεία μη φυσιολογικής δομής των οστών στο υποχόνδριο όριο με κυστικές βλάβες και βλάβες μυελού των οστών (BML) (Terence et al 2018).²¹

Structural Alterations

Molecular Alterations



3.2.β.

Εικόνα 5: Περίληψη των κύριων δομικών και μοριακών αλλαγών στην οστεοαρθρίτιδα. Οι μοριακές μεταβολές στο μικρο-περιβάλλον των χονδροκυττάρων και οι αλλαγές στη δομή της εξωκυτταρικής μήτρας (Extracellular Matrix - ECM) μεταβάλλουν τη συμπεριφορά και τη φυσιολογία των χονδροκυττάρων. (Mobasheri et al 2019²²)

Βιολογικό υπόβαθρο της OA- Επιγενετικές και φλεγμονώδεις αλλαγές στην OA

Επιγενετικές αλλαγές φαίνεται ότι αποτελούν το υπόβαθρο που σχετίζεται με την παθοφυσιολογία της OA. Όταν αναφερόμαστε σε επιγενετικές αλλαγές αναφερόμαστε σε αλλαγή της γονιδιακής έκφρασης χωρίς όμως να συμβαίνουν τροποποιήσεις στην αλληλουχία του DNA. Σε ορισμένες περιπτώσεις, οι επιγενετικές τροποποιήσεις είναι σταθερές και μεταφέρονται στις επόμενες γενιές, αλλά σε άλλες περιπτώσεις είναι δυναμικές και μεταβάλλονται ως απάντηση σε ερεθίσματα του περιβάλλοντος. Τρεις κύριοι μηχανισμοί εμπλέκονται στην επιγενετική ρύθμιση: (1) μετα-μεταφραστική τροποποίηση των ιστονών που αλλάζει τη διαμόρφωση της χρωματίνης, (2) μη κωδικοποιητικά RNA (microRNAs, μεγάλα μη κωδικοποιητικά RNA) που δρουν τόσο μεταγραφικά όσο και μετα-μεταγραφικά στο ρύθμιση της έκφρασης του mRNA, και (3) αλλαγές της μεθυλίωσης του DNA που αλλάζουν ομοιοπολικά τη δομή του DNA. Πρόσφατες μελέτες αποκάλυψαν διαφορετικά πρότυπα μεθυλίωσης DNA σε ασθενείς με OA, υποδεικνύοντας ότι τέτοιες επιγενετικές αλλαγές θα μπορούσαν να είναι σημαντικός παράγοντας στην ανάπτυξη και εξέλιξη της ασθένειας. Η διαδικασία μεθυλίωσης του DNA στην OA μεσολαβείται από ένζυμα όπως η DNA μεθυλοτρανσφεράση (DNMT) και ένζυμα απομεθυλίωσης, διοξυγενάσες μεθυλοκυτοσίνης (TETs), συμπεριλαμβανομένων των TET 1, 2 και 3 στην OA. Έχουν αναφερθεί τρεις τύποι DNA μεθυλοτρανσφερασών DNMT (DNMT 1, 3A, 3B) που λειτουργούν καταλύοντας την προσθήκη μιας μεθυλομάδας σε μια κυτοσίνη που βρίσκεται στο 5' άκρο μιας γουανίνης (θέσεις CpG). Στη συνέχεια, η μεθυλίωση του DNA μπορεί να επηρεάσει σημαντικά τα πρότυπα γονιδιακής έκφρασης. Οι DNMT3A και DNMT3B δρουν κυρίως ως de novo μεθυλοτρανσφεράσες που δημιουργούν

πρότυπα μεθυλίωσης DNA κατά την ανάπτυξη ενώ το DNMT1 λειτουργεί για να διατηρήσει αυτά τα πρότυπα κατά τη διάρκεια των κυτταρικών διαιρέσεων. Η διαγραφή αυτών των ενζύμων σε ποντίκια οδηγεί σε εμβρυϊκό (Dnmt1, Dnmt3b) ή μεταγεννητικό (Dnmt3a) θάνατο, επιβεβαιώνοντας έναν ουσιαστικό ρόλο κατά την ανάπτυξη (Shen et al 2017)²³.

3.3. Μεταβολικό σύνδρομο

Το μεταβολικό σύνδρομο (MetS) αποτελεί ένα πολυπαραγοντικό και ηλικιοεξαρτώμενο νόσημα που περιλαμβάνει την αρτηριακή υπέρταση, την κεντρική παχυσαρκία, την αντίσταση στην ινσουλίνη και τη δυσλιπιδαιμία που σχετίζεται με αθηρωμάτωση. Το μεταβολικό σύνδρομο (Mets) σχετίζεται έντονα με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης αθηρωματικής καρδιαγγειακής νόσου (CVD). Τα ποσοστά του μεταβολικού συνδρόμου (Mets) αυξάνονται διαρκώς λόγω της εκθετικής αύξησης της παχυσαρκίας παγκοσμίως. Ο έγκαιρος προληπτικός έλεγχος (screening) και η διάγνωση είναι σημαντικά προκειμένου να τροποποιηθούν οι παράγοντες κινδύνου ακολουθώντας οι ασθενείς έναν τρόπο ζωής που να οδηγήσει σε ύφεση των συμπτωμάτων τους, αν όχι σε εξάλειψη, με κυρίαρχο στόχο τη μείωση του Δείκτη Μάζας Σώματος (BMI).

3.3.α. Ορισμός μεταβολικού συνδρόμου.

Το MetS, που χαρακτηρίζεται επίσης ως «σύνδρομο αντίστασης στην ινσουλίνη», «σύνδρομο X», «υπερτριγλυκεριδαιμική μέση» και «θανατηφόρα τετράδα» ολοένα και συσχετίζεται με την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου και αναγνωρίζεται ως ο σημαντικότερος παράγοντας κινδύνου. Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας διατύπωσε για πρώτη φορά τον ορισμό του MetS το 1998 ως σύνδρομο που εμφανίζει αντίσταση στην ινσουλίνη (διαταραγμένη γλυκόζη νηστείας, μειωμένη ανοχή γλυκόζης ή σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2), με συνοδά τα δύο από τα ακόλουθα: παχυσαρκία (λόγος μέσης-ισχίου ή δείκτης μάζας σώματος), υπερλιπιδαιμία (υπερτριγλυκεριδαιμία, χαμηλή υψηλή πυκνότητα λιποπρωτεΐνη [HDL] χοληστερόλη), υπέρταση ή υποαλβουμιναμία (Rochlani et al., 2017)²⁴.

Πίνακας 1: Ορισμός Μεταβολικού Συνδρόμου, BMI, body mass index; HDL-C, high-density lipoprotein cholesterol; IFG, impaired fasting glucose; IGT, impaired glucose tolerance; IR, insulin resistance; T2DM, type 2 diabetes mellitus; TG, triglycerides; WC, waist circumference. (Adapted from the American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute report.)

Clinical measure	World Health Organization 1998 ⁷	European Group for the Study of Insulin Resistance 1998 ⁸	Adult Treatment Panel III of the National Cholesterol Education Program 2001 ¹⁰	International Diabetes Federation 2005 ¹¹	American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute 2005 ¹²
Criteria	IR + any other 2	IR + any other 2	Any 3 of 5	Increased WC (population specific) + any other 2	Any 3 of 5

Insulin resistance	IGT/IFG IR	Plasma insulin > 75th percentile	–	–	–
Blood glucose	IFG/IGT/ T2DM	IFG/IGT (excludes diabetes)	≥ 110 mg/dL (includes diabetes)	≥ 100 mg/dL	≥ 100 mg/dL (includes diabetes)
Dyslipidemia	TG ≥ 1.69 mmol/L and HDL-C men < 0.90 mmol/L women < 1.01 mmol/L	TG ≥ 1.69 mmol/L and HDL-C < 1.01 mmol/L in men and women	TG ≥ 1.69 mmol/L HDL-C men < 1.03 mmol/L women < 1.29 mmol/L	TG ≥ 1.69 mmol/L or on TG treatment HDL-C men < 1.03 mmol/L women < 1.29 mmol/L Or HDL treatment	TG ≥ 1.69 mmol/L or treatment HDL-C men < 1.03 mmol/L women < 1.29 mmol/L Or HDL treatment
Blood pressure	≥ 140/90 mmHg	≥ 140/90 mmHg or on antihypertensive medications	≥ 130/85 mmHg or on antihypertensive medications	≥ 130/85 mmHg or on antihypertensive medications	≥ 130/85 mmHg or on antihypertensive medications

Obesity	Waist: hip ratio men > 0.9 women > 0.85 and/or BMI > 30 kg/m ²	WC men ≥ 94 cm women ≥ 80 cm	WC men ≥ 102 cm women ≥ 88 cm	WC ≥ 94 cm	WC men ≥ 102 cm women ≥ 88 cm
Other	Microal- buminuria				

3.3.β. Αίτια μεταβολικού συνδρόμου

3.3.β.1. Αντίσταση στην ινσουλίνη

Το MetS είναι επίσης ευρέως γνωστό ως σύνδρομο αντίστασης στην ινσουλίνη εξαιτίας του ρόλου που παίζει η αντίσταση στην ινσουλίνη στο ίδιο το σύνδρομο. Η Αμερικανική εταιρεία Ενδοκρινολογίας (AACE) , καθώς και η Ευρωπαϊκή Ομάδα της Μελέτης Αντίστασης στην Ινσουλίνη (EGIR) χρησιμοποίησαν τον όρο σύνδρομο αντίστασης στην ινσουλίνη και όχι μεταβολικό σύνδρομο. Επειδή η αντίσταση στην ινσουλίνη είναι δύσκολο να εκτιμηθεί άμεσα, ειδικά σε κλινικό περιβάλλον, συμπεριλήφθησαν κριτήρια όπως η διαταραχή της γλυκόζης νηστείας (IFG), η μειωμένη ανοχή στη γλυκόζη (IGT) και ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2. Ορισμένοι άλλοι παράγοντες χρησιμοποιήθηκαν επίσης ως διαγνωστικά κριτήρια, όπως η υπερχοληστερόλαια, η αρτηριακή υπέρταση και η παχυσαρκία.

Για να κατανοήσουμε την αντίσταση στην ινσουλίνη, είναι σημαντικό να κατανοήσουμε τη δράση της ινσουλίνης στον οργανισμό και τους καταρράκτες σηματοδότησης της. Σε ένα φυσιολογικό οργανισμό, η γλυκόζη αυξάνεται στο αίμα κατά τη σίτιση και διεγείρει την απελευθέρωση ινσουλίνης από τα β -κύτταρα του παγκρέατος (Tooke JE et al. 2000)²⁵. Η ινσουλίνη μαζί με την αύξηση της γλυκόζης, διεγείρει την πρόσληψη γλυκόζης από την κυκλοφορία στα κύτταρα για να ακολουθήσουν τη διαδικασία της γλυκόλυσης ή την αποθήκευσή της ως γλυκογόνο στο ήπαρ, τους μυς ή το λιπώδη ιστό. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την καταστολή της ηπατικής γλυκονεογένεσης. Μέσω των παραπάνων διαδικασιών διατηρείται η γλυκόζη στα φυσιολογικά επιθυμητά όρια. Ο GLUT4 είναι ένας από τους σημαντικότερους μεταφορείς γλυκόζης, που εκφράζεται κυρίως στους μυς και στον λιπώδη ιστό. Ο GLUT4 διεγείρεται από τη γλυκόζη και μεταφέρεται από το κυτταρόπλασμα στην κυτταρική μεμβράνη προς ενδοκυττάρωση της γλυκόζης. Αυτό είναι το βήμα που περιορίζει τον ρυθμό στην πρόσληψη γλυκόζης και τη σύνθεση γλυκογόνου . Η ινσουλίνη όχι μόνο ρυθμίζει το μεταβολισμό της γλυκόζης, αλλά και ρυθμίζει τον μεταβολισμό των λιπιδίων. Η λιπογένεση ενισχύεται ως απάντηση στην ινσουλίνη, ενώ η λιπόλυση αναστέλλεται.

3.3.β.2. Δυσλειτουργία των β-κυττάρων του παγκρέατος

Η λειτουργία των β-κυττάρων (BCF) σχετίζεται στενά με το MetS. Μια μελέτη της κλινικής του Κλίβελαντ πρότεινε ότι η δυσλειτουργία των β-κυττάρων έχει άμεση συσχέτιση με τη σοβαρότητα του MetS ανεξάρτητα από το σωματικό λίπος, το φύλο, την αρτηριακή πίεση, την αντίσταση στην ινσουλίνη και το μεταβολισμό της γλυκόζης. Επομένως, η βελτίωση της λειτουργίας των β-κυττάρων του παγκρέατος αποτελεί σημαντικό θεραπευτικό στόχο για τη θεραπεία του συνδρόμου. Ακόμη, έχει παρατηρηθεί ότι η αυξημένη καρδιοαναπνευστική συχνότητα (CRF) σχετίζεται με καλύτερη λειτουργία των BCF σε άτομα με MetS, ανεξάρτητα από το ποσοστά λίπους.

Τα τελευταία χρόνια, καθώς έχουν συμπεριληφθεί σε πολυάριθμες έρευνες οι στρατηγικές απώλειας βάρους, το CRF έχει προσελκύσει την προσοχή ως πιθανός μελλοντικός θεραπευτικός παράγοντας. Μια μετα-ανάλυση της καρδιοαναπνευστικής συχνότητας (CRF) σε σχέση με το Δείκτη Μάζας Σώματος (ΔΜΣ) στη συνολική θνησιμότητα έδειξε ότι άτομα με χαμηλή καρδιοαναπνευστική συχνότητα (χαμηλό CRF) είχαν διπλάσιο κίνδυνο θνησιμότητας σε σύγκριση με άτομα με φυσιολογικό ανεξάρτητα από τον Δείκτη Μάζας Σώματος. Έχει προταθεί ότι στρατηγικές βελτίωσης της καρδιοαναπνευστικής συχνότητας και όχι οι στρατηγικές απώλειας βάρους μειώνουν τον κίνδυνο θνησιμότητας συνολικά. Έχει επανειλημμένα αποδειχθεί ότι το CRF είναι ένας ισχυρός προγνωστικός παράγοντας σε όλους τους πληθυσμούς ασθενών με στεφανιαία νόσο (CHD) και καρδιαγγειακούς (CV) ασθενείς

3.3.β.3. Κυτταρική δυσλειτουργία από πρωτεϊνικές κινάσες και φωσφατάσες

Φυσιολογικά η παρουσία ινσουλίνης προκαλεί διέγερση του υποδοχέα της και σύνδεση με αυτόν ακολουθώντας ένα μονοπάτι με ενεργότητα τυροσινικής κινάσης. Στη συνέχεια, το σύμπλεγμα υποδοχέα -ινσουλίνης-1 (IRS1) και -2 (IRS2), στρατολογείται και φωσφορυλιώνεται στις θέσεις τυροσίνης και ακολουθεί η φωσφορυλίωση πρωτεϊνών σηματοδότησης στόχων, είτε της 3-κινάσης της φωσφατιδυλνινοσιτιδής (PI3K) είτε μιας κατηγορίας μικρών G- πρωτεϊνών (GTP). Η οδός PI3K → Akt είναι ο κύριος δίαυλος των μεταβολικών επιδράσεων της ινσουλίνης. Φωσφορυλιωμένη η PI3K καταλύει τη δημιουργία 3,4,5-τρισφωφορικής φωσφατιδυλνινοσιτόλης (PIP3) από 4,5-τρισφωφορική φωσφατιδυλνινοσιτόλη (PIP2), μέσω της εξαρτώμενης από τη φωσφοϊνοσιτιδία πρωτεϊνική κινάση (PDK1/PDK2) και τη σύνδεση του Akt με το PIP3. Το PDK1/PDK2 φωσφορυλιώνει το Akt, το οποίο φωσφορυλιώνοντας άλλα μόρια στόχους μεσολαβεί στη μετατόπιση του υποδοχέα της ινσουλίνης 4(GLUT4), της σύνθεσης γλυκογόνου, της λιπογένεσης και της πρωτεϊνικής σύνθεσης, καθώς και την αναστολή της απόπτωσης και της ηπατικής γλυκονεογένεσης. Μερικές από αυτές τις μεταβολικές επιδράσεις λειτουργούν μέσω της φωσφορυλίωσης Akt από πρωτεϊνικό κουτί O1 (FOXO1). Το FOXO1 κατέχει σημαντικό μεταγραφικό ρόλο ορισμένων γλυκονεογενετικών και λιπογόνων γονιδίων. Μετά τη φωσφορυλίωση από το Akt, το FOXO1 μεταφέρεται από τον πυρήνα στο κυτταρόπλασμα, καταστέλλοντας την παραγωγή γλυκόζης στο ήπαρ. Πολλά από αυτά τα γεγονότα φωσφορυλίωσης χρησιμοποιούνται ως δείκτες ευαισθησίας στην ινσουλίνη. Η οδός σηματοδότησης ενεργοποιημένης πρωτεϊνικής κινάσης (MAPK) μεσολαβεί κυρίως στην επίδραση της ινσουλίνης στη μιτογένεση και την κυτταρική ανάπτυξη.

Υπό συνθήκες αντίστασης στην ινσουλίνη, η οδός σηματοδότησης φωσφορυλίωσης εξασθενεί, γεγονός που οδηγεί σε μειωμένη έκφραση GLUT4 ή δυσλειτουργία της μετατόπισης του προς την κυτταρική μεμβράνη, με αποτέλεσμα τη διαταραχή της μεταφοράς γλυκόζης, την καταστολή της αποθήκευσης γλυκογόνου και την αναστολή της πρωτεϊνικής σύνθεσης. Η ενεργοποίηση του GLUT4 από την ινσουλίνη είναι επίσης σημαντική για τη τροφοδότηση του κυττάρου με γλυκόζη και η p38 κινάση (MAPK p38) σχετίζεται με αυτή τη διαδικασία. Εν τω μεταξύ, διαταραχές στην οδό σηματοδότησης της ινσουλίνης επιστρέφουν το FOXO1 πίσω στον πυρήνα προς ενεργοποίηση της έκφρασης γλυκονεογόνων γονιδίων και της αύξησης λιποπρωτεϊνών πολύ χαμηλής πυκνότητας (VLDL). Ο πραγματικός μηχανισμός αντίστασης στην ινσουλίνη δεν έχει ακόμη κατανοηθεί πλήρως. Ωστόσο, πολλοί παράγοντες έχουν αποδειχθεί ότι αλληλεπιδρούν μεταξύ τους και λειτουργούν ως συμπάροντες στην αντίσταση στην ινσουλίνη. Για παράδειγμα, η υπερινσουλιναιμία έχει ως αποτέλεσμα τη φωσφορυλίωση σερίνης/θρεονίνης του IRS και

πρόλαμβάνει τη φωσφορυλίωση της τυροσίνης. Προφλεγμονώδεις κυτοκίνες όπως ο παράγοντας νέκρωσης όγκου α (TNF α) και γενετικά ελλείματα επίσης προκαλούν αντίσταση στην ινσουλίνη.

Η αντίσταση στην ινσουλίνη τοπικά σε βασικούς ιστούς, όπως ο λιπώδης ιστός, το συκώτι, οι μύες, ο εγκέφαλος, τα κύτταρα του ανοσοποιητικού και τα κύτταρα του πεπτικού, σχετίζεται με καθολική αντίσταση στην ινσουλίνη. Έχει διαπιστώσει ότι η αντίσταση στην ινσουλίνη του κεντρικού νευρικού συστήματος (ΚΝΣ) είναι η κύρια αιτία παχυσαρκίας ρυθμίζοντας την όρεξη και κατά συνέπεια την πρόσληψη τροφής. Η αντίσταση στην ινσουλίνη στον λιπώδη ιστό οδηγεί σε υπερλιπιδαιμία και φλεγμονή, η ηπατική αντίσταση στην ινσουλίνη προκαλεί υπεργλυκαιμία, η καρδιακή αντίσταση στην ινσουλίνη προάγει την καρδιακή ανεπάρκεια, η παγκρεατική αντίσταση στην ινσουλίνη έχει ως αποτέλεσμα διαταραχή της αναγέννησης των β -κυττάρων. Επιπρόσθετα, η αντίσταση στην ινσουλίνη στο αγγειακό ενδοθήλιο σχετίζεται με υπέρταση. Η αντίσταση στην ινσουλίνη στους σκελετικούς μύες μειώνει τη διάρκεια ζωής αυτών.

3.4. Νευροεκφυλιστικές παθήσεις σχετιζόμενες με την ηλικία

Οι νευροεκφυλιστικές παθήσεις αποτελούν ηλικιοεξαρτώμενες παθήσεις χαρακτηριζόμενες από προοδευτική απώλεια νευρώνων, σε αντίθεση με μεταβολικά αίτια τα οποία οδηγούν σε ταχεία έκπτωση της νευρωνικής λειτουργίας. Οι νευροεκφυλιστικές ασθένειες μπορούν να ταξινομηθούν σύμφωνα με τα κλινικά τους χαρακτηριστικά σε άνοια, παρκινσονισμό, νόσο των κινητικών νευρώνων, την ανατομική περιοχή νευροεκφύλισης (εξωπυραμιδικές διαταραχές εκφύλιση των πρόσθιων κροταφικών λοβών και εκφύλιση του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος). Οι πιο συχνές νευροεκφυλιστικές διαταραχές είναι οι αμυλοειδώσεις, οι ταυοπάθειες (συσσώρευση tau πρωτεϊνών), οι α -συνουκλεϊνοπάθειες και οι πρωτεϊνοπάθειες TDP-43. Οι εν λόγω ασθένειες σχετίζονται με ανώμαλη διαμόρφωση αυτών των πρωτεϊνών με τις περισσότερες εκ των παθήσεων να χαρακτηρίζονται από συσσωματώματα πρωτεϊνικών διαμορφώσεων στις προσβληθείσες περιοχές (Dugger et al., 2017)²⁶.

Οι νευροεκφυλιστικές διαταραχές μπορούν να ταξινομηθούν σε μεγάλο βαθμό από τις κλινικές τους εκδηλώσεις, με την εξωπυραμιδική και πυραμιδική συνδρομή με συνοδές γνωστικές ή συμπεριφορικές διαταραχές να είναι οι πιο συχνές. Λίγοι ασθενείς έχουν διακριτά σύνδρομα, με τους περισσότερους να έχουν συνδυασμό κλινικών συμπτωμάτων. Μείζονος σημασία αποτελεί μία ορθή νευρολογική αξιολόγηση. Παρόλο που οι νευροεκφυλιστικές ασθένειες τυπικά χαρακτηρίζονται από συσσωματώματα πρωτεϊνών και ανατομική προσβολή συγκεκριμένων δομών, οι νευροεκφυλιστικές ασθένειες σχετίζονται με προοδευτική νευρωνική δυσλειτουργία, με συνακόλουθες ανωμαλίες του μονοπατιού της ουβικουϊτίνης - πρωτεασώματος και μονοπάτια αυτοφαγίας, οξειδωτικό στρες, προφλεγμονώδες και φλεγμονώδες στάδιο και τελικά προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο.

3.4.α. Αμυλοειδώσεις

ΝΟΣΟΣ ALZHEIMER ΟΡΙΣΜΟΣ

Η νόσος Αλτσχάιμερ (AD) είναι ο συχνότερα παρατηρούμενος τύπος άνοιας και ορίζεται ως μια αργά προοδευτική νευροεκφυλιστική νόσος που χαρακτηρίζεται από νευριτικές πλάκες και νευροϊνδιακά συσσωματώματα αμυλοειδούς-βήτα πεπτιδίου (A β) κυρίως στον έσω κροταφικό λοβό και τον εγκεφαλικό φλοιό. Ο Alois Alzheimer παρατήρησε την παρουσία πλακών αμυλοειδούς και με μαζική νευρωνική απώλεια ενώ κατά την εξέταση του εγκεφάλου του πρώτου του ασθενούς που υπέστη απώλεια μνήμης και αλλαγή προσωπικότητας πριν πεθάνει περιέγραψε την ασθένεια με χαρακτηριστική προσβολή του εγκεφαλικού φλοιού. (Blass, 1985)²⁷

Η προοδευτική απώλεια των γνωστικών λειτουργιών μπορεί να προκληθεί από εγκεφαλική διαταραχή όπως η νόσος Alzheimer (AD) σε συνδυασμό ή όχι με άλλους παράγοντες όπως η δηλητηρίαση, οι λοιμώξεις, οι ανωμαλίες στο πνευμονική κυκλοφορία και το καρδιαγγειακό σύστημα προκαλώντας υποοξυγώση του εγκεφάλου.

ΠΑΘΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ

1. ΠΛΑΚΕΣ ΑΜΥΛΟΕΙΔΟΥΣ

Οι γεροντικές πλάκες αποτελούν εναποθέσεις βήτα-αμυλοειδούς πρωτεΐνης (β-amyloid) με ποικίλα χαρακτηριστικά στη μορφολογία, συμπεριλαμβανομένων, διάχυτων συμπαγών δομών. Οι πλάκες β-αμυλοειδούς σχηματίζονται μέσω των ενζύμων β-σεκρετάση και γ-σεκρετάση από τη διαμεμβρανική πρόδρομη πρωτεΐνη αμυλοειδούς (APP) (Armstrong, 2009).²⁸

Αυτά τα ένζυμα διασπούν την πρόδρομη μορφή του αμυλοειδούς (APP) σε πολλά θραύσματα αμινοξέων: 43, 45, 46, 48, 49 και 51 αμινοξέα, τα οποία φτάνουν στις τελικές μορφές Αβ40 και Αβ42. Υπάρχουν διάφοροι τύποι μονομερών Αβ, συμπεριλαμβανομένων μεγάλων και αδιάλυτων ινιδίων αμυλοειδούς τα οποία μπορούν να συσσωρευτούν για να σχηματίσουν πλάκες αμυλοειδούς και μη διαλυτά ολιγομερή που μπορούν να εξαπλωθούν σε όλο τον εγκέφαλο. Η συσσώρευση αμυλοειδούς χαρακτηρίζεται ως νευροτοξική και διαταράσσει τη νευρική λειτουργία. Έτσι η συσσώρευση αυτών στον ιππόκαμπο, την αμυγδαλή και τον εγκεφαλικό φλοιό μπορεί να προκαλέσει διέγερση των αστροκυττάρων και της μικρογλοίας, βλάβη στους νευράξονες και απώλεια συνάψεων, εκτός από γνωσιακά ελλείματα (Tabaton et al, 2005).²⁹

2. ΝΕΥΡΟΪΝΙΔΙΑΚΑ ΣΥΜΠΛΕΓΜΑΤΑ

Αποτελούν υπερφωσφορυλιωμένες περιοχές πρωτεϊνών τάου με ελικοειδές σχήμα (PHF) με ικανότητα συσσώρευσης στο κυτταρόπλασμα των νευρικών κυττάρων, τους νευράξονες και τους δενδρίτες, οδηγώντας σε απώλεια μικροσωληνίσκων και υπομονάδων τουμπουλίνης. Η φωσφορυλιωμένη πρωτεΐνη ταυ είναι το κύριο συστατικό στον εγκέφαλο ασθενών με Alzheimer και η δομή της αντιστοιχεί στα μορφολογικά στάδια των νευροϊνιδιακών συμπλεγμάτων, τα οποία περιλαμβάνουν: (1) σωματοδενδρικό διαμέρισμα χωρίς σχηματισμό ελικοειδούς, (2) ώριμα νευροϊνιδιακά συμπλέγματα, τα οποία χαρακτηρίζονται από συσσωματώματα πρωτεΐνης ταυ με τον πυρήνα να βρίσκεται στην περιφέρεια και (3) εξωκυττάρια συμπλέγματα με μεγάλη απώλεια νευρώνων και αντίσταση στην πρωτεόλυση. (Brion, 1998³⁰, Metaxas et al. 2016)³¹.

3. ΑΠΩΛΕΙΑ ΣΥΝΑΨΕΩΝ

Μια συναπτική βλάβη στο φλοιό και το μταιχμιακό σύστημα προκαλεί εξασθένηση της μνήμης και γενικά παρατηρείται στα αρχικά στάδια της νόσου. Οι συναπτικοί μηχανισμοί απώλειας περιλαμβάνουν λάθη στην αξονική μεταφορά, μιτοχονδριακή βλάβη, οξειδωτικό στρες και οδηγούν στη συσσώρευση β αμυλοειδούς και ταυ πρωτεϊνών στις προσυναπτικές θέσεις. Οι παραπάνω αλλοιώσεις οδηγούν τελικά σε απώλεια δενδριτών, προ-συναπτικών περιοχών και τελικά σε μη σωστή λειτουργία της αξονικής μεταφοράς. Ακόμη, οι συναπτικές πρωτεΐνες χρησιμεύουν ως βιοδείκτες για τη σοβαρότητα της νόσου και την πορεία της, όπως η νευρογρανίνη, μια μετασυναπτική νευρωνική πρωτεΐνη και η συναπτοταγμίνη-1 (Lleó A, et al. 2019)³².

ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ

1. ΓΗΡΑΝΣΗ

Ο πιο σημαντικός παράγοντας κινδύνου για την AD είναι η γήρανση. Τα νεότερα άτομα σπάνια εμφανίζουν την ασθένεια και οι περισσότεροι ασθενείς είναι άνω των 65 ετών. Η γήρανση είναι μια σύνθετη και μη αναστρέψιμη διαδικασία που οδηγεί σε μείωση του όγκου και του βάρους του εγκεφάλου, απώλεια συνάψεων και διεύρυνση των κοιλιών, ιδιαίτερα της τρίτης κοιλίας. Επιπλέον, ο υπομεταβολισμός της γλυκόζης, η μη ομοιόσταση της χοληστερόλης και η δυσλειτουργία των μιτοχονδρίων έχουν συσχετιστεί με κατάθλιψη και γνωσιακή έκπτωση. Αυτές οι αλλαγές εμφανίζονται επίσης στη φυσιολογική γήρανση, γεγονός που καθιστά δύσκολη τη διάκριση των περιπτώσεων στα αρχικά στάδια της νόσου. Η AD μπορεί να χωριστεί με βάση την ηλικία έναρξης σε AD πρώιμης έναρξης (EOAD), μια σπάνια μορφή η οποία εμφανίζεται σε 1–6% των περιπτώσεων, με οικογενειακό ιστορικό Alzheimer σε πάνω από ένα μέλος της οικογένειας και σε περισσότερες από μία γενεές, με ηλικία εμφάνισης τα 30-60 έτη.

Ο δεύτερος τύπος της νόσου είναι η νόσος Alzheimer όψιμης έναρξης (LOAD), με μέσο όρο εμφάνισης τα 65 έτη. Και οι δύο τύποι μπορεί να εμφανιστούν σε άτομα που έχουν οικογένεια με θετικό ιστορικό ΑΔ και οικογένειες με νόσο με καθυστερημένη εμφάνιση.

2. ΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Α) συσσώρευση πρωτεΐνης αμυλοειδούς

Β) πρεσενιλίνη 1 και 2 (PSEN-1 & PSEN 2). Τα γονίδια PSEN1 και PSEN2 σχετίζονται με αυτοσωμική κληρονομικότητα του ΕΟΑΔ και βρίσκονται στα χρωμοσώματα 14 και 1, αντίστοιχα. Τα PSEN-2 και PSEN-1 είναι ομόλογα, με ομολογία στο 67%, με διαφορά στο αμινοτελικό (N) - άκρο και την υδρόφιλη περιοχή τους. Η μετάλλαξη στο γονίδιο PSEN1 είναι πιο συχνή, με περισσότερες από 200 μεταλλάξεις, ενώ μόλις 40 μεταλλάξεις έχουν ευρεθεί στο γονίδιο PSEN2 με πολύ μικρό ποσοστό εμφάνισης (Cai Y et al, 2015)³³.

Γ) Απολιποπρωτεΐνη Ε (ΑpoE). Η απολιποπρωτεΐνη (ΑpoE) είναι μια γλυκοπρωτεΐνη που εκφράζεται στο ήπαρ και τα αστροκύτταρα του εγκεφάλου και σε μικρότερη ποσότητα στα κύτταρα της μικρογλοίας με ρόλο υποδοχέα ενδοκυττάρωσης σωματιδίων λιποπρωτεϊνών όπως η χοληστερόλη, η οποία είναι απαραίτητη για την παραγωγή μυελίνης και τη φυσιολογική λειτουργία του εγκεφάλου. Το γονίδιο ΑpoE που βρίσκεται στο χρωμόσωμα 19 έχει τρεις ισομορφές, ΑpoE2, ΑpoE3 και ΑpoE4, λόγω πολυμορφισμών μίας βάσης (SNPSs) που προκαλούν αλλαγές στην κωδικοποιητική αλληλουχία. Το αλληλόμορφο ΑpoE4 έχει συσχετισθεί με την πρόωμη έναρξη Alzheimer (ΕΟΑΔ) όσο και με την όψιμη (LOAD) συγκρινόμενο με τα αλληλόμορφα ΑpoEε2 και ΑpoEε3 που σχετίζονται με χαμηλότερο κίνδυνο εμφάνισης και κατέχουν και προστατευτικό ρόλο. Το ΑpoEε4 σχετίζεται με εναπόθεση β - αμυλοειδούς στις γεροντικές πλάκες προκαλώντας εγκεφαλική αμυλοειδοπάθεια (CAA) με συνοδό αγγειακή βλάβη αποτελώντας προγνωστικό δείκτη για τη νόσο Alzheimer (Giau VV et al. 2015)³⁴.

3. ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

- 1) Ατμοσφαιρική ρύπανση: Η ατμοσφαιρική ρύπανση συνδέεται με αναπνευστικές και καρδιαγγειακές παθήσεις και πρόσφατα, τεκμηριώθηκε η σύνδεσή του με την Alzheimer. Έξι ατμοσφαιρικοί ρύποι έχουν οριστεί ως απειλή για την ανθρώπινη υγεία, συμπεριλαμβανομένου του όζοντος (O₃), των οξειδίων του αζώτου (NO_X), του μονοξειδίου του άνθρακα (CO), των σωματιδίων (PM), του θείου διοξειδίου (SO₂) και μόλυβδος (Croze ML et al. 2018)³⁵.
- 2) Διατροφικοί παράγοντες: Διάφορα συμπληρώματα διατροφής, όπως αντιοξειδωτικά, βιταμίνες, πολυφαινόλες αναφέρθηκαν ότι μειώνουν τον κίνδυνο εμφάνισης Alzheimer, ενώ τα κορεσμένα λιπαρά οξέα και η υψηλή θερμιδική πρόσληψη συσχετίζονται με την αύξηση του κινδύνου ΑΔ (Hu N et al. 2013)³⁶.
- 3) Μολύνσεις: Χρόνιες λοιμώξεις στο κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ) μπορούν να προκαλέσουν συσσώρευση πλακών Αβ και NFT. Μελέτες του Δρ Itzhaki έδειξαν ότι το DNA του έρπητα (Muzambi R et al, 2019)³⁷.
- 4) Μέταλλα
- 5) Καρδιαγγειακές παθήσεις: Οι καρδιαγγειακές παθήσεις αναγνωρίζονται ως σημαντικός παράγοντας κινδύνου για την AD, όπως το εγκεφαλικό επεισόδιο που σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο άνοιας λόγω απώλειας νευρικού ιστού (de Bruijn RF et al, 2014).³⁸
- 6) Παχυσαρκία και ΣΔ: Η αύξηση του σωματικού λίπους σχετίζεται με μειωμένη παροχή αίματος στον εγκέφαλο με αποτέλεσμα την υποαιμάτωση του εγκεφάλου, την αγγειακή άνοια και την απώλεια μνήμης (Lee HJ et al, 2018).³⁹

3.4.β. Παθήσεις που σχετίζονται με συσσώρευση πρωτεΐνης tau

Ο όρος ταουπάθεια υποδηλώνει μια σειρά νευροεκφυλιστικών ασθενειών όπου παρατηρούνται συσσωματώματα tau πρωτεϊνών στους νευρώνες και κύτταρα της γλοίας,

ταξινομώντας τες περαιτέρω σε εκείνες με νευρικά ή αστροκυτταρικά έγκλειστα tau (Kovacs G.G. 2018).⁴⁰

Πάνω από έναν αιώνα μετά την πρώτη περιγραφόμενη περίπτωση, η νόσος Αλτσχάιμερ είναι η πιο διαδεδομένη μορφή ταουπάθειας και η πιο κοινή αιτία άνοιας (~ 60-80% των περιπτώσεων) και η συχνότητα εμφάνισής της αυξάνεται ραγδαία με την αύξηση του προσδόκιμου επιβίωσης. (2020 Alzheimer's disease facts and figures.)⁴¹

Η Tau είναι μια πρωτεΐνη σχετιζόμενη με μικροσωληνίσκους και κωδικοποιείται από το γονίδιο MAPT που βρίσκεται στο χρωμόσωμα 17. Ο κύριος ρόλος της πρωτεΐνης tau είναι να διατηρήσει την αξονική μεταφορά σταθεροποιώντας τους μικροσωληνίσκους μέσω της διαδικασίας φωσφορυλίωσης και αποφωσφορυλίωσης τους (Trinczek et al 1999).⁴²

Άλλες λειτουργίες των πρωτεϊνών tau περιλαμβάνουν τη μεταγωγή σήματος, την προστασία DNA/RNA και τη ρύθμιση της συναπτικής λειτουργίας (Marciniak et al, 2017).⁴³

Στο ανθρώπινο κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ), έξι ισομορφές tau εκφράζονται με εναλλακτικό μάτισμα των εξονίων MAPT 2, 3 και 10, εκ των οποίων η μεγαλύτερη ισομορφή 2N4R tau (441 αμινοξέα) (Goedert et al 1989).⁴⁴

Δύο κύρια μοντέλα εξηγούν τον μηχανισμό της παθολογίας που προκαλείται από τη συσσώρευση tau πρωτεϊνών (Trojanowski et al 2005).⁴⁵ 107-26).

Ένα μοντέλο επικεντρώνεται στην τάση των τάνου πρωτεϊνών να αναδιπλώνονται λάθος και να σχηματίζουν ινίδια που συσσωματώνονται, αλλά είναι αδύνατη η απομάκρυνσή τους. (Ramachandran et al 2013).⁴⁶

Το άλλο μοντέλο αφορά την απώλεια της λειτουργίας των πρωτεϊνών tau με αποτέλεσμα την αδρανοποίησή τους, οδηγώντας σε διαταραχή της αξονικής ακεραιότητας και μεταφοράς (Tepper K et al. 2014).⁴⁷

3.4.γ. Παθήσεις σχετιζόμενες με συσσώρευση συνουκλεοτιδίων

Η άνοια από σωματία Lewy (LBD) περιλαμβάνει δύο κλινικές οντότητες, την άνοια σχετιζόμενη με τα σώματα Lewy και την άνοια της νόσου του Parkinson. Είναι μια προοδευτική εκφυλιστική διαταραχή του εγκεφάλου που χαρακτηρίζεται από άνοια, χαρακτηριστικά παρκινσονισμού και ψυχωτικά επεισόδια. Τα συμπτώματα εντείνονται με την πάροδο του χρόνου και ποικίλλουν ανάλογα το άτομο. Η διάγνωση της άνοιας από σωματία Lewy (LBD) απαιτεί ενδελεχή κλινική εξέταση καθώς πολλά από τα χαρακτηριστικά του επικαλύπτονται με άλλες διαταραχές άνοιας. Είναι ο τρίτος πιο συνηθισμένος τύπος άνοιας μετά τη νόσο Αλτσχάιμερ και την αγγειακή άνοια. Χαρακτηρίζεται από την εναπόθεση σωμάτων Lewy στον εγκεφαλο ενδοκυτταρικών εγκλείστων που περιέχουν άλφα-συνουκλεΐνη και ουβικουΐτίνη (Chin KS, et al. 2019)⁴⁸.

ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Η αιτιολογία της άνοιας από σωματία Lewy (LBD) είναι ακόμα άγνωστη. Ωστόσο, η γενετική, οι περιβαλλοντικοί παράγοντες και η διαδικασία της γήρανσης, μπορεί να έχουν κάποιο ρόλο, απαιτείται όμως περαιτέρω έρευνα.

Το LBD είναι μια πάθηση η οποία διαφεύγει της διάγνωσης καθώς τα κλινικά χαρακτηριστικά της επικαλύπτονται με άλλες πιο διαταραχές, όπως η νόσος του Πάρκινσον και η νόσος του Αλτσχάιμερ. Μελέτες έχουν δείξει, ωστόσο, ότι αντιπροσωπεύει το 20% έως 30% όλων των περιπτώσεων άνοιας. Είναι πιο συχνή στους άνδρες και η επίπτωση αυξάνεται με την ηλικία. Είναι διαδεδομένο σε ασιατικούς, αφρικανικούς και ευρωπαϊκούς αγώνες. Ένα οικογενειακό ιστορικό LBD και νόσου Πάρκινσον αυξάνει τον κίνδυνο για εμφάνιση της νόσου (Brenowitz WD et al. 2017).⁴⁹

ΠΑΘΟΛΟΓΙΑ

Όπως και η νόσος Αλτσχάιμερ, η άνοια από σωμάτια Lewy (LBD) παρουσιάζει ανεπάρκεια ακετυλοχολίνης, αλλά είναι πιο έντονη στην LBD. Τα μειωμένα επίπεδα ακετυλοχολίνης στον κροταφοβρεγματικό φλοιό έχουν ως αποτέλεσμα οπτικές ψευδαισθήσεις που αποτελούν και το κύριο διαφοροδιαγνωστικό της χαρακτηριστικό. Οι αυξημένοι επίσης μουσκαρινικοί υποδοχείς M1 στον κροταφικό λοβό οδηγούν σε αυταπάτες. Τα επίπεδα ντοπαμίνης μειώνονται επίσης.

Το βασικό χαρακτηριστικό του LBD είναι η παρουσία σε περίσσεια άλφα-συνουκλεΐνης, μιας προσυναπτικής πρωτεΐνης. Άλλα ευρήματα περιλαμβάνουν την παρουσία ουβικουϊτίνης και πρωτεΐνων νευροϊνών. Σε αντίθεση με τη νόσο του Πάρκινσον, η μείωση της ακετυλοχολίνης είναι πολύ πιο σοβαρή στην LBD.

Η σάρωση με SPECT σε ασθενείς με LBD καταδεικνύει αλλοιώσεις στον ινιακό και βρεγματικό φλοιό, καθώς και υποαιμάτωση της μεταιχμιακής και παραλοβιακής οδού (Haider et al 2021).⁵⁰

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΓΗΡΑΝΣΗ

Τα κύτταρα των οργανισμών ευρισκόμενα υπό αντίξοες συνθήκες προς αυτά ως απάντηση οδηγούνται σε ανακοπή της πολλαπλασιαστικής τους ικανότητας που ονομάζεται κυτταρική γήρανση. Η πρώτη αναφορά στον όρο της γήρανσης έγινε από τους Hayflick και Moorhead στην προσπάθεια τους να δημιουργήσουν εμβόλια μέσω καλλιέργειας πρωτογενών κυττάρων. Ευρισκόμενοι σε αυτή τη διαδικασία παρατήρησαν ότι έπειτα από ένα κύκλο διαιρέσεων οι ανθρώπινοι ινοβλάστες σταματούν να διαιρούνται. Ποικίλοι στρεσογόνοι παράγοντες οι οποίοι σχετίζονται με τη γήρανση αποτελούν δυνητικά ογκογόνους παράγοντες, ενισχύοντας την άποψη ότι η κυτταρική γήρανση εξελίχθηκε παράλληλα με τον κυτταρικό θάνατο (απόπτωση) με στόχο την καταστολή της ογκογένεσης. Η κυτταρική γήρανση αφορά όπως αναφέρθηκε τη διακοπή του κυτταρικού κύκλου με ταυτόχρονη καταστολή της απόπτωσης. Τα κύτταρα που γηράσκουν είναι βιώσιμα και διαθέτουν την ικανότητα να επηρεάσουν γειτονικά κύτταρα μέσω διαλυτών παραγόντων που εκκρίνουν χαρακτηρισζόμενων ως φαινότυπος που σχετίζεται με τη γήρανση(SASP) . Η λειτουργική και δομική τροποποίηση που υφίστανται τα κύτταρα υπό την επίδραση των ανωτέρω έχει αποδειχθεί ότι μπορεί να οδηγήσει σε ογκογένεση. Η απομάκρυνση των κυττάρων που υφίστανται γήρανση μέσω γενετικών ή φαρμακολογικών αποτελεί καίριο στόχο για την αντιμετώπιση ασθενειών που σχετίζονται με την κυτταρική γήρανση. (Kerr J.F. 2002)⁵¹

Η διαδικασία του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου παρατηρήθηκε για πρώτη φορά έγινε απο τον Carl Vogt το 1842 κατά τη μελέτη ανάπτυξης του γυρίνου, ενώ ο όρος απόπτωση χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά από τους (Kerr et al. 1972)⁵². Η απόπτωση διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο για την απομάκρυνση των επιβλαβών κυττάρων, καθώς επίσης αποτελεί μία ιδιαίτερα σημαντική διαδικασία για τη ρύθμιση της ανοσολογικής απόκρισης του οργανισμού. Στη συνέχεια θα αναλυθούν εκτενώς και οι δύο κυτταρικές διαδικασίες (King et al 1998).⁵³

2.1 Γιατί τα κύτταρα γηράσκουν;

Τα κύτταρα που γηράσκουν ακολουθούν μία πορεία η οποία σχετίζεται με την αδυναμία τους προς κυτταρική ανάπτυξη και ανανέωση εκτιθέμενα σε στρεσογόνους παράγοντες, ενώ ταυτόχρονα παραμένουν ενεργά. Η έκπτωση της λειτουργίας τους συμβαίνει σε κυτταρικό, μοριακό και οργανικό επίπεδο.

Τα κύτταρα τα οποία γηράσκουν εμφανίζουν εκτεταμένες αναδιοργανώσεις στη χρωματίνη, καθώς και στην έκφραση των γονιδίων τους. Στις αλλαγές που συμβαίνουν σε ένα γηράσκον κύτταρο περιλαμβάνονται η συσσώρευση φλεγμονωδών κυτοκινών, χημειοκινών και αυξητικών παραγόντων γνωστή και ως χαρακτηριστική λειτουργία εκκριτικών φαινοτύπων σχετιζόμενων με τη γήρανση (SASPs). (Regulski, 2017)⁵⁴

1. Τροποίσεις που συμβαίνουν στα κύτταρα που γηράσκουν

2.2.α Βράχυνση τελομεράσης

Τι είναι τα τελομερή;

Τα τελομερή αποτελούν μη κωδικές περιοχές στα άκρα των γραμμικών χρωμοσωμάτων χωρίς μεγάλη αξία από άποψη γενετικής πληροφορίας, αλλά πολύ σημαντικές για την προστασία και τη σταθερότητα της γενετικής πληροφορίας σε κάθε κυτταρικό κύκλο. Έτσι ο ρόλος των τελομερών είναι διπλός: προστατεύουν το κύτταρο από τη φθορά και εξασφαλίζουν ότι το “μύνημα” σε κάθε κυτταρική διαίρεση μεταφέρεται πλήρες (Turner et al, 2019)⁵⁵. Τα ανθρώπινα τελομερή έχουν μέγεθος 5-15kb (κύτταρο σε εμβρυϊκή ηλικία) βάσεις νουκλεοτιδίων με χαρακτηριστικές επαναλήψεις TTAGGG (Turner et al, 2019)⁵⁵. Τα τελομερή χαρακτηρίζονται από την παρουσία μιας προεξοχής μήκους 30- 400 νουκλεοτιδίων σχηματίζοντας ένα μονόκλωνο κλώνο πλούσιο σε βάσεις (γουανίνης) G . Στη συνέχεια ο εν λόγω κλώνος αναδιπλώνεται προς τα πίσω εισβάλλοντας στη δίκλωνη περιοχή των τελομερών σχηματίζοντας ένα βρόγχο T και εν συνεχεία ένα μικρότερο βρόγχο μετατόπισης (βρόγχο D) (Griffith et al., 1999⁵⁶ Doksanı et al., 2013⁵⁷). Από το μήκος του βρόγχου μπορούμε να υπολογίσουμε τη βιολογική ηλικία του κυττάρου, Τα τελομερή δεσμεύονται από ένα εξειδικευμένο σύμπλεγμα πρωτεϊνών γνωστό ως shelterin complex. Το σύμπλεγμα shelterin των τελομερών έχει ως κύρια δράση τη σταθεροποίηση του βρόγχου T και αποτελείται από έξι πρωτεΐνες: παράγοντες σύνδεσης 1 και 2 (TRF1 και TRF2), πρωτεΐνες αλληλεπίδρασης με TRF1 και TRF2 , προστασία πρωτεΐνης τελομερών 1 (POT1), (TIN2), πρωτεΐνη αλληλεπίδρασης με την POT1 (TPP1), και κατασταλτική/ενεργοποιητική πρωτεΐνη 1 (de Lange, 2005⁵⁸, Martínez et al, 2010⁵⁹).

Πως βραχύνονται;

Σύμφωνα με τον Hayflick ο μέγιστος αριθμός διαιρέσεων που μπορεί να πραγματοποιήσει ένα κύτταρο μέχρι να μπει σε διαδικασία γήρανσης είναι περίπου 50 (Hayflick, 1961). Τα τελομερή βραχύνονται σε κάθε κυτταρική διαίρεση ως αποτέλεσμα ατελούς αντιγραφής του γενετικού υλικού τους , κάτι που αποτελεί το πρόβλημα της ολοκλήρωσης της αντιγραφής αυτών με αποτέλεσμα να χάνεται τμήμα του γενετικού τους υλικού το οποίο αποκολλάται. (Watson,1972⁶⁰, Olovnikov, 1971⁶¹).

Η τελομεράση αντισταθμίζει τη φθορά των τελομερών προσθέτοντας επαναλήψεις TTAGGG στα άκρα τους (Liu et al., 2007⁶²; Flores et al., 2008⁶³; Marion et al., 2009⁶⁴). Η τελομεράση αποτελείται από μία ομάδα αντίστροφης μεταγραφάσης της τελομεράσης (TERT) και από μία υπομονάδα RNA (Terc). Η τελομεράση προσδένεται στα τελευταία νουκλεοτίδια του 3' άκρου του DNA και χρησιμοποιεί το συστατικό της RNA Terc ως καλούπι για τη σύνθεση επαναλήψεων στα τελομερή στο 3' άκρο του DNA. Ακολούθως, οι DNA πολυμεράσες α και δ συνθέτουν επαναλήψεις στο 5' άκρο του DNA έχοντας ως καλούπι τις αλληλουχίες του 3' άκρου. Τέλος, τα άκρα του DNA τροποποιούνται από ενδονουκλεάσες και δημιουργείται ένα κάλυμμα στο άκρο των τελομερών με τη συμμετοχή των παραγόντων επανάληψης των τελομερών (TRFs). Παρά τη δράση της τελομεράσης προς ανανέωση των άκρων των τελομερικών περιοχών, η δράση της δεν επαρκεί για να αποφευχθεί η φθορά που προκαλείται από τις κυτταρικές διαιρέσεις καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής και τα τελομερή σε κάθε κυτταρική διαίρεση 50-200 ζεύγη βάσεων. Τελικά, η βράχυνση των τελομερών είναι κάτι αναπόφευκτο (Liu et al., 2007⁶²; Flores et al., 2008⁶³; Marion et al., 2009⁶⁴).

2.2.β Βλάβες στο γενετικό υλικό

Η γήρανση ορίζεται ως μία διαδικασία κατά την οποία η λειτουργικότητα του οργανισμού φθίνει, η ικανότητα του για αντιγραφή και επιδιόρθωση των βλαβών μειώνεται με συνοδό συσσώρευση μεταλλάξεων και βαθμιαία αύξηση του κυτταρικού θανάτου. Στη διαδικασία της γήρανσης παρατηρείται συσσώρευση βλαβών στο DNA με το γενετικό υλικό των κυττάρων να βρίσκεται υπό την απειλή εξωγενών και ενδογενών παραγόντων. Στους εξωγενείς παράγοντες περιλαμβάνονται η ακτινοβολία και η ιοντίζουσα ακτινοβολία, ενώ στους ενδογενείς οι αντιδράσεις οξειδωσης (ROS), καθώς και χημικές αντιδράσεις που στοχεύουν τα μόρια του DNA με χαρακτηριστικές την ακετυλίωση και την υδρόλυση των δεσμών του DNA. (Da Silva et al. , 2019⁶⁵).

Τύποι βλαβών του γενετικού υλικού

Οι βλάβες του DNA κατηγοριοποιούνται σε δύο κύριες κατηγορίες με βάση την προέλευσή τους, σε ενδογενείς και εξωγενείς. Η πλειονότητα των ενδογενών βλαβών του γενετικού υλικού οφείλονται στην αλληλεπίδραση του DNA, των πρωτεϊνών και των λιπιδίων με το νερό και τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου συμμετέχοντας σε υδρολυτικές και οξειδωτικές αντιδράσεις. Αντιδράσεις του γενετικού υλικού με μόρια από το άμεσο περιβάλλον του τροφοδοτούν την ανάπτυξη κληρονομικών ασθενειών και σποραδικών καρκίνων (Visconti and Grieco, 2009⁶⁶, Reuter et al., 2010⁶⁷).

2.2.β.1 Ενδογενείς βλάβες

Λάθη κατά την αντιγραφή του γενετικού υλικού, λανθασμένη συμπληρωματικότητα βάσεων και συμπλέγματα τοποϊσομεράσης

Σε κάθε κυτταρικό κύκλο το γενετικό υλικό αντιγράφεται με μεγάλη αξιοπιστία με τη βοήθεια ενζύμων και συγκεκριμένα των DNA πολυμερασών δ και ε. Οι DNA πολυμεράσες συμμετέχουν στη διαδικασία της αντιγραφής με μεγάλη αξιοπιστία όμως η πιθανότητα να συμβεί λάθος κατά την αντιγραφή είναι 1:10.000 βάσεις. Ωστόσο, υπάρχουν DNA πολυμεράσες με μεγαλύτερη επιρρέπεια σε λάθη κατά τη σύνθεση και την επιδιόρθωση του DNA με μερικές από αυτές να είναι οι εξής: α, β, σ, γ, λ, REV1, ζ, η, ι, κ, θ, ν, μ, Tdt και Prim Pol (Loeb et al, 2008⁶⁸). Η αντιγραφή του γενετικού υλικού βασίζεται στη ικανότητα των DNA πολυμερασών να συνθέτουν κλώνο DNA με βάσει τους κανόνες συμπληρωματικότητας χρησιμοποιώντας ως καλούπι για το αρχικό στάδιο της αντιγραφής έναν κλώνο 5 RNA νουκλεοτιδίων που αποκόπτεται στην πορεία με δράση 5'-3'. Η DNA πολυμεράση όπως αναφέρθηκε έχει τη δυνατότητα να αναγνωρίζει τα λάθη της και να αποκόβει και να απομακρύνει το λανθασμένο νουκλεοτίδιο που έχει εισάγει. Αυτό επιτυγχάνεται με: 1) τη θερμοδυναμική σταθερότητα και την ενεργότητα ζεύγους βάσεων της εισερχόμενης βάσης και της συμπληρωματικής της, 2) την αφαίρεση του αταίριαστου δεοξυνουκλεοτιδίου με δράση εξωνουκλεάσης 3'-5' 3) την επιλογή του σωστού και συμπληρωματικού νουκλεοτιδίου και την τοποθέτησή του στο σημείο της βλάβης. Επικουρικά με τη διορθωτική δράση των DNA πολυμερασών λειτουργεί και ο επιδιορθωτικός μηχανισμός των αταίριαστων ζευγών βάσεων (MMR) συμβάλλοντας στην πιστότητα αντιγραφής πάνω από 100 φορές διορθώνοντας τα σπάνια σφάλματα (εισαγωγή 2 έως 4 λανθασμένων βάσεων) που έχουν ξεφύγει από την διόρθωση των πολυμερασών. (Kunkel, 2004⁶⁹, Kunkel, 2009⁷⁰, Kunkel et al, 2011⁷¹).

Παρ' όλα αυτά, οι υποκαταστάσεις των βάσεων και τα σφάλματα εισαγωγής και διαγραφής μιας βάσης εξακολουθούν να συσσωρεύονται με συχνότητα 10^6 έως 10^8 ανά κύτταρο σε κάθε γενιά (Kunkel, 2004⁶⁹, Kunkel, 2009⁷⁰). Σφάλματα αντιγραφής οδηγούν επίσης σε συσσώρευση βλαβών είτε από διαγραφές νουκλεοτιδίων είτε από γεγονότα ολίσθησης κλώνου προσθέτοντας επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες με πιθανότητα αλλαγής του πλαισίου ανάγνωσης. (Viguera et al., 2001⁷², Chatterjee et al, 2013⁷³). Σε άλλες περιπτώσεις οι πολυμεράσες προσθέτουν λανθασμένα ουρακίλη στο DNA και άλλες φορές επηρεάζεται η αξιοπιστία τους από τις μεταβολές στις συγκεντρώσεις παραγόντων δεοξυριβονουκλεοτιδίων ή ριβονουκλεοτιδίων. (Vertessy and Toth,

2009⁷⁴). Αυτά τα λάθος «ζευγαρωμένα» νουκλεοτίδια που διαφεύγουν των μηχανισμών επιδιόρθωσης προκαλούν μεταλλάξεις οι οποίες συντηρούνται και συσσωρεύονται σε κάθε κυτταρικό κύκλο αυξάνοντας την πιθανότητα μεταλλαξιγένεσης .

Μια άλλη πηγή ενδογενούς βλάβης του DNA προκύπτει από τη δράση των ενζύμων τοποϊσομεράσης(TOP) με χαρακτηριστικές τις TOP I, TOP II, TOP III. 7 γονίδια TOP βρίσκονται στο ανθρώπινο γονιδίωμα, τα οποία έχουν ως στόχο της μείωσης της υπερελίκωσης του γενετικού υλικού κατά την αντιγραφή και τη μεταγραφή (Wang , 2002⁷⁵, Pommier, 2006⁷⁶). Η τοποϊσομεράση 1 (TOP1), για παράδειγμα, δεσμεύει παροδικά το υπερελικωμένο DNA και διευκολύνει την περιστροφή του σπασμένου κλώνου γύρω από τον κλώνο DNA που συνδέεται με την TOP1 για να χαλαρώσει το DNA. Στη συνέχεια, η τοποϊσομεράση 1(TOP1) ενώνει τα κλάσματα του DNA μέσω ευθυγράμμισης της 5' υδροξυλομάδας(5'-OH) με τη δημιουργία φωσφοδιεστερικού δεσμού τυροσίνης προς επίλυση του παραπάνω συμπλόκου (Stewart et al, 1998,⁷⁷ Carey et al., 2003⁷⁸). Η κακή ευθυγράμμιση του άκρου της 5' υδροξυλομάδας (5'-OH) DNA έχει ως αποτέλεσμα της δημιουργία βλάβης στο γενετικό υλικό. (Pommier and Cherfils, 2005⁷⁹; Pommier και Marchand, 2005⁸⁰). Είναι ενδιαφέρον ότι τα αντικαρκινικά φάρμακα όπως η καμπτοθεκίνη σταθεροποιούν τα σύμπλοκα διάσπασης TOP1-DNA (Staker et al, 2002⁸¹; Han et al., 2008⁸²). Επιπρόσθετα, προϊόντα προσθήκης DNA (από υπεριώδη και παράγωγα βενζολίου) και ανώμαλες δομές DNA (ελλείμματα, κακό ζευγάρωμα των βάσεων) μπορούν επίσης να παγιδεύσουν μη αναστρέψιμα το σύμπλοκο διάσπασης TOP1-DNA σε βλάβες DNA που ονομάζονται αυτοκτονικά σύμπλοκα (Burgin et al., 1995⁸³, Pourquier and Pommier, 2001⁸⁴, Meng et al, 2003⁸⁵). Η βλάβη του DNA που σχετίζεται με την τοποϊσομεράση 1 (TOP1) επιδιορθώνεται συνήθως με αναστροφή αυτών των συμπλεγμάτων ή αποκόπτεται μέσω της δράσης της τυροσυλικής DNA φωσφοδιεστεράσης (TPDF1) και ενδονουκλεάσων (Pommier et al., 2006⁷⁶).

Απαμίνωση και Αποπουρίνωση

Το φαινόμενο της απαμίνωσης και της αποπουρίνωσης δημιουργείται συνεχώς στο DNA όταν ο δεσμός N-γλυκοζυλίου, ο οποίος συνδέει τη αζωτούχο βάση και το φωσφορικό σακχάρο, υδρολύεται αυθόρμητα ή υφίσταται διάσπαση από τη γλυκοζυλάση του DNA . Για παράδειγμα, οι θέσεις απαμίνωσης και αποπουρίνωσης σχηματίζονται όταν η ουρακίλη απομακρύνεται από το DNA μέσω της γλυκοζυλάσης της ουρακίλης-DNA (Lindahl and Barnes, 2000⁸⁶). Σε ένα ανθρώπινο κύτταρο, δημιουργούνται περίπου 10.000 θέσεις απαμίνωσης και αποπουρίνωσης την ημέρα. Τόσο οι ακραίες συνθήκες pH όσο και οι υψηλές θερμοκρασίες επηρεάζουν τη δημιουργία τους (Lindahl, 1993⁸⁷). Οι θέσεις αποπουρίνωσης και απαμίνωσης είναι από τη φύση τους ασταθείς και έτσι δημιουργούνται εύκολα σπασίματα μονής αλυσίδας (SSB) από μια αντίδραση που στοχεύει το 3' φωσφοδιεστερικό δεσμό της εναπομείνουσας δεοξυριβόζης (Bailly and Verly, 1988⁸⁸, Waters and Walker, 2006⁸⁹). Οι περισσότερες θέσεις απαμίνωσης και αποπουρίνωσης απομακρύνονται επιτυχώς από τη δράση ενδονουκλεασών στο 5' άκρο επιτρέποντας το μηχανισμό επιδιόρθωσης εκτομής μίας βάσης (BER) να δράσει.

Μεθυλίωση του dna

Είναι πλέον γνωστό ότι οι φυσιολογικές επιγενετικές διεργασίες διαταράσσονται κατά την έναρξη και την εξέλιξη της ογκογένεσης, συμπεριλαμβανομένων των τροποποιήσεων στα πρότυπα μεθυλίωσης του DNA . Σε γενικές γραμμές, αυτό χαρακτηρίζεται από γενική γονιδιωματική υπομεθυλίωση συνοδευόμενη από τοπική υπερμεθυλίωση του DNA των προαγωγών των νησιδίων CpG. Η υπερμεθυλίωση των νησιδίων CpG είναι συχνή και σχετίζεται με σίγαση ογκοκατασταλτικών γονιδίων, γονιδίων που ελέγχουν την κυτταρική ανάπτυξη και τις οδούς σηματοδότησης. Πράγματι, μελέτες για τη μεθυλίωση του γενετικού υλικού που αφορούν γονίδια προαγωγείς αποκάλυψαν πολλαπλά νησίδα CpG που υπόκεινται σε υπερμεθυλίωση στα καρκινικά κύτταρα. Παραδείγματα αυτών περιλαμβάνουν τη γλουταθειόνη S-τρανσφεράση P (GSTP1) σε ποσοστό 90% των καρκίνων του προστάτη , τον εξαρτώμενο από την κυκλίνη αναστολέα της κινάσης (p16INK4a) στο 20% των καρκίνων του πνεύμονα και το BRCA1 στο 12% του καρκίνου του μαστού

και των ωοθηκών . Έχει επίσης αποδειχθεί ότι όχι μόνο οι προσβεβλημένες περιοχές υπερμεθυλιώνονται στον καρκίνο, αλλά και γειτονικές περιοχές αυτών . Επιπλέον, η συχνότητα της υπερμεθυλίωσης p16INK4a και GSTP1 έχει δειχθεί ότι αυξάνεται κατά την εξέλιξη της νόσου υποδηλώνοντας ότι η υπερμεθυλίωση του DNA μπορεί να είναι προγνωστικός παράγοντας της εξέλιξης της νόσου. Πράγματι, στο “The Cancer Genome Atlas” αναφέρθηκε για πρώτη φορά η ύπαρξη προτύπων μεθυλίωσης CpG νησιδίων σε γλοιοβλάστωμα και καρκίνους του παχέος εντέρου .Ωστόσο, γίνεται ακόμη προσπάθεια για την κατανόηση των ομοιοτήτων του προφίλ των εμβρυικών βλαστικών κυττάρων και των καρκινικών κυττάρων, συμπεριλαμβανομένης της προδιάθεσης των γονιδίων ανάπτυξης Polycomb να υπερμεθυλιώνουν τα καρκινικά κύτταρα , αν και οι ομοιότητες στα αναπτυξιακά τους πρότυπα αντιπροσωπεύουν λειτουργικές εκτροπές στην επιγενετική του καρκίνου (Skvortsova et al)⁹⁰.

Οξειδωση του γενετικού υλικού

Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (ROS) είναι τα υποπροϊόντα της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων (ETC) κατά τη διάρκεια της κυτταρικής αναπνοής σε αερόβιους οργανισμούς. (Henle and Linn, 1997⁹¹). Σε πλεόνασμα οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου δύνανται να προκαλέσουν συνολικά περί τις 100 διαφορετικές αλλοιώσεις μέσω οξειδωσης των βάσεων και τροποποιήσεων των δεοξυριβονουκλεοτιδίων (Bjelland and Seeberg, 2003⁹², Cadet et al, 2010⁹³, Cadet et al., 2011⁹⁴, Cadet et al., 2012⁹⁵, Ravanat et al., 2012⁹⁶, Cadet and Wagner, 2014⁹⁷).

Συνήθως, σε χαμηλές συγκεντρώσεις οι ROS έχουν ευεργετικές ιδιότητες για τα κύτταρα με τους εξής μηχανισμούς:

- 1) περιορισμό της αναπνοής στο μιτοχονδριακό διαμέρισμα, προστατεύοντας έτσι άλλα κυτταρικά συστήματα,
- 2) προστασία του DNA στο σύμπλεγμα ιστόνων
- και 3) απομάκρυνση των πλεοναζόντων ROS μέσω των αντιοξειδωτικών ενζύμων :υπεροξειδίου της δισμουτάσης, καταλάση και υπεροξειδοτοξίνη (Riley, 1994⁹⁸; Mates et al., 1999⁹⁹, Mates and Sanchez-Jimenez, 1999¹⁰⁰).

Παρ 'όλα αυτά, μια πληθώρα ειδών ROS σχετίζονται με την ανάπτυξη ανθρώπινων ασθενειών, όπως ο καρκίνος, η νόσος του Αλτσχάιμερ, η νόσος του Πάρκινσον, ο διαβήτης και η καρδιακή ανεπάρκεια (Giacco and Brownlee, 2010¹⁰¹, Liou and Storz, 2010¹⁰², Mohsenzadegan and Mirshafiey, 2012¹⁰³, Dias et al., 2013¹⁰⁴).

Τα πιο επιβλαβή είδη ROS είναι οι ρίζες υπεροξειδίου (O_2^-), οι ρίζες υδροξυλίου (OH) και το υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2). Μεταξύ αυτών των ειδών ROS, η ρίζα υδροξυλίου (OH), αποτελεί την ικανότερη ρίζα να προκαλέσει βλάβη στο DNA (Imlay et al., 1988¹⁰⁵, Dizdaroglu et al., 1991¹⁰⁶). Αυτές οι ηλεκτρόφιλες ρίζες OH αντιδρούν με τις βάσεις DNA

- 1) σπάζοντας τους διπλούς δεσμούς τους,
- 2) αφαιρώντας άτομα υδρογόνου από τις μεθυλικές ομάδες τους και
- 3) μέσω «επίθεσης» στο υπόλειμμα του γειτονικού τους σακχάρου (Breen and Murphy, 1995¹⁰⁷, Winterbourn, 2008¹⁰⁸). Για παράδειγμα, τα υπολείμματα γλυκόλης της θυμίνης δημιουργούνται από την επίδραση της ρίζας υδροξυλίου (OH) στους διπλούς δεσμούς θυμίνης. Ομοίως, η ρίζα OH που παράγεται ως υποπροϊόν της αντίδρασης Fenton προκαλεί σπάσιμο του δακτυλίου ιμιδαζόλης σε γουανίνη και αδερίνη δημιουργώντας κατακερματισμένη πουρίνη , την φορμαμιδοπυριμιδίνη (Chetsanga et al., 1981¹⁰⁹, Friedberg, 2006¹¹⁰).

2.2.β.2. Εξωγενείς παράγοντες

Ιοντίζουσα ακτινοβολία

Η ιοντίζουσα ακτινοβολία αποτελείται από άλφα, βήτα, γάμμα, και Χ ακτίνες. Η ιοντίζουσα ακτινοβολία προέρχεται από το έδαφος, το ραδόνιο και τα πετρώματα. Κάθε τύπος ακτινοβολίας μπορεί να ταξινομηθεί βάσει της επίδρασή του (άμεση ή έμμεση) και την βαθμό ιοντισμού (γραμμική μεταφορά ενέργειας (LET)). Ανάλογα με την ποσότητα ενέργειας που μεταφέρεται στην ύλη, οι ακτινοβολίες ταξινομούνται είτε σε υψηλό LET (άλφα ακτίνες) είτε σε χαμηλό LET (βήτα και γάμμα). Αθροιστικά, η ιοντίζουσα ακτινοβολία (IR) μπορεί να βλάψει το DNA είτε άμεσα, είτε με έμμεσα του DNA, δημιουργώντας δραστικές ρίζες υδροξυλίου (OH) (Friedberg, 2006¹¹⁰, Desoukya, 2015¹¹¹). Η παρουσία οξυγόνου και άλλων δραστικών ειδών οδηγούν στο σχηματισμό επιπλέον ελεύθερων ριζών που αλληλεπιδρούν στο DNA μέσω της ιονίζουσας ακτινοβολίας (IR) (O'Neil, 2009¹¹²). Στην πραγματικότητα, η έμμεση βλάβη του DNA από OH ρίζες αντιστοιχεί περίπου στο 65% της βλάβης του DNA που προκαλείται από την ακτινοβολία (Vignard et al., 2013¹¹³). Οι κυριότερες βλάβες αφορούν την 8-οξογουανοΐνη, τη γλυκόλη της θυμίνης και τις φορμαμιδοπυριμιδίνες.

Εκτός από τις αλλοιώσεις που προκαλεί στις βάσεις η ιοντίζουσα ακτινοβολία προκαλεί επίσης σπασίματα μονής αλυσίδας (SSB). Οι ενδονουκλεάσες (AP), η πολυνουκλεοτιδική κινάση/φωσφατάση (PNKP) και η τυροσυλική φωσφοδιεστεράση -DNA 1 (TDP1) επιτρέπουν την επιδιόρθωση των βλαβών του μονόκλωνου DNA που προκαλούνται από το ιοντίζουσα ακτινοβολία (Jilani et al., 1999¹¹⁴, Zhou et al., 2005¹¹⁵, El-Khamisy et al., 2007¹¹⁶).

Μια ιδιαίτερα σημαντική βλάβη που προκαλείται από ακτινοβολία είναι η θραύση του δίκλωνου DNA (Hutchinson, 1985¹¹⁷, Ηλιάκης, 1991¹¹⁸).

Υπεριώδης ακτινοβολία

Η υπεριώδης ακτινοβολία προέρχεται από τον ήλιο είναι η κύρια αιτία καρκίνου του δέρματος στους ανθρώπους (Davies, 1995¹¹⁹, Kiefer, 2007¹²⁰). Συνήθως, η υπεριώδης ακτινοβολία κατηγοριοποιείται σε τρεις κατηγορίες με βάση το εύρος του μήκους κύματος: UVA (320-400nm), UVB (290-320 nm) και UVC (190-290 nm). Το DNA απορροφά τη μέγιστη υπεριώδη ακτινοβολία στα 260 nm. Το ηλιακό φως αποτελείται από 5,1% UVA, 0,3% UVB, 62,7% ορατό φως και 31,9% υπέρυθρο, καθώς η επικίνδυνη UVC φιλτράρεται από το στρώμα του όζοντος (Davies, 1995¹¹⁹). Η διάδοση και η απορρόφηση της υπεριώδους ακτινοβολίας από την ύλη γίνεται με δύο τρόπους, είτε απορροφάται άμεσα είτε μετατρέπεται σε άλλο είδος ενέργειας προκαλώντας βλάβη σε γειτονικά μόρια.

Εργαστηριακές μελέτες έχουν δείξει ότι η UVC σχετίζεται με τη δημιουργία σχηματισμού ομοιοπολικών δεσμών μεταξύ δύο γειτονικών πυριμιδινών. Τα κύρια προϊόντα της δράσης της UVC είναι τα διμερή κυκλοβουτανικής πυριμιδίνης (CPD) και τα διμερή πυριμιδίνης-πυριμιδόνης (6-4PP). Η σχετική συχνότητα σχηματισμού τους εξαρτάται από το μήκος κύματος και τη δόση φωτός (Davies, 1995¹¹⁹). Παράγονται επίσης άλλα δευτερεύοντα φωτοπροϊόντα, όπως ένυδρη πυριμιδίνη, γλυκόλες θυμίνης και πρόσθετα διουρίνης (Dempfle and Linn, 1982¹²¹, Bose et al., 1983¹²², Mitchell et al., 1991¹²³). Στα διμερή κυκλοβουτανικής πυριμιδίνης (CPD), ένας δακτύλιος κυκλοβουτανίου συνδέει ομοιοπολικά τις δύο γειτονικές πυριμιδίνες, ενώ στο (6 - 4 PP), η θέση C6 μιας πυριμιδίνης συνδέεται ομοιοπολικά με τη θέση C4 της παρακείμενης πυριμιδίνης. Η συσσώρευση των εν λόγω διμερών σχετίζεται με μεταλλαξιγένεση. Εάν αυτές οι βλάβες αφεθούν άνευ επιδιόρθωσης γίνονται κυτταροτοξικές.

Η UVC βρίσκεται συνεχώς υπό μελέτη καθώς απορροφάται στο μέγιστο από το DNA και αντιδρά με αυτό σχηματίζοντας περισσότερα φωτοπροϊόντα συγκριτικά με τις ακτινοβολίες UVA και UVB (Kiefer, 2007¹²⁰). Η UVB συμμετέχει επίσης στο σχηματισμό διμερών πυριμιδίνης, αλλά σε μικρότερο βαθμό από την UVC (You et al., 2000¹²⁴, Friedberg, 2005¹¹⁰; Rastogi et al., 2010¹²⁵). Η UVA βλάπτει το DNA μέσω αντιδράσεων οξειδωσης και με διέγερση ενδογενών (φλαβινών και

πορφυρινών) και εξωγενών (μπλε του μεθυλενίου, ψωραλίνες, προμαζίνη και τετρακυκλίνη) φωτουποδοχέων(Kvam and Tyrrell, 1997¹²⁶, Douki et al., 1999¹²⁷). Οι κυριότεροι μηχανισμοί επιδιόρθωσης των βλαβών του DNA που έχει υποστεί αποτελούν η άμεση αναστροφή βάσεων (NER) και ο ομόλογος ανασυνδυασμός (HR), (Sancar, 1996¹²⁸, Friedberg, 2005¹¹⁰, Waters and Walker, 2006⁸⁹, Eppink et al., 2011¹²⁹).

2.2.γ Αλλαγή σχήματος και αύξηση λυσοσωμικού περιεχομένου σε κύτταρα που γηράσκουν

2.2.γ.1 Ρόλος λυσοσωμάτων:

Τα λυσοσώματα αποτελούν οργανίδια που περικλείονται από μεμβράνη και περιέχουν 60 περίπου ένζυμα (νευδρολάσες -λιπάσες, σακχαράσες, πρωτεάσες, νουκλεάσες, φωσφατάσες, καθεψίνες) ικανά να διασπώνμακρομόρια όπως πρωτεΐνες, νουκλεϊκά οξέα, υδατάνθρακες και λιπίδια. Η δράση τους σχετίζεται με την αποδόμηση και πέψη πυκνωτικών οργανιδίων, κακοδιπλωμένων πρωτεϊνών, ιών και βακτηρίων, ενδογενών ή εξωγενών. Επιπλέον, τα λυσοσώματα δρουν συνεργικά με τα φαγοσώματα, καθώς επίσης εμπλέκονται σε σηματοδοτικά μονοπάτια με το κυριότερα να αποτελούν τα μονοπάτια κυτταρικής σηματοδότησης σχετιζόμενα με διαύλους ασβεστίου. Η μεμβράνη των λυσοσωμάτων εμποδίζει την έξοδο των βλαπτικών ενζύμων τους, κάτι που θα οδηγούσε στην καταστροφή του κυττάρου καθώς τα ένζυμα τους χαρακτηρίζονται από όξινο pH. Η διατήρηση λοιπόν της μεμβράνης των λυσοσωμάτων είναι καίριας σημασίας για την ομοιόσταση του κυττάρου. Τα ένζυμα των λυσοσωμάτων παράγονται από πρωτεΐνες από το ενδοπλασματικό δίκτυο και έπειτα περικλείονται από κυστίδια του συστήματος Golgi. Τα λυσοσώματα σχηματίζονται μέσω σύντηξης κυστιδίων του συστήματος Golgi με τα ενδοσώματα. Τα ενδοσώματα είναι κυστίδια που σχηματίζονται από ενδοκυττάρωση. Εν συνεχεία τα ενδοσώματα συντίκονται με κυστίδια μεταφοράς από το σύστημα Golgi και τελικά σχηματίζονται τα λυσοσώματα.(Cooper, 2000¹³⁰).

2.2.γ.2 Ορισμός της δημιουργίας διαπερατότητας της λυσοσωμικής μεμβράνης:

Η διατήρηση της ακεραιότητας της μεμβράνης των λυσοσωμάτων είναι συνεπώς ζωτικής σημασίας για την κυτταρική ισοροπία και ομοιόσταση του κυττάρου. Διαφορετικές μορφές στρες μπορούν να τροποποιήσουν τη μεμβράνη τους κάνοντάς την πιο διαπερατή(Lysosomal Membrane Permeabilization - LMP), με αποτέλεσμα την εκροή των ενζύμων τους στο κυτταρόπλασμα που πυροδοτεί την έναρξη του κυτταρικού θανάτου από (Lysosomal-Dependent Cell Death – LDCCD). Η εκροή του όξινου περιεχομένου των λυσοσωμάτων έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία όξινου κυτταροπλάσματος που οδηγεί σε θραύση των κυτταρικών συστατικών και οδηγεί μη αναστρέψιμο θάνατο.

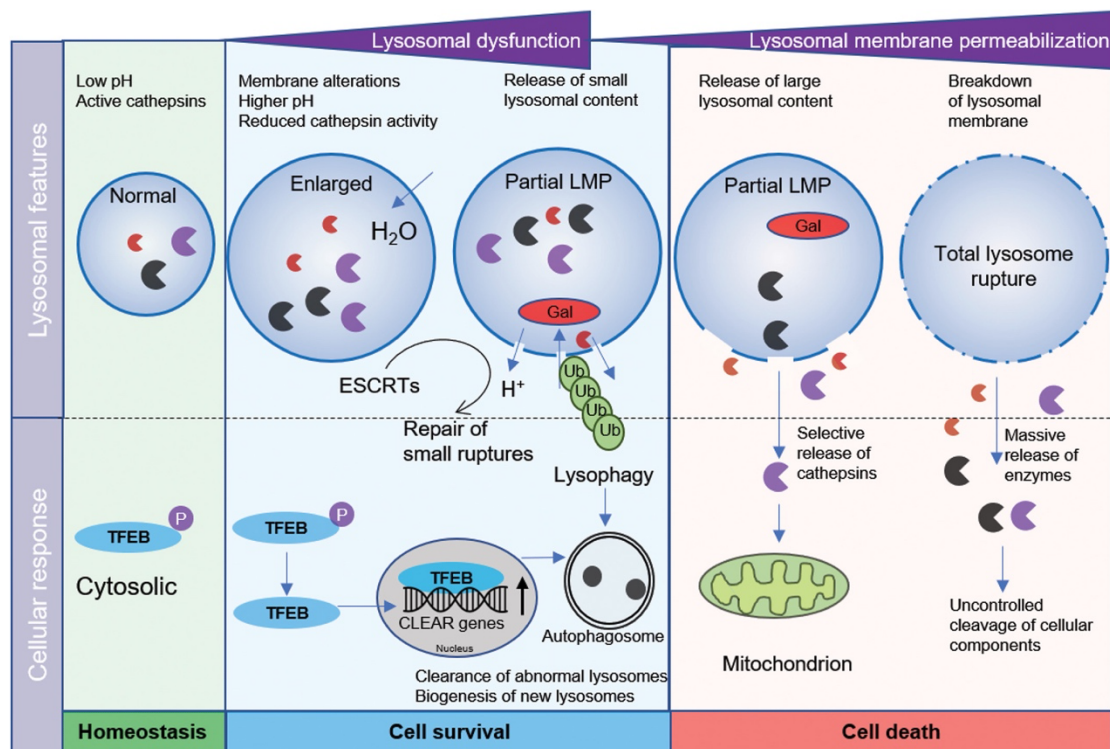
Χαρακτηριστικά τα ένζυμα καθεψίνες B και D εμπλέκονται σε μονοπάτια σηματοδότησης κυτταρικού θανάτου. Ωστόσο, η μερική και επιλεκτική απελευθέρωση καθεψινών, όπως οι καθεψίνες B και D σηματοδοτεί τον κυτταρικό θάνατο. Έχουν μάλιστα χρησιμοποιηθεί αναστολείς καθεψινών οι οποίοι φαίνεται ότι μπλοκάρουν το μονοπάτι της απόπτωσης του κυττάρου όταν η αιτία του κυτταρικού θανάτου σχετίζεται με τη διαφυγή λυσοσωμικού περιεχομένου. Πολλοί παράγοντες σχετίζονται με τη διατάραξη της διαπερατότητας της μεμβράνης με τους κυριότερους να είναι οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (ROS), τα προαποπτωτικά μέλη της οικογένειας Bcl-2(λ.χ. Bax) και διαταραχές ωσμωτικότητας (Wang et al., 2018¹³¹).

2.2.γ.3. Διόγκωση των λυσοσωμάτων προ της διαπερατότητας της λυσοσωμικής μεμβράνης:

Η σταθερότητα της μεμβράνης των λυσοσωμάτων οφείλεται στην περιεκτικότητα της σε πρωτεΐνες με υψηλά ποσοστά γλυκοζυλίωση, στη χοληστερόλη και στα σφιγγολιπίδια που την συνθέτουν. Η έκθεση των λυσοσωμάτων σε ένα βλαπτικό παράγοντα οδηγεί όπως αναφέρθηκε σε αποσταθεροποίηση της μεμβράνης οδηγώντας σε αυξημένη διαπερατότητα αυτής. Η αύξηση των επιπέδων χοληστερόλης προστατεύει τα λυσοσώματα έναντι της LMP. Εν αντιθέσει, η υδρόλυση της σφιγγομυελίνης οδηγεί σε αυξημένη διαπερατότητα μεμβράνης(LMP). Πρόσφατα δεδομένα

δείχνουν επίσης ότι η 3-φωσφορική φωσφατιδυλινοσιτόλη, ένα φωσφολιπίδιο που συντίθεται κυρίως από την κατηγορία III PI 3-κινάση, είναι σημαντική για τη σταθερότητα της λυσοσωμικής μεμβράνης. Επίσης, η πρωτεΐνη θερμικού σοκ 70 (Hsp70) φαίνεται ότι συνδεδεμένη με το ενδολυσοσωμικό λιπίδιο (δισ- μονοακυλο-γλυκερό- φωσφορικό (BMP) μπορεί να αποσταθεροποιήσει τη λυσοσωμική μεμβράνη μέσω της δράσης της όξινης σφιγγομυελινάσης (ASM), η οποία υδρολύει τη σφιγγομυελίνη.

Το περιεχόμενο των λυσοσωμάτων συσσωρεύεται μέσα σε όξινα διαμερίσματα προκαλώντας μεγέθυνση του λυσοσώματος. Πολλά από αυτά έχουν μια επίδραση «σφουγγαριού πρωτονίων» (“proton sponge”), κατά την οποία οι μη πρωτονιωμένες αμίνες του λυσοσωμικού περιεχομένου απορροφούν πρωτόνια καθώς συσσωρεύονται στο λυσοσώμα, με αποτέλεσμα την άντληση περισσότερων πρωτονίων στο λυσοσώμα και την αύξηση της εισροής ιόντων και νερού. Η δραστηριότητα των διευρυμένων λυσοσωμάτων είναι πιθανώς μειωμένη, με αποτέλεσμα τη συσσώρευση υποβαθμισμένων υλικών, όπως φαίνεται σε πολλές λυσοσωμικά σχετιζόμενες ασθένειες (LSD) και νευροεκφυλιστικές διαταραχές. (Henry et al. 2015¹³²), (Futerman et al., 2004.¹³³)



Εικόνα 1: Λυσοσωμικό στρες: επιδράσεις στα λυσοσώματα και αντίστοιχες κυτταρικές αποκρίσεις. Σε καταστάσεις κυτταρικής ομοιόστασης, το λυσοσωμικό TFEB φωσφορυλιώνεται και παραμένει στο κυτταρόλυμα. Μετά από λυσοσωμικό στρες, τα λυσοσώματα διογκώνονται και μπορούν να υποστούν LMP. Εάν το LMP είναι μερικό ή εάν επηρεάζεται μόνο ένα μικρό υποσύνολο λυσοσωμάτων, ξεκινούν μηχανισμοί ανίχνευσης στρες και απόκρισης, συμπεριλαμβανομένης της λυσοφαγίας και της ρύθμισης του TFEB, για να διασφαλιστεί η κυτταρική επιβίωση. Σε περιπτώσεις πιο σοβαρής LMP, οι μηχανισμοί απόκρισης στο στρες δεν είναι σε θέση να επιδιορθώσουν τα κατεστραμμένα λυσοσώματα. Ειδικές καθεψίνες απελευθερώνονται από τα διαπερατά λυσοσώματα, με αποτέλεσμα τη μιτοχονδριακή βλάβη και την απόπτωση. Στις πιο σοβαρές καταστάσεις, το λυσοσώμα σπάει με αποτέλεσμα μαζική απελευθέρωση λυσοσωμικών ενζύμων και ανεξέλεγκτο κυτταρικό θάνατο.

Προτάθηκε ότι η μεγένθυση του λυσοσώματος σχετίζεται άμεσα με το κυτταρική λιπίδωση που εμφανίζεται κατά την έκθεση σε κατιονικά αμφίφιλα φάρμακα (CADs), προάγοντας την περαιτέρω λυσοσωμική πρόσληψη αυτών των φαρμάκων. Διαπιστώθηκε ότι τα νευρικά βλαστικά κύτταρα έχουν όλο και μεγαλύτερα λυσοσώματα, τα οποία ενώνονται με αυτοφαγοσωμάτια για να σχηματίσουν αυτολυσοσώματα αλλά αποτυγχάνουν να υποβαθμίσουν το περιεχόμενό τους. Αυτό το φαινόμενο πιθανότατα σχετίζεται με την ενεργοποίηση του παράγοντα μεταγραφής EB (Transcription Factor EB – TFEB). Η λυσοσωμική διόγκωση έχει αποδειχθεί ότι προκαλεί ενεργοποίηση του TFEB ως αντισταθμιστικό μηχανισμό προς τη δημιουργία περισσότερων λυσοσωμάτων. Η υπερέκφραση TFEB σε επαγόμενα πολυδύναμα βλαστοκύτταρα από ασθενείς με νόσο Pompe προκαλεί κυτταρική κάθαρση διευρυμένων λυσοσωμάτων προάγοντας λυσοσωματική/αυτοφαγοσωμική εξωκυττάρωση. Είναι ασαφές εάν η λυσοσωμική διεύρυνση είναι απαραίτητη για να συμβεί η LMP. Οι Repnik et al έχουν προτείνει ότι η λυσοσωμική μεγέθυνση με παγίδευση πρωτονίων δεν επαρκεί για να προκαλέσει τη λύση της μεμβράνης, (Repnik et al., 2014¹³⁴), ενώ άλλοι συγγραφείς έχουν προτείνει ότι τα μεγάλα λυσοσώματα είναι πιο επιρρεπή σε LMP. Θα χρειαστεί περαιτέρω έρευνα για την καλύτερη κατανόηση των χαρακτηριστικών των διευρυμένων λυσοσωμάτων (π.χ. pH, σύνθεση λυσοσωμικής μεμβράνης, περιεχόμενο) και ο ρόλος τους, εάν υπάρχει, στην αυτοφαγία και την LMP. (Wang et al., 2018¹³¹)

2.2.δ. Είσοδος του γηράσκοντος κυττάρου σε φάση γήρανσης (senescence):

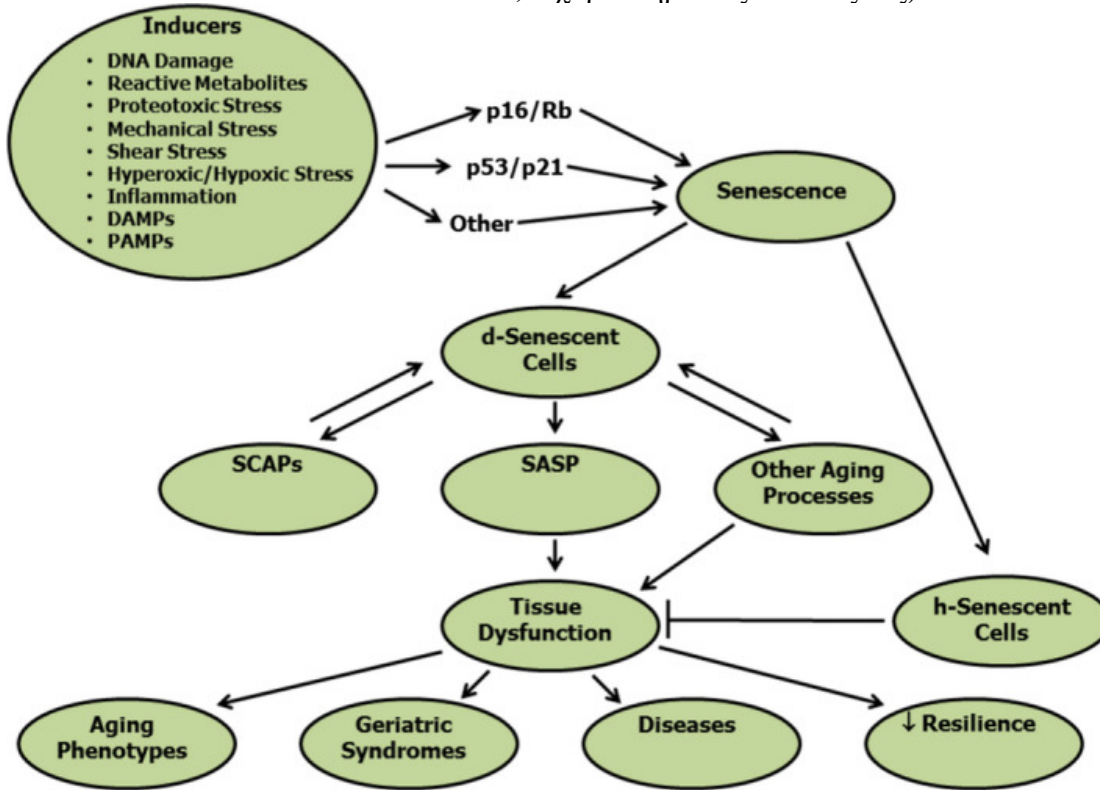
Όπως προαναφέρθηκε οι θεμελιώδεις διαδικασίες γήρανσης περιλαμβάνουν:

χρόνια «στεία» χαμηλού βαθμού (απουσία βακτηρίων, μυκήτων κ.λπ.) φλεγμονή συνοδευόμενη συχνά από ίνωση και τα εξής :

1. γήρανση των κυττάρων (Cellular Senescence)
2. δυσλειτουργία stem cells, των προγονικών (progenitor) και των ανοσοκυττάρων (συμπεριλαμβανομένης της μεταβαλλόμενης ικανότητας πολλαπλασιασμού και της διαφοροποίησης με την αποτυχία να εξελιχθούν σε λειτουργικά ώριμα κύτταρα, μείωση των «γηραιοπροστατευτικών» παραγόντων [π.χ. α - Klotho], συμβάλλοντας δυσλειτουργία των βλαστικών και προγονικών κυττάρων) και
3. Μακρομοριακή δυσλειτουργία (π.χ. βλάβη στο DNA, αποκοπή και βράχυνση τελομερών, λάθη στην αναδίπλωση και συσσωμάτωση πρωτεϊνών, μειωμένη αυτοφαγία, αυξημένα προϊόντα τελικής γλυκοζυλίωσης (Advanced Glycation End products -AGEs), λιποτοξικότητα και συσσώρευση βιοδραστικών λιπιδίων) και δυσλειτουργία των οργανιδίων (αλλοιωμένες πυρηνικές μεμβράνες που σχετίζονται με ανεπάρκεια της βλενίνης B, μιτοχονδριακή δυσλειτουργία που οδηγεί σε μειωμένο μεταβολισμό λιπαρών οξέων, υψηλότερη χρήση γλυκόζης, εξάντληση του NAD⁺ και αυξημένη αντιδραστικότητα
4. Η κυτταρική γήρανση, που αναφέρθηκε για πρώτη φορά το 1961 από τους Hayflick και Moorehead, είναι μια πορεία που σχετίζεται με μη αναστρέψιμη ανικανότητα αναδιπλασιαστική (replicative arrest), ενεργά κύτταρα με αντίσταση στην απόπτωση και συχνά, αυξημένη μεταβολική δραστηριότητα. (Kirkland et al 2017¹³⁵)

Τα ενδοκυτταρικά και εξωκυτταρικά σήματα που μπορούν να συμβάλουν στην είσοδο των κυττάρων στη φάση της γήρανσης περιλαμβάνουν κυρίως σήματα που σχετίζονται με ιστική ή κυτταρική βλάβη και/ή ανάπτυξη καρκίνου. Αυτές περιλαμβάνουν βλάβη DNA, αποκοπή τμημάτων των τλομερών, έκθεση σε εξωκυτταρικό DNA, ενεργοποίηση ογκογονιδίου, στρες ή αυξητικούς παράγοντες (όπως αυξητική ορμόνη/IGF -1), συσσωματώματα πρωτεϊνών, λανθασμένα διπλωμένες πρωτεΐνες, αποτυχημένη απομάκρυνση πρωτεΐνης μέσω μειωμένης αυτοφαγίας, παρουσία AGEs λόγω της αντίδρασης των αναγωγικών σακχάρων με αμινομάδες σε πρωτεΐνες (π.χ. γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη A1c είναι AGE), κορεσμένα λιπίδια και άλλα βιοδραστικά λιπίδια (βραδυκίνη, ορισμένες προσταγλανδίνες κ.λπ.), αντιδραστικοί μεταβολίτες (π.χ. ROS, υποξία ή υπεροξία), μηχανικό στρες (π.χ. τριβή μεταξύ των οστικών επιφανειών στην οστεοαρθρίτιδα γύρω), φλεγμονώδεις κυτοκίνες (π.χ. TNFα), μοριακά μοντέλα σχετιζόμενα με βλάβη (Damage Associated Molecular Patterns - DAMPs, π.χ. απελευθέρωση ενδοκυτταρικών περιεχομένων που σηματοδοτούν

θραύση γειτονικών κυττάρων) και μοριακά μοτίβα που σχετίζονται με παθογόνα (Pathogen-Associated Molecular Patterns - PAMPs, π.χ. βακτηριακές ενδοτοξίνες).



Εικόνα 2: Κυτταρική γήρανση: αιτιολογία, μηχανισμοί και αποτέλεσμα. Ένας αριθμός παραγόντων μπορεί να συνδυαστεί για να προκαλέσει την είσοδο του κυττάρου στη φάση της γήρανσης, σε αντίθεση με την απόπτωση ή τη νέκρωση, μέσω ενεργοποίησης μεταγραφικών παραγόντων με τους κυριότερους να είναι οι : p16INK4a, Rb, p53, p21CIP1 ή άλλους. Παρ' όλα αυτά δεν παρουσιάζουν όλα τα γηρασμένα κύτταρα αυξημένο p16INK4a, Rb, p53 ή p21CIP1. Για να γίνει ένα κύτταρο ανίκανο πολλαπλασιασμό και να οριστεί ως γηρασμένο μπορεί να χρειαστούν έως και 6 εβδομάδες. Αυτό υποδεικνύει ότι τα γηρασμένα κύτταρα μπορούν να αφαιρεθούν κατά διαστήματα, αντί να χρειάζεται συνεχής θεραπεία με παράγοντες για την απομάκρυνση αυτών των κυττάρων. Ορισμένα, αλλά όχι όλα τα γηρασμένα κύτταρα μπορούν να αναπτύξουν εκκριτικό φαινότυπο που σχετίζεται με τη γήρανση (Senescence-Associated Secretory Phenotype - SASP) . Ο SASP είναι βασικός παράγοντας που επηρεάζει τη δυσλειτουργία βλαστοκυττάρων, προγονικών κυττάρων και οστών προκαλώντας διαταραχές, οι οποίες ευθύνονται για το μεγαλύτερο μέρος της νοσηρότητας και της θνησιμότητας. (Kirkland et al 2020¹³⁶)

Αυτοί οι επαγωγείς ενεργοποιούν έναν ή περισσότερους παράγοντες μεταγραφής που προωθούν τη γήρανση, σε ορισμένες περιπτώσεις περιλαμβάνουν την πρωτεΐνη του ρετινοβλαστώματος p16INK4a R (Rb), σε άλλες, p53 και p21CIP1, αμφότερες από αυτές τις οδούς ή άλλες οδούς. Η ενεργοποίηση των μεταγραφικών παραγόντων επιβάλλει αναστολή αναδιαπλασιασμού (replicative arrest) και προκαλεί επιγενετικές αλλαγές στο DNA και αλλοιωμένη έκφραση εκατοντάδων γονιδίων. Η κυτταρική γήρανση χρειάζεται περισσότερο χρόνο για να εδραιωθεί από άλλες κυτταρικές διαδικασίες, όπως η αντιγραφή, η απόπτωση ή η νέκρωση. Από την έναρξη της μέχρι το τελικό στάδιο γήρανσης μεσολαβεί διάστημα 10 ημερών με 6 εβδομάδων τουλάχιστον σε κυτταρική καλλιέργεια, ανάλογα με τον τύπο του κυττάρου και τους παράγοντες που οδηγούν το κύτταρο στη γήρανση.

Ορισμένα, αλλά όχι όλα τα κύτταρα που γηράσκουν διαθέτουν έναν εκκριτικό φαινότυπο που σχετίζεται με τη γήρανση (Senescence-Associated Secretory Phenotype - SASP) και τα συγκεκριμένα κύτταρα μπορούμε να τα χαρακτηρίσουμε επιβλαβή γηρασμένα κύτταρα (Deleterious Senescence cells – D-senescence cells). Ο φαινότυπος SASP σχετίζεται με την παρουσία παραγόντων που είναι οι εξής:

- 1) χημειοκίνες που προσελκύουν, ενεργοποιούν και αγκυρώνουν τα ανοσοποιητικά κύτταρα
- 2) φλεγμονώδεις, προ-αποπτωτικές, κυτοκίνες που προκαλούν αντίσταση στην ινσουλίνη, όπως TNF α , ιντερλευκίνη IL-6, IL-8
- 3) μέλη της οικογένειας TGF β που μπορούν να συμβάλουν στην ίνωση και τη δυσλειτουργία των βλαστικών και των προγονικών κυττάρων/μέλη της οικογένειας TGF β που μπορούν να συμβάλουν στην ίνωση και τη δυσλειτουργία των βλαστικών και των προγονικών κυττάρων,
- 4) ακτιβίνες και ινχιμπίνες που επίσης προκαλούν δυσλειτουργία των βλαστικών και των προγονικών κυττάρων
- 5) αυξητικούς παράγοντες που μπορούν να επιδεινώσουν την εξάπλωση του όγκου
- 6) παράγοντες όπως οι σερίπινες (π.χ. αναστολέας ενεργοποιητή πλασμινογόνου (PAI-1 και -2) που μπορούν να προκαλέσουν πήξη του αίματος και ίνωση (Jiang et al. 2017¹³⁷.)
- 7) λιπίδια που σχετίζονται με η φλεγμονή και τη δυσλειτουργία των ιστών (π.χ. βραδυκίνη, κεραμίδια ή προσταγλανδίνες),
- 8) μικρο-RNA (miRNA) σχετιζόμενα με δυσλειτουργία των βλαστικών και προγονικών κυττάρων, φλεγμονή και αντίσταση στην ινσουλίνη
- 9) εξωσώματα που μπορούν να μεταφέρουν κυτταροτοξικά τοπικά και συστηματικά. Τα κύτταρα γήρανσης D μπορούν να αποτελούν το 30 έως 70 % του πληθυσμού των γηρασμένων κυττάρων. Η αντίδραση των κυττάρων που γηράσκουν και χαρακτηρίζονται από το φαινότυπο SASP εξαρτάται από τον τύπο κυττάρου και την αιτία γήρανσης (π.χ. μηχανική καταπόνηση, επαναλαμβανόμενη αντιγραφή, ακτινοβολία, χημειοθεραπεία, PAMPs). (Kirkland et al., 2020¹³⁶)

Άλλα κύτταρα που βρίσκονται σε διαδικασία γήρανσης ονομάζονται βοηθητικά (helper-senescent cells - H-senescent cells), δεν φαίνεται να απελευθερώνουν φλεγμονώδεις και προ-αποπτωτικούς παράγοντες, αλλά εμπλέκονται στον προσδιορισμό λειτουργίας των βλαστικών και προγονικών κυττάρων. Τα κύτταρα γήρανσης H αποτελούν περί το 30 έως 70% των γηρασμένων κυττάρων. Ο μετασχηματισμός των κυττάρων γήρανσης D και H θα ήταν κάτι χρήσιμο και πολλές μελέτες επικεντρώνονται σε αυτό..

Τα κύτταρα γήρανσης D και H διαθέτουν δύο ευεργετικές λειτουργίες, όπως ανάπλαση των ιστών, η απελευθέρωση παραγόντων από τα γηρασμένα κύτταρα του πλακούντα κατά τον τοκετό που προάγουν τη διέλευση του βρέφους από τη γεννητική οδό, απομάκρυνση του ιστού που έχει υποστεί τραύμα και αμυντική λειτουργία σε κακοήθεις εξεργασίες. (Campisi et al 2013¹³⁸).

Η κυτταρική γήρανση αποτελεί μηχανισμό προστασίας από τον καρκίνο: κατά τη διάρκεια της γήρανσης συμβαίνουν μεταλλάξεις στο γενετικό υλικό όχι απαραίτητα ζημιογόνες για τον οργανισμό, όμως στο πέρας του χρόνου υπάρχει πιθανότητα κάποια μετάλλαξη να σχετιστεί με καρκινογένεση. Τα κύτταρα που διαθέτουν φαινότυπο SASP απομακρύνουν τα γειτονικά καρκινικά κύτταρα μειώνοντας έτσι την περικυτταρική φλεγμονή. Επιπλέον, η παρέμβαση των εν λόγω κυττάρων σε μηχανισμούς που εμπλέκονται στη γήρανση μειώνει σημαντικά την έκφραση των p16INK4a, Rb, p53 ή p21CIP1 τα οποία σχετίζονται με την ανάπτυξη καρκίνου. Ωστόσο, η απομάκρυνση των γηρασμένων κυττάρων, πολλά από τα οποία εμφανίζουν μεταλλάξεις ή προκαλούν φλεγμονή που προάγει τον καρκίνο λόγω του SASP τους, αποτρέπει ή καθυστερεί την ανάπτυξη καρκίνου. Πράγματι, τα γηραιολυτικά φάρμακα, παράγοντες που εκλεκτικά εξαλείφουν τα γηρασμένα κύτταρα, καθυστερούν την ανάπτυξη πολλαπλών μορφών καρκίνου σε ηλικιωμένα ποντίκια καθώς και ποντίκια Erc1-/Δ με αδυναμία στους μηχανισμούς επιδιόρθωσης του DNA. Επιπλέον, αν και η γήρανση αποτελεί εν μέρει προστατευτικό μηχανισμό για την ανάπτυξη καρκίνου, η καταστολή της ανοσολογικής απόκρισης, των αυξητικών παραγόντων του SASP, η παραγωγή πρωτεασών που μπορούν να παρεμποδίσουν την ενσωμάτωση όγκων ενισχύουν την καρκινογένεση. Έτσι, βασικοί θεραπευτικοί στόχοι είναι οι μεταγραφικοί παράγοντες που προάγουν τη γήρανση και

φάρμακα που απομακρύνουν τα γηρασμένα κύτταρα ή καθυστερούν τη γήρανση. (Kirkland et al., 2020¹³⁶)

2.2.ε. Δείκτες εντοπισμού γηρασμένων κυττάρων:

Δεν υπάρχουν πλήρως ειδικοί δείκτες για την ανίχνευση των γηρασμένων κυττάρων. Τα κύτταρα που γηράσκουν εμφανίζουν πολλαπλές εστίες βλάβης DNA αναγνωρίσιμες μέσω χρώσης G . Συγκεκριμένα στα τελομερή των γηρασμένων κυττάρων εντοπίζονται συχνά 2 ή περισσότερες εστίες ιστόνης H2AX (εστίες που σχετίζονται με τα τελομερή (TAFs)). Ένας ακόμη δείκτης χαρακτηριστικός στη γήρανση αποτελεί η παρουσία ακροκεντρομερικού δορυφόρου DNA σχετιζόμενο με τη γήρανση (SADS), το οποίο μπορεί να ανιχνευθεί με αντισώματα έναντι του της αντικεντρομεριδιακής πρωτεΐνης CENP - B. Τα γηρασμένα κύτταρα μπορούν επίσης να έχουν αυξημένη δραστηριότητα λυσοσωμικής β -γαλακτοσιδάσης . Ένας ακόμη δείκτης με χαμηλή ειδικότητα αποτελεί ο p16INK4a γιατί παρά την ύπαρξη του τα γηρασμένα κύτταρα μπορεί να εκφραστεί και σε ενεργοποιημένα μακροφάγα (Hsu et al., 2019¹³⁹).

Ένα υποσύνολο γηρασμένων κυττάρων μπορεί να εκφράσει παράγοντες SASP ή σήματα βλάβης, όπως ο κυτταρολυτικός παράγοντας HMGB1, αλλά και πάλι, αυτοί οι δείκτες δεν είναι πλήρως ευαίσθητοι.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΙΣΜΕΝΟΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΘΑΝΑΤΟΣ (ΑΠΟΠΤΩΣΗ)

Η κυτταρική απόπτωση ως φαινόμενο αναφέρθηκε για πρώτη φορά το 1920. Η κυτταρική απόπτωση αφορά τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο που αποτελεί ένα είδος προστασίας για έναν οργανισμό ο οποίος εκτίθεται σε ένα βλαπτικό ερέθισμα, όπως στην περίπτωση τραύματος, κακοήθους εξεργασίας και ιστικής αναδιαμόρφωσης (Calcinotto et al, 2019¹⁴⁰). Η απόπτωση διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ομοιοστασία ενός οργανισμού (Hassan et al, 2014¹⁴¹). Οι παράγοντες που μπορούν να οδηγήσουν στην απόπτωση σχετίζονται με την καταστροφή του γενετικού υλικού, τον ανεξέλεγκτο κυτταρικό πολλαπλασιασμό, ασθένειες όπως το Parkinson, το Alzheimer, το στρες, οι τοξίνες , η Νωτιαία Μυϊκή Δυστροφία (Lopez and Tait, 2015¹⁴²) . Άλλοι παράγοντες που ενεργοποιούν το μονοπάτι της απόπτωσης αποτελούν η ακτινοβολία του κυττάρου, η έκθεση σε γλυκοκορτικοειδή, η απομάκρυνση αυξητικών παραγόντων. Όπως αναφέρθηκε ανωτέρω η απόπτωση ως κυτταρική διαδικασία διαφέρει από την κυτταρική γήρανση και μάλιστα τα γηρασμένα κύτταρα προβάλλουν αντίσταση σε αυτή.

Σε ό,τι αφορά την απόπτωση τα κύτταρα που οδηγούνται σε προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο χαρακτηρίζονται από κατακερματισμό του πυρήνα με πυκνωτικό κυτταρόπλασμα και περιοχές με σημαντική συρρίκνωση χρωματίνης. Εν συνεχεία επέρχεται ρίξη του πυρήνα(καρυόρηξη) , ακολουθούμενη από κυτταρικά θραύσματα.Τα εν λόγω θραύσματα αναγνωρίζονται και εκκολώνονται από τα φαγοκύτταρα . Χαρακτηριστικό δείκτη απόπτωσης και αναγνώρισης από τα φαγοκύτταρα αποτελεί η φωσφατιδυλοσερίνη που βρίσκεται στην κυτταρική επιφάνεια των κυττάρων που αποπίπτουν. Στα φυσιολογικά κύτταρα η φωσφατιδυλοσερίνη περιορίζεται στην εσωτερική στιβάδα της κυτταροπλασματικής μεμβράνης (Savill and Fadok, 2000¹⁴³, Kurosaka et al., 2003¹⁴⁴). Η απόπτωση αποτελεί όπως προαναφέρθηκε μία διαδικασία διατήρησης της ισορροπίας του οργανισμού σε αντίθεση με τη νέκρωση η οποία αποτελεί τραυματική εκδοχή του κυτταρικού θανάτου. Μορφολογικά μάλιστα τα κύτταρα τα οποία νεκρώνονται μοιάζουν κατακερματισμένα παρά συμπυκνωμένα όπως στην απόπτωση. (Xuebo Xu et al, 2019)¹⁴⁵.

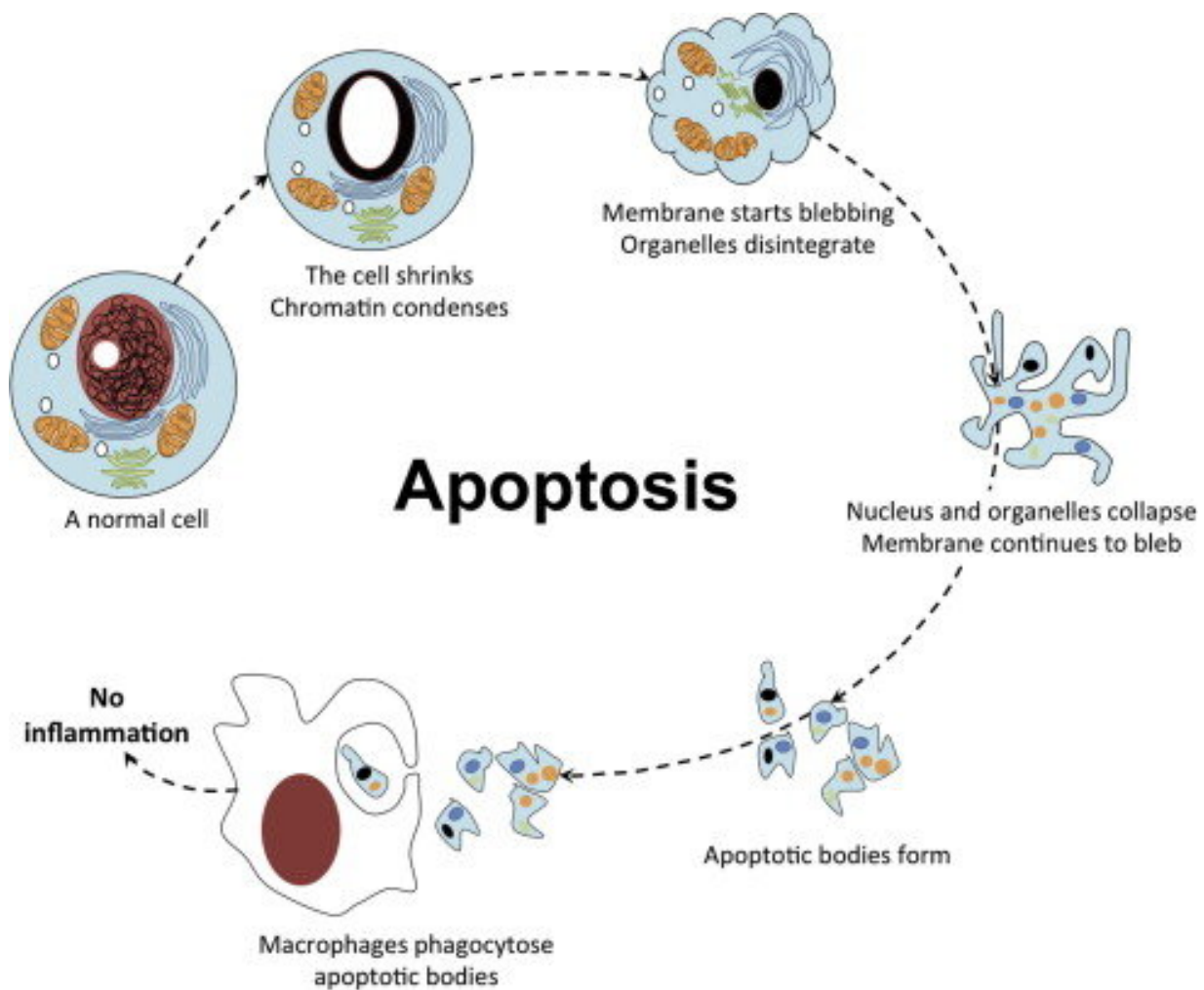
Τα κύτταρα τα οποία αποπίπτουν χαρακτηρίζονται από πύκνωση και συρρίκνωση με σύνοδο χαρακτηριστική κατάτμηση του γενετικού τους υλικού, συμπύκνωση της χρωματίνης και συμπίεση του κυτταροπλάσματος. Η πλήξη της μεμβράνης ακολουθείται από τη θραύση του πυρήνα (καρυόρηξη) των κυττάρων . Αυτό εν συνεχεία προκαλεί το διαχωρισμό των κυττάρων από τους περιβάλλοντες ιστούς και την τμήση τους σε θραύσματα που γίνονται συμπαγή. Τέλος, η απελευθέρωση δεικτών κυτταρικής επιφάνειας (φωσφατιδυλοσερίνη) από την κυτταρική μεμβράνη ενισχύει τα μακροφάγα προς φαγοκυττάρωση αυτών με σκοπό την πρόληψη δευτερογενούς νέκρωσης. (Savill and Fadok, 2000¹⁴³, Kurosaka et al., 2003¹⁴⁴).

Τη φαγοκυττάρωση ακολουθεί η ενεργοποίηση των κασπάσών οι οποίες εμπλέκονται στη διαδικασία της απόπτωσης . Οι κασπάσεις είναι 18 και μπορούν να ταξινομηθούν σε αποπτωτικές κασπάσες εκκινήτες (2, 8, 9, 10), εκτελεστές (3, 6, 7) και φλεγμονώδεις κασπάσες (1,4,5) (Rai et al., 2005¹⁴⁶). Επιπλέον κασπάσες που εμπλέκονται στο αποπτωτικό μονοπάτι αποτελούν οι 11, 12, 13, 14 . Χαρακτηριστικά οι κασπάσες 11 και 12 εμπλέκονται στο θάνατο προκαλούμενο από σηψαιμία, η κασπάση 13 ενεργοποιεί την κασπάση 8 και τέλος η κασπάση 14 σχετίζεται με την επιδερμική νέκρωση και το θάνατο αυτής (Nakagaw et al.,2000¹⁴⁷,Kang et al.,2003¹⁴⁸,Fink and Cookson, 2005¹⁴⁹).

Τα μονοπάτια που ακολουθεί η διαδικασία της απόπτωσης διακρίνονται σε εσωτερικά (μιτοχονδριακό μονοπάτι, μονοπάτι Ενδοπλασματικού Δικτύου) και εξωτερικά.

Το πρώτο μονοπάτι αφορά μία σειρά ενδοκυττάρων γεγονότων εντός των μιτοχονδρίων που σχετίζονται με την επίδραση παραγόντων όπως ορμόνες, αυξητικοί παράγοντες, ακτινοβολία, τοξίνες, υποξία, ιογενείς λοιμώξεις και υπερθερμίας που οδηγούν σε αύξηση της μεμβρανικής διαπερατότητας των μιτοχονδρίων.Στη συνέχεια ακολουθεί η απελευθέρωση προ-αποπτωτικών πρωτεϊνών στο κυτταρόπλασμα (Xu et al., 2015¹⁵⁰).

Ο δεύτερος μηχανισμός αφορά το μιτοχονδριακό ενεργοποιητή των κασπάσεων/πρωτεΐνη άμεσης δέσμησης (IAP) ο οποίος εμποδίζει την αποπτωτική ανασταλτική επίδραση του αναστολέα της απόπτωσης (IAP) που οδηγεί προς την απόπτωση. Όλοι αυτοί οι παράγοντες ελέγχονται και ρυθμίζονται από μια κατηγορία πρωτεϊνών που ανήκει στην οικογένεια BCL-2. Αυτές οι πρωτεΐνες μπορούν να κατηγοριοποιηθούν είτε σε προ-αποπτωτικές πρωτεΐνες (Bak, Bcl-10, Bax, Bad, Bid, Bim, Bik, Hrk) και απελευθερώνουν το κυτόχρωμα C ή αντι- αποπτωτικές (Bcl-2, Bcl-x, Bcl-w, Bf-1, Bcl-XL, B-XS, Bcl-w, BAG) που εμποδίζουν την απελευθέρωση του κυτοχρώματος C, μείζονος σημασίας για την έναρξη και ολοκλήρωση της απόπτωσης. (Lomonosova and Chinnadurai, 2008¹⁵¹, Elmore, 2007¹⁵², Schuler and Green, 2001¹⁵³).



Εικόνα 3: Κυτταρικός μηχανισμός της απόπτωσης. Τα στάδια της απόπτωσης περιλαμβάνουν τη συρρίκνωση των κυττάρων και τη συμπύκνωση της χρωματίνης. Τα οργανίδια, τα πυρηνικά θραύσματα σχηματίζουν αποπτωτικά σωμάτια τα οποία τελικά οδηγούνται σε ενδοκυττάρωση/φαγοκυττάρωση. Η απουσία απελευθέρωσης κυτταρικών συστατικών στο εξωκυττάριο υγρό έχει ως αποτέλεσμα την απουσία φλεγμονής. (Abou-Ghali et al 2015¹⁵⁴)

Το ενδοπλασματικό δίκτυο χαρακτηρίζεται από ενδοκυτταρικά οργανίδια που συμμετέχουν στην παραγωγή, τροποποίηση και διασφάλιση της αναδίπλωσης και μετατόπισης των πρωτεϊνών. Ένα στρεσογόνο συμβάν μπορεί να επηρεάσει το σχηματισμό της τεταρτοταγούς δομής της πρωτεΐνης γεγονός που πυροδοτεί την απόκριση προς ανασχηματισμό (UPR) αυτής και διατήρησης της της ομοιόστασης της. Η αποτυχία του μηχανισμού UPR κανονικά έχει ως αποτέλεσμα την πρόκληση απόπτωσης είτε μέσω της εσωτερικής είτε της εξωτερικής οδού. (Ma and Hendershot, 2004¹⁵⁵).

Τέλος, στο εξωγενές μονοπάτι περιλαμβάνεται η αλληλεπίδραση μεταξύ συνδεδετών και υποδοχέων θανάτου. Οι εν λόγω υποδοχείς ανήκουν στην οικογένεια των παραγόντων νέκρωσης όγκου (TNF), στους οποίους συγκαταλέγονται ο παράγοντας tnf, οι δεσμοί Fas (Fas-I) και ο παράγοντας TNF σχετιζόμενος με την απόπτωση (TRAIL) (Goldar et al., 2015¹⁵⁶, Liu et al., 2017¹³⁷, Shlyakhtina et al., 2017¹⁵⁷).

Οι υποδοχείς απόπτωσης (υποδοχείς Fas, υποδοχείς TNF) συνδεόνται με τους αντίστοιχους προσδέτες Fas και TNF προάγοντας έτσι την έναρξη της απόπτωσης. Η παραπάνω σύνδεση έχει ως αποτέλεσμα τη σύνδεση μιας κασπάσης εκκίνησης 8 ή 10 η οποία σχηματίζει ένα σύμπλεγμα που ονομάζεται σύμπλεγμα σηματοδότησης που προκαλεί θάνατο (DISC). Επιπλέον, η δέσμευση και η ενεργοποίηση επιτρέπουν στην κασπάση 8 να μεταδώσει το σήμα θανάτου σε μια κασπάση εκτέλεσης. Ο τερματισμός αυτής της διαδικασίας αναλαμβάνεται από μια άλλη πρωτεΐνη γνωστή ως c-FLIP η οποία είναι ικανή να δεσμεύεται με πρωτεΐνες θανάτου/προσαρμογέα, σταματώντας έτσι τη δράση της κασπάσης. (Wajant, 2002¹⁵⁸).

Οι διαδικασίες της απόπτωσης και της κυτταρικής γήρανσης προέκυψαν νωρίς στην εξέλιξη, πιθανότατα να εξαλείψουν ελαττωματικά ή κατεστραμμένα κύτταρα από τη βλαστική σειρά και τα έμβρυα. Και οι δύο διεργασίες (αλλά ιδιαίτερα η απόπτωση) έχει αποδειχθεί ότι συμβαίνουν σε μεγάλο βαθμό μεταμιτωτικούς οργανισμούς (όπως *Caenorhabditis elegans* και *Drosophila melanogaster*), οι οποίοι δεν αναπτύσσουν καρκίνο ως ενήλικες (Ellis et al., 1991¹⁵⁹, Margolis and Spradling, 1995¹⁶⁰, Vaux και Korsmeyer, 1999¹⁶¹, Meier et al., 2000¹⁶²). Καθώς όμως εξελίσσονταν πολύπλοκοι οργανισμοί με ανανεώσιμους ιστούς, το ίδιο εξελίχτηκε και το πρόβλημα καρκίνος – ο ανεξέλεγκτος πολλαπλασιασμός των κυττάρων που διατηρούν την ικανότητα να διαιρούνται και η μετάλλαξή τους προς ολοένα και πιο κακοήθεις φαινοτύπους. Η απόπτωση και η κυτταρική γήρανση φαίνεται να έχουν αναλάβει τουλάχιστον μια επιπλέον λειτουργία κατά την εξέλιξη σύνθετων οργανισμών: αυτή της καταστολής της ανάπτυξης καρκίνου (Sager, 1991¹⁶³, Reed, 1999¹⁶⁴, Campisi, 2001¹⁶⁵, Hakem and Mak, 2001¹⁶⁶). Υπάρχουν ισχυρά στοιχεία που υποστηρίζουν την ιδέα ότι η απόπτωση και η κυτταρική γήρανση είναι σημαντικοί μηχανισμοί για την καταστολή της ογκογένεσης στα θηλαστικά. Ωστόσο, και οι δύο διεργασίες μπορεί επίσης να συμβάλλουν στη γήρανση των θηλαστικών και σε ορισμένες παθολογίες όψιμης ζωής. Υπάρχουν ελλιπή αλλά αυξανόμενα στοιχεία που υποστηρίζουν αυτήν την ιδέα. Εάν είναι σωστό, θα υποδηλώνει περαιτέρω ότι η απόπτωση και η κυτταρική γήρανση μπορεί να έχουν ανταγωνιστικές πλειοτροπικές δράσεις. Σαφώς, χρειάζεται πολύ περισσότερη δουλειά για να κατανοήσουμε εάν και πώς οι κατασταλτικές ογκοκατασταλτικές δραστηριότητες της απόπτωσης και της κυτταρικής γήρανσης εξισορροπούνται έναντι των φαινοτύπων της γήρανσης. Ωστόσο, η βαθύτερη κατανόηση αυτών των σχέσεων θα είναι απαραίτητη εάν θέλουμε να αναπτύξουμε ορθολογικές στρατηγικές για την παρέμβαση στις διαδικασίες γήρανσης.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. ΓΗΡΑΙΟΛΥΤΙΚΑ (SENOLYTICS)

4.1. Δράση γηραιολυτικών φαρμάκων (senolytics) μέσω των αντιαποπτωτικών μηχανισμών των γηρασκόντων κυττάρων (Senescent Cells Antiapoptotic Pathways - SCAPs).

Διαρκώς αυξάνονται τα στοιχεία που δείχνουν ότι οι περισσότερες χρόνιες ασθένειες χαρακτηρίζονται από κοινούς μηχανισμούς γήρανσης. Αυτή η διαπίστωση δημιούργησε ερωτήματα για το αν η επιβράδυνση και η τροποποίηση των μονοπατιών που ακολουθούν τα κύτταρα όταν γηράσκουν θα αποτελούσε τη θεραπεία για ηλικιοεξαρτώμενες παθήσεις, όπως οι καρδιαγγειακές παθήσεις, ο διαβήτης τύπου II, ο καρκίνος και νευροεκφυλιστικές διαταραχές (Miller 2002¹⁶⁷). Πολλά μοριακά μονοπάτια που συμβάλλουν στη γήρανση έχουν ταυτοποιηθεί συλλογικά και ονομάζονται «Δείκτες της γήρανσης» (Lopez-Otin et al 2013¹⁶⁸). Πρόσφατα, τα εν λόγω μονοπάτια έχουν ταξινομηθεί σε 4 κύριες κατηγορίες : 1) χρόνια, χαμηλής ενεργότητας στείρα φλεγμονή και ίνωση, 2) οργανική δυσλειτουργία, 3) δυσλειτουργία βλαστικών και προγονικών κυττάρων και 4) κυτταρική γήρανση (Palmer et al 2019¹⁶⁹).

Η βέλτιστη χρήση των γηραιολυτικών θα ήταν να στοχεύουν επιβλαβή γηράσκοντα κύτταρα, χωρίς η χρήση τους να είναι επιζήμια για τα υπόλοιπα κύτταρα. (Gerdes et al, 2020¹⁷⁰)

Η δημιουργία τέτοιων γηραιολυτικών ωστόσο αποτελεί ένα δύσκολο στόχο καθώς πρέπει να υπερνικηθούν παράγοντες που αποτελούν εμπόδια. Χαρακτηριστικά, κατά το πλείστον οι περισσότερες γνώσεις μας για τα SnCs προέρχονται από *in vitro* μελέτες χρησιμοποιώντας SnCs που προκαλούνται από ακτινοβολία ή θεραπεία με φάρμακα που βλάπτουν το DNA, και παρόλο που

δείξαμε ότι αυτά *in vitro* -Τα παραγόμενα SnCs αντιγράφουν ορισμένες από τις βασικές αλλοιωμένες οδούς στα φυσικά απαντώμενα SnCs, ενδέχεται να μην αντικατοπτρίζουν ακριβώς αυτό που συμβαίνει *in vivo* (Wang et al, 2020¹⁷¹). 2) Το ποσοστό των SnCs σε διάφορους ιστούς *in vivo* είναι σχετικά μικρό (0,5–20%). 3) Δεν υπάρχουν ευαίσθητοι, συγκεκριμένοι ή τυπικοί βιοδείκτες για την αναγνώριση SnCs και οι πιο τακτικά χρησιμοποιούμενοι δείκτες όπως η βήτα-γαλακτοσιδάση που σχετίζεται με τη γήρανση, η p16 και η p21 δεν βρίσκονται σε όλα τα SnC και μπορούν επίσης να βρεθούν σε μη SnCs (p16 εκφράζεται σε πολλούς τερματικά διαφοροποιημένους τύπους κυττάρων). 4) Τα SnC μπορεί να είναι τόσο ετερογενή όσο και οι κυτταρικοί τύποι από τους οποίους προέρχονται, και επομένως μπορεί να απαιτούν στόχευση όσον αφορά την αντιστοίχιση συγκεκριμένων συνδυασμών φαρμάκων με τον κυτταρικό τύπο.

Η χορήγηση γηραιολυτικών φαρμάκων είναι χρήσιμο να γίνεται διακοπτόμενα. Η διακοπτόμενη χρήση τους σχετίζεται με την εμφάνιση λιγότερων ανεπιθύμητων παρενεργειών. Αυτή η προτεινόμενη φύση της σενολυτικής θεραπείας «χτυπήστε και τρέξτε» μειώνει την πιθανότητα ανεπιθύμητων ενεργειών εκτός στόχου που εμπλέκονται στην παραδοσιακή συνεχή χορήγηση ενός φαρμάκου (Hickson et al. 2019¹⁷²). Τα κατεστραμμένα κύτταρα χρειάζονται 2-6 εβδομάδες για να γεράσουν και για την πρόκληση βλάβης πρέπει να ξεπεραστεί μία ουδός έτσι να προκληθεί βλάβη, ένα ορισμένο όριο SnCs πρέπει να επιτευχθεί στο σώμα για να προκαλέσουν βλάβη. Έτσι, τα *senolytics*, σχεδιασμένα για να σκοτώνουν ένα μεγάλο μέρος των SnCs σε λίγες δόσεις, χρειάζεται να επαναλαμβάνονται μόνο όταν έχουν επιστρέψει αρκετά SnC. Ο ρυθμός επανασυσσώρευσης των SnCs αναμένεται να ποικίλλει μεταξύ διαφορετικών ατόμων, και επομένως είναι επιθυμητοί ευαίσθητοι και αξιόπιστοι βιοδείκτες για SnCs για τη μέτρηση του φορτίου SnC σε άτομα, επιτρέποντας πιο προσαρμοσμένη σενολυτική θεραπεία (ιατρική ακριβείας) (Justice et al. 2018¹⁷³). Έχοντας υπόψη όλες αυτές τις σκέψεις, θα εξετάσουμε τις περισσότερες μεγάλες κατηγορίες σενολυτικών φαρμάκων που έχουν αναπτυχθεί μέχρι σήμερα.

Τα γηραιολυτικά φάρμακα αποτελούν μια κατηγορία φαρμάκων που στοχεύουν επιλεκτικά τα γηρασμένα κύτταρα (SC). Τα πρώτα γηραιολυτικά φάρμακα που ανακαλύφθηκαν ήταν η Δαζατινίμη (Dasatinib), η Κουερσετίνη (Quercetin) και το Navitoclax, τα οποία και θα αναλύσουμε εν συνεχεία. Νεότερα γηραιολυτικά αποτελούν η Φισετίνη, η Τανεσπιμυσίνη, ο αναστολέας FOX4.

Η Δαζατινίμη αποτελεί τον τρίτο και τελευταίο αναστολέα τυροσινικής κινάσης που εγκρίθηκε από τον FDA, μετά τη Νιλοτινίμη και την Ιματινίμη για θεραπεία πρώτης γραμμής στη Χρόνια Μυελογενή Λευχαιμία (ΧΜΛ). Η δράση του σχετίζεται με αναστολή της χημειοκινικής πρωτεΐνης bcr-abl1, PDGFR και c-Kit και είναι ισχυρότερο δραστικά 16 φορές την Νιλοτινίμη και 325 φορές από την Ιματινίμη έναντι της ογκοπρωτεΐνης BCR-ABL135 (Shah et al. 2004¹⁷⁴). Η Δαζατινίμη εγκρίθηκε ως θεραπεία πρώτης γραμμής για τη ΧΜΛ έπειτα από τυχαίοποιημένη έρευνα (Kantarjian et al. 2010¹⁷⁵). Στην εν λόγω μελέτη 519 νεοδιαγνωσθέντες ασθενείς με ΧΜΛ τέθηκαν τυχαίοποιημένα υπό αγωγή 100 mg Δαζατινίμης ημερησίως ή 400 mg ημερησίως Ιματινίμης. Έπειτα από δωδεκάμηνη παρακολούθηση, το ποσοστό ανταπόκρισης στη θεραπεία ήταν υψηλότερο για τη Δαζατινίμη (83%) σε σύγκριση με εκείνο της ιματινίμης (72%). Στα πλαίσια πενταετούς παρακαλούθησης δεν εμφανίστηκε καλύτερο ποσοστό απόκρισης στη χορήγηση Δαζατινίμης, αλλά η απόκριση σε μοριακό επίπεδο ήταν καλύτερα συγκριτικά με την Ιματινίμη (Talraz et al, 2018¹⁷⁶).

Σε ό,τι αφορά τις παρενέργειες της Δαζατινίμης αυτές χωρίζονται σε αιματολογικές και μη. Στις μη αιματολογικές παρενέργειες συμπεριλαμβάνονταν η κεφαλαλγία, οι μυαλγίες, το δερματικό εξάνθημα, η υπεζωκοτική συλλογή και οι γαστρεντερικές διαταραχές. Όλοι οι ασθενείς ανέφεραν τουλάχιστον ένα σύμπτωμα από τα ανωτέρω. Οι αιματολογικές παρενέργειες ήταν συχνές και παρόμοιες σε όλους τους ασθενείς με 39,7% των ασθενών να εμφανίζει λευκοπενία, 62,1% θρομβοπενία και το 20,7% αναιμία. Η συχνότητα των μη αιματολογικών παρενεργειών που αναφέρθηκαν από τον ασθενή και των αιματολογικών παρενεργειών δεν βρέθηκε να σχετίζεται στατιστικά με τη συμμόρφωση των ασθενών στην αγωγή. (Tsai et al, 2018¹⁷⁷)

Η Κουερσετίνη ανήκει στις ενώσεις των φλαβονοειδών και είναι παρούσα στα φυτά. Διαθέτει αντιοξειδωτικές, αντιβακτηριδιακές και αντιπαρασιτικές δράσεις που συνοψίζουν την πιθανή εφαρμογή της στην ογκολογία, στην ορθοπεδική και την καρδιολογία. Η Κουερσετίνη βρίσκεται σε

πληθώρα τροφών όπως τα μήλα, τα μούρα, τις ντομάτες, το τσαί και τους ξηρούς καρπούς (David et al 2016¹⁷⁸). Αποτελεί ένα φυσικό αναστολέας μεταφοράς αυξίνης (Fischer et al. 1997¹⁷⁹). Η κερκετίνη διαθέτει μια ομάδα κετοκαρβονυλίου στο μόριό της και το άτομο οξυγόνου στον πρώτο άνθρακα μπορεί να δημιουργήσει ισχυρές συνδέσεις με οξέα. Η μοριακή της δομή περιέχει τέσσερις ομάδες, μια διυδροξυλομάδα Α, μία διυδροξυλομάδα Β, το διπλό δεσμό C3 και του 4-καρβονυλίου. Η παρουσία της φαινολικής υδροξυλομάδας και των διπλών δεσμών προσδίδει στην κερσετίνη ισχυρή αντιοξειδωτική δράση. Οι αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες του συνδέονται στενά με την πρόληψη και τη θεραπεία καρδιαγγειακών παθήσεων και καρκίνου.

Παρακάτω θα αναλυθούν οι ιδιότητες της Κουερσετίνης:

1. Αντιοξειδωτική δράση

Επηρεάζουν την οδό μεταγωγής σήματος: Η Κουερσετίνη ασκεί προστατευτική δράση στα κοκκίωδη κύτταρα ρυθμίζοντας των γονιδίων που σχετίζονται με το οξειδωτικό στρες *in vivo* και *in vitro*. (Wang et al 2020¹⁷¹). Επιπλέον, οι Granado-Serrano et al. διατύπωσαν ότι η Κουερσετίνη ρυθμίζει την πυρηνική μεταφορά ενεργοποιώντας έτσι την ενδοκυττάρια οδό MAPK p 38, αυξάνοντας το επίπεδο ενδοκυττάρωσης, βελτιώνοντας την αντιοξειδωτική ικανότητα του κυττάρου (Granado-Serrano, 2012¹⁸⁰).

2. Αντιμικροβιακή δράση

Μελέτες έχουν δείξει ότι η Κουερσετίνη έχει ευρέως φάσματος αντιβακτηριακές ιδιότητες, τόσο στα βακτήρια όσο και στους μύκητες. Ισχυρή δράση προσφέρει στην ανάπτυξη παθογόνων βακτηρίων όπως η *Pseudomonas aeruginosa*, ο *Proteus*, η *Salmonella enteritidis*, ο *Staphylococcus aureus*, η *Escherichia coli* και ο *Aspergillus flavus*. (Qin et al. 2009¹⁸¹)

Σε ό,τι αφορά τον Navitoclax ο Navitoclax αποτελεί έναν αντιαποπτωτικό μικρομοριακό αναστολέα που στοχεύει και συνδέεται ισχυρά με πολλές αντιαποπτωτικές πρωτεΐνες της οικογένειας BCL-2, συμπεριλαμβανομένων των BCL-XL, BCL-2, BCL-w και BCL-B.

Προκλινικές μελέτες αναδεικνύει την ισχυρή κυτταροτοξική του δράση σε κακοήθη κύτταρα που προέρχονται από λεμφώματα των Β και Τ κυττάρων, τα οποία υπέρεκφραζουν την BCL-2. Μετά τη χορήγηση του Navitoclax η απόκριση των καρκινικών κυττάρων ήταν ικανοποιητική με υποστροφή του όγκου. (Tse et al. 2008¹⁸²)

Η Φισετίνη αποτελεί ένα φλαβονοειδές που περιέχεται στα φυτά με πολύ καλή αντιοξειδωτική αντικαρκινική και αντιπάρκινσονική δράση. Σε πολλές μελέτες έχει γίνει αντικείμενο έρευνας ο ρόλος των φλαβοειδών στη θεραπεία πολλών τύπων καρκίνων (Kumar et al 2020¹⁸³).

Η Φισετίνη υπάρχει σε λαχανικά (κρεμμύδια, αγγούρια), φρούτα (μήλα, φράουλες), κρασί και ξηρούς καρπούς. Συμπληρώματα διατροφής επίσης περιέχοντα Φισετίνη παρουσιάζουν αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση. Ιδιότητα της Φισετίνης είναι να σταματά τον κυτταρικό κύκλο μπλοκάρωντας της κινάσες εξαρτώμενες από κυκλίνη (CDKs) στα καρκινικά κύτταρα. Η Φισετίνη επίσης ρυθμίζει οδούς πρωτεϊνικών και λιπιδικών κινασών (Jang, et al 2012¹⁸⁴).

Μελέτη ανέδειξε ότι σε κύτταρα από πάσχοντες πολλαπλού μυελώματος, η Φισετίνη προκάλεσε την παραγωγή ειδών ελεύθερων ριζών που οδήγησε τα καρκινικά κύτταρα σε απόπτωση (Jang, et al 2012¹⁸⁴). Η Φισετίνη είναι ένα πολύ υποσχόμενο γηραιολυτικό και με μεγάλο θεραπευτικό εύρος σε ό,τι αφορά τον καρκίνο, επί παραδείγματι μπορεί να χρησιμοποιηθεί στον καρκίνο του μαστού, του προστάτη, του ήπατος, του παγκρέατος και σε αιματολογικές κακοήθειες.

Ο συνδυασμός γηραιολυτικών φαρμάκων και αντιμιτωτικών φαρμάκων αποτελεί μία πολλά υποσχόμενη θεραπεία για τον καρκίνο. Το Navitoclax (προηγούμενος ονομαζόμενο ABT-263 αποτελεί ένα γηραιολυτικό φάρμακο, που είναι αναστολέας της οικογένειας Bcl-2, που ενισχύει την απόπτωση που προκαλείται από την πακλιταξέλη και έναν αναστολέα της κινεσίνης-5 (KSP), σε καρκίνος επιθηλιακών κυττάρων.

Πίνακας 2: Αντιαποπτωτικά μονοπάτια και γηραιολυτικά φάρμακα που δρουν σε κάθε μονοπάτι

SCAP (Αντι-αποπτωτικά μονοπάτια γηρασκόντων κυττάρων - Senescent Cells Antiapoptotic Pathways)	Agents Targeting SCAP (Παράγοντες που στοχεύουν στο συγκεκριμένο SCAP)	Effective in vitro	Effective in vivo
1. BCL-2 / BCL-X _L family	Navitoclax (ABT-263)	√	√
	Fisetin	√	
	A1331852	√	
	A1155463	√	
2. PI3Kδ/ AKT/ ROS-protective/ metabolic	Quercetin	√	√
	Fisetin	√	
	Piperlongumine	√	
3. MDM2/ p53/ p21/ serpine (PAI-1&2)	Quercetin	√	√
	Fisetin	√	
	FOXO4-related peptide	√	√
4. Ephrins/ dependence receptors/ tyrosine kinases	Dasatinib (ephrin receptors)	√	√
	Piperlongumine (androgen receptors)	√	
5. HIF-1α	Quercetin	√	√
	Fisetin	√	
6. HSP-90	17-AAG (Tanespimycin)	√	
	Geldanamycin	√	
	17-DMAG (Alvespimycin)	√	√

4.1. Γηραιολυτικά φάρμακα και η χρήση τους στη θεραπεία του καρκίνου.

Μέχρι στιγμής, το πιο επιτυχημένο γηραιολυτικό φάρμακο σε προκλινικά μοντέλα καρκίνου ήταν το Navitoclax. Το Navitoclax έχει δείξει μια αξιοσημείωτη ικανότητα να εξαλείφει τα καρκινικά κύτταρα σε μια ποικιλία θεραπειών, συμπεριλαμβανομένων των ακόλουθων:

1. κύτταρα όγκου του προστάτη που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με αναστολείς PARP ή ακτινοβολία κυττάρων του πνεύμονα και του μελανώματος που έχουν υποβληθεί σε θεραπεία με αναστολείς κινάσης ή ετοποσίδη, καρκινικών κυττάρων του πνεύμονα που έχουν υποστεί αγωγή με ετοποσίδη ή ακτινοβολία,
2. καρκινικών κυττάρων των ωοθηκών που έχουν υποβληθεί σε θεραπεία με αναστολείς PARP
3. καρκινικών κυττάρων του μαστού που έχουν υποβληθεί σε θεραπεία με δοξορουβικίνη, ακτινοβολία ή αναστολείς BET,
4. κυττάρων του πνεύμονα και μελανώματος που έχουν υποβληθεί σε θεραπεία με αναστολείς κινάσης ή ετοποσίδη.

Σε ποντίκια η εφαρμογή του Navitoclax απομακρύνει τα καρκινικά κύτταρα, ελέγχει τον όγκο και αυξάνει την επιβίωση αυτών (Saleh et al., 2020¹⁸⁵). Η γηραιολυτική δραστηριότητα του Navitoclax (ABT-263) στηρίζεται στην ικανότητα του να αναστέλλει την οικογένεια των Bcl-2 πρωτεϊνών. Επιπλέον, αναφέρθηκε πρόσφατα ότι η δράση του Navitoclax ενισχύεται από την πρωτεΐνη BAX. Ωστόσο, σε μια πρόσφατη δημοσίευση σε σάρκωμα μαλακών μορίων το οποίο βρισκόταν σε θεραπεία με ακτινοβολία, η αναστολή του BCL-2, αν και με τη χρήση υπερκλινικών συγκεντρώσεων του ABT-199, ήταν επαρκής για την προώθηση της γηραιόλυσης, καταδεικνύοντας την περίπλοκη ετερογένεια από την οποία εξαρτώνται τα γηρασμένα κύτταρα των όγκων των πρωτεϊνών μελών της οικογένειας BCL-2 για επιβίωση.

Παρά τη σαφή αποτελεσματικότητα του Navitoclax σε προκλινικές μελέτες, η γηραιολυτική δραστηριότητα του είναι πολύ μεταβλητή. Για παράδειγμα, τα χαρακτηριστικά για τον καρκίνο του προστάτη κύτταρα LNCaP απαντούν σε θεραπεία με αντιανδρογόνα θετικά, ενώ με τη χορήγηση Navitoclax δεν παρατηρείται σημαντική αποκρίση. (Pungsrinont et al., 2020¹⁸⁶). Ωστόσο, όταν αντιμετωπίζονται με αναστολείς PARP ή ακτινοβολία, τα καρκινικά κύτταρα του προστάτη είναι, στην πραγματικότητα, ευαίσθητα στη συγχρόνηση γηραιολυτικών.

Ένα άλλο πιθανό μειονέκτημα στη χρήση γηραιολυτικών όπως το Navitoclax είναι ότι η ευαισθησία τους εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τα επίπεδα έκφρασης των πρωτεϊνών της οικογένειας BCL-2, τα οποία είναι πιθανό να ποικίλουν ακόμη και σε καρκινικά κύτταρα του ίδιου όγκου που υποβάλλονται σε παρόμοια θεραπεία. Αυτό το στοιχείο τονίστηκε από τους Shahbandi et al., η έρευνα των οποίων κατέδειξε ότι ορισμένες κυτταρικές σειρές καρκίνου του μαστού δεν αποκρίθηκαν περαιτέρω στη χορήγηση navitoclax μετά τη χορήγηση δοξορουβικίνης. Παρόμοια αντίδραση φαίνεται να εμφανίσαν και καρκινικά κύτταρα στον καρκίνο του πνεύμονα. Τέλος, η χρήση του navitoclax στην κλινική πράξη είναι περιορισμένη λόγω της ανάπτυξης σοβαρής θρομβοπενίας στους ασθενείς. Αυτή η τοξικότητα φαίνεται να είναι συνέπεια της αναστολής του πράγοντα

BCL-XL ο οποίος στοχεύει τα αιμοπετάλια. (Suvarna et al., 2019¹⁸⁷).

Εκτός από τις γνωστές αιματολογικές ανεπιθύμητες ενέργειές του, το Navitoclax, όταν χρησιμοποιείται σε γηραιολυτικές δόσεις, έχει αποδειχθεί ότι προκαλεί επιβλαβείς αλλαγές στη λειτουργότητα των οστεοβλαστών *in vitro* και *in vivo*, προσθέτοντας ένα ακόμη επίπεδο πολυπλοκότητας για τη χρήση του navitoclax ως γηραιολυτικό. Η παραπάνω παρενέργεια έχει αναφερθεί ως μεμονωμένο περιστατικό. Παρόλο που μπορεί να είναι δελεαστικό να προτείνουμε τη χρήση εναλλακτικών γηραιολυτικών στην κλινική πράξη, τα γηραιολυτικά φάρμακα ως επικουρική θεραπεία δεν έχουν εγκριθεί καθώς βρίσκονται ακόμη σε προκλινικό στάδιο.

Ο καρκίνος των ωοθηκών αποτελεί έναν από τους πιο επιθετικούς καρκίνους και αποτελεί την πέμπτη αιτία θανάτου στις γυναίκες. Το 2018, ο καρκίνος των ωοθηκών ήταν ο έβδομος πιο συχνός καρκίνος των γυναικών παγκοσμίως, με περίπου 240.000 να νοσούν (Henderson et al, 2017¹⁸⁸). Τα αμβληγρά και σιωπηλά συμπτώματα έχουν ως αποτέλεσμα την καθυστερημένη διάγνωση του και τις ασθενείς να διαγιγνώσκονται σε προχωρημένα στάδια, με αποτέλεσμα ακόμη και με θεραπεία τα αποτελέσματα να είναι φτωχά. Γενικευμένα συμπτώματα όπως διάχυτος κοιλιακός πόνος, κοιλιακός μετεωρισμός και αλλαγές στις συνήθειες του εντέρου (Jayson et al, 2014¹⁸⁹). Αρκετοί παράγοντες προδιαθέτουν στην εμφάνιση καρκίνου των ωοθηκών συμπεριλαμβανομένου του οικογενειακού ιστορικού ή της γενετικής προδιάθεσης, της ενδομητρίωσης, των διατροφικών παραγόντων και της φυλής είναι γνωστοί για αυτή τη διαταραχή. Ο συχνότερος τύπος καρκίνου των ωοθηκών αποτελεί ο επιθηλιακός. Οι ποικιλομορφία των μοριακών και γενετικών αλλοιώσεων του καρκίνου των ωοθηκών σχετίζεται με τα πτωχά αποτελέσματα στη συμβατική θεραπεία και αποτελεί πρόκληση για την ανακάλυψη νέων θεραπευτικών στρατηγικών. (Seidman et al., 2003¹⁹⁰)

Η κουερσετίνη αποτελεί μία ένωση πολυφαινόλης που βρίσκεται ευρέως στα τρόφιμα που καταναλώνονται καθημερινά, όπως σε ξηρούς καρπούς, τσάι, λαχανικά, βότανα και γενικά στην καθημερινή διατροφή των ανθρώπων. Δόσεις από του στόματος δόσεις 1 g/ημέρα είναι ασφαλείς και η απορρόφηση της φτάνει το 60% (Harwood et al., 2007¹⁹¹). Η κερκετίνη παρέχει όπως αντιοξειδωτικές, αντιδιαβητικές, αντιφλεγμονώδεις και αντι-πολλαπλασιαστικές λειτουργίες, καθώς και έντονη ιδιότητα δέσμευσης των ελεύθερων ριζών (Boots et al., 2008¹⁹²). Η παρουσία της κατεχόλης και της υδροξυλομάδας στη θέση C3 της δομής της σχετίζονται με την απομάκρυνση των ελεύθερων ριζών (D'Andrea 2015¹⁹³). Η κουερσετίνη μπορεί να βρίσκεται σε ελεύθερη κατάσταση ή συζευγμένη με διάφορα μόρια όπως υδατάνθρακες, λιπίδια, αλκοόλες. Έχει βρεθεί ευεργετική δράση από την κατανάλωση φρούτων που περιέχουν κουερσετίνη, όπως μήλα και εσπεριδοειδή με μειωμένη εμφάνιση καρκίνου των ωοθηκών. Εκτός του καρκίνου των ωοθηκών η χρήση κουερσετίνης έχει επιφέρει ελπιδοφόρα αποτελέσματα και στη θεραπεία άλλων καρκίνων συμπεριλαμβανομένων του καρκίνου του μαστού, του πνεύμονα, του ρινοφάρυγγα, των νεφρών, του παχέος εντέρου, του προστάτη, του παγκρέατος και των ωοθηκών (Sharmila et al., 2014¹⁹⁴). Τέλος, η κουερσετίνη δεν έχει επιβλαβή δράση στα υγιή κύτταρα, ενώ στοχεύει εκλεκτικά τα καρκινικά κύτταρα τόσο in vitro όσο και in vivo, αποτελώντας μία πολλά υποσχόμενη θεραπεία στον καρκίνο των ωοθηκών είτε μόνη της είτε συνεισφέροντας με άλλα χημειοθεραπευτικά (Vargas et al., 2010¹⁹⁵).

Ένα ακόμη παράδειγμα πολλά υποσχόμενου γηραιολυτικού αποτελεί η Δαζατινίμη και η χρήση της στη χρόνια μυελογενή λευχαιμία. Η χρόνια μυελογενή λευχαιμία (ΧΜΛ) αφορά μια χρόνια νόσο που τώρα αντιμετωπίζεται με θεραπεία με αναστολέα τυροσινικής κινάσης (TKI). Τα ποσοστά εμφάνισης ΧΜΛ παραμένουν σταθερά τα τελευταία δέκα χρόνια, ενώ τα ποσοστά θνητότητας μειώνονται σταθερά κάθε χρόνο από το 2004 σε ποσοστό 3,6%

Εφόσον η επιβίωση των ασθενείς με ΧΜΛ έχει παραταθεί με τη χρήση της ιματινίμης, στόχος της θεραπείας αποτελεί η βελτιστοποίηση της δόσης και η εξατομίκευση. Η Δαζατινίμη αποτελεί ε αναστολέα τυροσινικής της κινάσης BCR-ABL1 δεύτερης γενιάς και έχει εγκριθεί η χρήση του για δύο δόσεις ημερησίως (Sprycel (dasatinib) [prescribing information]. Princeton, NJ: Bristol-Myers Squibb; 2017): 1) 100 mg μία ημερησίως για ασθενείς με ΧΜΛ σε χρόνια φάση ή για ασθενείς που δεν έχει αποτέλεσμα η θεραπεία με ιματινίμη 2) 140 mg μία φορά την ημέρα για ασθενείς με με οξεία λεμφοκυτταρική λευχαιμία παρουσία χρωμοσώματος Φιλαδέλφειας ή ΧΜΛ σε οξεία φάση. Υπό διερεύνηση βρίσκεται η εύρεση της ελάχιστης δυνατής δόσης με το μέγιστο αποτέλεσμα, καθώς και η ελαχιστοποίηση των ανεπιθύμητων ενεργειών. Η βελτιστοποίηση της δόσης του dasatinib θα πρέπει να έχει 2 στόχους: 1) τη διατήρηση των κυτταρογενετικών και μοριακών αποκρίσεων. και 2) την ελαχιστοποίηση των ανεπιθύμητων ενεργειών (AE). Συγκεκριμένα, η βελτιστοποίηση θα πρέπει να περιγράφει την ελάχιστη ημερήσια δόση dasatinib που μπορεί να διατηρήσει την ύφεση της νόσου και να επιτύχει τους θεραπευτικούς στόχους του ασθενούς.

Πέραν του θεραπευτικού στόχου βασικό χαρακτηριστικό μίας θεραπείας αποτελεί η καλή ποιότητα ζωής του ασθενούς. Έτσι μεταξύ ενός φαρμάκου που υποβάλλει τον ασθενή σε καθημερινούς περιορισμούς και ενός που λαμβάνεται σε μία δόση και με λίγες ανεπιθύμητες ενέργειες ο ασθενής

θα προτιμήσει το δεύτερο. (Hirji et al., 2013¹⁹⁶). Γυναίκες ασθενείς με ΧΜΛ που λαμβάνουν θεραπεία με ιματινίμη έχουν αναφέρει χαμηλότερη ποιότητα ζωής σε σύγκριση με τον γενικό πληθυσμό (Efficace et al., 2011¹⁹⁷) Για αυτό το λόγο χρ. Αυτό το εύρημα υποδηλώνει ότι για όσους αναμένουν να είναι σε ΤΚΙ για πολλά χρόνια, οι πτυχές της θεραπείας QOL μπορεί να είναι ιδιαίτερα σημαντικές .

Επίσης λίγες κλινικές μελέτες καταδεικνύουν προς το παρόν την ικανότητα άλλων πιθανών γηραιολυτικών φαρμάκων , εκτός της Δαζατινίμης και της Κουερσετίνης (Dasatinib and Quercetin), όπως της Πιπερλογουμίνης (Piperlongumine) και της Φισετίνης (Fisetin) να λειτουργούν αποτελεσματικά ως γηραιολυτικά φάρμακα. Εν αντιθέσει με τα ελπιδοφόρα αποτελέσματα σε προκλινικές δοκιμές των γηραιολυτικών D+Q σε δοκιμές απομάκρυνσης καρκινικών κυττάρων σε ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα, καθώς και σε καρκίνο των ωοθηκών με τη χρήση μόνο γηραιολυτικών φαρμάκων χωρίς την επικουρική δράση άλλων παραγόντων τα αποτελέσματα δεν ήταν ικανοποιητικά. Σε ό,τι αφορά την Πιπερλογουμίνη (Piperlongumine),έδειξε σχετικά καλή γηραιολυτική δραστηριότητα σε καρκίνο των ωοθηκών σε αντίθεση με τη χρήση της σε καρκίνο του προστάτη, ενώ η Φισετίνη δεν είχε καλή αποτελεσματικότητα στον καρκίνο των ωοθηκών (Fleury et al., 2019¹⁹⁸). Επιπλέον, η χορήγηση Φισετίνης αντιθέτως με την αναποτελεσματικότητα της στον καρκίνο των ωοθηκών απεδείχθη αποτελεσματική έναντι των γηρασμένων καρκινικών κυττάρων του πνεύμονα, της κεφαλής του τραχήλου και του προστάτη.

Έτσι, ομοίως με το Navitoclax, η γηραιολυτική δραστηριότητα αυτών των γηραιολυτικών μπορεί να αποδειχθεί ότι εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την κυτταρική καταγωγή και τους παράγοντες που προκαλούν γήρανση που χρησιμοποιούνται. (Carpenter et al., 2021¹⁹⁹)

4.2.Γηραιολυτικά φάρμακα και η χρήση τους στη θεραπεία της οστεοαρθρίτιδας.

Ο ρόλος της γήρανσης και της επίδρασης της στο πέρας του χρόνου στην εμφάνιση οστεοαρθρίτιδας είναι καλά τεκμηριωμένος. Έχει αποδειχθεί ότι υπάρχουν χαρακτηριστικοί δείκτες που αυξάνονται με την ηλικία και έχουν ισχυρή συσχέτιση με την οστεοαρθρίτιδα. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η βήτα-γαλακτοσιδάση, ένα ένζυμο με υψηλή λυσοσωμική δραστηριότητα , η οποία ανευρίσκεται στην κυτταρική επιφάνεια των εκφυλισμένων οστεοκυττάρων . Μια άλλη προσέγγιση αξιολόγησε τα οστεοκύτταρα τα οποία ακτινοβολήθηκαν στο πλαίσιο αυτής με φαινότυπο SASP και κατέδειξε ότι σχετίζονται περισσότερο με την εμφάνιση οστεοαρθρίτιδας . (Xu et al., 2017²⁰⁰).

Τα γηραιολυτικά φάρμακα στοχεύουν στην επιβράδυνση, αποτροπή και απομάκρυνση των κυττάρων που γηράσκουν φυσιολογικά λόγω ηλικίας ή κυττάρων τα οποία βρίσκονται εκτεθειμένα σε κάποιον στρεσογόνο παράγοντα και οδηγούνται σε απόπτωση. Η επαγωγή της απόπτωσης των χονδροκυττάρων μπορεί να φαίνεται σαν μια ενέργεια επικίνδυνη δεδομένου ότι τα χονδροκύτταρα είναι υπεύθυνα για την παραγωγή της εξωκυττάριας ουσίας και τη διατήρηση του αρθρικού χόνδρου. Ωστόσο, η επαγόμενη θανάτωση των χονδροκυττάρων στην περίπτωση μετατραυματικής οστεοαρθρίτιδας φαίνεται να είναι ωφέλιμη καθώς αναστέλλεται η παραγωγή μεταλλοπρωτεϊνάσης 13 (MMP13) , η οποία αλλοιώνει τον αρθρικό χόνδρο και τα συστατικά του. (Zhang et al 2016²⁰¹.)

Σε πρόσφατη δημοσίευση στο περιοδικό Nature, οι Jeon et al. (Jeon et al., 2017²⁰²) για πρώτη φορά ανέφεραν τη συσχέτιση μεταξύ εμφάνισης οστεοαρθρίτιδας και συσσώρευσης γηρασμένων κυττάρων στις αρθρώσεις ποντικών όπου η οστεοαρθρίτιδα προκλήθηκε χειρουργικά. Δημιούργησαν δύο διαγονδιακά μοντέλα ποντικών. Το πρώτο μοντέλο, p16-3MR, αποτελείται από ποντίκια με συντηγμένη λουσιφεράση με μια περικομμένη μορφή κινάσης θυμιδίνης του ιού απλού έρπητα τύπου-1, υπό τον έλεγχο του ογκοτασταλτικού γονιδίου p16INK4a. Το δεύτερο μοντέλο που δημιουργήθηκε διαγονιδιακά αφορά τα ποντίκια INK-ATTAC που χαρακτηρίζονται από έκφραση γονιδίου λουσιφεράσης και κασπάσης 8 που βρίσκονται υπό τον έλεγχο του p16INK4a. Και τα δύο μοντέλα επέτρεπαν την παρακολούθηση των γηρασμένων κυττάρων θετικών σε p16INK4a μέσω χορήγησης λουσιφερίνης και την επιλεκτική αποβολή τους ως απάντηση στη γκανσυκλοβίρη ή στο AP20187 αντίστοιχα. Οι Jeon et al. πρώτα αρχικά παρατήρησαν το διαγονιδιακό μοντέλο p16-3MR ποντικών 2 μηνών σε ό,τι αφορά την παρουσία γηρασμένων κυττάρων στην άρθρωση του γόνατος μετά από πρόκληση ΟΑ χειρουργικά μέσω διατομής του πρόσθιου χιαστού αυτών. Έπειτα για 14

ημέρες μετά την επέμβαση χορηγήθηκαν ενέσεις λουσιφεράσης, οι οποίες έδειξαν αύξηση συσσώρευση γηρασμένων κυττάρων. Ακολουθήθηκε χρώση ανοσοϊστοχημείας όπου εντοπίστηκαν γηρασμένα κύτταρα θετικά στο p16INK4a. (Jeon et al., 2017²⁰²)

Προς διαπίστωση αν τα γηρασμένα κύτταρα p16INK4a είναι υπεύθυνα για την εμφάνιση οστεοαρθρίτιδας χορηγήθηκαν ενέσεις γκανσικλοβίρης προς εξάλειψη αυτών. Η τοπική εξάλειψη των γηρασμένων κυττάρων έδειξε ότι η αποικοδόμηση χόνδρου ήταν μικρότερη, όπως μικρότερη ήταν και η έκφραση φλεγμονωδών δεικτών όπως η IL-1β στο χόνδρο. Ακόμη ο καταβολικός δείκτης της μεταλλοπρωτεϊνάσης 13 (MMP-13) μειώθηκε σημαντικά. Ένα από τα κύρια ενδιαφέροντα αυτών των μελετών ήταν να βρεθεί υψηλότερο επίπεδο έκφρασης του κολλαγόνο τύπου II και των αγγρεκανών σε ποντίκια που υποβλήθηκαν σε θεραπεία. Προς καλύτερη αξιοπιστία χρησιμοποιήθηκε δεύτερο διαγονιδιακό μοντέλο ποντικών τα οποία εμφανίζουν OA λόγω ηλικίας. Αξιοσημείωτο είναι ότι η θεραπεία με AP20187, που χορηγήθηκε σε ποντίκια INK-ATTAC ηλικίας 12 μηνών μέχρι τον φυσικό τους θάνατο, διατήρησε υγιή τον χόνδρο και μείωσε εμφανώς την εμφάνιση των συμπτωμάτων της οστεοαρθρίτιδας.

Τα γηρασμένα κύτταρα χαρακτηρίζονται από την αντίστασή τους σε αποπτωτικά σήματα μέσω της ρύθμισης της αντί-αποπτωτικής οδού BCL2-BCLX. Αρκετές μελέτες παγκοσμίως αναγνώρισαν πρόσφατα φάρμακα που θα μπορούσαν επιλεκτικά να προκαλέσουν κυτταρικό θάνατο σε γηρασμένα κύτταρα στοχεύοντας αυτόν τον αντι-αποπτωτικό άξονα. Έτσι, αρκετά από αυτά τα λεγόμενα γηραιολυτικά φάρμακα, συμπεριλαμβανομένου του ABT263, έχουν ήδη επικυρωθεί ως αντιγηραντική θεραπεία σε ποντίκια που πάσχουν από διάφορες ασθένειες που σχετίζονται με την ηλικία: για παράδειγμα, τα γηραιολυτικά βελτίωσαν την καρδιακή λειτουργία σε ηλικιωμένα ποντίκια, βοήθησαν στην πρόληψη της οστεοπόρωσης (Farr et al., 2017²⁰³), την καθυστέρηση απώλειας πρωτεογλυκανών μεσοσπονδύλιου δίσκου σε ποντικούς (Zhu Y et al., 2015²⁰⁴), την αναστροφή πρόκλησης πνευμονικής ίνωσης από ακτινοβολία (Chang et al 205).

Για να ελεγχθεί η αποτελεσματικότητα τέτοιων γηραιολυτικών φαρμάκων στη θεραπεία της οστεοαρθρίτιδας, οι Jeon et al. (Jeon et al., 2017²⁰²) πραγματοποίησαν 6 ενδοαρθρικές ενέσεις (ανά 2 ημέρες) του ABT263 σε ποντίκια 2 μηνών, 14 ημέρες μετά την επέμβαση: το ABT263 μείωσε σημαντικά τα γηρασμένα κύτταρα, αλλά και τον πόνο και την αποδόμηση του χόνδρου έπειτα από 28 ημέρες χορήγησης. Επιπλέον, η θεραπεία με ABT263 μείωσε την έκφραση των MMP-13, IL-6 και IL-1β στον χόνδρο, ενώ δημιούργησε τη δυνατότητα παραγωγής νέου χόνδρου μέσω της παραγωγής κολλαγόνου τύπου II και αγγρεκανών. Το τελικό συμπέρασμα ήταν ότι μετά τη από θεραπεία με ABT263 απομακρύνθηκαν τα γηρασμένα κύτταρα και παρουσιάστηκε ύφεση των συμπτωμάτων της με ταυτόχρονη παραγωγή νέου χόνδρου.

Αν και οι φαρμακολογικές προσεγγίσεις για τη θεραπεία ασθενειών που σχετίζονται με την ηλικία φαίνονται ελπιδοφόρες, οι πιθανές παρενέργειες από τη χρήση τους ακόμη προκαλούν ανησυχία. Σε ό,τι αφορά τη χρήση των γηραιολυτικών στη θεραπεία της OA δεν είναι ακόμη γνωστό αν η προώθηση του κυτταρικού θανάτου των γηρασμένων κυττάρων βλάπτει ταυτόχρονα τους ιστούς ή σχετίζεται με ταυτόχρονη απώλεια του οστού ή του χόνδρου της άρθρωσης. Εντυπωσιακή είναι η παρατήρηση που προκύπτει μετά τη χορήγηση τοξίνης διφθερίτιδας, η οποία παράγεται από κύτταρα που εκφράζουν πρωτεογλυκάνη 4, δεν προκάλεσε περαιτέρω βλάβη του χόνδρου. Οι ερευνητές πρότειναν ότι ο καταβολισμός των υγιών χονδροκυττάρων οδηγεί σε μεγαλύτερη απώλεια χόνδρου σε σχέση με τη θανάτωση γηρασμένων χονδροκυττάρων (Zhang et al 2016²⁰¹.)

Είναι γνωστό ότι η OA σχετίζεται άμεσα με τη γήρανση η χρήση των γηραιολυτικών μπορεί να βοηθήσει στην πρόληψη της απώλειας χόνδρου που προκαλείται από τραυματισμό που προκαλείται από καταβολικούς παράγοντες SASP εκκρινόμενοι από τα γηράσκοντα χονδροκύτταρα.

Ένα ακόμη παράδειγμα ηλικιοεξαρτώμενης οστεοαρθρίτιδας αποτελεί η εκφύλιση της κροτα-φογναθικής άρθρωσης (TMJ). Ο εκφυλισμός της TMJ οδηγεί σε εμφάνιση σημαντικού πόνου και περιορισμό της κινητικότητας. (Wadhwa, 2008²⁰⁶.) Σε μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί έχει δείχθει ότι η γήρανση αποτελεί σημαντικό παράγοντα για την αλλοίωση της άρθρωσης, καθώς ο εκφυλισμός της αυξάνεται ανά δεκαετία (Alzahrani et al., 2020²⁰⁷). Επί του παρόντος η μόνη αποτελεσματική θεραπεία είναι η ολική αρθροπλαστική. Πολλές θεραπευτικές προσεγγίσεις έχουν προταθεί ωστόσο καμία δεν ήταν αποτελεσματική λόγω αποτυχίας παραγωγής εκ νέου ιστού.

Ο μηχανισμός της γήρανσης των κυττάρων της TMJ ομοιάζει με εκείνον της άρθρωσης του γόνατος. Σε μία έρευνα που διενεργήθη πρόσφατα σε ποντίκια παρατηρήθηκε ότι έπειτα από διαλείπουσα χορήγηση Δαζατινίμπης και Κουερσετίνης μειώθηκε ο πληθυσμός των γηρασμένων κυττάρων και ο χόνδρινος ιστός ανακυκλώθηκε σε ηλικιωμένα ποντίκια σε αντίθεση με τα νεαρά ποντίκια στα οποία δεν είχε καμία επίδραση (Zhou et al. 2021²⁰⁸). Ο συνδυασμός των παραπάνω γηραιολυτικών προς το παρόν είναι αυτός που μας δίνει τα πιο ενθαρρυντικά αποτελέσματα.

Συμπερασματικά, η κυτταρική γήρανση σχετίζεται με πολυάριθμες παθολογίες συμπεριλαμβανομένης και της οστεοαρθρίτιδας. Η χρήση γηραιολυτικών μοιάζει ελπιδοφόρα, αλλά για η εφαρμογή τους σε κλινικό επίπεδο θα πρέπει να χαρακτηρίζεται από ασφάλεια, ακρίβεια, αξιοπιστία.(Malaise et al., 2017²⁰⁹). Παρ'όλα αυτά, δεν πρέπει να αγνοούμε ότι η κυτταρική γήρανση έχει και ευεργετικές ιδιότητες μεταξύ άλλων στην επούλωση τραυμάτων, την καταστολή του όγκων και στις ανοσολογικές και αντι-ιικές αντιδράσεις. (Vicente et al., 2016²¹⁰).

4.3.Γηραιολυτικά φάρμακα και η χρήση τους στη θεραπεία του μεταβολικού συνδρόμου.

Μέσω ερευνών αποδεικνύεται ότι η ελάττωση των γηρασμένων λιποκυττάρων σε ποντικούς οδηγεί της αντίστασης στην ινσουλίνη και σε ελάττωση της ύπαρξη φλεγμονής χαρακτηριστικά που συσχετίζονται με την ανάπτυξη παχυσαρκίας και σακχαρώδους διαβήτη. Στην έρευνα των Palmer et al., απεδείχθη ότι η αναστολή της γήρανσης σε παχύσαρκα ποντίκια, είτε μέσω της ενεργοποίησης αποπτωτικών γονιδίων του p16Ink4a (α) p16-3MR ,β) INK-ATTAC ποντίκια), είτε μέσω θεραπείας με γηραιολυτικούς παράγοντες έχει ευεργετικές ιδιότητες στη λειτουργία του μεταβολισμού και του λιπώδους ιστού. (Palmer et al., 2019¹⁶⁹)

Συγκεκριμένα η θεωρήθηκε ότι η βέλτιστη θεραπεία ήταν η συνδυαστική χορήγηση Δαζατινίμπης και Κουερσετίνης (Dasatinib and Quercetin) για τους ακόλουθους λόγους:

1. Η Δαζατινίμπη στοχεύει επιλεκτικά τα γηρασμένα προγονικά λιποκύτταρα (Zhu et al., 2015²⁰⁴), απαραίτητα κύτταρα για την εύρυθμη μεταβολική λειτουργία (Tchkonina et al., 2013²¹¹).
2. Από την άλλη πλευρά, η κουερσετίνη (Q), σε αντίθεση με την δαζατινίμπη (D), είναι αποτελεσματική έναντι των γηρασμένων ενδοθηλιακών κυττάρων (Zhu et al., 2015²⁰⁴), που σχετίζεται με αγγειακή υπερπλασία και δυσλειτουργία στο διαβήτη.
3. Και τα δύο γηραιολυτικά είναι αποτελεσματικά έναντι της ηπατικής στεάτωσης, της αρτηριοσκλήρωσης, της αγγειακής υπερπλασίας, της οστεοπόρωσης, της ηπατικής στεάτωσης και του νευροεκφυλισμού, που αποτελούν συνοσηρότητες του μεταβολικού συνδρόμου.

Η παχυσαρκία στα ποντίκια της μελέτης των Palmer et al (Palmer et al., 2019¹⁶⁹) προκλήθηκε είτε από δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά (DIO) είτε μέσω εξάλειψης του υποδοχέα λεπτίνης (db/db). Μετρήσεις μέσω λουσιφεράσης έδειξαν αφθονία των γηρασμένων κυττάρων σε ποντίκια p16-3MR σε σύγκριση με τα ποντίκια-μάρτυρες που τρέφονταν με συνήθη τροφή.

Το ποσοστό των γηρασμένων κυττάρων μειώθηκε κατά πολύ μετά από διαλείπουσα χορήγηση Γκαντσικλοβύρης (ganciclovir) σε ποντίκια p16-3MR DIO, AP20187 σε ποντίκια INK - ATTAC DIO και INK - ATTAC με τροποποίηση του υποδοχέα λεπτίνης, καθώς και μετά τη χορήγηση Δαζατινίμπης και Κουερσετίνης (Dasatinib and Quercetin) σε ποντίκια DIO. Αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν μετά από μία μόνο χορήγηση AP20187 ή Δαζατινίμπης και Κουερσετίνης (Dasatinib and Quercetin) σε ποντίκια INK - ATTAC έδειξαν ότι τα γηρασμένα λιποκύτταρα μειώθηκαν σημαντικά. Σε αυτά τα πειράματα, κύριος στόχος ήταν τα λιπώδη προγονικά κύτταρα και όχι τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα μακροφάγα ή τα T κύτταρα.

Η απομάκρυνση των γηρασμένων κυττάρων βελτίωσε την ανοχή στη γλυκόζη και μείωσε το κλάσμα της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης A1c (HbA1c), δείκτη μακροπρόθεσμου ελέγχου γλυκόζης. Η εξάλειψη των γηρασμένων κυττάρων δεν επηρέασε το σωματικό βάρος, τη δραστηριότητα ή την πρόσληψη τροφής.

Συνολικά, μετά την ελάττωση των γηρασμένων κυττάρων η ομοιόσταση της γλυκόζης επηρεάστηκε με τους ακόλουθους τρόπους:

1. Τα ποντίκια DIO έγιναν πιο ευαίσθητα στην ινσουλίνη, έπειτα δοκιμασία ανοχής στην ινσουλίνη.
2. Η θετική ανταπόκριση στην ινσουλίνη των παγκρεατικών νησιδίων παρέμεινε αμετάβλητη μετά την εξάντληση των γηρασμένων κυττάρων.
3. Οι συγκεντρώσεις ινσουλίνης στο πλάσμα ήταν χαμηλότερες ως απάντηση σε μια δοκιμασία πρόκλησης γλυκόζης και στα ποντίκια p16-3MR που έλαβαν θεραπεία με ganciclovir και στα ποντίκια DIO που έλαβαν θεραπεία με Δαζατινίμη και Κουερσετίνη (Dasatinib and Quercetin).
4. Σε δοκιμασίες προκλητής υπεργλυκαιμίας η έκκριση ινσουλίνης ήταν αμετάβλητη σε ποντίκια που είχαν υποβληθεί σε θεραπεία με Δαζατινίμη και Κουερσετίνη (Dasatinib and Quercetin).
5. Η ευαισθησία στην ινσουλίνη δεν επηρεάστηκε από γενετικές παρεμβάσεις που απομακρύνουν τα γηρασμένα κύτταρα σε ποντίκια φυσιολογικού βάρους και αντίστοιχης ηλικίας, ή παχύσαρκα ποντίκια, υποδεικνύοντας ότι η χρήση του AP20187 ή της Γκανσικλοβίρης δε συμβάλει σημαντικά στη βελτίωση του μεταβολισμού.
6. Τα μεταβολικά οφέλη οφείλονταν κυρίως στη βελτιωμένη περιφερική ευαισθησία στην ινσουλίνη και όχι στην αντιστάθμιση από τα β-κύτταρα του παγκρέατος, σε γηρασμένα ποντίκια DIO. Η ηπατική παραγωγή γλυκόζης βρέθηκε επίσης αμετάβλητη κατά τη θεραπεία με Δαζατινίμη και Κουερσετίνη (Dasatinib and Quercetin) σε ποντίκια DIO σε συνθήκες, υπεργλυκαιμίας και υπερινσουλιναιμίας.

Πέραν της βελτίωσης της ομοιόστασης της γλυκόζης, η απομάκρυνση γηρασμένων κυττάρων εμπόδισε τη μετανάστευση μονοκυττάρων στον κοιλιακό λιπώδη ιστό και μείωσε τον αριθμό των μακροφάγων αυτού. Επιπλέον, η καρδιακή λειτουργία, η μικρολευκωματινουρία και νεφρική λειτουργία βελτιώθηκαν με τη χρήση γηραιολυτικών.

Τα αποτελέσματά της έρευνας, αναφέρουν την κυτταρική γήρανση ως αιτιολογικό παράγοντα στη φλεγμονή που σχετίζεται με τις διαταραχές του μεταβολισμού και την παχυσαρκία και είναι αισιόδοξα ως προς τη χρήση των γηραιολυτικών για τη θεραπεία του μεταβολικού συνδρόμου.

Παρόμοια αποτελέσματα επέδειξε και η έρευνα των Siera-Ramirez et al. (Siera-Ramirez et al., 2020²¹²) στην οποία εκτός της χρήσης Δαζατινίμη και Κουερσετίνη (Dasatinib and Quercetin), χρησιμοποιήθηκε και το navitoclax. Στην εν λόγω έρευνα δημιούργησαν παχύσαρκα ποντίκια με δίαιτα με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά και στη συνέχεια χορήγησαν πέντε συνεχόμενους κύκλους navitoclax ή Δαζατινίμη και Κουερσετίνης D/Q για 16 εβδομάδες. Παρατηρήθηκε σημαντική μείωση στον λευκό λιπώδη ιστό μετρώντας τους δείκτες γήρανσης β-γαλακτοσιδάση, καθώς και των Cdkn2a-p16 και Cdkn2a-p19 στο τέλος των 5 κύκλων. Τα ποντίκια που έλαβαν θεραπεία τόσο με navitoclax όσο και με Dasatinib and Quercetin παρουσίασαν βελτιωμένη ευαισθησία στην ινσουλίνη και ανοχής στη γλυκόζη σε σύντομο χρονικό διάστημα, στους κύκλους 3 και 4) που εξαφανίστηκαν στον πέμπτο κύκλο. Επίσης, τα εν λόγω εξέφραζαν υψηλά επίπεδα λιπογόνων γονιδίων Pparg και Cebpa στο λιπώδη ιστό, καθώς και υψηλά επίπεδα αδιπνεκτίνης στο πλάσμα τους. Συνολικά η έρευνα απέδειξε ότι οι δύο διαφορετικές γηραιολυτικές θεραπείες οι οποίες δρουν με διαφορετικούς μηχανισμούς μοιάζουν αποτελεσματικές στη θεραπεία μεταβολικών διαταραχών που προκαλούνται από παχυσαρκία.

Συμπερασματικά, εμφανές είναι ότι η κυτταρική γήρανση (senescence) διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη μεταβολική ανισοροπία που χαρακτηρίζει την παχυσαρκία και το σακχαρώδη διαβήτη. Η χρήση γηραιολυτικών φαρμάκων (senolytics) πιθανώς στο άμεσο μέλλον να οδηγήσει στην ασφαλή και διαδεδομένη χρήση τους στην αντιμετώπιση των συγκεκριμένων ασθενειών.

4.4.Γηραιολυτικά φάρμακα στην αντιμετώπιση νευροεκφυλιστικών νοσημάτων.

Η νόσος Alzheimer (AD) όπως αναφέρθηκε και σε αντίστοιχο κεφάλαιο χαρακτηρίζεται από νευριτικές πλάκες με κύρια παθολογικά χαρακτηριστικά τα εξωκυτταρικά συσσωματώματα πεπτιδίου β-αμυλοειδούς (Αβ) και τους εκφυλισμένους νευρώνες που συσσωρεύουν αυτολυσώματα. Στην έρευνα των Zhang et al (Zhang et al., 2019²¹³) διαπιστώθηκε ότι, στον εγκέφαλο ασθενών με AD και σε μοντέλα ποντικών AD, τα προγονικά κύτταρα ολιγοδενδροκυττάρων που σχετίζονται με τη διαδικασία της μυελίνωσης (Olig2) και βρίσκονται υπό τη ρύθμιση του μεταγραφικού παράγοντα 2 των ολιγοδενδροκυττάρων και εύθονται σε μεγάλο βαθμό για το σχηματισμό πλακών β-αμυλοειδούς (Αβ), εμφανίζουν έναν φαινότυπο κυτταρικής γήρανσης (senescence) μέσω της υπερέκφρασης των πρωτεϊνών p21/CDKN1A, p16/INK4/CDKN2A και της δραστηριότητας της β-γαλακτοσιδάσης, κυτταρικού επιφανειακού δείκτης γήρανσης. Η μοριακή ανάλυση των συσσωμάτων β-αμυλοειδούς αποκάλυψε αυξημένα επίπεδα μεταγραφικών παραγόντων που εμπλέκονται στη μεταγραφή των πρόδρομων κυττάρων των ολιγοδενδροκυττάρων (OPC) με συνοδό φλεγμονή. Η άμεση έκθεση των καλλιιεργημένων OPC σε συσσωματώματα β-αμυλοειδούς προκάλεσε την πρόωρη γήρανση αυτών των κυττάρων. Γηραιολυτική θεραπεία που εφαρμόστηκε σε ποντικούς με νόσο Alzheimer (AD) απομάκρυνε επιλεκτικά τα γηρασμένα κύτταρα από τις νευρικές πλάκες, μείωσε τη φλεγμονή, μείωσε το συσσωρευμένο β-αμυλοειδές (Αβ) και βελτίωσε τα γνωσιακά ελλείμματα. Τα παραπάνω ευρήματα αποδείχθηκαν ελπιδοφόρα για τη χρήση γηραιολυτικών φαρμάκων στη νόσο. (Alzheimer's Drug Discovery Foundation, 2019²¹⁴)

Σε μία άλλη έρευνα των Musi et al (Musi et al., 2018²¹⁵) μελετήθηκε η συσχέτιση των παθήσεων που προκαλούνται από συσσώρευση πρωτεΐνης Tau που παρατηρείται στη νόσο Alzheimer (AD), στην προοδευτική υπερπυρηνική παράλυση (PSP) και σε τραυματική εγκεφαλική βλάβη (TBI) με την κυτταρική γήρανση και την επίδραση των γηραιολυτικών στην εξέλιξη των νοσημάτων. Τα ινιδιακά συμπλέγματα (NFT) που περιέχουν πρωτεΐνες Tau εμφανίζουν στενή συσχέτιση με την έκπτωση γνωσιακών λειτουργιών με τους υπεύθυνους μηχανισμούς να μην έχουν ακόμη αποσαφηνιστεί. Ο σχηματισμός NFT δεν προάγει την κυτταρική απόπτωση, πράγμα που υποδηλώνει ότι υπάρχουν δευτερογενείς μηχανισμοί που έχουν τοξική επίδραση. Μεταγραφικές αναλύσεις νευρώνων που περιείχαν NFT από θανάτιστα πάσχοντα ποντίκια με νόσο Alzheimer (AD) αποκάλυψαν ένα προφίλ έκφρασης που σχετίζεται με την κυτταρική γήρανση. Το εν λόγω προφίλ έκφρασης είναι πολυπαραγοντικό και σχετίζεται με εκτροπή δραστηριότητας του κυτταρικού κύκλου, μεμεταβολική δυσλειτουργία, κυτταρική αναδιαμόρφωση και αντιαποπτωτικούς μηχανισμούς επιβίωσης. Χρησιμοποιήθηκαν τέσσερα μοντέλα διαγονιδιακών ποντικών με νόσο AD και διαπιστώθηκε ότι τα ινιδιακά συμπλέγματα (NFT), και όχι πλάκες β-αμυλοειδούς (Αβ), εμφανίζουν έναν φαινότυπο που ομοιάζει στον αντίστοιχο της κυτταρικής γήρανσης. Το επίπεδο μεταγραφής του αναστολέα κυκλίνης με δράση κινάσης (Cdkn2a), που σχετίζεται με την παραγωγή ογκοκαταστατικών πρωτεϊνών και συγκεκριμένα p16 (INK4A) και p14 (ARF), σχετίστηκε άμεσα με την ατροφία του εγκεφάλου και τη συγκέντρωση ινιδιακών συμπλεγμάτων (TNF) σε ποντίκια. Η παραπάνω παρατήρηση επεκτάθηκε με το γεγονός ότι ανευρέθηκε παρόμοιος μηχανισμός λειτουργίας σε ασθενείς που κατέληξαν από PSP και της τοξικής επίδρασης που έχει η πρωτεΐνη tau. Τα ποντίκια με παθολογία τελικού σταδίου για τη νόσο υποβλήθηκαν σε θεραπεία με γηραιολυτικά που αποτελεσματικά και στοχευμένα απομάκρυναν τα γηρασμένα και εκφυλισμένα κύτταρα. Παρά το προχωρημένο στάδιο της, η μαγνητική τομογραφία εγκεφάλου και οι ιστοπαθολογικές εξετάσεις ανέδειξαν μείωση της απώλειας νευρώνων, καθώς και μείωση της συνολικής πυκνότητας NFT και μείωση του μεγέθους των κοιλιών του εγκεφάλου. Συνολικά, αυτά τα ευρήματα υπέδειξαν μια ισχυρή σχέση μεταξύ της παρουσίας NFT και την επίδραση αυτών στη νευροεκφυλίση. Η χορήγηση συνδυαστικά Δαζατινίμης και Κουερσετίνης (Dasatinib and Quercetin) σε ηλικιωμένους ποντικούς με νευροεκφυλιστικές παθήσεις για τρεις μήνες είχε ενθαρρυντικά αποτελέσματα, καθώς όπως απεδείχθη μείωσε τον αριθμό των νευρώνων που περιέχουν NFT κατά 35%, μείωσε τη διεύρυνση των κοιλιών κατά 28% και περιόρισε τη νευρωνική ατροφία. Επιπλέον, ο συνδυασμός των ανωτέρω γηραιολυτικών εμφάνισε αύξηση στη δημιουργία συνάψεων και νευρώνων.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 : SENOLYTICS ΚΑΙ ΠΙΘΑΝΕΣ ΝΕΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ

Ο κορονοϊός (COVID-19), γνωστός και ως SARS-CoV-2, αποτελεί μία προσφάτως εμφανισθείσα ζωνοσό σχετιζόμενη με το Σοβαρό Οξύ Αναπνευστικό Σύνδρομο (SARS) και το Αναπνευστικό Σύνδρομο Μέσης Ανατολής (MERS). Ο COVID-19 προήλθε από την Κίνα με παγκόσμια εξάπλωση και αποτέλεσε την πανδημία του 2020. Ο COVID-19 εμφανίζει σημαντικά υψηλότερο ποσοστό θνησιμότητας σε ασθενείς με προχωρημένη ηλικία και αυτό δημιουργεί το ερώτημα εάν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της μόλυνσης από το ιό και της προχωρημένης ηλικίας των ασθενών που κατέληξαν. Δύο υποδοχείς έχουν προταθεί ότι στοχεύει ο Covid-19 στην κυτταρική επιφάνεια του ξενιστή, τον CD26 και το ACE-2 (ένζυμο μετατροπής αγγειοτενσίνης 2). Ενδιαφέρον παρουσιάζει η συσχέτιση του υποδοχέα CD26 και του συστήματος αγγειοτενσίνης με τη γήρανση. Ομοίως, έχουν προταθεί δύο θεραπευτικά σχήματα για την αντιμετώπιση της λοίμωξης από τον COVID-19, η Αζιθρομυκίνη και η Κερσετίνη, αμφότερα τα δύο φάρμακα εμφανίζουν γηραιολυτική δράση. Επίσης, ενώσεις όπως η χλωροκίνη αναστέλλουν την επαγωγή του γνωστού δείκτη γήρανσης, της βήτα-γαλακτοσιδάσης. Άλλα φάρμακα όπως η ραπαμυκίνη και η δοξυκυκλίνη που δρουν ως αναστολείς πρωτεϊνοσύνθεσης εμποδίζουν την έκφραση του SASP όσο και την αντιγραφή του ιού. Ως εκ τούτου, η υπόθεση ότι τα γηραιολυτικά πιθανόν να βοηθούν στην πρόληψη της μετάδοσης του ιού και στη θεραπεία του είναι ελπιδοφόρα, με αντιπροσωπευτικά φάρμακα την Αζιθρομυκίνη και τη Δοξυκλίνη. Τα εν λόγω φάρμακα αναστέλλουν τον ιικό πολλαπλασιασμό και την παραγωγή ιντερλευκίνης 6 (IL-6) .

Αναδρομική μελέτη για τον COVID-19, που δημοσιεύτηκε στο Lancet, ήταν μία από τις πρώτες κλινικές μελέτες που ανέφεραν την ηλικία ως παράγοντα κινδύνου στη θνησιμότητα σε νοσηλευόμενους, υποδηλώνοντας ότι η προχωρημένη ηλικία πιθανώς παίζει επιδημιολογικό ρόλο στα κλινικά αποτελέσματα. Η θνητότητα συσχετίστηκε με άλλες συνοσηρότητες, όπως ο διαβήτης ή η στεφανιαία νόσος, ενεργοποιώντας τον εκκριτικού φαινοτύπου που σχετίζεται με τη γήρανση (SASP) με σημαντικότερο εύρημα την αύξηση της ιντερλευκίνης 6 (IL-6) (Zhou et al., 2020²¹⁶.)

ΠΙΘΑΝΟΙ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΟΙ ΣΤΟΧΟΙ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΝΟΣΟΥΝΤΕΣ ΑΠΟ ΚΟΡΟΝΟΙΟ ΜΕ ΠΡΟΧΩΡΗΜΕΝΗ ΗΛΙΚΙΑ

Στη μόλυνση από COVID-19 τα ιϊκά αντιγόνα επιτίθενται σε κυτταρικούς υποδοχείς επιφάνειας και πιο συγκεκριμένα στον υποδοχέα CD26 και στο μετατρεπτικό ένζυμο της αγγειοτενσίνης (ACE2) (Vankadari N, Wilce JA, Emerg Microbes Infect. 2020). Σε ό,τι αφορά τον υποδοχέα CD26 ανευρίσκεται σε γηρασμένα κύτταρα και αποτελεί δείκτη γήρανσης, ενώ το μετατρεπτικό ένζυμο της αγγειοτενσίνης είναι αναστολέας πολλαπλασιασμού των κυττάρων και το σύστημα ρενίνης- αγγειοτενσίνης εμφανίζει αυξημένη λειτουργικότητα στη γήρανση.: glycan shield and structure prediction of spike glycoprotein and its interaction with human CD26.(Vankadari et al., 2020²¹⁷). Ομοίως, οι μυοϊνοβλάστες (οι οποίοι θεωρούνται προ-ινωτικά κύτταρα) υπερ-εκφράζουν επίσης τα CD26 και ACE-2 (Mah et al., 2017²¹⁸) .

Ενδιαφέρον παρουσιάζει ότι ο υποδοχέας για το MERS-CoV, ενός πολύ συγγενικού ιού του κορονοϊού, είναι το CD26, γνωστό και ως διπεπτιδυλοπεπτιδάση . Γενετικά στοιχεία, συμπεριλαμβανομένων μελετών ανθρώπινων πολυμορφισμών CD26 και διαγονιδιακών μοντέλων ποντικών CD26, έδειξαν άμεσα ότι το CD26 είναι ο λειτουργικός υποδοχέας του ξενιστή MERS-CoV, ο οποίος απαιτείται ειδικά για τη σύνδεση, την είσοδο και, ως εκ τούτου, την αναπαραγωγή του ξενιστή.

Έτσι, μια υπόθεση είναι ότι ο ιός COVID-19 αυξάνει σημαντικά τη θνησιμότητα σε ασθενείς με προχωρημένη ηλικία, επειδή αυτοί οι ασθενείς έχουν αυξημένο αριθμό γηρασμένων πνευμονικών κυττάρων, τα οποία αποτελούν τον κεντρικό στόχο επίθεσης του COVID-19. Είναι ενδιαφέρον ότι τα γηρασμένα κύτταρα δείχνουν επίσης αυξημένη τάση για ενισχυμένη πρωτεϊνική σύνθεση, η οποία απαιτείται για την παραγωγή φλεγμονωδών μεσολαβητών SASP, κάνοντας τα γηρασμένα κύτταρα ιδανικό στόχο ξενιστή για αποτελεσματική αντιγραφή του ιού.

Βάσει των ανωτέρω γίνεται η υπόθεση ότι τα γηραιολυτικά φάρμακα πιθανότατα να έχουν ευεργετική δράση στη θεραπεία και την πρόληψη της νόσου. Πρόσφατα, πραγματοποιήθηκε κλινική δοκιμή με ασθενείς νοσηλευόμενους από COVID-19, η οποία αξιολόγησε την ανταπόκριση του ιού στη θεραπεία με δύο φάρμακα εγκεκριμένα από τον Αμερικανικό Οργανισμό Φαρμάκων(FDA), την Υδροξυχλωροκίνη (Plaquenil) και την Αζιθρομυκίνη (Z-PAC). Η υδροξυ-χλωροκίνη από μόνη της, στις τυπικές δοσολογίες, παρουσίασε εκπληκτικά αποτελέσματα στη μείωση της ιικής παραγωγής του COVID-19. Ωστόσο, ο συνδυασμός υδροξυχλωροκίνης και αζιθρομυκίνης φάνηκε αποτελεσματικότερος.

ΠΟΙΑ Η ΣΧΕΣΗ ΜΕΤΑΞΥ ΥΔΡΟΞΥΧΛΩΡΟΚΙΝΗΣ ΚΑΙ ΑΖΙΘΡΟΜΥΚΙΝΗΣ ΜΕ ΤΗΝ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΓΗΡΑΝΣΗ

Η χλωροκίνη και τα παράγωγά της, όπως η υδροξυχλωροκίνη, αλκαλοποιούν το pH στα λυσοσώματα, τα οποία συσσωρεύονται σε μεγάλο αριθμό σε γηρασμένα κύτταρα. Αυτή η αλκαλοποίηση που προκαλεί η χλωροκίνη εμποδίζει λειτουργικά την επαγωγή και συσσώρευση ενός από τους πιο ευρέως αναγνωρισμένους δείκτες γήρανσης, γνωστός ως βήτα-γαλακτοσιδάση (Beta-Gal), ένα λυσοσωμικό ένζυμο . Η υδροξυχλωροκίνη χρησιμοποιείται επίσης κλινικά για τη θεραπεία χρόνιων φλεγμονωδών ασθενειών, όπως το σύνδρομο Sjögren, και μειώνει αποτελεσματικά τα επίπεδα σιελόρροιας και της IL-6, βασικών συστατικών του SASP.

Η αζιθρομυκίνη έχει επίσης βασική σχέση με τη γήρανση . Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι η αζιθρομυκίνη και το συγγενικό της φάρμακο η ροξιθρομυκίνη, λειτουργούν ως γηραιολυτικά φάρμακα που μπορούν να στοχεύσουν και να απαλείψουν επιλεκτικά τα γηρασμένα κύτταρα περί το 97% (Ozsvari et al. 2018²¹⁹).

Είναι ενδιαφέρον ότι σε ασθενείς με κυστική ίνωση, η αζιθρομυκίνη στοχεύοντας ινοβλάστες αποτρέπει την ίνωση παρατείνοντας σημαντικά το προσδόκιμο επιβίωσης των ασθενών, επιβραδύνοντας την αναπνευστική ανεπάρκεια . Επίσης, η ίνωση επέρχεται και με το πέρας του χρόνου καθώς οι μυοϊνοβλαστές αυξάνονται όσο γηράσκουν. Η αζιθρομυκίνη δρα λειτουργικά ως αντιφλεγμονώδες φάρμακο, μειώνει τους μεσολαβητές SASP, με εμφανή μείωση της IL-1β και της IL-6 με την υψηλή αντιγηραντική της ιδιότητα να αναστέλλει την πρωτεϊνοσύνθεση.

Είναι ενδιαφέρον ότι η αζιθρομυκίνη αναστέλλει επίσης την αντιγραφή άλλων ιών, όπως ο Ζίκα και ο Έμπολα (Retallack et al., 2016²²⁰). Το παράδειγμα της Αζιθρομυκίνης δημιουργεί ερωτήματα για την ικανότητα και άλλων αναστολέων της πρωτεϊνοσύνθεσης, όπως η ραπαμυκίνη η οποία εμφανίζει αντιγηραντικές ιδιότητες (Blagosklonny et al., 2019²²¹)

Ομοίως, η δοξυκυκλίνη εμποδίζει αποτελεσματικά την αντιγραφή του ιού του δάγκειου πυρετού , μειώνει τα επίπεδα IL-6 στον ορό κατά τη διάρκεια της ιογενούς λοίμωξης και συμπεριφέρεται ως αντιγηραντικό φάρμακο (Houtkooper et al., 2013²²²).

Ως εκ τούτου, η δοξυκυκλίνη θα μπορούσε να προσφέρει μια άλλη φθηνή, αλλά πολύ ελκυστική επιλογή για τη θεραπεία ή την πρόληψη της μόλυνσης από τον COVID-19.

Τέλος, μια πρόσφατη μελέτη, ανέδειξε, την Κουερσετίνη ως έναν πιθανό συνθέτη με την ACE-2 για τη μείωση των αλληλεπιδράσεων ιού-ξενιστή (Smith et al., 2020²²³). Η κουερσετίνη έχει επίσης ως συμπλήρωμα διατροφής διαθέτει γηραιολυτικές ιδιότητες (Cavalcante et al., 2020²²⁴).

Τέλος , η σχέση που δημιουργείται μεταξύ νόσησης από COVID-19 και της προχωρημένης ηλικίας παρουσιάζει προοπτικές στη χρήση γηραιολυτικών φαρμάκων στην πρόληψη της νόσου COVID-19 (Sargiacomo et al., 2020²²⁵).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ:

Την τελευταία πενταετία, ο μηχανισμός της κυτταρικής γήρανσης (senescence) αποτέλεσε ολοένα και περισσότερο στόχο έρευνας στην επιστημονική κοινότητα. Η κατανόηση των μηχανισμών που εμπλέκονται στο συγκεκριμένο μονοπάτι και η ανακάλυψη της ιδιότητας μέρους των κυττάρων ενός ιστού να λαμβάνουν εκκριτικό φαινότυπο που σχετίζεται με τη γήρανση (Senescence-Associated Secretory Phenotype - SASP) οδήγησε στην εύρεση μιας ισχυρής συσχέτισης του μηχανισμού κυτταρικής γήρανσης με τον παθογενετικό μηχανισμό πολλών ασθενειών. Η ανεύρεση παραγόντων που δύνανται να τροποποιήσουν την κυτταρική αυτή οδό, δηλαδή των γηραιολυτικών (senolytics), φαίνεται να αποτελεί, σε πειραματικό στάδιο, χρήσιμο εργαλείο για την αντιμετώπιση πολλών σχετιζόμενων νοσημάτων όπως τύπους καρκίνου, την οστεοπόρωση, το μεταβολικό σύνδρομο και νευροεκφυλιστικές παθήσεις. Η περαιτέρω έρευνα και πειραματική εφαρμογή των συγκεκριμένων φαρμάκων εικάζεται ότι θα οδηγήσει στο άμεσο μέλλον στην μαζική εφαρμογή τους στην κλινική πράξη βελτιώνοντας την έκβαση σοβαρών νοσημάτων με μεγάλο κόστος στο σύστημα υγείας. Ωστόσο, περαιτέρω έρευνες απαιτούνται προς εξασφάλιση της δυνατότητας ασφαλούς χρήσης τους.

Βιβλιογραφία

- 1) Anna Maria Lewandowska , Marcin Rudzki , Sławomir Rudzki , Tomasz Lewandowski , Barbara Laskowska. Environmental risk factors for cancer - review paper. *Ann Agric Environ Med* 2019 Mar 22;26(1)
- 2) World Health Organization, Cancer Fact Sheets, July 9, 2019 <http://gco.iarc.fr/today/factsheets-cancers>
- 3) BERENBLUM I, SHUBIK P. The persistence of latent tumour cells induced in the mouse's skin by a single application of 9:10-dimethyl-1:2-benzanthracene. *Br J Cancer*. 1949 Sep; 3(3):384-6.)
- 4) Hecker. Phorbol esters from croton oil. Chemical nature and biological activities. *Naturwissenschaften*. 1967 Jun; 54(11):282-4.).
- 5) Kraemer K.H., Seidman M.M. Use of supF, an Escherichia coli tyrosine suppressor tRNA gene, as a mutagenic target in shuttle-vector plasmids. *Mutat. Res*. 1989;220:61–72. doi: 10.1016/0165-1110(89)90011-0.
- 6) Y Ohkawa, K Iwata, H Shibuya, H Fujiki, N Inui . A rapid, simple screening method for skin-tumor promoters using mouse peritoneal macrophages in vitro . *Cancer Lett*. 1984 Jan;21(3):253-60. doi: 10.1016/0304-3835(84)90003-x.
- 7) K W Kinzler, B Vogelstein. Lessons from hereditary colorectal cancer. *Cell*. 1996 Oct 18;87(2):159-70. doi: 10.1016/s0092-8674(00)81333-1.
- 8) Seth Rakoff-Nahoum. Why cancer and inflammation?. *Yale J Biol Med*. 2006 Dec;79(3-4):123-30.
- 9) Christopher J. Kemp. Animal models of chemical carcinogenesis: driving breakthroughs in cancer research for 100 years. *Cold Spring Harb Protoc*. 2015 Oct 1; 2015(10):865-74.).
- 10) J DiGiovanni. Multistage carcinogenesis in mouse skin. *Pharmacol Ther*. 1992;54(1):63-128. doi: 10.1016/0163-7258(92)90051-z.
- 11) M Castagna, Y Takai, K Kaibuchi, K Sano, U Kikkawa, Y Nishizuka. Direct activation of calcium-activated, phospholipid-dependent protein kinase by tumor-promoting phorbol esters. *J Biol Chem*, 1982 Jul 10;257(13):7847-51.
- 12) Slaga TJ, Klein-Szanto AJ, Triplett LL, et al. Skin tumor-promoting activity of benzoyl peroxide, a widely used free radical-generating compound. *Science*. 1981;28;213 (4511):1023-5.
- 13) Hirota Fujiki , Eisaburo Sueoka, Masami Suganuma. Tumor promoters: from chemicals to inflammatory proteins. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2013 Oct;139(10):1603-14. doi: 10.1007/s00432-013-1455-8. Epub 2013 Jun 12.
- 14) Ashis K Basu, DNA Damage, Mutagenesis and Cancer. *Int J Mol Sci*. 2018 Mar 23;19(4):970. doi: 10.3390/ijms19040970.
- 15) Knudson AG . Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1971;68:820–3.
- 16) Tariq Alzahem, Waleed Alsarhani, Abdullah Albahlal, Leen Abu Safieh, Saad Aldahmash. History And Genetics Of Retinoblastoma, Intechopen2019;
- 17) Ben Ho Park, , Bert Vogelstein, Retinoblastoma—A Paradigm for Tumor-Suppressor Gene Function, *Holland-Frei Cancer Medicine*. 6th edition
- 18) Cavenee WK , Dryja TP , Phillips RA . et al. Expression of recessive alleles by chromosomal mechanisms in retinoblastoma. *Nature*. 1983;305:779–84
- 19) Holland JF, Frei E, Bast RC, et al, editors. *Cancer medicine*, 4th ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1997. p. 97–117

- 20) Hansen MF , Koufos A , Gallie BL . et al. Osteosarcoma and retinoblastoma: a shared chromosomal mechanism revealing recessive predisposition. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1985;82:6216–20.
- 21) Terence W O'Neill , David T Felson . Mechanisms of Osteoarthritis (OA) Pain. *Curr Osteoporos Rep*. 2018 Oct;16(5):611–616. doi: 10.1007/s11914-018-0477-1.
- 22) Ali Mobasheri, Simo Saarakkala, Mikko Finnilä, Morten A. Karsdal, Anne-Christine Bay-Jensen, Willem Evert van Spil, Recent advances in understanding the phenotypes of osteoarthritis, *F1000Research* 2019, 8(F1000 Faculty Rev):2091
- 23) Jie Shen , Yousef Abu-Amer , Regis J O'Keefe , Audrey McAlinden . Inflammation and epigenetic regulation in osteoarthritis. *Connect Tissue Res*. 2017 Jan;58(1):49-63.doi: 10.1080/03008207.2016.1208655.Epub 2016 Jul 7.
- 24) Yogita Rochlani, Naga Venkata Pothineni, Swathi Kovelamudi, Jawahar L. Mehta. Metabolic syndrome: pathophysiology, management, and modulation by natural compounds. *Ther Adv Cardiovasc Dis*. 2017 Aug; 11(8): 215–225.
- 25) Tooke JE, M M Hannemann. Adverse endothelial function and the insulin resistance syndrome. *J Intern Med* 2000; 247(4): 425–431
- 26) Brittany N. Dugger, Dennis W Dickson. 2017 Jul, Cold Spring Harb Perspect Biol., 9(7):a028035
- 27) John P Blass, Alzheimer's disease, *Disease-a-Month*, Volume 31, Issue 4, 1985, Pages 8-69, ISSN 0011-5029, [https://doi.org/10.1016/0011-5029\(85\)90025-2](https://doi.org/10.1016/0011-5029(85)90025-2)
- 28) Richard A Armstrong . The molecular biology of senile plaques and neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease. *Folia Neuropathol*, 2009;47(4):289-99.
- 29) Massimo Tabaton , Alessandra Piccini. Role of water-soluble amyloid-beta in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Int J Exp Pathol*. 2005 Jun;86(3):139-45.doi: 10.1111/j.0959-9673.2005.00428.x.
- 30) Brion JP. Neurofibrillary tangles and Alzheimer's disease. *Eur Neurol*. 1998 Oct;40(3):130-40. doi: 10.1159/000007969. PMID: 9748670.
- 31) Metaxas A, Kempf SJ. Neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease: elucidation of the molecular mechanism by immunohistochemistry and tau protein phospho-proteomics. *Neural Regen Res*. 2016 Oct;11(10):1579-1581. doi: 10.4103/1673-5374.193234. PMID: 27904486; PMCID: PMC5116834.
- 32) Lleó A, Núñez-Llaves R, Alcolea D, Chiva C, Balateu-Pañós D, Colom-Cadena M, Gomez-Giro G, Muñoz L, Querol-Vilaseca M, Pegueroles J, Rami L, Lladó A, Molinuevo JL, Tainta M, Clarimón J, Spires-Jones T, Blesa R, Fortea J, Martínez-Lage P, Sánchez-Valle R, Sabidó E, Bayés À, Belbin O. Changes in Synaptic Proteins Precede Neurodegeneration Markers in Preclinical Alzheimer's Disease Cerebrospinal Fluid. *Mol Cell Proteomics*. 2019 Mar;18(3):546-560. doi: 10.1074/mcp.RA118.001290. Epub 2019 Jan 3. PMID: 30606734; PMCID: PMC6398205.
- 33) Cai Y, An SS, Kim S. Mutations in presenilin 2 and its implications in Alzheimer's disease and other dementia-associated disorders. *Clin Interv Aging*. 2015 Jul 14;10:1163-72. doi: 10.2147/CIA.S85808. PMID: 26203236; PMCID: PMC4507455.
- 34) Giau VV, Bagyinszky E, An SS, Kim SY. Role of apolipoprotein E in neurodegenerative diseases. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2015 Jul 16;11:1723-37. doi: 10.2147/NDT.S84266. PMID: 26213471; PMCID: PMC4509527.
- 35) Croze ML, Zimmer L. Ozone Atmospheric Pollution and Alzheimer's Disease: From Epidemiological Facts to Molecular Mechanisms. *J Alzheimers Dis*. 2018;62(2):503-522. doi: 10.3233/JAD-170857. PMID: 29480184.

- 36) Hu N, Yu JT, Tan L, Wang YL, Sun L, Tan L. Nutrition and the risk of Alzheimer's disease. *Biomed Res Int.* 2013;2013:524820. doi: 10.1155/2013/524820. Epub 2013 Jun 20. PMID: 23865055; PMCID: PMC3705810.
- 37) Muzambi R, Bhaskaran K, Brayne C, Smeeth L, Warren-Gash C. Common bacterial infections and risk of incident cognitive decline or dementia: a systematic review protocol. *BMJ Open.* 2019 Sep 12;9(9):e030874. doi: 10.1136/bmjopen-2019-030874. PMID: 31515431; PMCID: PMC6747671.
- 38) de Bruijn RF, Ikram MA. Cardiovascular risk factors and future risk of Alzheimer's disease. *BMC Med.* 2014 Nov 11;12:130. doi: 10.1186/s12916-014-0130-5. PMID: 25385322; PMCID: PMC4226863.
- 39) Lee HJ, Seo HI, Cha HY, Yang YJ, Kwon SH, Yang SJ. Diabetes and Alzheimer's Disease: Mechanisms and Nutritional Aspects. *Clin Nutr Res.* 2018 Oct;7(4):229-240. doi: 10.7762/cnr.2018.7.4.229. Epub 2018 Oct 23. PMID: 30406052; PMCID: PMC6209735.
- 40) Kovacs G.G. Tauopathies. In: Kovacs G.G., Alafuzoff I., editors. *Handbook of Clinical Neurology.* Volume 145. Elsevier; Amsterdam, The Netherlands: 2018. pp. 355–368
- 41) 2020 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement.* 2020 Mar 10. doi: 10.1002/alz.12068. Epub ahead of print. PMID: 32157811.
- 42) Trinczek B, Ebner A, Mandelkow EM, Mandelkow E. Tau regulates the attachment/detachment but not the speed of motors in microtubule-dependent transport of single vesicles and organelles. *J Cell Sci.* 1999 Jul;112 (Pt 14):2355-67. doi: 10.1242/jcs.112.14.2355. PMID: 10381391.
- 43) Marciniak E, Leboucher A, Caron E, Ahmed T, Tailleux A, Dumont J, Issad T, Gerhardt E, Pagesy P, Vileno M, Bournonville C, Hamdane M, Bantubungi K, Lancel S, Demeyer D, Eddarkaoui S, Vallez E, Vieau D, Humez S, Faivre E, Grenier-Boley B, Outeiro TF, Staels B, Amouyel P, Balschun D, Buee L, Blum D. Tau deletion promotes brain insulin resistance. *J Exp Med.* 2017 Aug 7;214(8):2257-2269. doi: 10.1084/jem.20161731. Epub 2017 Jun 26. PMID: 28652303; PMCID: PMC5551570.
- 44) Goedert M, Spillantini MG, Jakes R, Rutherford D, Crowther RA. Multiple isoforms of human microtubule-associated protein tau: sequences and localization in neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease. *Neuron.* 1989 Oct;3(4):519-26. doi: 10.1016/0896-6273(89)90210-9. PMID: 2484340.
- 45) Trojanowski JQ, Lee VM. Pathological tau: a loss of normal function or a gain in toxicity? *Nat Neurosci.* 2005 Sep;8(9):1136-7. doi: 10.1038/nn0905-1136. PMID: 16127446.
- 46) Ramachandran G, Udgaonkar JB. Mechanistic studies unravel the complexity inherent in tau aggregation leading to Alzheimer's disease and the tauopathies. *Biochemistry.* 2013 Jun 18;52(24):4107-26. doi: 10.1021/bi400209z. Epub 2013 Jun 6. PMID: 23721410.
- 47) Tepper K, Biernat J, Kumar S, Wegmann S, Timm T, Hübschmann S, Redecke L, Mandelkow EM, Müller DJ, Mandelkow E. Oligomer formation of tau protein hyperphosphorylated in cells. *J Biol Chem.* 2014 Dec 5;289(49):34389-407. doi: 10.1074/jbc.M114.611368. Epub 2014 Oct 22. PMID: 25339173; PMCID: PMC4256367.
- 48) Chin KS, Teodorczuk A, Watson R. Dementia with Lewy bodies: Challenges in the diagnosis and management. *Aust N Z J Psychiatry.* 2019 Apr;53(4):291-303. doi: 10.1177/0004867419835029. Epub 2019 Mar 8. PMID: 30848660.
- 49) Brenowitz WD, Keene CD, Hawes SE, Hubbard RA, Longstreth WT Jr, Woltjer RL, Crane PK, Larson EB, Kukull WA. Alzheimer's disease neuropathologic change, Lewy body disease, and vascular brain injury in clinic- and community-based samples. *Neurobiol Aging.* 2017 May;53:83-92. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2017.01.017. Epub 2017 Jan 30. PMID: 28236716; PMCID: PMC5385292.
- 50) Haider A, Spurling BC, Sánchez-Manso JC. Lewy Body Dementia. 2022 Jul 5. In: *StatPearls [Internet].* Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan–. PMID: 29494048.
- 51) Kerr JF. History of the events leading to the formulation of the apoptosis concept. *Toxicology.* 2002 Dec 27;181-182:471-4. doi: 10.1016/s0300-483x(02)00457-2. PMID: 12505355.

- 52) Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer*. 1972 Aug;26(4):239-57. doi: 10.1038/bjc.1972.33. PMID: 4561027; PMCID: PMC2008650.
- 53) King KL, Cidlowski JA. Cell cycle regulation and apoptosis. *Annu Rev Physiol*. 1998;60:601-17. doi: 10.1146/annurev.physiol.60.1.601. PMID: 9558478.
- 54) Matthew J Regulski, Cellular Senescence: What, Why, and How, *Wounds* 2017 Jun;29(6):168-174.
- 55) Kara J Turner, Vimal Vasu, Darren K Griffin, Telomere Biology and Human Phenotype, *Cells*. 2019 Jan 19;8(1):73.
- 56) J D Griffith, L Comeau, S Rosenfield, R M Stansel, A Bianchi, H Moss, T de Lange, Mammalian telomeres end in a large duplex loop, *Cell*. 1999 May 14;97(4):503-14.
- 57) Ylli Doksan, John Y Wu, Titia de Lange, Xiaowei Zhuang, Super-resolution fluorescence imaging of telomeres reveals TRF2-dependent T-loop formation, *Cell*. 2013 Oct 10;155(2):345-356
- 58) Titia de Lange, Shelterin: the protein complex that shapes and safeguards human telomeres, *Genes Dev*. 2005 Sep 15;19(18):2100-10.
- 59) Paula Martínez, Maria A. Blasco, Role of shelterin in cancer and aging, *Aging Cell*. 2010 Oct;9(5):653-66.
- 60) Watson J. Origin of concatemeric T7 DNA. *Nat. N. Biol*. 1972;239:197–201.
- 61) Olovnikov AM. A theory of marginotomy: The incomplete copying of template margin in enzymatic synthesis of polynucleotides and biological significance of the phenomenon. *J. Theor. Biol*. 1971;41:181–190.
- 62) Lin Liu, Susan M Bailey, Maja Okuka, Purificación Muñoz, Chao Li, Lingjun Zhou, Chao Wu, Eva Czerwiec, Laurel Sandler, Andreas Seyfang, Maria A Blasco, David L Keefe, Telomere lengthening early in development, *Nat Cell Biol*. 2007 Dec;9(12):1436-41.
- 63) Ignacio Flores, Andres Canela, Elsa Vera, Agueda Tejera, George Cotsarelis, María A Blasco, The longest telomeres: a general signature of adult stem cell compartments, *Genes Dev*. 2008 Mar 1;22(5):654-67.
- 64) Rosa M Marion, Katerina Strati, Han Li, Agueda Tejera, Stefan Schoeftner, Sagrario Ortega, Manuel Serrano, Maria A Blasco, Telomeres acquire embryonic stem cell characteristics in induced pluripotent stem cells, *Cell Stem Cell*. 2009 Feb 6;4(2):141-54.
- 65) Paulo F L da Silva, Björn Schumacher, DNA damage responses in ageing, *Open Biol*. 2019 Nov 29;9(11):190168.
- 66) Roberta Visconti, Domenico Grieco, New insights on oxidative stress in cancer, *Curr Opin Drug Discov Devel*. 2009 Mar;12(2):240-5.
- 67) Simone Reuter, Subash C Gupta, Madan M Chaturvedi, Bharat B Aggarwal, Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked?, *Free Radic Biol Med*. 2010 Dec 1;49(11):1603-16.
- 68) Lawrence A. Loeb, Raymond J. Monnat Jr, DNA polymerases and human disease, *Nature Reviews Genetics* volume 9, pages 594–604 (2008)
- 69) Thomas A Kunkel, DNA replication fidelity, *J Biol Chem*. 2004 Apr 23;279(17):16895-8.
- 70) T A Kunkel, Evolving views of DNA replication (in)fidelity, *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*. 2009;74:91-101.
- 71) Steven D Kunkel, Manish Suneja, Scott M Ebert, Kale S Bongers, Daniel K Fox, Sharon E Malmberg, Fariborz Alipour, Richard K Shields, Christopher M Adams, mRNA expression signatures of human skeletal muscle atrophy identify a natural compound that increases muscle mass, *Cell Metab*. 2011 Jun 8;13(6):627-38
- 72) Enrique Viguera, Danielle Canceill, S.Dusko Ehrlich, Replication slippage involves DNA polymerase pausing and dissociation, *EMBO J* (2001)20:2587-2595
- 73) Jayanta Chatterjee, Florian Rechenmacher, Horst Kessler, N-methylation of peptides and proteins: an important element for modulating biological functions, *Angew Chem Int Ed Engl*. 2013 Jan 2;52(1):254-69.

- 74) Béata G Vértessy, Judit Tóth, Keeping uracil out of DNA: physiological role, structure and catalytic mechanism of dUTPases, *Acc Chem Res.* 2009 Jan 20;42(1):97-106.
- 75) Wang JC. Cellular roles of DNA topoisomerases: a molecular perspective. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2002 Jun;3(6):430-40. doi: 10.1038/nrm831. PMID: 12042765.
- 76) Pommier Y. Topoisomerase I inhibitors: camptothecins and beyond. *Nat Rev Cancer.* 2006 Oct;6(10):789-802. doi: 10.1038/nrc1977. PMID: 16990856.
- 77) Stewart L, Redinbo MR, Qiu X, Hol WG, Champoux JJ. A model for the mechanism of human topoisomerase I. *Science.* 1998 Mar 6;279(5356):1534-41. doi: 10.1126/science.279.5356.1534. PMID: 9488652.
- 78) Carey JF, Schultz SJ, Sisson L, Fazio TG, Champoux JJ. DNA relaxation by human topoisomerase I occurs in the closed clamp conformation of the protein. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003 May 13;100(10):5640-5. doi: 10.1073/pnas.1031537100. Epub 2003 Apr 23. PMID: 12711735; PMCID: PMC156254.
- 79) Pommier Y, Cherfils J. Interfacial inhibition of macromolecular interactions: nature's paradigm for drug discovery. *Trends Pharmacol Sci.* 2005 Mar;26(3):138-45. doi: 10.1016/j.tips.2005.01.008. PMID: 15749159.
- 80) Pommier Y, Marchand C. Interfacial inhibitors of protein-nucleic acid interactions. *Curr Med Chem Anticancer Agents.* 2005 Jul;5(4):421-9. doi: 10.2174/1568011054222337. PMID: 16101492.
- 81) Staker BL, Hjerrild K, Feese MD, Behnke CA, Burgin AB Jr, Stewart L. The mechanism of topoisomerase I poisoning by a camptothecin analog. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002 Nov 26;99(24):15387-92. doi: 10.1073/pnas.242259599. Epub 2002 Nov 8. PMID: 12426403; PMCID: PMC137726.
- 82) Han, se hee & Hahm, Soo-Hyun & An, Tran & Chung, Ji & Hong, Myoung-Ki & Paik, Hyun-Dong & Kim, Key-Sun & Han, Ye. (2015). A physical association between the human mutY homolog (hMYH) and DNA topoisomerase II-binding protein 1 (hTopBP1) regulates Chk1-induced cell cycle arrest in HEK293 cells. *Cell & bioscience.* 5. 50. 10.1186/s13578-015-0042-x.
- 83) Burgin AB Jr, Huizenga BN, Nash HA. A novel suicide substrate for DNA topoisomerases and site-specific recombinases. *Nucleic Acids Res.* 1995 Aug 11;23(15):2973-9. doi: 10.1093/nar/23.15.2973. PMID: 7659520; PMCID: PMC307138.
- 84) Pourquier P, Pommier Y. Topoisomerase I-mediated DNA damage. *Adv Cancer Res.* 2001;80:189-216. doi: 10.1016/s0065-230x(01)80016-6. PMID: 11034544.
- 85) Meng Y, Zhang Y, Jia Z. Synaptic transmission and plasticity in the absence of AMPA glutamate receptor GluR2 and GluR3. *Neuron.* 2003 Jul 3;39(1):163-76. doi: 10.1016/s0896-6273(03)00368-4. PMID: 12848940.
- 86) Lindahl T, Barnes DE. Repair of endogenous DNA damage. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* 2000;65:127-33. doi: 10.1101/sqb.2000.65.127. PMID: 12760027.
- 87) Lindahl T. Instability and decay of the primary structure of DNA. *Nature.* 1993 Apr 22;362(6422):709-15. doi: 10.1038/362709a0. PMID: 8469282.
- 88) Bailly V, Verly WG. Importance of thiols in the repair mechanisms of DNA containing AP (apurinic or apyrimidinic) sites. *Nucleic Acids Res.* 1988 Oct 25;16(20):9489-96. doi: 10.1093/nar/16.20.9489. PMID: 3263620; PMCID: PMC338758.
- 89) Waters LS, Walker GC. The critical mutagenic translesion DNA polymerase Rev1 is highly expressed during G(2)/M phase rather than S phase. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006 Jun 13;103(24):8971-6. doi: 10.1073/pnas.0510167103. Epub 2006 Jun 2. PMID: 16751278; PMCID: PMC1482550.
- 90) Skvortsova K, Stirzaker C, Taberlay P. The DNA methylation landscape in cancer. *Essays Biochem.* 2019 Dec 20;63(6):797-811. doi: 10.1042/EBC20190037. PMID: 31845735; PMCID: PMC6923322.

- 91) Henle ES, Linn S. Formation, prevention, and repair of DNA damage by iron/hydrogen peroxide. *J Biol Chem.* 1997 Aug 1;272(31):19095-8. doi: 10.1074/jbc.272.31.19095. PMID: 9235895.
- 92) Bjelland S, Seeberg E. Mutagenicity, toxicity and repair of DNA base damage induced by oxidation. *Mutat Res.* 2003 Oct 29;531(1-2):37-80. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2003.07.002. PMID: 14637246.
- 93) Cadet J, Douki T, Ravanat JL. Oxidatively generated base damage to cellular DNA. *Free Radic Biol Med.* 2010 Jul 1;49(1):9-21. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.03.025. Epub 2010 Apr 2. PMID: 20363317.
- 94) Cadet J, Douki T. Oxidatively generated damage to DNA by UVA radiation in cells and human skin. *J Invest Dermatol.* 2011 May;131(5):1005-7. doi: 10.1038/jid.2011.51. PMID: 21494240.
- 95) Cadet J, Loft S, Olinski R, Evans MD, Bialkowski K, Richard Wagner J, Dedon PC, Møller P, Greenberg MM, Cooke MS. Biologically relevant oxidants and terminology, classification and nomenclature of oxidatively generated damage to nucleobases and 2-deoxyribose in nucleic acids. *Free Radic Res.* 2012 Apr;46(4):367-81. doi: 10.3109/10715762.2012.659248. Epub 2012 Feb 22. PMID: 22263561; PMCID: PMC3864884.
- 96) Ravanat JL, Cadet J, Douki T. Oxidatively generated DNA lesions as potential biomarkers of in vivo oxidative stress. *Curr Mol Med.* 2012 Jul 1;12(6):655-71. doi: 10.2174/156652412800792651. PMID: 22292434.
- 97) Cadet J, Wagner JR. Oxidatively generated base damage to cellular DNA by hydroxyl radical and one-electron oxidants: similarities and differences. *Arch Biochem Biophys.* 2014 Sep 1;557:47-54. doi: 10.1016/j.abb.2014.05.001. Epub 2014 May 10. PMID: 24820329.
- 98) Riley PA. Free radicals in biology: oxidative stress and the effects of ionizing radiation. *Int J Radiat Biol.* 1994 Jan;65(1):27-33. doi: 10.1080/09553009414550041. PMID: 7905906.
- 99) Matés JM, Pérez-Gómez C, Núñez de Castro I. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem.* 1999 Nov;32(8):595-603. doi: 10.1016/s0009-9120(99)00075-2. PMID: 10638941.
- 100) Matés JM, Sánchez-Jiménez F. Antioxidant enzymes and their implications in patho-physiologic processes. *Front Biosci.* 1999 Mar 15;4:D339-45. doi: 10.2741/mates. PMID: 10077544.
- 101) Giacco F, Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications. *Circ Res.* 2010 Oct 29;107(9):1058-70. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.110.223545. PMID: 21030723; PMCID: PMC2996922.
- 102) Liou GY, Storz P. Reactive oxygen species in cancer. *Free Radic Res.* 2010 May;44(5):479-96. doi: 10.3109/10715761003667554. PMID: 20370557; PMCID: PMC3880197.
- 103) Mohsenzadegan M, Mirshafiey A. The immunopathogenic role of reactive oxygen species in Alzheimer disease. *Iran J Allergy Asthma Immunol.* 2012 Sep;11(3):203-16. PMID: 22947905.
- 104) Dias V, Junn E, Mouradian MM. The role of oxidative stress in Parkinson's disease. *J Parkinsons Dis.* 2013;3(4):461-91. doi: 10.3233/JPD-130230. PMID: 24252804; PMCID: PMC4135313.
- 105) Imlay JA, Linn S. DNA damage and oxygen radical toxicity. *Science.* 1988 Jun 3;240(4857):1302-9. doi: 10.1126/science.3287616. PMID: 3287616.
- 106) Dizdaroglu M, Rao G, Halliwell B, Gajewski E. Damage to the DNA bases in mammalian chromatin by hydrogen peroxide in the presence of ferric and cupric ions. *Arch Biochem Biophys.* 1991 Mar;285(2):317-24. doi: 10.1016/0003-9861(91)90366-q. PMID: 1654771.
- 107) Breen AP, Murphy JA. Reactions of oxyl radicals with DNA. *Free Radic Biol Med.* 1995 Jun;18(6):1033-77. doi: 10.1016/0891-5849(94)00209-3. PMID: 7628729.

- 108) Winterbourn CC. Reconciling the chemistry and biology of reactive oxygen species. *Nat Chem Biol*. 2008 May;4(5):278-86. doi: 10.1038/nchembio.85. PMID: 18421291.
- 109) Chetsanga CJ, Lozon M, Makaroff C, Savage L. Purification and characterization of *Escherichia coli* formamidopyrimidine-DNA glycosylase that excises damaged 7-methylguanine from deoxyribonucleic acid. *Biochemistry*. 1981 Sep 1;20(18):5201-7. doi: 10.1021/bi00521a016. PMID: 7028101.
- 110) Friedberg EC, Meira LB. Database of mouse strains carrying targeted mutations in genes affecting biological responses to DNA damage Version 7. *DNA Repair (Amst)*. 2006 Feb 3;5(2):189-209. doi: 10.1016/j.dnarep.2005.09.009. Epub 2005 Nov 9. PMID: 16290067.
- 111) Omar Desoukya ND, Zhou Guangming. Targeted and non-targeted effects of ionizing radiation. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*. 2015;8(2):247–254.
- 112) O'Neill P, Wardman P. Radiation chemistry comes before radiation biology. *Int J Radiat Biol*. 2009 Jan;85(1):9-25. doi: 10.1080/09553000802640401. PMID: 19205982.
- 113) Vignard J, Mirey G, Salles B. Ionizing-radiation induced DNA double-strand breaks: a direct and indirect lighting up. *Radiother Oncol*. 2013 Sep;108(3):362-9. doi: 10.1016/j.radonc.2013.06.013. Epub 2013 Jul 9. PMID: 23849169.
- 114) Jilani A, Ramotar D, Slack C, Ong C, Yang XM, Scherer SW, Lasko DD. Molecular cloning of the human gene, PNKP, encoding a polynucleotide kinase 3'-phosphatase and evidence for its role in repair of DNA strand breaks caused by oxidative damage. *J Biol Chem*. 1999 Aug 20;274(34):24176-86. doi: 10.1074/jbc.274.34.24176. PMID: 10446192.
- 115) Zhou Y, Eppenberger-Castori S, Eppenberger U, Benz CC. The NFkappaB pathway and endocrine-resistant breast cancer. *Endocr Relat Cancer*. 2005 Jul;12 Suppl 1:S37-46. doi: 10.1677/erc.1.00977. PMID: 16113098.
- 116) El-Khamisy SF, Hartsuiker E, Caldecott KW. TDP1 facilitates repair of ionizing radiation-induced DNA single-strand breaks. *DNA Repair (Amst)*. 2007 Oct 1;6(10):1485-95. doi: 10.1016/j.dnarep.2007.04.015. Epub 2007 Jun 28. PMID: 17600775.
- 117) Hutchinson F. Chemical changes induced in DNA by ionizing radiation. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol*. 1985;32:115-54. doi: 10.1016/s0079-6603(08)60347-5. PMID: 3003798.
- 118) Iliakis G. The role of DNA double strand breaks in ionizing radiation-induced killing of eukaryotic cells. *Bioessays*. 1991 Dec;13(12):641-8. doi: 10.1002/bies.950131204. PMID: 1789781.
- 119) Davies, R J.H. Ultraviolet radiation damage in DNA. *Biochem Soc Trans (1995) 23* (2): 407–418. <https://doi.org/10.1042/bst0230407>
- 120) Kiefer J, Effects of ultraviolet radiation on DNA, *Cgromosomal Alterations 2007* pp33-57
- 121) Demple B, Linn S. On the recognition and cleavage mechanism of *Escherichia coli* endodeoxyribonuclease V, a possible DNA repair enzyme. *J Biol Chem*. 1982 Mar 25;257(6):2848-55. PMID: 6277916.
- 122) Bose SN, Davies RJ, Sethi SK, McCloskey JA. Formation of an adenine-thymine photoadduct in the deoxydinucleoside monophosphate d(TpA) and in DNA. *Science*. 1983 May 13;220(4598):723-5. doi: 10.1126/science.6836308. PMID: 6836308.
- 123) Mitchell DL, Jen J, Cleaver JE. Relative induction of cyclobutane dimers and cytosine photohydrates in DNA irradiated in vitro and in vivo with ultraviolet-C and ultraviolet-B light. *Photochem Photobiol*. 1991 Nov;54(5):741-6. doi: 10.1111/j.1751-1097.1991.tb02084.x. PMID: 1665910.
- 124) You YH, Szabó PE, Pfeifer GP. Cyclobutane pyrimidine dimers form preferentially at the major p53 mutational hotspot in UVB-induced mouse skin tumors. *Carcinogenesis*. 2000 Nov;21(11):2113-7. doi: 10.1093/carcin/21.11.2113. PMID: 11062176.
- 125) Rastogi RP, Richa, Kumar A, Tyagi MB, Sinha RP. Molecular mechanisms of ultraviolet radiation-induced DNA damage and repair. *J Nucleic Acids*. 2010 Dec 16;2010:592980. doi: 10.4061/2010/592980. PMID: 21209706; PMCID: PMC3010660.

- 126) Kvam E, Tyrrell RM. Induction of oxidative DNA base damage in human skin cells by UV and near visible radiation. *Carcinogenesis*. 1997 Dec;18(12):2379-84. doi: 10.1093/carcin/18.12.2379. PMID: 9450485.
- 127) Douki T, Perdiz D, Gróf P, Kuluncsics Z, Moustacchi E, Cadet J, Sage E. Oxidation of guanine in cellular DNA by solar UV radiation: biological role. *Photochem Photobiol*. 1999 Aug;70(2):184-90. PMID: 10461457.
- 128) Sancar A. DNA excision repair. *Annu Rev Biochem*. 1996;65:43-81. doi: 10.1146/annurev.bi.65.070196.000355. Erratum in: *Annu Rev Biochem* 1997;66:VII. PMID: 8811174.
- 129) Eppink B, Tafel AA, Hanada K, van Drunen E, Hickson ID, Essers J, Kanaar R. The response of mammalian cells to UV-light reveals Rad54-dependent and independent pathways of homologous recombination. *DNA Repair (Amst)*. 2011 Nov 10;10(11):1095-105. doi: 10.1016/j.dnarep.2011.08.006. Epub 2011 Aug 31. PMID: 21885354.
- 130) Cooper GM. *The Cell: A Molecular Approach*. 2nd edition. Sunderland (MA): Sinauer Associates; 2000. Lysosomes. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9953/>
- 131) Fengjuan Wang, Raquel Gómez-Sintes, Patricia Boya, Lysosomal membrane permeabilization and cell death, *Traffic*. 2018 Dec;19(12):918-931.
- 132) Anastasia G Henry · Soheil Aghamohammadzadeh , Harry Samaroo Yi Chen , Kewa Mou , Elie Needle , Warren D Hirst, Pathogenic LRRK2 mutations, through increased kinase activity, produce enlarged lysosomes with reduced degradative capacity and increase ATP13A2 expression. *Hum Mol Genet*. 2015;24(21):6013-6028
- 133) Futerman AH, van Meer G. The cell biology of lysosomal storage disorders. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2004;5(7):554-565.
- 134) Repnik U, Hafner Cesen M, Turk B. Lysosomal membrane permeabilization in cell death: concepts and challenges. *Mitochondrion*. 2014;19:49-57
- 135) Kirkland JL, Tchkonja T. Cellular senescence: a translational perspective. *EBioMedicine* 2017; 21: 21–8.
- 136) J. L. Kirkland , T. Tchkonja, Senolytic drugs: from discovery to translation, *J Intern Med*. 2020 Aug 4 : 10.1111/joim.13141.
- 137) Jiang C, Liu G, Luckhardt T et al Serpine 1 induces alveolar type II cell senescence through activating p53–p21-Rb pathway in fibrotic lung disease. *Aging Cell* 2017; 16: 1114–24.
- 138) Campisi J. Aging, cellular senescence, and cancer. *Ann Rev Physiol* 2013; 75: 685–705.
- 139) Hsu CH, Altschuler SJ, Wu LF. Patterns of early p21 dynamics determine proliferation-senescence cell fate after, Chemotherapy. *Cell* 2019; 178: 361–373.e12.
- 140) Calcinotto A, Kohli J, Zagato E, Pellegrini L, Demaria M, Alimonti A. Cellular Senescence: Aging, Cancer, and Injury. *Physiol Rev*. 2019 Apr 1;99(2):1047-1078. doi: 10.1152/physrev.00020.2018. PMID: 30648461.
- 141) Hassan M, Watari H, AbuAlmaaty A, Ohba Y, Sakuragi N. Apoptosis and molecular targeting therapy in cancer. *Biomed Res Int*. 2014;2014:150845. doi: 10.1155/2014/150845. Epub 2014 Jun 12. Retraction in: *Biomed Res Int*. 2020 Aug 28;2020:2451249. PMID: 25013758; PMCID: PMC4075070.
- 142) Lopez J, Tait SW. Mitochondrial apoptosis: killing cancer using the enemy within. *Br J Cancer*. 2015 Mar 17;112(6):957-62. doi: 10.1038/bjc.2015.85. PMID: 25742467; PMCID: PMC4366906.
- 143) Savill J, Fadok V. Corpse clearance defines the meaning of cell death. *Nature*. 2000 Oct 12;407(6805):784-8. doi: 10.1038/35037722. PMID: 11048729.

- 144) Kurosaka K, Takahashi M, Watanabe N, Kobayashi Y. Silent cleanup of very early apoptotic cells by macrophages. *J Immunol.* 2003 Nov 1;171(9):4672-9. doi: 10.4049/jimmunol.171.9.4672. PMID: 14568942.
- 145) Xuebo Xu, Yueyang Lai, Zi-Chun Hua, Apoptosis and apoptotic body: disease message and therapeutic target potentials, *iosci Rep* (2019) 39 (1): BSR20180992
- 146) Rai NK, Tripathi K, Sharma D, Shukla VK. Apoptosis: a basic physiologic process in wound healing. *Int J Low Extrem Wounds.* 2005 Sep;4(3):138-44. doi: 10.1177/1534734605280018. PMID: 16100094.
- 147) Nakagawa T, Zhu H, Morishima N, Li E, Xu J, Yankner BA, Yuan J. Caspase-12 mediates endoplasmic-reticulum-specific apoptosis and cytotoxicity by amyloid-beta. *Nature.* 2000 Jan 6;403(6765):98-103. doi: 10.1038/47513. PMID: 10638761.
- 148) Kang SJ, Sanchez I, Jing N, Yuan J. Dissociation between neurodegeneration and caspase-11-mediated activation of caspase-1 and caspase-3 in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurosci.* 2003 Jul 2;23(13):5455-60. doi: 10.1523/JNEUROSCI.23-13-05455.2003. PMID: 12843244; PMCID: PMC6741245.
- 149) Fink SL, Cookson BT. Apoptosis, pyroptosis, and necrosis: mechanistic description of dead and dying eukaryotic cells. *Infect Immun.* 2005 Apr;73(4):1907-16. doi: 10.1128/IAI.73.4.1907-1916.2005. PMID: 15784530; PMCID: PMC1087413.
- 150) Xu J, Chi F, Guo T, Punj V, Lee WN, French SW, Tsukamoto H. NOTCH reprograms mitochondrial metabolism for proinflammatory macrophage activation. *J Clin Invest.* 2015 Apr;125(4):1579-90. doi: 10.1172/JCI76468. Epub 2015 Mar 23. PMID: 25798621; PMCID: PMC4396469.
- 151) Lomonosova E, Chinnadurai G. BH3-only proteins in apoptosis and beyond: an overview. *Oncogene.* 2008 Dec;27 Suppl 1(Suppl 1):S2-19. doi: 10.1038/onc.2009.39. PMID: 19641503; PMCID: PMC2928556.
- 152) Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol Pathol.* 2007 Jun;35(4):495-516. doi: 10.1080/01926230701320337. PMID: 17562483; PMCID: PMC2117903.
- 153) Schuler M, Green DR. Mechanisms of p53-dependent apoptosis. *Biochem Soc Trans.* 2001 Nov;29(Pt 6):684-8. doi: 10.1042/0300-5127:0290684. PMID: 11709054.
- 154) Abou-Ghali M, Stiban J. Regulation of ceramide channel formation and disassembly: Insights on the initiation of apoptosis. *Saudi J Biol Sci.* 2015 Nov;22(6):760-72. doi: 10.1016/j.sjbs.2015.03.005. Epub 2015 Mar 22. PMID: 26587005; PMCID: PMC4625378.
- 155) Ma Y, Hendershot LM. The role of the unfolded protein response in tumour development: friend or foe? *Nat Rev Cancer.* 2004 Dec;4(12):966-77. doi: 10.1038/nrc1505. PMID: 15573118.
- 156) Goldar S, Khaniani MS, Derakhshan SM, Baradaran B. Molecular mechanisms of apoptosis and roles in cancer development and treatment. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2015;16(6):2129-44. doi: 10.7314/apjcp.2015.16.6.2129. PMID: 25824729.
- 157) Shlyakhtina Y, Pavet V, Gronemeyer H. Dual role of DR5 in death and survival signaling leads to TRAIL resistance in cancer cells. *Cell Death Dis.* 2017 Aug 31;8(8):e3025. doi: 10.1038/cddis.2017.423. PMID: 29048428; PMCID: PMC5596601.
- 158) Wajant H. The Fas signaling pathway: more than a paradigm. *Science.* 2002 May 31;296(5573):1635-6. doi: 10.1126/science.1071553. PMID: 12040174.
- 159) Ellis RE, Jacobson DM, Horvitz HR. Genes required for the engulfment of cell corpses during programmed cell death in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics.* 1991 Sep;129(1):79-94. doi: 10.1093/genetics/129.1.79. PMID: 1936965; PMCID: PMC1204584.
- 160) J. Margolis, A. Spradling; Identification and behavior of epithelial stem cells in the *Drosophila* ovary. *Development* 1 November 1995; 121 (11): 3797–3807. doi: <https://doi.org/10.1242/dev.121.11.3797>
- 161) Vaux DL, Korsmeyer SJ. Cell death in development. *Cell.* 1999 Jan 22;96(2):245-54. doi: 10.1016/s0092-8674(00)80564-4. PMID: 9988219.

- 162) Meier, P., Finch, A. & Evan, G. Apoptosis in development. *Nature* 407, 796–801 (2000). <https://doi.org/10.1038/35037734>
- 163) Sager R. Senescence as a mode of tumor suppression. *Environ Health Perspect.* 1991 Jun;93:59-62. doi: 10.1289/ehp.919359. PMID: 1663451; PMCID: PMC1568048.
- 164) Reed JC. Dysregulation of apoptosis in cancer. *J Clin Oncol.* 1999 Sep;17(9):2941-53. doi: 10.1200/JCO.1999.17.9.2941. PMID: 10561374.
- 165) Campisi J. Cellular senescence as a tumor-suppressor mechanism. *Trends Cell Biol.* 2001 Nov;11(11):S27-31. doi: 10.1016/s0962-8924(01)02151-1. PMID: 11684439.
- 166) Hakem R, Mak TW. Animal models of tumor-suppressor genes. *Annu Rev Genet.* 2001;35:209-41. doi: 10.1146/annurev.genet.35.102401.090432. PMID: 11700283.
- 167) Miller RA. Extending life: scientific prospects and political obstacles. *Milbank Q.* 2002;80(1):155–74. doi: 10.1111/1468-0009.00006
- 168) Lopez-Otin C, Blasco MA, Partridge L, Serrano M, Kroemer G. The hallmarks of aging. *Cell.* 2013;153(6):1194–217. doi: 10.1016/j.cell.2013.05.039
- 169) Palmer AK, Gustafson B, Kirkland JL, Smith U. Cellular senescence: at the nexus between ageing and diabetes. *Diabetologia.* 2019;62(10):1835–41. doi: 10.1007/s00125-019-4934-x.)
- 170) Wissler Gerdes EO, Zhu Y, Tchkonina T, Kirkland JL. Discovery, Development, and Future Application of Senolytics: Theories and Predictions. *FEBS J.* 2020. doi: 10.1111/febs.15264
- 171) Wang B, Liu Z, Chen VP, Wang L, Inman CL, Zhou Y et al. Transplanting cells from old but not young donors causes physical dysfunction in older recipients. *Aging Cell.* 2020:e13106. doi: 10.1111/accel.13106
- 172) Hickson LJ, Langhi Prata LGP, Bobart SA, Evans TK, Giorgadze N, Hashmi SK et al. Senolytics decrease senescent cells in humans: Preliminary report from a clinical trial of Dasatinib plus Quercetin in individuals with diabetic kidney disease. *EBioMedicine.* 2019;47:446–56. doi:
- 173) Justice JN, Ferrucci L, Newman AB, Aroda VR, Bahnon JL, Divers J et al. A framework for selection of blood-based biomarkers for geroscience-guided clinical trials: report from the TAME Biomarkers Workgroup. *Geroscience.* 2018;40(5–6):419–36. doi: 10.1007/s11357-018-0042-y
- 174) Shah NP, Tran C, Lee FY, Chen P, Norris D, Sawyers CL. Overriding imatinib resistance with a novel ABL kinase inhibitor. *Science.* 2004;305:399–401
- 175) Kantarjian H, Shah NP, Hochhaus A, et al. Dasatinib versus imatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med.* 2010;362:2260–2270
- 176) Talpaz M, Saglio G, Atallah E, Rousselot P. Dasatinib dose management for the treatment of chronic myeloid leukemia. *Cancer.* 2018 Apr 15;124(8):1660-1672. doi: 10.1002/cncr.31232. Epub 2018 Jan 25. PMID: 29370463; PMCID: PMC5901015.
- 177) Tsai YF, Huang WC, Cho SF, Hsiao HH, Liu YC, Lin SF, Liu TC, Chang CS. Side effects and medication adherence of tyrosine kinase inhibitors for patients with chronic myeloid leukemia in Taiwan. *Medicine (Baltimore).* 2018 Jun;97(26):e11322. doi: 10.1097/MD.00000000000011322. PMID: 29953021; PMCID: PMC6039620.
- 178) Anand David A. V., Arulmoli R., Parasuraman S. Overviews of biological importance of quercetin: a bioactive flavonoid. *Pharmacognosy Reviews.* 2016;10(20):84–89. doi: 10.4103/0973-7847.194044
- 179) Fischer C., Speth V., Fleig-Eberenz S., Neuhaus G. Induction of zygotic polyembryos in wheat: influence of auxin polar transport. *Plant Cell.* 1997;9(10):1767–1780.
- 180) Granado-Serrano A. B., Martin M. A., Bravo L., Goya L., Ramos S. Quercetin modulates Nrf2 and glutathione-related defenses in HepG2 cells: involvement of p38. *Chemico-Biological Interactions.* 2012;195(2):154–164
- 181) Qin X. R., Zhang M. J., Gao X. N., Lin Y., Li M. A., Si-Yi H. E. Study on the anti-bacterial activity of quercetin. *Chemistry & Bioengineering.* 2009;26:55–57.

- 182) Tse C, Shoemaker AR, Adickes J, Anderson MG, Chen J, Jin S, Johnson EF, Marsh KC, Mitten MJ, Nimmer P, Roberts L, Tahir SK, Xiao Y, Yang X, Zhang H, Fesik S, Rosenberg SH, Elmore SW. ABT-263: a potent and orally bioavailable Bcl-2 family inhibitor. *Cancer Res.* 2008 May 1;68(9):3421-8. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-07-5836. PMID: 18451170.
- 183) Kumar, R. , Kumar, R. , Khursheed, R. , Awasthi, A. , Khurana, N. , Singh, S. K., Corrie, L. (2020). Development and validation of RP-HPLC method for estimation of fisetin in rat plasma. *South African Journal of Botany.* 10.1016/j.sajb.2020.05.010
- 184) Jang, K. Y. , Jeong, S. J. , Kim, S. H. , Jung, J. H. , Kim, J. H. , Koh, W. , Kim, S. H. (2012). Activation of reactive oxygen species/AMP activated protein kinase signaling mediates fisetin-induced apoptosis in multiple myeloma U266 cells. *Cancer Letters*, 319(2), 197–202. 10.1016/j.canlet.2012.01.008
- 185) Saleh T, Carpenter VJ, Tyutyunyk-Massey L, Murray G, Levenson JD, Souers AJ, Alotaibi MR, Faber AC, Reed J, Harada H, Gewirtz DA, Clearance of therapy-induced senescent tumor cells by the senolytic ABT-263 via interference with BCL-X_L-BAX interaction, *Mol Oncol.* 2020 Oct; 14(10):2504-2519.
- 186) Pungsrinont T., Sutter M.F., Ertingshausen M.C.C.M., Lakshmana G., Kokal M., Khan A.S., Baniahmad A. Senolytic compounds control a distinct fate of androgen receptor agonist- and antagonist-induced cellular senescent LNCaP prostate cancer cells. *Cell Biosci.* 2020;10:1–13. doi: 10.1186/s13578-020-00422-2.
- 187) Suvarna V, Singh V, Murahari M, Current overview on the clinical update of Bcl-2 anti-apoptotic inhibitors for cancer therapy., *Eur J Pharmacol.* 2019 Nov 5; 862():172655.
- 188) Henderson JT, Webber EM, Sawaya GF. Screening for ovarian Cancer: updated evidence report and systematic review for the us preventive services task force. *JAMA.* 2018;319:595–606. doi: 10.1001/jama.2017.21421
- 189) Jayson GC, Kohn EC, Kitchener HC, Ledermann JA. Ovarian cancer. *Lancet.* 2014;384:1376–1388. doi: 10.1016/S0140-6736(13)62146-7.
- 190) Seidman JD, Kurman RJ. Pathology of ovarian carcinoma. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2003;17:909–925. doi: 10.1016/S0889-8588(03)00061-3
- 191) Harwood M, Danielewska-Nikiel B, Borzelleca JF, Flamm GW, Williams GM, Lines TC. A critical review of the data related to the safety of quercetin and lack of evidence of in vivo toxicity, including lack of genotoxic/carcinogenic properties. *Food Chem Toxicol.* 2007;45:2179–2205. doi: 10.1016/j.fct.2007.05.015
- 192) Boots AW, Haenen GR, Bast A. Health effects of quercetin: from antioxidant to nutraceutical. *Eur J Pharmacol.* 2008;585:325–337. doi: 10.1016/j.ejphar.2008.03.008.
- 193) D'Andrea G. Quercetin: a flavonol with multifaceted therapeutic applications? *Fitoterapia.* 2015;106:256–271. doi: 10.1016/j.fitote.2015.09.018
- 194) Sharmila G, Bhat FA, Arunkumar R, Elumalai P, Raja Singh P, Senthilkumar K, et al. Chemopreventive effect of quercetin, a natural dietary flavonoid on prostate cancer in in vivo model. *Clin Nutr.* 2014;33:718–726. doi: 10.1016/j.clnu.2013.08.011

- 195) Vargas AJ, Burd R. Hormesis and synergy: pathways and mechanisms of quercetin in cancer prevention and management. *Nutr Rev.* 2010;68:418–428. doi: 10.1111/j.1753-4887.2010.00301.x
- 196) Hirji I, Gupta S, Goren A, et al. Chronic myeloid leukemia (CML): association of treatment satisfaction, negative medication experience and treatment restrictions with health outcomes, from the patient's perspective. *Health Qual Life Outcomes.* 2013;11:167
- 197) Efficace F, Baccarani M, Breccia M, et al. Health-related quality of life in chronic myeloid leukemia patients receiving long-term therapy with imatinib compared with the general population. *Blood.* 2011;118:4554-4560
- 198) Fleury H, Malaquin N, Tu V, Gilbert S, Martinez A, Olivier MA, Sauriol A, Communal L, Leclerc-Desaulniers K, Carmona E, Provencher D, Mes-Masson AM, Rodier F, Exploiting interconnected synthetic lethal interactions between PARP inhibition and cancer cell reversible senescence. *Nat Commun.* 2019 Jun 11; 10(1):2556
- 199) Valerie J. Carpenter, Tareq Saleh, David A. Gewirtz, Senolytics for Cancer Therapy: Is All that Glitters Really Gold?, *Cancers (Basel).* 2021 Feb; 13(4): 723.
- 200) Xu M, Bradley EW, Weivoda MM, Hwang SM, Pirtskhalava T, Decklever T, Curran GL, Ogrodnik M, Jurk D, Johnson KO, Lowe V, Tchkonja T, Westendorf JJ, Kirkland JL, Transplanted Senescent Cells Induce an Osteoarthritis-Like Condition in Mice, *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2017 Jun 1; 72(6):780-785
- 201) Zhang M, Mani SB, He Y, et al. Induced superficial chondrocyte death reduces catabolic cartilage damage in murine posttraumatic osteoarthritis. *J Clin Invest.* 2016;126:2893–2902
- 202) Jeon OH, Kim C, Laberge RM, et al. Local clearance of senescent cells attenuates the development of post-traumatic osteoarthritis and creates a pro-regenerative environment. *Nat Med* 2017;23:775-81.
- 203) Farr JN, Xu M, Weivoda MM, et al. Targeting cellular senescence prevents age-related bone loss in mice. *Nat Med* 2017;23:1072-9.
- 204) Zhu Y, Tchkonja T, Pirtskhalava T, et al. The Achilles' heel of senescent cells: from transcriptome to senolytic drugs. *Aging Cell* 2015;14:644-58.
- 205) Chang J, Wang Y, Shao L, et al. Clearance of senescent cells by ABT263 rejuvenates aged hematopoietic stem cells in mice. *Nat Med*
- 206) Wadhwa S, Kapila S. *J Dent Educ.* 2008; 72:930–47. 10.1002/j.0022-0337.2008.72.8.tb04569.x
- 207) Alzahrani A, et al. *Imaging Sci Dent.* 2020; 50:245–53. 10.5624/isd.2020.50.3.245
- 208) Zhou Y, Xu M, Yadav S. Temporomandibular joint aging and potential therapies. *Aging (Albany NY).* 2021 Jul 15;13(14):17955-17956. doi: 10.18632/aging.203332. Epub 2021 Jul 15. PMID: 34264857; PMCID: PMC8351701.
- 209) Olivier Malaise, Yassin Tachikart, Jean-Marc Brondello, Senolytic treatments applied to osteoarthritis: a step towards the end of orthopedic surgery?, *Ame Medical Journal*, Vol 2, No 10 (October 2017)
- 210) Vicente R, Mausset-Bonnefont AL, Jorgensen C, et al. Cellular senescence impact on immune cell fate and function. *Aging Cell* 2016;15:400-6

- 211) Tchkonja T, Zhu Y, van Deursen J, Campisi J, Kirkland JL. Cellular senescence and the senescent secretory phenotype: therapeutic opportunities. *J Clin Invest*. 2013 Mar;123(3):966-72. doi: 10.1172/JCI64098. Epub 2013 Mar 1. PMID: 23454759; PMCID: PMC3582125.
- 212) Arantzas Sierra-Ramirez, José Luis López-Aceituno, Luis Filipe Costa-Machado, Adrián Plaza,¹ Marta Barradas, Pablo Jose Fernandez-Marcos, Transient metabolic improvement in obese mice treated with navitoclax or dasatinib/quercetin, *Aging (Albany NY)*. 2020 Jun 30; 12(12): 11337–11348.
- 213) Peisu Zhang¹, Yuki Kishimoto², Ioannis Grammatikakis³, Kamalvishnu Gottimukkala⁴, Roy G Cutler², Shiliang Zhang⁵, Kotb Abdelmohsen³, Vilhelm A Bohr⁶, Jyoti Misra Sen Myriam Gorospe, Mark P Mattson. Senolytic therapy alleviates A β -associated oligodendrocyte progenitor cell senescence and cognitive deficits in an Alzheimer's disease model, *Nat Neurosci*. 2019 May;22(5):719-728.
- 214) https://www.alzdiscovery.org/uploads/cognitive_vitality_media/Senolytics-Cognitive-Vitality-For-Researchers.pdf
- 215) Nicolas Musi^{1,2,3}, Joseph M Valentine¹, Kathryn R Sickora¹, Eric Baeuerle¹, Cody S Thompson¹, Qiang Shen⁴, Miranda E Orr. Tau protein aggregation is associated with cellular senescence in the brain, *Aging Cell*. 2018 Dec;17(6):e12840.
- 216) Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z, Xiang J, Wang Y, Song B, Gu X, Guan L, Wei Y, Li H, Wu X, Xu J, Tu S, Zhang Y, Chen H, Cao B. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*. 2020 Mar 28;395(10229):1054-1062. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30566-3. Epub 2020 Mar 11. Erratum in: *Lancet*. 2020 Mar 28;395(10229):1038. Erratum in: *Lancet*. 2020 Mar 28;395(10229):1038. PMID: 32171076; PMCID: PMC7270627.
- 217) Vankadari N, Wilce JA. Emerging WuHan (COVID-19) coronavirus: glycan shield and structure prediction of spike glycoprotein and its interaction with human CD26. *Emerg Microbes Infect*. 2020 Mar 17;9(1):601-604. doi: 10.1080/22221751.2020.1739565. PMID: 32178593; PMCID: PMC7103712.
- 218) Mah W, Jiang G, Olver D, Gallant-Behm C, Wiebe C, Hart DA, Koivisto L, Larjava H, Häkkinen L. Elevated CD26 Expression by Skin Fibroblasts Distinguishes a Profibrotic Phenotype Involved in Scar Formation Compared to Gingival Fibroblasts. *Am J Pathol*. 2017 Aug; 187(8):1717-1735.
- 219) Ozsvari B, Nuttall JR, Sotgia F, Lisanti MP. Azithromycin and Roxithromycin define a new family of "senolytic" drugs that target senescent human fibroblasts. *Aging (Albany NY)*. 2018 Nov 14;10(11):3294-3307. doi: 10.18632/aging.101633. PMID: 30428454; PMCID: PMC6286845.
- 220) Retallack H, Di Lullo E, Arias C, Knopp KA, Laurie MT, Sandoval-Espinosa C, Mancia Leon WR, Krencik R, Ullian EM, Spatazza J, Pollen AA, Mandel-Brehm C, Nowakowski TJ, Kriegstein AR, DeRisi JL. Zika virus cell tropism in the developing human brain and inhibition by azithromycin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016 Dec 13;113(50):14408-14413. doi: 10.1073/pnas.1618029113. Epub 2016 Nov 29. PMID: 27911847; PMCID: PMC5167169.
- 221) Blagosklonny MV. Rapamycin for longevity: opinion article. *Aging (Albany NY)*. 2019 Oct 4;11(19):8048-8067. doi: 10.18632/aging.102355. Epub 2019 Oct 4. PMID: 31586989; PMCID: PMC6814615.
- 222) Houtkooper RH, Mouchiroud L, Ryu D, Moullan N, Katsyuba E, Knott G, Williams RW, Auwerx J. Mitonuclear protein imbalance as a conserved longevity mechanism. *Nature*.

- 2013 May 23;497(7450):451-7. doi: 10.1038/nature12188. PMID: 23698443; PMCID: PMC3663447.
- 223) Smith M, Smith JC. Repurposing Therapeutics for COVID-19: Supercomputer-Based Docking to the SARS-CoV-2 Viral Spike Protein and Viral Spike Protein-Human ACE2 Interface. 2020. ChemRxiv. 10.26434/chemrxiv.11871402.v4
- 224) Cavalcante MB, Saccon TD, Nunes ADC, Kirkland JL, Tchkonja T, Schneider A, Masternak MM. Dasatinib plus quercetin prevents uterine age-related dysfunction and fibrosis in mice. *Aging (Albany NY)*. 2020 Jan 18;12(3):2711-2722. doi: 10.18632/aging.102772. Epub 2020 Jan 18. PMID: 31955151; PMCID: PMC7041753.
- 225) Sargiacomo C, Sotgia F, Lisanti MP. COVID-19 and chronological aging: senolytics and other anti-aging drugs for the treatment or prevention of corona virus infection? *Aging (Albany NY)*. 2020 Mar 30;12(8):6511-6517. doi: 10.18632/aging.103001. Epub 2020 Mar 30. PMID: 32229706; PMCID: PMC7202514.