



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΣ-ΚΛΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ  
ΤΟΜΕΑΣ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΑΙΣΘΗΤΗΡΙΩΝ  
ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

**«ΝΕΥΡΟΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΕΞΩΠΥΡΑΜΙΔΙΚΟΥ  
ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ»**

**ΧΡΗΣΤΟΣ Β. ΤΣΙΡΩΝΗΣ  
ΝΕΥΡΟΛΟΓΟΣ**

**Δ Ι Δ Α Κ Τ Ο Ρ Ι Κ Η Δ Ι Α Τ Ρ Ι Β Η  
Ι Ω Α Ν Ν Ι Ν Α 2 0 2 0**









**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΣ-ΚΛΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ  
ΤΟΜΕΑΣ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΑΙΣΘΗΤΗΡΙΩΝ  
ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

**«ΝΕΥΡΟΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΕΞΩΠΥΡΑΜΙΔΙΚΟΥ  
ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ»**

**ΧΡΗΣΤΟΣ Β. ΤΣΙΡΩΝΗΣ  
ΝΕΥΡΟΛΟΓΟΣ**

**Δ Ι Δ Α Κ Τ Ο Ρ Ι Κ Η Δ Ι Α Τ Ρ Ι Β Η  
Ι Ω Α Ν Ν Ι Ν Α 2 0 2 0**



*Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου  
Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα Ν. 5343/32, άρθρο  
202, παράγραφος 2 (νομική κατοχύρωση του Ιατρικού Τμήματος)*





Ημερομηνία αίτησης του κ. Τσιρώνη Χρήστου: 13-2-2003

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 497<sup>α</sup>/1-4-2003

**Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:**

Επιβλέπων

Ευαγγέλου Άγγελος, Καθηγητής Φυσιολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μέλη

Μαρσέλος Μάριος -Αθανάσιος, Καθηγητής Φαρμακολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Κονιτσιώτης Σπυρίδων, Λέκτορας Νευρολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

**Ημερομηνία ορισμού θέματος:** 20-5-2003

«Νευροφαρμακολογική μελέτη του εξωπυραμιδικού συστήματος»

**Ημερομηνία Ανασυγκρότησης της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:** 567<sup>α</sup>/29-11-2005

Επιβλέπων

Κονιτσιώτης Σπυρίδων, Επίκουρος Καθηγητής Νευρολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μέλη

Ευαγγέλου Άγγελος, Καθηγητής Φυσιολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μαρσέλος Μάριος -Αθανάσιος, Καθηγητής Φαρμακολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

**ΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ** 920<sup>α</sup>/5-5-2020

<b>Ευαγγέλου Άγγελος</b>	ομότιμος Καθηγητής Φυσιολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
<b>Βεζυράκη Πατρώνια</b>	Καθηγήτρια Φυσιολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
<b>Γιαννόπουλος Σωτήριος</b>	Καθηγητής Νευρολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
<b>Κονιτσιώτη Σπυρίδων</b>	Καθηγητής Νευρολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
<b>Μαρσέλος Μάριος-Αθανάσιος</b>	ομότιμος Καθηγητής Φαρμακολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
<b>Πέσχος Δημήτριος</b>	Αναπληρωτής Καθηγητής Φυσιολογίας με έμφαση στην Κυτταρική Φυσιολογία του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
<b>Αλεξίου Γεώργιος</b>	Επίκουρος Καθηγητής Νευροχειρουργικής του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» στις 29-6-2020

Ιωάννινα 10-7-2020

**ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**Άννα Μπατιστάτου**

Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας

Η Γραμματέας του Τμήματος  
  
**ΜΑΡΙΑ ΚΑΠΙΤΟΠΟΥΛΟΥ**





## Περιεχόμενα

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ .....	14
Εισαγωγή .....	15
Ιστορικά στοιχεία .....	15
Η νόσος του Parkinson .....	18
Επιδημιολογία .....	18
Η παθογένεια της νόσου .....	19
Η αιτιοπαθογένεια της νόσου .....	21
Περιβαλλοντικοί παράγοντες.....	21
Γενετικοί παράγοντες .....	22
Κλινική εικόνα της νόσου Parkinson .....	24
Τα κινητικά Συμπτώματα .....	24
Τρόμος ηρεμίας.....	24
Βραδυκινησία.....	25
Δυσκαμψία.....	25
Διαταραχή αντανάκλαστικών στάσης.....	26
Τα μη κινητικά συμπτώματα .....	27
Γνωστική δυσλειτουργία- Άνοια .....	27
Πορεία- Πρόγνωση.....	29
Διάγνωση και Διαφορική Διάγνωση .....	30
Απεικονιστικές Μέθοδοι .....	33
Θεραπευτική αντιμετώπιση .....	35
Ντοπαμίνη – Βιοσυνθετικό μονοπάτι & Δράση.....	35
L-Dopa .....	36
Ντοπαμινεργικοί Αγωνιστές.....	37
Αναστολείς COMT .....	38
Αναστολείς MAO-β.....	38
Αμανταδίνη (Symmerel).....	38
Χειρουργική αντιμετώπιση .....	39
Levodopa Induced Dyskinesia .....	40
Κλινική εκδήλωση της LID .....	41
Παθοφυσιολογία.....	42
Πειραματικά μοντέλα της PD.....	45
Η χρήση νευροτοξίνης για την δημιουργία πειραματικών μοντέλων της PD .....	45

6-OHDA: το κλασσικό μοντέλο PD .....	46
MTPT: το μοντέλο εκλογής.....	47
Parguat .....	47
Ροτενόνη.....	48
Τα γενετικά πειραματικά μοντέλα της νόσου Parkinson .....	48
Συμπερασματικά για τα πειραματικά μοντέλα της νόσου .....	49
Καθορισμός στόχων της μελέτης – εισαγωγή στο πειραματικό μέρος .....	50
Η επιλογή του πειραματικού μοντέλου για την μελέτη: .....	51
Η ανάγκη για την αξιολόγηση του πειραματικού μοντέλου: .....	52
Πειραματικό μέρος.....	55
Πειραματικό ζωικό μοντέλο .....	55
Χορήγηση 6-Hydroxydopamine .....	55
Επιλογή των πειραματόζωων με κατάλληλη απονεύρωση.....	57
Η καταγραφή των AIMS .....	57
A' φάση πειράματος.....	62
Στατιστικά στοιχεία .....	63
Αποτελέσματα .....	64
Συζήτηση .....	68
B' φάση πειράματος.....	71
Στατιστικά στοιχεία .....	72
Αποτελέσματα .....	73
Ομάδα 1.....	73
Ομάδα 2.....	75
Ομάδα 3.....	76
Η συμπεριφορά περιστροφής.....	79
Συζήτηση .....	80
Περιγραφή των αποτελεσμάτων.....	80
Σχολιασμός των αποτελεσμάτων .....	80
Συμπεράσματα – κλινικές προεκτάσεις .....	84
Περίληψη.....	86
Περίληψη στα Αγγλικά .....	87
Βιβλιογραφία .....	88



## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η ολοκλήρωση της διδακτορικής μου διατριβής συμπίπτει χρονικά με την ολοκλήρωση της ειδίκευσης μου στη Νευρολογία. Κλείνει έτσι ένας μακρύς κύκλος εκπαίδευσης εντός των πανεπιστημιακών ιδρυμάτων. Στην πορεία μου αυτή, στο τμήμα Βιολογίας του Πανεπιστημίου Πατρών, στο εργαστήριο Φυσιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, στις σπουδές μου στην Ιατρική σχολή και στην ειδίκευση μου στη Νευρολογία στο Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Ιωαννίνων, είχα την τιμή να γνωρίσω πολλούς ανθρώπους που αποδείχθηκαν για εμένα σπουδαίοι. Άλλοι μου έδωσαν την ευκαιρία να προσπαθήσω, άλλοι στάθηκαν δίπλα μου ως ακαδημαϊκοί πατέρες και άλλοι πάλεψαν μαζί μου στις δυσκολίες της καθημερινότητας της ακαδημαϊκής ζωής. Από τα βάθη της ψυχής μου ευχαριστώ θερμά και ειλικρινά τον κ. Σπύρο Κονιτσιώτη, Καθηγητή Νευρολογίας, τον κ. Άγγελο Ευαγγέλου, ομότιμο καθηγητή Φυσιολογίας και την κ. Βασιλική Καλφακάκου, καθηγήτρια Φυσιολογίας, την κ. Βεζυράκη Πατρώνα, αναπληρώτρια καθηγήτρια Φυσιολογίας, τον κ. Κιόρτση Δημήτριο επίκουρο καθηγητή Φυσιολογίας, τον κ. Μάριο Μαρσέλο ομότιμο καθηγητή Φαρμακολογίας, την κ. Κατερίνα Αντωνίου επίκουρη καθηγήτρια Φαρμακολογίας και τον φίλο και συνάδελφο Σωτήρη Μαρανή, Νευρολόγο. Από κάθε έναν έχω πάρει και έχω κρατήσει πολλά. Τέλος, θα ήθελα να πιστεύω ότι η θυσία των πειραματόζωνων για την εκπόνηση αυτής της διδακτορικής διατριβής δεν ήταν άσκοπη.



Χρήστος Τσιρώνης

Ιωάννινα, Φεβρουάριος 2020

## Εισαγωγή

### Ιστορικά στοιχεία



Εικόνα 1: Ο James Parkinson (1755 – 1824), ο πατέρας της ομώνυμης νόσου.

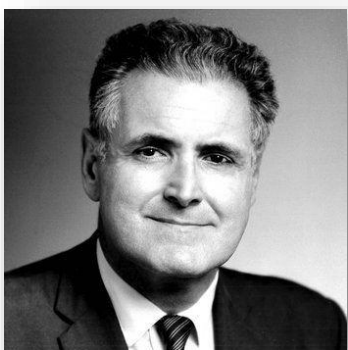
Ο James Parkinson, ένας Άγγλος χειρουργός, φαρμακοποιός, γεωλόγος, παλαιοντολόγος και πολιτικός ακτιβιστής, δημοσίευσε την μονογραφία με τίτλο “An essay on the Shaking Palsy” (Parkinson, J. An Essay on the Shaking Palsy - Whittingham and Rowland, 1817) 200 χρόνια πριν, το 1817, και αυτή η έκθεση αποτελεί την πρώτη περιγραφή της νόσου που φέρει το όνομά του. Αποκάλεσε την νόσο “paralysis agitans” (τρομώδης παράλυση) για να δώσει έμφαση στην μυϊκή αδυναμία και τον τρόμο που εμφανίζουν οι ασθενείς. Οι περιγραφές του βασίστηκαν σε μία μικρή ομάδα ασθενών που εμφάνιζαν χαρακτηριστική συμπτωματολογία με τρόμο ηρεμίας, βραδυκινησία, σε ορισμένες περιπτώσεις ακινησία, καμπτοκορμία και χαρακτηριστική βάδιση. Πενήντα χρόνια αργότερα, σπουδαίοι άλλοι νευρολόγοι του 19<sup>ου</sup> αιώνα, με πρώτον τον Γάλλο Jean Martin Charcot (Charcot JM in *Oeuvres Complètes, Tome 1, 1886*) ο οποίος αποδίδοντας φόρο τιμής στον J. Parkinson έδωσε στη νόσο το σημερινό της όνομα, συνέβαλαν τα μέγιστα στην αναλυτική περιγραφή της κλινικής εικόνας αλλά και της παθολογοανατομικής βάσης της νόσου, η οποία αναγνωρίζεται ως η δεύτερη πιο συχνή νευροεκφυλιστική διαταραχή μετά την νόσο Alzheimer. Στον πίνακα παρουσιάζονται συνοπτικά τα χρονικά ορόσημα στην νόσο του Parkinson και οι αλλαγές που επήλθαν σταδιακά στον ορισμό της μέχρι την οριστικοποίηση των διαγνωστικών κριτηρίων το 2015 (στοιχεία από Rodriguez – Violante et al 2017):

1817	1861	1912	1919	1957	1960
Ο J. Parkinson περιγράφει έξι ασθενείς με τρομώδη παράλυση.	Ο J. Charcot περιγράφει αναλυτικότερα την συμπτωματολογία της νόσου της οποίας δίνει το όνομα «νόσος του Parkinson”.	Ο H. Lewy περιγράφει την παρουσία <b>εγκλείστων</b> στους εγκεφάλους των ασθενών με PD.	Ο K. Tretiakoff αναφέρει ότι η <b>μέλαινα ουσία</b> είναι η κύρια ανατομική θέση που προσβάλλεται στη νόσο	Οι K. Monatgu και ο A. Carlsson αναφέρουν ανεξάρτητα ότι η <b>ντοπαμίνη</b> αποτελεί νευροδιαβιβαστή.	Ο O. Hornykiewicz αναφέρει ότι τα επίπεδα της ντοπαμίνης είναι ελαττωμένα στους ασθενείς με PD.
Νευρολογική κατάσταση με τρόμο, αδυναμία και καμπτοκορμία	Η PD ορίζεται ως νευρολογική κατάσταση με τρόμο, δυσκαμψία και βραδυκινησία (παρκινσονισμός)	Η PD ορίζεται ως νευρολογική κατάσταση με παρκινσονισμό <b>και</b> την παρουσία σωματίων Lewy.	Η PD ορίζεται ως νευρολογική κατάσταση με παρκινσονισμό, παρουσία σωματίων Lewy <b>και</b> απώλεια νευρώνων στην μέλαινα ουσία		Η PD ορίζεται ως νευρολογική κατάσταση με παρκινσονισμό, παρουσία σωματίων Lewy, απώλεια νευρώνων στην μέλαινα ουσία <b>και</b> ελάττωση των επιπέδων ντοπαμίνης στον εγκέφαλο
1967	1988	1997	2011	2015	
Ο G. Cotzias αναφέρει την κινητική βελτίωση ασθενών με παρκινσονισμό κατόπιν χορήγησης Levodopa	Οι A. Lees και WR Gribb δημοσιεύουν τα <b>πρώτα διαγνωστικά κριτήρια</b> της PD η οποία	Αναγνωρίζεται η πρώτη <b>γενετική αιτία</b> της νόσου (SNCA).	Η χρήση γενετικής ανάλυσης του γονιδιώματος συμβάλει στην αναγνώριση επιπλέον μεταλλάξεων που αποτελούν παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση της νόσου.	Δημοσιεύονται τα διαγνωστικά κριτήρια της PD από την εταιρία κινητικών επιπλοκών.	
	ορίζεται ως νευρολογική κατάσταση με παρκινσονισμό (που περιλαμβάνει βραδυκινησία και τρόμο και/ ή δυσκινησία και/ή κορμική αστάθεια) με ασύμμετρη έναρξη και τα οποία <b>ανταποκρίνονται στην αγωγή με L-Dopa</b>			Η νόσος Parkinson αποτελεί μία πολυσυστηματική κατάσταση που χαρακτηρίζεται από παρκινσονισμό, ανταποκρίνεται στην αγωγή με ντοπαμινεργικούς παράγοντες, την παρουσία σωματίων Lewy, απώλεια ντοπαμινεργικών νευρώνων και μειωμένα επίπεδα ντοπαμίνης στην μέλαινα ουσία και στην παθογένεση της συμμετέχουν γενετικοί παράγοντες.	

**Πίνακας 1: Τα χρονικά ορόσημα στην νόσο του Parkinson και οι αλλαγές που επήλθαν σταδιακά στον ορισμό της.**



Σήμερα, οι ασθενείς με νόσο Parkinson (PD) ζουν περισσότερο και με καλύτερη ποιότητα ζωής χάρις σε μια πληθώρα ανακαλύψεων, που ήρθαν σταδιακά με την πάροδο του χρόνου. Όταν η χρήση μικροσκοπίου επέτρεψε την παρατήρηση εγκεφάλων ασθενών το 1910 διαπιστώθηκε η απώλεια των νευρικών κυττάρων στη μέλαινα ουσία καθώς και η παρουσία των σωματίων Lewy. Ο Friedrich Heinrich Lewy ήταν ο πρώτος που περιέγραψε αυτά τα έγκλειστα σωματίδια σε άτομα που είχαν εκδηλώσει παρκινσονισμό, αλλά κατάφερε να το επιβεβαιώσει σε λίγες μόνο περιπτώσεις. Ακολούθως, το 1919 ο Tretiakoff όρισε την μέλαινα ουσία ως την ανατομική δομή που προσβάλλεται στη νόσο και επιπλέον επιβεβαίωσε την παρουσία σωματίων σε ασθενείς με Parkinson. Τα σωματίδια αυτά ονομάστηκαν σωματίδια του Lewy, προς τιμή του ερευνητή που πρώτος τα περιέγραψε (Lees A et al 2008, Holdorff B 2002, Mizuno Y et al 2008). Κατόπιν αυτών τον παθολογοανατομικών ευρημάτων ακολούθησε στα τέλη της δεκαετίας του 1950 από τους Carlsson και συνεργάτες η αποσαφήνιση του ρόλου που διαδραματίζει η ντοπαμίνη ως νευροδιαβιβαστής στον εγκέφαλο (και όχι απλά ως πρόδρομο μόριο της νορεπινεφρίνης όπως υποστηριζόταν μέχρι τότε) αλλά και του ρόλου αυτής



**Εικόνα 2: Ο Γεώργιος Κοτζιάς, ο Έλληνας Ιατρός που εισήγαγε την l-dopa στην θεραπευτική της νόσου Parkinson.**

στην παθογένεια της PD (Carlsson A 1959; Fahn S 2008). Το γεγονός αυτό έγινε η αιτία να ανοίξει ο δρόμος για τη θεραπευτική αντιμετώπιση της νόσου. Η εισαγωγή της l-dopa στη θεραπεία γίνεται μόλις το 1967 από τον μετανάστη Έλληνα Ιατρό στις ΗΠΑ, Γεώργιο Κοτζιά και τους συνεργάτες του (Cotzias GC et al 1967,1969) . Δύο αιώνες μετά την πρώτη περιγραφή της νόσου από τον James Parkinson και 50 χρόνια μετά την εισαγωγή της l-dopa στην θεραπευτική, η αιτιολογία της νόσου παραμένει άγνωστη και ως εκ τούτου η θεραπεία περιορίζεται ακόμη και σήμερα σε συμπτωματική αντιμετώπιση.

## Η νόσος του Parkinson

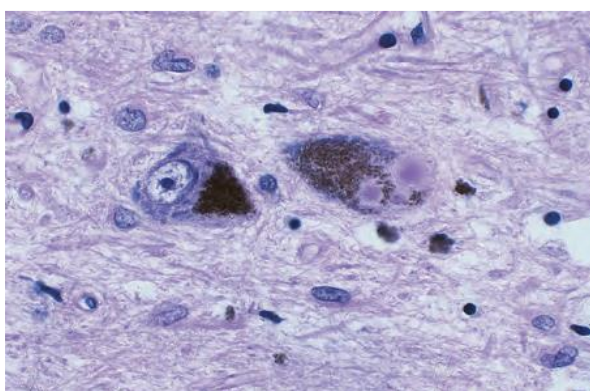
### Επιδημιολογία

Σε επιδημιολογικές μελέτες, η ιδιοπαθής νόσος του Parkinson αφορά σε ποσοστό μεγαλύτερο του 80% των ασθενών που εμφανίζουν παρκινσονισμό, με τον επιπολασμό της νόσου να είναι 360 άτομα ανα 100.000 πληθυσμού και την ετήσια επίπτωση αυτής σε 18 νέα περιστατικά ανα 100.000 πληθυσμού (de Lau and Breteler, 2006). Η νόσος του σχετίζεται με την ηλικία, εμφανίζοντας μία σταδιακή αύξηση του επιπολασμού της μετά την ηλικία των 50 ετών και μία πιο σημαντική αύξηση μετά την ηλικία των 60. Η νόσος σε άτομα κάτω των 30 ετών είναι σπάνια και συχνά οφείλεται, στις ηλικίες αυτές, σε κληρονομικές μορφές της νόσου. Επιπλέον, ο επιπολασμός της νόσου είναι υψηλότερος στις ΗΠΑ συγκριτικά με την Αφρική και την Κίνα, αλλά ο ρόλος της φυλής παραμένει άγνωστος. Η συχνότητα της νόσου στις ΗΠΑ υπολογίζεται στο 1% του πληθυσμού με αντίστοιχα ποσοστά και για χώρες τις Ευρώπης.

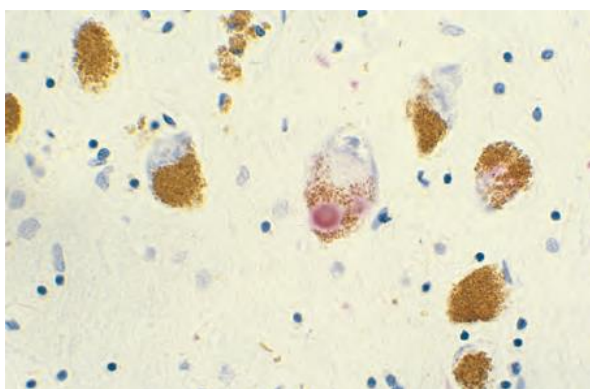
Στην Ελλάδα δεν υπάρχουν επίσημα στατιστικά στοιχεία για τον επιπολασμό και την επίπτωση της νόσου του Parkinson. Για το 2005, σύμφωνα με αρχεία της Ελληνικής Στατιστικής Υπηρεσίας, καταγράφονται 1368 ασθενείς με νόσο του Parkinson, σε σύνολο 186.908 νοσηλευομένων με συμπτώματα νευρικών παθήσεων και παθήσεων των αισθητηρίων οργάνων. Η αναλογία ανδρών-γυναικών (Α/Γ) ήταν 300/247 για την ηλικιακή κλάση 70-79, 148/181 για την ηλικιακή κλάση 80-89 και 16/25 για την ηλικιακή κλάση 90-99. Για τις ηλικίες κάτω των 70 ετών δεν υπάρχουν καταγραφές (Πηγή Γ.Γ ΕΣΥΕ).

## Η παθογένεια της νόσου

Οι πιο δραματικές μεταβολές στην PD συμβαίνουν στην συμπαγή μοίρα της μέλαινας ουσίας (SNc). Αυτές περιλαμβάνουν απώλεια νευρώνων, γλοίωση και την παρουσία εξωκυττάριου χρωματισμού. Στους νευρώνες που επιβιώνουν της εκφύλισης ανευρίσκονται τα σωματίδια Lewy, τα οποία είναι κυτταρικά έγκλειστα με πυκνό ηωσινοφιλικό πυρήνα και διαυγές περίβλημα (εικόνες 3 και 4). Αυτά περιλαμβάνουν υπερφωσφορυλιωμένα πρωτεϊνικά νευροϊνίδια, λιπίδια, σίδηρο, ubiquitin και  $\alpha$ -synuclein (Lees et al, 2009). Παθολογία με σωματίδια Lewy, εκτός από



**Εικόνα 3:** Σωματίο Lewy. Τομή από μέλαινα ουσία με χρώση αιματοξυλίνης – ηωσίνης. Απεικονίζονται δύο σωματίδια Lewy, τα οποία περιλαμβάνουν ένα ηωσινοφιλικό έγκλειστο με διαυγή άλφ που εκτοπίζει την νευρομελανίνη.



**Εικόνα 4:** σωματίο Lewy με χρώση  $\alpha$ -synuclein (κόκκινο χρώμα).

την μέλαινα ουσία απαντάται και στον υπομέλανα τόπο, στον ραχιαίο κινητικό πυρήνα του πνευμονογαστρικού νεύρου αλλά και αλλού. Οι ασθενείς με PD και άνοια εμφανίζουν περισσότερο διάχυτη

παθολογία με σωματίδια Lewy σε διάφορα σημεία του εγκεφάλου. Είναι εξαιρετικά ενδιαφέρον ότι αυτά ανευρίσκονται και σε σημεία εκτός του κεντρικού νευρικού συστήματος όπως στο καρδιακό αλλά και στο μεσεντρέριο πλέγμα, γεγονός που μαρτυρά ότι η νόσος Parkinson δεν αφορά αποκλειστικά το ΚΝΣ.

Η παρουσία των σωματίων Lewy σε διάφορα μέρη του ΚΝΣ έχει προταθεί

ότι σχετίζεται με την εξέλιξη της νόσου. Η σταδιοποίηση αυτή προτάθηκε από τους Braak και συνεργάτες (Goedert et al. 2013) και είναι αποκαλυπτική της διασποράς της παθολογίας με την εξέλιξη των συμπτωμάτων. Σύμφωνα με αυτή, κατά την ασυμπτωματική περίοδο της PD (στάδια 1 και 2) η σχετιζόμενη με την νόσο

παθολογία των εγκλείστων περιορίζεται στον προμήκη μυελό και τον οσφρητικό βολβό. Στα στάδια 3 και 4 κατά τα οποία εκδηλώνονται τα πρώτα συμπτώματα της νόσου, η μέλαινα ουσία και άλλοι πυρήνες του μεσεγκεφάλου και προσθεγκεφάλου είναι η εστία αρχικά ήπιων και αργότερα εντονότερων μεταβολών, ενώ στα προχωρημένα στάδια της νόσου, η παθολογία έχει εξαπλωθεί ώστε να καταλάβει και τον φλοιό των εγκεφαλικών ημισφαιρίων. Η υπόθεση αυτή υποστηρίζεται από την πρώιμη εκδήλωση υποσμίας, διαταραχών του ύπνου και του αυτονόμου στους ασθενείς με υποκλινική PD, έχει όμως αποτελέσει πεδίο εντατικής μελέτης και ταυτόχρονα κριτικής. Παρά την κριτική ωστόσο παρέχει ένα ικανοποιητικό πλαίσιο για την σύγχρονη αντίληψη της εξέλιξης ενός νευροεκφυλιστικού φαινομένου.

## Η αιτιοπαθογένεια της νόσου

Στην αιτιολογία της νόσου Parkinson είναι πλέον κοινά αποδεκτό ότι αποτελεί μία πολυπαραγοντική νόσο στην οποία εμπλέκονται τόσο γενετικοί όσο και περιβαλλοντικοί παράγοντες (Shulman et al, 2001).

### Περιβαλλοντικοί παράγοντες

Τα στοιχεία που συσχετίζουν την PD με περιβαλλοντικούς παράγοντες προέρχονται κυρίως από δύο πηγές: την τυχαία ανακάλυψη της εκδήλωσης παρκινσονισμού σε χρήστες ουσιών που περιείχαν MPTP (μια μιτοχονδριακή προ-τοξίνη) καθώς και από επιδημιολογικά στοιχεία που συνδέουν την εμφάνιση ορισμένων σποραδικών περιπτώσεων της νόσου με συγκεκριμένο τρόπο ζωής ή την επαγγελματική έκθεση σε διάφορους παράγοντες. Περισσότερο από 3 δεκαετίες πριν, η ανακάλυψη ότι ένας αριθμός χρηστών είχαν αναπτύξει σοβαρό παρκινσονισμό με καλή ανταπόκριση στην L-dopa κατόπιν λήψης ναρκωτικής ουσίας που περιείχε MPTP ως παραπροϊόν της διαδικασίας παραγωγής ναρκωτικής ουσίας με δράση ανάλογη της μεπεριδίνης, ήταν η πρώτη απόδειξη ότι περιβαλλοντικοί παράγοντες είναι δυνατόν να προκαλέσουν παρκινσονισμό. Η ανακάλυψη αυτή ήταν δε ιδιαίτερης σημασίας στην κατανόηση της παθοφυσιολογίας της νόσου καθώς κατέδειξε ότι συγκεκριμένοι περιβαλλοντικοί παράγοντες είναι δυνατό να ευθύνονται για ορισμένες περιπτώσεις της νόσου.

Επιπλέον, επιδημιολογικές μελέτες προτείνουν ότι η έκθεση σε βαρέα μέταλλα και οργανικές τοξίνες μπορεί να σχετίζεται με έναν αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης ή πρώιμης εκδήλωσης της νόσου Parkinson (Tanner et al 2009) ενώ άλλες μελέτες έχουν δείξει ότι ο κίνδυνος ανάπτυξης PD είναι αυξημένος σε άτομα που έχουν εργασθεί στον τομέα γεωργίας, που έχουν εκτεθεί σε εντομοκτόνα ή που έχουν υποστεί σοβαρή κρανιοεγκεφαλική κάκωση.

Από την άλλη μεριά, η συσχέτιση της PD με περιβαλλοντικούς παράγοντες καταδεικνύεται και από την αντίστροφη, προστατευτική, δράση που έχουν ορισμένοι παράγοντες. Έτσι, έχει αρκετές μελέτες έχουν υποστηρίξει την μείωση

του κινδύνου ανάπτυξης PD σε ανθρώπους που καταναλώνουν τροφές με υψηλή συγκέντρωση σε αντιοξειδωτικές ουσίες. Πρόσφατη μελέτη μάλιστα από Έλληνες ερευνητές εμφανίζει αρνητική συσχέτιση μεταξύ της πρώιμης εμφάνισης της νόσου και της μεσογειακής διατροφής (Maraki et al 2019), ενώ κοινά αποδεκτή είναι η προστατευτική δράση έναντι της νόσου σε άτομα που καταναλώνουν υψηλές ποσότητες καφεΐνης αλλά και στους καπνιστές (Angelorouli et al 2019).

## Γενετικοί παράγοντες

Αν και η αμιγώς κληρονομικές μορφές PD είναι σπάνιες, έχει επαρκώς δειχθεί ότι γενετικοί παράγοντες διαδραματίζουν έναν σημαντικό ρόλο στην αιτιοπαθογένεια της νόσου και κυρίως στις περιπτώσεις πρώιμης εμφάνισης αυτής (ηλικία έναρξης μικρότερη των 50 ετών). Σχεδόν το 20 – 25 % των ασθενών έχουν τουλάχιστον συγγενή πρώτου βαθμού με νόσο Parkinson, ενώ ταυτόχρονα στα υγιή άτομα με συγγενή πρώτου βαθμού που πάσχει από PD ο κίνδυνος εμφάνισης της νόσου είναι 2 με 3 φορές μεγαλύτερος συγκριτικά με τον υγιή πληθυσμό. Η αναλυτική μελέτη του γονιδιώματος έχει επιτρέψει την αναγνώριση αρκετών μεταλλάξεων που θεωρούνται υπεύθυνα για τη νόσο. Παρακάτω περιγράφονται ορισμένες περιπτώσεις μεταλλάξεων στις οποίες έχει δεχτεί αναλυτικά η συσχέτιση και ο μηχανισμός που οδηγεί στην εμφάνιση νευροεκφυλιστικής νόσου.

Ένα από τα πιο χαρακτηριστικά παραδείγματα είναι οι μεταλλάξεις στο **γονίδιο SNCA** που κωδικοποιεί την  **$\alpha$ -synuclein**. Η περίπτωση της μετάλλαξης PARK1 αποτελεί παράδειγμα μονογενετικού τύπου της νόσου Parkinson ενώ η στην περίπτωση της μετάλλαξης PARK4 υπάρχει διπλασιασμός ή και τριπλασιασμός του γονιδίου SNCA που οδηγεί έτσι στην αυξημένη παραγωγή  $\alpha$ -synuclein. Το γεγονός αυτό οδηγεί στην ανάπτυξη νευροεκφυλιστικής νόσου με κλινικά χαρακτηριστικά που αλληλεπικαλύπτονται μεταξύ της PD, της άνοιας με σωματίδια Lewy (DLB) και της ατροφίας πολλαπλών συστημάτων (MSA).

Άλλο παράδειγμα αποτελούν οι περιπτώσεις μεταλλάξεων στο **γονίδιο parkin** (που ονομάζονται PARK2) και οδηγούν στην εμφάνιση νεανικής νόσου Parkinson. Η

λειτουργία της πρωτεΐνης parkin σχετίζεται με την αξονική μεταφορά στα σωμάτια Golgi. Οι μεταλλάξεις στο γονίδιο αυτής προκαλούν δυσλειτουργία του συστήματος Golgi συμβάλλοντας έτσι στην απονεύρωση του μελαινοραβδωτού συστήματος. Επιπλέον, ενώ η φυσιολογική πρωτεΐνη parkin συμμετέχει στην φωσφορυλίωση και επακόλουθη αποδόμηση συγκεκριμένων πρωτεϊνών και πρωτεασών, μεταλλάξεις που απενεργοποιούν αυτήν οδηγούν στην ανώμαλη συγκέντρωση πρωτεϊνών προκαλώντας έτσι την επιλεκτική απόπτωση νευρώνων, στην συγκεκριμένη περίπτωση μάλιστα, χωρίς την δημιουργία σωματίων Lewy. Αν και έχουν διαπιστωθεί και σε ασθενείς με όψιμη έναρξη της νόσου, σχεδόν οι μισοί ασθενείς που εκδηλώνουν νόσο Parkinson πριν την ηλικία των 40 ετών έχουν μεταλλάξεις που απενεργοποιούν την πρωτεΐνη parkin.

Η λίστα των υπεύθυνων μεταλλάξεων σε συγκεκριμένα γονίδια που οδηγούν στην ανάπτυξη PD συνεχώς μακραίνει (PARK8). Παράλληλα αποκαλύπτεται έτσι και ο υποκείμενος μηχανισμός που οδηγεί στην νευροεκφύλιση, φωτίζοντας σημαντικά την αιτιοπαθογένεια της νόσου ενώ ανοίγει ορίζοντες για πιο αποτελεσματικές θεραπείες. (Trinh and Farer, 2013).

## Κλινική εικόνα της νόσου Parkinson

Τα συμπτώματα της νόσου Parkinson διακρίνονται σε κινητικά που θεωρούνται και τα κυρίαρχα συμπτώματα της νόσου, και σε μη – κινητικά, που μπορεί να προηγούνται της εμφάνισης των κινητικών συμπτωμάτων (Walters E 2008). Το σύνολο της συμπτωματολογίας παρομοιάζεται στην βιβλιογραφία με «παγόβουνο» του οποίου το ορατό τμήμα συνιστά η κλασική τετράδα του κλινικού ορισμού (βραδυκινησία, τρόμος, δυσκαμψία και διαταραχή της βάδισης) ενώ το αόρατο τμήμα, και κατά πολλούς επιστήμονες το σημαντικότερο, περιλαμβάνει τις δευτερεύουσες κινητικές εκδηλώσεις (καμπτοκορμία, δυστονία, ελαττωμένη αιώρηση άνω άκρων κατά τη βάδιση, υποφωνία, υπομιμία, μικρογραφία, δυσκαταποσία, σιελόρροια) αλλά και μη κινητικές εκδηλώσεις (υποσμία, διαταραχές ύπνου, κόπωση, αίσθημα πόνου, δυσαυτονομία, κατάθλιψη, άγχος, εκδήλωση απάθειας, εκτελεστικές δυσλειτουργίες, άνοια και ψύχωση).

### Τα κινητικά Συμπτώματα

Τα κινητικά συμπτώματα της νόσου του Parkinson περιλαμβάνουν τον τρόπο ηρεμίας, τη βραδυκινησία, τη δυσκαμψία, τις διαταραχές ισορροπίας με απώλεια των διορθωτικών αντανακλαστικών θέσης-στάσης, την καμπτική στάση του κορμού και τα επεισόδια παγώματος freezing.

### Τρόμος ηρεμίας

Αποτελεί το πιο εμφανές σύμπτωμα της νόσου του Parkinson, όχι όμως και το πιο τυπικό ενώ μπορεί να αποτελεί το πρώτο σύμπτωμα στο 50%-70% των ασθενών (Snyder & Adler 2007, Hobson et al 2003). Ο τρόμος της PD είναι συχνότητας περίπου 3,5-5 Hz, και σε περιπτώσεις νεανικού παρκινσονισμού μπορεί να φτάσει έως και τα 7Hz (Siderowf 2001, Klockgether 2004). Άλλα χαρακτηριστικά αυτού είναι ότι επιδεινώνεται σε συνθήκες έντονης συναισθηματικής φόρτισης, κόπωσης, κρύου καιρού και κατά την ενεργητική κίνηση του άλλου άκρου ενώ εξαφανίζεται κατά τη διάρκεια του ύπνου. Αρχικά ο τρόμος είναι διαλείπων και κάνει την εμφάνιση του σε συνθήκες ηρεμίας, γι' αυτό χαρακτηρίζεται ως τρόμος ηρεμίας.



Ο τρόμος συνήθως ξεκινάει από το ένα άνω άκρο ως ρυθμική αντιθετική κίνηση του αντίχειρα. Μοιάζει σαν να μετράει κέρματα ή μπορεί να πρόκειται για ρυθμική κίνηση όλου του χεριού ή κάποιων δακτύλων. Με την πάροδο του χρόνου ο τρόμος εκτείνεται στο σύστοιχο κάτω άκρο και σταδιακά φτάνει στην άλλη πλευρά. Δεν είναι σπάνια η συνύπαρξη τρόμου θέσης. Επίσης, αξίζει να σημειωθεί πως σε προχωρημένα στάδια παρόλο που ο τρόμος είναι αμφοτερόπλευρος, συχνά παρατηρείται ασυμμετρία ανάμεσα στις δύο πλευρές.

Σε προχωρημένες περιπτώσεις ο τρόμος στα άκρα μπορεί να συνοδεύεται από συνοδό τρόπο στα χείλη ή τη γνάθο (Paulson & Stern 2004).

### **Βραδυκίνησία**

Η βραδυκίνησία αποτελεί το πιο χαρακτηριστικό σύμπτωμα της νόσου του Parkinson και εκδηλώνεται με επιβράδυνση στην έναρξη και τέλεση των εκούσιων κινήσεων. Προοδευτικά ελαττώνεται η ταχύτητα και το εύρος των επαναλαμβανόμενων κινήσεων, ο ασθενής αντιμετωπίζει δυσκολία στην επιτέλεση ταυτόχρονων ή κατά αλληλουχία κινήσεων και χάνει τη δυνατότητα της εκτέλεσης συνεργικών κινήσεων. Ως αποτέλεσμα ο ασθενής κινείται αργά, η κίνηση του δεν έχει εύρος και πολυπλοκότητα, η έναρξη της γίνεται με δυσκολία και η συνέχεια της χαρακτηρίζεται από διακοπές. Οι ασθενείς αντιμετωπίζουν δυσκολίες ακόμη και στο να προγραμματίσουν μια εκούσια κίνηση και όχι μόνο στο να την εκτελέσουν. Όσο η βραδυκίνησία επιδεινώνεται, παρατηρούνται επιπτώσεις σε ολόένα και περισσότερους τομείς της κινητικότητας. Επηρεάζεται έτσι η γραφή (μικρογραφία), η ομιλία γίνεται μονότονη, ψιθυριστή, παρουσιάζεται υποφωνία, μειώνεται η εκφραστικότητα του προσώπου και εμφανίζεται υπομιμία (“rocker face”). Αρχικά, η βραδυκίνησία γίνεται αντιληπτή σε λεπτές κινήσεις που απαιτούν επιδεξιότητα (π.χ κούμπωμα κουμπιών, βάδιση με μικρά βήματα κτλ) και σταδιακά εμφανίζεται σε όλες τις καθημερινές δραστηριότητες (Siderowf 2001, Klockgether 2004, Guttman et al 2003, Paulson & Stern 2004).

### **Δυσκαμψία**

Το σύμπτωμα που χαρακτηρίζει όλους τους παρκινσονικούς ασθενείς είναι η δυσκαμψία. Από τον ασθενή γίνεται αντιληπτή ως αίσθημα «μαγκώματος» και δυσκολίας στο να χαλαρώσουν τα άκρα τους. Αιτία είναι η αύξηση του μυϊκού

τόνου που μπορεί να επηρεάσει όλες τις μυϊκές ομάδες του κορμού, τόσο στους εκτεινόντες όσο και στους καμπτήρες μύες.

Η δυσκαμψία εκδηλώνεται σαν αντίσταση στην παθητική κίνηση του άκρου που είτε μένει σταθερή σε όλο το εύρος της κίνησης και περιγράφεται ως υπερτονία τύπου μολυβδοσωλήνα ή έχει διαλείποντα χαρακτήρα και αναφέρεται ως σημείο οδοντωτού τροχού. Ο διαλείπων χαρακτήρας της δυσκαμψίας προκύπτει από το συνδυασμό υπερτονίας και λανθάνοντος τρόμου. Η δυσκαμψία (όπως και ο τρόμος) αυξάνεται κατά την ενεργητική κίνηση του άλλου άκρου (σημείο Froment), (Santens P et al 2003, Klockegether T 2004, Guttman M et al 2003; Paulson HL & Stern MP 2004).

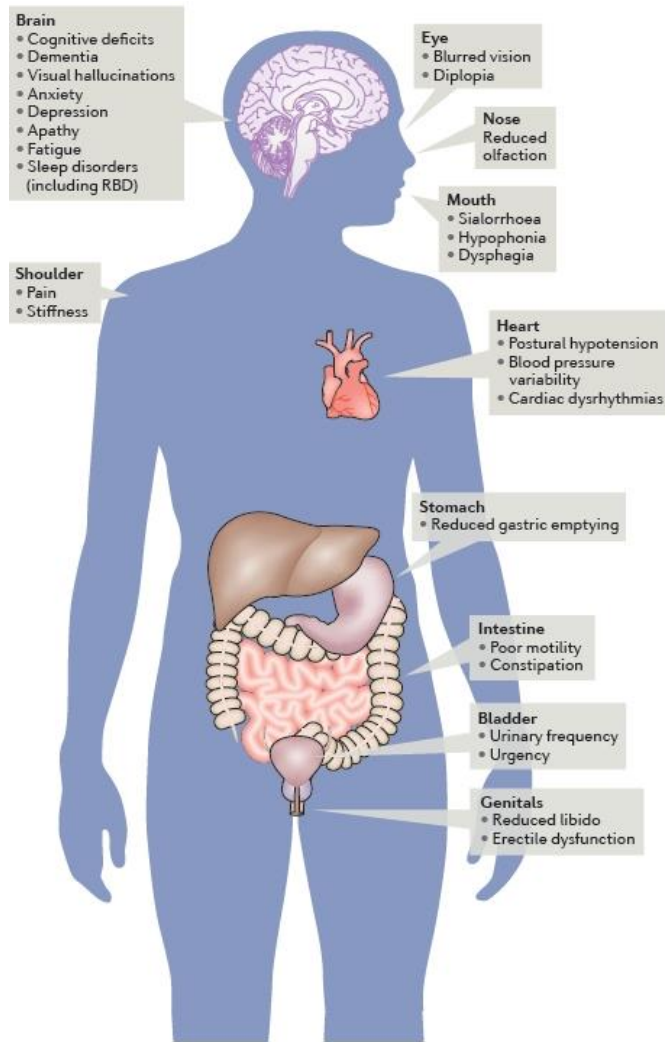
### **Διαταραχή αντανακλαστικών στάσης**

Ο παρκινσονικός ασθενής αποκτά χαρακτηριστική στάση του σώματος. Ο κορμός κυρτώνει, η κεφαλή κάμπτεται, οι ώμοι κλίνουν πρόσθια, οι βραχίονες εφάπτονται στον κορμό, τα αντιβράχια και τα γόνατα κάμπτονται. Το άτομο βαδίζει με μικρά βήματα έχοντας ελαττωμένη αιώρηση των χεριών με κάποια διαλείμματα επιταχυνόμενης βάδισης, κατά την οποία χαρακτηριστικά περιγράφεται ότι μοιάζει να κυνηγάει το κέντρο βάρους του.

Ο ασθενής χάνει τη δυνατότητα των διορθωτικών αντανακλαστικών στάσης με αποτέλεσμα όταν διαταράσσεται η ισορροπία του να οδηγείται έτσι σε πτώσεις. Η διαταραχή της ισορροπίας εμφανίζεται σε προχωρημένα στάδια και προκαλεί σοβαρή αναπηρία. Στις περιπτώσεις που ο ασθενής εμφανίζει απώλεια των διορθωτικών αντανακλαστικών μέσα στα 2-3 πρώτα χρόνια εκδήλωσης της νόσου, είναι πολύ πιθανό να μην πάσχει από νόσο του Parkinson (Paulson & Stern 2004, Siderowf 2001, Guttman et al 2003).

Τέλος, ο ασθενής μπορεί να εμφανίζει επεισόδια διακοπής της κίνησης που διαρκούν λίγα δευτερόλεπτα. Τα επεισόδια «παγώματος» (freezing) εμφανίζονται πιο συχνά κατά την έναρξη της βάδισης, στην προσπάθεια στροφής, στην προσέγγιση κάποιου στόχου ή στην προσπάθεια προσπέρασης κάποιου εμποδίου (Siderowf 2001).

## Τα μη κινητικά συμπτώματα



**Εικόνα 5:** τα μη – κινητικά συμπτώματα της νόσου Parkinson. Επηρεάζονται σχεδόν όλα τα συστήματα του ανθρώπινου σώματος. Συχνά παραβλέπονται και υποθεραπεύονται.

Οι μη κινητικές διαταραχές αφορούν ένα ευρύ φάσμα λειτουργιών οι οποίες συχνά παραβλέπονται ενώ επιβαρύνουν σημαντικά την ποιότητα ζωής του ασθενούς. Μπορεί να παρατηρηθούν τόσο στα πρώτα στάδια της νόσου όσο και στα μετέπειτα ενώ ορισμένα όπως οι διαταραχές όσφρησης, η διαταραχή του ύπνου REM, η κατάθλιψη και η δυσκοιλιότητα μπορεί να προηγούνται κατά πολλά έτη της εμφάνισης της νόσου. Στις μη κινητικές διαταραχές συμπεριλαμβάνονται οι νοητικές και ψυχικές διαταραχές, η δυσλειτουργία του αυτόνομου νευρικού

συστήματος, οι διαταραχές του ύπνου, οι γαστρεντερικές δυσλειτουργίες, οι αισθητικές διαταραχές, η κόπωση, η διπλωπία, η σμηγματόρροια, οι διαταραχές του βάρους και οι μυοσκελετικές παραμορφώσεις (Sharira AHV, 2017).

## Γνωστική δυσλειτουργία- Άνοια

Εκτός από τα κλασικά κινητικά συμπτώματα (τρόμος, βραδυκινησία, δυσκαμψία) η νόσος του Parkinson χαρακτηρίζεται από ένα πρότυπο γνωστικής δυσλειτουργίας. Η γνωστική αυτή δυσλειτουργία περιλαμβάνει κυρίως διαταραχές των εκτελεστικών λειτουργιών, που προσομοιάζουν διαταραχές που προκύπτουν από βλάβες του

μετωπιαίου λοβού, της οπτικοχωρικής αντίληψης, της λεκτικής μνήμης αλλά και της ταχύτητας επεξεργασίας πληροφοριών και εξωγενών ερεθισμάτων. Κομβικό σημείο στα γνωστικά ελλείμματα που παρατηρούνται είναι η διαταραχή των εκτελεστικών λειτουργιών, οι οποίες περιλαμβάνουν την ικανότητα οργάνωσης της συμπεριφοράς και της προσαρμογής σε νέες καταστάσεις. Οι γνωστικές λειτουργίες στη νόσο του Parkinson εκκρίπτουν ελαφρά ήδη από τα αρχικά στάδια της νόσου. Οι ασθενείς εμφανίζουν βραδυψυχισμό, διαταραχή στην οπτικοχωρική και εκτελεστική λειτουργία, στην προσοχή και τη μνήμη εργασίας (Poewe W 2007, Borek LL et al 2006).

Η εξέλιξη της ασθένειας συνοδεύεται από άνοια στο 30%-40% του πληθυσμού και αυτό την κατατάσσει στην 3<sup>η</sup> αιτία άνοιας στην τρίτη ηλικία (Paulson HL & Stern MP 2004, Chaudhuri KR et al 2006, Emre 2003,2004). Η παρκινσονική άνοια χαρακτηρίζεται από διαταραχή των εκτελεστικών λειτουργιών, της οπτικοχωρικής ικανότητας και δευτεροπαθώς της μνήμης. Η εμφάνιση της άνοιας σχετίζεται με την προχωρημένη ηλικία των ασθενών, την εμφάνιση ψύχωσης με την L-dopa, τη βαρύτητα της βραδυκινησίας, τη διαταραχή στάσης, την πρώιμη εμφάνιση σύγχυσης και τη μειωμένη επίδοση σε γνωστικές δοκιμασίες (Emre M 2003.2004).

## Πορεία- Πρόγνωση

Η νόσος του Parkinson είναι χρόνια και επιδεινούμενη με το πέρασμα του χρόνου. Οι ασθενείς αρχικά ανταποκρίνονται θετικά στη ντοπαμινεργική θεραπεία αλλά όσο η νόσος εξελίσσεται τα κινητικά συμπτώματα επιδεινώνονται οδηγώντας τον ασθενή σε σοβαρή αναπηρία (Poewe W 2006). Αν και οι ασθενείς με ιδιοπαθή νόσο Parkinson έχουν μειωμένη επιβίωση συγκριτικά με τον υγιή πληθυσμό, φαίνεται ότι ο τύπος και τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά της νόσου, επηρεάζουν διαφορετικά την επιβίωση των ασθενών. Έτσι φαίνεται ότι οι ασθενείς με άτυπες μορφές παρκινσονισμού (PSP και MSA) έχουν την υψηλότερη θνητότητα. Επιπλέον στην πρώιμη PD η διάγνωση ήπιας γνωσιακής διαταραχής (MCI), η εμφάνιση του freezing, υποσμίας και μειωμένης δραστηριότητας του μεταφορέα της ντοπαμίνης στον κερκοφόρο πυρήνα έχουν συσχετισθεί με μειωμένα ποσοστά επιβίωσης (Bäckström D et al 2018).

Η νόσος του Parkinson δεν συγκαταλέγεται στις θανατηφόρες ασθένειες. Ο θάνατος επέρχεται ως συνέπεια των δευτεροπαθών επιπλοκών της νόσου με πιο συχνές την πνευμονία, τα καρδιαγγειακά προβλήματα (συμπεριλαμβανομένου τον κίνδυνο εκδήλωσης εγκεφαλικών επεισοδίων) και την εμφάνιση καρκίνου (Wermuth L et al 1995, Beyer M et al 2001).

## Διάγνωση και Διαφορική Διάγνωση

Η πλήρης διαγνωστική βεβαιότητα για τη νόσο Parkinson δεν είναι εφικτή παρά μόνο μετά από την παθολογοανατομική εξέταση του εγκεφάλου. Έχει δειχτεί ότι το 75-95% των διαγνώσεων από ειδικούς της PD επιβεβαιώνεται και κατόπιν βιοψίας (Hughes AJ et al 2001, Tolosa E et al 2006, Litvan I et al 1998, Rajput AH et al 1991) με τη διαγνωστική ακρίβεια να διαφέρει σημαντικά ανάλογα με την διάρκεια της νόσου, την ηλικία, την εξειδίκευση του ιατρού αλλά και την βελτίωση της γνώσης γύρω από τη νόσο (οι νεότερες μελέτες εμφανίζουν μεγαλύτερη ακρίβεια διάγνωσης). Το διαγνωστικό λάθος οφείλεται κυρίως σε αδυναμία αναγνώρισης άλλης παθολογίας που προκαλεί εικόνα παρκινσονισμού (κυρίως άτυπες μορφές MSA & PSP, αγγειακός ή φαρμακευτικός παρκινσονισμός, υδροκέφαλος φυσιολογικής πίεσης) ή στην αναγνώριση ως PD παθήσεων χωρίς την χαρακτηριστική νευροεκφυλιστική πορεία, όπως ο ιδιοπαθής ή δυστονικός τρόμος. Για τον λόγο αυτό αναπτύχθηκαν τα διαγνωστικά κριτήρια της νόσου (Postuma et al 2015), που σκοπό έχουν να ελαχιστοποιήσουν το διαγνωστικό σφάλμα. Να σημειωθεί ωστόσο, ότι μελέτες αξιολόγησης των κριτηρίων κατά το παρελθόν, έχουν δείξει ότι εξειδικευμένοι και έμπειροι νευρολόγοι μπορούν να διαγνώσουν με μεγαλύτερη ακρίβεια την νόσο από ότι η εφαρμογή των διαγνωστικών κριτηρίων (Hughes AJ et al 2001).

Στα πρόσφατα διαγνωστικά κριτήρια περιλαμβάνονται τόσο τα κινητικά συμπτώματα της νόσου όσο και τα μη – κινητικά. Σύμφωνα με αυτά, προτείνεται για την διάγνωση μία προσέγγιση δύο βημάτων: ένα πρώτο βήμα κατά το οποίο καθορίζεται η παρουσία παρκινσονισμού (που ορίζεται ως η παρουσία βραδυκινησίας σε συνδυασμό με τρόμο ηρεμίας ή δυσκινησία ή και των δύο) και ένα δεύτερο βήμα κατά το οποίο καθορίζεται εάν ο διαπιστούμενος παρκινσονισμός δύναται να αφορά τη νόσο Parkinson. Τέλος απαραίτητο στοιχείο για τη διάγνωση είναι η απουσία των κριτηρίων αποκλεισμού ενώ με τον συνδυασμό επιπλέον κριτηρίων υποστηρικτικών ή αποτρεπτικών (red flags) της νόσου η διάγνωση δύναται να χαρακτηριστεί ως πιθανή ή βεβαία.



- Βεβαιωμένες αγνωστο-απρακτικές διαταραχές οφειλόμενες σε φλοιϊκές βλάβες
- Φυσιολογική λειτουργική νευροαπεικόνιση του προσυναπτικού ντοπαμινεργικού συστήματος
- Τεκμηριωμένη ύπαρξη άλλης νόσου η κατάστασης που μπορεί να σχετίζεται με τη συμπτωματολογία του ασθενούς

Τα κριτήρια που αμφισβητούν την διάγνωση (**red flags**) είναι:

- Ραγδαία επιδείνωση της βάδισης – μετακίνηση με αμαξίδιο μέσα σε 5 χρόνια
- Πλήρης απουσία επιδείνωσης των κινητικών συμπτωμάτων χωρίς θεραπεία επί 5 και πλέον χρόνια
- Πρώιμες προμηκικές διαταραχές: οξεία δυσφωνία ή δυσαρθρία ή δυσφαγία (χρειάζεται ειδική κατεργασία του φαγητού ή και ρινογαστρικό σωλήνα)
- Αναπνευστικές διαταραχές (εισπνευστικός συριγμός κλπ)
- Έντονες διαταραχές από το Αυτόνομο Νευρικό Σύστημα στα πρώτα 5 χρόνια
- ορθοστατική υπόταση που δεν οφείλεται σε χορήγηση φαρμάκων ή αφυδάτωση
- οξεία κατακράτηση ούρων ή ακράτεια ούρων που δεν οφείλεται σε προστάτη ή άλλα άσχετα αίτια
- Συχνές πτώσεις από αστάθεια μέσα στα 3 πρώτα χρόνια έναρξης των συμπτωμάτων
- Ασύμμετρες δυστονίες και συσπάσεις των άκρων τα πρώτα 10 χρόνια
- Πλήρης απουσία μη κινητικών συμπτωμάτων της νόσου τα πρώτα 5 χρόνια (διακεκομμένος ύπνος, υπερβολική υπνηλία την ημέρα, δυσκοιλιότητα, ημερήσια συχνουρία, ορθοστατική υπόταση, υποσμία, ψυχιατρικές διαταραχές κλπ.
- Μή εξηγήσιμα πυραμιδικά σημεία όπως μυϊκή αδυναμία, μεγάλη ζωηρότητα τενοντίων αντανάκλασεων κλπ
- Τελείως συμμετρικός αμφοτερόπλευρος παρκινσονισμός



## Απεικονιστικές Μέθοδοι

Πλέον, σημαντική συνεισφορά στη διάγνωση της νόσου του Parkinson, πέρα από τα κλινικά διαγνωστικά κριτήρια, έχουν οι απεικονιστικές μέθοδοι. Οι συμβατικές απεικονιστικές εξετάσεις (αξονική και μαγνητική τομογραφία) χρησιμοποιούνται ώστε να αποκλειστούν άλλες αιτίες παρκινσονισμού. Τέτοιες μπορεί να είναι οι χωροκατακτητικές εξεργασίες του εγκεφάλου, οι κρανιοεγκεφαλικές κακώσεις και τα αγγειακά εγκεφαλικά (Tolosa E et al 2006).

Ο διακρανιακός υπέρηχος είναι μια ακόμη απεικονιστική μέθοδος που μπορεί να αξιοποιηθεί για τη διαφορική διάγνωση των άτυπων μορφών παρκινσονισμού από τη νόσο του Parkinson. Στα ευρήματα της εξέτασης περιλαμβάνεται το αυξημένο ηχητικό σήμα στη μέλαινα ουσία (μεσέγκεφαλος) αντιπλευρώς της πιο επηρεασμένης από τη νόσο, πλευράς (Piccini P & Brooks D 2006). Το αυξημένο σήμα εντοπίζεται σχεδόν στο 90% των ασθενών που έχουν ιδιοπαθή νόσο, ενώ σπάνια συναντάται αυξημένη ηχογένεια σε άτυπες μορφές παρκινσονισμού (Berg D 2006).

Οι απεικονιστικές μέθοδοι PET (τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων) και το SPECT (τομογραφία εκπομπής μονήρους φωτονίου) δύνανται να απεικονίσουν πολλές από τις λειτουργικές παραμέτρους της ντοπαμινεργικής μεταβίβασης σε *in vivo* επίπεδο.

Ένας πολύ χρήσιμος δείκτης εκτίμησης της προσυναπτικής ντοπαμινεργικής λειτουργίας είναι το [18F]-Dopa-PET. Από μελέτες με 18F-dopa-PET (Brooks DJ et al, 1990) φάνηκε να σημειώνεται μείωση στην πρόσληψη του ραδιοφαρμάκου στο κέλυφος και στον κερκοφόρο πυρήνα παρκινσονικών ασθενών. Το 18[F]-Dopa-PET αποκαλύπτει και ποσοτικοποιεί την ανεπάρκεια ντοπαμίνης των τελικών απολήξεων στα βασικά γάγγλια και έτσι εξασφαλίζει τη διάγνωση της νόσου σε πολύ αρχικά στάδια. Επίσης δύνανται να χρησιμοποιηθεί στην εκτίμηση της εξέλιξης της νόσου και στην αξιολόγηση της θεραπευτικής επίδρασης διαφόρων παραγόντων στην εκφύλιση που υφίσταται το ντοπαμινεργικό σύστημα.

Η μέθοδος SPECT απεικονίζει το μεταφορέα της ντοπαμίνης και επιτρέπει τη μελέτη *in vivo* των προσυναπτικών ντοπαμινεργικών απολήξεων, δομικά και λειτουργικά. Η απεικόνιση αυτή της ντοπαμινεργικής νεύρωσης των βασικών

γαγγλίων οδηγεί σε ποσοτικοποίηση της πυκνότητας των προσυναπτικών μεταφορέων της ντοπαμίνης.

Η χρήση του  $^{123}\text{I}$ -FP-βCIT ή  $^{11}\text{C}$ -CFT (τροπανιακό παράγωγο) ως ανιχνευτή, μπορεί να διακρίνει τα άτομα με νόσο του Parkinson από τον υγιή πληθυσμό με ειδικότητα 95%. Βασίζεται στην αμφοτερόπλευρη μείωση της πρόσληψης (μειωμένη πρόσληψη έως και 40%) ακόμη και κατά την προσυμπτωματική φάση της νόσου.

## Θεραπευτική αντιμετώπιση

Όπως προαναφέρθηκε το κύριο χαρακτηριστικό της νόσου του Parkinson είναι η έλλειψη της ντοπαμίνης από τη μελαινοραβδωτή οδό. Ως εκ τούτου, η θεραπευτική αντιμετώπιση της νόσου στοχεύει στην υποκατάσταση του ντοπαμινεργικού ελλείμματος. Θεραπεία ικανή να υποστρέψει την εξέλιξη της νευροεκφύλισης δεν έχει βρεθεί μέχρι σήμερα. Έτσι, η συμπτωματική θεραπεία παραμένει η μόνη διαθέσιμη φαρμακευτική επιλογή.

### Ντοπαμίνη – Βιοσυνθετικό μονοπάτι & Δράση

Η ντοπαμίνη, η νοραδρεναλίνη και η αδρεναλίνη είναι μακρομόρια που εμπεριέχουν ένα δακτύλιο κατεχόλης (κατεχολαμίνες). Και τα τρία αυτά μόρια συντίθενται μέσω μιας κοινής βιοσυνθετικής οδού που έχει ως αρχικό συστατικό το αμινοξύ τυροσίνη. Η τυροσίνη στο ενδοκυττάριο περιβάλλον μετατρέπεται σε L-dopa (L-διυδροξυφαινυλαλανίνη) μέσω της ενζυμικής δράσης της υδροξυλάσης της τυροσίνης (TH). Η L-dopa μετατρέπεται ενζυμικά μέσω της αποκαρβοξυλάσης (DDC) σε ντοπαμίνη.



Τα νεοσυντιθέμενα μόρια της ντοπαμίνης προσλαμβάνονται από τα συναπτικά κυστίδια όπου και αποθηκεύονται. Έπειτα η ντοπαμίνη απελευθερώνεται από τα συναπτικά κυστίδια στη συναπτική σχισμή. Τα εναπομείναντα μόρια της ντοπαμίνης επαναπρολαμβάνονται από τον προσυναπτικό νευρώνα με τη μεσολάβηση ειδικών μεταφορέων της κυτταρικής μεμβράνης. Ο μηχανισμός αυτός είναι γνωστός ως προσυναπτική αντλία επαναπρόσληψης.

Η ντοπαμίνη κατ' αντιστοιχία με τις υπόλοιπες κατεχολαμίνες, διασπάται από δύο ένζυμα: τη μονοαμινοξειδάση A και B (MAO-A και B). Η αποσύνθεση λαμβάνει χώρα εντός των νευρωνικών απολήξεων και τελικό προϊόν του καταβολισμού είναι το ομοβανιλικό οξύ. Η ντοπαμίνη ασκεί τη μετασυναπτική της δράση μέσω τουλάχιστον έξι υποδοχέων.

## L-Dopa

Η L-Dopa είναι η βάση της συμπτωματικής θεραπείας της νόσου. Χορηγείται από το στόμα, απορροφάται στο λεπτό έντερο και μέσω αυτού εισέρχεται στην κυκλοφορία του αίματος και φτάνει στον εγκέφαλο. Εκεί μεταβολίζεται σε ντοπαμίνη και αποθηκεύεται στους ντοπαμινεργικούς νευρώνες. Η L-dopa δρα άμεσα, μέσα σε χρόνο μισής ώρας και βελτιώνει όλα τα κύρια κινητικά συμπτώματα της νόσου βελτιώνοντας σημαντικά την ποιότητα ζωής των ασθενών (Fahn S 2006, Goetz C et al 2002, 2005). Η απόκριση στη χορήγηση της L-dopa είναι τόσο θεαματική που η θετική απόκριση του ασθενούς έχει συμπεριληφθεί στα διαγνωστικά κριτήρια της νόσου. Η χορήγηση της συνδυάζεται με ένα περιφερικό αναστολέα της αποκαρβοξυλάσης της ντοπαμίνης (καρβιντόπας ή βενσεραζίδης) ώστε να αποφεύγεται η αποκαρβοξυλίωση της L-dopa και η απώλεια της ντοπαμίνης περιφερικά. Συγχρόνως, ο αναστολέας περιορίζει τις παρενέργειες της ντοπαμίνης (όπως είναι η ναυτία, ο έμετος, η υπόταση και οι αρρυθμίες).

Στην διαχείριση του ασθενούς με νόσο Parkinson, ο κλινικός ιατρός έρχεται αντιμέτωπος με την δύσκολη ισορροπία ανάμεσα στην διατήρηση ικανού αντιπαρκινσονικού αποτελέσματος και ταυτόχρονα στην αποφυγή ή καθυστέρηση στην εμφάνιση των κινητικών επιπλοκών από την ίδια την θεραπεία με L-dopa. Έτσι αν και η θεραπεία με L-Dopa βελτιώνει θεαματικά τα συμπτώματα της νόσου, με την πάροδο του χρόνου εμφανίζονται επιπλοκές που ουσιαστικά στερούν το θεραπευτικό της αποτέλεσμα, καθώς αυτές συναγωνίζονται την ίδια τη νόσο (Fahn S & Jankovic J 2007, Jankovic J 2005, Vijayakumar D et al 2016). Οι μηχανισμοί στους οποίους οφείλονται αυτές οι παρενέργειες σχετίζονται με τον τρόπο χορήγησης (την χορηγούμενη δόση και την διάρκεια της αγωγής με L-dopa) καθώς και με τη διάρκεια της νόσου, με την χαμηλότερη ηλικία έναρξης να αποτελεί παράγοντα κινδύνου για την ανάπτυξη των κινητικών επιπλοκών (Schrag et al 2000, Fahn S 2006; Guttman M et al 2003, Rao SS et al 2006, Olanow et al 2009).

Σε αυτήν την κατεύθυνση έχει αναπτυχθεί μια φαρμακοτεχνική μορφή χορήγησης της ντοπαμίνης (gel DuoDopa) με συνεχή τρόπο με απευθείας χορήγηση στη νήστιδα μέσω στομίας. Με τον τρόπο αυτό έχει δειχθεί ότι μειώνονται σημαντικά οι

κινητικές επιπλοκές (μείωση του χρόνου off, αύξηση του χρόνου on) (Olanow CW et al, 2014). Νεότερες θεραπείες υπό ανάπτυξη αποτελεί η εισπνεόμενη μορφή της Levodopa η οποία αποσκοπεί περισσότερο στην ταχεία αποκατάσταση των επεισοδίων off (Lotia M et al 2016, LeWitt PA et al 2016).

## Ντοπαμινεργικοί Αγωνιστές

Οι ντοπαμινεργικοί αγωνιστές είναι κατάλληλοι για την χρήση ως μονοθεραπεία στην ήπια έως μέτρια μορφή της νόσου και συχνά αποτελούν την πρώτη επιλογή για έναρξη της θεραπείας σε νεότερους ασθενείς, με αντικειμενικό σκοπό την καθυστέρηση της έναρξης αγωγής με levodopa και κατ' επέκταση την ανάπτυξη των κινητικών επιπλοκών (Goetz CG et al 2005, Rao SS et al 2006, Guttman M et al 2003). Σε πιο προχωρημένα στάδια της νόσου δύναται να χορηγούνται ντοπαμινεργικοί αγωνιστές συνδυαστικά με l-dopa ώστε να αυξηθεί το θεραπευτικό της αποτέλεσμα (Oertel W et al 2016).

Οι μη – εργοταμινικοί αγωνιστές ροπινιρόλη,πραμιπεξόλη και η διαδερμικός χορηγούμενη ροτιγοτίνη είναι διαθέσιμοι ενώ οι παλιότεροι εργοταμινικοί αγωνιστές, όπως η περγολίδη και η βρωμοκρυπτίνη, δεν χρησιμοποιούνται πλέον λόγω αυξημένου κινδύνου πνευμονικής ίνωσης και ίνωσης καρδιακών βαλβίδων (Mehta SH et al 2008, Tran T et al 2015). Η απομορφίνη, ένας ντοπαμινεργικός αγωνιστής που χορηγείται υποδορίως, έχει άμεση δράση και χρησιμοποιείται κυρίως για την διάσωση των ασθενών από ξαφνικές και επίμονες “off” περιόδους (Boyle A et al 2015).

Το προφίλ των παρενεργειών των αγωνιστών ντοπαμίνης είναι παρόμοιο με αυτό της L-Dopa. Ωστόσο οι παρενέργειες όπως ορθοστατική υπόταση, οπτικές ψευδαισθήσεις, σύγχυση, υπνηλία, οιδήματα κάτω άκρων και οι διαταραχές ελέγχου των παρορμήσεων, είναι συχνότερες με τους αγωνιστές ντοπαμίνης, και για το λόγο αυτό η χρήση τους θα πρέπει να γίνεται με προσοχή στους ηλικιωμένους ασθενείς και σε όσους εμφανίζουν νοητική δυσλειτουργία (Fox SH et al 2011).

### Αναστολείς COMT

Η χορήγηση αναστολέων της κατεχολ-Ο-μεθυλτρανσφεράσης (COMT) προφυλάσσει από τη διάσπαση της λεβοντόπα στην περιφέρεια και έτσι αυξάνει το χρόνο ημίσειας ζωής της. Επίσης, παρατηρείται ελάττωση των “off” περιόδων και αύξηση του χρόνου “on” (Goetz C et al 2002 & 2005, Rezak M 2007, Fox SH et al 2011). Σαν αναστολείς της COMT χορηγούνται οι εντακαπόνη και η τολκαπόνη. Η εντακαπόνη παρουσιάζει πιο ήπιες παρενέργειες με κρίσεις διάρροιας και ούρα σκούρου χρώματος ενώ η τολκαπόνη έχει ενοχοποιηθεί για σοβαρή ηπατοτοξικότητα. Λόγω της καλής αποτελεσματικότητας τους συνήθως χορηγούνται σε ένα δισκίο L-Dopa/καρβιντόπα/εντακαπόνη (Stalevo). Αυτός ο συνδυασμός φάνηκε σε διάφορες μελέτες να είναι πιο αποτελεσματικός στη βελτίωση των συμπτωμάτων, σε σχέση με τον απλό συνδυασμό L-Dopa/καρβιντόπα (Madopar) (Seeberg L & Hauser R 2009).

### Αναστολείς MAO-β

Οι αναστολείς της β-μονοαμινοξειδάσης δρουν μπλοκάροντας την οξειδωτική απαμίνωση της ντοπαμίνης, γεγονός που οδηγεί στην αύξηση της ημίσειας ζωής της και της βιοδιαθεσιμότητας της στον εγκέφαλο. Σήμερα, κυκλοφορούν δύο φαρμακευτικά σκευάσματα αναστολέων της MAO-β, η σελεγγιλίνη και η ρασαγιλίνη. Χορηγούνται ως μονοθεραπεία στα πρώτα κυρίως στάδια της νόσου και η αποτελεσματικότητά τους στα κινητικά συμπτώματα της είναι μέτρια. Αν και έχει δειχθεί ότι βελτιώνουν τις κινητικές διακυμάνσεις, χρησιμοποιούνται κυρίως ενωρίς στην πορεία της νόσου, όταν ακόμα τα συμπτώματα είναι σχετικά ήπια αλλά και ως μέσο εξοικονόμησης L-dopa. Οι μελέτες που διερευνούν τον πιθανό ρόλο τους στην νευροπροστατευτική δράση τροποποιώντας την πορεία της νόσου δεν έχουν καταλήξει σε σαφή συμπεράσματα (Caslake R et al 2009, Macleod AD et al 2005).

### Αμανταδίνη (Symmerel)

Ένα αντιϊκό σκεύασμα, η αμανταδίνη, φαίνεται να είναι χρήσιμο στους ασθενείς με νόσο του Parkinson καθώς αντιμετωπίζει τον τρόμο και τη βραδυκινησία (Crosby N

et al 23003) αλλά χρησιμοποιείται συχνότερα για την αντιμετώπιση των κινητικών επιπλοκών από την levodopa (da Silva-Júnior FP et al 2005).

### **Χειρουργική αντιμετώπιση**

Η πρόοδος των απεικονιστικών μεθόδων του εγκεφάλου και των νευροχειρουργικών τεχνικών έχει οδηγήσει σε ελπιδοφόρες χειρουργικές παρεμβάσεις. Φυσικά, ο ασθενής που θα αντιμετωπιστεί χειρουργικά πρέπει να επιλέγεται βάσει αυστηρών κριτηρίων. Η πιο συχνή χειρουργική παρέμβαση είναι ο εν τω βάθει ερεθισμός του υποθαλάμιου πυρήνα, της ωχράς σφαίρας ή του θαλάμου και η επιλογή της τεχνικής εξαρτάται από τα συμπτώματα.

Η επιλογή του ερεθισμού του θαλάμου προκρίνεται σε περιπτώσεις που κύριος θεραπευτικός στόχος είναι ο τρόμος, ενώ ο ερεθισμός της ωχράς σφαίρας επιδρά θετικά στη δυσκινησία, τη δυσκαμψία και τη βραδυκινησία. Από την άλλη, ο ερεθισμός του υποθαλάμιου πυρήνα μπορεί να έχει θετική επίπτωση τόσο στη βραδυκινησία και τη δυσκινησία όσο και στον τρόμο. Αξίζει να σημειωθεί ότι οι ασθενείς που δεν αποκρίνονται στη θεραπεία με λεβοντόπα, δεν παρουσιάζουν σημάδια βελτίωσης ούτε με την χειρουργική παρέμβαση στις προαναφερθείσες περιοχές (Benabid AL et al 2006, Hamani C et al 2006, Rao SS et al 2006; Walters E et al 2008, Olanow CW et al 2009).

## Levodopa Induced Dyskinesia

Η «δυσκινησία επαγόμενη από Levodopa» (LID) είναι μία κινητική επιπλοκή που εμφανίζεται σε ασθενείς με νόσο Parkinson οι οποίοι βρίσκονται σε χρόνια αγωγή με Levodopa. Σχεδόν το 40% των ασθενών που λαμβάνουν levodopa θα εμφανίσουν LID μετά από 4 χρόνια θεραπείας, με τον κίνδυνο να είναι υψηλότερος σε νέους ασθενείς που λαμβάνουν υψηλές δόσεις του φαρμάκου (Ahlskog JE et al 2001). Η levodopa είναι απαραίτητη όχι όμως ικανή συνθήκη για την εμφάνιση της LID. Αυτό προϋποθέτει μία διακοπτόμενη / παλμική διέγερση των υποδοχέων της ντοπαμίνης (αναπόφευκτο λόγω του σύντομου χρόνου ημιζωής της levodopa), την προσυναπτική απονεύρωση του μελαινораβδωτού συστήματος και ένα σχετικά υγιές μετασυναπτικό μελαινораβδωτό σύστημα. Στις πιο άτυπες μορφές παρκινσονισμού, όπως την προϊούσα υπερπυρηνική παράλυση (PSP), όπου το μετασυναπτικό μελαινораβδωτό σύστημα έχει επηρεαστεί, η χορήγηση levodopa δεν προκαλεί την εμφάνιση δυσκινησίας. Αν και η levodopa είναι απαραίτητη για την εμφάνιση της LID, ο χρόνος μέχρι την εμφάνιση της ξεκινά ταυτόχρονα με την έναρξη της νόσου παρά με την έναρξη της αγωγής με Levodopa. Μελέτες έχουν δείξει ότι οι κινητικές επιπλοκές αναπτύσσονται με την ίδια συχνότητα και σοβαρότητα ανεξάρτητα εάν η αγωγή με levodopa άρχισε ενωρίς στην πορεία της νόσου ή καθυστερημένα (Katzenschlager R et al 2008). Από την άλλη μεριά, μεγάλη έμφαση έχει δοθεί στην συσχέτιση της δόσης levodopa με την εμφάνιση της LID. Έτσι, ενώ έχει δειχθεί η δοσοεξαρτώμενη συσχέτιση της δυσκινησίας με την Levodopa (Fahn S et al 2004) αυτό το φαινόμενο αίρεται σε έναν βαθμό όταν η levodopa χορηγείται με συνεχή τρόπο, όπως με το gel DuoDopa (Antonini A et al 2016), γεγονός που πιθανά οφείλεται στην βελτιωμένη φαρμακοδυναμική που επιτυγχάνεται με τον τρόπο αυτό. Συνοψίζοντας τα έως τώρα δεδομένα, φαίνεται ότι η βαρύτητα της νόσου και η συνολική δόση της levodopa είναι πιο σημαντικοί παράγοντες για την εμφάνιση της LID παρά η διάρκεια της θεραπείας (Nutt JG et al 2010). Επιπλέον, αναγνωρισμένοι παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση LID, όπως η νεαρή ηλικία εκδήλωσης της νόσου, το χαμηλό σωματικό βάρος, το γυναικείο φύλο και η σοβαρότητα της κινητικής αναπηρίας πιθανά αντιπροσωπεύουν σημαντικά στοιχεία ευπάθειας που υποδεικνύουν περαιτέρω τον σημαντικό ρόλο



της δοσολογίας της χορηγούμενης levodopa ως προς την ανάπτυξη της LID (Olanow CW et al 2013).

### Κλινική εκδήλωση της LID

Η LID αναγνωρίζεται ως η εμφάνιση χορειακών / χοραιοαθετωσικών κινήσεων που επηρεάζουν αρχικά την πιο προσβεβλημένη πλευρά του σώματος. Με την χορήγηση θεραπευτικών δόσεων levodopa και σε ασθενείς σε προχωρημένο στάδιο, η υποκινητική δυσκινησία (έκφραση της PD) μπορεί να μεταβάλλεται σε υπερκινητική δυσκινησία (έκφραση της LID), χωρίς στο ενδιάμεσο να καταγράφονται περίοδοι φυσιολογικής κινητικής κατάστασης (Esray AJ et al, 2018). Καθώς η υποκινησία είναι γενικά πιο ενοχλητική, ο ασθενής συνήθως προτιμά την δυσκινητική έναντι της παρκινσονικής κατάστασης (Hung SW et al 2010). Αν και προφανώς αποτελεί ένα μη επιθυμητό αποτέλεσμα της θεραπείας η ανάπτυξη της LID αποτελεί ταυτόχρονα έναν δείκτη θεραπευτικής επιτυχίας: σηματοδοτεί το σημείο εκείνο στο οποίο η ντοπαμινεργική διέγερση έχει φθάσει και ξεπεράσει το θεραπευτικό παράθυρο. Οι ασθενείς που δεν εμφάνισαν ποτέ LID, αν δεν πρόκειται για λάθος διάγνωση, είναι πιθανό να λαμβάνουν υποθεραπευτικές δόσεις levodopa με πιθανά μάλιστα να εμφανίζουν έτσι μεγαλύτερο δείκτη αναπηρίας (Nutt JG et al 2010).

Το φάσμα των δυσκινησιών που προκαλούνται από τη θεραπεία με levodopa παρουσιάζει ιδιαίτερη ετερογένεια σε κλινικό επίπεδο. Συνήθως εμφανίζονται ως χορεία, χοραιοαθέτωση, μυόκλονος, βαλλισμός, δυστονία και άλλες μορφές μη φυσιολογικών κινήσεων. Λιγότερο συχνές μορφές LID περιλαμβάνουν ακαθησία, έντονο βάδισμα, γρήγορες εναλλασσόμενες κινήσεις των ποδιών, βλεφαρόσπασμο και ένα συνδυαστικό πρότυπο μη φυσιολογικών κινήσεων.

Οι διάφοροι τύποι LID μπορούν επιπλέον να καταταγούν και με βάση τη δόση της χορηγούμενης levodopa. Βάσει αυτής της κατάταξης προκύπτουν οι εξής κατηγορίες:

- μέγιστης δόσης
- διφασικές
- κατάσταση off

- κατάσταση on
- άλλες δυσκινησίες

Δυσκινησίες μέγιστης δόσης. Πρόκειται για τις πλέον συχνές μορφές LID. Σχετίζονται άμεσα με τα επίπεδα της levodopa στο πλάσμα και ενδεχομένως στο ραβδωτό σώμα. Επηρεάζουν την κεφαλή, τον κορμό, τα άκρα και κάποιες φορές τους αναπνευστικούς μύες. Η μείωση της χορηγούμενης δόσης μπορεί να βελτιώσει την κλινική εικόνα, αλλά συχνά αυτό συνοδεύεται από το κόστος της επιδείνωσης της νόσου. Οι δυσκινησίες μέγιστης δόσης συνήθως χαρακτηρίζονται από επεισόδια χορείας, αν και σε πιο προχωρημένα στάδια η δυστονία επικρατεί.

Διφασική δυσκινησία. Αυτού του τύπου οι δυσκινησίες αναπτύσσονται όταν τα επίπεδα της levodopa στο πλάσμα αυξάνονται ή μειώνονται, και συχνά συγχέονται με τις δυσκινησίες μέγιστης δόσης λόγω για τον οποίο δεν αντιμετωπίζονται κατάλληλα. Αυτή η μορφή δυσκινησίας αναφέρεται επίσης ως μεταβατική δυσκινησία καθώς εμφανίζεται όταν η δράση της levodopa ξεκινά ή καθώς παύει κατά τον κύκλο μίας δόσης. Χαρακτηριστικά - και αντίθετα με την δυσκινησία της μέγιστης δόσης - η διφασική δυσκινησία δεν βελτιώνεται με την μείωση της χορηγούμενης δόσης, αντιθέτως οι ασθενείς ανταποκρίνονται θετικά σε ενίσχυση αυτής.

Καταστάσεις δυστονίας "off". Οι περιπτώσεις αυτές προκύπτουν όταν τα επίπεδα της levodopa είναι χαμηλά (για παράδειγμα το πρωί). Συνήθως, οι καταστάσεις αυτές χαρακτηρίζονται από καθαρή δυστονία και μπορεί να έχουν τη μορφή επώδυνων σπασμών στο ένα πόδι. Ανταποκρίνονται πολύ καλά στη θεραπεία με levodopa.

### **Παθοφυσιολογία**

Οι υποκείμενοι παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί που ευθύνονται για την ανάπτυξη της LID δεν είναι ακόμη πλήρως κατανοητοί. Συνοπτικά, το επί του παρόντος αποδεκτό μοντέλο της παθοφυσιολογίας της LID, που κυρίως εστιάζει στην ερμηνεία της δυσκινησίας μέγιστης δόσης, βασίζεται στις εξής μεταβολές που επισυμβαίνουν στο επίπεδο του ραβδωτού σώματος:

- διακοπτόμενη, μη – φυσιολογική διέγερση των ντοπαμινεργικών νευρώνων με μεγάλη διακύμανση των επιπέδων της levodopa στο πλάσμα (Fuente-Fernandez R et al 2004)
- εξεσημασμένη διαφορά στην συγκέντρωση μεταξύ χαμηλών επιπέδων ντοπαμίνης εντός του ραβδωτού σώματος και πολύ υψηλών επιπέδων levodopa στο πλάσμα και εξωκυττάρια (Porras G et al 2014)
- μεταγενέστερες μεταβολές στο μετασυναπτικό τμήμα και στους μη ντοπαμινεργικούς νευροδιαβιβαστές (GABA, γλουταμινικού κ.α.).

Όλα τα παραπάνω προκαλούν μεταβολές στα πρότυπα πυροδότησης και την ισορροπία της δραστηριότητας μεταξύ των βασικών γαγγλίων και του κινητικού φλοιού, οδηγώντας σε εκτεταμένη δυσλειτουργία του μηχανισμού αναστολής των θαλαμο-φλοιϊκών συνδέσεων και εν τέλει υπερδραστηριότητα του κινητικού φλοιού που εκφράζεται ως LID (Espey et al 2018).

Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, οι προσυναπτικοί ντοπαμινεργικοί νευρώνες στα μονοπάτια του μελανοραβδωτού σώματος πυροδοτούνται οδηγώντας σε μια συνεχόμενη απελευθέρωση ντοπαμίνης η οποία συντηρεί τη σταθερή διέγερση των μετασυναπτικών υποδοχέων του ραβδωτού σώματος. Καθώς η νόσος εξελίσσεται, η απώλεια των ντοπαμινεργικών νευρώνων και τελικών κομβίων του ραβδωτού σώματος οδηγεί σε μειωμένη ικανότητα σχηματισμού, αποθήκευσης και απελευθέρωσης της ντοπαμίνης. Οι εναπομείναντες υποδοχείς στηρίζονται στην ύπαρξη των εξωγενών ντοπαμινεργικών παραγόντων. Λόγω του μικρού χρόνου ημίσειας ζωής της levodopa (περ. 90 λεπτά), προκαλείται διαλείπουσα (παλμική) διέγερση στους ντοπαμινεργικούς υποδοχείς του ραβδωτού σώματος (Olanow et al 2006). Αυτή η χρόνια παλμική διέγερση ανατρέπει την κυτταρική σηματοδότηση στις δενδριτικές άκανθες των ντοπαμινεργικών νευρώνων του ραβδωτού σώματος, προκαλώντας ενίσχυση των GABAεργικών απαγωγών νευρώνων, και πιο συγκεκριμένα των υποδοχέων του γλουταμινικού (Oh et al 1999).

Η ευαισθητοποίηση του ραβδωτού σώματος μέσω του γλουταμινικού, καταλήγοντας σε μη φυσιολογική διέγερση, ενεργοποιεί ένα καταρράκτη γεγονότων που εμπλέκουν την επαγωγή συγκεκριμένων ενδοκυττάρων μηνυμάτων και πρωτεϊνών και οδηγούν σε ανώμαλα μοτίβα πυροδότησης των βασικών γαγγλίων και εντέλει στην εμφάνιση της δυσκινησίας (Olanow CW et al 2006). Έτσι, η θεωρία

ότι η συνεχής ντοπαμινεργική διέγερση (continuous dopaminergic stimulation, CDS) οδηγεί σε λιγότερες κινητικές επιπλοκές έχει αποτελέσει τη βάση πολλών θεραπευτικών στρατηγικών και παρεμβάσεων.

## Πειραματικά μοντέλα της PD

Τα ζωικά μοντέλα της νόσου Parkinson μπορούν να ταξινομηθούν σε τρεις κύριες κατηγορίες: αυτά που βασίζονται στη χρήση νευροτοξίνης ή γενικότερα φαρμακολογικών παραγόντων που στοχεύουν στους κατεχολαμινεργικούς νευρώνες, αυτά που βασίζονται σε γενετικά τροποποιημένα μοντέλα και σε διάφορα άλλα. Κανένα από το διαθέσιμα ζωικά μοντέλα δεν μπορούν πλήρως να μιμηθούν την PD και να αναπαράγουν πλήρως την συμπτωματολογία της. Αυτό οφείλεται κυρίως στο γεγονός ότι κάθε μοντέλο βασίζεται στην αναπαραγωγή ενός ή μερικών μόνο παθολογικών διαδικασιών της νόσου. Τα μοντέλα που βασίζονται στην χορήγηση νευροτοξίνης προκαλούνται με τεχνητό τρόπο που σπανίως σχετίζεται με την φυσική διαδικασία της νόσου ενώ τα γενετικά μοντέλα σχετίζονται με την νόσο αναπαράγουν όμως μόνο ένα μικρό ποσοστό της παθολογίας αυτής. Κάθε πειραματικό μοντέλο έχει τα δικά του πλεονεκτήματα και περιορισμούς. Για τον λόγο αυτό η επιλογή του πειραματικού μοντέλου εξαρτάται κάθε φορά από την υπόθεση που είναι προς έλεγχο και πρέπει να λαμβάνει υπόψη τις ιδιαιτερότητες εκείνες που θα βοηθήσουν αποτελεσματικά την διενέργεια της μελέτης αλλά και που ταυτόχρονα δεν θα οδηγήσουν σε παρερμηνεία των αποτελεσμάτων (Gubellini P et al 2015).

## Η χρήση νευροτοξίνης για την δημιουργία πειραματικών μοντέλων της PD

Διάφορες νευροτοξίνες και φαρμακολογικοί παράγοντες έχουν χρησιμοποιηθεί για την πρόκληση παρκινσονισμού σε ζωικά μοντέλα (6-OHDA, MPTP, Paraquat, Rotenone). Γενικά, οι νευροτοξίνες προκαλούν μαζική απονεύρωση του μελαινοραβδωτού συστήματος και επιφέρουν έντονα κινητικά συμπτώματα, αν και αυτά δύσκολα μπορούν να είναι συγκρίσιμα με τη συμπτωματολογία ασθενών με νόσο Parkinson. Η προκαλούμενη απονεύρωση από την χρήση αυτών των ουσιών πραγματοποιείται ταχέως (εντός μερικών ημερών), η βλάβη αφορά κυρίως, αν όχι

αποκλειστικά, τους ντοπαμινεργικούς νευρώνες, ενώ τα πειραματόζωα δεν αναπτύσσουν τα χαρακτηριστικά πρωτεϊνικά έγκλειστα α-συνουκλεΐνης, τα σωματίδια Lewy, που χαρακτηρίζουν τη νόσο Parkinson. Έτσι τα μοντέλα αυτά είναι περισσότερο κατάλληλα για την μελέτη των νευροεκφυλιστικών διαδικασιών που λαμβάνουν χώρα στους ντοπαμινεργικούς νευρώνες της SNc και για την δοκιμασία συμπτωματικής θεραπείας. Από την άποψη της προκαλούμενης βιοχημικής διαταραχής ο κύριος μηχανισμός δράσης των νευροτιξινών αυτών είναι η απενεργοποίηση του μιτοχονδριακού συμπλέγματος I. Πράγματι, έχει δειχθεί ότι η δυσλειτουργία αυτού του μηχανισμού χαρακτηρίζει την απόπτωση των ντοπαμινεργικών νευρώνων στη νόσο Parkinson, μέσω βλάβης του μεταβολισμού των κυττάρων και οξειδωτικού stress (Dawson TM et al 2003, Gubellini P et al 2010, Dauer W et al 2003, Schapira AH et al 1990).

#### **6-OHDA: το κλασσικό μοντέλο PD**

Το μοντέλο της 6-OHDA είναι το κλασσικό μοντέλο της PD. Η νευροτοξίνη αυτή δεν διαπερνά τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό γεγονός που καθιστά απαραίτητη την άμεση έγχυση της στην SNc ή στο ραβδωτό σώμα. Η έγχυση της 6-OHDA στην SNc, όπως περιγράφηκε αρχικά από τον Ungerstedt το 1968 προκαλεί την απόπτωση τουλάχιστον του 60% των νευρώνων που περιέχουν τυροσινουδροξυλάση (TH) σε αυτήν την περιοχή του εγκεφάλου των πειραματοζώων (μύες ή επίμυες), με την επακόλουθη απώλεια των νευρικών απολήξεων τους στο ραβδωτό σώμα (Blandini F et al 2008). Η 6-OHDA χρησιμοποιεί τον μεταφορέα της ντοπαμίνης για να εισέλθει στο κυτταρικό σώμα των νευρώνων όπου αυτό-οξειδώνεται προκαλώντας έτσι ένα έντονο ενδοκυττάριο οξειδωτικό stress. Αν και η δράση της 6-OHDA δεν προκαλεί την εμφάνιση σωματίων Lewy, έχει δειχθεί ότι αλληλεπιδρά με την α-συνουκλεΐνη (Alves da Costa et al 2006). Η 6-OHDA χρησιμοποιείται κυρίως σε ετερόπλευρη έγχυση καθώς η αμφοτερόπλευρη έγχυση αυτής προκαλεί σοβαρή αδηψία, αφασία, κρίσεις και υψηλά ποσοστά θνητότητας στα πειραματόζωα (Ungerstedt U 1971b). Η συμπεριφορά περιστροφής που εμφανίζουν τα ετεροπλεύρως απονευρωμένα άτομα μετά την χορήγηση ντοπαμινεργικών ουσιών καταδεικνύει την βλάβη που έχει προκληθεί στην SNc και είναι αυτή που χρησιμοποιείται για την μελέτη ουσιών με πιθανή αντιπαρκινσονική δράση.

### **MPTP: το μοντέλο εκλογής**

Το MPTP ως πιθανή νευροτοξίνη ανακαλύφθηκε τυχαία μετά την παρατήρηση ότι ορισμένοι χρήστες ναρκωτικών ανέπτυξαν παρκινσονισμό. Η νευροτοξίνη αυτή αποτελούσε παραπροϊόν της διαδικασίας παραγωγής της ναρκωτικής ουσίας. Το οξειδωτικό stress, μόρια ενεργού οξυγόνου, ενεργειακή εξάντληση και φλεγμονή, αποτελούν τα κύρια χαρακτηριστικά της PD. Το MPTP, όπως έχει δειχθεί από πολλούς ερευνητές με την χρήση του σε πρωτεύοντα (Langston JW et al 1983) , προκαλεί όλο το φάσμα των παραπάνω παθολογικών διαδικασιών, καθιστώντας το έτσι το μοντέλο εκλογής για την μελέτη της νόσου Parkinson. Ο μηχανισμός με τον οποίο το MPTP προκαλεί την κυτταρική απόπτωση των ντοπαμινεργικών νευρώνων έχει αποσαφηνισθεί επαρκώς. Έχει δειχθεί ότι στον εγκέφαλο των πειραματοζώων το MPTP εισέρχεται στα αστροκύτταρα όπου μεταβολίζεται από την MAO-B στον ενεργό μεταβολίτη του, το MPP+. Ακολούθως, το MPP+ απελευθερώνεται από τα αστροκύτταρα και μεταφέρεται εντός του ντοπαμινεργικού νευρώνα μέσω του μεταφορέα της ντοπαμίνης όπου αποθηκεύεται στα κυστίδια που περιέχουν ντοπαμίνη (Cui M et al 2009). Καθώς αυτά έχουν περιορισμένη χωρητικότητα, το MPP+ απωθεί την ντοπαμίνη στον ενδοκυττάριο χώρο όπου εκεί μεταβολίζεται σε διάφορους τοξικούς μεταβολίτες (Panneton WM et al 2010) προκαλώντας κυτταρική απόπτωση μέσω οξειδωτικού stress. Και στο μοντέλο του MPTP δεν απαντώνται τα χαρακτηριστικά για τη νόσο σωμάτια Lewy, ωστόσο έχουν περιγραφεί αντίστοιχοι σχηματισμοί.

### **Paraquat**

Το Paraquat (N,N'-dimethyl-4,4'-bipyridinium) αποτελεί ένα ζιζανιοκτόνο που χρησιμοποιείται ευρέως στην γεωργία, και του οποίου η δομική ομοιότητα με το MPP+ έχει οδηγήσει την υπόθεση ότι συμπεριφέρεται με όμοιο τρόπο. Διάφορες επιδημιολογικές μελέτες προτείνουν ότι η χρήση ζιζανιοκτόνων αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης PD, ωστόσο μόνο 95 περιπτώσεις PD έχουν αποδοθεί σε τοξικότητα από το Paraquat (Dinis-Oliveira RJ et al 2006). Ο μηχανισμός δράσης αυτού είναι διαφορετικός από αυτόν του MPP+ οδηγώντας σε βλάβες σε λιπίδια, πρωτεΐνες, στο DNA και το RNA. Επιπλέον οδηγεί σε αυξημένη συγκέντρωση συνουκλεϊνης εντός των ντοπαμινεργικών νευρώνων της SNc και κατ' επέκταση στην δημιουργία

σωματίων που προσομοιάζουν τα σωματίδια Lewy . Για τον λόγο αυτό, η χρήση του Paraquat με συστηματική χορήγηση σε ποντικούς (διαπερνά τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό), χρησιμοποιείται περισσότερο στην μελέτη του μηχανισμού δημιουργίας των σωματίων Lewy (Gubellini P et al 2015).

### **Ροτενόνη**

Η ροτενόνη είναι ένα εντομοκτόνο και ζιζανιοκτόνο το οποίο διαπερνά τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό. Η ροτενόνη φαίνεται ότι προκαλεί σχεδόν όλες τις χαρακτηριστικές παθολογικές διεργασίες που χαρακτηρίζουν την νόσο Parkinson: οξειδωτικό stress, απενεργοποίηση του υποχονδριακού συμπλέγματος I, φλεγμονή, συσσώρευση συνουκλεΐνης, δημιουργία σωματίων Lewy (Greenamyre JT et al 2010). Για τον λόγο αυτό η ροτενόνη αποτελεί ελκυστικό μοντέλο παρκινσονισμού, ωστόσο δεν υπάρχουν αρκετά δεδομένα που να υποστηρίζουν την επαρκή ντοπαμινεργική απονεύρωση στο ραβδωτό σώμα (Wu YN et al 2011) ενώ δεν έχουν αναφερθεί αποδεδειγμένες περιπτώσεις πρόκλησης παρκινσονισμού από την ροτενόνη σε ανθρώπους.

### **Τα γενετικά πειραματικά μοντέλα της νόσου Parkinson**

Όπως έχει αναφερθεί, μόνο ένα μικρό ποσοστό (~ 20%) των περιπτώσεων PD οφείλονται σε αυτοσωμικές μεταλλάξεις. Όμως, η μελέτη αυτών των περιπτώσεων παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον καθώς η αιτιολογία της νόσου είναι τουλάχιστον εν μέρη αναγνωρίσιμη ενώ προσφέρεται και η βάση της λογικής στην οποία δύναται να αναπτυχθούν γενετικά μοντέλα της νόσου σε πειραματόζωα. Μέχρι σήμερα, περισσότερα από 15 γονίδια και πάνω από 25 γενετικοί παράγοντες κινδύνου έχουν αναγνωρισθεί (Verstraeten A et al 2015), ενώ ορισμένοι από αυτούς έχουν αναπαραχθεί σε μοντέλα ποντικών και επίμυων (Antony PM et al 2011, Dawson TM et al 2010). Αν και τα ανωτέρω γενετικά μοντέλα της νόσου προσομοιάζουν με τον καλύτερο τρόπο την υποκείμενη παθολογία, εντούτοις δεν εμφανίζουν παρά ελάχιστη απονεύρωση του μελαινοραβδωτού συστήματος ή κινητικές εκδηλώσεις, ακόμη και σε μοντέλα όπου έχει προκληθεί ταυτόχρονη απενεργοποίηση τριών από τα γνωστά γονίδια (Kitada T et al 2009).



### **Συμπερασματικά για τα πειραματικά μοντέλα της νόσου**

Αν και τα ζωικά μοντέλα της PD δεν μπορούν να αναπαράγουν πλήρως την νόσο, έχουν βοηθήσει σημαντικά στην αποσαφήνιση αρκετών παραμέτρων της υποκείμενης παθοφυσιολογίας, να δοκιμασθεί η αποτελεσματικότητα αρκετών ουσιών με πιθανή αντιπαρκινσονική δράση καθώς και να μελετηθούν οι μηχανισμοί δράσης της κλασσικής θεραπείας με L-dopa. Δεδομένων των επιμέρους χαρακτηριστικών του κάθε πειραματικού μοντέλου, κάποια από αυτά είναι πιο χρήσιμα στην μελέτη της παθοφυσιολογίας της νόσου (τα γενετικά μοντέλα) ενώ άλλα πιο κατάλληλα για την μελέτη της φαρμακευτικής θεραπείας (μοντέλα νευροτοξίνης).

## Καθορισμός στόχων της μελέτης – εισαγωγή στο πειραματικό μέρος

Η εισαγωγή της levodopa στην θεραπευτική το 1969 αποτέλεσε πραγματική επανάσταση στην θεραπεία της νόσου Parkinson. Παρά την μεγάλη πρόοδο στην κατανόηση της παθοφυσιολογίας της νόσου και την ανάπτυξη νέων θεραπευτικών προσεγγίσεων η levodopa παραμένει η πιο αποτελεσματική θεραπεία. Όμως, κατόπιν μιας αρχικής περιόδου ομαλής και ικανοποιητικής ανταπόκρισης στην θεραπεία, που χαρακτηρίζεται ως η περίοδος του μέλιτος για τη νόσο, αρχίζουν σταδιακά να εμφανίζονται διακυμάνσεις κατά την διάρκεια της ημέρας που αφορούν στην κινητική απόκριση αλλά και η εμφάνιση νέων ανώμαλων εκούσιων κινήσεων, που περιγράφονται συνολικά με τον όρο «δυσκινησία επαγόμενη από την levodopa» (LID) (Ahlskog JE et al 2001, Blanchet PJ et al 2004). Με την πάροδο του χρόνου, η LID προκαλεί τέτοια αναπηρία στον ασθενή που συναγωνίζεται την ίδια τη νόσο.

Κατά τις τελευταίες δεκαετίες η παθοφυσιολογία της LID έχει απολέσει πεδίο εκτεταμένης μελέτης αλλά και διφορούμενων αποτελεσμάτων. Παράγοντες κινδύνου για την πρώιμη εμφάνιση της έχουν αναγνωρισθεί, όπως η νεαρή ηλικία κατά την εκδήλωση της νόσου αλλά κυρίως αναγνωρίζεται μία άμεση συσχέτιση με την δοσολογία και την διάρκεια της θεραπείας με levodopa. Συγκεκριμένα, υπάρχουν σοβαρές ενδείξεις ότι η παρούσα συνήθης πρακτική χορήγησης levodopa p.os, επιφέρει μία χρόνια, υψηλής έντασης διακοπτόμενη διέγερση των υποδοχέων της ντοπαμίνης, απορρυθμίζοντας την λειτουργική οργάνωση των βασικών γαγγλίων με ένα τρόπο που επάγει την εμφάνιση της LID (Chase TN et al 2001). Ως αποτέλεσμα αυτής της θεώρησης η αναζήτηση του βέλτιστου τρόπου διαχείρισης της πιο αποτελεσματικής θεραπείας για τη νόσο μέχρι σήμερα, αποτελεί πεδίο ζωτικής σημασίας για την ποιότητα ζωής των ασθενών με νόσο Parkinson.

Σε αυτήν την κατεύθυνση η θεωρία της συνεχούς ντοπαμινεργικής διέγερσης (CDS) έχει αναδεχθεί ως μία θεραπευτική στρατηγική που υποτίθεται ότι βοηθά στην αποφυγή, την καθυστέρηση ή την ελάττωση των ήδη εγκατεστημένων κινητικών επιπλοκών που προκλήθηκαν από την περιοδική, ανώμαλη ντοπαμινεργική

διέγερση. Έτσι, πολλοί ερευνητές έχουν προτείνει την αναθεώρηση του συνήθους μέχρι σήμερα τρόπου χορήγησης της levodopa με έναν τρόπο όσο το δυνατό πιο συνεχή, κάτι που μπορεί να επιτευχθεί με την αύξηση της συχνότητας των δόσεων, ώστε να προληφθεί η ανάπτυξη των κινητικών επιπλοκών (Di Chiara GD et al 1992, Fahn S et al 2004).

Με την παρούσα μελέτη, επιχειρείται να δοθούν απαντήσεις στα ερωτήματα που προκύπτουν από την παραπάνω θεώρηση, και αφορούν την διαχείριση της «χρυσής» θεραπευτικής επιλογής για τη νόσο Parkinson:

1. Ποιος είναι ο βέλτιστος τρόπος χορήγησης της levodopa ώστε να αποφευχθεί ή έστω να καθυστερήσει η εμφάνιση των κινητικών επιπλοκών;
2. Ποιος είναι ο τρόπος χορήγησης της levodopa που θα οδηγήσει άμεσα και αναπόφευκτα στην εμφάνιση των κινητικών επιπλοκών;
3. Είναι η εμφάνιση των κινητικών επιπλοκών αναπόφευκτη;
4. Πώς σχετίζεται η συχνότητα χορήγησης και η αθροιστική δοσολογία της levodopa με την εμφάνιση των κινητικών επιπλοκών;

### **Η επιλογή του πειραματικού μοντέλου για την μελέτη:**

Για την προσέγγιση των ανωτέρω ερωτημάτων, επιλέχθηκε το πειραματικό μοντέλο της πρόκλησης ημιπαρκινσονισμού σε επίμυες με τη χρήση της νευροτοξίνης 6-OHDA, καθώς αυτό αποτελεί το πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο πειραματικό μοντέλο παρκινσονισμού, από το 1970 μέχρι και σήμερα (Cenci MA et al 2001, Ungerstedt U et al 1971). Αυτό οφείλεται κυρίως στο ότι δεν περιλαμβάνει την χρησιμοποίηση πρωτευνόντων, έχει χαμηλό κόστος ενώ κατόπιν της χορήγησης ντοπαμινεργικών ουσιών στους επίμυες προκύπτει ένα εύκολα, με ακρίβεια και σαφώς καθοριζόμενο φαινόμενο: η συμπεριφορά περιστροφής. Εν συντομία, το πειραματικό αυτό μοντέλο προκύπτει με την μονόπλευρη έγχυση της νευροτοξίνης 6-OHDA στην διάμεση προσθεγκεφαλική δέσμη (MFB), οδηγώντας σε ταχεία και πλήρη εκφύλιση των ντοπαμινεργικών απολήξεων και κατ' επέκταση στην σχεδόν πλήρη εξάντληση της ντοπαμίνης στο σύστοιχο ραβδωτό σώμα (Schwartzing RK και

Huston JP 1996, Ungerstedt U 1968). Οι επίμυες στους οποίους έχει προκληθεί η ανωτέρω βλάβη, εμφανίζουν περιστροφές κατά τον αντίπλευρο στην βλάβη άξονα, κατόπιν της χορήγησης ντοπαμινεργικών ουσιών, όπως η levodopa ή η απομορφίνη (Ungerstedt U 1971).

Διάφοροι μηχανισμοί έχουν προταθεί για την εξήγηση αυτού του φαινομένου. Προτείνεται ως πιθανή εξήγηση αυτό να προκύπτει λόγω της ανισορροπίας στην ντοπαμινεργική δραστηριότητα μεταξύ των δύο ραβδωτών σωμάτων και αυτή η διαφορά είναι που ωθεί την κίνηση του επίμου να εκφράζεται ως κυκλική – περιστροφική κατά την αντίστροφη φορά ως προς την πλευρά με την μεγαλύτερη ντοπαμινεργική δραστηριότητα (Ungerstedt U 1971a). Παρόλα αυτά καμία από τις προτεινόμενες θεωρίες δεν φαίνεται να εξηγεί ικανοποιητικά αυτό το ενδιαφέρον φαινόμενο το οποίο χρησιμοποιείται ως **δείκτης αντιπαρκινσονικής δράσης** της χορηγούμενης ουσίας (Jenner P et al 1998). Παραταύτα, το πειραματικό αυτό μοντέλο έχει χρησιμοποιηθεί εκτεταμένα στην αξιολόγηση φαρμάκων με πιθανή αντιπαρκινσονική δράση (Cenci MA et al 2002). Επιπρόσθετα, έχουν αναπτυχθεί πειραματικά μοντέλα παρκινσονισμού όπου η ανωτέρω βλάβη προκαλείται αμφοτερόπλευρα. Ωστόσο υπάρχουν αρκετοί περιορισμοί για τους οποίους ένα τέτοιο πειραματικό μοντέλο δεν αποτελεί καλύτερη επιλογή: κατά κύριο λόγο η νόσος του Parkinson στον άνθρωπο προσβάλλει τα βασικά γάγγλια ασύμμετρα ενώ επιπλέον τα πειραματόζωα εμφανίζουν σοβαρές επιπλοκές όπως αδιψία και αφαγία (Ungerstedt U 1971b). Παράλληλα, κατόπιν της χορήγησης ντοπαμινεργικών ουσιών δεν προκύπτει σαφώς μετρούμενη κινητική συμπεριφορά, όπως είναι η συμπεριφορά περιστροφής ή η ασυμμετρία στην χρήση των πρόσθιων άκρων ώστε να δύναται να εκτιμηθεί κατάλληλα η σοβαρότητα του προκαλούμενου παρκινσονικού συνδρόμου (Deumens R et al 2002).

### **Η ανάγκη για την αξιολόγηση του πειραματικού μοντέλου:**

Ένα από τα κυριότερα μειονεκτήματα αυτού του πειραματικού μοντέλου (τόσο στην περίπτωση της ετερόπλευρης όσο και στην περίπτωση της αμφοτερόπλευρης

βλάβης), αποτελεί το γεγονός ότι τα πειραματόζωα δεν εμφανίζουν σαφώς συμπτωματολογία παρκινσονισμού. Μόνο κατόπιν της χορήγησης ντοπαμινεργικών ουσιών εμφανίζεται η περιστροφική κίνηση, η οποία μάλιστα απαιτεί κάποιου είδους «ευόδωση» προκειμένου να εμφανισθεί. Ομοίως, για την εξήγηση αυτού ακριβώς του φαινομένου (της απαιτούμενης ευόδωσης (“**priming**”) προκειμένου να εμφανισθεί η συμπεριφορά περιστροφής), έχει αφιερωθεί ένα ικανό τμήμα της βιβλιογραφίας επί του θέματος (Di Chiara GD et al 1992, Henry B et al 1998) και είναι πραγματικά δύσκολο να απαντηθεί για ποιό λόγο η αντιπαρκινσονική απάντηση μπορεί να απαιτεί κάποιου είδους ευόδωση ή προετοιμασία προτού εμφανισθεί. Για την αξιολόγηση της εμφάνισης των κινητικών επιπλοκών από την θεραπεία με Levodopa στο συγκεκριμένο πειραματικό μοντέλο, έχει προταθεί από τους Chase και συνεργάτες ότι η αυξανόμενη ένταση της συμπεριφοράς περιστροφής (μετρώμενη με την αύξηση του αριθμού των περιστροφών) αποτελεί φαινόμενο **ισοδύναμο της LID** (Papa SM et al 1994) ενώ σε μεταγενέστερες μελέτες μόνο, η προσεκτική παρατήρηση των Cenci και συνεργατών (Lundblad M et al 2002) αποκάλυψε την ανάπτυξη **πραγματικών δυσκινησιών (AIMs) και στους επίμυες**, που περιλαμβάνουν δυσκινησία των άκρων, αξονική και στοματοπροσωπική δυσκινησία, με δυνατότητα ποσοτικοποίησης αυτών με χρήση κλίμακας αξιολόγησης της βαρύτητας τους.

Ως εκ τούτου, προκύπτουν τα ερωτήματα:

1. Ποια συστατικά του φάσματος της κινητικής απόκρισης των πειραματοζώων στο συγκεκριμένο πειραματικό μοντέλο αποτελούν **πραγματικό ισοδύναμο της LID**;
2. Είναι η συμπεριφορά περιστροφής δείκτης αντιπαρκινσονικής απάντησης; Μέχρι πρότινος δεν έχει μελετηθεί η μεταξύ τους σχέση και δεν είναι σαφές αν αυτά αποτελούν ανεξάρτητα φαινόμενα ή εάν πρόκειται ουσιαστικά για συστατικά του ίδιου – και ποιού- φαινομένου. Για το λόγο αυτό, **πριν η παρούσα μελέτη προχωρήσει στην εξαγωγή συμπερασμάτων από την χρήση του συγκεκριμένου πειραματικού μοντέλου**, προηγήθηκε η προσέγγιση των ανωτέρω ερωτημάτων με την εξέταση της ανάπτυξης της περιστροφικής συμπεριφοράς και των AIMs κατόπιν

χρόνιας αγωγής με levodopa υπό μία συνεχή και άμεση παρατήρηση της κινητικής και μη συμπεριφοράς των επίμυων.

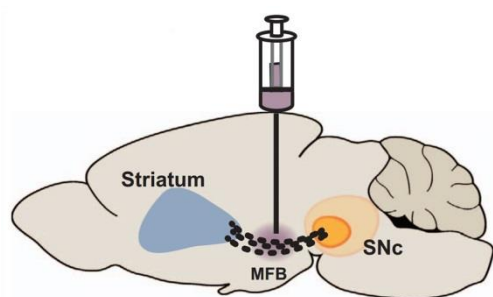
## Πειραματικό μέρος

### Πειραματικό ζωικό μοντέλο

Για τους σκοπούς της έρευνας χρησιμοποιήθηκαν ενήλικοι, άρρενες επίμυες της φυλής Wistar, που παραλήφθηκαν από τις εγκαταστάσεις πειραματοζώων του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Κατά την έναρξη του πειράματος η ηλικία τους ήταν περίπου 3 μηνών ( $3 \pm 0.5$ ) και το βάρος τους κυμαινόταν από 250 έως 290 γραμμάρια.

Τα ζώα στεγάστηκαν ανά τέσσερα, σε διαφανείς κλωβούς κατασκευασμένους από πολυάνθρακα κάτω από σταθερές συνθήκες εργαστηρίου, με θερμοκρασία ορισμένη στους 23 °C, με τήρηση φωτοπεριόδου 12 ωρών φωτός/ 12 ωρών σκότους (η περίοδος του φωτός ξεκινούσε στις 06:00) (Institute of Laboratory Animal Resources, 1996).

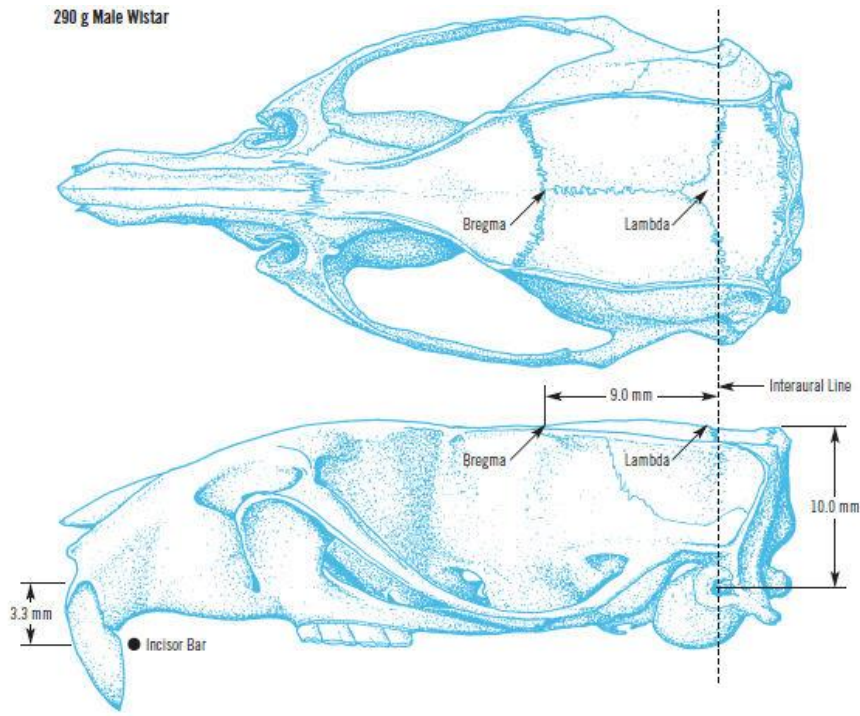
### Χορήγηση 6-Hydroxydopamine



**Εικόνα 7:** σχηματική αναπαράσταση της έγχυσης της νευροτοξίνης 6-OHDA στην MFB.

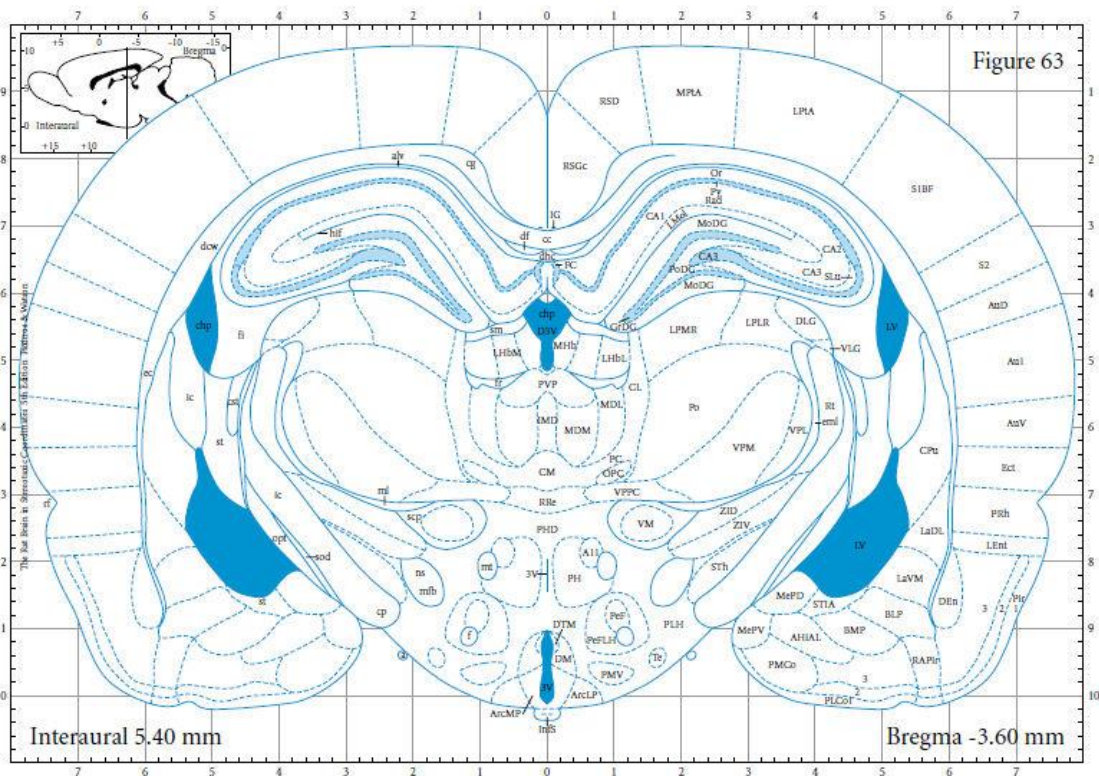
Με σκοπό την παραγωγή μιας ετερόπλευρης, μελαιοραβδωτής αλλοίωσης, χορηγήθηκε στους επίμυες 6-OHDA (8  $\mu$ g σε ml αλατούχου διαλύματος με 0,02% περιεκτικότητα σε ασκορβικό, Sigma Aldrich, Munich, Germany). Για τη χορήγηση χρησιμοποιήθηκε αντλία και η έγχυση έγινε

στην έσω δεξιά διάμεση προσθεγκεφαλική δέσμη (MFB), με τα ζώα να βρίσκονται υπό ολική αναισθησία. Η αναισθησία προκλήθηκε με ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση πεντοβαρβιτάλης (50 mg/kg, Sigma Aldrich, Munich, Germany). Για την στόχευση της MFB χρησιμοποιήθηκαν οι κάτωθι συντεταγμένες με βάση τον άτλαντα των Paxinos και Watson (2004): προσθιοπίσθια (anteroposterior, AP) - 3,6 mm, πλευρικά (lateral, L) - 1,8 mm και κατά βάθος (vertical, V) 8,3 mm σε σχέση με την επιφάνεια του κρανίου στο επίπεδο του βρέγματος. Το οριζόντιο επίπεδο ορίστηκε με την τοποθέτηση των κοπτήρων οδόντων του επίμυος σε κλίση 3.3 mm. Η έγχυση της νευροτοξίνης πραγματοποιήθηκε με ρυθμό 1  $\mu$ g/λεπτό ενώ η σύριγγα έγχυσης αφέθηκε στο στόχο μετά την έγχυση για 5 ακόμη λεπτά.



**Skull Diagram** Dorsal and lateral views of the skull of a 290 g Wistar rat. The positions of bregma, lambda and the plane of the interaural line are shown above the lateral view. The distance between the horizontal plane passing through the interaural line is shown on the right of the lateral view. The distance between the incisor bar and the horizontal plane passing through the interaural line is shown on the left of the lateral view. Lambda (midpoint of the curve of best fit along the lambdoid suture) is 0.3 mm anterior to the coronal plane passing through the interaural line.

**Εικόνα 8:** Τα οδηγά σημεία για την σωστή τοποθέτηση του επίμου στο στερεοτακτικό όργανο. Η ακρίβεια στην τοποθέτηση και αναγνώριση των οδηγών σημείων είναι ζωτικής σημασίας για την επιτυχία της επέμβασης. Από τον άτλα των Paxinos and Watson, έκδοση 2005. Τον άτλα αυτόν είχα την τιμή να παραλάβω ιδιοχειρώς από τον κ. Παζινό.



**Εικόνα 9:** τομή εγκεφάλου επίμου σωματικού βάρους 290 gr όπου εντοπίζεται η ανατομική θέση της MFB, σημείο έγχυσης της νευροτοξίνης 6-OHDA. Εικόνα από τον άτλα των Paxinos and Watson, έκδοση 2005.



## Επιλογή των πειραματόζων με κατάλληλη απονεύρωση

Η αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας της διενεργηθείσας βλάβης έγινε μετά την πάροδο 3 εβδομάδων. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος δοκιμασίας της ακινησίας που εμφανίζει το ετερόπλευρο πρόσθιο άκρο σύμφωνα με κατάλληλο πρωτόκολλο (limb-use asymmetry test) (Schallert T et al 2000). Η συγκεκριμένη δοκιμασία επιλέχθηκε με σκοπό η διαλογή των πειραματοζών να πραγματοποιηθεί χωρίς να απαιτείται χορήγηση φαρμακευτικής ουσίας που θα μπορούσε να αλληλεπιδράσει με την εξέλιξη της μελέτης. Συνοπτικά, η ανωτέρω δοκιμασία διενεργείται με την τοποθέτηση των επίμυων ξεχωριστά, σε διάφανο κυλινδρικό κλωβό (διαμέτρου μόλις 20 εκ.,) και μετράται η χρησιμοποίηση των πρόσθιων άκρων κατά την επαφή με τα τοιχώματα του κλωβού κατά την ελεύθερη αυθόρμητη δραστηριότητα των πειραματοζών εντός αυτού. Στα πειραματόζωα που εμφανίζουν περισσότερο από 80% προτίμηση στην χρήση του σύστοιχου με την πλευρά της βλάβης πρόσθιου άκρου, θεωρείται ότι έχει λάβει χώρα ικανή απονεύρωση και αυτά είναι που επιλέχθηκαν για συμμετοχή στην μελέτη.

## Η καταγραφή των AIMS

Για την καταγραφή και ποσοτικοποίηση των AIMS που εμφάνισαν τα πειραματόζωα κατόπιν της χορήγησης Levodopa, χρησιμοποιήθηκε μία τροποποιημένη έκδοση της αντίστοιχης κλίμακας (Lee CS et al 2000). Τα AIMS περιλαμβάνουν δυσκινησία των άκρων καθώς και αξονική και στοματοπροσωπική δυσκινησία και η βαρύτητα τους αξιολογείται με βάση την **κλίμακα** σε τιμές από 0 ως 4. Αναλυτικά:

**Η δυσκινησία των άκρων** χαρακτηρίζεται από επαναλαμβανόμενες, ρυθμικές, κλονοειδείς κινήσεις ή δυστονικές θέσεις του αντίπλευρου προς τη βλάβη άκρου. Η αξιολόγηση της βαρύτητας γίνεται ως εξής:

0 = απουσία κινήσεων – δυστονικών θέσεων

1 = δυστονική θέση του πρόσθιου άκρου ή αυξημένη εμφάνιση μεμονωμένων κλονοειδών / ρυθμικών κινήσεων.

2 = διακοπτόμενη και συχνή παρουσία επαναλαμβανόμενων ρυθμικών ή κλονοειδών κινήσεων, που είναι παρούσες για περισσότερο από το μισό της διάρκειας παρατήρησης

3 = συνεχείς ρυθμικές, κλονοειδείς κινήσεις και δυστονικές θέσεις του άκρου

4 = αδιάκοπες καταναγκαστικές ρυθμικές ή δυστονικές κινήσεις που αποκλείουν παντελώς την φυσιολογική κινητική συμπεριφορά των πειραματόζωνων.

**Η κορμική δυσκινησία** χαρακτηρίζεται από πλάγια κάμψη και συστροφή του λαιμού ή/και του κορμού με φορά αντίπλευρη προς την βλάβη. Η αξιολόγηση της βαρύτητας γίνεται ως εξής:

0 = απουσία κορμικής δυσκινησίας

1 = ήπια πλάγια κάμψη / συστροφή του λαιμού ή / και του κορμού διαπιστούμενη μόνο παροδικά κατά την διάρκεια παρατήρησης και καταγραφής

2 = μέτριας βαρύτητας πλάγια κάμψη / συστροφή του λαιμού ή / και του κορμού διαπιστούμενη κατά το μεγαλύτερο διάστημα κατά την διάρκεια παρατήρησης και καταγραφής, ώστε η στάση του ζώου να λαμβάνει τη μορφή αγκύλης, καθώς η μύτη του προσεγγίζει το άκρο της ουράς του.

3 = Σοβαρή πλάγια κάμψη και συστροφή του λαιμού και του κορμού. Η στάση του ζώου παίρνει τη μορφή κλειστής αγκύλης με την μύτη να ακουμπά την ουρά ενώ συχνά συνυπάρχει σημαντική συστροφή του λαιμού και η κεφαλή εμφανίζει συνεχείς δυστονικές κινήσεις. Λόγω της σοβαρής συστροφής του κορμού και του λαιμού κατά την κίνηση του ζώου η κεφαλή ακουμπά στα οπίσθια άκρα και τον κορμό χωρίς συνήθως να χάνεται η ισορροπία του.

4 = Σημαντικά αλλοιωμένη στάση του κορμού και της κεφαλής και συνεχείς δυστονικές κινήσεις της κεφαλής. Λόγω της ακραίας συστροφής της κεφαλής και

του κορμού κατά την κίνηση του ζώου συχνά επέρχεται απώλεια της ισορροπίας κατά την προσπάθεια του να περάσει ουσιαστικά πάνω από τα οπίσθια άκρα του.

**Η στοματοπροσωπική δυσκινησία** περιλαμβάνει τα ακόλουθα φαινόμενα: μασητική δυσκινησία (άσκοπες μασητικές κινήσεις χωρίς την παρουσία τροφής), εκτάσεις της γλώσσας (άσκοπο άνοιγμα του στόματος με έκταση της γλώσσας) και περιόδους τρόμου της κάτω γνάθου (υψηλής συχνότητας δεσμιδώσεις των μυών της γνάθου). Η αξιολόγηση της βαρύτητας γίνεται ως εξής:

0 = απουσία στοματοπροσωπικής υπερκινησίας

1 = αυξημένη αλλά παροδική εμφάνιση

2 = συχνή εμφάνιση στοματοπροσωπικής δυσκινησίας που είναι παρούσα για περισσότερο από το μισό της διάρκειας παρατήρησης

3 = συνεχής κινήσεις με μικρό εύρος

4 = καταναγκαστικές και συνεχής κινήσεις με μεγάλο εύρος αυτών.

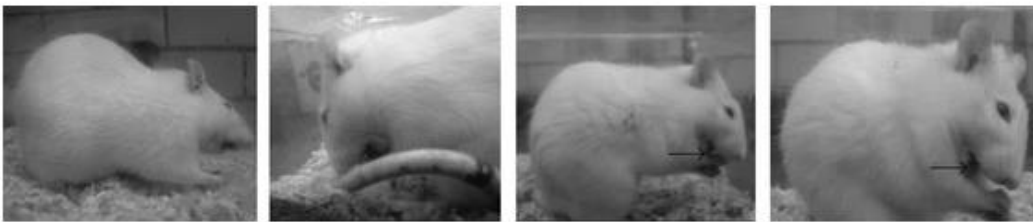
**Η συμπεριφορά περιστροφής** που εμφανίζουν τα πειραματόζωα κατόπιν της χορήγησης levodopa καταγράφηκε ως ο αριθμός περιστροφών κατά την φορά αντίπευρα με αυτή της βλάβης ανά λεπτό, κατά τη διάρκεια εμφάνισης του φαινομένου.



(a)



(b)



(c)



(d)

**Εικόνα 10:** στιγμιότυπα από βίντεο καταγραφή των εκούσιων ανώμαλων κινήσεων που εμφανίζονται κατόπιν χρόνιας χορήγησης levodopa. (A) η συμπεριφορά περιστροφής (B) η αξονική δυσκινησία (C) η στοματοπροσωπική δυσκινησία (D) η δυσκινησία των άκρων. (Η εικόνα προέρχεται από την μελέτη των Gutierrez-Valdez et al 2012)

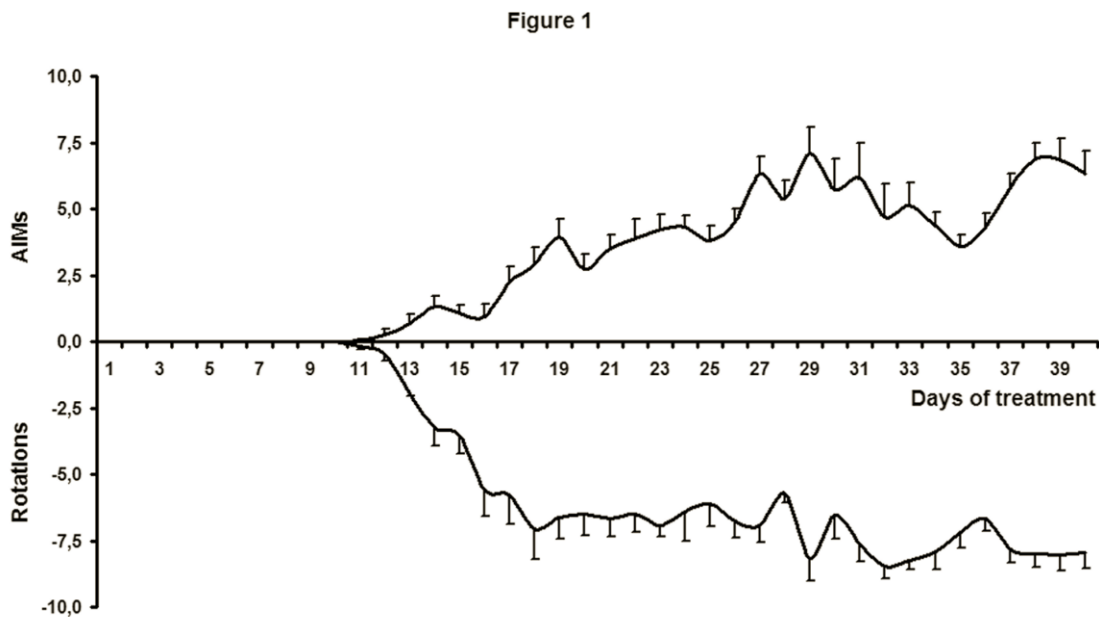
Η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε για την **ποσοτικοποίηση των ανωτέρω παραμέτρων** ήταν η εξής:

Κάθε πειραματόζωο αξιολογήθηκε ξεχωριστά σε καθημερινή βάση. Μετά την τοποθέτηση σε διάφανο κλωβό παρατήρησης και κατόπιν περιόδου προσαρμογής του πειραματόζωου, η καταγραφή ξεκινούσε 10 λεπτά προ της χορήγησης του φαρμάκου και κατόπιν ανά δεκάλεπτο και για όλη τη διάρκεια της δράσης του φαρμάκου. Σε κάθε μία από τις περιόδους παρατήρησης, τα πρώτα τρία λεπτά ήταν αποκλειστικά αφιερωμένα στην μέτρηση του αριθμού των περιστροφών ενώ τα επόμενα δύο λεπτά η παρατήρηση και καταγραφή αφορούσε τα υπόλοιπα στοιχεία των AIMS και συγκεκριμένα την δυσκινησία των άκρων και την αξονική δυσκινησία. Με την μεθοδολογία αυτή ήταν δυνατή η παρατήρηση μόνο δύο πειραματόζωων ανά δεκάλεπτο. Λόγω χρονικών περιορισμών και με σκοπό την βέλτιστη καταγραφή, η στοματοπροσωπική δυσκινησία δεν καταγράφηκε στην παρούσα μελέτη. Η παρατήρηση εξακολουθούσε έως ότου αμφότερες, η συμπεριφορά περιστροφής να καταγράφει λιγότερες από μία περιστροφές ανά λεπτό και οποιοδήποτε στοιχείο δυσκινησιών να είναι απών για τουλάχιστον 10 λεπτά, οπότε και εθεωρείτο το τέλος της απόκρισης στην χορήγηση της levodopa.

Όλα τα πειράματα έλαβαν χώρα μεταξύ των ωρών 08:00 και 16:00 σε ένα ήσυχο δωμάτιο με ελεγχόμενες συνθήκες περιβάλλοντος.

### Α' φάση πειράματος

Στα πειραματόζωα που επιλέχθηκαν για την συμμετοχή στην παρούσα φάση της μελέτης (n=8) χορηγήθηκε καθημερινά ενδοπεριτοναϊκή έγχυση levodopa σε δόση 6.25 mg/kg Σ.Β (συν Benzerazide 6.25 mg) για 40 συνεχόμενες ημέρες.



**Γράφημα 1.** Η χρονική εξέλιξη των στοιχείων της κινητικής συμπεριφοράς των πειραματοζώων κατόπιν καθημερινής χορήγησης levodopa (6.25 mg/kg) για 40 συνεχόμενες ημέρες. Η γραμμή στον θετικό άξονα παρουσιάζει την χρονική εξέλιξη των AIMs (αξονική δυσκινησία και δυσκινησία άκρων – μέση τιμή αυτών) και η κάτω γραμμή τον αριθμό των περιστροφών<sup>-10</sup>. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν το μέσο όρο  $\pm$ SEM για κάθε ημέρα.

## Στατιστικά στοιχεία

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας ANOVA ανάλυση (One Way Repeated Analysis Of Variance) και post-hoc Dunnett's ή Tukey's δοκιμασία πολλαπλών συγκρίσεων, αναλόγως .

Οι περιστροφές εκφράζονται ως ο μέσος ρυθμός περιστροφής (περιστροφές ανά λεπτό) για την διάρκεια δράσης του φαρμάκου αλλά και ως μέγιστη συχνότητα περιστροφής. Το σκόρ των AIMS εκφράζεται ως το άθροισμα όλων των μετρήσεων για το σύνολο των επαναλαμβανόμενων δεκάλεπτων συνεδριών παρατήρησης που έλαβαν χώρα για κάθε πειραματόζωο, κατά τη διάρκεια δράσης του φαρμάκου.

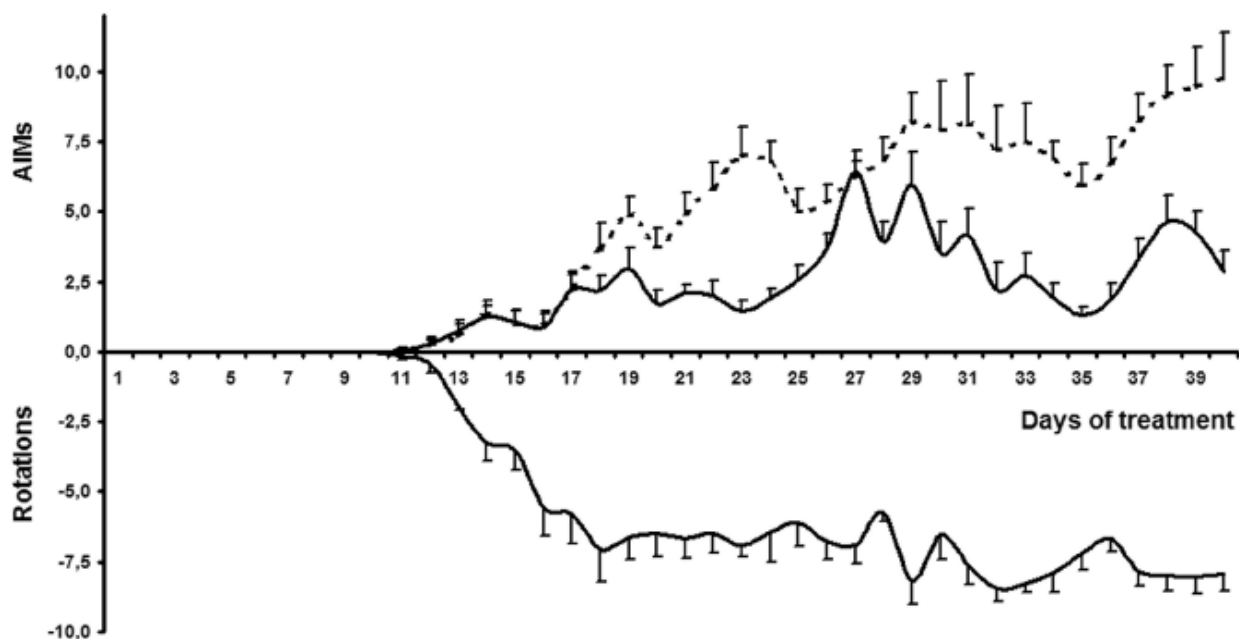
## Αποτελέσματα

Η καθημερινή χορήγηση 6.25 mg/Kg levodopa δεν επέφερε κανένα μετρήσιμο αποτέλεσμα στην συμπεριφορά των πειραματοζώων για τις πρώτες 12,5 ( $\pm$  2,5) ημέρες και δεν διέφερε με κανέναν τρόπο από αυτήν προ της χορήγησης του φαρμάκου, χωρίς ενδείξεις υπερκινητικότητας ή εκούσιων ανώμαλων κινήσεων. Αντίθετα, κατόπιν της χορήγησης του φαρμάκου και μετά από μία σύντομη περίοδο διέγερσης λόγω της ένεσης, τα πειραματόζωα παρέμεναν κατά το περισσότερο διάστημα σε ύπνο, όπως συνήθως παρατηρείται σε αυτό το διάστημα της ημέρας.

Κατόπιν αυτής της αρχικής περιόδου, και καθώς συνεχιζόταν η καθημερινή χορήγηση levodopa, οι πρώτες ανώμαλες κινήσεις έκαναν σταδιακά την εμφάνιση τους. Περιστασιακές κλονικές κινήσεις των άκρων σε συνδυασμό με μία ήπια κάμψη του κορμού ή και του λαιμού ήταν τα πρώτα μετρήσιμα φαινόμενα, ενώ για τις επόμενες μία ή δυο ημέρες δεν καταγράφηκε συμπεριφορά περιστροφής. Καθώς οι ανώμαλες εκούσιες κινήσεις γινότανε πιο έντονες και η αξονική δυσκινησία πιο προφανής, κατεγράφησαν οι πρώτες πλήρεις περιστροφές. Κατά τις επόμενες ημέρες, οι AIMS παρουσίασαν σταθερά αύξηση τόσο ως προς την ένταση όσο και την συχνότητα τους, με τις περιστροφές να αναπτύσσονται παράλληλα ακλουθώντας το ίδιο μοτίβο (**γράφημα 1**). Όλα τα πειραματόζωα ανέπτυξαν AIMS και συμπεριφορά περιστροφής, τα οποία έφτασαν στο μέγιστο την 29<sup>η</sup> ( $\pm$ 2) ημέρα, ενώ μια περαιτέρω αύξηση της δυσκινησίας των άκρων καταγράφηκε κατά τις ημέρες 37-40 (**γράφημα 2**).



Figure 2



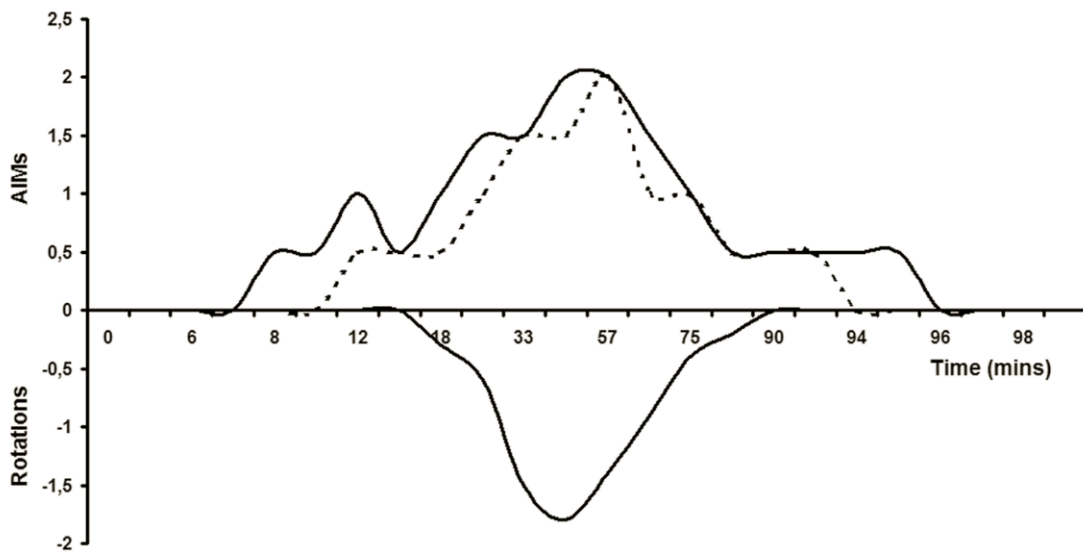
**Γράφημα 2.** Η χρονική εξέλιξη των στοιχείων της κινητικής συμπεριφοράς των πειραματοζώων κατόπιν καθημερινής χορήγησης levodopa (6.25 mg/Kg) για 40 συνεχόμενες ημέρες (δύο άνω γραμμές στον θετικό άξονα). Η διακεκομμένη γραμμή παρουσιάζει την δυσκινησία των άκρων ενώ η συμπαγής γραμμή την αξονική δυσκινησία – μέση τιμή αυτών). Η γραμμή στον αρνητικό άξονα αντιπροσωπεύει τον αριθμό των περιστροφών<sup>-10</sup>. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν το μέσο όρο  $\pm$ SEM για κάθε ημέρα.

Η αξονική δυσκινησία, η δυσκινησία των άκρων και ο μέσος όρος αυτών εμφάνισε θετική συσχέτιση με τις τιμές της συμπεριφοράς περιστροφής (Pearson's correlation coefficient  $R=0.799$ ,  $p<0.01$ ;  $R=0.906$ ,  $p<0.01$  και  $R=0.906$ ,  $p<0.01$  αντίστοιχα) καθώς και με τον χρόνο εμφάνισης κατόπιν της έναρξης αγωγής με levodopa ( $R=0.766$ ,  $p<0.01$ ;  $R=0.949$ ,  $p<0.01$  και  $R=0.924$ ,  $p<0.01$  αντίστοιχα), επιβεβαιώνοντας την σταδιακή εμφάνιση τους και την επίταση των φαινομένων με την συνέχιση της αγωγής.

Αφού η συμπεριφορά περιστροφής και τα AIMs είχαν πλήρως εγκατασταθεί, κάθε πειραματόζωο εμφάνιζε το ίδιο μοτίβο και αλληλουχία συμπεριφορών – κινητικής

απόκρισης μετά από κάθε δόση levodopa. Μία τέτοια τυπική εικόνα του μοτίβου συμπεριφοράς παρουσιάζεται στο γράφημα 3: 8 με 12 λεπτά κατόπιν της χορήγησης levodopa η δυσκινησία των άκρων και η αξονική δυσκινησία εμφανίζονται πρώτα. Κατά τα πρώτα 12-18 λεπτά δεν καταγράφονται περιστροφές. Στα επόμενα λεπτά, οι πρώτες πλήρης περιστροφές καταγράφονται και στη συνέχεια τόσο τα στοιχεία της δυσκινησίας όσο και οι περιστροφές ταχέως αυξάνουν σε ένταση και συχνότητα φθάνοντας στο μέγιστο κατά το 45-55<sup>ο</sup> λεπτό. Στο μέγιστο αυτού του φαινομένου το άνω άκρο εμφανίζει δυστονική θέση και συνεχής κλονικές κινήσεις που παρεμποδίζουν την φυσιολογική του χρήση. Η στάση του ζώου είναι σημαντικά αλλοιωμένη: ο κορμός και η κεφαλή βρίσκονται σε κάμψη με τρόπο που μύτη ακουμπά στην ουρά. Ακολούθως, ο κορμός στρέφεται ακόμη περισσότερο και με καταναγκαστικές κινήσεις του λαιμού η κεφαλή περνά πάνω από το πίσω μέρος του σώματος. Αυτή η σοβαρή στροφική δυστονία είναι που ωθεί το ζώο, καταναγκαστικά, να περιστραφεί και έχει ως αποτέλεσμα αυτό που εκλαμβάνεται ως «συμπεριφορά περιστροφής» και η οποία έχει αποτελέσει στο συγκεκριμένο πειραματικό μοντέλο δείκτης αντιπαρκινσονικής δράσης του εκάστοτε δοκιμαζόμενου φαρμάκου. Σημειώνεται ότι καθόλη την διάρκεια της παρατήρησης τα πειραματόζωα δεν εμφάνισαν καμία περιστροφή προς την άλλη κατεύθυνση (σύστοιχα με την πλευρά της βλάβης).

Figure3



**Γράφημα 3:** Η χρονική εξέλιξη των AIMs σε ένα πειραματόζωο κατόπιν μίας δόσης levodopa (6.25 mg/Kg). Το πειραματόζωο έχει ήδη λάβει levodopa για 29 ημέρες και τα AIMs έχουν φτάσει στη μέγιστη μετρούμενη τιμή. Στον θετικό άξονα η διακεκομμένη γραμμή παρουσιάζει την δυσκινησία των άκρων ενώ η συμπαγής γραμμή την αξονική δυσκινησία). Η γραμμή στον αρνητικό άξονα αντιπροσωπεύει τον αριθμό των περιστροφών-10 (δεδομένα από το πειραματόζωο nr.5 την 29η ημέρα).

Συνοψίζοντας, στην παρούσα μελέτη, η χρόνια χορήγηση levodopa στα πειραματόζωα, κατόπιν της παρέλευσης  $12.5 \pm 2.5$  ημερών είχε σαν αποτέλεσμα την επαγωγή εκούσιων ανώμαλων κινήσεων (AIMs) αλλά και περιστροφών με φορά αντίπλευρη της βλάβης ενώ και τα δύο αυτά στοιχεία ακολούθησαν επακριβώς το ίδιο χρονικό μοτίβο εμφάνισης και εξέλιξης.

## Συζήτηση

Στο πειραματικό μοντέλο που χρησιμοποιήθηκε, η συμπεριφορά περιστροφής θεωρείται μέτρο της αντιπαρκινσονικής δράσης του δοκιμαζόμενου φαρμάκου. Όμως, το γεγονός ότι απαιτείται ένα χρονικό διάστημα μέχρις ότου αυτή η αντιπαρκινσονική δράση να εμφανισθεί, είναι δύσκολο να ερμηνευθεί. Για ποιο λόγο μπορεί να απαιτείται κάποιου είδους προετοιμασία (“priming”) πριν της εμφάνισης οποιασδήποτε αντιπαρκινσονικής απάντησης; Σε ένα απονευρωμένο από ντοπαμινεργικούς νευρώνες σύστημα, η χορήγηση μίας μονήρους και ικανής δόσης levodopa θα ήταν αρκετή να παράγει ένα άμεσο αντιπαρκινσονικό αποτέλεσμα. Είναι μάλιστα ενδιαφέρον ότι δεν υπάρχουν μελέτες σε πειραματικά ζωικά μοντέλα παρκινσονισμού που να μελετούν την σχέση δόσης – αποτελέσματος και την χρονική εξέλιξη αυτής της αντιπαρκινσονικής απάντησης. Επιπλέον υπάρχει πενία πειραματικών δεδομένων και σε μελέτες με ασθενείς που πάσχουν από νόσο Parkinson, ενώ η μελέτη ELLDOPA, η πρώτη που μελέτησε την διαφορετικές δοσολογίες levodopa σε ασθενής με νόσο Parkinson που δεν έχουν λάβει προηγουμένως κάποια άλλη θεραπευτική αγωγή, δείχνει σαφώς μια δοσοεξαρτώμενη αντιπαρκινσονική απάντηση από την έναρξη της χορήγησης φαρμάκου (Fahn S et al 2004). Επίσης, σε πρωτεύοντα με πρόκληση παρκινσονισμού κατόπιν χορήγησης MPTP, από την πρώτη δόση levodopa καταγράφεται άμεσα μια προφανής αντιπαρκινσονική απάντηση στα περισσότερα πειραματόζωα (Goldstein M et al 19783, Schneider JS 1989).

Από την άλλη μεριά, είναι επαρκώς επιβεβαιωμένο ότι η εκδήλωση των κινητικών επιπλοκών από την levodopa (LID) απαιτεί ένα ικανό χρονικό διάστημα πριν εμφανιστεί (Chase TN et al 2001). Το χρονικό αυτό διάστημα διαφέρει από μερικές εβδομάδες σε πειραματικά μοντέλα πρωτευόντων (Blanchet PJ et al 2004), σε μερικά χρόνια σε ανθρώπους, όπου μετά από 2 χρόνια το 30% των ασθενών θα έχει εμφανίσει LID (Marras C et al 2004). Για το λόγο αυτό, είναι λογικό να υποθεθεί ότι η επαγόμενη από την Levodopa συμπεριφορά περιστροφής, που αναπτύσσεται και εξελίσσεται παράλληλα με την εμφάνιση των AIMs, κατόπιν μάλιστα ενός ικανού χρονικού διαστήματος 12 ημερών, δεν αποτελεί παρά στοιχείο των κινητικών επιπλοκών.

Πώς όμως εκδηλώνεται η αντιπαρκινσονική απάντηση στο συγκεκριμένο ζωικό μοντέλο και τι είναι στην πραγματικότητα η «συμπεριφορά περιστροφής»; Τόσο στους ανθρώπους όσο και στα πρωτεύοντα όπου έχει εμφανιστεί παρκινσονισμός, η χορήγηση μιας μέσης δόσης levodopa αποκαθιστά άμεσα το ακινητικό δυσκινητικό σύνδρομο που σαφώς εμφανίζουν, σε μία φυσιολογική κινητική κατάσταση. Ωστόσο, στο συγκεκριμένο ζωικό μοντέλο, τα πειραματόζωα δεν εμφανίζουν σαφώς παρκινσονικά στοιχεία. Έτσι, η αντιπαρκινσονική δράση της levodopa είναι δύσκολο να καταγράψει και ίσως εκδηλώνεται ως μία μη – ειδική υπερκινητικότητα που ωστόσο απέχει από την επάνοδο σε μία φυσιολογική κινητική κατάσταση. Η υπερκινητικότητα αυτή σε συνδυασμό με την ικανή, κατά την πάροδο του χρόνου, εγκατάσταση της δυσκινησίας των άκρων και κυρίως της αξονικής δυσκινησίας, είναι που αναγκάζει το πειραματόζωο να περιστρέφεται και που εκφράζεται εν τέλει ως «συμπεριφορά περιστροφής». Η παρατήρηση αυτή, κατέστη εφικτή πρώτον κατόπιν της αναγνώρισης από τους Cenci και συνεργάτες της παρουσίας σαφών ανώμαλων εκούσιων κινήσεων στους επίμυες, και κατά δεύτερον κατόπιν της προσεκτικής και άμεσης παρατήρησης της συμπεριφοράς των πειραματόζωων καθ' όλη την διάρκεια δράσης του φαρμάκου στην παρούσα μελέτη. Μέχρι πρότινος, τα ανωτέρω είχαν παραβλεφθεί λόγω της καταγραφής των διαφόρων στοιχείων της συμπεριφοράς περιστροφής, όπως αριθμό περιστροφών, ένταση, διάρκεια, κλπ, με την χρήση αυτόματων ροτόμετρων (συσκευές προσαρμοσμένες στον κορμό των επίμυων, που κατέγραφαν αυτόματα, χωρίς την ανάγκη παρουσίας του ερευνητή, τα διάφορα στοιχεία). Το προφίλ μιας τυπικής απόκρισης στην levodopa όπως φαίνεται στο γράφημα 3 είναι αποκαλυπτική: Για τα πρώτα μερικά λεπτά η δυσκινησία των άκρων και η κορμική στροφική δυσκινησία εμφανίζονται χωρίς ακόμη να καταγράφονται καθόλου περιστροφές. Κατά τα επόμενα λεπτά, και καθώς η ένταση των AIMs αυξάνεται ταχέως, η συμπεριφορά επιστροφής καταγράφεται επίσης με αυξανόμενη ένταση, ακολουθώντας παράλληλη πορεία. Όταν η κορμική δυστονία γίνεται αρκετά σοβαρή τότε το ζώο γυρίζει πάνω από τον άξονα του κορμού του. Όλη αυτή η σύμπλοκη συμπεριφορά, θα είχε καταγραφεί ως απλώς μία περιστροφή από ένα αυτόματο ροτόμετρο. Η συνεχής και άμεση όμως παρατήρηση αποκαλύπτει την πραγματική φύση αυτού του φαινομένου περιστροφής, το οποίο αντιπροσωπεύει την ένταση της

δυσκινησίας που εκδηλώνουν τα πειραματόζωα, και κυρίως της αξονικής – κορμικής δυστονίας, παρά να αποτελεί ένα μη σχετιζόμενο με την δυσκινησία, αμιγώς κινητικό φαινόμενο.

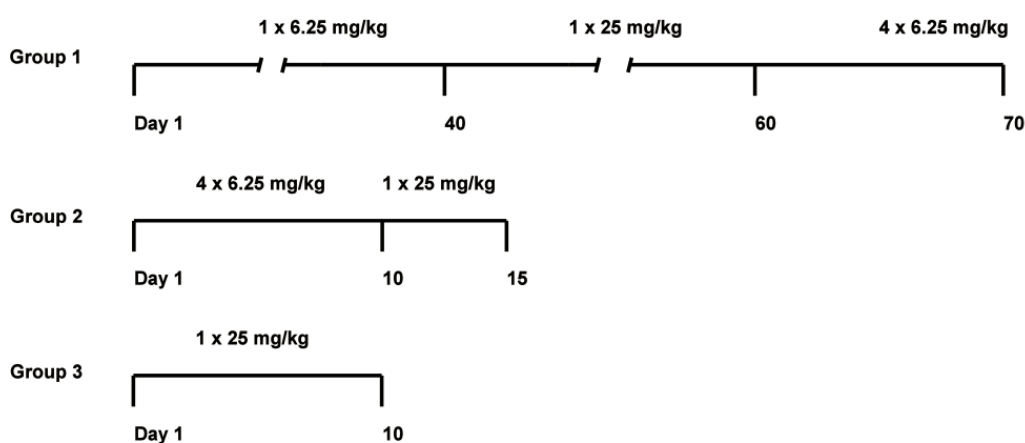
Συνοψίζοντας, στην παρούσα μελέτη, αμφότερες, η συμπεριφορά περιστροφής και η εκούσιες ανώμαλες κινήσεις που επάγονται από την levodopa, αναπτύχθηκαν σχεδόν ταυτόχρονα και εξελίχτηκαν παράλληλα, κατόπιν ενός αρχικού χρονικού διαστήματος, φαινόμενο συμβατό με την φυσική πορεία της LID σε ασθενείς με νόσο Parkinson. Συνολικά, αυτές οι παρατηρήσεις, υποδεικνύουν ότι AIMs και συμπεριφορά περιστροφής θα μπορούσαν αμφότερα να αντιπροσωπεύουν επαγόμενες από levodopa διαταραχές κινητικής απόκρισης (MRCs). Υπό αυτό το πρίσμα, μελετώντας την συμπεριφορά περιστροφής δεν αποτελεί τον καλύτερο τρόπο εκτίμησης της αντιπαρκινσονικής απάντησης ενός φαρμάκου, καθώς κατά κύριο λόγο αυτή αντιπροσωπεύει φαινόμενο δυσκινησίας. Εάν εντός αυτής της συμπεριφοράς, συνυπάρχουν στοιχεία αντιπαρκινσονικής απάντησης είναι δύσκολο να εκτιμηθεί.

## Β' φάση πειράματος

Κατόπιν της ολοκλήρωσης της πρώτης φάσης και της εξαγωγής των ανωτέρω συμπερασμάτων, η μελέτη συνέχισε στο κύριο μέρος της όπου επιχειρείται να δοθούν απαντήσεις στα ερωτήματα που αφορούν την διαχείριση της «χρυσής» θεραπευτικής επιλογής για τη νόσο Parkinson:

1. Ποιος είναι ο βέλτιστος τρόπος χορήγησης της levodopa ώστε να αποφευχθεί ή έστω να καθυστερήσει η εμφάνιση των κινητικών επιπλοκών;
2. Ποιος είναι ο τρόπος χορήγησης της levodopa που θα οδηγήσει άμεσα και αναπόφευκτα στην εμφάνιση των κινητικών επιπλοκών;
3. Είναι η εμφάνιση των κινητικών επιπλοκών αναπόφευκτη;
4. Πώς σχετίζεται η συχνότητα χορήγησης και η αθροιστική δοσολογία της levodopa με την εμφάνιση των κινητικών επιπλοκών;

Για την παρούσα μελέτη, τέσσερις με έξι εβδομάδες μετά την πρόκληση ημιπαρκινσονισμού με την χορήγηση 6OHDA, τα πειραματόζωα χωρίστηκαν σε 3 ομάδες για την χορήγηση διαφορετικών θεραπευτικών σχημάτων, όπως φαίνονται στο γράφημα 4.



**Γράφημα 4:** Σχεδίαση θεραπευτικών ομάδων με διαφορετικά σχήματα χορήγησης Levodopa.

## Στατιστικά στοιχεία

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας ANOVA ανάλυση (One Way Repeated Analysis Of Variance) και post-hoc Dunnett's ή Tukey's δοκιμασία πολλαπλών συγκρίσεων, αναλόγως .

Οι περιστροφές εκφράζονται ως ο μέσος ρυθμός περιστροφής (περιστροφές ανά λεπτό) για την διάρκεια δράσης του φαρμάκου αλλά και ως μέγιστη συχνότητα περιστροφής. Το σκόρ των AIMS εκφράζεται ως το άθροισμα όλων των μετρήσεων για το σύνολο των επαναλαμβανόμενων δεκάλεπτων συνεδριών παρατήρησης που έλαβαν χώρα για κάθε πειραματόζωο, κατά τη διάρκεια δράσης του φαρμάκου.

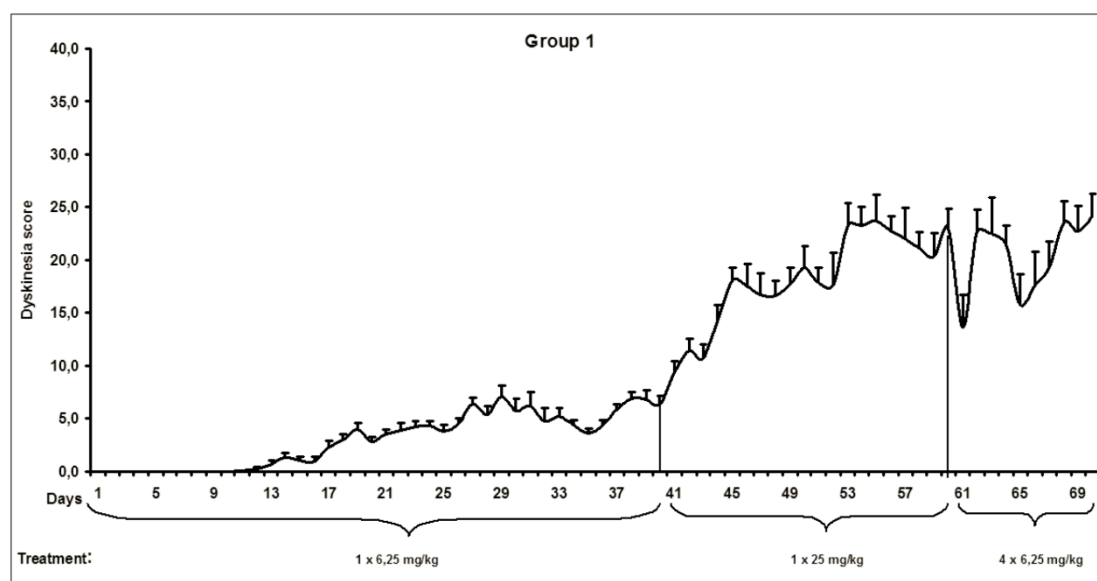


## Αποτελέσματα

### Η φυσική πορεία επαγωγής και εμφάνισης της δυσκινησίας

#### Ομάδα 1

Τα πειραματόζωα της ομάδας 1 έλαβαν συνολικά τρία διαφορετικά θεραπευτικά σχήματα με Levodopa όπως φαίνεται στο γράφημα 5.



**Γράφημα 5:** (Ομάδα 1). Η εξέλιξη της LID κατά την διάρκεια χορήγησης levodopa σε δόση 6.25mg/Kg Σ.Β. μια φορά την ημέρα για 40 ημέρες (ημέρες 1 – 40), ακολούθως με δόση 25 mg/Kg Σ.Β. μία φορά την ημέρα για 20 ημέρες (ημέρες 41 - 61) και τέλος με δόση 6.25 mg/Kg Σ.Β. τέσσερις φορές την ημέρα για 10 ακόμη ημέρες (ημέρες 61-70). Οι τιμές αντιπροσωπεύουν την μέση τιμή της δυσκινησίας  $\pm$  SEM.

Η καθημερινή χορήγηση levodopa σε δόση 6.25 mg/Kg Σ.Β. (συν Benzerazide 6.25 mg/Kg) (γράφημα 5) δεν προκάλεσε καμία μετρήσιμη δυσκινησία για τις πρώτες  $12.5 \pm 2.5$  ημέρες. Κατόπιν αυτής της αρχικής περιόδου, καταγράφηκαν οι πρώτες ήπιες δυσκινησίες (AIMs score την ημέρα 12:  $0.3 \pm 0.2$ ). Κατά το επόμενο χρονικό διάστημα η LID αυξήθηκε σταδιακά σε ένταση και έφτασε σε μέγιστο επίπεδο την ημέρα 29 (AIMs score  $7.1 \pm 1$ , πίνακας 1) και για τις επόμενες 11 ημέρες δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (AIMs sore την ημέρα 40:  $6.3 \pm 0.9$ ).

	Χρόνος έως την εμφάνιση της δυσκινησίας (mean days $\pm$ SEM )	Μέγιστη τιμή δυσκινησίας (mean $\pm$ SEM)
<b>Ομάδα 1- 1<sup>η</sup> φάση</b> (1 x 6.25 mg/kg)	12.5 $\pm$ 2.5	7.1 $\pm$ 1*
<b>Ομάδα 2 – 1<sup>η</sup> φάση</b> (4 x 6.25 mg/kg)	2 $\pm$ 1	22.8 $\pm$ 3*
<b>Ομάδα 3</b> (1 x 25 mg/kg)	1	35 $\pm$ 3.2*

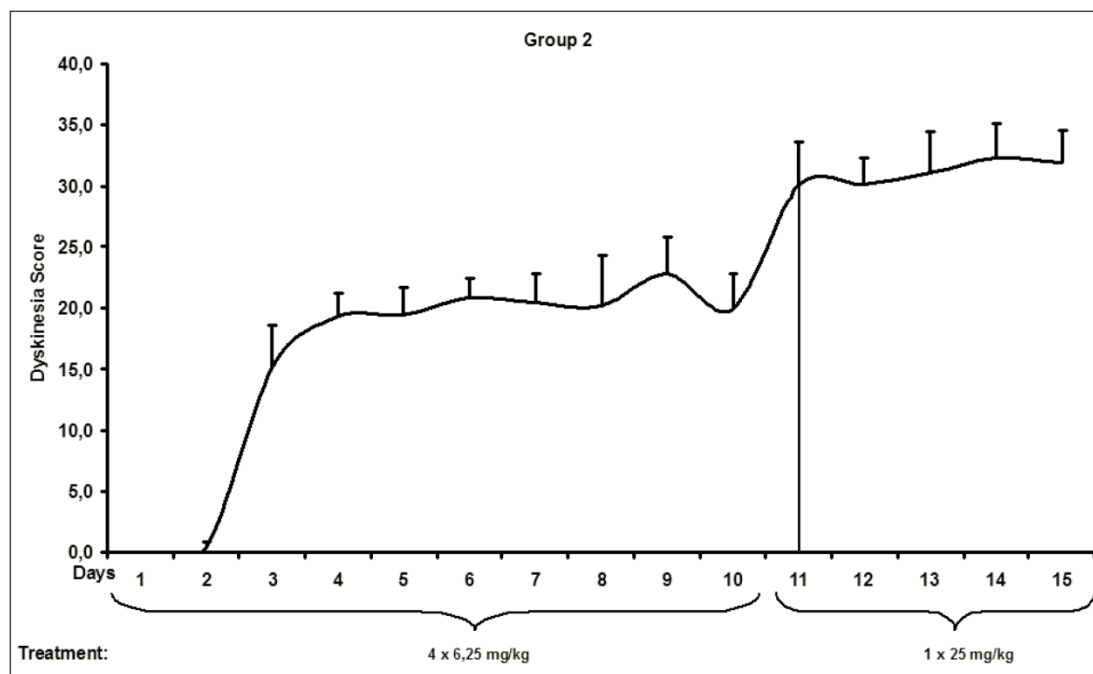
**Πίνακας 2:** παρουσιάζεται ο χρόνος σε ημέρες που απαιτήθηκε σε κάθε ομάδα πειραματόζώων έως την εμφάνιση δυσκινησίας καθώς και η μέγιστη τιμή δυσκινησίας που καταγράφηκε σε κάθε μία. (Οι τιμές εκφράζουν μέσους όρους  $\pm$  SEM – \* P < 0.05)

Την 41<sup>η</sup> ημέρα έγινε τροποποίηση της χορηγούμενης δοσολογίας levodopa σε 25 mg/Kg Σ.Β. (συν Benzerazide 6.25 mg/Kg) για 20 επιπλέον συνεχόμενες ημέρες. Κατά την διάρκεια αυτού του θεραπευτικού σχήματος οι δυσκινησίες εμφάνισαν ταχεία αύξηση (AIMs score την ημέρα 43: 11.4  $\pm$  1.1 από 6.3  $\pm$  0.9 την ημέρα 40) φθάνοντας σε τριπλασιασμό της τιμής τους την 55<sup>η</sup> ημέρα (AIMs score = 23.7  $\pm$  2.5) συγκριτικά με το μέγιστο καταγεγραμμένο σκορ του προηγούμενου θεραπευτικού σχήματος.

Την 61<sup>η</sup> ημέρα το θεραπευτικό σχήμα τροποποιήθηκε σε καθημερινή χορήγηση levodopa σε δόση 6.25 mg/Kg Σ.Β. (συν Benzerazide 6.25 mg/Kg) τέσσερις φορές την ημέρα, για 10 συνεχόμενες ημέρες. Έγινε δηλαδή μια κατάτμηση της δοσολογίας των 25 mg/Kg σε 4 ίσες δόσεις. Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου, δεν σημειώθηκαν στατιστικά σημαντικές μεταβολές καθώς η LID διατηρήθηκε στα ίδια υψηλά επίπεδα όπως και κατά τη διάρκεια του προηγούμενου θεραπευτικού σχήματος (AIMs σκορ την ημέρα 70: 24.1  $\pm$  .2 από 23.7  $\pm$  2.5 την ημέρα 55).

## Ομάδα 2

Τα πειραματόζωα της ομάδας 2 έλαβαν εξ αρχής και για 10 ημέρες levodopa (συν Benzerazide 6.25mg) σε δόση 6.25 mg/Kg Σ.Β. τέσσερις φορές την ημέρα (γράφημα



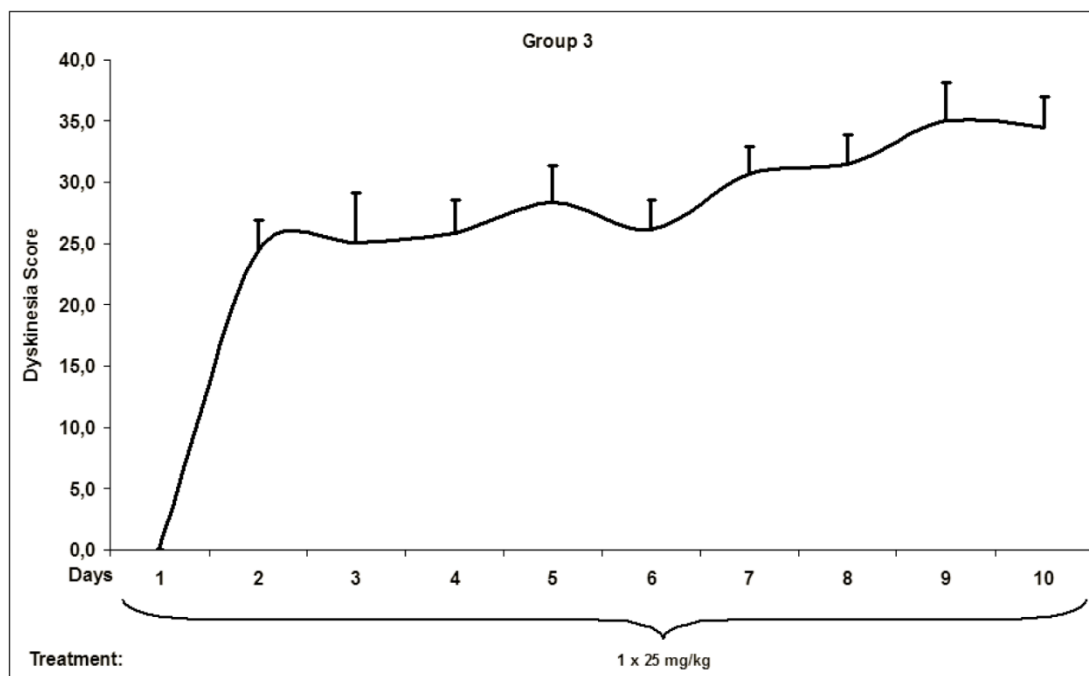
6).

**Γράφημα 6:** (Ομάδα – 2) Η εξέλιξη της LID κατά την διάρκεια χορήγησης levodopa σε δόση 6.25mg/Kg Σ.Β. τέσσερις φορές την ημέρα για 10 ημέρες (ημέρες 1-10) και ακολούθως με δόση 25 mg/Kg Σ.Β. μία φορά την ημέρα για 5 ακόμη ημέρες (ημέρες 11 - 15). Οι τιμές αντιπροσωπεύουν την μέση τιμή της δυσκινησίας ± SEM.

Αυτό το θεραπευτικό σχήμα επέφερε την ταχεία εμφάνιση δυσκινησίας ήδη από τις πρώτες ημέρες με μέσο όρο την καθυστέρηση για μόλις  $2 \pm 1$  ημέρες (AIMs σκορ την ημέρα 3:  $15.2 \pm 3.5$ ) και περαιτέρω αύξηση της δυσκινησίας με την 4<sup>η</sup> ημέρα το σκορ να είναι  $19.4 \pm 1.8$ . Από εκείνο το σημείο και στην συνέχεια, δεν παρατηρήθηκαν αξιόλογες μεταβολές (AIMs σκορ την ημέρα 10:  $19.9 \pm 2.9$ ). Την 11<sup>η</sup> ημέρα και για τις επόμενες 5 ημέρες το θεραπευτικό σχήμα μεταβλήθηκε σε μία, αθροιστική, δόση levodopa 25 mg/Kg Σ.Β. ημερησίως. Ήδη από την πρώτη χορήγηση αυτής της υψηλής δόσης levodopa η δυσκινησία αυξήθηκε δραματικά κατά ~50% (AIMs σκορ την ημέρα 11:  $30.1 \pm 3.5$  από  $19.9 \pm 2.9$  την προηγούμενη ημέρα) χωρίς να παρουσιάσει αξιόλογες μεταβολές κατά τις επόμενες ημέρες (AIMs σκορ την ημέρα 15:  $31.9 \pm 2.6$ ).

### Ομάδα 3

Τα πειραματόζωα της ομάδας 3 έλαβαν εξ αρχής και για 10 ημέρες μία υψηλή δόση levodopa (συν Benzerazide 6.25mg) 25 mg/Kg Σ.Β. (γράφημα 7).



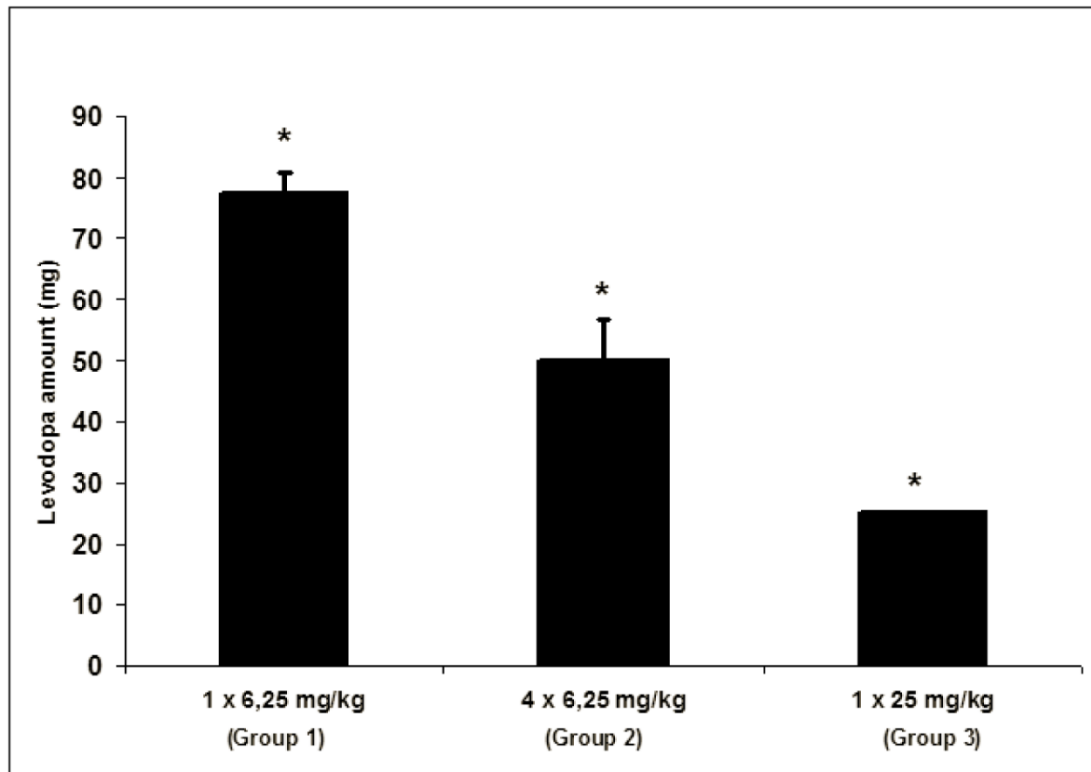
**Γράφημα 7:** (Ομάδα – 3) Η εξέλιξη της LID κατά την διάρκεια χορήγησης levodopa σε δόση 25mg/Kg Σ.Β. μία φορά την ημέρα για 10 ημέρες (ημέρες 1-10). Οι τιμές αντιπροσωπεύουν την μέση τιμή της δυσκινησίας  $\pm$  SEM.

Το θεραπευτικό αυτό σχήμα προκάλεσε σοβαρή δυσκινησία στα πειραματόζωα αυτής της ομάδας ήδη από την δεύτερη ημέρα της αγωγής (AIMs σκορ την ημέρα 2:  $24.5 \pm 2.4$ ). Κατά τις επόμενες ημέρες της αγωγής η δυσκινησία εμφάνισε μια περαιτέρω τάση αύξησης φθάνοντας σε πλατό την ημέρα 9 με το σκορ των AIMs για την ημέρα αυτή να είναι  $35 \pm 3.2$ , το οποίο ήταν και το μέγιστο σκορ δυσκινησίας που καταγράφηκε στην παρούσα μελέτη (οι μέγιστες τιμές δυσκινησίας σε κάθε ομάδα παρουσιάζονται στον πίνακα 2).

#### **Η αθροιστική δόση της Levodopa σε σχέση με την επαγόμενη δυσκινησία**

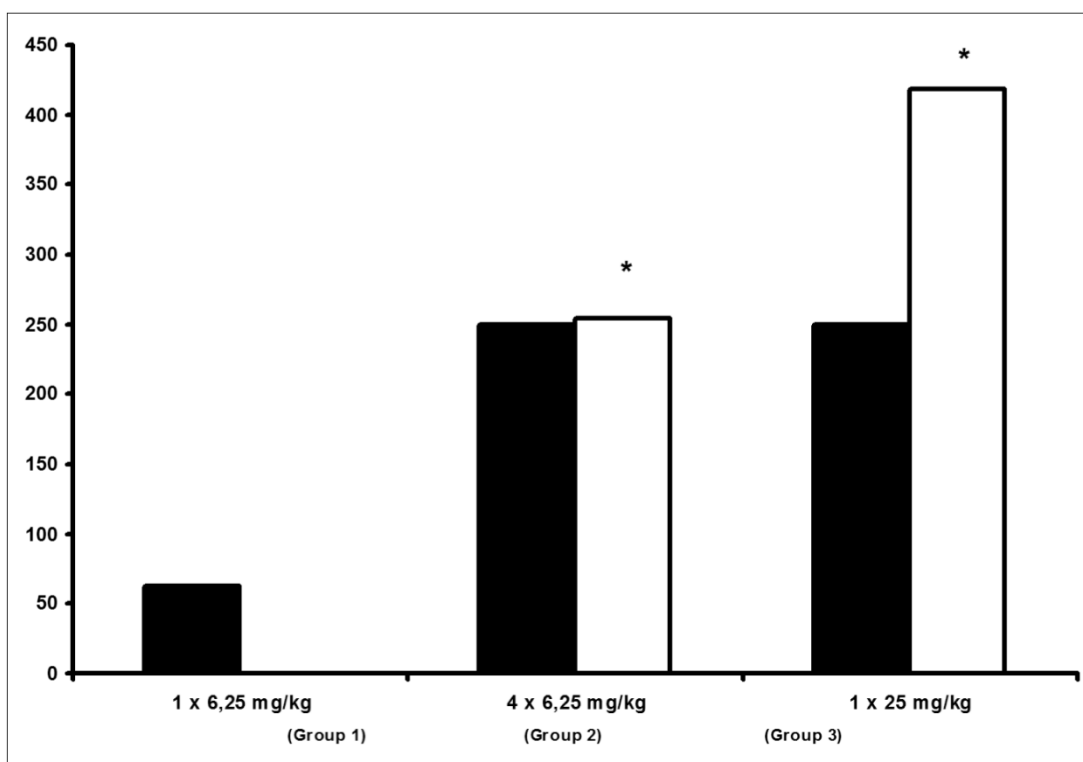
Η αθροιστική δόση της levodopa (σε mg/Kg) που απαιτήθηκε **για να επάγει την εμφάνιση δυσκινησιών** διέφερε σημαντικά για κάθε μία από τις τρεις ομάδες. Έτσι

για την 1<sup>η</sup> ομάδα (6.25 mg/Kg X 1) απαιτήθηκαν συνολικά  $77.4 \pm 3.3$  mg/kg levodopa, για την ομάδα 2 (6.25 mg/Kg X 4) απαιτήθηκαν  $50 \pm 6.7$  mg/kg levodopa ενώ για την ομάδα 3 απαιτήθηκαν μόλις 25 mg/Kg (μία δόση) ( $P < 0.01$ ). **(Γράφημα 8).**



**Γράφημα 8:** η συνολική ποσότητα levodopa (σε mg/kg) που απαιτήθηκε σε κάθε μία από τις τρεις διαφορετικές ομάδες μέχρις ότου οι πρώτες δυσκινησίες κάνουν την εμφάνιση τους. Οι τιμές εκφράζουν μέσους όρους  $\pm$  SEM (\* $P < 0.01$ ).

Η αθροιστική δόση της levodopa που έλαβαν τα πειραματόζωα για τις 10 πρώτες ημέρες της χορήγησης σε κάθε ομάδα, είχε στατιστικά σημαντικές διαφορές και **ως προς την ένταση της δυσκινησίας που προκάλεσε**. Έτσι, η πρώτη ομάδα έλαβε στις 10 πρώτες ημέρες συνολικά 62.5 mg/Kg levodopa και δεν ανέπτυξε καθόλου δυσκινησία (AIMs σκορ 0). Η δεύτερη και τρίτη ομάδα έλαβαν για τις 10 πρώτες ημέρες αμφότερες από 250 mg/kg levodopa, με το άθροισμα της συνολικής δυσκινησίας που προκλήθηκε να διαφέρει στατιστικώς σημαντικά μεταξύ αυτών (αθροιστική τιμή δυσκινησίας 2.540 για την ομάδα 2 και 4.182 για την ομάδα 3, γράφημα 9).



**Γράφημα 9:** Η αθροιστική δόση (mg) της levodopa (μαύρες μπάρες) και η σχέση της με την αθροιστική τιμή της δυσκινησίας που προκλήθηκε (λευκές μπάρες – AIMs σκορ X 10<sup>-1</sup>) σε κάθε μία από τις τρεις ομάδες για τις 10 πρώτες ημέρες της αγωγής. (\* $P < 0.05$ )

### Η συμπεριφορά περιστροφής

Η προκαλούμενη από τη levodopa συμπεριφορά περιστροφής όπως αυτή καταγράφηκε σε κάθε μία από τις τρεις ομάδες, παρουσιάζεται στον πίνακα 3. Τα χαρακτηριστικά της συμπεριφοράς περιστροφής που παρουσιάζονται αφορούν το μέσο ρυθμό περιστροφών ανά λεπτό (ο συνολικός αριθμός περιστροφών κατά τη διάρκεια της δράσης του φαρμάκου), τον μέγιστο ρυθμό περιστροφής και την διάρκεια δράσης της levodopa, όπως αυτές καταγράφηκαν κατά την τελευταία ημέρα κάθε θεραπευτικού σχήματος.

	Θεραπευτικό σχήμα levodopa	Μέσος ρυθμός περιστροφής (στροφές/min)	Μέγιστος ρυθμός περιστροφής (στροφές/min)	Διάρκεια δράσης levodopa (min.)
Ομάδα 1	<i>1x6.25 mg/kg</i>	8.2 ± 1.5	18 ± 1.4	52 ± 2
	<i>1x25 mg/kg</i>	10.4 ± 1.1	20 ± 2.3	148 ± 5
	<i>4x6.25 mg/kg</i>	4.9 ± 1.2	12 ± 1.9	62 ± 4
Ομάδα 2	<i>4x6.25 mg/kg</i>	3 ± 0.7	6 ± 0.7	51 ± 5
	<i>1x25 mg/kg</i>	8.5 ± 1.3	12 ± 2.3	149 ± 6
Ομάδα 3	<i>1x25 mg/kg</i>	5.7 ± 0.5	11 ± 1.6	107 ± 6

**Πίνακας 3:** Ο μέσος ρυθμός ( $\pm$ SEM) περιστροφών ανά λεπτό (ο συνολικός αριθμός περιστροφών κατά τη διάρκεια της δράσης του φαρμάκου), ο μέγιστος ρυθμός περιστροφής και η διάρκεια δράσης της levodopa, όπως αυτές καταγράφηκαν κατά την τελευταία ημέρα κάθε θεραπευτικού σχήματος.

## Συζήτηση

### Περιγραφή των αποτελεσμάτων

Όλες οι χορηγούμενες δοσολογίες levodopa που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη προκάλεσαν ικανή και έντονη **συμπεριφορά περιστροφής**, με την υψηλότερη δόση να προκαλεί τον μεγαλύτερο όγκο αριθμού περιστροφών κυρίως λόγω και της μεγαλύτερης διάρκειας δράσης του φαρμάκου σε σχέση με τις χαμηλότερες δοσολογίες. Δεν διαπιστώθηκε γραμμική συσχέτιση μεταξύ της δοσολογίας της levodopa και της έντασης της περιστροφικής συμπεριφοράς. Η δοσολογία των 6.25 mg/Kg ήταν επαρκής και ικανή στο να προκαλέσει περιστροφική συμπεριφορά πλησίον της μέγιστης καταγραφείσας τιμής ενώ ο τετραπλασιασμός της δόσης στα 25mg/Kg δεν προκάλεσε αύξηση της συμπεριφοράς περιστροφής αλλά σημαντική αύξηση της καταγραφόμενης δυσκινησίας. Ως αποτέλεσμα, η σοβαρή αξονική δυστονία συνοδά με τις καταναγκαστικές στερεοτυπικές κινήσεις των άκρων καθήλωνε σχεδόν τα πειραματόζωα σε μία δυστονική στάση σώματος που περιόριζε την κινητικότητα τους και αυτός είναι ο λόγος όπου μικρότερος αριθμός περιστροφών καταγράφηκε με δοσολογίες της levodopa που προκαλούσαν σοβαρή δυσκινησία (Πίνακας 2). Επιπλέον, κάθε ένα από τα διαφορετικά θεραπευτικά σχήματα που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη προκάλεσαν τελικά την επαγωγή δυσκινησίας σε κάθε πειραματόζωο, με διαφορές φυσικά ως προς τον χρόνο εμφάνισης και την σοβαρότητα της. Αυτό είναι συμβατό με την θεώρηση που υποστηρίζει ότι η εμφάνιση δυσκινησίας σε κάθε ικανώς απονευρωμένο παρκινσονικό άτομο που λαμβάνει αγωγή με levodopa είναι αναπόφευκτη.

### Σχολιασμός των αποτελεσμάτων

Ένα από τα πιο εντυπωσιακά αποτελέσματα της παρούσης μελέτης είναι η σημαντική καθυστέρηση στην εμφάνιση δυσκινησιών (12 ημέρες) στην ομάδα που λάμβανε μία, χαμηλή, δοσολογία levodopa (6.25 mg/kg Σ.Β.). Επιπρόσθετα, τα πειραματόζωα που λάμβαναν αυτή την χαμηλή δοσολογία levodopa, όχι μόνο ανέπτυξαν δυσκινησίες πολύ αργότερα από ότι με οποιαδήποτε από τα άλλα θεραπευτικά σχήματα, αλλά και η μέγιστη τιμή δυσκινησίας που κατέγραψαν ήταν επίσης σημαντικά ηπιότερη, σχεδόν στο 1/5 αυτής που εμφάνισαν τα άτομα της



ομάδας 2 που λάμβαναν μία υψηλή δόση levodopa. Η πιο σοβαρή δυσκινησία ( $35 \pm 3.2$ ) που καταγράφηκε ήταν αυτή που προκλήθηκε από την μονήρη υψηλή δοσολογία levodopa των 25 mg/kg Σ.Β. με την εμφάνιση των δυσκινησιών να καταγράφεται ήδη από την 1<sup>η</sup> ημέρα της χορήγησης (γράφημα 7 – πίνακας 1).

Ένα ακόμη ενδιαφέρον και κατά κάποιον τρόπο αναπάντεχο αποτέλεσμα της παρούσης μελέτης ήταν ότι η ομάδα που ελάμβανε χαμηλές δόσεις levodopa τέσσερις φορές την ημέρα (6.25 mg/Kg X 4 – ομάδα 2), ανέπτυξε δυσκινησίες εντός μόλις 3 ημερών από την έναρξη της θεραπείας, χρονικό διάστημα που είναι σημαντικά μικρότερο από αυτό που καταγράφηκε με την μονήρη χαμηλή δόση της levodopa (6.25 mg/Kg X 1 – ομάδα 1). Όσον αφορά την δυσκινησία που καταγράφηκε, αυτή δεν ήταν τόσο σοβαρή όσο στην ομάδα που ελάμβανε μία μεγαδόση levodopa των 25 mg/Kg (ομάδα 3 - και που πρακτικά είναι η ίδια ημερήσια συνολική δόση), αλλά σημαντικά πιο σοβαρή από την δυσκινησία που καταγράφηκε στην ομάδα 1, η οποία ήταν πραγματικά αρκετά ήπια. Σύμφωνα με **την άποψη της «συνεχούς ντοπαμινεργικής διέγερσης»**, η αγωγή με υποκατάσταση της ντοπαμίνης (levodopa είτε αγωνιστές) με έναν συνεχή και ομοιόμορφο, λιγότερο περιοδικό τρόπο εντός της ημέρας, είναι ικανή να προλάβει την ανάπτυξη δυσκινησίας ή ακόμη και να μειώσει την σοβαρότητα της ήδη εγκατεστημένης δυσκινησίας (Chase TN 1998). Ως μια πιο εύκολη μέθοδος επίτευξης της ανωτέρω συνεχούς ντοπαμινεργικής διέγερσης, έχει προταθεί η κατάτμηση της δοσολογίας της levodopa και η χορήγηση της σε συντομότερα διαστήματα (Stocchi F et al 2004). Στην παρούσα μελέτη όμως, η διέγερση του ντοπαμινεργικού συστήματος πολλές φορές (τέσσερις) εντός της ημέρας, ακόμα και αν χρησιμοποιήθηκαν χαμηλές δόσεις levodopa, διαμόρφωσε το έδαφος για την εμφάνιση εντονότερης δυσκινησίας από ότι η χορήγηση μίας μονήρους χαμηλής δόσης, **σε μικρότερη όμως συνολική ημερήσια δοσολογία**. Στην ίδια κατεύθυνση αξιολόγησης της υπόθεσης της «συνεχούς ντοπαμινεργικής διέγερσης» και συγκρίνοντας τα αποτελέσματα που προκύπτουν από την χορήγηση **της ίδιας συνολικής ημερήσιας δόσης** levodopa (6.25 mg X 4 vs 25 mg X 1) με διαφορετικό τρόπο σε σχέση με την προκαλούμενη δυσκινησία, (ομάδες 2 και 3), φαίνεται ότι η

μέθοδος αυτή επιφέρει χαμηλότερες τιμές μέγιστης δυσκινησίας (πίνακας 1 –  $22,8 \pm 3$  vs  $35 \pm 3,2$  αντίστοιχα για τις δύο ομάδες) αλλά και μεγαλύτερη καθυστέρηση στην εμφάνιση της.

Στην ομάδα 1, κατόπιν 40 ημερών καθημερινής χορήγησης levodopa σε χαμηλή δόση 6.25 mg/Kg/ημέρα έγινε τροποποίηση του θεραπευτικού σχήματος σε 25 mg/Kg/ημέρα. Σαν αποτέλεσμα αυτής της μεταβολής οι δυσκινησίες παρουσίασαν σημαντική αύξηση, εμφανίζοντας διπλασιασμό εντός 4-5 ημερών και εντός των επόμενων 8 ημερών έφθασε στο μέγιστο της για αυτήν την ομάδα, σε τριπλάσια τιμή σε σχέση με την αρχικά μεταγραφόμενη κατά την διάρκεια της χορήγησης χαμηλής δόσης levodopa. Ακολουθώντας μία συνήθη πρακτική στην κλινική πράξη με σκοπό τον έλεγχο της ανάπτυξης των κινητικών επιπλοκών, η συνολική αυτή δοσολογία κατατμήθηκε σε 4 δόσεις των 6.25 mg/kg, ελέγχοντας την υπόθεση της «συνεχούς ντοπαμινεργικής διέγερσης». Αυτή η στρατηγική, απέτυχε τελείως να μειώσει έστω και στο ελάχιστο την σοβαρότητα της δυσκινησίας. Αυτό επισημαίνει ότι **εφόσον η δυσκινησία έχει εγκατασταθεί**, τροποποιώντας την θεραπευτική προσέγγιση κατά έναν τρόπο που περιλαμβάνει την τμηματοποίηση της ίδιας δόσης σε μικρότερες και συχνότερες δόσεις, είναι πιθανό να μην επιτυγχάνεται η αναστροφή αυτού του φαινομένου. Στο σημείο αυτό διαφαίνεται καλύτερα ίσως και η σημαντικότητα της προσπάθειας **να προληφθεί** όσο το δυνατό περισσότερο η ανάπτυξη δυσκινησίας **εξ αρχής**, καθότι εφόσον εγκατασταθεί δεν δύναται να αναστραφεί. Στην παρούσα μελέτη, το μόνο θεραπευτικό σχήμα που επέτυχε και τους δύο ανωτέρω στόχους (καθυστέρηση της εμφάνισης δυσκινησιών και διατήρηση τους, αφού εμφανισθούν, σε χαμηλά επίπεδα) ήταν αυτό της **χαμηλής ντοπαμινεργικής διέγερσης**.

Στα πλεονεκτήματα που εμφάνισε το θεραπευτικό σχήμα της χαμηλής ντοπαμινεργικής διέγερσης (ομάδα 1), πρέπει να καταγραφεί και το γεγονός ότι τα χαμηλά σκορ δυσκινησίας διατηρήθηκαν για σημαντικό χρονικό διάστημα υπό αυτήν την δοσολογία. Επιπλέον, ακόμη και όταν έγινε τροποποίηση του θεραπευτικού πλάνου από levodopa 6.25 mg/Kg X 1 σε 25 mg/Kg X 1, αν και προκλήθηκε σημαντική αύξηση της καταγραφόμενης δυσκινησίας (όπως έχει ήδη αναφερθεί η τιμή της LID τριπλασιάσθηκε με τον τρόπο αυτό εντός 10 ημερών),

ωστόσο δεν έφτασε ποτέ στα επίπεδα αυτής που καταγράφησαν στην ομάδα 3 που έλαβε εξ αρχής την ίδια δοσολογία (25 mg/Kg).

Σε ορισμένες μελέτες με ασθενείς με νόσο Parkinson, υποστηρίζεται ότι **η συνολική, αθροιστική, δοσολογία** της χορηγούμενης levodopa (μέγεθος που εμπεριέχει και την παράμετρο του χρόνου, της διάρκειας δηλαδή της θεραπείας) είναι αυτή που σχετίζεται με την εμφάνιση των δυσκινησιών (Arabia G et al 2002, Rajput AH et al 2002), ενώ άλλες μελέτες δεν υποστηρίζουν αυτήν την υπόθεση (Blanchet PJ 1999). Στην δική μας μελέτη, η αθροιστική δόση της levodopa που απαιτήθηκε για την εμφάνιση δυσκινησιών διαφέρει σημαντικά μεταξύ των ομάδων (γράφημα 8). Από εκεί φαίνεται ότι διαφορετικές ποσότητες levodopa απαιτήθηκαν σε κάθε ομάδα μέχρι την εμφάνιση των πρώτων δυσκινησιών και κατά συνέπεια **δεν είναι η αθροιστική δόση** η παράμετρος που προκαλεί την διαφορά αλλά **ο τρόπος της χορήγησης**. Επιπρόσθετα, όπως φαίνεται στο γράφημα 9, η αθροιστική δόση levodopa για τις πρώτες δέκα ημέρες της θεραπείας, ενώ ήταν ίδια για τις ομάδες 2 και 3, προκάλεσε διαφορετικής έντασης δυσκινησίες με την ομάδα 3 που λαμβάνει μονήρη δόση υψηλής ντοπαμινεργικής διέγερσης, να καταγράφει σημαντικά υψηλότερο σκορ δυσκινησιών. Συνδυάζοντας αυτές τις παρατηρήσεις, προτείνεται ότι σχετικά με την εμφάνιση και ανάπτυξη των δυσκινησιών από την θεραπεία με levodopa περισσότερο σημασία έχει **ο τρόπος της χορήγησης** (όπως υποστηρίζεται μεν από την υπόθεση της συνεχούς ντοπαμινεργικής διέγερσης) αλλά και **η ένταση** της ντοπαμινεργικής διέγερσης που προκαλεί κάθε μία από αυτές τις δόσεις. Υπό αυτό το πρίσμα, η ημερήσια και όχι η αθροιστική σε βάθος χρόνου, δοσολογία της levodopa είναι πιο σημαντική για την ανάπτυξη των δυσκινησιών. Έτσι, όταν αυξάνονται οι ανάγκες για την χορήγηση levodopa, ο καλύτερος τρόπος για να γίνει αυτό είναι με την χορήγηση της σε πολλαπλές μικρές κατατετμημένες δόσεις κατά την διάρκεια της ημέρας.

### Συμπεράσματα – κλινικές προεκτάσεις

Τα αποτελέσματα στην παρούσα μελέτη υποδεικνύουν ότι, ως προς την κατεύθυνση της αποτροπής ή καθυστέρησης της εμφάνισης της LID:

1. Η καλύτερη στρατηγική για την χορήγηση της levodopa στα πειραματόζωα, ήταν αυτή της «χαμηλής ντοπαμινεργικής διέγερσης» με την χρήση μίας χαμηλής δόσης. Τα πλεονεκτήματα που παρουσίασε αυτό το θεραπευτικό σχήμα διατηρήθηκαν για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα ενώ μπορεί να θεωρηθεί ότι έδρασε και κατά κάποιον τρόπο προστατευτικά ως προς την ένταση της δυσκινησίας ακόμη και όταν στα συγκεκριμένα άτομα χορηγήθηκαν ακολούθως μεγάλες δόσεις levodopa.
2. Αντίθετα, ο χειρότερος τρόπος χορήγησης της levodopa ήταν μέσω των υψηλών δόσεων πολλές φορές την ημέρα. Με αυτόν τρόπο προετοιμάζεται κατάλληλα το έδαφος για την εμφάνιση πιο έντονης δυσκινησίας. Υπό αυτό το πρίσμα, όταν απαιτούνται υψηλές δόσεις levodopa τότε ο καλύτερος τρόπος θα ήταν μέσω της τμηματοποίησης αυτών σε πολλές μικρότερες κατά την διάρκεια της ημέρας.
3. Σε άτομα που δεν έχουν λάβει προηγουμένως κάποια θεραπευτική αγωγή, τότε αντί να επιδιώκεται η «συνεχής ντοπαμινεργική διέγερση» με προσθήκη επιπλέον δόσεων, είναι καλύτερα να επιδιώκεται η «χαμηλή ντοπαμινεργική διέγερση», τόσο όσο και μίας μονήρους χαμηλής δόση levodopa.
4. Η ημερήσια αθροιστική δοσολογία της levodopa είναι πιο σημαντική για την εμφάνιση της LID από ότι η συνολική ποσότητα αυτής. Για παράδειγμα έστω ότι δύο άτομα θα λάβουν την ίδια συνολική δόση levodopa. Το άτομο που θα λαμβάνει μικρότερες δόσεις καθημερινά (και προφανώς θα λάβει την ίδια συνολική δόση σε μεγαλύτερο χρονικό διάστημα) θα καθυστερήσει περισσότερο στην εμφάνιση των δυσκινησιών και επιπλέον θα προφυλάσσεται από την ανάπτυξη σοβαρής LID όταν αναγκαστικά θα απαιτηθούν υψηλότερες δόσεις, συγκριτικά με το άτομο που έλαβε την ίδια συνολική δόση levodopa, με υψηλές δόσεις, σε σύντομο χρονικό διάστημα.

Οι ανωτέρω παρατηρήσεις έχουν σημαντικές κλινικές προεκτάσεις ως προς την καθημερινή πρακτική στην διαχείριση των ασθενών με νόσο Parkinson. Αυτό γιατί η τρέχουσα συνήθης πρακτική είναι σημαντικά επηρεασμένη από την θεώρηση της «συνεχούς ντοπαμινεργικής διέγερσης», ως μία στρατηγική που θα αποτρέψει ή ακόμα και θα βελτιώσει την ήδη εγκατεστημένη δυσκινησία. Η υπόθεση αυτή μάλιστα στην πορεία του χρόνου επεκτάθηκε ως προς το να προτείνει ότι δεν αρκεί μόνο η συνεχής διέγερση αλλά θα πρέπει να αποφεύγονται οι χαμηλές δόσεις (Nutt JG et al 2007). Αυτή η πρακτική ωθεί τον κλινικό γιατρό να επιδιώκει την συνεχή ντοπαμινεργική διέγερση προσθέτοντας διαρκώς ολοένα και υψηλότερες δόσεις και σε συχνότερα χρονικά διαστήματα, ακόμη και σε ασθενείς στα αρχικά στάδια της νόσου. Όπως όμως δείχθηκε με την παρούσα μελέτη η πρακτική αυτή δεν είναι η κατάλληλη.

Η διαχείριση της καλύτερης φαρμακευτικής αγωγής για τη νόσο Parkinson είναι ζωτικής σημασίας για την ποιότητα ζωής του ασθενούς. Αναπόδραστα η νόσος θα εξελίσσεται με την πάροδο του χρόνου και η αύξηση των δόσεων της levodopa, η χορήγηση της σε συντομότερα διαστήματα, είναι γεγονότα που θα επέλθουν νομοτελειακά. Η κατάλληλη θεραπευτική στρατηγική, και μάλιστα από τα αρχικά στάδια της νόσου, μπορεί να καθυστερήσει και να περιορίσει τις κινητικές επιπλοκές που απειλούν την ποιότητα ζωής του ασθενούς όσο και η ίδια η νόσος.

## Περίληψη

**Εισαγωγή:** η Levodopa αποτελεί τη χρυσή θεραπευτική επιλογή για τη νόσο Parkinson. Η μακροχρόνια χρήση της όμως περιπλέκεται σημαντικά από την εμφάνιση κινητικών επιπλοκών (δυσκινησία επαγόμενη από Levodopa - LID) οι οποίες επιβαρύνουν την ποιότητα ζωής των ασθενών με νόσο Parkinson σε βαθμό που συναγωνίζονται πλέον την ίδια τη νόσο. Μέχρι σήμερα δεν έχει αποσαφηνισθεί ποιος είναι ο βέλτιστος τρόπος διαχείρισης της Levodopa ως προς την κατευθυνση της καθυστέρησης της εμφάνισης ή/και του περιορισμού των κινητικών επιπλοκών. **Σκοπός:** Με την παρούσα μελέτη επιχειρείται να απαντηθούν τα εξής ερωτήματα: 1. Ποιος είναι ο βέλτιστος τρόπος χορήγησης Levodopa ώστε να επιτευχθεί καθυστέρηση της LID; 2. Είναι η εμφάνιση της αναπόφευκτη; 3. Ποια είναι η σχέση της συνολικής δοσολογίας της Levodopa σε ένα δεδομένο χρονικό διάστημα και ποια η σχέση της έντασης της ντοπαμινεργικής διέγερσης ως προς την ίδια κατεύθυνση; **Μέθοδοι:** Χρησιμοποιήθηκε το πειραματικό ζωικό μοντέλο πρόκλησης ημιπαρκινσονισμού σε επίμυες με χορήγηση της νευροτοξίνης 6-OHDA, το οποίο εμφανίζεται όλο το φάσμα της LID. Προ της διεξαγωγής του κυρίου μέρους της μελέτης προηγήθηκε αξιολόγηση συνολικά της κινητικής συμπεριφοράς που εμφανίζουν τα πειραματόζωα και ιδιαιτέρως της συμπεριφοράς περιστροφής. Για το σκοπό αυτό τα πειραματόζωα χωρίστηκαν σε τρεις ομάδες. Η ομάδα 1 έλαβε δόση Levodopa 1 X 6.25mg/Kg, η ομάδα 2 έλαβε 4 X 6.25 mg/Kg και η ομάδα 3 έλαβε 1 X 25 mg/Kg για τουλάχιστον 10 ημέρες, ενώ στη συνέχεια έγιναν διάφορες τροποποιήσεις στα δοσολογικά σχήματα. **Αποτελέσματα:** Από την αξιολόγηση της κινητικής συμπεριφοράς των πειραματόζωων διαπιστώθηκε ότι η συμπεριφορά περιστροφής αποτελεί κατά κύριο λόγο έκφραση της LID παρά στοιχείο για την εκτίμηση της αντιπαρκινσονικής δράσης αυτής. Στην ομάδα 1 δεν διαπιστώθηκε καμία μετρήσιμη δυσκινησία για τις πρώτες 12.5 ±2.5 ημέρες ενώ όταν αναπτύχθηκαν δυσκινησίες αυτές ήταν σημαντικά χαμηλότερες από οποιοδήποτε άλλο θεραπευτικό σχήμα. Η ομάδα αυτή φαινόταν να προφυλάσσεται έναντι της LID από την μετέπειτα αύξηση της δοσολογίας. Η ομάδα που λάμβανε 25 mg/Kg Levodopa εμφάνισε την υψηλότερη τιμή δυσκινησίας άμεσα. Η έναρξη της αγωγής με κατάτμηση των δόσεων (6.25mg X 4), είχε αποτέλεσμα πιο ήπια δυσκινησία σε σχέση με την άπαξ χορήγηση (25mg X 1) της ίδιας δόσης εξ αρχής. Η ίδια αθροιστική ποσότητα levodopa για τις πρώτες δέκα ημέρες της θεραπείας στις ομάδες 2 και 3, προκάλεσε διαφορετικής έντασης δυσκινησίες, με σημαντικά υψηλότερη τιμή στην ομάδα 3. **Συμπεράσματα:** σχετικά με την ανάπτυξη της LID περισσότερο σημασία έχει ο τρόπος της χορήγησης (όπως υποστηρίζεται από την υπόθεση της συνεχούς ντοπαμινεργικής διέγερσης) αλλά και η ένταση της ντοπαμινεργικής διέγερσης που προκαλεί κάθε μία από αυτές τις δόσεις, όπως δείχθηκε από την παρούσα μελέτη. Η έναρξη της αγωγής, στα πρώιμα στάδια της νόσου, με μικρές μοιρασμένες κατάλληλα μέσα στην ημέρα δόσεις, φαίνεται να είναι η βέλτιστη πρακτική. Τέλος, όπως δείχθηκε, η LID εφόσον εγκατασταθεί, δεν δύναται να υποστραφεί.

## Περίληψη στα Αγγλικά

Title: Neuropharmacologic study of extrapyramidal system

Author: Christos Tsironis

**Introduction:** Levodopa is the gold standard for treatment of Parkinsons Disease (PD). It's long-term use is obscured by the induction of motor response complications (Levodopa Induced Dyskinesia - LID) affecting the quality of life of the patients in a way that competes the disease itself. To date, there is no clear evidence as to which is the optimal way to administer Levodopa in respect to delaying or reduce the severity of LID. **Purpose:** aim of this study is to answer the following questions: 1. Which is the optimal way to administer Levodopa in respect to delaying or reduce the severity of LID? 2. Is LID inevitable? 3. Which is the relation between the total amount of Levodopa given at a specific time and also between the daily dose and LID? **Methods:** the 6-OHDA hemiparkinsonian rat model of PD was used in this study, in which rats exhibit every aspect of LID. In a first phase of the study we evaluated if the rotational behavior express the antiparkinsonian response to levodopa or it is part of LID. For these purposes rats divided into three groups. Group 1 received 1 X 6,25 mg/Kg, group 2 received 4 X 6,25mg/Kg and group 3 received 1 X 25 mg/Kg Levodopa for at least 10 days, while various dosage modifications where used in the following days. **Results:** The results of the evaluation of rotational behavior resulted in that it is mainly an aspect of LID rather than antiparkinsonian response. Group1 did not demonstrated any motor behavior for the first 12,5  $\pm$ 2.5 days while when dyskinesias appeared they were significantly milder compared to any other treatment group. This group was also protected against LID when higher doses of levodopa were used. Group receiving the high levodopa dose (1 x 25 mg/Kg) demonstrated the highest scores of LID from the first day of treatment. Fragmenting this dose (4 x 6,25mg/Kg) in group 2, resulted milder scores of LID compared to group 3. The same cumulative dose of levodopa for the first 10 days of treatment between groups 2 and 3, resulted different amounts of LID, with the group 3 demonstrating significantly higher LID scores. **Conclusions:** in view of developing LID more important is the way administering levodopa (as supported by the continuous dopaminergic stimulation concept) but also the intensity of the dopaminergic stimulation (as it is expressed through the amount of every single dose) as it was demonstrated by this study. In the early stages of the disease starting levodopa in small fragmented through the day doses, seems to be the best practice in order to delay the appearance and to reduce the amount of LID. Also, as it was demonstrated in the present study, if LID is established, it cannot be reversed.

## Βιβλιογραφία

1. Parkinson, J. An Essay on the Shaking Palsy (Whittingham and Rowland, 1817).
2. Charcot, J. M. in Oeuvres Complètes (Tome 1). Leçons sur les Maladies du Système Nerveux (eds Delahaye, A. & Lecrosnier, E.) 155–188 (in French) (Bureaux du Progrès Médical, 1872).
3. Rodríguez-Violante M, Cervantes-Arriaga A, Fahn S, Tolosa E. Two-hundred Years Later: Is Parkinson's Disease a Single Defined Entity? *Rev Invest Clin.* 2017 Nov-Dec;69(6):308-313
4. Lees A, Selikhova M, Andrade L et al. The black stuff and Konstantin Nikolaevich Tretiakoff. *Mov Disord* 2008;23:777-783.
5. Holdorff B. Friedrich Heinrich Lewy (1885-1950) and his work. *J Hist Neurosci.* 2002;11(1):19-28.
6. Mizuno Y., Hattori N, Kubo S., et al, Progress in the pathogenesis and genetics in Parkinson's disease,(2008). *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2008 Jun 27;363(1500):2215-27.
7. Carlsson A. The occurrence, distribution and physiological role of catecholamines in the nervous system. *Pharmacol Rev* 1959; 11(2 Part 2):490-493.
8. Fahn S. The history of dopamine and levodopa in the treatment of Parkinson's disease. *Mov Disord* 2008;23(Suppl 3):S497-S528.
9. Cotzias GC, Papavasiliou PS, Gellene R. Modification of parkinsonism: chronic treatment with L-dopa. *N Engl J Med.* 1969;280:337-345.
10. Cotzias GC, Van Woert MH, Schiffer LM. Aromatic amino acids and modification of parkinsonism. *N Engl J Med.* 1967;276:374-379.
11. de Lau, L.M., Breteler, M.M., 2006. Epidemiology of Parkinson's disease. *Lancet Neurol.* 5, 525–535.
12. Lees, A.J., Hardy, J., Revesz, T., 2009. Parkinson's disease. *Lancet* 373 (9680), 2055–2066
13. Goedert, M., Spillantini, M.G., Del Tredici, K., Braak, H., 2013. 100 years of Lewy pathology. *Nat. Rev. Neurol.* 9 (1), 13–24.
14. Shulman, J.M., De Jager, P.L., Feany, M.B., 2011. Parkinson's disease: genetics and pathogenesis. *Annu. Rev. Pathol.* 6, 193–222
15. Tanner, C.M., Ross, G.W., Jewell, S.A., et al., 2009. Occupation and risk of parkinsonism: a multicenter case-control study. *Arch. Neurol.* 66, 1106–1113.
16. Angelopoulou E, Bozi M, Simitsi AM, Koros C, Antonelou R, Papagiannakis N, Maniati M, Poula D, Stamelou M, Vassilatis DK, Michalopoulos I, Geronikou S, Scarmeas N, Stefanis L. The relationship between environmental factors and different Parkinson's



disease subtypes in Greece: Data analysis of the Hellenic Biobank of Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord.* 2019 Oct;67:105-112

17. Maraki MI, Yannakoulia M, Stamelou M, Stefanis L, Xiromerisiou G, Kosmidis MH, Dardiotis E, Hadjigeorgiou GM, Sakka P, Anastasiou CA, Simopoulou E, Scarmeas N. Mediterranean diet adherence is related to reduced probability of prodromal Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2019 Jan;34(1):48-57
18. Trinh, J., Farrer, M., 2013. Advances in the genetics of Parkinson disease. *Nat. Rev. Neurol.* 9 (8), 445–454
19. Walters E., Lees AJ, Volkman J, et al. Managing Parkinson's disease with continuous dopaminergic stimulation. *CNS Spectr.* 2008;13(4 Suppl 7):1-14; quiz 15-6.
20. Snyder CH, Adler C. The patient with Parkinson's disease: Part 1- Treating the motor symptoms. *J Am Acad Nurse Pract* 2007;19:179-197.
21. Hobson D.E, Clinical manifestations of Parkinson's disease and Parkinsonism. *Can. J. Neurol.* 2003;30(suppl 1):S2-S9
22. Siderowf A. Parkinson's disease. Clinical features, epidemiology and genetics. *Neurol Clinics* 2001;19:565-78
23. Klockgether T., Parkinson's disease: clinical aspects. *Cell Tissue Res.* 2004;318:115-120
24. Paulson HL, Stern MP. Clinical Manifestations of Parkinson's disease. In Watts RL, Koller WC (Eds) *Movement disorders.* 2nd Edition McGraw-Hill 2004
25. Guttman M. Kish SJ, Furukawa Y. Current concepts in the diagnosis and management of Parkinson's disease. *CMAJ* 2003;168(3):293-301
26. Santens P, Boon P, Van Roost D, et al., The pathophysiology of motor symptoms of Parkinson's disease. *Acta. Neur. Belg.*, 2003;103:129-134.
27. Schapira AHV, Chaudhuri KR, Jenner P. Non-motor features of Parkinson disease. *Nat Rev Neurosci.* 2017 Jul;18(7):435-450.
28. Poewe W. Dysautonomia and cognitive dysfunction in Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2007 Sep;22 Suppl 17:S374-8.
29. Borek LL, Amick MM, Friedman JH. Non-motor aspects of Parkinson's disease. *CNS Spectr.* 2006;11(7):541-54.
30. Paulson HL, Stern MP. Clinical Manifestations of Parkinson's disease. In Watts RL, Koller WC (Eds) *Movement disorders.* 2nd Edition McGraw-Hill 2004.

31. Chaudhuri K.R., Healy DG, Schapira AH. Non motor symptoms of Parkinson's disease: diagnosis and management. *Lancet Neurol.*,2006;5:235-245.
32. Emre M. Dementia in Parkinson's disease: cause and treatment. *Curr Opin Neurol.* 2004 Aug;17(4):399-404.
33. Emre M. Dementia associated with Parkinson's disease. *Lancet Neurol.* 2003 ;2(4):229-37
34. Poewe W. The natural history of Parkinson's disease. *J.Neurol.* 2006; 253(Suppl7):VII/2-VII/6
35. Bäckström D, Granåsen G, Domellöf ME, Linder J, Jakobson Mo S, Riklund K, Zetterberg H, Blennow K, Forsgren L. Early predictors of mortality in parkinsonism and Parkinson disease: A population-based study. *Neurology.* 2018 Nov 27;91(22):e2045-e2056.
36. Wermuth L, Stenager EN, Stenager E, Boldsen J. Mortality in patients with Parkinson's disease. *Acta Neurol Scand* 1995;92:55-58.
37. Beyer M, Herlofson K, Arsland D, Larsen J. Causes of death in a community-based study of Parkinson's disease. *Acta Neurol Scand* 2001;103:7-11.
38. Hughes AJ, Daniel SE, Lees AJ. Improved accuracy of clinical diagnosis of Lewy body Parkinson's disease. *Neurology* 2001;57:1497– 1499.
39. Tolosa E, Wenning G, Poewe W. The diagnosis of Parkinson's disease. *Lancet Neurol* 2006;5:75–86
40. Litvan I, MacIntyre A, Goetz CG, et al. Accuracy of the clinical diagnoses of Lewy body disease, Parkinson disease, and dementia with Lewy bodies: a clinicopathologic study. *Arch Neurol* 1998; 55:969–978.
41. Rajput AH, Rozdilsky B, Rajput A. Accuracy of clinical diagnosis in parkinsonism: a prospective study. *Can J Neurol Sci* 1991;18: 275–278
42. Postuma RB, Berg D, Stern M, Poewe W, Olanow CW, Oertel W, Obeso J, Marek K, Litvan I, Lang AE, Halliday G, Goetz CG, Gasser T, Dubois B, Chan P, Bloem BR, Adler CH, Deuschl G. MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2015 Oct;30(12):1591-601.
43. Hughes AJ, Daniel SE, Kilford L, Lees AJ. Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson's disease: a clinico-pathological study of 100 cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1992;55:181– 184

44. Piccini P, Brooks DJ, Korpela K, Pavese N, Karlsson M, Gordin A. The catechol-Omethyltransferase (COMT) inhibitor entacapone enhances the pharmacokinetic and clinical response to Sinemet CR in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2000;68:589–94.
45. Berg D, Godau J, Trenkwalder, C., Eggert, K., Csoti, I., Storch, A., Huber, H., Morelli-Canelo, M., Stamelou, M., Ries, V., Wolz, M., Schneider, C., Di Paolo, T., Gasparini, F., Hariry, S., Vandemeulebroecke, M., Abi-Saab, W., Cooke, K., Johns, D., Gomez-Mancilla, B., 2011. AFQ056 treatment of levodopa-induced dyskinesias: results of 2 randomized controlled trials. *Mov. Disord.* 26, 1243–1250.
46. Fahn S. A new look at levedopa based on the ELLDOPA study. *J Neural Transm* 2006;(Suppl)70:419-426.
47. Goetz C, Koller W, Poewe W et al. Management of Parkinson's disease:an evidencebased review. *Mov Disord* 2002;17(Suppl 4):S1112-S1119.
48. Goetz CG, Poewe W, Rascol O, et al. Evidence based medical review update:pharmacological and surgical treatments of Parkinson's disease:2001 to 2004.*Mov Disord* 2005; 20:523-39.
49. Fahn S, Jankovic J (eds). *Principles and Practice of Movement Disorders*. Philadelphia:Churchill Livingstone Elsevier 2007;129-165.
50. Jankovic J.Motor fluctuations and dyskinesias in Parkinson's disease:clinical manifestations. *Mov Disord* 2005;20(Suppl 11):S11-S16
51. Vijayakumar D, Jankovic J. Drug-induced dyskinesia, part 1: treatment of levodopa-induced dyskinesia. *Drugs* 2016;76(7):759–777
52. Schrag, A., Quinn, N., 2000. Dyskinesias and motor fluctuations in Parkinson's disease. A community-based study. *Brain* 123 (Pt. 11), 2297–2305.
53. Fahn S. A new look at levedopa based on the ELLDOPA study. *J Neural Transm* 2006;(Suppl)70:419-426.
54. Guttman M. Kish SJ, Furukawa Y. Current concepts in the diagnosis and management of Parkinson's disease..*CMAJ* 2003;168(3):293-301.
55. Rao SS, Hofmann LA, Shakil A. Parkinson's disease:Diagnosis and treatment. *Am Fam Physiician* 2006;74:2046-2054.
56. Olanow CW, Stern MB, Sethi K. The scientific and clinical basis for the treatment of Parkinson disease. *Neurology*. 2009 May 26;72(21 Suppl 4):S1-136

57. Olanow CW, Kieburtz K, Odin P, et al; LCIG Horizon Study Group. Continuous intrajejunal infusion of levodopa-carbidopa intestinal gel for patients with advanced Parkinson's disease: a randomised, controlled, double-blind, double-dummy study. *Lancet Neurol* 2014; 13(2):141–149
58. Lotia M, Jankovic J. New and emerging medical therapies in Parkinson's disease. *Expert Opin Pharmacother* 2016;17(7):895–909
59. LeWitt PA, Hauser RA, Grosset DG, et al. A randomized trial of inhaled levodopa (CVT-301) for motor fluctuations in Parkinson's disease. *Mov Disord* 2016;31(9):1356–1365
60. Oertel W, Schulz JB. Current and experimental treatments of Parkinson disease: A guide for neuroscientists. *J Neurochem* 2016;139(Suppl 1):325–337
61. Mehta SH., Morgan JC, Sethi KD. Sleep disorders associated with Parkinson's disease: role of dopamine, epidemiology, and clinical scales of assessment *CNS Spectr.* 2008 ;13(3 Suppl 4):6-11.
62. Tran T, Brophy JM, Suissa S, Renoux C. Risks of cardiac valve regurgitation and heart failure associated with ergot- and nonergot- derived dopamine agonist use in patients with Parkinson's disease: a systematic review of observational studies. *CNS Drugs* 2015;29(12):985–998
63. Boyle A, Ondo W. Role of apomorphine in the treatment of Parkinson's disease. *CNS Drugs* 2015;29(2):83–89
64. Fox SH, Katzenschlager R, Lim SY, et al. The Movement Disorder Society evidence-based medicine review update: treatments for the motor symptoms of Parkinson's disease. *Mov Disord* 2011;26 (Suppl 3):S2–S41
65. Rezak M. Current Pharmacotherapeutic Treatment options in Parkinson's disease, 2007, *Dis. Mon.* 2007; 53:214-222.
66. Seeberg LC, Hauser RA. Levodopa/carbidopa/entacapone in Parkinson's disease. *Expert Rev Neurother* 2009;9:929-940.
67. Caslake R, Macleod A, Ives N, Stowe R, Counsell C. Monoamine oxidase B inhibitors versus other dopaminergic agents in early Parkinson's disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2009;(4):CD006661
68. Macleod AD, Counsell CE, Ives N, Stowe R. Monoamine oxidase B inhibitors for early Parkinson's disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2005;(3):CD004898
69. Crosby N, Deane KH, Clarke CE. Amantadine in Parkinson's disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2003;(1):CD003468

70. da Silva-Júnior FP, Braga-Neto P, Sueli Monte F, de Bruin VM. Amantadine reduces the duration of levodopa-induced dyskinesia: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Parkinsonism Relat Disord* 2005;11(7):449–452
71. Benabid AL, Chabardès S, Seigneuret E, et al. Surgical therapy for Parkinson's disease. *J Neural Transm Suppl.* 2006;(70):383-92.
72. Hamani C., Neimat J., Losano A.M. Deep brain stimulation for the treatment of Parkinson's disease. *J Neurol Transm.[Suppl]* 2006;70:393-399
73. Ahlskog JE, Muentner MD. Frequency of levodopa-related dyskinesias and motor fluctuations as estimated from the cumulative literature. *Mov Disord.* 2001 May;16(3):448-58.
74. Katzenschlager R, Head J, Schrag A, Ben-Shlomo Y, Evans A, Lees AJ. Fourteen-year final report of the randomized PDRG-UK trial comparing three initial treatments in PD. *Neurology.* 2008 Aug 12;71(7):474-80.
75. Fahn S, Oakes D, Shoulson I, et al. Levodopa and the progression of Parkinson's disease. *N Engl J Med.* 2004 Dec 9;351(24):2498-508.
76. Antonini A, Fung VS, Boyd JT, et al. Effect of levodopa-carbidopa intestinal gel on dyskinesia in advanced Parkinson's disease patients. *Mov Disord.* 2016 Apr;31(4):530-7.
77. Nutt JG, Chung KA, Holford NH. Dyskinesia and the antiparkinsonian response always temporally coincide: a retrospective study. *Neurology.* 2010 Apr 13;74(15):1191-7.
78. Olanow CW, Kieburtz K, Rascol O, et al. Factors predictive of the development of Levodopa-induced dyskinesia and wearing-off in Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2013 Jul;28(8):1064-71
79. Espay AJ, Morgante F, Merola A, Fasano A, Marsili L, Fox SH, Bezard E, Picconi B, Calabresi P, Lang AE. Levodopa-induced dyskinesia in Parkinson disease: Current and evolving concepts. *Ann Neurol.* 2018 Dec;84(6):797-811.
80. Hung SW, Adeli GM, Arenovich T, Fox SH, Lang AE. Patient perception of dyskinesia in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2010 Oct;81(10):1112-5.
81. Nutt JG, Chung KA, Holford NH. Dyskinesia and the antiparkinsonian response always temporally coincide: a retrospective study. *Neurology.* 2010 Apr 13;74(15):1191-7
82. Fuente-Fernandez R, Sossi V, Huang Z, et al. Levodopa-induced changes in synaptic dopamine levels increase with progression of Parkinson's disease: implications for dyskinesias. *Brain.* 2004 12/2004;127(Pt 12):2747-54.

83. Porras G, De Deurwaerdere P, Li Q, et al. L-dopa-induced dyskinesia: beyond an excessive dopamine tone in the striatum. *Scientific reports*. 2014 Jan 16;4:3730
84. Olanow CW, Obeso JA, Stocchi F. Continuous dopamine-receptor treatment of Parkinson's disease: scientific rationale and clinical implications. *Lancet Neurol* 2006;5:677–87.
85. Oh, J.D., Vaughan, C.L., Chase, T.N., 1999. Effect of dopamine denervation and dopamine agonist administration on serine phosphorylation of striatal NMDA receptor subunits. *Brain Res.* 821, 433–442.
86. Gubellini P, Kachidian P. Animal models of Parkinson's disease: An updated overview. *Rev Neurol (Paris)*. 2015 Nov;171(11):750-61
87. Dawson TM, Dawson VL. Molecular pathways of neurodegeneration in Parkinson's disease. *Science* 2003;302(5646):819–22.
88. Gubellini P, Picconi B, Di FM, Calabresi P. Downstream mechanisms triggered by mitochondrial dysfunction in the basal ganglia: from experimental models to neurodegenerative diseases. *Biochim Biophys Acta* 2010;1802(1):151–61.
89. Dauer W, Przedborski S. Parkinson's disease: mechanisms and models. *Neuron* 2003;39(6):889–909.
90. Schapira AH, Cooper JM, Dexter D, Clark JB, Jenner P, Marsden CD. Mitochondrial complex I deficiency in Parkinson's disease. *J Neurochem* 1990;54(3):823–7.
91. Ungerstedt U. 6-Hydroxy-dopamine induced degeneration of central monoamine neurons. *Eur J Pharmacol* 1968;5:107–10.
92. Blandini F, Armentero MT, Martignoni E. The 6-hydroxydopamine model: news from the past. *Parkinsonism Relat Disord* 2008;14(Suppl 2):S124–9.
93. Alves da Costa C, Dunys J, Brau F, Wilk S, Cappai R, Checler F. 6-Hydroxydopamine but not 1-methyl-4-phenylpyridinium abolishes alpha-synuclein anti-apoptotic phenotype by inhibiting its proteasomal degradation and by promoting its aggregation. *J Biol Chem* 2006;281:9824–31.
94. Langston JW, Ballard P, Tetrud JW, Irwin I. Chronic parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis. *Science* 1983;219:979–80.
95. Ungerstedt, U. 1971b. Adipsia and aphagia after 6-hydroxydopamine induced degeneration of the nigro-striatal dopamine system. *Acta. Physiol. Scand. Suppl.* 367: 95–122.

96. Cui M, Aras R, Christian WV, Rappold PM, Hatwar M, Panza J, et al. The organic cation transporter-3 is a pivotal modulator of neurodegeneration in the nigrostriatal dopaminergic pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106:8043–8.
97. Panneton WM, Kumar VB, Gan Q, Burke WJ, Galvin JE. The neurotoxicity of DOPAL: behavioral and stereological evidence for its role in Parkinson disease pathogenesis. *PLoS One* 2010;5:e15251.
98. Dinis-Oliveira RJ, Remiao F, Carmo H, Duarte JA, Navarro AS, Bastos ML, et al. Paraquat exposure as an etiological factor of Parkinson's disease. *Neurotoxicology* 2006;27(6):1110–22.
99. Greenamyre JT, Cannon JR, Drolet R, Mastroberardino PG. Lessons from the rotenone model of Parkinson's disease. *Trends Pharmacol Sci* 2010;31:141–2;
100. Wu YN, Johnson SW. Dopamine oxidation facilitates rotenone-dependent potentiation of N-methyl-D-aspartate currents in rat substantia nigra dopamine neurons. *Neuroscience* 2011.
101. Verstraeten A, Theuns J, Van BC. Progress in unraveling the genetic etiology of Parkinson disease in a genomic era. *Trends Genet* 2015;31(3):140–9.
102. Antony PM, Diederich NJ, Balling R. Parkinson's disease mouse models in translational research. *Mamm Genome* 2011;22(7–8):401–19.
103. Dawson TM, Ko HS, Dawson VL. Genetic animal models of Parkinson's disease. *Neuron* 2010;66(5):646–61.
104. Kitada T, Tong Y, Gautier CA, Shen J. Absence of nigral degeneration in aged parkin/DJ-1/PINK1 triple knockout mice. *J Neurochem* 2009;111(3):696–702.
105. Blanchet PJ, Calon F, Morissette M, Hadj Tahar A, Belanger N, Samadi P, et al. Relevance of the MPTP-primate model in the study of dyskinesia priming mechanisms. *Parkinsonism Relat Disord* 2004;10:297–304.
106. Chase TN, Konitsiotis S, Oh JD. Striatal molecular mechanisms and motor dysfunction in Parkinson's disease. *Adv Neurol*, 2001;86:355-60
107. Di Chiara GD, Morelli M, Barone P, Pontieri F. Priming as a model of behavioral sensitization. *Dev Pharmacol Ther*, 1992;18:223–227.

108. Fahn S, Oakes D, Shoulson I, Kieburtz K, Rudolph A, Lang A, Olanow CW, Tanner C, Marek K; Parkinson Study Group. Levodopa and the progression of Parkinson's disease. *N Engl J Med*, 2004;351:2498-508.
109. Cenci MA, Whishaw IQ, Schallert T. Animal models of neurological deficits: how relevant is the rat? *Nat Rev Neurosci*, 2002;3:574–579.
110. Ungerstedt U. Postsynaptic supersensitivity after 6-hydroxy-dopamine induced degeneration of the nigro-striatal dopamine system. *Acta Physiol Scand*, 1971a;367:69-93.
111. Schwarting, R. K. and J. P. Huston, 1996. Unilateral 6-hydroxydopamine lesions of meso-striatal dopamine neurons and their physiological sequelae. *Prog. Neurobiol.* 49: 215–266.
112. Ungerstedt, U. 1968. 6-Hydroxy-dopamine induced degeneration of central monoamine neurons. *Eur. J. Pharmacol.* 5: 107–110.
113. Jenner P, Boyce S, Marsden CD. Receptor changes during chronic dopaminergic stimulation. *J Neural Transm*, 1988;27:161-75.
114. Ungerstedt, U. 1971b. Adipsia and aphagia after 6-hydroxydopamine induced degeneration of the nigro-striatal dopamine system. *Acta. Physiol. Scand. Suppl.* 367: 95–122.
115. Deumens R, A. Blokland and J. Prickaerts, Modeling Parkinson's disease in rats: an evaluation of 6-OHDA lesions of the nigrostriatal pathway, *Exp Neurol* 175 (2002) (2), pp. 303–317
116. Di Chiara GD, Morelli M, Barone P, Pontieri F. Priming as a model of behavioral sensitization. *Dev Pharmacol Ther*, 1992;18:223–227.
117. Henry B, Crossman AR, Brotchie JM. Characterization of enhanced behavioral responses to L-Dopa following repeated administration in the 6-hydroxydopamine-lesioned rat model of Parkinson's disease. *Exp. Neurol*, 1998;151:334–342.
118. Papa SM, Engber TM, Kask AM, Chase TN. Motor fluctuations in levodopa treated parkinsonian rats: relation to lesion extent and treatment duration. *Brain Res*, 1994;662:69-74.
119. Lundblad M, Andersson M, Winkler C, Kirik D, Wierup N, Cenci MA. Pharmacological validation of behavioural measures of akinesia and dyskinesia in a rat model of Parkinson's disease. *Eur J Neurosci* 2002;151:120–132.



120. Schallert T, Fleming SM, Leasure JL, Tillerson JL, Bland ST. CNS plasticity and assessment of forelimb sensorimotor outcome in unilateral rat models of stroke, cortical ablation, parkinsonism and spinal cord injury. *Neuropharmacology*. 2000 Mar 3;39(5):777-87.
121. Lee CS, Cenci MA, Schulzer M, Bjorklund A. Embryonic ventral mesencephalic grafts improve levodopa – induced dyskinesia in a rat model of Parkinson's disease. *Brain*, 2000;123:1365-79.
122. Gutierrez-Valdez AL, Anaya-Martínez V, Ordoñez-Librado JL, García-Ruiz R, Torres-Esquivel C, Moreno-Rivera M, Sánchez-Betancourt J, Montiel-Flores E, Avila-Costa MR. Effect of chronic L-dopa or melatonin treatments after dopamine deafferentation in rats: dyskinesia, motor performance, and cytological analysis. *ISRN Neurol*. 2012;2012:360379.
123. Fahn S, Oakes D, Shoulson I, Kieburtz K, Rudolph A, Lang A, Olanow CW, Tanner C, Marek K; Parkinson Study Group. Levodopa and the progression of Parkinson's disease. *N Engl J Med*, 2004;351:2498-508.
124. Goldstein M, Battista AF, Ohmoto T, Anagnoste B, Fuxe K. Tremor and involuntary movements in monkeys: effect of L-dopa and of a dopamine receptor stimulating agent. *Science*. 1973 Feb 23;179(4075):816-7.
125. Schneider JS. Levodopa-induced dyskinesias in parkinsonian monkeys: relationship to extent of nigrostriatal damage. *Pharmacol Biochem Behav*, 1989;34:193–196.
126. Marras C, Lang A, Krahn M, Tomlinson G, Naglie G; Parkinson Study Group. Quality of life in early Parkinson's disease: impact of dyskinesias and motor fluctuations. *Mov Disord*, 2004;19:22-8.
127. Chase TN. The significance of continuous dopaminergic stimulation in the treatment of Parkinson's disease. *Drugs* 1998;55:1–9
128. Stocchi F, Olanow CW. Continuous dopaminergic stimulation in early and advanced Parkinson's disease. *Neurology* 2004;62:S56-63.
129. Arabia G, Zappia M, Bosco D, Crescibene L, Bagala A, Bastone L, Caracciolo M, Scornaienghi M, Quattrone A. Body weight, levodopa pharmacokinetics and dyskinesia in Parkinson's disease. *Neurol Sci* 2002;23:S53-4.
130. Rajput AH, Fenton ME, Birdi S, et al. Clinical-Pathological study of levodopa complications. *Mov Disord* 2002;17:289-296.
131. Blanchet PJ. Rationale for use of dopamine agonists in Parkinson's disease: review of ergot derivatives. *Can J Neurol Sci* 1999;26:S21-6.
132. Nutt JG. Continuous dopaminergic stimulation: is it the answer to the motor complications of levodopa? *Mov Disord* 2007;22:1-9.