



Σχολή Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας
Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών



Εργαστήριο Χημείας, Βιοχημείας, Κοσμητολογίας

ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Βιβλιογραφική Ανασκόπηση των Βιοδεικτών στη Νόσο Alzheimer

GRADUATE THESIS

Literature Review of Biomarkers for Alzheimer's disease



ΟΝΟΜΑ ΦΟΙΤΗΤΗ(ΤΩΝ)/NAME OF STUDENTS

Μαρία-Πηνελόπη Αθανασοπούλου

Maria-Pinelopi Athanasopoulou

ΟΝΟΜΑ ΕΙΣΗΓΗΤΗ/NAME OF THE SUPERVISOR

Μαρία Τράπαλη

Maria Trapali

ΑΙΓΑΛΕΩ/AIGALEO 2024



Faculty of Health and Caring Professions
Department of Biomedical Sciences



Laboratory of Chemistry, Biochemistry, Cosmetology

GRADUATE THESIS

Literature Review of Biomarkers for Alzheimer's disease

Maria-Pinelopi Athanasopoulou
20678004
athanassopouloump@gmail.com

FIRST SUPERVISOR
Maria Trapali

SECOND SUPERVISOR
Petros Karkalousos

THIRD SUPERVISOR
Christina Fountzoula

AIGALEO 2024

Επιτροπή εξέτασης

Ημερομηνία εξέτασης: 07/10/2024

	Ονόματα εξεταστών	Υπογραφή
1 ^{ος} Εξεταστής	Μαρία Τράπαλη	
2 ^{ος} Εξεταστής	Πέτρος Καρκαλούσος	
3 ^{ος} Εξεταστής	Χριστίνα Φούντζουλα	

Δήλωση συγγραφέα προπτυχιακής διπλωματικής εργασίας

Η κάτωθι υπογεγραμμένη **Μαρία-Πηνελόπη Αθανασοπούλου** του **Δημητρίου**, με αριθμό μητρώου **20678004** φοιτήτρια του Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών της Σχολής Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνω ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της πτυχιακής/διπλωματικής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος. Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Όνομα(τα) φοιτητή(των)

Μαρία-Πηνελόπη Αθανασοπούλου

Υπογραφή φοιτητή/των



Ευχαριστίες

Ευχαριστώ θερμά την επιβλέπουσα καθηγήτρια, κ.Μαρία Τράπαλη, για τη συνεχή καθοδήγηση, αλλά και τα υπόλοιπα μέλη της τριμελούς επιτροπής, κ.Πέτρο Καρκαλούσο και κ.Χριστίνα Φούντζουλα, που συνέβαλαν στη συγγραφή της εργασίας με τις σημαντικές παρατηρήσεις τους.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τον υποψήφιο διδάκτορα, κ.Κλεάνθη Ξανθόπουλο, για την πολύτιμη βοήθεια και υποστήριξή του.

Φυσικά, ευχαριστώ την οικογένειά μου και τους φίλους μου, που με τη διαρκή στήριξη και ενθάρρυνσή τους, μου έδωσαν κουράγιο και δύναμη για να ολοκληρώσω την παρούσα εργασία.

Αφιερώσεις

Αφιερώνω την παρούσα εργασία στην οικογένειά μου και στους φίλους μου.

Περίληψη

Η νόσος Alzheimer είναι μία από τις συχνότερα απαντώμενες νευροεκφυλιστικές νόσους, επηρεάζοντας ένα σημαντικό μέρος του γηραιότερου πληθυσμού. Η άνοια που χαρακτηρίζει τη νόσο οφείλεται κυρίως στην παρουσία πλακών αμυλοειδούς και νευροϊνιδιακών τολυπίων, τα οποία, μέσω πολύπλοκων βιολογικών μηχανισμών, οδηγούν σε ευρεία νευροεκφύλιση και απώλεια εγκεφαλικής μάζας. Σαν αποτέλεσμα, παρουσιάζονται έκπτωση των γνωστικών λειτουργιών και προκλήσεις στην καθημερινότητα των ασθενών. Από την ανακάλυψη της νόσου το 1907 έως και σήμερα, η επιστημονική κοινότητα εστιάζει στην εύρεση βιοδεικτών κατάλληλων για την έγκαιρη διάγνωσή της, με μόρια όπως τα Αβ πεπτίδια και τις πρωτεΐνες Ταυ, να αποτελούν εγκεκριμένους δείκτες στο Εγκεφαλονωτιαίο Υγρό. Παράλληλα, γίνεται προσπάθεια για εύρεση και εργαστηριακή εφαρμογή βιοδεικτών στο πλάσμα του αίματος, με χαρακτηριστικό παράδειγμα τα Νευροϊνίδια Χαμηλού Μοριακού Βάρους, τα οποία φαίνεται να αποτελούν αξιόπιστους βιοδείκτες. Παρά την ύπαρξη παραγόντων όπως η ετερογένεια της νόσου, η πολυπλοκότητα των παθοφυσιολογικών μηχανισμών και οι διακυμάνσεις μεταξύ των μετρήσεων, αναπτύσσονται και βελτιώνονται συνεχώς μέθοδοι και τεχνικές, με σκοπό την ταχύτερη, ευκολότερη και ακριβέστερη ανίχνευση των βιοδεικτών. Με αυτόν τον τρόπο ενισχύεται η προσπάθεια δημιουργίας ενός ενιαίου πρωτοκόλλου μέτρησης αυτών, και επομένως, η επίτευξη αξιόπιστων διαγνωστικών προσεγγίσεων και θεραπευτικών σχημάτων.

Λέξεις-κλειδιά: Αβ πεπτίδια, Βιοδείκτες, Εγκεφαλονωτιαίο Υγρό, Νόσος Alzheimer, Πλάσμα αίματος, Πρωτεΐνες Ταυ

Abstract

Alzheimer's disease is one of the most prevalent neurodegenerative diseases worldwide, affecting a significant portion of the elderly population. The dementia associated with the disease is a result of the presence of amyloid plaques and neurofibrillary tangles, pathological findings which, through complex biological mechanisms, lead to extensive neurodegeneration and loss of brain mass. As a result, cognitive function decline and challenges in daily life activities occur in the affected. Since its discovery back in 1907, the scientific community has focused on identifying biomarkers suitable for early diagnosis of the disease, with molecules such as A β peptides and Tau proteins already approved in the Cerebrospinal Fluid. At the same time, efforts are being made in order to find and implement biomarkers in blood plasma, with Neurofilament Light molecules proving reliable indicators. Even though factors, such as the heterogeneity of the disease, the complexity of the pathophysiological mechanisms and fluctuations in measurement analysis exist, different methods and techniques are continually being developed, tested and improved, aiming for a much faster, easier and more accurate diagnosis. Consequently, these approaches enhance the effort to create a unified measurement protocol for biomarkers, thus achieving more reliable diagnostic approaches and therapeutic strategies.

Keywords: A β peptides, Alzheimer's Disease, Biomarkers, Blood plasma, Cerebrospinal Fluid, Tau proteins

Περιεχόμενα

Δήλωση συγγραφέα προπτυχιακής διπλωματικής εργασίας.....	IV
Ευχαριστίες	V
Αφιερώσεις	VI
Περίληψη	VII
Abstract.....	VIII
Συνοτομογραφίες.....	X
Πρόλογος	12
Κεφάλαιο 1. Εισαγωγή.....	14
1.1. Η Νόσος Alzheimer	14
1.2. Τι είναι βιοδείκτης.....	17
Κεφάλαιο 2. Οι Μοριακοί Μηχανισμοί της Alzheimer’s.....	18
2.1. Τα Αβ πεπτίδια και η αμυλοειδογένεση	18
2.2. Οι πρωτεΐνες Ταυ και η σημασία της φωσφορυλίωσής τους	20
2.3. Τα Νευροϊνίδια Χαμηλού Μοριακού Βάρους (NF-L) και η Ινώδης Όξινη Πρωτεΐνη των Γλοιών (GFAP)	24
Κεφάλαιο 3. Οι Βιοδείκτες στην Alzheimer’s	27
3.1. Οι Απεικονιστικοί Βιοδείκτες	27
3.2. Οι Βιοδείκτες στο Εγκεφαλονωτιαίο Υγρό (ENY).....	30
3.3. Οι Βιοδείκτες στο αίμα	31
Κεφάλαιο 4. Δυσκολίες στην εφαρμογή των βιοδεικτών και προοπτικές για το μέλλον	37
4.1. Δυσκολίες	37
4.2. Προοπτικές	41
Συζήτηση-Συμπεράσματα	43
Αναφορές.....	45
Πηγές εικόνων.....	49

Συντομογραφίες

	Αγγλική ορολογία	Ελληνική ορολογία
18F-FDG PET	18F-FluoroDeoxyGlucose Positron Emmission Tomography	18F ΦθοριοΔεοξυΓλυκόζη Τομογραφία Εκπομπής Ποζιτρονίων
25(OH)D3 Aβ	25-hydroxycholecalciferol D3 Alpha-beta	25-υδροξυχοληκαλσιφερόλη D3 Άλφα-βήτα
ADAM10	A Disintegrin and metalloproteinase domain-containing protein 10	A Πρωτεΐνη με επικράτειες που περιέχουν δισηνεργίνη και μεταλλοπρωτεϊνάση 10
APLP1	Amyloid Precursor-Like Protein 1	Ομοιάζουσα με Πρόδρομη Πρωτεΐνη Αμυλοειδούς 1
APLP2	Amyloid Precursor-Like Protein 2	Ομοιάζουσα με Πρόδρομη Πρωτεΐνη Αμυλοειδούς 2
APP	Amyloid Precursor Protein	Πρόδρομη Πρωτεΐνη του Αμυλοειδούς
APOE4	Apolipoprotein E4	Απολιποπρωτεΐνη E4
CHI3L1	Chitinase-3 Like-Protein-1	Πρωτεΐνη Ομοιάζουσα της Χιτινάσης 3-1
CRP	C Reactive Protein	C Αντιδρώσα Πρωτεΐνη
Cryo-EM	Cryogenic Electron Microscopy	Κρυογονική Ηλεκτρονική Μικροσκοπία
CX3CL1	Chemokine (C-X3-C motif) Ligand 1	Συνδέτης Χημειοκίνης (μοτίβο C-X3-C) 1
CCL23	Chemokine (C-C motif) Ligand 23	Συνδέτης Χημειοκίνης (μοτίβο C-C) 23
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay	Ενζυμική Δοκιμή Ανοσοπροσρόφησης
ENY	Cerebrospinal Fluid	Εγκεφαλονωτιαίο Υγρό
FDA	Food and Drug Administration	Οργανισμός Ελέγχου Φαρμάκων και Τροφίμων των ΗΠΑ
GFAP	Glial Fibrillary Acidic Protein	Ινώδης Όξινη Πρωτεΐνη των Γλοιών
HRP	Horseradish Peroxidase	Υπεροξειδάση του χρένου
IL-6	Interleukin 6	Ιντερλευκίνη 6
MCP-1	Monocyte Chemoattractant Protein 1	Μονοκυτταρική Χημειοελκυστική Πρωτεΐνη 1
MCP-3	Monocyte Chemoattractant Protein 3	Μονοκυτταρική Χημειοελκυστική Πρωτεΐνη 3
ΚΝΣ	Central Nervous System	Κεντρικό Νευρικό Σύστημα
MARK	Microtubule Affinity-Regulating Kinase	Κινάση Ρύθμισης της Συγγένειας των Μικροσωληνίσκων
MAP	Microtubule-Associated Proteins	Πρωτεΐνες Σχετιζόμενες με Μικροσωληνίσκους
MRI	Magnetic Resonance Imaging	Μαγνητική Τομογραφία

NFTs	Neurofibrillary Tangles	Νευροϊνδιακά Τολύπια
NFL	Neurofilaments Light	Νευροϊνίδια Χαμηλού Μοριακού Βάρους
NMR	Nuclear Magnetic Resonance	Πυρηνικός Μαγνητικός Συντονισμός
PSEN-1	Presenilin 1	Πρεσενιλίνη 1
PET	Positron Emission Tomography	Τομογραφία Εκπομπής Ποζιτρονίων
PTau	Phosphorylated Tau protein	Φωσφορυλιωμένη Ταυ πρωτεΐνη
RNA	Ribonucleic Acid	Ριβονουκλεϊκό οξύ
RANTES	Regulated upon Activation, Normal T Cell Expressed and Presumably Secreted	Ρυθμιζόμενος κατά την Ενεργοποίηση, Φυσιολογικά Εκφραζόμενος και Πιθανώς Εκκρινόμενος από τα κύτταρα
SiMoA	Single Molecule Array	Συστοιχία Μεμονωμένων Μορίων
sTREM-2	soluble Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells 2	διαλυτός Υποδοχέας Ενεργοποίησης των Μυελοειδών Κυττάρων 2
TNF-a	Tumor Necrosis Factor a	Παράγοντας Νέκρωσης Όγκου α
TREM-2	Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells 2	Υποδοχέας Ενεργοποίησης των Μυελοειδών Κυττάρων 2

Πρόλογος

Οι διάφορες μορφές άνοιας αποτελούν μάστιγα για τον ολοένα γηραιότερο πληθυσμό, με την νόσο Alzheimer να ευθύνεται για το 60-70% των περιπτώσεων άνοιας σε παγκόσμιο επίπεδο (Rabbito, et al., 2020). Η νόσος Alzheimer αποτελεί μία προοδευτική νευροεκφυλιστική ασθένεια, η οποία επηρεάζει 50 εκατομμύρια ανθρώπους παγκοσμίως και υπολογίζεται πως ο αριθμός αυτός θα είναι τριπλάσιος μέχρι το 2050 (World Health Organization, 2023). Οι ασθενείς εμφανίζουν, ανάμεσα σε άλλα, απώλεια μνήμης και έκπτωση άλλων γνωστικών λειτουργιών, δυσχεραίνοντας την καθημερινότητά τους και επιδρώντας αρνητικά στο οικογενειακό τους περιβάλλον και στο σύστημα υγείας (Siddappa & Gopal, 2021). Η νόσος χαρακτηρίζεται από απώλεια νευρώνων και εγκεφαλική ατροφία, ως αποτέλεσμα παθολογικών διεργασιών εντός του εγκεφάλου. Πιο συγκεκριμένα, παρατηρείται παθολογική συσσώρευση ανώμαλα αναδιπλωμένων πρωτεϊνών, η οποία οδηγεί σταδιακά στο θάνατο των νευρώνων. Οι δύο πιο μελετημένοι μηχανισμοί της παθογένεσης της νόσου αποτελούν οι πλάκες αμυλοειδούς και τα νευροϊνιδιακά τολύπια (Rabbito, et al., 2020).

Παρά τον επιπολασμό της νόσου, οι παραδοσιακές διαγνωστικές μέθοδοι είναι ανεπαρκείς και στηρίζονται κυρίως στο ιστορικό και σε τεστ γνωστικής αξιολόγησης, αποτρέποντας την εργαστηριακή διερεύνηση σε πρώιμα στάδια. Ως εκ τούτου, κρίνεται αναγκαία η αναζήτηση και ανάπτυξη βιοδεικτών για την έγκαιρη πρόγνωση και διάγνωση, προτού δηλαδή επεκταθεί η νευροεκφύλιση. Επιπροσθέτως, οι προβλεπτικοί και θεραπευτικοί βιοδείκτες θα μπορούσαν ενδεχομένως να συμβάλλουν και στη θεραπεία της νόσου, η οποία είναι μη αναστρέψιμη αυτή τη στιγμή όταν τεθεί η διάγνωση της (Juganavar, et al., 2023).

Ο FDA ορίζει ως βιοδείκτη ένα χαρακτηριστικό που είναι ενδεικτικό μίας φυσιολογικής ή παθολογικής βιολογικής διεργασίας, ή μίας απόκρισης ενός εξωτερικού ερεθίσματος, όπως για παράδειγμα μίας θεραπευτικής αγωγής. Στην πράξη οι βιοδείκτες είναι βιομόρια όπως πρωτεΐνες, πεπτίδια, λιπίδια κλπ που μπορούν να εντοπιστούν και να μετρηθούν εργαστηριακά, παρέχοντας, κατά αυτόν τον τρόπο, μεγαλύτερη ακρίβεια και εγκυρότητα στη διάγνωση, συγκριτικά με την

κλινική εξέταση, η οποία βασίζεται πολλές φορές σε υποκειμενική αντίληψη των συμπτωμάτων των ασθενών (Cummins & Kinney, 2022).

Στη νόσο Alzheimer έχουν αξιοποιηθεί απεικονιστικές μέθοδοι διάγνωσης, όπως η Μαγνητική Τομογραφία (MRI) και η Τομογραφία Εκπομπής Ποζιτρονίων (PET), οι οποίες αναδεικνύουν δομικές αλλαγές στον εγκέφαλο που προκαλούνται από τη συσσώρευση αμυλοειδούς. Επίσης, έχουν αναπτυχθεί βιοχημικές εργαστηριακές εξετάσεις στο Εγκεφαλονωτιαίο Υγρό, με τις οποίες μετρώνται τα αμυλοειδή πεπτίδια Αβ40 και Αβ42, καθώς επίσης και οι Ταυ πρωτεΐνες και η φωσφορυλιωμένη μορφή τους, παρέχοντας χρήσιμες πληροφορίες σχετικά με την συσσώρευση αμυλοειδούς και τον σχηματισμό νευροϊνιδιακών τολυπίων στον εγκέφαλο (Monteiro, et al., 2023). Στο κοντινό μέλλον θα εφαρμοστούν στην κλινική πράξη βιοδείκτες, οι οποίοι μετρώνται στο πλάσμα του αίματος, όπως η P-tau 217, τα αμυλοειδή Αβ42/40 και η Ινώδης Όξινη Πρωτεΐνη των Γλοιών (GFAP), καθιστώντας τη διάγνωση πιο αξιόπιστη και ευκολότερη (Leuzy, et al., 2021). Οι βιοδείκτες στο αίμα δεν απαιτούν επεμβατικές μεθόδους για τη μέτρησή τους, όπως γίνεται με τη λήψη Εγκεφαλονωτιαίου Υγρού, ενώ το κόστος είναι πολύ χαμηλότερο σε σύγκριση, για παράδειγμα, με την εξέταση PET (Hansson, et al., 2022).

Δεν απουσιάζουν, ωστόσο, οι προκλήσεις που αφορούν στο προαναλυτικό και αναλυτικό στάδιο των μετρήσεων. Παράγοντες, όπως το είδος του περιέκτη του δείγματος, η καθυστέρηση στη φυγοκέντρηση και η θερμοκρασία, επηρεάζουν τα αποτελέσματα στο πλάσμα του αίματος (Verberk, et al., 2021), ενώ αντίστοιχα επηρεάζονται οι τιμές στο ΕΝΥ (Hansson, et al., 2020). Στο αναλυτικό στάδιο, μεταβλητότητα παρουσιάζουν οι τιμές ενδοεργαστηριακά, αλλά και μεταξύ εργαστηρίων, με διαφορές μεταξύ των kit αναλύσεων και των ορίων cut-off (Vos, et al., 2014). Αυτά αποτελούν μερικά μόνο παραδείγματα εμποδίων που δυσκολεύουν την ανάπτυξη ενός ενιαίου, τυποποιημένου πρωτοκόλλου αναλύσεων.

Κεφάλαιο 1.Εισαγωγή

1.1. Η Νόσος Alzheimer

Η νόσος Alzheimer, η οποία πήρε το όνομά της από τον ομώνυμο Γερμανό ψυχίατρο και νευροπαθολόγο Aloysius Alöis Alzheimer, αποτελεί μία προοδευτική νευροεκφυλιστική νόσο, η οποία επηρεάζει 50 εκατομμύρια ανθρώπους παγκοσμίως και υπολογίζεται πως ο αριθμός αυτός θα είναι τριπλάσιος μέχρι το 2050 (World Health Organization, 2023). Περιγράφηκε πρώτη φορά το 1907 στην 51χρονη Auguste Deter, η οποία εμφάνιζε, μεταξύ άλλων, κενά μνήμης και δυσκολία στην ομιλία. Η νεκροψία ανέδειξε την ύπαρξη πλακών αμυλοειδούς, αποτελούμενες από τα πεπτιδία Αβ40 και Αβ42, όπως περιγράφηκαν αργότερα, και νευροϊνιδιακών τολυπίων, αποτελούμενα από υπερφωσφορυλιωμένες Ταυ πρωτεΐνες, ευρήματα που θεωρούνται μέχρι και σήμερα χαρακτηριστικά των παθολογικών μηχανισμών της νόσου (Bondi, et al., 2017).

Τις τελευταίες τρεις δεκαετίες, σημαντική πρόοδος έχει σημειωθεί στη μελέτη και κατανόηση των μοριακών μηχανισμών που οδηγούν σε νευροεκφύλιση. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, οι πρώτες υποθέσεις που άνοιξαν το δρόμο για περαιτέρω έρευνα, αφορούν τις πλάκες αμυλοειδούς και τα νευροϊνιδιακά τολύπια. Ωστόσο, τα τελευταία χρόνια αναπτύσσονται και εξετάζονται νέες υποθέσεις, οι οποίες δεν ανταγωνίζονται μεταξύ τους. Από τη συσσώρευση των πεπτιδίων Αβ και το μη φυσιολογικό δίπλωμα πρωτεϊνών, έως τις γενετικές συνιστώσες, όπως οι μεταλλάξεις σε γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες, ο χάρτης συνεχίζει να διευρύνεται.

Ως φυσικό επόμενο, αυτές οι βιολογικές μεταβολές επιφέρουν αλλαγές στην καθημερινότητα των ασθενών, επηρεάζοντας τη λειτουργικότητά τους. Μία συνηθισμένη εκδήλωση είναι η απώλεια μνήμης: τα άτομα δυσκολεύονται να συγκρατήσουν και να ανακαλέσουν πληροφορίες. Επίσης, επηρεάζεται η αντίληψη και η κατανόηση της γλώσσας, με τους ασθενείς να δυσκολεύονται στην επικοινωνία. Παρατηρούνται παράλληλα διαταραχές στην αντίληψη του χώρου και του χρόνου, αλλά και δυσκολίες στην κινητικότητα, συμβάλλοντας στην επιδείνωση της υγείας τους (McGirr, et al., 2020). Παρατηρούνται επίσης κατάθλιψη, απάθεια, ευερεθιστότητα και αλλαγές στις διατροφικές συνήθειες (Chen, et al., 2021).

Όπως συμβαίνει με κάθε ασθένεια, υπάρχουν παράγοντες κινδύνου οι οποίοι αυξάνουν την πιθανότητα για εμφάνιση νόσου. Ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες είναι αυτός της ηλικίας. Έχει αναγνωρισθεί πως ο επιπολασμός της νόσου είναι αυξημένος σε άτομα μεγάλης ηλικίας, με πιθανότητα εμφάνισης 50% σε άτομα άνω των 85 ετών. Στην ηλικία αυτή παρατηρούνται φυσιολογικές αλλαγές στη δομή και σύσταση του εγκεφάλου, όπως μείωση του όγκου του, αύξηση του όγκου των κοιλιών και απώλεια νευρώνων. Σημαντικό ρόλο παίζουν επίσης μεταλλάξεις σε γονίδια, όπως αυτό της Απολιποπρωτεΐνης Ε4 (APOE4) στη σποραδική μορφή της νόσου. Επιπρόσθετα, περιβαλλοντικοί παράγοντες και συνήθειες φαίνεται πως συνδράμουν στην εμφάνισή της: ινσουλινική αντίσταση και διατροφή πλούσια σε λιπαρά είναι μερικά μόνο από τα παραδείγματα αυτών. Έρευνες δείχνουν πως λοιποί παράγοντες όπως είναι ο τραυματισμός του εγκεφάλου, αγγειακές παθήσεις, διαταραχές στα μιτοχόνδρια, αλλά και δυσλειτουργίες της άμυνας του οργανισμού, εμπλέκονται στην παθογένεση της νόσου. Καθίσταται η νόσος Alzheimer, με αυτόν τον τρόπο, ένα πολυπαραγοντικό νόσημα. Είναι κρίσιμη η κατανόηση και σύνδεση των ανωτέρω παραγόντων για τη μελέτη της διάγνωσης και θεραπείας της.

Παρά τη σημαντική πρόοδο που έχει επιτευχθεί στη μελέτη και αποκρυπτογράφηση της νόσου, η διάγνωση σε πρώιμα στάδια αποτελεί μεγάλη πρόκληση για την επιστημονική κοινότητα. Ακόμα σε μεγάλο βαθμό, η διάγνωση στηρίζεται στην κλινική εξέταση των ασθενών από τον θεράποντα ιατρό, η οποία υποκύπτει τόσο στην υποκειμενική αντίληψη των συμπτωμάτων των ασθενών, όσο και της κατανόησής τους από την ιατρική κοινότητα. Είναι υψίστης σημασίας για την αντιμετώπιση της νόσου, η δημιουργία ενός ενιαίου διαγνωστικού πρωτοκόλλου με ξεκάθαρους δείκτες της βιολογικής κατάστασης. Σήμερα, απεικονιστικοί δείκτες, αλλά και βιοδείκτες σε βιολογικά υγρά, όπως το ΕΝΥ και το πλάσμα του αίματος, προσφέρουν πολύτιμες πληροφορίες για την εκτίμηση της βιολογικής κατάστασης του εγκεφάλου.

Πιο συγκεκριμένα, στην εξέταση PET, ιχνηθέτες ραδιενέργειας επιτρέπουν την ποσοτικοποίηση της φωσφορυλιωμένης μορφής των Ταυ πρωτεϊνών και των συσσωματωμάτων Αβ αμυλοειδούς. Όσον αφορά στα βιολογικά υγρά, στο ΕΝΥ κυριότεροι βιοδείκτες αποτελούν τα πεπτίδια Αβ40/42 και η φωσφορυλιωμένη/ολική μορφή των Ταυ πρωτεϊνών. Επειδή η λήψη του συγκεκριμένου δείγματος, όμως, είναι δύσκολη, καθότι αυτή διενεργείται από νευρολόγους και είναι συχνά επώδυνη για τους ασθενείς, υπάρχει τάση για αναζήτηση και μελέτη βιοδεικτών στο πλάσμα, η λήψη του οποίου είναι σαφώς ευκολότερη και ανώδυνη, επιτρέποντας παράλληλα τη διαδικασία του screening. Τέτοιοι δείκτες είναι οι φωσφορυλιωμένες Ταυ πρωτεΐνες (στις θέσεις 127, 181 και 131 της αλληλουχίας αμινοξέων), οι ολικές Ταυ και τα Νευροϊνίδια Χαμηλού Μοριακού Βάρους (NFL) (Garcia-Morales, et al., 2021). Μέσω αυτών των δεικτών ανοίγουν δρόμοι, όχι μόνο για τη διάγνωση της νόσου, αλλά και για την πρόγνωση και ανάπτυξη φαρμάκων.

Επί του παρόντος, οι εγκεκριμένες θεραπευτικές προσεγγίσεις παραμένουν περιορισμένες και βασίζονται κυρίως στην ανακούφιση των συμπτωμάτων και στη βελτίωση της καθημερινότητας των ασθενών. Αν και φαρμακευτικά χορηγούνται αναστολείς χολινεστεράσης, καθώς και φάρμακα προς αντιμετώπιση των ψυχιατρικών συμπτωμάτων, η νευροεκφύλιση παραμένει μη αναστρέψιμη (Cummins, et al., 2016) (Lee, et al., 2023) (Hwang, et al., 2020). Η έρευνα στρέφεται στην αναζήτηση πιθανών θεραπευτικών μορίων-στόχων, που μετέχουν στους μηχανισμούς παθογένεσης της νόσου, όπως είναι τα Αβ αμυλοειδή και οι πρωτεΐνες Ταυ (Cummins, et al., 2016). Πρόσφατα, εγκρίθηκαν φαρμακευτικά σκευάσματα, όπως τα μονοκλωνικά Lecanemab και το Donanemab (Sims, et al., 2023) (U.S. Food and Drug Administration, 2023). Ενώ οι έρευνες για εύρεση και άλλων μορίων-στόχων συνεχίζονται, αυτές οι εξελίξεις αναδεικνύουν την καινοτόμο πρόοδο που έχει σημειωθεί για την αντιμετώπιση της νόσου.

1.2. Τι είναι βιοδείκτης

Σύμφωνα με τον Οργανισμό Ελέγχου Φαρμάκων και Τροφίμων των ΗΠΑ (FDA), ως βιοδείκτης ορίζεται ένα χαρακτηριστικό που μετριέται ως δείκτης φυσιολογικών βιολογικών διεργασιών, παθογενετικών διεργασιών, ή αποκρίσεων σε έκθεση ή παρέμβαση (Cumplings, 2022). Ένας ακόμη ορισμός, με βάση την Ομάδα Ορισμού των Βιοδεικτών, είναι ο εξής: «ένας βιοδείκτης είναι ένα μετρήσιμο χαρακτηριστικό που έχει σχεδιαστεί για να χρησιμεύει ως υποκατάστατο ενός κλινικού τελικού σημείου, με στόχο την πρόβλεψη κλινικού οφέλους, βλάβης ή έλλειψης αυτού, αξιοποιώντας επιδημιολογικά, θεραπευτικά, παθοφυσιολογικά ή άλλα επιστημονικά στοιχεία» (Aronson & Ferner, 2017).

Σύμφωνα με τον Αμερικανικό Οργανισμό Φαρμάκων και το Εθνικό Ινστιτούτο Υγείας των ΗΠΑ, οι βιοδείκτες ταξινομούνται σε επιμέρους κατηγορίες, με βάση το στάδιο της εφαρμογής τους, ως εξής (Κούνα, 2023):

1. βιοδείκτες ευαισθησίας/κινδύνου,
2. διαγνωστικοί βιοδείκτες,
3. βιοδείκτες παρακολούθησης ασθενούς,
4. προγνωστικοί βιοδείκτες,
5. προβλεπτικοί βιοδείκτες,
6. φαρμακοδυναμικοί βιοδείκτες/βιοδείκτες απόκρισης,
7. βιοδείκτες ασφάλειας.

Η αναζήτηση και η εφαρμογή των βιοδεικτών είναι ατέρμονη και πολλά υποσχόμενη. Μέσω της συνεχούς έρευνας και εξέλιξης των τεχνολογιών στον ιατρικό τομέα, οι δυνατότητες για αντιμετώπιση της νόσου συνεχίζουν να αυξάνονται και προσφέρουν φως ελπίδας, από την πρώιμη ανίχνευση, μέχρι και την εξατομικευμένη θεραπεία. Κατ' αυτόν τον τρόπο, προσδίδεται αισιοδοξία, τόσο στους ασθενείς, όσο και στους φροντιστές τους, αλλά και στους επαγγελματίες υγείας.

Κεφάλαιο 2. Οι Μοριακοί Μηχανισμοί της Alzheimer's

2.1. Τα Αβ πεπτίδια και η αμυλοειδογένεση

Η κυρίαρχη υπόθεση σχετικά με την ανάπτυξη των παθοφυσιολογικών χαρακτηριστικών της νόσου Alzheimer είναι η υπόθεση αμυλοειδούς και του ομώνυμου «καταρράκτη». Σύμφωνα με τη συγκεκριμένη υπόθεση, η νόσος αρχίζει να αναπτύσσεται όταν Αβ πεπτίδια, τα οποία έχουν τη δυνατότητα να σχηματίσουν αμυλοειδή, συσσωρευθούν και σχηματίσουν δομές που ονομάζονται β-ινίδια αμυλοειδούς. Τα συγκεκριμένα ινίδια σχηματίζουν πλάκες, οι οποίες είναι νευροτοξικές, και οδηγούν, μέσω μίας σειράς μεταβολικών μονοπατιών, το κύτταρο σε θάνατο.

Η πρόδρομη πρωτεΐνη αμυλοειδούς (APP) είναι μία μεμβρανική πρωτεΐνη με ένα διαμεμβρανικό τμήμα, η οποία εξυπηρετεί φυσιολογικούς ρόλους εντός του κυττάρου. Στην πραγματικότητα, αποτελεί μία μεγάλη οικογένεια πρωτεϊνών. Το γονίδιο της βρίσκεται στο χρωμόσωμα 21q21.3 και έχει μήκος περίπου 400kbp. Παρουσιάζει πολλαπλές ισομορφές με ορισμένες από αυτές, όπως η APLP1, εκφραζόμενες αποκλειστικά στα κύτταρα του εγκεφάλου, ενώ άλλες, όπως η APLP2, εκφραζόμενες και εκτός του εγκεφάλου (Guo, et al., 2021).

Η παραγωγή των Αβ πεπτιδίων προκύπτει από την επεξεργασία της APP από ένα σύμπλεγμα ενζύμων που ονομάζονται σεκρετάσες. Τα ένζυμα αυτά είναι τρία και διαφέρουν στην πρωτεολυτική τους ικανότητα, καθώς το καθένα από αυτά κόβει την APP σε διαφορετική θέση. Πιο συγκεκριμένα, η α-σεκρετάση κόβει το τμήμα της APP από το οποίο παράγονται τα Αβ πεπτίδια εκτός της μεμβράνης, η β-σεκρετάση κόβει το εξωκυττάριο τμήμα της και η γ-σεκρετάση κόβει στο μέσο του διαμεμβρανικού τμήματος. Σαν τελικό αποτέλεσμα της πρωτεολυτικής επεξεργασίας των δύο τελευταίων πρωτεασών, τα παραγόμενα αμυλοειδογόνα πεπτίδια σχηματίζουν β-φύλλα, τα οποία ιστολογικά ομοιάζουν με φαιές πλάκες και είναι τοξικά, όχι μόνο προς το κύτταρο-νευρώνα από το οποίο παράγονται, αλλά και σε γειτονικά κύτταρα-νευρώνες (Kurkinen, et al., 2023).

Είναι απαραίτητο να αναφερθεί πως, μέσω του μη αμυλοειδογενούς μονοπατιού επεξεργασίας της APP, παράγονται τα λεγόμενα μη αμυλοειδογενή πεπτίδια τα οποία λειτουργούν υπέρ της κυτταρικής επιβίωσης. Για παράδειγμα, το διαλυτό πεπτίδιο sAPP α προστατεύει τις συνάψεις και τη μνήμη, ενώ αυξάνει και το ισοζύγιο γλυκόζης στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα, κυρίαρχο μόριο για την παροχή ενέργειας στον εγκέφαλο. Ωστόσο, μέσω του αμυλοειδογενούς μονοπατιού επεξεργασίας της APP, τα παραγόμενα αμυλοειδογενή πεπτίδια εντείνουν το οξειδωτικό στρες και τη φλεγμονή (Guo, et al., 2021).

Είναι σημαντικό να εξεταστεί η δομή των β -ινιδίων, καθώς η διαμόρφωσή τους στο χώρο είναι άρρηκτα συνδεδεμένη με τη λειτουργία τους και το ρόλο τους στη νόσο Alzheimer. Στην αρχή, οι ερευνητές πειραματίστηκαν με τεχνητά πεπτίδια, μέσω των οποίων κατάφεραν να εξετάσουν την αρχιτεκτονική αυτών των ιδιαίτερων δομών σε ατομικό επίπεδο. Με αυτό τον τρόπο αποκαλύφθηκε πως στον «πυρήνα» αυτών των ινιδίων βρίσκεται ένα συσσωμάτωμα από β -φύλλα, ένα από τα πιο κοινά μοτίβα δευτεροταγούς δομής κυτταρικών πρωτεϊνών. Πλέον, με τη βοήθεια σύγχρονων τεχνολογιών και μεθόδων, όπως είναι ο Πυρηνικός Μαγνητικός Συντονισμός (NMR) και η Κρυογονική Ηλεκτρονική Μικροσκοπία (cryo-EM), έχει επέλθει επανάσταση στην απεικόνιση τρισδιάστατων δομών πρωτεϊνών, οπότε και τα αμυλοειδή της Alzheimer δεν αποτελούν εξαίρεση. Ειδικότερα, οι β αλυσίδες των πεπτιδίων στοιβάζονται κάθετα στον μακροσκελή άξονα του ινιδίου. Μάλιστα, οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των ίδιων των πεπτιδίων που αποτελούν τα ινίδια (επομένως και τις πλάκες), αλλά και αυτές που υπάρχουν μεταξύ των άλλων μορίων, σταθεροποιούν τις δομές αυτές. Εκτός αυτών, τα ινίδια παρουσιάζουν επίσης πολυμορφισμό, δηλαδή εμφανίζουν διαφορετικές μορφές, ανάλογα με την αλληλουχία των παραγόμενων πεπτιδίων, τις μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις και γενικότερα τις συνθήκες στο εσωτερικό του κυττάρου (Gallardo, et al., 2020).

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, οι πλάκες αμυλοειδούς είναι ιδιαίτερα τοξικές για τους νευρώνες, διαταράσσοντας τις φυσιολογικές λειτουργίες τους, όπως τη λήψη και μετάδοση ηλεκτρικών σημάτων, δηλαδή την επικοινωνία μεταξύ των νευρώνων. Οι μηχανισμοί αποδιοργάνωσης των νευρώνων ποικίλλουν και συμπεριλαμβάνουν διάφορα κυτταρικά στοιχεία και κυτταρικούς τύπους.

Χαρακτηριστική είναι η επίδραση των πλακών στα αμυντικά κύτταρα του νευρικού συστήματος, τα μικρογλοιακά και τα αστροκύτταρα. Τα κύτταρα αυτά έχουν ως βασικό στόχο την προστασία του εγκεφάλου από επιβλαβείς ουσίες και μικροοργανισμούς που εισέρχονται στο ΚΝΣ, κατά κύριο λόγο, διαμέσου του αιματοεγκεφαλικού φραγμού. Τα μικρογλοιακά κύτταρα, αναγνωρίζοντας τα συσσωματώματα των Αβ πεπτιδίων ως μη φυσιολογικά-ξένα για τον οργανισμό-παράγουν και εκκρίνουν ειδικές κυτοκίνες φλεγμονής. Τα αστροκύτταρα από την άλλη, προάγουν επιπλέον τη στήριξη και προστασία των νευρικών συνάψεων, δομών κρίσιμων για την ομαλή λειτουργία των νευρώνων και την επιβίωσή τους στο τεράστιο δίκτυο του εγκεφάλου. Σαν συνέπεια των αντιδραστικών μηχανισμών τους, προκαλούν φλεγμονή η οποία σε μεγάλα επίπεδα μπορεί να προκαλέσει με τη σειρά της, διαταραχές στους νευρώνες. Για παράδειγμα, οι κυτταροκίνες TNF-α και IL-6 ενισχύουν το μονοπάτι της φλεγμονής, επιστρατεύοντας και άλλα κύτταρα της άμυνας, τα οποία με τη σειρά τους παράγουν αυτές, αλλά και άλλες κυτταροκίνες. Παράγονται επίσης ρίζες οξυγόνου, με σκοπό την καταστροφή του ξένου παράγοντα, αλλά αυξημένα επίπεδα αυτών οδηγούν το κύτταρο σε οξειδωτικό στρες. Η κυτταρική δραστηριότητα διαταράσσεται ακόμα περισσότερο, καθώς αποσυντονίζεται το σύστημα εισροής και εκροής του ασβεστίου από αυτό, στοιχείο απαραίτητο για την ομαλή λειτουργία του κυττάρου. Αυτές οι συνθήκες, επί μακρόν, οδηγούν τους νευρώνες σε πλήρη ανικανότητα σταθεροποίησης της ομοιόστασής τους, με κατάληξη την απόπτωση (Alawode , et al., 2022).

Μέσω πειραμάτων σε ζώα εργαστηρίου, έχει βρεθεί πως εκτός των τοξικών Αβ πεπτιδίων, η αδυναμία κοπής της APP οδηγεί και αυτή σε διαταραχές που επηρεάζουν κυτταρικά στοιχεία. Πιο συγκεκριμένα, η συσσώρευση APP, χωρίς αυτή να έχει υποστεί κάποια πρωτεολυτική επεξεργασία, έχει συνδεθεί με μιτοχονδριακές διαταραχές και ως εκ τούτου, με επακόλουθες μεταβολές στον ενεργειακό μεταβολισμό του κυττάρου (Guo, et al., 2021).

2.2. Οι πρωτεΐνες Ταυ και η σημασία της φωσφορυλίωσής τους

Βασικό συστατικό του κυτταροσκελετού όλων των κυττάρων, επομένως και των νευρώνων του εγκεφάλου, είναι οι μικροσωληνίσκοι. Αποτελούν στοιχείο απαραίτητο για τη διάταξη και στήριξη ειδικών κυτταρικών δομών, όπως οι

δενδρίτες και οι νευράξονες. Ένα από τα συστατικά των μικροσωληνίσκων, το οποίο έχει βρεθεί πως σχετίζεται με νευροεκφυλιστικές νόσους, συμπεριλαμβανομένης της νόσου Alzheimer, είναι οι πρωτεΐνες Ταυ.

Οι πρωτεΐνες Ταυ αποτελούν μέρος μίας ειδικής κατηγορίας κυτταρικών δομικών πρωτεϊνών που ονομάζονται Πρωτεΐνες Σχετιζόμενες με Μικροσωληνίσκους (MAP). Οι συγκεκριμένες πρωτεΐνες εκφράζονται, κατά κύριο λόγο, στο κυτταρόπλασμα και στους νευράξονες. Πρωταρχικός ρόλος τους είναι η σταθεροποίηση των νευραξόνων, βασικό συστατικό των οποίων είναι πρωτεΐνες. Γίνεται σύνδεση με αυτούς μέσω του καρβοξυτελικού τους άκρου, το οποίο περιλαμβάνει 3 με 4 επαναλήψεις 31-32 αμινοξέων (Ashrafian, et al., 2021). Το ρόλο αυτό συμπληρώνουν οι αλληλεπιδράσεις τους με άλλα μόρια ποικίλης χημικής σύστασης, όπως είναι το RNA και η πρεσενιλίνη 1, μέλος του συμπλέγματος πρωτεϊνών που λειτουργεί ως υπομονάδα του ενζύμου γ-σεκρετάσης. Σε γενικές γραμμές, επιδρούν στην διαξονική μεταφορά ουσιών μεταξύ των νευρώνων και τη σηματοδότηση αυτών, καθιστώντας τις πρωτεΐνες Ταυ αναντικατάστατες πρωτεΐνες για τη δομική ακεραιότητα και επικοινωνία των νευρικών κυττάρων.

Ως φυσικό επόμενο, οποιαδήποτε αλλαγή στη δομή των πρωτεϊνών Ταυ δύναται να προκαλέσει αποσταθεροποίηση ή και κατάρρευση των μικροσωληνίσκων και, επομένως, του κυτταροσκελετού. Φαίνεται πως λάθη στη μετα-μεταφραστική επεξεργασία των Ταυ, όπως είναι η φωσφορυλίωση στις σερίνες 262 και 264, οδηγούν στην αποκόλλησή τους από τους μικροσωληνίσκους. Αυτό το εύρημα γίνεται εμφανές στη νόσο Alzheimer. Η φωσφορυλίωση των Ταυ σχετίζεται με την πολικότητα των κυττάρων, αλλά ακόμα και αλλαγές στην ενεργότητα ενζύμων σχετιζόμενων με τους μικροσωληνίσκους, όπως αυτής της κινάσης που ρυθμίζει τη συγγένεια των μικροσωληνίσκων (MARK), μπορούν να επιδεινώσουν την αποσταθεροποίηση του κυτταροσκελετού. Με λίγα λόγια, η απώλεια της σταθερότητας που παρέχουν οι πρωτεΐνες Ταυ επιδρά αρνητικά στην διαξονική μεταφορά και στις συνάψεις, οδηγώντας σε νευροεκφύλιση (Muralidar, et al., 2020).

Σαν επακόλουθο της αποσύνδεσης των πρωτεϊνών Ταυ από τους μικροσωληνίσκους, είναι η συσσώρευση και συσσωμάτωση των Ταυ, με αποτέλεσμα τη δημιουργία χαρακτηριστικών δομών που ονομάζονται

νευροϊνιδιακά τολύπια (NFTs). Αυτά, όπως και οι πλάκες αμυλοειδούς αποτελούμενες από τα τοξικά Αβ πεπτιδία, ενισχύουν τη νευροεκφύλιση, και επομένως, αποτελούν απειλή για την επιβίωση των νευρώνων.

Πρόσφατες μελέτες σε ζώα εργαστηρίου υποστηρίζουν πως υπάρχει στενή σύνδεση μεταξύ των μοριακών μηχανισμών που αφορούν τις πλάκες αμυλοειδούς και τα NFTs. Μάλιστα, ακόμα και διαλυτές μορφές των Αβ πεπτιδίων μπορούν να ενεργοποιήσουν έναν «καταρράκτη» χημικών αντιδράσεων, ο οποίος καταλήγει στην συσσώρευση και συσσωμάτωση των Ταυ. Κάτι τέτοιο είναι ιδιαίτερα εμφανές σε άτομα που παρουσιάζουν κάποια γενετική συνιστώσα της νόσου, όμως δεν απουσιάζει από περιπτώσεις σποραδικής εμφάνισης αυτής (Ashrafian, et al., 2021).

Σε συνέχεια των παραπάνω, έρευνες δείχνουν πως τα Αβ πεπτιδία των πλακών αμυλοειδούς αλληλεπιδρούν μεταξύ τους και μάλιστα δρουν πολλές φορές συνεργατικά, όπως γίνεται εμφανές σε μελέτες που έχουν γίνει σε ποντίκια και το νηματώδη σκώληκα *Caenorhabditis elegans*. Στα συγκεκριμένα ζωικά μοντέλα, βρέθηκε ότι η έκφραση τόσο των τοξικών Αβ πεπτιδίων, όσο και των μεταλλαγμένων Ταυ πρωτεϊνών, συμβάλλει σε ένα σοβαρότερο φαινότυπο της ασθένειας, σε σύγκριση με την έκφραση κάθε παράγοντα ξεχωριστά.

Οι μηχανισμοί συνέργιας είναι πολλοί και περιλαμβάνουν μεγάλο αριθμό κυτταρικών στοιχείων και κυτταρικών τύπων. Ο πρώτος τύπος συνέργιας των Αβ και Ταυ είναι η άμεση επαφή. Τα Αβ πεπτιδία έχουν την ικανότητα να προκαλούν τη δημιουργία Ταυ ολιγομερών, καθιστώντας τις Ταυ ανθεκτικές στην πρωτεολυτική δράση πρωτεασών. Η συγκεκριμένη σύνδεση παρατηρείται ακόμα και πριν τη δημιουργία πλακών και NFTs. Σε συνέχεια αυτού, τόσο τα Αβ πεπτιδία, όσο και οι πρωτεΐνες Ταυ, δύνανται να τροποποιήσουν την εκκριτική ικανότητα των μικρογλοιακών κυττάρων, τα οποία, όπως προαναφέρθηκε, αποτελούν αμυντικά κύτταρα του ΚΝΣ και τα οποία εκκρίνουν προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες. Τα μικρογλοιακά κύτταρα έχουν την δυνατότητα επεξεργασίας των Ταυ, ενδεχομένως συμβάλλοντας στην περαιτέρω παθολογική τροποποίησή τους, οδηγώντας σε αυξημένα επίπεδα συσσωματωμάτων τους. Αυτά τα κύτταρα, όταν μειωθούν σε αριθμό, η ποσότητα των Ταυ μειώνεται επίσης, γεγονός που υπογραμμίζει το σημαντικό ρόλο τους στην παθοφυσιολογία της νόσου. Η συνεργασία των Αβ και των Ταυ δε σταματά εδώ. Τα Αβ πεπτιδία μπορούν να προκαλέσουν υπερδιέγερση

των νευρώνων, με αποτέλεσμα την αυξημένη παραγωγή των Ταυ και την εξαγωγή τους από το κύτταρο. Οι πρωτεΐνες Ταυ τότε διανέμονται σε γειτονικά κύτταρα, όπου συνεχίζεται ο κύκλος παραγωγής τους. Επιπρόσθετα, παρατηρούνται αλλαγές στο ιοντικό ισοζύγιο των νευρώνων, με απορρύθμιση των συγκεντρώσεων ασβεστίου, πυροδοτώντας σηματοδοτικά μονοπάτια σχετιζόμενα με την τροποποίηση των Ταυ, συνεισφέροντας κατά αυτόν τον τρόπο στη συσσώρευσή τους.

Μαζί με τα παραπάνω, μεταλλάξεις σε γονίδια όπως το TREM2, το οποίο σχετίζεται με τη λειτουργία των μικρογλοιακών κυττάρων, αποτελούν σημαντικούς παράγοντες κινδύνου για εμφάνιση της νόσου. Σε αυτές τις μεταλλάξεις, προστίθενται διαταραχές στην έκφραση και καταστολή γονιδίων, οι οποίες προκαλούνται από τα συσσωρευμένα Αβ και Ταυ στοιχεία. Στην ενίσχυση των γονιδίων που σχετίζονται με την παραγωγή αυτών, συμμετέχουν και γονίδια που εμπλέκονται στο μεταβολισμό των λιπιδίων, όπως το γονίδιο της APOE4.

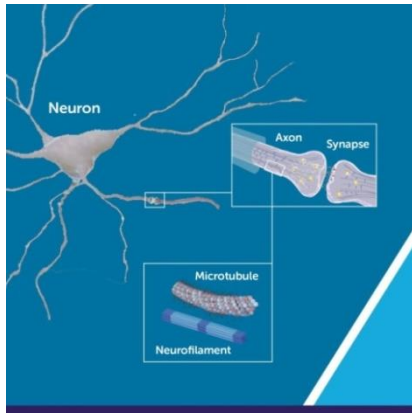
Στους μηχανισμούς αυτούς πρέπει να συνυπολογιστούν παράγοντες, όπως η φυσική γήρανση και αγγειακές παθήσεις, οι οποίοι συμβάλλουν με διαφορετικούς τρόπους στην παθογένεια της νόσου. Ακόμη, οι μεταβολικές διαδικασίες που αφορούν το μεταβολισμό των λιπιδίων και τη μυελίνωση συνδράμουν στην επιδείνωση της απορρύθμισης των νευρώνων και της διακυτταρικής επικοινωνίας. Μέχρι και διαδικασίες όπως είναι η εξωκυττάρια μεταφορά και η αυτοφαγία επηρεάζονται από την υπερβολική συσσώρευση των Αβ και Ταυ, ενώ ταυτόχρονα συνεισφέρουν σε αυτήν. Η διακοπή μεταφοράς ενδοκυτταρικών στοιχείων εξωκυτταρικά και η αναστολή της δράσης των αυτοφαγοσωμάτων επιφέρουν τη συσσώρευση τοξικών παραπροϊόντων του μεταβολισμού εντός του κυττάρου, με αποτέλεσμα τον κυτταρικό θάνατο (Busche & Hyman, 2020).

2.3. Τα Νευροϊνίδια Χαμηλού Μοριακού Βάρους (NF-L) και η Ινώδης Όξινη Πρωτεΐνη των Γλοιών (GFAP)

Τα νευροϊνίδια (NFs) αποτελούν ενδιάμεσα ινίδια, τα οποία απαντώνται αποκλειστικά στους νευρώνες και απαρτίζονται από 4 υπομονάδες: την ελαφριά νευροϊνιδιακή αλυσίδα (NFL), τη μεσαία νευροϊνιδιακή αλυσίδα (NFM), τη βαριά νευροϊνιδιακή αλυσίδα (NFH) και την α-Ιντερνεξίνη. Οι υπομονάδες μεταξύ τους δεν είναι ξεχωριστά μόρια, αλλά δρουν συνεργατικά, επιτελώντας διαφόρους ρόλους. Ανευρίσκονται κυρίως στους δενδρίτες, στα σώματα των νευρώνων και στους νευράξονες, συμμετέχοντας στην κυτταρική στήριξη, σηματοδότηση και μεταφορά μορίων.

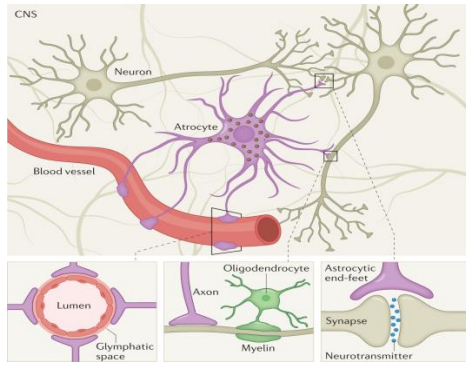
Τα τελευταία χρόνια, η επιστημονική κοινότητα έχει εκδηλώσει ιδιαίτερο ενδιαφέρον για το ρόλο που διαδραματίζουν τα εν λόγω ινίδια στην παθογένεια της νόσου Alzheimer. Μέσω μίας βασικής έρευνας σε διαγονιδιακά ποντίκια, η σχέση αυτή έγινε πιο σαφής. Τα διαγονιδιακά ζώα είναι οργανισμοί των οποίων το γονιδίωμα έχει τροποποιηθεί με την εισαγωγή σε αυτά ξένου DNA και το οποίο μεταβιβάζεται ύστερα στους απογόνους αυτών (Μαραζιώτη, 2016).

Πιο συγκεκριμένα, στα εν λόγω ποντίκια, τα γονίδια της APP ή της PSEN-1 είχαν τροποποιηθεί, ενώ το γονίδιο υπεύθυνο για την έκφραση των NFL είχε απενεργοποιηθεί (knockout mice). Βρέθηκε πειραματικά πως η απουσία των NFL από τους νευρώνες οδήγησε σε σοβαρή δυστροφία του φλοιού (αποδυνάμωση και επικείμενη απώλεια αυτού), μεταβολές και συσσώρευση των Αβ πεπτιδίων, διαταραχές στους νευράξονες και στις νευρικές συνάψεις, ενώ παράλληλα ενισχύθηκε ο πολλαπλασιασμός των μικρογλοιακών κυττάρων γύρω από τις πλάκες αμυλοειδούς. Από αυτά καθίσταται σαφές ότι τα νευροϊνίδια, όχι μόνο συσχετίζονται με τη νόσο Alzheimer, όπως φαίνεται από τις επιπτώσεις που έχει η απουσία τους σε παθολογικά μόρια όπως τα Αβ πεπτίδια, αλλά φαίνεται επίσης ότι παρουσιάζουν και προστατευτικό ρόλο απέναντι στην εμφάνιση της νόσου. Σε άλλες έρευνες διαπιστώθηκε ότι, σε γηραιά ποντίκια, όπου τα επίπεδα του σιδήρου είναι αυξημένα είτε ενδοκυτταρικά είτε εξωκυτταρικά, δημιουργήθηκε ευνοϊκό έδαφος για την ανάπτυξη και εξάπλωση νευροεκφύλισης ή και συσσώρευσης πρωτεϊνών, όπως των πρωτεϊνών Ταυ (Wang, et al., 2024).



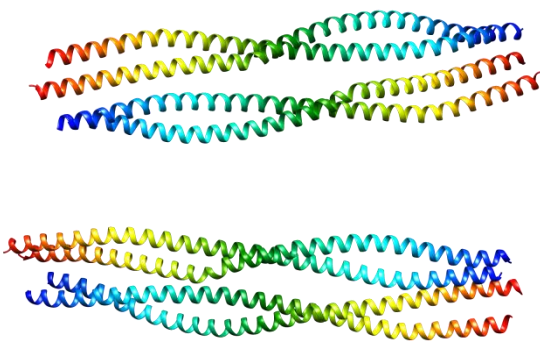
Εικόνα 1 Neurofilament: νευροϊνίδιο και θέση στους νευρώνες

Η όξινη ινώδης πρωτεΐνη των γλοιών, ή Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP), αποτελεί ενδιάμεσο ινίδιο των αστροκυττάρων, τα οποία, όπως έχει αναφερθεί σε προηγούμενο κεφάλαιο, πρόκειται για τύπο νευρογλοιακών κυττάρων στο ΚΝΣ, με εξέχοντα ρόλο στη διατήρηση της ομοιόστασης του εγκεφάλου και την προστασία του απέναντι σε απειλές, όπως ασθένεια ή τραυματισμούς. Τα ίδια τα αστροκύτταρα είναι ευαίσθητα στις επακόλουθες βιοχημικές αλλαγές που διακρίνουν τη νόσο Alzheimer. Οι αλλαγές αυτές θέτουν τις κατάλληλες συνθήκες για την ενεργοποίηση μονοπατιών που οδηγούν τα αστροκύτταρα σε αντιδραστική αστρογλοίωση. Μέσω αυτής της διαδικασίας, επιδιώκεται η επαναφορά της ομοιόστασης του εγκεφαλικού παρεγχύματος, η οποία απορρυθμίστηκε εξαιτίας απειλητικών για τον εγκέφαλο περιβαλλοντικών αλλαγών. Κατά αυτόν τον τρόπο, επιδέχονται ποικίλες δομικές και λειτουργικές αλλαγές. Σε αυτές τις αλλαγές περιλαμβάνεται η αύξηση παραγωγής της GFAP. Η συγκεκριμένη πρωτεΐνη δρα ως σταθεροποιητής της δομής των αστροκυττάρων και εκκρίνεται από τα ενεργοποιημένα αστροκύτταρα στο ΕΝΥ ή και στο αίμα.



Εικόνα 2 Τα αστροκύτταρα και οι ρόλοι τους στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα

Έρευνες έχουν δείξει πως τα επίπεδα της εν λόγω πρωτεΐνης αυξάνονται σημαντικά, τόσο στο ΕΝΥ όσο και στο αίμα, σε άτομα με τη νόσο Alzheimer, αποδεικνύοντας πως τα αστροκύτταρα μετέχουν ενεργά στους παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς της ασθένειας. Ειδικότερα, υψηλότερα επίπεδα της GFAP στο πλάσμα του αίματος έχουν συνδεθεί με σοβαρότερες/πιο προχωρημένες μορφές της ασθένειας, καθότι έχει βρεθεί ότι η έκκρισή της υποδηλώνει την παρουσία πλακών αμυλοειδούς και νευροϊνιδιακών τολυπίων, ευρημάτων που συναντώνται σε προχωρημένα στάδια της νόσου. Από τα παραπάνω γίνεται φανερό ότι η GFAP αποτελεί κρίσιμο μόριο-κλειδί της λειτουργίας των αστροκυττάρων, παρέχοντας επιπρόσθετες πληροφορίες σχετικά με την κατάσταση του ΚΝΣ στους ασθενείς (Limberger & Zimmer, 2024).



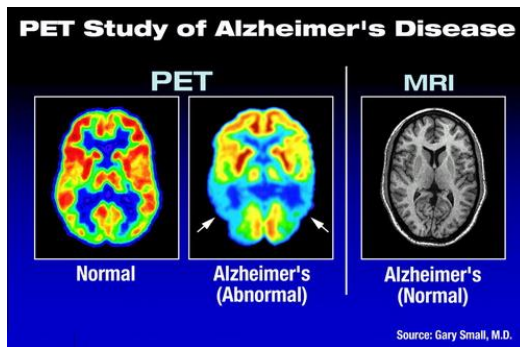
Εικόνα 3 Τρισδιάστατη μορφή τη GFAP

Κεφάλαιο 3. Οι Βιοδείκτες στην Alzheimer's

3.1. Οι Απεικονιστικοί Βιοδείκτες

Η μέθοδος PET αποτελεί μία εξέχουσα μοριακή απεικονιστική τεχνική, η οποία προσφέρει τη δυνατότητα δημιουργίας τρισδιάστατων εικόνων του εγκεφάλου, παρέχοντας πληροφορίες σχετικά με τη μοριακή, και κατ' επέκταση, κυτταρική του κατάσταση. Χρησιμοποιείται ευρέως, μεταξύ άλλων, για τη διάγνωση, τη θεραπεία και την παρακολούθηση ασθενών με άνοιες και φυσικά σε αυτές συμπεριλαμβάνεται η νόσος Alzheimer.

Μία από τις σύγχρονες μεθόδους ανίχνευσης πρώιμων ανωμαλιών στον εγκέφαλο αποτελεί η εξέταση της 18F-FDG PET. Με αυτή την εξέταση ανιχνεύονται τα επίπεδα της γλυκόζης του εγκεφάλου ως ένας πρώιμος δείκτης άνοιας, πριν καν εμφανιστούν χαρακτηριστικές ανατομικές ανωμαλίες ή κλινικά συμπτώματα. Αποτελεί μία ιδιαίτερα χρήσιμη εξέταση, με την οποία εντοπίζονται και αναγνωρίζονται περιοχές του εγκεφάλου οι οποίες παρουσιάζουν μειωμένα επίπεδα μεταβολισμού της γλυκόζης. Μερικές από τις περιοχές στις οποίες ο μεταβολισμός παρουσιάζει σταθερά μειωμένα επίπεδα είναι ο έσω κροταφικός λοβός, το οπίσθιο τμήμα της εγκεφαλικής έλικας, οι μετωποκροταφικοί λοβοί και οι βρεγματοκροταφικές περιοχές. Συνήθως, αυτές οι αλλαγές, σε βάθος χρόνου, εξελίσσουν την Ήπια Γνωστική Διαταραχή σε νόσο Alzheimer, οδηγώντας σε σημαντική εγκεφαλική ατροφία και νευροεκφύλιση. Αυτή η σύνδεση ενισχύεται από τα αποτελέσματα ψυχομετρικών τεστ στα οποία υποβάλλονται οι ασθενείς, στα οποία διαπιστώνεται η έκπτωση των γνωστικών λειτουργιών. Από αυτά γίνεται σαφές ότι η συγκεκριμένη εξέταση αποτελεί σημαντική εξέλιξη στην έγκαιρη διάγνωση της νόσου, ενώ είναι ιδιαίτερα ευαίσθητη. Παρά ταύτα, ο διαχωρισμός έγκειται στη διαφοροποίηση μεταξύ των υγιών ενήλικων ατόμων και ατόμων με τη νόσο Alzheimer, και όχι στη διαφοροδιάγνωση μεταξύ ατόμων που παρουσιάζουν διαφορετικές μορφές άνοιας. Επιπλέον, το κόστος και η έκθεση στην ιονίζουσα ακτινοβολία είναι αυξημένα. Δεν παύει όμως να αποτελεί πολύτιμο εργαλείο για τη διάγνωση της νόσου.



Εικόνα 4 Απεικόνιση PET φυσιολογικού εγκεφάλου και εγκεφάλου με χαρακτηριστική ατροφία στη νόσο Alzheimer

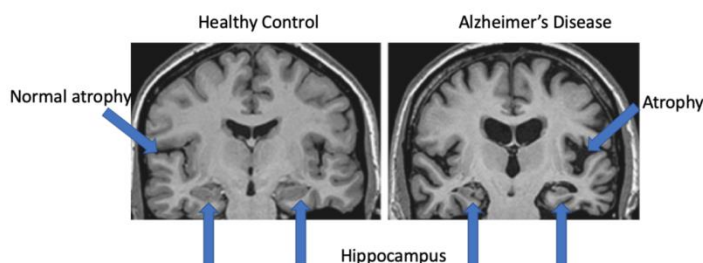
Τις τελευταίες δεκαετίες έχουν αναπτυχθεί ραδιοϊσότοπα -ειδικοί ανιχνευτές με ποικίλους χρόνους ημιζωής και συγγένειας με τις πλάκες αμυλοειδούς, τα οποία χρησιμοποιούνται με σκοπό τον εντοπισμό και την αξιολόγηση της έκτασης των συσσωματωμάτων των Αβ πεπτιδίων στον εγκέφαλο ατόμων με τη νόσο Alzheimer. Μέσω της αξιοποίησης αυτών στη εξέταση PET, οι ερευνητές έχουν πετύχει τη σύνδεση μεταξύ της συσσώρευσης των Αβ πεπτιδίων στον εγκέφαλο και παθολογικών ανατομικών ανωμαλιών, όπως είναι η ανώμαλη ενδοκρινική δραστηριότητα και η λέπτυνση του εγκεφαλικού φλοιού σε άτομα μεγαλύτερης ηλικίας με φυσιολογική κλινική εικόνα. Αυτό το εύρημα τονίζει τη σημασία των πλακών αμυλοειδούς ως προγνωστικού δείκτη για την εναπόθεση των πρωτεϊνών Ταυ, ενός χαρακτηριστικού ευρήματος άμεσα συσχετιζόμενο με την πορεία και την εξέλιξη της νόσου. Ραδιενεργοί ιχνηθέτες, όπως αυτοί που συνδέονται με την ένωση Pittsburgh B, είναι οι προτιμότεροι και οι καταλληλότεροι του είδους τους για την ανίχνευση των παθολογικών συναθροίσεων των Αβ πεπτιδίων με μεγάλη ακρίβεια. Εντούτοις, οι συγκεκριμένοι ιχνηθέτες παρουσιάζουν μειωμένο χρόνο ημιζωής, δηλαδή αποβάλλονται από τον οργανισμό σύντομα, ενώ απαιτείται η παρουσία κύκλωτρου για την παραγωγή και επιτάχυνση των ραδιενεργών ισοτόπων, προκειμένου να διεξαχθεί η εξέταση. Αυτά έχουν ως αποτέλεσμα την αύξηση του κόστους των κέντρων που εκτελούν την εν λόγω εξέταση, ενώ παράλληλα επιβαρύνονται και οι εξεταζόμενοι, καθιστώντας τη λιγότερο θεμιτή και προσιτή από το ευρύ κοινό. Τα παραπάνω έχουν ωθήσει στην αναζήτηση και ανάπτυξη φθορισμένων ιχνηθετών, όπως είναι το Florbetapir F18 και το Florbetaben.

Συνδυαστικά με την ανίχνευση των πλακών αμυλοειδούς, πραγματοποιείται η ανίχνευση των NFs μέσω ειδικών ιχνηθετών, όπως είναι οι [18F]PI-2620 και [18F]MK-6240, οι οποίοι χαρακτηρίζονται από υψηλή ακρίβεια προς τα μόρια-στόχους που είναι οι πρωτεΐνες Ταυ. Παρ' όλ' αυτά, η στενή σύνδεση των Ταυ με τα Αβ πεπτίδια και οι πολύπλοκοι μοριακοί μηχανισμοί που διέπουν αυτά τα δύο μόρια, δυσχεραίνουν την αποσαφήνιση της βιολογικής κατάστασης του εγκεφάλου, καθιστώντας τη χρήση αυτών των βιοδεικτών μη πρακτική στην κλινική πράξη.

Εκτός της εφαρμογής ιχνηθετών ειδικών ως προς τις εναποθέσεις των Αβ πεπτιδίων και των πρωτεϊνών Ταυ, πρόσφατες μελέτες υπογραμμίζουν πως η εύρεση βιοδεικτών που σχετίζονται με τις νευρικές συνάψεις, και συγκεκριμένα με τις βλάβες ή την απώλεια αυτών, είναι πολλά υποσχόμενη για την πρόγνωση της νόσου. Για αυτόν τον σκοπό, έχουν ανευρεθεί νέα PET ραδιοϊσότοπα, όπως τα [11C]UCB-J, [11C]UCB-A και [18F]UCB-H, τα οποία συνδέονται με τα συναπτικά κυστίδια γλυκοπρωτεΐνης 2A, επιτρέποντας κατά αυτόν τον τρόπο την απεικόνιση των νευρικών συνάψεων του εγκεφάλου. Ειδικότερα, το [11C]UCB-J αποτελεί πολύτιμο εργαλείο για την εκτίμηση και σύγκριση της πυκνότητας/αριθμού των νευρικών συνάψεων στον εγκέφαλο υγιών ατόμων και ατόμων με τη νόσο Alzheimer. Μάλιστα, έρευνες έδειξαν πως στους τελευταίους οι νευρικές συνάψεις είναι σημαντικά μειωμένες στην περιοχή του ιππόκαμπου, περιοχή καθοριστική για τη μνήμη, συγκριτικά με τους πρώτους. Η συγκεκριμένη προσέγγιση είναι ακόμα νέα, αλλά δύνανται, συνδυαστικά με άλλους βιοδείκτες, να προσδώσει μία πιο ολοκληρωμένη εικόνα της νόσου, ακόμα και σε αρχικά στάδια (Villa, et al., 2020).

Μία άλλη εξέταση, με εξίσου ευρεία χρήση στη πρόγνωση και διάγνωση ανοιτών, είναι η Μαγνητική Τομογραφία (MRI). Με την εν λόγω εξέταση παράγονται τρισδιάστατες εικόνες ανατομικών δομών με μη επεμβατικό τρόπο, εφαρμόζοντας ισχυρά μαγνητικά πεδία (National Institute of Health, 2021). Παρέχει πληροφορίες σχετικά με τη νευροεκφύλιση μέσω της ανάλυσης της εγκεφαλικής φαιάς ουσίας. Η μείωση του πάχους και του όγκου του εγκεφαλικού φλοιού αποτελούν ενδείξεις εγκεφαλικής ατροφίας, με ευρήματα όπως ατροφία του έσω κροταφικού λοβού, και ιδιαίτερα του ιππόκαμπου, ενδεικτικά της νόσου Alzheimer, ακόμα και σε αρχικά στάδια της νόσου, συμβάλλοντας σε μία πρώτη προγνωστική εκτίμηση. Με τη

συγκεκριμένη μέθοδο, η διαφοροδιάγνωση μεταξύ των διαφορετικών τύπων άνοιας, όπως και με τα PET scans, είναι αδύνατη και για αυτό απαιτείται συνδυαστική αξιολόγηση ενός συνόλου εξετάσεων για να τεθεί διάγνωση με μεγαλύτερη βεβαιότητα (Andersen, et al., 2021).



Εικόνα 5 Απεικόνιση MRI εγκεφάλου με φυσιολογική ατροφία και εγκεφάλου ατόμου με νόσο Alzheimer, όπου παρατηρείται χαρακτηριστική ατροφία στην περιοχή του ιπποκάμπου

3.2. Οι Βιοδείκτες στο Εγκεφαλονωτιαίο Υγρό (ΕΝΥ)

Μέχρι και σήμερα, πιθανοί βιοδείκτες για τη νόσο Alzheimer αναζητώνται και μελετώνται συνεχώς στο ΕΝΥ, το οποίο, όπως έχει αποδειχθεί, αντικατοπτρίζει ικανοποιητικά τη βιολογική κατάσταση του εγκεφάλου, καθώς έρχεται σε επαφή με το εξωκυττάριο υγρό. Έτσι, οι μεταβολές στη βιοχημική σύσταση του εγκεφάλου αντανακλώνται καθαρά στη σύσταση του ΕΝΥ, καθώς ο αιματοεγκεφαλικός φραγμός, με τον οποίο επικοινωνεί, διαταράσσεται σε νευροεκφυλιστικές νόσους, όπως η νόσος Alzheimer.

Ένας από τους εκτενέστερα μελετημένους και πιο αξιόπιστους βιοδείκτες, που σχετίζεται με τη διάγνωση της νόσου, είναι τα αμυλοειδογενή πεπτίδια Αβ42. Όπως έχει αναφερθεί και σε προηγούμενα κεφάλαια, τα συγκεκριμένα πεπτίδια αποτελούν συστατικά των πλακών αμυλοειδούς, χαρακτηριστικό εύρημα της νόσου. Έχει βρεθεί ότι στους ασθενείς με Alzheimer, τα επίπεδα των Αβ42 στο ΕΝΥ μειώνονται, γεγονός που συνδέεται με τη συσσώρευση των Αβ42 στις πλάκες αμυλοειδούς. Ως αποτέλεσμα, τα επίπεδα αποβολής αυτών από τον εγκέφαλο ελαττώνονται. Ο συγκεκριμένος δείκτης θέτει τις βάσεις για ορθή διαφοροδιάγνωση της νόσου Alzheimer από άλλες μορφές άνοιας, στις οποίες η

μείωση των Αβ42 πεπτιδίων δεν αποτελεί χαρακτηριστικό εύρημα, όπως συμβαίνει στη μετωποκροταφική και την αγγειακή άνοια.

Παράλληλα με τους δείκτες αμυλοειδούς, εξίσου διερευνημένοι είναι δείκτες των πρωτεϊνών Ταυ και πιο συγκεκριμένα, η φωσφορυλιωμένη μορφή τους. Οι εν λόγω πρωτεΐνες, όταν φωσφορυλιώνονται σε μεγάλο βαθμό, συσσωρεύονται και οδηγούν στη δημιουργία νευροϊνδιακκών τολυπίων (NFTs). Η υπερφωσφορυλίωση των Ταυ και τα NFTs αποτελούν επίσης χαρακτηριστικά ευρήματα της νόσου Alzheimer. Ειδικότερα, τα επίπεδα των pΤαυ παρουσιάζουν μεγάλη αύξηση στο ENY, υποδεικνύοντας την παρουσία των NFTs στον εγκέφαλο. Ο συγκεκριμένος βιοδείκτης διακρίνεται για την του εξαιρετική ειδικότητα, συμβάλλοντας στη διαφοροδιάγνωση της νόσου Alzheimer από άλλες νευροεκφυλιστικές ασθένειες που προκαλούν άνοια.

Συνδυαστικά με τις pΤαυ, εξετάζονται και τα συνολικά επίπεδα των Ταυ πρωτεϊνών, τόσο φωσφορυλιωμένων όσο και μη, στο ENY. Ο συγκεκριμένος δείκτης, ωστόσο, δεν χαρακτηρίζεται από ιδιαίτερη ακρίβεια, καθώς τα επίπεδα αυτού αυξάνονται, εκτός από τη νόσο Alzheimer, σε κρανιακές κακώσεις και σε καταστάσεις καταστροφής των νευραξόνων. Παρ'όλ'αυτά, εξετάζεται σε συνδυασμό με τις pΤαυ και δρα επικουρικά στη διάγνωση, παρέχοντας μία πληρέστερη εικόνα της έκτασης της νευροεκφύλισης (Zou, et al., 2020).

3.3. Οι Βιοδείκτες στο αίμα

Οι βιοδείκτες που ανευρίσκονται και μετρώνται στο ENY, όπως τα αμυλοειδογενή Αβ πεπτιδία και η φωσφορυλιωμένη μορφή των Ταυ πρωτεϊνών, εξακολουθούν να είναι ο «χρυσός κανόνας» για τη διάγνωση της νόσου Alzheimer και πλέον μπορούν να ανιχνευθούν και να μετρηθούν και στο πλάσμα του αίματος, καθιστώντας δυνατή μία μη επεμβατική αξιολόγηση των επιπέδων των βιοδεικτών αυτών (Hampel, et al., 2018). Η πλειοψηφία των μελετών είναι αρκετά πρόσφατη, ωστόσο οι έρευνες είναι πολλά υποσχόμενες, καθότι ήδη αναζητούνται και μελετώνται νέοι πιθανοί βιοδείκτες στο πλάσμα.

Ένας από τους νεότερους δείκτες που μελετώνται είναι τα Νευροϊνίδια Χαμηλού Μοριακού Βάρους (NfL). Είναι ήδη γνωστό πως αποτελούν ένα συσχετιζόμενο προγνωστικό δείκτη για τη νόσο Alzheimer, ο οποίος αυξάνεται στα πρώιμα στάδια της ασθένειας. Ταυτόχρονα, αποτελεί και δείκτη νευροεκφύλισης, μειώνοντας την αξιοπιστία του και τη συγγένεια με τη νόσο. Η μέθοδος SiMoA επιτρέπει τη μέτρηση εξαιρετικά μικρών ποσοτήτων των NfL στο πλάσμα, προσφέροντας πολύτιμες πληροφορίες από την περιφέρεια του σώματος, σχετικά με πιθανή νευροεκφύλιση, εγκεφαλική ατροφία και τη συνεπαγόμενη έκπτωση των γνωστικών λειτουργιών στα άτομα στα οποία ανιχνεύονται. Αυτές οι μελέτες δείχνουν πως τα αυξημένα επίπεδα των NfL στο πλάσμα αίματος ατόμων με τη νόσο Alzheimer είναι σαφώς αυξημένα, σε σύγκριση με controls ατόμων με φυσιολογικά επίπεδα γνωστικών λειτουργιών. Κατά αυτόν τον τρόπο, σε συνδυασμό με μία σειρά από άλλους βιοδείκτες, τα NfL μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως προγνωστικά εργαλεία για τη νόσο.

Όπως αναπτύχθηκε σε περασμένα κεφάλαια, ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη και την εξέλιξη της νόσου Alzheimer είναι η φλεγμονή. Η συσσώρευση, τόσο πλακών αμυλοειδούς όσο και νευροϊνιδιακών τολυπίων, οδηγεί σε ενεργοποίηση της μικρογλοίας και των αστροκυττάρων, τα οποία δρουν είτε προστατευτικά απέναντι στη φλεγμονή είτε ενισχύοντάς τη. Πρόσφατες έρευνες τονίζουν τη σημασία αυτών των δεικτών στη πρόγνωση της νόσου, όχι μόνο στο ENY, αλλά και στο πλάσμα. Ένας από τους εκτενέστερα μελετημένους είναι ο TREM2 (Triggering receptor expressed on myeloid cells) και συγκεκριμένα το mRNA αυτού, ο οποίος εκφράζεται στα μικρογλοιακά κύτταρα και διαδραματίζει πολλαπλούς ρόλους, όπως η ρύθμιση φαγοκυττάρωσης, η παραγωγή κυτταροκινών και η συμμετοχή στην κυτταρική διαίρεση. Έχουν βρεθεί αυξημένα επίπεδα του TREM2 στα μονοπυρηνικά κύτταρα του περιφερικού αίματος (λεμφοκύτταρα και μονοκύτταρα) ατόμων με τη νόσο Alzheimer, ιδιαίτερα αυτών που παρουσιάζουν μεταλλάξεις στο γονίδιο της APOE4. Με το συγκεκριμένο βιοδείκτη, δίνεται η δυνατότητα διαχωρισμού των διαφόρων σταδίων της ασθένειας. Παράλληλα με τον TREM2, μπορεί να χρησιμοποιηθεί και ο δείκτης TREM1.

Εκτός από τη μέτρηση των επιπέδων του mRNA, στο περιφερικό αίμα μετράται και η διαλυτή μορφή του TREM2, sTREM2. Πρόκειται για την εξωκυττάρια μονάδα της πρωτεΐνης. Χαμηλότερα επίπεδα αυτής στο πλάσμα του αίματος έχουν συσχετιστεί με τη συσσώρευση των Αβ αμυλοειδούς και ρΤαυ. Ωστόσο, η ειδικότητά του προς τη νόσο Alzheimer ακόμα αμφισβητείται, καθώς ίδια εικόνα παρουσιάζουν και άτομα με αγγειακή άνοια. Σε αντίθεση με το sTREM2, ο sTREM1 φαίνεται πως παρουσιάζει κοντινότερη συγγένεια με τη νόσο Alzheimer.

Ακόμα ένας δείκτης φλεγμονής που μελετάται είναι η πρωτεΐνη YKL-40, γνωστή και ως CHI3L1 (Chitinase-3-like protein 1). Η εν λόγω γλυκοπρωτεΐνη εκφράζεται στα μικρογλοιακά κύτταρα και θεωρείται προφλεγμονώδης. Εμφανίζει χρησιμότητα ως δείκτης για ήπια γνωστική δυσλειτουργία, αλλά όχι τόσο για τη νόσο Alzheimer, καθώς τα επίπεδά της επηρεάζονται από ποικίλες συνθήκες και παρουσιάζουν μεταβολές ανάλογα με το φύλο. Σε παρόμοια στάδια βρίσκονται και οι βιοδείκτες MCP-1, MCP-3, CRP, χημειοκίνες (CX3CL1, CCL23, RANTES), και συστατικά του συμπληρώματος (clusterin, factor I, terminal complement complex, C3, C4). Και σε αυτούς τους δείκτες δεν έχει εξασφαλιστεί η ειδικότητα με τη νόσο Alzheimer και η εφαρμογή τους στην πρόγνωση και στη διάγνωση της νόσου παραμένει σε πειραματική φάση.

Οι βιταμίνες, εκτός από το σπουδαίο ρόλο που έχουν στη διατροφή, συσχετίζονται με διάφορες νόσους και τους μηχανισμούς τους. Όσον αφορά στις άνοιες, έχει ήδη ξεκινήσει η αναζήτηση της συμμετοχής τους στην παθοφυσιολογία της νόσου Alzheimer. Μέλη αυτής της οικογένειας εξετάζονται ως προς τη χρησιμότητά τους ως βιοδείκτες στη νόσο, αλλά εμφανίζονται ακόμα αρκετοί περιορισμοί και ασυνέχειες στις έρευνες που έχουν διεξαχθεί και για αυτό απαιτείται περαιτέρω έρευνα. Ορισμένες μελέτες τονίζουν τη σημασία που έχουν οι βιταμίνες του συμπλέγματος Β στη φυσιολογική λειτουργία του νευρικού συστήματος. Πιο συγκεκριμένα, χαμηλά επίπεδα της βιταμίνης Β1 (θιαμίνης) έχουν συσχετιστεί με την εξέλιξη της νόσου Alzheimer, ενώ υψηλότερα επίπεδα της ενεργούς μορφής της (διφωσφορικής θιαμίνης) προστατεύουν τα εγκεφαλικά κύτταρα από νευροεκφύλιση. Επίσης, μειωμένη πρόσληψη της βιταμίνης Β2 (ριβοφλαβίνης) έχει συνδεθεί με υψηλότερα ποσοστά εμφάνισης της νόσου, ειδικά σε άτομα που παρουσιάζουν το γονίδιο APOE4. Επιπλέον, αυξημένα επίπεδα της

ομοκυστεΐνης (πρωτεϊνικού αμινοξέος) παρατηρούνται σε καρδιολογικές και νευρολογικές ασθένειες. Συμπληρώματα διατροφής με βιταμίνη Β6 μειώνουν τα επίπεδα της ομοκυστεΐνης στο αίμα και έχουν θετική επίδραση στους ασθενείς με τη νόσο Alzheimer. Παρά ταύτα, η σύνδεση μεταξύ ορισμένων βιταμινών του συμπλέγματος Β, όπως του φυλλικού οξέος και της Β12, και των μειωμένων γνωστικών λειτουργιών δεν έχει ακόμα αποσαφηνιστεί. Σε συνέχεια αυτών, μειωμένα επίπεδα φολικού οξέος Β9 δείχνουν πως συσχετίζονται με επιδείνωση της έκπτωσης των γνωστικών λειτουργιών. Τα ίδια ισχύουν και για τη βιταμίνη C, η οποία βρέθηκε μειωμένη σε ασθενείς με Alzheimer. Όσον αφορά στις λιποδιαλυτές βιταμίνες, έλλειψη της βιταμίνης D συσχετίζεται με νευροεκφύλιση, διαταραχές στις γνωστικές λειτουργίες και άνοια. Ειδικότερα, χαμηλά επίπεδα της μορφής 25(OH)D3 συνδέονται με ήπια γνωστική διαταραχή και Alzheimer, ενώ υψηλότερα επίπεδα της ίδια μορφής συνδέονται με φυσιολογικό όγκο των εγκεφαλικών ημισφαιρίων και επικοινωνία μεταξύ των νευρώνων. Αυτά καθιστούν τη βιταμίνη D έναν ενδυνάμει δείκτη για τη νόσο Alzheimer, απαιτείται όμως εκτενέστερη μελέτη της σύνδεσής της με τη νόσο. Για τις βιταμίνες Α και Ε, η έρευνα βρίσκεται ακόμα σε αρχικά στάδια. Σε κάποιες μελέτες, τα επίπεδα και των δύο βιταμινών είναι σαφώς μειωμένα στο αίμα ασθενών με τη νόσο Alzheimer, αλλά και σε άλλες άνοιες.

Εκτός από τις μεταβολές στα επίπεδα των βιταμινών του πλάσματος, διαταραχές στο εντερικό μικροβίωμα σχετίζονται επίσης με παθολογικές καταστάσεις, όπως η νευροεκφύλιση στη νόσο Alzheimer. Στους ασθενείς με τη νόσο έχει βρεθεί πως τα είδη που παρουσιάζουν προφλεγμονώδη δραστηριότητα υπερτερούν έναντι αυτών που δρουν προστατευτικά έναντι της φλεγμονής. Αυτή η κατάσταση ονομάζεται δυσβίωση και αποτελεί και αυτή εύρημα απορρύθμισης της ομοιόστασης της εντερικής χλωρίδας. Σαν αποτέλεσμα αυτής της αστάθειας, ενισχύονται η συστηματική φλεγμονή, η απόπτωση επιθηλιακών κυττάρων και η μετανάστευση βακτηριακών πληθυσμών. Έχουν αναζητηθεί και εκτιμηθεί βιοδείκτες στα κόπρανα, όπως το Ν-οξειδιο της τριμεθυλαμίνης, αλλά και δείκτες οξειδωτικού στρες που διαχωρίζουν τα άτομα με φυσιολογικά επίπεδα γνωστικών λειτουργιών από τα άτομα με οποιαδήποτε διαταραχή. Μάλιστα, ορισμένοι δείκτες ανευρίσκονται στα ίδια τα βακτήρια του εντέρου, όπως οι λιποσακχαρίτες του κυτταρικού τοιχώματός τους και μικρά τμήματα λιπαρών οξέων, και τα επίπεδά

τους αντανακλώνται στο πλάσμα του αίματος. Ωστόσο, παράγοντες όπως το φύλο, οι καθημερινές συνήθειες και η ηλικία κρίνεται απαραίτητο να λαμβάνονται υπόψη για μία πιο ολοκληρωμένη εικόνα της κατάστασης του μικροβιώματος και της αξιοποίησής του ως «καθρέπτη» για τη νόσο Alzheimer (Varesi, et al., 2022).

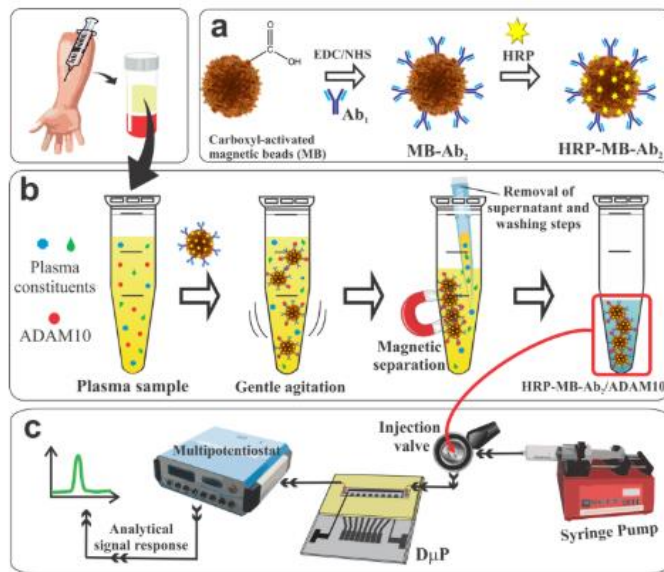
Τα τελευταία χρόνια αναπτύσσονται διαρκώς νέες μέθοδοι για την πρόωμη ανίχνευση βιοδεικτών στο πλάσμα του αίματος, με σκοπό την έγκαιρη διάγνωση της νόσου Alzheimer. Μία από αυτές τις μεθόδους χρησιμοποιεί μία ηλεκτροχημική μικρορρευστική πλατφόρμα για τον προσδιορισμό των επιπέδων ενός νέου πιθανού βιοδείκτη στο πλάσμα, με το όνομα ADAM10 (A Disintegrin and metalloproteinase domain-containing protein 10). Η συγκεκριμένη πρωτεΐνη συμμετέχει στον καταβολισμό της APP, και κατά αυτόν τον τρόπο, αποτρέπει τη σύνθεση και συσσώρευση των επιβλαβών Αβ πεπτιδίων, και άρα τη δημιουργία πλακών αμυλοειδούς. Έχει παρατηρηθεί σε ασθενείς με τη νόσο πως τα επίπεδα της συγκεκριμένης πρωτεΐνης μειώνονται.

Η τεχνική περιλαμβάνει τη χρήση ηλεκτροχημικών αισθητήρων, με τους οποίους ανιχνεύονται με ακρίβεια και μεγάλη ευαισθησία τα επίπεδα πρωτεϊνών. Η πλατφόρμα στην οποία εκτελείται η εξέταση ονομάζεται μικρορρευστική, καθώς δέχεται και επεξεργάζεται εξαιρετικά μικρές ποσότητες δείγματος με ευκολία και ταχύτητα. Επίσης, χρησιμοποιούνται μαγνητικά σφαιρίδια στα οποία έχουν δεσμευθεί ένζυμα, όπως το HRP, και αντισώματα, τα οποία είναι ειδικά ως προς την ADAM10, ακολουθώντας τη βασική αρχή της ανοσοενζυμικής μεθόδου ELISA.

Σε πρώτη φάση, συλλέγονται δείγματα από άτομα με φυσιολογικά επίπεδα γνωστικών λειτουργιών, από άτομα με ήπιες γνωστικές διαταραχές και από άτομα με Alzheimer. Στη συνέχεια, προστίθενται τα μαγνητικά σφαιρίδια, τα οποία φέρουν στην επιφάνειά τους το σύμπλεγμα αντισώματος-ένζυμου και συνδέονται με την ADAM10, εφόσον αυτή υπάρχει, στο εκάστοτε δείγμα. Ακολουθεί διαχωρισμός των μαγνητικών σφαιριδίων από τα δείγματα μέσω μαγνητών. Έπειτα, τα σφαιρίδια αναλύονται στην μικρορρευστική πλατφόρμα. Εκεί, το ένζυμο HRP εκπέμπει σήμα το οποίο ανιχνεύεται με ειδικές συσκευές.

Η συγκεκριμένη μέθοδος παρουσιάζει υψηλή ευαισθησία μετρήσεων, επιτρέποντας την ανίχνευση εξαιρετικά μικρών ποσοτήτων της ADAM10. Εκτός αυτού, επιτυγχάνεται ο διαχωρισμός μεταξύ ατόμων με φυσιολογικά επίπεδα

γνωστικών λειτουργιών, ατόμων με ήπιες γνωστικές διαταραχές και ατόμων με Alzheimer (Oliveira, et al., 2020).



Εικόνα 6 Σχηματική απεικόνιση των βημάτων μεθόδου ανίχνευσης της ADAM10

Κεφάλαιο 4. Δυσκολίες στην εφαρμογή των βιοδεικτών και προοπτικές για το μέλλον

4.1. Δυσκολίες

Η έρευνα για αναζήτηση και εφαρμογή βιοδεικτών στη νόσο Alzheimer έχει αναμφισβήτητα σημειώσει σημαντική πρόοδο, χάρη στις αναδυόμενες τεχνικές και στο υψηλό επίπεδο τεχνογνωσίας. Ωστόσο, συνοδεύεται συχνά από περιορισμούς και προκλήσεις που λειτουργούν ως εμπόδια, καθιστώντας δύσκολη τη χρήση και εφαρμογή τους σε ευρύ φάσμα ασθενών και κατά συνέπεια, υποβαθμίζοντας την αποτελεσματικότητά τους ως κλινικά εργαλεία.

Αξίζει να σημειωθεί πως ένα πλήθος περιορισμών και προκλήσεων είναι κοινό για κάθε ξεχωριστή κατηγορία βιοδεικτών, ανεξαρτήτως τρόπου ανίχνευσης, μέτρησης ή εφαρμογής τους. Ένας από αυτούς τους παράγοντες είναι η έλλειψη αναπαραγωγιμότητας των εργαστηριακών δεδομένων. Η αναπαραγωγιμότητα είναι αναγκαία, ούτως ώστε να επιτευχθεί τυποποίηση των αποτελεσμάτων. Η έλλειψη τυποποίησης αυτών μπορεί να οδηγήσει σε λανθασμένα συμπεράσματα, ακόμα και αν τα αποτελέσματα αφορούν την ίδια μέθοδο ανάλυσης. Κατά αυτόν τον τρόπο, καθίσταται αδύνατη η εκτίμηση συγκρίσιμων αποτελεσμάτων, επηρεάζοντας την αξία και εφαρμογή του εκάστοτε βιοδείκτη στην κλινική πράξη.

Οι μελέτες που σχετίζονται με τη νόσο Alzheimer συχνά βασίζονται σε ένα μικρό πληθυσμιακό μέρος για την απαιτούμενη έρευνα. Ως εκ τούτου, η στατιστική ισχύς περιορίζεται σημαντικά και, κατά συνέπεια, τα αποτελέσματα δεν μπορούν να αξιολογηθούν επαρκώς, ούτως ώστε να εφαρμοστούν στον γενικότερο πληθυσμό. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της αξιοπιστίας των αποτελεσμάτων, δυσχεραίνοντας την κλινική αξιοποίηση των βιοδεικτών.

Σε συνδυασμό με τα παραπάνω, η ίδια η φύση της ασθένειας αποτελεί εμπόδιο στις έρευνες, καθώς παρουσιάζει μεγάλο βαθμό ετερογένειας. Αυτό σημαίνει πως η νόσος εκδηλώνεται με διάφορες μορφές, ξεκινώντας από το γενετικό επίπεδο και καταλήγοντας στην κλινική εικόνα. Η παρουσία της γενετικής συνιστώσας, των διαφόρων κλινικών σταδίων που απαντώνται και η ποικιλία των κλινικών συμπτωμάτων, δυσχεραίνουν τη σωστή εκτίμηση και αξιολόγηση της εργαστηριακής και κλινικής εξέτασης.

Τέλος, είναι απαραίτητο να συμπεριληφθεί και ο παράγοντας του χρόνου διεξαγωγής των μελετών. Το μεγαλύτερο μέρος αυτών διεξάγεται σε σχετικά σύντομο χρονικό διάστημα, το οποίο δεν αρκεί για την επαρκή μελέτη έναρξης και εξέλιξης της ασθένειας. Η νόσος Alzheimer, όπως και άλλες νόσοι που προκαλούν άνοια, εκδηλώνονται, στην πλειοψηφία των περιπτώσεων, σε προχωρημένη ηλικία και ύστερα από μεγάλο χρονικό διάστημα, συνήθως δεκαετιών. Επομένως, αυτά τα χρονικά πλαίσια είναι απαραίτητα για την απόκτηση μίας πιο ολοκληρωμένης εικόνας της νόσου και, άρα, παροχής αξιόπιστων αποτελεσμάτων για εφαρμογή βιοδεικτών (Klyucherev, et al., 2022).

Όσον αφορά στους απεικονιστικούς βιοδείκτες, οι προκλήσεις που απαντώνται δεν είναι λίγες. Αρχικά, η χρήση του 18F-FDG PET ως βιοδείκτη για τη νόσο δεν είναι ιδιαίτερα εύκολη, καθώς ανάλογα με το εκάστοτε μηχάνημα και το ιατρικό/παραϊατρικό προσωπικό, οι συνθήκες/πρωτόκολλα της εξέτασης ποικίλλουν, με αποτέλεσμα η συλλογή και η ερμηνεία των εικόνων της PET να διαφέρουν σε τέτοιο βαθμό, ώστε να δημιουργούνται ασυνέχειες στην αξιολόγηση της εξέτασης. Συν τοις άλλοις, η απορρόφηση της FDG από τον οργανισμό δεν εξαρτάται μόνο από την συναπτική δραστηριότητα, αλλά και από άλλους παράγοντες, όπως η μειωμένη εγκεφαλική αιμάτωση και ορισμένες μεταβολικές παθήσεις, όπως είναι ο σακχαρώδης διαβήτης, οι οποίοι ενδέχεται να επηρεάζουν τα αποτελέσματα. Εκτός αυτών, δεδομένου ότι η εξέταση απαιτεί την έκθεση σε ραδιενεργό ακτινοβολία, την καθιστά δυνητικά επικίνδυνη για την υγεία των ασθενών. Για το λόγο αυτό, συνιστάται να διενεργείται μία φορά ετησίως και όχι περισσότερο. Επιπροσθέτως, το κόστος της εξέτασης είναι υψηλό, καθότι η παραγωγή των ραδιενεργών ισοτόπων και η εφαρμογή ραδιοχημείας απαιτούν εξειδικευμένο εξοπλισμό και τεχνογνωσία. Τέλος, ο σύντομος χρόνος ημιζωής της FDG δημιουργεί την ανάγκη για άμεση και γρήγορη διενέργεια της εξέτασης, επιβαρύνοντας το κόστος.

Παρόμοιες προκλήσεις συναντώνται και στις μεθόδους ανίχνευσης των Αβ πεπτιδίων και των Ταυ πρωτεϊνών μέσω PET. Οι διάφοροι ανιχνευτές που είναι εμπορικά διαθέσιμοι παρουσιάζουν διαφορετικούς χρόνους ημιζωής, ρυθμούς απορρόφησης από τον οργανισμό και γενικότερα φαρμακοκινητικές ιδιότητες. Ως εκ τούτου, η κάθε εξέταση απαιτείται να έχει μοναδικές τιμές αναφοράς και μέτρα

τυποποίησης, παρεμποδίζοντας τη δημιουργία ενός ενιαίου πρωτοκόλλου ανίχνευσης των Αβ πεπτιδίων. Παράλληλα, η δέσμευση των ανιχνευτών με μη ειδικά μόρια-δηλαδή εκτός των Αβ πεπτιδίων-καθιστούν την εξέταση επιρρεπή σε ψευδώς θετικά ή αρνητικά αποτελέσματα. Όπως και με την FDG, η προσβασιμότητα και το κόστος της εξέτασης είναι υψηλά, με αποτέλεσμα την περιορισμένη χρήση της από τους ασθενείς. Είναι σημαντικό να αναφερθεί πως η σχέση μεταξύ των Αβ πεπτιδίων και των Ταυ πρωτεϊνών δεν έχει αποσαφηνιστεί πλήρως.

Παρόμοια με την PET, η εξέταση MRI, αν και χρησιμοποιείται ευρέως για τη διάγνωση νευροεκφυλιστικών ασθενειών, δεν προσφέρει πάντα καθολική συμφωνία στην ερμηνεία και τυποποίηση των αποτελεσμάτων, γεγονός που προβληματίζει την επιστημονική κοινότητα. Επίσης, παρότι η ανίχνευση εγκεφαλικής ατροφίας είναι ιδιαίτερα ευαίσθητη, η διαφοροποίηση μεταξύ των διαφόρων αιτιών δεν είναι πάντα ξεκάθαρη. Αυτό συμβαίνει διότι τα διαφορετικά μοτίβα που παρατηρούνται στα αποτελέσματα των εξετάσεων συχνά συναντώνται σε ένα σύνολο ασθενειών, δημιουργώντας την ανάγκη διενέργειας μίας σειράς εργαστηριακών εξετάσεων για περαιτέρω εξέταση και διάγνωση της νόσου (Young, et al., 2020).

Οι δείκτες Αβ40 και Αβ42 στο ENY μπορούν να χρησιμοποιηθούν για το διαχωρισμό των ατόμων με φυσιολογικά επίπεδα γνωστικών λειτουργιών και αυτών με Ήπια Γνωστική Διαταραχή. Ωστόσο, η λήψη του συγκεκριμένου δείγματος μέσω οσφυονωτιαίας παρακέντησης είναι δύσκολη και επώδυνη για τον ασθενή και μπορεί να παρουσιαστούν παρενέργειες όπως κεφαλαλγία, ναυτία και επιμόλυνση του σημείου παρακέντησης. Σε γενικές γραμμές, τα μειωμένα επίπεδα των Αβ42 πεπτιδίων συνδέονται με τη νόσο Alzheimer, αυτό όμως δεν είναι απόλυτο. Σε ορισμένες έρευνες έχει βρεθεί πως τα επίπεδα του εν λόγω δείκτη παραμένουν σταθερά ή και αυξάνονται. Δεδομένου ότι τα επίπεδα αυτά σταθεροποιούνται στα αρχικά στάδια της νόσου και ύστερα φθάνουν σε «πλατώ», η εναπόθεση αμυλοειδούς δεν αντικατοπτρίζεται συνολικά. Επιπλέον, η έλλειψη τυποποίησης των μεθόδων που χρησιμοποιούνται, ειδικά στο προαναλυτικό στάδιο, αποτελεί πρόκληση, καθώς συμβάλλει στην αύξηση της πιθανότητας ψευδώς θετικού ή αρνητικού αποτελέσματος.

Τόσο η φωσφορυλιωμένη μορφή των Ταυ πρωτεϊνών (pΤαυ), όσο και η συνολική Ταυ πρωτεΐνη (tΤαυ), συμπληρώνουν τη λίστα των βιοδεικτών που ανιχνεύονται στο ΕΝΥ και αξιοποιούνται στη διάγνωση της νόσου. Τα επίπεδα των pΤαυ εξαρτώνται από την ηλικία και η συγκέντρωσή τους αλλάζει, καθώς εξελίσσεται η νόσος. Στους ασθενείς με Alzheimer παρατηρείται αύξηση αυτών στο ΕΝΥ. Ακόμη, τα επίπεδα της tΤαυ σε ορισμένες μελέτες παρέμειναν αναλλοίωτα ανάμεσα σε ασθενείς με τη νόσο. Παράλληλα, τα Νευροϊνίδια Χαμηλού Μοριακού Βάρους NfL, ενώ υποδηλώνουν καταστροφή των νευραξόνων στη νόσο Alzheimer, διακρίνονται από μικρότερη ειδικότητα, καθότι αυξάνονται στο ΕΝΥ και σε άλλες νευροεκφυλιστικές ασθένειες (Omar & Preddy, 2020).

Εκτός των άλλων, όπως και με τις απεικονιστικές μεθόδους που εφαρμόζονται στη διάγνωση της νόσου, το κόστος εξετάσεων του ΕΝΥ είναι ιδιαίτερα υψηλό. Αρχικά, η ίδια η διαδικασία λήψης απαιτεί εξειδικευμένο προσωπικό και εξοπλισμό για την επιτυχή ολοκλήρωσή της, ενώ φυσικά τα ίδια ισχύουν και για την εργαστηριακή ανάλυση αυτού του πολύτιμου υγρού. Μελέτες έχουν δείξει πως μία λανθασμένη διάγνωση μπορεί να κοστίζει ακριβά στους ασθενείς, καθώς οι εξετάσεις και οι θεραπείες είναι περιττές, δυσχεραίνοντας, όχι μόνο την υγεία τους, αλλά και την οικονομική τους κατάσταση. Αυτά έχουν ως συνέπεια τον περιορισμό της πρακτικότητας των εν λόγω εξετάσεων, κατευθύνοντας την έρευνα προς αναζήτηση και εφαρμογή οικονομικότερων και λιγότερο επεμβατικών μεθόδων, όπως η ανάλυση πλάσματος αίματος (Lee, et al., 2017).

4.2. Προοπτικές

Οι βιοδείκτες που ανιχνεύονται στο πλάσμα του αίματος κερδίζουν σταδιακά ολοένα και μεγαλύτερο έδαφος στην εργαστηριακή και κλινική πράξη. Αυτή η εξέλιξη είναι αναμενόμενη, καθώς οι συγκεκριμένοι βιοδείκτες παρουσιάζουν έναν ικανοποιητικό αριθμό πλεονεκτημάτων που δε διαθέτουν οι αντίστοιχοι βιοδείκτες που ανιχνεύονται στο ΕΝΥ και στις απεικονιστικές μεθόδους.

Αρχικά, η λήψη πλάσματος αίματος είναι εξαιρετικά απλούστερη και ευκολότερη, διευκολύνοντας τόσο τους επαγγελματίες υγείας, όσο και τους ασθενείς, αποφεύγοντας κατά αυτόν τον τρόπο, δυνητικά επώδυνες και επικίνδυνες για τη ζωή εξετάσεις. Σε σύγκριση με μία περισσότερο επεμβατική μέθοδο λήψης δείγματος προς ανάλυση, όπως είναι η οσφυονωτιαία παρακέντηση για το ΕΝΥ, η λήψη του πλάσματος επιτυγχάνεται με μία απλή αιμοληψία, όπως γίνεται για τις τυπικές εξετάσεις αίματος check-up. Συγχρόνως, οι παρενέργειες στη συγκεκριμένη περίπτωση είναι σπανιότερες (ζάλη, τάση λιποθυμίας, σχηματισμός αιματώματος) και αντιμετωπίζονται όπως σε οποιαδήποτε αιμοληψία.

Δείγματα πλάσματος αίματος μπορούν να χρησιμοποιηθούν για screening μεγάλου μέρους του πληθυσμού και επιτρέπουν συχνά check-ups, λόγω της εύκολης προσβασιμότητας στη λήψη τους. Έτσι, διευκολύνεται η ανάλυση πολυάριθμων δειγμάτων, που είναι πιο αντιπροσωπευτικά του γενικού πληθυσμού, ενώ ταυτόχρονα επιτυγχάνεται πρώιμη ανίχνευση και παρακολούθηση ατόμων που ενδεχομένως θα παρουσιάσουν ή παρουσιάζουν διαταραχές στις γνωστικές λειτουργίες. Αντίθετα, η μέθοδος λήψης του ΕΝΥ δυσχεραίνει την παραπάνω προσπάθεια για πρόγνωση και πρώιμο έλεγχο, καθότι είναι περιπλοκότερη και χρονοβόρα, συγκριτικά με μία τυπική αιμοληψία. Εκτός αυτών, η λήψη αίματος μπορεί να γίνει σε οποιοδήποτε διαγνωστικό κέντρο ή και νοσοκομείο, ενώ η λήψη του ΕΝΥ απαιτεί κατάλληλα καταρτισμένους επαγγελματίες υγείας και εξειδικευμένο προσωπικό για την διεξαγωγή της ανάλυσης. Επομένως, οι ασθενείς θα προτιμήσουν μία εξέταση με χαμηλότερο κόστος, ευκολότερη πρόσβαση και ελάχιστες ενοχλήσεις και παρενέργειες (Zou, et al., 2020).

Τα τελευταία χρόνια έχουν βελτιστοποιηθεί ευρέως διαδεδομένες αναλυτικές μέθοδοι και έχουν αναπτυχθεί νέες, με τη βοήθεια των νέων τεχνολογιών. Πολύτιμα εργαλεία αποδεικνύονται η φασματοφωτομετρία μάζας και η SiMoA (Single Molecule Array), καθώς επιτρέπουν τη μέτρηση διαφόρων βιοδεικτών της νόσου με μεγαλύτερη ειδικότητα και ευαισθησία, διευκολύνοντας έτσι την αξιοποίησή τους στην κλινική διάγνωση και την πραγματοποίηση συμπληρωματικών εξετάσεων (Zetterberg & Blennow, 2021).

Συζήτηση - Συμπεράσματα

Συνοψίζοντας, η νόσος Alzheimer παραμένει μία από τις πολυπλοκότερες νευροεκφυλιστικές ασθένειες, τόσο ως προς την κατανόηση των παθοφυσιολογικών μηχανισμών, όσο και ως προς την εύρεση ενός κατάλληλου πρωτοκόλλου πρόγνωσης και διάγνωσης της ασθένειας. Βασικά ευρήματα της νόσου, μεταξύ άλλων, αποτελούν οι πλάκες αμυλοειδούς και τα νευροϊνιδιακά τούβλια τα οποία συνδέονται με εκτεταμένη νευροεκφύλιση και επακόλουθη έκπτωση γνωστικών λειτουργιών, όπως είναι η απώλεια μνήμης και οι αλλαγές στη συμπεριφορά.

Τις τελευταίες δεκαετίες έχει σημειωθεί αξιόλογη πρόοδος στην αναζήτηση αξιόπιστων βιοδεικτών για την πρόγνωση και διάγνωση της νόσου. Ορισμένοι από αυτούς, όπως είναι τα πεπτίδια Αβ40 και Αβ42, αλλά και διάφορες μορφές των πρωτεϊνών Ταυ ανευρίσκονται στο ΕΝΥ και έχουν αποδειχθεί αξιόπιστοι δείκτες για πρόβλεψη της εμφάνισης της ασθένειας, αλλά και διάγνωσής της. Εν τούτοις, λόγω της δυσκολίας στη λήψη του εν λόγω υγρού και του υψηλού κόστους των εξετάσεων, γίνεται εκτενής αναζήτηση βιοδεικτών σε άλλα βιολογικά υγρά που επιτρέπουν την εκτίμηση του επιπολασμού της νόσου σε ευρύτερο πληθυσμό.

Έτσι, έχουν αναδειχθεί τα τελευταία χρόνια οι βιοδείκτες οι οποίοι ανευρίσκονται στο πλάσμα του αίματος. Μερικοί από αυτούς, όπως είναι ο λόγος Αβ42/Αβ40, η φωσφορυλιωμένη μορφή των πρωτεϊνών Ταυ και τα νευροϊνιδία NfL, χαρακτηρίζονται από ιδιαίτερη ευαισθησία και ειδικότητα ως προς τη νόσο και σε σύγκριση με απεικονιστικούς βιοδείκτες και βιοδείκτες στο ΕΝΥ, λαμβάνονται ευκολότερα, έχουν χαμηλότερο κόστος και είναι κατάλληλοι για εφαρμογή σε μεγάλο μέρος του πληθυσμού.

Οι προκλήσεις που αντιμετωπίζει η επιστημονική κοινότητα ως προς την κλινική εφαρμογή αυτών των βιοδεικτών αξίζει να σημειωθούν. Αυτές αφορούν κατά κύριο λόγο την εύρεση ενός ενιαίου πρωτοκόλλου ανάλυσης των βιολογικών υγρών, ξεκινώντας από το προαναλυτικό στάδιο. Η ανάπτυξη ενός τέτοιου πρωτοκόλλου μπορεί να διευκολύνει την ευρεία εφαρμογή και χρήση των βιοδεικτών αυτών, εξασφαλίζοντας παράλληλα την ακρίβεια και αξιοπιστία της εκάστοτε μεθόδου-εξέτασης.

Επομένως, κρίνεται απαραίτητη η βελτίωση των τωρινών πρωτοκόλλων μέτρησης και αξιολόγησης των βιοδεικτών, καθώς και η ανάπτυξη νέων, πιο εξειδικευμένων και ευαίσθητων δεικτών. Αυτοί οι νέοι βιοδείκτες θα μπορούσαν να προσφέρουν μία πληρέστερη εικόνα της κατάστασης της νόσου για κάθε ασθενή ξεχωριστά, συμβάλλοντας τελικά σε μία πιο αξιόπιστη διάγνωση και, κατά συνέπεια, σε πιο αποτελεσματική θεραπεία, με στόχο την αναβάθμιση της ποιότητας ζωής των ασθενών.

Αναφορές

Alawode , D. O., Fox, N. C., Zetterberg, H. & Heslegrave , A. J., 2022. Alzheimer's Disease Biomarkers Revisited From the Amyloid Cascade Hypothesis Standpoint.. *Frontiers in Neuroscience*, Volume 16.

Alzheimer's Association, 2024. *Alzheimer's Association*. [Online]
Available at: <https://www.alz.org/media/Documents/alzheimers-facts-and-figures.pdf>

Andersen, E. et al., 2021. Diagnostic biomarkers in Alzheimer's disease. *Biomarkers in Neuropsychiatry*, Volume 5, p. 100041.

Aronson, J. K. & Ferner, R. E., 2017. Biomarkers—A General Review. *Current Protocols in Pharmacology*, 76(1).

Ashrafian, H., Zadeh, E. H. & Khan, R. H., 2021. Review on Alzheimer's disease: Inhibition of amyloid beta and tau tangle formation. *International Journal of Biological Macromolecules*, Volume 167.

Bondi, M. W., Edmonds, E. C. & Salmon, D. P., 2017. Alzheimer's Disease: Past, Present and Future. *Journal of the International Neuropsychological Society*, 23(9-10), pp. 818-831.

Busche, M. A. & Hyman, B. T., 2020. Synergy between amyloid- β and tau in Alzheimer's disease. *Nature Neuroscience*, 23(10), pp. 1183-1193.

Chen, Y., Dang, M. & Zhang, Z., 2021. Brain mechanisms underlying neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's Disease: a systematic review of symptom-general and- specific lesion patterns. *Molecular Neurodegeneration*, 16(1).

Cummings, J. et al., 2016. Drug development in Alzheimer's disease: the path to 2025. *Alzheimer's Research & Therapy*, 8(1).

Cummings, J. & Kinney, J., 2022. Biomarkers for Alzheimer's Disease: Context of Use, Qualification, and Roadmap for Clinical Implementation. *Medicina*, 19 July, 58(7), p. 952.

Gallardo, R., Ranson, N. A. & Radford, S. E., 2020. Amyloid structures: much more than just a cross- β fold. *Current Opinion in Structural Biology*, Volume 60, pp. 7-16.

Garcia-Morales, V. et al., 2021. Current Understanding of the Physiopathology, Diagnosis and Therapeutic Approach to Alzheimer's Disease. *Biomedicines*, 9(1910).

Guo, Y., Wang, Q., Chen, S. & Xu, C., 2021. Functions of amyloid precursor protein in metabolic diseases. *Metabolism: Clinical and Experimenta*, Volume 115, p. 154454.

Hampel, H. et al., 2018. Blood-based biomarkers for Alzheimer's disease: mapping the road to the clinic. *Nature Reviews Neurology*, 14(11), pp. 639-652.

Hansson, O. et al., 2022. The Alzheimer's Association appropriate use recommendations for blood biomarkers in Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*, 31 July, 18(12), pp. 2669-2686.

Hansson, O. et al., 2020. Pre-analytical protocol for measuring Alzheimer's disease biomarkers in fresh CSF. *Alzheimer's & Dementia*, 18 December, 12(1), p. 1989.

Hwang, T.-J., Chen, J.-J., Lin, Y.-T. & Chan, H.-Y., 2020. Dextromethorphan for the treatment of agitation in dementia: A pilot study. *Alzheimer's & Dementia*, 16(S9).

Juganavar, A., Joshi, A. & Tejas, S., 2023. Navigating Early Alzheimer's Diagnosis: A Comprehensive Review of Diagnostic Innovations. *Cureus*, 9 September, 15(9).

Klyucherev, T. O. et al., 2022. Advances in the development of new biomarkers for Alzheimer's disease. *Translational Neurodegeneration*, 11(1).

Kurkinen, M. et al., 2023. The Amyloid Cascade Hypothesis in Alzheimer's Disease: Should We Change Our Thinking?. *Biomolecules*, 13(3), p. 453.

Lee, D., Slomkowski, M. & Hefting, N., 2023. Lee, D., Slomkowski, M., Hefting, N., Chen, D., Larsen, K.G., Kohegyi, E Brexpiprazole for the Treatment of Agitation in Alzheimer Dementia: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Neurology*, 80(12).

Lee, S. A., Sposato, L. A., Hachinski, V. & Cipriano, L. E., 2017. Cost-effectiveness of cerebrospinal biomarkers for the diagnosis of Alzheimer's disease.. *Alzheimer's Research & Therapy*, 9(18).

Leuzy, A. et al., 2021. Blood-based biomarkers for Alzheimer's disease. *Molecular Medicine*, 3 December, 14(1).

Limberger, C. & Zimmer, E. R., 2024. Blood GFAP reflects astrocyte reactivity to Alzheimer's pathology in post-mortem brain tissue. *Brain*, 147(5).

McGirr, S., Venegas, C. & Swaminathan, A., 2020. Alzheimer's Disease: A Brief Review. *J Exp Neurol*, 1(3).

Monteiro, A. R., Barbosa, D. J., Remião, F. & Silva, R., 2023. Alzheimer's disease: Insights and new prospects in disease pathophysiology, biomarkers and disease-modifying drugs. *Biochemical Pharmacology*, May, Volume 211, p. 115522.

Muralidar, S. et al., 2020. Role of tau protein in Alzheimer's disease: The prime pathological player. *International Journal of Biological Macromolecules*, Volume 163, pp. 1599-1617.

National Institute of Health, 2021. *National Institute of Biomedical Imaging and Bioengineering*. [Online]
Available at: <https://www.nibib.nih.gov/science-education/science-topics/magnetic-resonance-imaging-mri#pid-946>

Oliveira, T. R. d. et al., 2020. Early Diagnosis of Alzheimer's Disease in Blood Using a Disposable Electrochemical Microfluidic Platform. *ACS Sensors*, 5(4), pp. 1010-1019.

- Omar, S. H. & Preddy, J., 2020. Advantages and Pitfalls in Fluid Biomarkers for Diagnosis of Alzheimer's Disease. *Journal of Personalized Medicine*, 10(3), p. 63.
- Rabbito, A., Dulewicz, M., Kulczyńska-Przybik, A. & Mroczko, B., 2020. Biochemical Markers in Alzheimer's Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 24 February, 21(6), p. 1989.
- Siddappaji, K. K. & Gopal, S., 2021. Molecular mechanisms in Alzheimer's disease and the impact of physical exercise with advancements in therapeutic approaches. *AIMS Neuroscience*, 19 March, 8(3), pp. 357-389.
- Sims, J. R., Zimmer, J. A. & Evans, C. D., 2023. Donanemab in Early Symptomatic Alzheimer Disease: The TRAIBLAZER-ALZ2 Investigators. *JAMA*, 330(6).
- U.S. Food and Drug Administration, 2023. *Food and Drug Administration*. [Online] Available at: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-grants-accelerated-approval-alzheimers-disease-treatment>
- Varesi, A. et al., 2022. Blood-Based Biomarkers for Alzheimer's Disease Diagnosis and Progression: An Overview. *Cells*, 11(8).
- Verberk, I. M. et al., 2021. Characterization of pre-analytical sample handling effects on a panel of Alzheimer's disease-related blood-based biomarkers: Results from the Standardization of Alzheimer's Blood Biomarkers (SABB) working group. *Alzheimer's & Dementia*, 29 November, 18(8), pp. 1484-1497.
- Villa, C., Lavitrano, M., Salvatore, E. & Combi, R., 2020. Molecular and Imaging Biomarkers in Alzheimer's Disease: A Focus on Recent Insights. *Journal of Personalized Medicine*, 10(3), p. 61.
- Vos, S. J. et al., 2014. Variability of CSF Alzheimer's Disease Biomarkers: Implications for Clinical Practice. *PLOS ONE*, 24 June, 9(6), p. 1000784.
- Wang, X. et al., 2024. Peripheral GFAP and NfL as early biomarkers for dementia: longitudinal insights from the UK Biobank. *BMC medicine*, 22(1).
- World Health Organization, 2023. *World Health Organization*. [Online] Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia>
- Young, P. N. et al., 2020. Imaging biomarkers in neurodegeneration: current and future practices. *Alzheimer's Research & Therapy*, 12(1).
- Zetterberg, H. & Blennow, K., 2021. Moving fluid biomarkers for Alzheimer's disease from research tools to routine clinical diagnostics. *Molecular Neurodegeneration*, 16(1).
- Zou, K., Abdullah, M. & Michikawa, M., 2020. Current Biomarkers for Alzheimer's Disease: From CSF to Blood. *Journal of Personalized Medicine*, 10(3).
- Κούνα, Θ., 2023. *Ανοικτό Ελληνικό Πανεπιστήμιο*. [Online] Available at: <https://apothesis.eap.gr/archive/item/184956>

Μαραζιώτη, Α., 2014. *E-class University of Patras*. [Online]

Available at:

<https://eclass.upatras.gr/modules/document/file.php/MED969/%CE%94%CE%B7%CE%BC%CE%B9%CE%BF%CF%85%CF%81%CE%B3%CE%AF%CE%B1%20%CE%B4%CE%B9%CE%B1%CE%B3%CE%BF%CE%BD%CE%B9%CE%B4%CE%B9%CE%B1%CE%BA%CF%8E%CE%BD%20%CE%B6%CF%8E%CF%89%CE%BD-A%20%CE%9C%CE%91%CE%A1%CE%91%CE%96%CE%99%CE%A9%CE%A4%CE%97.pdf>

Πηγές εικόνων

Εικόνα εξωφύλλου: <https://depositphotos.com/photos/brain.html>

Εικόνα 1: <https://taurx.com/the-science/neurofilament-light-chain-nfl-in-neurodegenerative-diseases>

Εικόνα 2: <https://www.nature.com/articles/s41582-021-00616-3>

Εικόνα 3: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:GFAP_protein.png

Εικόνα 4: <https://psychiatryonline.org/doi/10.1176/pn.36.24.0020>

Εικόνα 5: <https://dementia.ie/lessons/mri-scan-of-brain-alzheimers-disease/>

Εικόνα 6: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0731708520313236>