



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΙΑΤΡΙΚΟ ΤΜΗΜΑ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΒΑΣΙΚΕΣ ΙΑΤΡΙΚΕΣ ΕΠΙΣΤΗΜΕΣ

ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΣΥΝΟΔΟΙ ΚΑΙ ΝΕΥΡΟΕΚΦΥΛΙΣΤΙΚΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ

ΠΑΝΤΕΛΗΣ ΜΠΟΥΡΑΖΑΝΗΣ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2017



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΙΑΤΡΙΚΟ ΤΜΗΜΑ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΒΑΣΙΚΕΣ ΙΑΤΡΙΚΕΣ ΕΠΙΣΤΗΜΕΣ

ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΣΥΝΟΔΟΙ ΚΑΙ ΝΕΥΡΟΕΚΦΥΛΙΣΤΙΚΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ

ΠΑΝΤΕΛΗΣ ΜΠΟΥΡΑΖΑΝΗΣ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2017

«Η έγκριση του Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης από το Τμήμα Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα Ν. 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2 (νομική κατοχύρωση του Ιατρικού Τμήματος)»

ΠΑΝΤΕΛΗΣ ΜΠΟΥΡΑΑΝΗΣ

ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΣΥΝΟΔΟΙ ΚΑΙ ΝΕΥΡΟΕΚΦΥΛΙΣΤΙΚΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ

ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΑΓΓΕΛΙΔΗΣ Χ

ΣΥΡΡΟΥ Μ

ΓΑΛΑΡΗΣ Δ

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗΣ 23-2-2017

*Αφιερώνεται στους γονείς μου
που πάντα με στήριζαν στην πανεπιστημιακή σταδιοδρομία μου*

Πρόλογος

Από την θέση μου αυτή θα ήθελα να εκφράσω τις ιδιαίτερες ευχαριστίες μου στον επιβλέπων καθηγητή μου και διευθυντή του μεταπτυχιακού προγράμματος Βασικών Ιατρικών Επιστημών κ. Χαράλαμπο Αγγελίδη ο οποίος μου έδωσε την ευκαιρία να ασχοληθώ με την Βιολογία σε μεταπτυχιακό επίπεδο και να γνωρίσω και άλλες περιοχές ενδιαφέροντος πέρα από την Φυσική την οποία σπούδασα. Τον ευχαριστώ επίσης για το ενδιαφέρον θέμα της εργασίας με το οποίο ασχολήθηκα. Ευχαριστώ επίσης τα μέλη και καθηγητές μου του εργαστηρίου Βιολογίας της Ιατρικής σχολής οι οποίοι μου συμπεριφέρθηκαν πάντα με τον καλύτερο τρόπο κατά την διάρκεια των μεταπτυχιακών μου σπουδών.

Επίσης ευχαριστώ του γονείς μου οι οποίοι ποτέ δεν σταμάτησαν να με βοηθούν στις σπουδές μου παρ' όλες τις πολύ δύσκολες οικονομικές συνθήκες που βιώνουμε τα τελευταία έξι χρόνια. Χωρίς την υλική και ηθική βοήθειά τους δεν θα είχα καταφέρει να ολοκληρώσω τις προπτυχιακές και μεταπτυχιακές σπουδές μου.

Παντελής Μπουραζάνης

Ιωάννινα 2016

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Κεφάλαιο 1: Νευροεκφυλιστικές ασθένειες

1.1 Ιστορική αναδρομή-Εισαγωγή	10
1.2 Κατηγορίες νευροεκφυλιστικών ασθενειών και κοινά χαρακτηριστικά τους.....	11
1.3 Η νόσος Parkinson	14
1.3.1 Η γενετική του Parkinson	17
1.3.2 a-synuclein (PARK1)	17
1.3.3 PARK2	17
1.3.4 DINK1 (PARK6)	18
1.3.5 DJ1 (PARK7)	18
1.3.6 LRRK2 (PARK8)	18
1.4 Alzheimer's	19
1.4.1 Η γενετική της νόσου Alzheimer	19
1.4.2 Η παθογένεση της νόσου Alzheimer	21
1.5 Η νόσος Huntington-Εισαγωγή.....	24
1.5.1 Η παθογένεση της νόσου Huntington	25
1.5.2 Μεταμεταφραστικές τροποποιήσεις της πρωτεΐνης Huntingtin	27

Κεφάλαιο 2: Μοριακοί συνοδοί και ο ρόλος τους στις νευροεκφυλιστικές ασθένειες

2.1 Μοριακοί συνοδοί	28
2.2 Χαρακτηρισμός και λειτουργίες μοριακών συνοδών	32
2.3 Ο ρόλος της πρωτεΐνης Hsp70 στη νόσο Alzheimer	35
2.4 Η πρωτεΐνη Hsp90 στο Alzheimer	38
2.5 Οι ρόλοι της πρωτεΐνης Hsp70 και των συν-συνοδών της στη νόσο του Parkinson	41

2.6 Ο ρόλος των μοριακών συνοδών DNAJB6 και DNAJB8 στην εμπόδιση της συσσωμάτωσης πεπτιδίων πολυγλουταμίνης47

2.6.1 Η πυρηνική πρωτεΐνη DNAJB6a μειώνει την συσσωμάτωση στον πυρήνα και στο κυτταρόπλασμα52

Κεφάλαιο 3: Θεραπευτικές προσεγγίσεις έναντι των νευροεκφυλιστικών διαταραχών

3.1 Θεραπείες τροποποίησης κατά της νόσου Alzheimer55

3.2 Πρωτεΐνες που συμβάλλουν στην εκκαθάριση του Αβ αμυλοειδούς59

3.3 Εκκαθάριση του Αβ αμυλοειδούς61

3.4 Στόχευση του μοριακού συνοδού Hsp90 και των συν-συνοδών του για την θεραπεία του Alzheimer62

3.5 Θεραπείες βασισμένες σε μοριακούς συνοδούς για τη νόσο Parkinson64

3.5.1 Φάρμακα που ρυθμίζουν θετικά την λειτουργία των μοριακών συνοδών64

3.5.2 Φάρμακα με ενεργότητα μοριακών συνοδών65

3.6 Θεραπείες κατά της νόσου Huntington69

3.6.1 Αντιψυχωσικά και αντιαγχολυτικά φάρμακα κατά της νόσου Huntington69

3.6.2 Φάρμακα υπό ανάπτυξη κατά της νόσου Huntington70

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 ΝΕΥΡΟΕΚΦΥΛΙΣΤΙΚΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ

1.1 ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ-ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι νευροεκφυλιστικές ασθένειες ορίζονται ως διαταραχές με επιλεκτική απώλεια νευρικών κυττάρων σε συγκεκριμένες ανατομικές περιοχές (Kovacs, et al, 2015). Σε αυτές τις παθήσεις υπάρχει εκφυλισμός των νευρώνων¹, αλλά σε αυτές δεν συμπεριλαμβάνονται παθήσεις που προσβάλλουν το έλυτρο μυελίνης, τραυματισμοί των νευρών, ισχαιμία και λοιμώξεις όπου η εκφύλιση των νευρώνων είναι δευτεροπαθής.

Η νευρολογία την δεκαετία του 60 βασιζόταν κυρίως στην κλινική εξέταση των ασθενών για τη διάγνωση των νευρικών παθήσεων, καθώς οι διάφορες απεικονιστικές μέθοδοι όπως η μαγνητική τομογραφία «MRI», η αξονική τομογραφία «CT» και άλλες δεν υπήρχαν. Έτσι η γνώση του εγκεφάλου ουσιαστικά αυξήθηκε από την δεκαετία του 80 όπου ξεκίνησαν εκτεταμένες μελέτες του εγκεφάλου με την χρήση των απεικονιστικών τεχνικών. Από το 1980 και μετά άρχισε η έρευνα για την φύση των πλακών στον εγκέφαλο ασθενών που πάσχουν από «Alzheimer». Συγκεκριμένα το 1984 βρέθηκε ότι οι πλάκες περιέχουν το β-αμυλοειδές και ότι τα νευροινιδικά έγκλειστα την πρωτεΐνη «tau». Ταυτόχρονα με την χρήση ανοσοιστοχημείας βρέθηκαν συσσωρευμένες πρωτεΐνες σε πολλές νευροεκφυλιστικές ασθένειες και ξεκίνησε η ταυτοποίησή τους.

Η χρήση των απεικονιστικών τεχνικών της Φυσικής είχε ως αποτέλεσμα την αναγνώριση των νευροεκφυλιστικών ασθενειών από τους νευρολόγους από αλλαγές στην ανατομία του εγκεφάλου που παρατηρούνταν σε ασθενείς που έπασχαν από αυτές τις παθήσεις. Επιπλέον, μεγάλη επανάσταση έγινε και στην γενετική αυτών των ασθενειών που αύξησε τις γνώσεις μας για τις νευροεκφυλιστικές ασθένειες. Το 1993 απομονώθηκε το γονίδιο στο χρωμόσωμα 4 που ευθύνεται για χορεία «Huntington» (HD) και ταυτόχρονα άρχισαν να ανακαλύπτονται περισσότερα γονίδια υπεύθυνα για αυτές τις ασθένειες, όπως : «percenilin» 1995 για το «Alzheimer's» (AD), και «a-synuclein» 1999 για το «Parkinson» (PD).

Σήμερα, με την μεγάλη επιστημονική πρόοδο σε τομείς όπως η Μοριακή Βιολογία έχουν ανακαλυφθεί και άλλα γονίδια που εμπλέκονται σε αυτές τις ασθένειες, και παράλληλα γίνεται μια προσπάθεια να ανακαλυφθεί η λειτουργία των φυσιολογικών και των

¹ Εκφυλισμός των νευρώνων ή νευροεκφύλιση είναι η διαταραχή της δομής- λειτουργίας των νευρώνων.

μεταλλαγμένων πρωτεϊνών, με σκοπό την διερεύνηση και την πιθανή θεραπεία των νευροεκφυλιστικών ασθενειών

1.2 Κατηγορίες νευροεκφυλιστικών ασθενειών και κοινά χαρακτηριστικά τους

Στις νευροεκφυλιστικές ασθένειες ανήκουν κυρίως η νόσος «Alzheimer», το «Parkinson», η χορεία «Huntington», η πλάγια μυατροφική σκλήρυνση και άλλες. Στα πλαίσια αυτής της εργασίας θα ασχοληθούμε με τις κυριότερες νευροεκφυλιστικές ασθένειες που προσβάλλουν τον ανθρώπινο πληθυσμό σε μεγαλύτερες ηλικίες και συγκεκριμένα με τις : «Parkinson», «Alzheimer», και «Huntington».

Κατά την κλασική ταξινόμηση των νευροεκφυλιστικών ασθενειών παρουσιάζονται προβλήματα για τους εξής λόγους :

- Υπάρχουν πολλές νευροεκφυλιστικές ασθένειες.
- Έχουν αλληλεπικαλυπτόμενη κλινική και παθολογοανατομική εικόνα.
- Πολλές ασθένειες χρειάζεται να εξελιχθούν σχεδόν πλήρως για να δώσουν μια πιο σαφή τοπογραφική και κλινική εικόνα.
- Άνοια παρατηρείται και σε πολλές άλλες μη νευροεκφυλιστικές ασθένειες εκτός από το «Alzheimer».
- Ο τρόμος ηρεμίας, η δυσκαμψία και άλλα κλινικά χαρακτηριστικά δεν παρατηρούνται μόνο στο «Parkinson», αλλά και σε πολλές παθήσεις των βασικών γαγγλίων.

Πρόσφατες έρευνες στην Γενετική και στη Μοριακή Βιολογία οδήγησαν στην μοριακή ταξινόμηση αυτών των ασθενειών εφόσον τα αίτια των νευροεκφυλιστικών ασθενειών (NDDs) είναι μοριακά. Αυτές ταξινομούνται μοριακά σε «tauopathies» (AD, φλοιοβασική εκφύλιση) όπου εμπλέκεται η πρωτεΐνη «tau» των μικροσωληνίσκων, σε

«synucleinopathies» (PD, πολλαπλή ατροφία, κ.α) (Ozawa et al, 2006), με την πρωτεΐνη *α-synuclein* που φαίνεται ότι έχει συνεισφορά. (Nieoullon et al, 2011).

Η διάκριση των «NDDs» έχει σημασία διότι παρόλο που φαίνονται εντελώς διαφορετικές έχουν κοινά χαρακτηριστικά (κοινοί μοριακοί μηχανισμοί) με διαφορετικές κλινικές εκφράσεις όπως πιστεύεται σήμερα. Συνεπώς η διερεύνηση των μοριακών μηχανισμών που εμπλέκονται σε αυτές τις ασθένειες και η αποσαφήνισή τους θα βοηθήσει στην πρόληψη και στην καλύτερη αντιμετώπιση τους.

Το πιο κοινό χαρακτηριστικό των νευροεκφυλιστικών ασθενειών είναι η ίδια προοδευτικότητα του θανάτου των νευρικών κυττάρων και αυτό συνεισφέρει στη δυσκολία καθιέρωσης μοντέλων ασθενειών σε ζώα (Nieoullon, et al, 2011). Το πρόβλημα των «NDDs» είναι αρκετά πολύπλοκο και δεν μπορεί να επιλυθεί με απενεργοποίηση ή υπερέκφραση ενός γονιδίου και μόνο, καθώς εμπλέκονται διάφορα γονίδια όπως θα δούμε σε επόμενη παράγραφο και οι παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί δημιουργίας των συγκεκριμένων ασθενειών παραμένουν εν γένει άγνωστοι.

Κοινό γνώρισμα πολλών «NDDs» είναι η διαταραχή της αναδίπλωσης των πρωτεϊνών και η σταδιακή συσσώρευσή τους η οποία οδηγεί στην δημιουργία πλακών στον εγκέφαλο, όπως είναι οι αμυλοειδείς πλάκες στη νόσο «Alzheimer», ή τα ενδονευρικά έγκλειστα. Οι μη αναδιπλωμένες πρωτεΐνες ή αυτές με λανθασμένη αναδίπλωση έχουν τοξική δράση και ως εκ τούτου επάγουν την εκφύλιση των νευρικών κυττάρων. Έτσι θεωρούμε με βάση επιστημονικά δεδομένα ότι οι ασθένειες αυτές είναι παθήσεις των πρωτεϊνών και κατατάσσονται σε πρωτεϊνοπάθειες.

Η συσσώρευση των μη αναδιπλούμενων πρωτεϊνών είναι πολυσταδιακή διαδικασία και η παθογένειά τους οφείλεται στην συσσώρευσή τους. Τα βήματα της διαδικασίας συσσώρευσής τους είναι τα κάτωθι :

1. Η πρωτεΐνη που είναι συγκεκριμένη σε κάθε ασθένεια παρουσιάζει διαταραχή στην αναδίπλωσή της που μπορεί να οφείλεται σε μετάλλαξη του γονιδίου που την κωδικοποιεί.
2. Αρχικά δημιουργεί διμερή και στη συνέχεια ολιγομερή
3. Πρόσθετος πολυμερισμός της οδηγεί σε σχηματισμό πρωτοινιδίων

4. Τα πρωτοινίδια συσσωρεύονται ακόμη περισσότερο σε ίνες που δημιουργούν εναποθέσεις με την μορφή ενδονευρικών εγκλείστων ή εξωκυττάρων πλακών

Άλλο πρόσφατο χαρακτηριστικό των «NDDs» σχετίζεται με την επιλεκτική συστημική πτυχή των εγκεφαλικών βλαβών, την χρονική περίοδο που ξεκινά η νευροεκφυλιστική νόσος. Αυτό που χρειάζεται να διερευνηθεί είναι ποια νευρικά συστήματα σε σχέση με άλλα 'προτιμούν' οι διάφορες νευροεκφυλιστικές ασθένειες και ποια επηρεάζονται περισσότερο ή λιγότερο σε σχέση με άλλα. Αυτό ίσως θα βοηθούσε στην καλύτερη πρόληψη και αντιμετώπιση των ασθενειών αυτών και ελπίζουμε σε μελλοντική αντιμετώπισή τους.

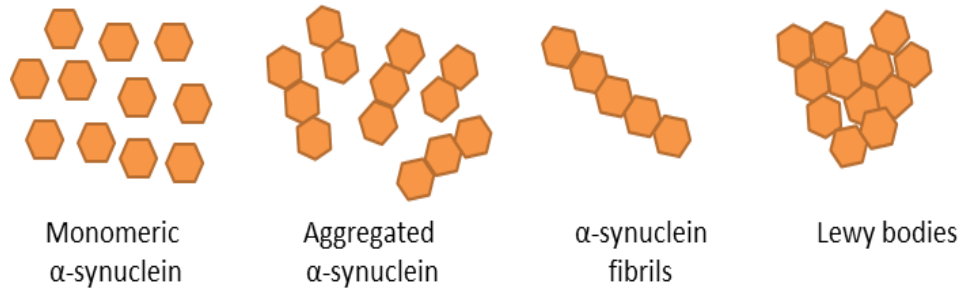
1.3 Η νόσος Parkinson

Η νόσος «Parkinson» ανήκει στις νευροεκφυλιστικές ασθένειες μαζί με πλήθος άλλων οι κυριότερες των οποίων είναι το «Alzheimer», η νόσος «Huntington», κ.α. Αποτελεί την δεύτερη πιο συχνή νευροεκφυλιστική διαταραχή μετά από το «Alzheimer» και επηρεάζει 6.3 εκατομμύρια ανθρώπους παγκοσμίως. Το ετήσιο κόστος της ασθένειας στην Ευρώπη εκτιμάται στα 13.9 δισεκατομμύρια ευρώ (Olszewska, et al, 2016). Τα στοιχεία αυτά δείχνουν ότι η συγκεκριμένη ασθένεια έχει μεγάλο κοινωνικό και οικονομικό κόστος, και ως εκ τούτου θεωρείται πολύ σοβαρή και για άλλους λόγους.

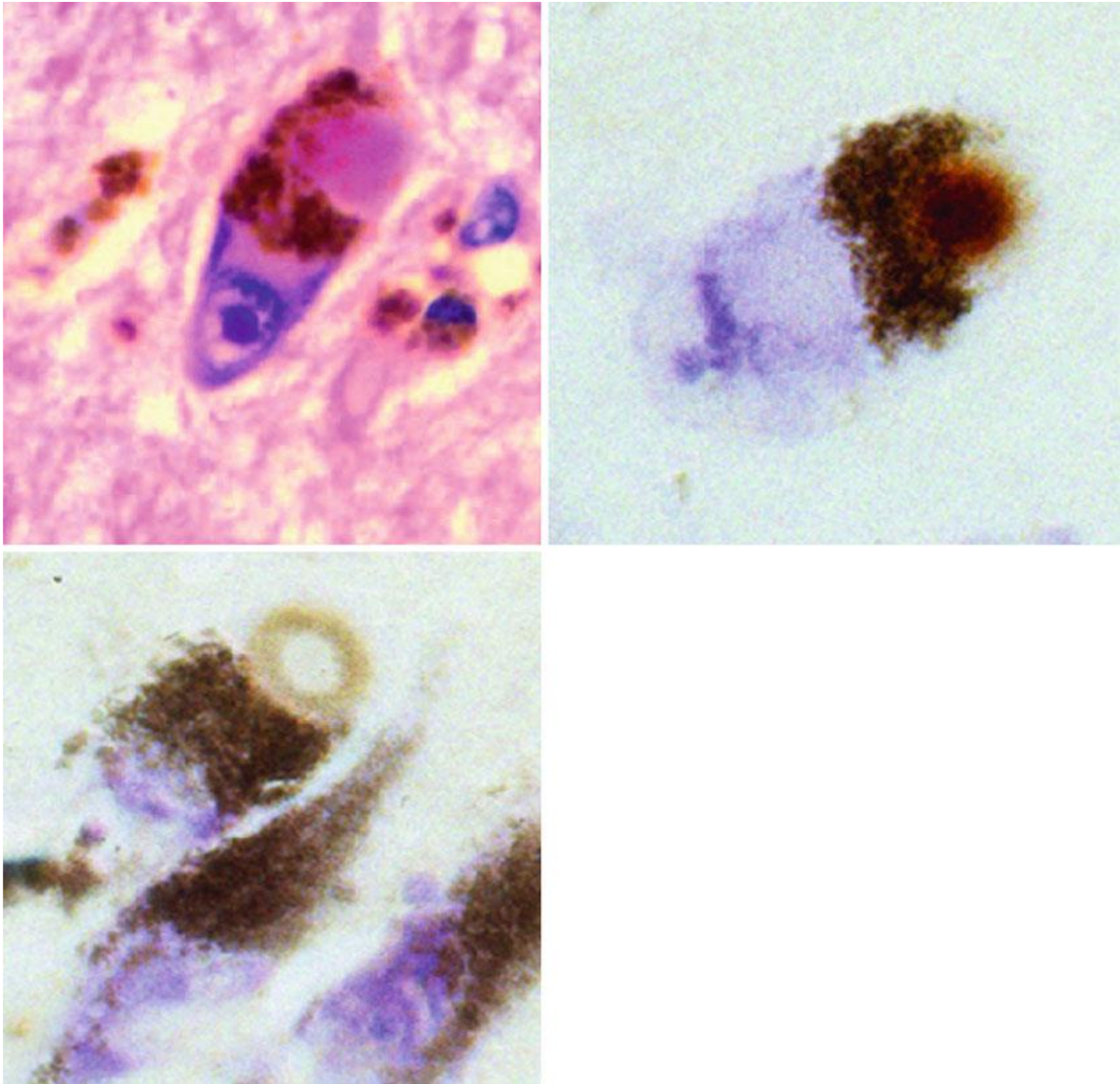
Η πλειοψηφία των περιπτώσεων θεωρείται ιδιοπαθής ασθένεια, με κλινικά συμπτώματα των οποίων τα κυριότερα είναι η βραδυκίνηση, ο τρόμος ηρεμίας, και η αστάθεια. Υπάρχουν και άλλα συμπτώματα της ασθένειας όπως είναι η κατάθλιψη, η άνοια που είναι κοινό σύμπτωμα των περισσότερων νευροεκφυλιστικών διαταραχών, και η διαταραχή ύπνου. Τα αίτια της ασθένειας θεωρούνται ότι είναι γενετικά, με διάφορα εμπλεκόμενα γονίδια τα οποία θα αναφερθούν με μεγαλύτερη λεπτομέρεια σε επόμενο εδάφιο, καθώς επίσης και περιβαλλοντικά. Στα περιβαλλοντικά αίτια ανήκουν ουσίες όπως βαρέα μέταλλα, εθιστικά ναρκωτικά, και ακόμη ένας ιός θα μπορούσε να συμβάλει στην εμφάνιση της ασθένειας (Sleegers et al. 2010).

Παρόλα αυτά επιδημιολογικές μελέτες δείχνουν ότι η έκθεση σε τέτοιους περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως αυτοί που αναφέρθηκαν παραπάνω, έστω και αν η έκθεση είναι έντονη και συνεχής δεν αρκεί για να επάγει από μόνη της τις νευροεκφυλιστικές ασθένειες (Dick et al. 2006).

Η ιδιοπαθής νόσος «Parkinson» είναι το αποτέλεσμα της εκφύλισης των νευρώνων στη φαιά ουσία του εγκεφάλου. Παθολογικά, σχηματίζεται από την πρωτεΐνη «α-synuclein», η οποία αποτελεί συστατικό των σωματίων «Lewy», και η συσσωμάτωσή της παίζει ρόλο στην ασθένεια.



Εικόνα 1: Στην εικόνα παρατηρούμε τα στάδια συσσωμάτωσης της πρωτεΐνης α -synuclein, μέχρι τον σχηματισμό των σωματίων «Lewy» η οποία εμπλέκεται στο «Parkinson». **Πηγή:** «Wikipedia»



Εικόνα 2: *a)* Νευρώνας που περιέχει σωματίο «Lewy» στον μεσεγκέφαλο. *b)* Ο πυρήνας κάθε σωματίου «Lewy» περιέχει την πρωτεΐνη α -synuclein. *c)* που είναι έντονα ανοσοαντιδραστική για την ουβικιτίνη.

1.3.1 Η γενετική του Parkinson

Για τις περισσότερες νευροεκφυλιστικές ασθένειες τα αίτια παραμένουν άγνωστα. Κυρίως για το «Alzheimer» και το «Parkinson» η ηλικία θεωρείται σημαντικός παράγοντας στην εμφάνισή τους. Γι' αυτό άλλωστε οι ασθενείς που εμφανίζουν αυτές τις ασθένειες είναι συνήθως μεγάλης ηλικίας, εφόσον η πιθανότητα εμφάνισης των δύο αυτών ασθενειών αυξάνει όσο αυξάνει η ηλικία.

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, είναι αποδεκτό ότι τα αίτια των νευροεκφυλιστικών ασθενειών είναι και γενετικά, και περιβαλλοντικά και ότι δρουν συνδυαστικά στην εμφάνισή τους έστω και αν η συγκεκριμένη άποψη δεν έχει αποδειχθεί πλήρως επιστημονικά. Τα γενετικά αίτια της ασθένειας «Parkinson», περιλαμβάνουν μεταλλάξεις κάποιων γονιδίων που θα αναφερθούν με λεπτομέρεια παρακάτω και αυτό θα εξηγούσε γιατί κάποιοι άνθρωποι αναπτύσσουν την ασθένεια και κάποιοι άλλοι όχι ακόμη και αν βρίσκονται στο ίδιο περιβάλλον. Ας δούμε όμως αναλυτικότερα τα γενετικά αίτια του «Parkinson» όπως πιστεύουμε σήμερα.

1.3.2 α -synuclein (PARK 1)

Το γονίδιο που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη α -synuclein, εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 4q21.3. Η συγκεκριμένη πρωτεΐνη είναι προσυναπτική, αλλά με άγνωστη λειτουργία, και είναι παρούσα στα σωμάτια «Lewy» με συνεισφορά στο «Parkinson». Ο διπλασιασμός και τριπλασιασμός του γονιδίου της συγκεκριμένης πρωτεΐνης προκαλεί οικογενή Παρκινσονισμό («PARK» 4), υποδεικνύοντας ότι η υπερέκφραση της φυσιολογικής πρωτεΐνης α αρκεί για να προκαλέσει ντοπαμινεργική νευροεκφύλιση. Υπάρχει διάσταση απόψεων σχετικά με το αν τα σωμάτια Lewy συνεισφέρουν στην παθογένεση του «Parkinson», ή αν η συσσώρευση της πρωτεΐνης « α -synuclein» σε ινίδια μέχρι τον σχηματισμό των σωματίων «Lewy» αποτελεί προσπάθεια του κυττάρου να αυτοπροστατευτεί από τα τοξικά α ολιγομερή.

1.3.3 PARK 2

Το γονίδιο PARK 2 βρίσκεται στο χρωμόσωμα 6q25.2-27 και θεωρείται η πιο κοινή γενετική αιτία για την εμφάνιση του πρώιμου «Parkinson», δηλαδή σε ηλικίες κάτω των 50

ετών. Οι μεταλλάξεις του εν λόγω γονιδίου μπορεί να έχουν τα τυπικά χαρακτηριστικά του ιδιοπαθούς «Parkinson» και επίσης παρουσιάζεται δυστονία κ. α.

1.3.4 PINK1 (PARK 6)

Οι μεταλλάξεις του συγκεκριμένου γονιδίου, είναι η δεύτερη πιο συχνή αιτία της ασθένειας σε νεαρή ηλικία με αυτοσωμική υπολειπόμενη κληρονομικότητα. Το γονίδιο «PARK 6» εντοπίζεται στα μιτοχόνδρια και κωδικοποιεί μία μιτοχονδριακή πρωτεΐνη που αποτελεί συστατικό των σωματίων «Lewy» σε προχωρημένο στάδιο της ασθένειας. Το γεγονός αυτό υποδηλώνει τον πιθανό προστατευτικό ρόλο των μιτοχονδρίων ενάντια στην ασθένεια (Nieoullon, et al, 2011).

1.3.5 DJ1 (PARK 7)

Η πρωτεΐνη «DJ1» κωδικοποιείται από το γονίδιο «PARK 7» το οποίο εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 1p36.23. Οι μεταλλάξεις του γονιδίου αυτού είναι υπεύθυνες για το 1-2% των περιπτώσεων ασθενών με πρώιμο οικογενειακό «Parkinson», στο οποίο παρουσιάζονται κάποια συγκεκριμένα χαρακτηριστικά όπως δυστονία και νευροψυχιατρικές διαταραχές. Το γονίδιο αυτό εντοπίζεται στα μιτοχόνδρια μαζί με το «PARK 6» και ο ρόλος της φυσιολογικής πρωτεΐνης που κωδικοποιεί είναι να προστατεύει τα κύτταρα από το οξειδωτικό στρες και από κυτταρικό θάνατο.

1.3.6 LRRK2 (PARK 8)

Το γονίδιο «PARK 8» εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 12q12 και κωδικοποιεί την πρωτεΐνη «LRRK2» που ανήκει στην οικογένεια των πλούσια σε λευκίνη επαναλαμβανόμενων κινασών. Έχουν βρεθεί επτά μεταλλάξεις στο εν λόγω γονίδιο και θεωρούνται η πιο συχνή γενετική αιτία του οικογενειακού «Parkinson». Οι μεταλλάξεις του συγκεκριμένου γονιδίου υπάρχουν σε ποσοστό 20-40% των περισσότερων περιπτώσεων ασθενών από εθνικότητες όπως Άραβες, Εβραίοι και Βόρειοι Αφρικανοί. που πάσχουν από τη νόσο, ενώ για τους Καυκάσιους το ποσοστό είναι 5%.

1.4 Alzheimer

Η νόσος «Alzheimer» είναι προοδευτική νευροεκφυλιστική ασθένεια και η πιο συνήθης από όλες τις νευροεκφυλιστικές διαταραχές. Θεωρείται ασθένεια της τρίτης ηλικίας, καθώς συναντάται σε ασθενείς άνω των 60 ετών και αυξάνει εκθετικά με την αύξηση της ηλικίας. Χαρακτηριστικά της ασθένειας είναι η απώλεια μνήμης, διάφορα νευροψυχιατρικά συμπτώματα, και λειτουργικά προβλήματα.

Παθολογικά, στους πάσχοντες ασθενείς παρατηρείται εναπόθεση αμυλοειδών πλακών και νευροϊνιδικά συμπλέγματα στον εγκέφαλό τους, τα οποία σχετίζονται με νευρική δυσλειτουργία και κυτταρικό θάνατο. Επίσης, είναι η πιο κοινή μορφή άνοιας με συνεισφορά 50-60% των περιπτώσεων αυτής, εκτός των άλλων συμπτωμάτων που αναφέρθηκαν.

Η ασθένεια επηρεάζει ολοένα και περισσότερους ανθρώπους ανά τον κόσμο σήμερα, και εκτιμάται ότι μέχρι το 2040 οι πάσχοντες θα φθάσουν 81.1 εκατομμύρια (**Gallagher, et al, 2016**). Η νόσος «Alzheimer» θεωρείται και αυτή πολυπαραγοντική και εκτός από την προχωρημένη ηλικία που αποτελεί παράγοντα κινδύνου, γενετικά αίτια και περιβαλλοντικοί παράγοντες παίζουν σημαντικό ρόλο στην εξέλιξή της.

1.4.1 Η γενετική της νόσου Alzheimer

Η πλειοψηφία των ασθενών που πάσχουν από την συγκεκριμένη νόσο, είναι στο μεγαλύτερο ποσοστό άνω των 65 ετών, ενώ ένα μικρό ποσοστό περίπου 2% ίσως κληρονομούν την ασθένεια με αυτοσωμικό κυρίαρχο τρόπο. Οι αυτοσωμικές κυρίαρχες μορφές της ασθένειας σχετίζονται με μεταλλάξεις σε ένα από τα ακόλουθα γονίδια: «APP» στο χρωμόσωμα 21, «Presenilin 1 (PS1)» στο χρωμόσωμα 14, και «Presenilin 2 (PS2)» στο χρωμόσωμα 1. Οι πιο κοινές μεταλλάξεις είναι στο γονίδιο APP σε σχέση με τα άλλα δύο, αλλά και τα τρία γονίδια μαζί συνεισφέρουν στην παραγωγή του β-αμυλοειδούς, πρωτεΐνη που αποτελεί συστατικό των αμυλοειδών πλακών που φαίνονται στο «Alzheimer's».

Ο πιο σημαντικός γενετικός δείκτης για την νόσο είναι το γονίδιο «APOE». Έχουν βρεθεί τρία αλληλόμορφα γονίδια τα e2, e3, e4, με το τελευταίο να σχετίζεται με την ανάπτυξη της νόσου και το e2 επιδημιολογικές μελέτες έδειξαν ότι πιθανότατα προστατεύει από το «Alzheimer's» (**Gallagher, et al, 2016**). Το «APOE» δρα ως διαβιβαστής

χοληστερόλης στον εγκέφαλο και μεσολαβεί στην προστασία των νευρικών κυττάρων και στην επιδιόρθωσή τους. Το αλληλόμορφο γονίδιο «APOE 4» έχει συσχετιστεί με αυξημένη επικινδυνότητα της ασθένειας, με περισσότερα και σοβαρότερα νευροψυχιατρικά συμπτώματα, μειωμένο χρόνο επιβίωσης και αυξημένη εναπόθεση αμυλοειδών πλακών στον εγκέφαλο πασχόντων ασθενών. Ο πίνακας που ακολουθεί δείχνει αναλυτικότερα τα γονίδια που εμπλέκονται στο «Alzheimer».

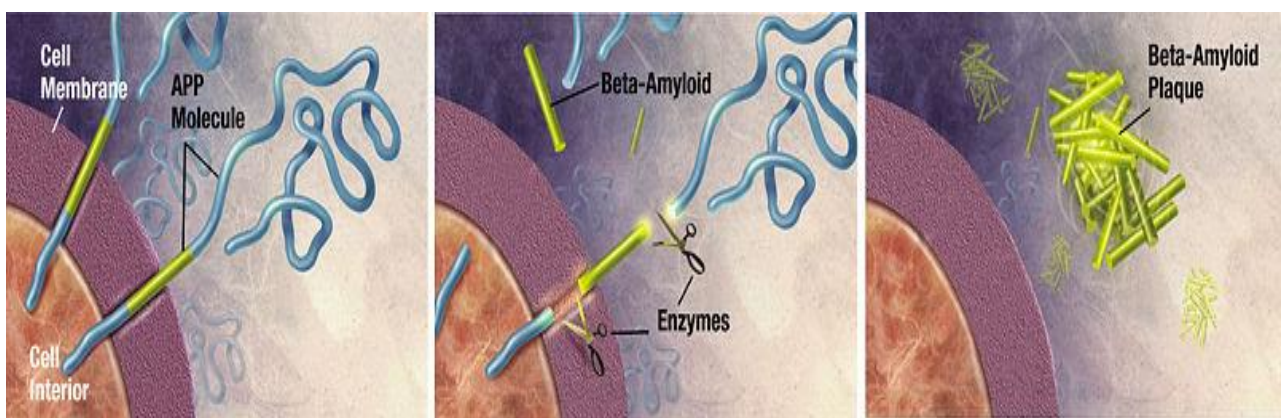
Γονίδιο (πρωτεΐνη)	Χρωμόσωμα	Κληρονομικότητα	Ρόλος στην παθογένεση του AD
APP (amyloid precursor protein)	21	Αυτοσωμικό κυρίαρχο	Μεταλλάξεις στο γονίδιο APP προωθούν την εκκαθάριση των β, γ μερών οδηγώντας σε υπερπαραγωγή του Αβ
PSEN1 (presenilin)	14	Αυτοσωμικό κυρίαρχο	Μεταλλάξεις στο PS1 προωθούν το σχίσμο του γ τμήματος με υπερπαραγωγή του Αβ
PSEN2 (presenilin 2)	1	Αυτοσωμικό κυρίαρχο	Μεταλλάξεις στο PS1 προωθούν το σχίσμο του γ τμήματος με υπερπαραγωγή του Αβ
APOE (apolipoprotein E)	19	Τροποποιεί την ηλικία έναρξης	Προωθεί την εναπόθεση του Αβ ?

Πίνακας 1: Γονίδια της νόσου «Alzheimer's» και η λειτουργία τους. Πηγή: «Neurodegenerative disorders», «Springer books», 2016

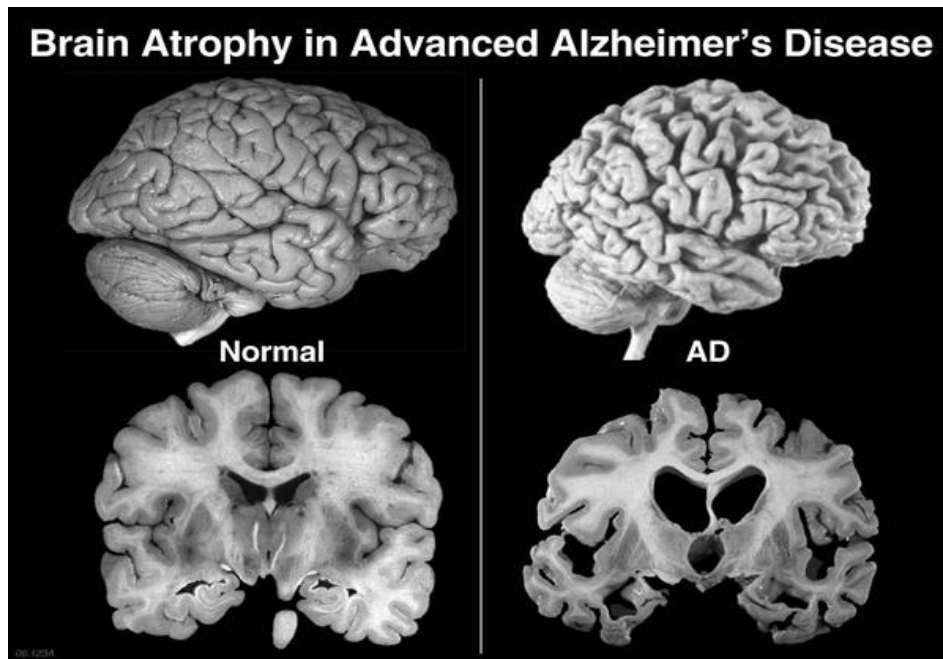
1.4.2 Παθογένεση της νόσου Alzheimer

Οι ακριβείς κυτταρικοί μηχανισμοί που οδηγούν στον κυτταρικό θάνατο στο «Alzheimer» δεν είναι πλήρως γνωστοί, αλλά έχουν διατυπωθεί πολλές υποθέσεις που έχουν διαπιστωθεί από παθολογικά ευρήματα. Μακροσκοπικά παρατηρείται μείωση του όγκου του εγκεφάλου σε πάσχοντες από τη νόσο, που οφείλεται στον κυτταρικό θάνατο λόγω νευροτοξικών αιτιών. Στη νόσο αυτή, παρατηρείται επίσης μικροσκοπικά συσσώρευση αμυλοειδών πλακών καθώς επίσης και νευροινιδίων που αποτελούνται από πρωτεΐνες που θα αναφερθούν στη συνέχεια με λεπτομέρεια, και τα οποία αποτελούν χαρακτηριστικά της ασθένειας.

Το κύριο συστατικό της αμυλοειδούς πλάκας που συσσωρεύεται στη νόσο του «Alzheimer» είναι το αμυλοειδές πεπτίδιο β (Aβ), ένα εξωκυττάριο πεπτίδιο μήκους 40-42 αμινοξέων. Το πεπτίδιο Aβ συσσωρεύεται σε διαμόρφωση β-πτυχωτής επιφάνειας, είναι νευροτοξικό και αποτελεί τον κύριο παθογόνο παράγοντα που οδηγεί στη χαρακτηριστική για τη νόσο αυτή γνωστική λειτουργία. Προέρχεται από την ενζυμική πρωτεόλυση από σεκρετάσες (β και γ σεκρετάση) ενός πρόδρομου μεγαλύτερου μορίου. Το αρχικό αυτό πρόδρομο μόριο είναι μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη η «APP» που υπάρχει στην επιφάνεια των εγκεφαλικών κυττάρων και σε άλλους ιστούς. Το πεπτίδιο Aβ συσσωρεύεται σχηματίζοντας αμυλοειδή, τα οποία εντοπίζονται στο παρέγχυμα του εγκεφάλου και γύρω από τα αιμοφόρα αγγεία.



Εικόνα 3: Καλλιτεχνική απεικόνιση της «APP» πρωτεΐνης, της τομής της από ένζυμα (σεκρετάσες) και της τελικής συσσώρευσης των αμυλοειδών πλακών. Πηγή: [Wikipedia](#)

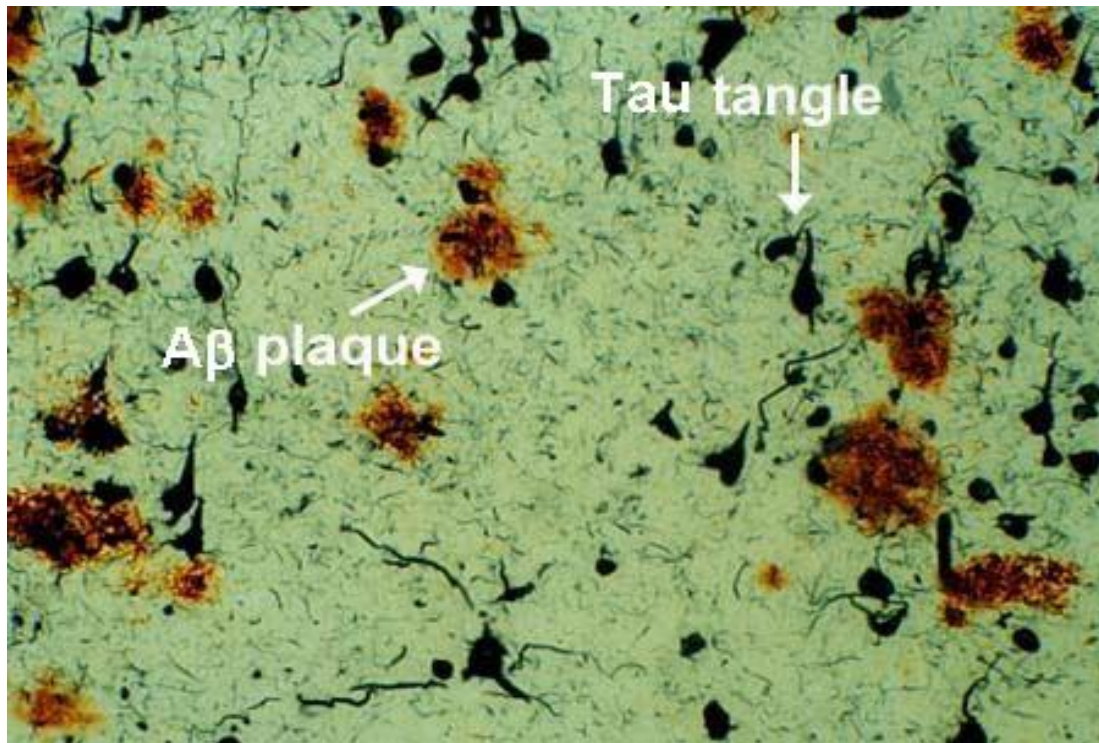


Εικόνα 4: Στην αριστερή εικόνα παρατηρούμε έναν φυσιολογικό εγκέφαλο, ενώ στη δεξιά φαίνεται ο εγκέφαλος ασθενούς που πάσχει από «Alzheimer». Παρατηρούμε ότι στη νόσο υπάρχει ατροφία του εγκεφάλου λόγω θανάτωσης εγκεφαλικών κυττάρων. Πηγή: Wikipedia

Ένας δεύτερος βιολογικός παράγοντας που εμπλέκεται στην παθογένεση της νόσου είναι η μη φυσιολογική συσσώρευση νευροινιδίων και η δημιουργία μεταξύ τους κόμβων μέσα στους νευρώνες. Κύριο συστατικό αυτών των κόμβων είναι μια μη φυσιολογική υπερφωσφοριλιωμένη μορφή της πρωτεΐνης τ «tau», η οποία σε κανονικές συνθήκες συμμετέχει στη συγκρότηση της δομής των μικροσωληνίσκων. Φαίνεται ότι η μεταλλαγμένη τα πρωτεΐνη μπλοκάρει την δράση της φυσιολογικής οδηγώντας στο σχηματισμό των νευρινιδικών συμπλεγμάτων.

Η πρωτεΐνη τ δένεται και σταθεροποιεί τους μικροσωληνίσκους στην φυσιολογική της μορφή, αλλά όταν υπερφωσφοριλιωθεί συσσωρεύεται σε νευροινιδικά συμπλέγματα με αποτέλεσμα να αποσταθεροποιούνται οι μικροσωληνίσκοι και να θέτει σε κίνδυνο την νευρωνική λειτουργία. Ωστόσο, δεν είναι σαφές το αν τα νευροινιδικά συμπλέγματα είναι η

αιτία της νόσου ή αν αποτελούν συνέπεια της, αλλά ο σχηματισμός τους πιθανότατα συμβάλλει στον κυτταρικό θάνατο.



Εικόνα 5: Ιστολογική εικόνα στη νόσο «Alzheimer». Παρατηρούνται οι αμυλοειδείς πλάκες και τα νευρονιδικά συμπλέγματα. Πηγή: «Dr Dale Bredesen, Science of Aging», «The Buck institute's Blog».

1.5 Η Νόσος Huntington-Εισαγωγή

Η νόσος «Huntington» (HD) είναι θανατηφόρα αυτοσωμική νευροεκφυλιστική ασθένεια που χαρακτηρίζεται από κινητική, γνωστική βλάβη και από αλλαγή συμπεριφοράς (**Huang, et al, 2016**). Η ασθένεια αυτή είναι σπάνια και αναπτύσσεται κυρίως σε ηλικίες μεταξύ 40 και 50 ετών στο μεγαλύτερο ποσοστό, αλλά μπορεί να ξεκινήσει και σε ηλικίες κάτω των 20 ετών σε ποσοστό περίπου 7%. Τα συμπτώματα της ασθένειας είναι διάφορα, και περιλαμβάνουν από ψυχιατρικά συμπτώματα, μέχρι βραδυκινησία, διαταραχή ύπνου, και απώλεια βάρους.

Η «Huntington» οφείλεται σε διεύρυνση της επαναλαμβανόμενης αλληλουχίας των τρινουκλεοτιδίων «CAG» (Κυτοσίνη, Αδενίνη, Γουανίνη) που προκαλεί μια διευρυμένη αλυσίδα πολυγλουταμίνης στο γονίδιο που θεωρείται υπεύθυνο και το οποίο εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 4p16.3 (**Burke, et al, 2016**). Τα μήκη των «CAG» που είναι μικρότερα από 26 θεωρούνται σταθερά και δεν έχουν ως αποτέλεσμα κλινικά συμπτώματα ή αυξημένο ρίσκο για μελλοντικές γενεές. Επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες των 27-35 «CAG» θεωρούνται ενδιάμεσες και τα συμπτώματα δεν γίνονται φανερά σε αυτούς τους ασθενείς, αλλά αυτού του μήκους οι επαναλήψεις είναι ασταθείς και μπορούν να διευρυνθούν σε μελλοντικές γενιές (**Burke, et al, 2016**).

Παρόλες τις γνώσεις μας για την ασθένεια και το γεγονός ότι το γονίδιο που θεωρείται υπεύθυνο είναι στο χρωμόσωμα 4 δεν υπάρχουν θεραπείες τροποποίησης της ασθένειας με αποτέλεσμα οι πάσχοντες από την νόσο να πεθαίνουν σε χρονικό διάστημα λίγων ετών από την εκδήλωση της ασθένειας. Αυτός συμβαίνει διότι η συγκεκριμένη ασθένεια έχει ως αποτέλεσμα την σοβαρή ατροφία του εγκεφάλου λόγω θανάτωσης εγκεφαλικών κυττάρων. Οι νευρώνες που επηρεάζονται περισσότερο και υφίστανται την μεγαλύτερη απώλεια είναι οι νευρώνες ραβδωτού σώματος «MSNs» χωρίς όμως να γνωρίζουμε το γιατί (**Huang, et al, 2016**).

1.5.1 Η παθογένεση της νόσου Huntington

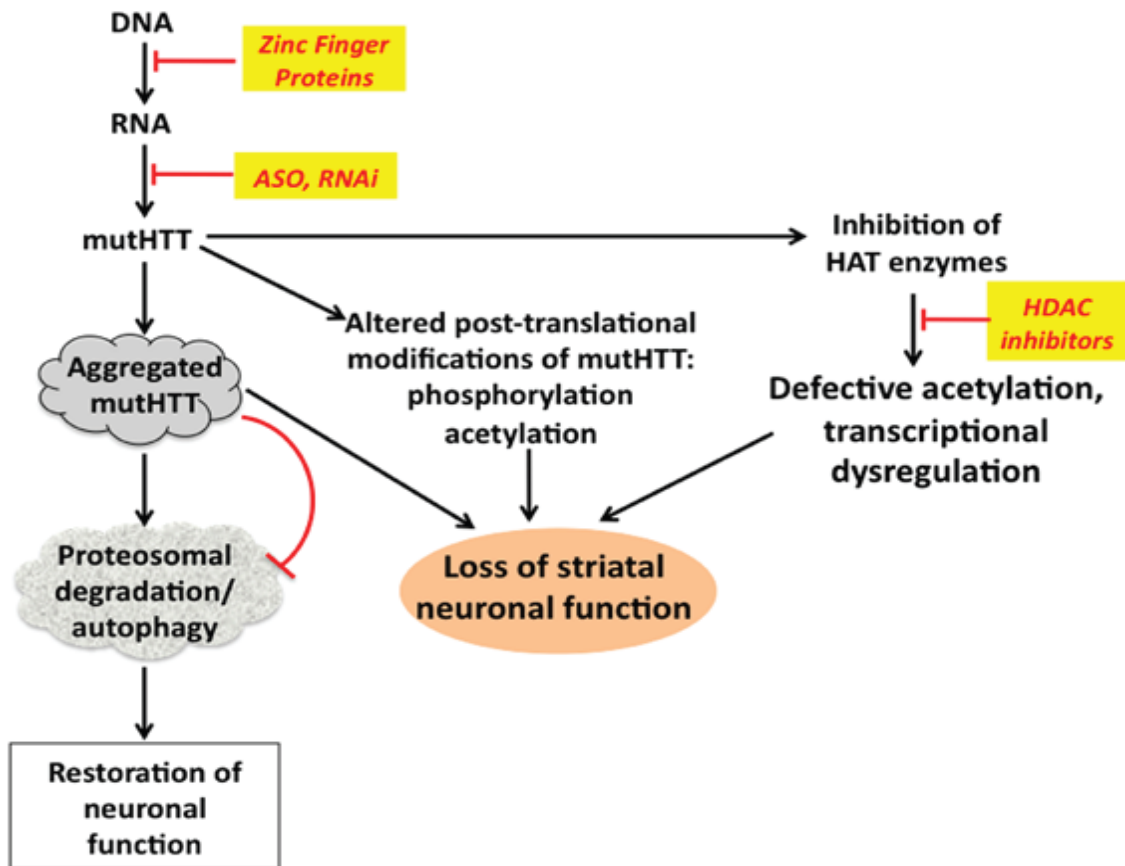
Όπως έχει ήδη αναφερθεί, το γονίδιο που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη «Huntingtin» εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 4 και είναι μεταλλαγμένο στην περιοχή του εξονίου 1 με αποτέλεσμα να έχουμε διεύρυνση της αλληλουχίας «CAG» σε αυτή την περιοχή. Έτσι η πρωτεΐνη που προκύπτει από το συγκεκριμένο γονίδιο παρουσιάζει στο αμινοτελικό της άκρο περιοχή πολυγλουταμίνης στους ασθενείς που πάσχουν από «Huntington».

Το γονίδιο αυτό στην φυσιολογική του μορφή έχει περίπου 35 επαναλήψεις «CAG» και η πρωτεΐνη που κωδικοποιεί η «Huntingtin», βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων, στη συσκευή «Golgi», στο ενδοπλασματικό δίκτυο, στον πυρήνα και στα ενδοσώματα και οι λειτουργίες της σχετίζονται με την ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου καθώς επίσης και με την κυτταρική διαίρεση. Ωστόσο, μεταλλάξεις στην πρωτεΐνη έχουν ως αποτέλεσμα να αυξάνεται ο αριθμός των επαναλήψεων «CAG» από τις 35 στις 40, κάτι που οδηγεί στην ανάπτυξη της νόσου (Huang, et al, 2016).

Οι περισσότερες μεταλλάξεις στο γονίδιο «Huntington», διαταράσσουν την φυσιολογική του λειτουργία και προωθούν πολλές παθολογικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ πρωτεϊνών οι οποίες επηρεάζουν τους νευρώνες, και περιοχές του εγκεφάλου με αποτέλεσμα να υπάρχει απώλεια νευρώνων και συρρίκνωση του εγκεφάλου που τελικά μπορεί να οδηγήσει στον θάνατο των πασχόντων από την νόσο.

Το μεταλλαγμένο γονίδιο που ευθύνεται για την ασθένεια αυτή αλληλεπιδρά με πολλές ενδοκυττάρια διαδικασίες και καταλήγει στη συσσώρευση των μη φυσιολογικών πρωτεϊνών κυρίως στον πυρήνα των νευρικών κυττάρων διαταράσσοντας πολλές κυτταρικές λειτουργίες, όπως η αποικοδόμηση των πρωτεϊνών, η αναπνευστική αλυσίδα στα μιτοχόνδρια και η μετάφραση οδηγώντας σε κυτταρική δυσλειτουργία και στον κυτταρικό θάνατο (Huang, et al, 2016).

Όπως πολλές άλλες νευροεκφυλιστικές ασθένειες, έτσι και η «Huntington» όπως ειπώθηκε σχετίζεται με μη φυσιολογική συσσώρευση και εναπόθεση μη αναδιπλούμενων πρωτεϊνών, και συγκεκριμένα της πρωτεΐνης «Huntingtin» γεγονός που οφείλεται σε μεταλλαγή του γονιδίου που την κωδικοποιεί. Στη νόσο «Huntington», αρχίζει να διερευνάται και ο πιθανός ρόλος μη νευρικών κυττάρων όπως επίσης στην πλάγια μυατροφική σκλήρυνση σε ζώα με μετάλλαξη στα μικρογλοιακά κύτταρα και στα νευρογλοιακά διότι δεν σχετίζονται μόνο οι νευρώνες με παθολογικές αλλαγές (Burke, et al, 2016).



Εικόνα 6: Σημαντικά μοριακά γεγονότα στη νόσο Huntington και πιθανές θεραπευτικές παρεμβάσεις.
 Πηγή: «Huntington's disease: Molecular basis of pathology and status of current therapeutic approaches (Review)», Huang, 2016.

1.5.2 Μεταμεταφραστικές τροποποιήσεις της πρωτεΐνης Huntingtin

Οι μεταμεταφραστικές τροποποιήσεις της πρωτεΐνης «Huntingtin», φαίνεται να παίζουν σημαντικό ρόλο στην παθογένεση της νόσου όπως φαίνεται στην εικόνα 1.5.1.α. Το μεταλλαγμένο γονίδιο που συμβάλλει στην παθογένεση της νόσου είναι μπρούμυτα στους νευρώνες και αυτό θεωρείται υπεύθυνο για την εμφάνιση της ασθένειας. Παρόλο που η μεταλλαγμένη πρωτεΐνη ουβικιτινιώνεται ο καθαρισμός της μη φυσιολογικής πρωτεΐνης από το σύστημα πρωτεασώματος του κυττάρου διαταράσσεται, οδηγώντας σε εναπόθεση των πρωτεϊνών αυτών.

Στις μεταμεταφραστικές τροποποιήσεις της πρωτεΐνης περιλαμβάνονται η φωσφοριλίωση, η ακετυλίωση, και άλλες, και αυτές οι τροποποιήσεις είναι σημαντικές στις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πρωτεϊνών του «Huntingtin». Επίσης, τα ένζυμα «CBP», και «PCAF» οι ακετυλοτρανσφεράσες των ιστονών απενεργοποιούνται από την μεταλλαγμένη πρωτεΐνη μέσω των μεταξύ τους αλληλεπιδράσεων καταλήγοντας στην απορύθμιση της δομής της χρωματίνης και συνεισφέροντας στην νόσο «Huntington» (Huang, et al, 2016).

Αν και σήμερα η συγκεκριμένη νόσος είναι ανίατη, από τις γνώσεις μας για την παθογένεση της οι ερευνητές στρέφονται σε διάφορες κατευθύνσεις για την θεραπεία της όπως είναι η θεραπεία με ανθρώπινα πολυδύναμα βλαστικά κύτταρα, η μείωση ή η εκκαθάριση των μεταλλαγμένων πρωτεϊνών από τους νευρώνες μέσω διαφόρων τεχνικών όπως η παρεμβολή «RNA» ή η ενεργοποίηση του συστήματος εκκαθάρισης των μη φυσιολογικών πρωτεϊνών του κυττάρου, καθώς επίσης και φαρμακολογικά. Περισσότερα και με μεγαλύτερη λεπτομέρεια για τις θεραπευτικές προσεγγίσεις των νευροεκφυλιστικών ασθενειών θα αναφερθούν στο τελευταίο κεφάλαιο της εργασίας.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΣΥΝΟΔΟΙ ΚΑΙ Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥΣ ΣΤΙΣ ΝΕΥΡΟΕΚΦΥΛΙΣΤΙΚΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ

2.1 Μοριακοί συνοδοί

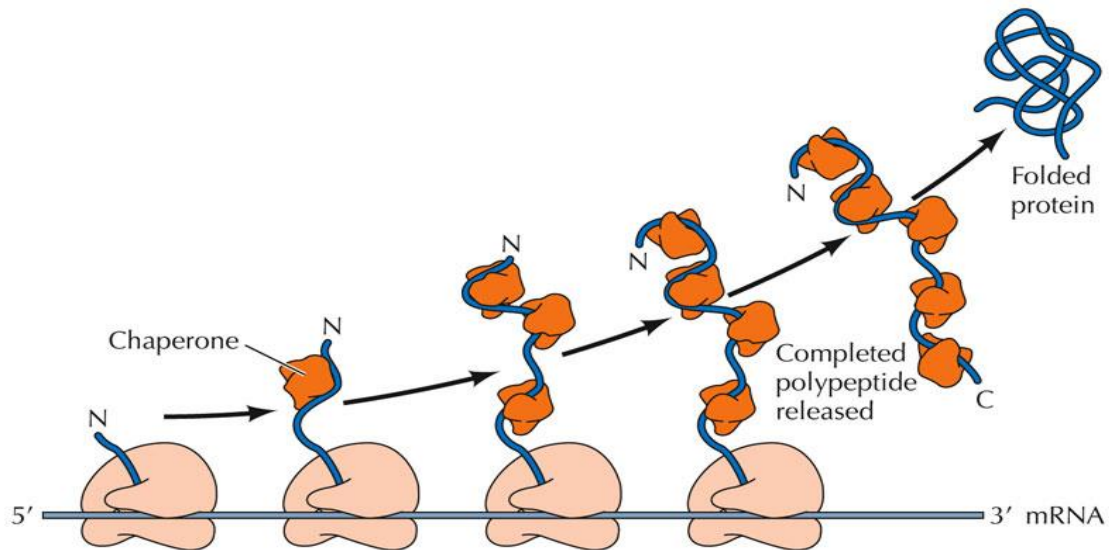
Όπως γνωρίζουμε η μετάφραση αποτελεί το τελευταίο στάδιο της ροής της γενετικής πληροφορίας. Σε αυτό το στάδιο, η αλληλουχία νουκλεοτιδίων του DNA μετατρέπεται σε αλληλουχία αμινοξέων μιας πρωτεΐνης. Παρόλα αυτά η πρωτεΐνη η οποία θα συντεθεί δεν είναι απαραίτητα λειτουργική. Για να είναι φυσιολογική και λειτουργική θα πρέπει να υποστεί περαιτέρω επεξεργασία, όπως είναι η αναδίπλωσή της έτσι ώστε να αποκτήσει την κατάλληλη στερεοδιάταξη στο χώρο, και τροποποιήσεις που αφορούν την αποκοπή ενός τμήματός τους ή ακόμα την ομοιοπολική τους σύνδεση με λιπίδια και υδατάνθρακες.

Οι πρωτεΐνες που διευκολύνουν την σωστή αναδίπλωση άλλων πρωτεϊνών ονομάζονται μοριακοί συνοδοί. Οι μοριακοί συνοδοί δρουν ως καταλύτες της πρωτεϊνικής αναδίπλωσης. Δηλαδή, συμμετέχουν στην πρωτεϊνική αναδίπλωση, χωρίς να ενσωματώνονται σε αυτές, και δεν προσδίδουν στο μακρομόριο την απαραίτητη πληροφορία που χρειάζεται για την αναδίπλωσή του. Η όλη πληροφορία που χρειάζεται για την αναδίπλωση μιας πρωτεΐνης εμπεριέχεται στην αλληλουχία των αμινοξέων της κάτι το οποίο (αναδίπλωση) είναι αυθόρμητο φαινόμενο.

Αν δεν υπάρχουν μοριακοί συνοδοί, οι πρωτεΐνες οι οποίες συντίθενται θα είναι μη αναδιπλωμένες ή εν μέρει αναδιπλωμένες με αποτέλεσμα να σχηματίζουν συσσωματώματα μέσα στα κύτταρα, γεγονός που μπορεί να έχει αρνητικές συνέπειες για την λειτουργία των κυττάρων. Έχουμε δει άλλωστε ότι όταν κάποιες πρωτεΐνες αναδιπλώνονται λανθασμένα, όπως η πρωτεΐνη β-αμυλοειδής σχηματίζουν αδιάλυτα συσσωματώματα τα λεγόμενα αμυλοειδή ινίδια και συσσωρεύονται στον εξωκυττάριο χώρο ή στο εσωτερικό του κυττάρου, φαινόμενο που υπάρχει στη νόσο του «Alzheimer».

Κατά την μετάφραση οι μοριακοί συνοδοί προσδένονται στο αμινοτελικό τμήμα της υπό σύνθεσης πολυπεπτιδικής αλυσίδας και το σταθεροποιούν μέχρι να ολοκληρωθεί η πρωτεϊνοσύνθεση. Έπειτα, η ολοκληρωμένη πρωτεΐνη απελευθερώνεται από το ριβόσωμα και αναδιπλώνεται για να αποκτήσει την κατάλληλη στερεοδιάταξη.

Είναι λοιπόν φανερό ότι οι μοριακοί συνοδοί είναι απαραίτητοι για την σωστή λειτουργία των πρωτεϊνών και κατεπέκταση και των κυττάρων αφού λειτουργούν ως μοριακές μηχανές αναδίπλωσης και ως αισθητήρες τις γενικής κατάστασης των πρωτεϊνών μέσα στα κύτταρα.



THE CELL, Fourth Edition, Figure 8.21 © 2006 ASM Press and Sinauer Associates, Inc.

Εικόνα 7: Η δράση των μοριακών συνοδών κατά την μετάφραση. Πηγή: Το κύτταρο, Τόμος Πρώτος, Cooper, Haussmann.

Εκτός από την σταθεροποίηση των πρωτεϊνών που κάνουν οι μοριακοί συνοδοί κατά την διαδικασία της μετάφρασης, σταθεροποιούν και τις μη αναδιπλωμένες πρωτεΐνες καθώς μεταφέρονται μέσα στα κυτταρικά οργανίδια. Χαρακτηριστική είναι η δράση τους κατά την μεταφορά των πρωτεϊνών στα μιτοχόνδρια.

Όταν μια μερικώς αναδιπλωμένη πρωτεΐνη μεταφέρεται από το κυτταρόπλασμα στα μιτοχόνδρια, τότε μοριακοί συνοδοί του κυτταροπλάσματος την σταθεροποιούν στην μη αναδιπλωμένη της μορφή. Στο εσωτερικό των μιτοχονδρίων υπάρχουν επίσης μοριακοί συνοδοί που διευκολύνουν την διαδικασία μεταφοράς και βοηθούν την επακόλουθη αναδίπλωση της πρωτεΐνης στο εσωτερικό του μιτοχονδρίου.

Μια κατηγορία μοριακών συνοδών είναι οι θερμοεπαγόμενες πρωτεΐνες Hsp οι οποίες συντίθενται όταν τα κύτταρα εκτίθενται σε υψηλές θερμοκρασίες. Οι πρωτεΐνες αυτές σταθεροποιούν τις πρωτεΐνες που υφίστανται μερική αποδιάταξη όταν τα κύτταρα εκτεθούν σε υψηλές θερμοκρασίες. Γενικά, οι θερμοεπαγόμενες πρωτεΐνες βοηθούν την πρωτεϊνική αναδίπλωση σε καταστάσεις κυτταρικού στρες, και διακρίνονται σε οικογένεια που περιλαμβάνει τις: Hsp100, Hsp90, Hsp70, Hsp60, Hsp40, και Hsp27 (**Rui-Chun Lu, et al, 2014**).

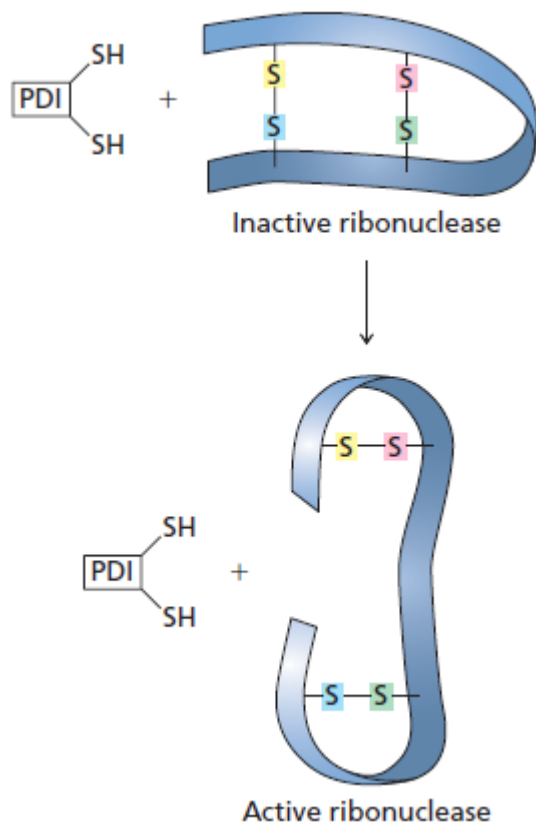
Στο μοριακό μονοπάτι αναδίπλωσης των πρωτεϊνών στα προκαρυωτικά και στα ευκαρυωτικά κύτταρα, συμμετέχουν μοριακοί συνοδοί της οικογένειας των θερμοεπαγόμενων πρωτεϊνών Hsp70, καθώς επίσης και οι μοριακοί συνοδοί της οικογένειας των σαπερονινών.

Συγκεκριμένα, μέλη της οικογένειας Hsp70 προσδένονται στην πολυπεπτιδική αλυσίδα που συντίθενται και τη σταθεροποιούν κατά την διάρκεια της μετάφρασης. Μετά από την ολοκλήρωση της μετάφρασης η μη αναδιπλωμένη πρωτεΐνη μεταφέρεται στις σαπερονίνες οι οποίες αποτελούνται από πολλές πρωτεϊνικές υπομονάδες που διευθετούνται η μία πάνω στην άλλη σχηματίζοντας μια δομή που μοιάζει με κλωβό. Στο περιβάλλον των σαπερονινών πραγματοποιείται η σωστή αναδίπλωση των πρωτεϊνών, ενώ παρεμποδίζεται η συμμετοχή τους με άλλες μη αναδιπλωμένες πρωτεΐνες στον σχηματισμό αδιάλυτων συσσωμάτων.

Εκτός από τους μοριακούς συνοδούς που προσδένονται στις πολυπεπτιδικές αλυσίδες και βοηθούν την αναδίπλωση των πρωτεϊνών, υπάρχουν και δύο ένζυμα που λειτουργούν ως μοριακοί συνοδοί και επιταχύνουν την πρωτεϊνική αναδίπλωση. Η ισομεράση πρωτεϊνικών δισουλφιδικών δεσμών (PDI) καταλύει τον σχηματισμό δισουλφιδικού δεσμού. Η PDI

αλληλεπιδρά με το υπόστρωμά της μέσω δύο καταλοίπων κυστεΐνης του ενεργού της κέντρου και καταλύει τον σχηματισμό δισουλφιδικών δεσμών.

Άλλο ένζυμο που παίζει ρόλο στην πρωτεϊνική αναδίπλωση είναι η ισομεράση της πεπτιδυλοπρολίνης. Το ένζυμο αυτό, καταλύει τον ισομερισμό ανάμεσα στην cis και trans διαμόρφωση των πεπτιδικών δεσμών που προηγούνται των καταλοίπων προλίνης. Αξίζει να σημειωθεί πως το συγκεκριμένο ένζυμο συναντάται τόσο στα προκαρυωτικά όσο και στα ευκαρυωτικά κύτταρα.



Εικόνα 8: Η δράση της PDI. Πηγή: Wikipedia

2.2 Χαρακτηρισμός και λειτουργία των μοριακών συνοδών

Οι μοριακοί συνοδοί διακρίνονται ανάλογα με την μοριακή τους μάζα στις εξής έξι τάξεις: Hsp40, Hsp60, Hsp90, Hsp100, καθώς επίσης και στις μικρές με μοριακή μάζα κάτω των 40kDa, όπως είναι οι Hsp10 και Hsp27 (Maiti, et al, 2014). Οι πρωτεΐνες αυτές εντοπίζονται στον πυρήνα, στο κυτταρόπλασμα, στο ενδοπλασματικό δίκτυο και στα μιτοχόνδρια. Όπως έχει ήδη αναφερθεί στην προηγούμενη παράγραφο, οι μοριακοί συνοδοί συμμετέχουν στην σωστή αναδίπλωση των πρωτεϊνών και ως εκ τούτου είναι απαραίτητες για την εύρυθμη λειτουργία των κυττάρων. Ωστόσο, η υπερπαραγωγή συγκεκριμένων μοριακών συνοδών μπορεί να οδηγήσει σε διάφορες ασθένειες συμπεριλαμβανόμενου του καρκίνου.

Μικρές θερμοεπαγόμενες πρωτεΐνες:

Σε αυτές ανήκουν οι μοριακοί συνοδοί με μοριακή μάζα κάτω των 40kDa. Η μοριακή τους μάζα κυμαίνεται μεταξύ 12-43kDa, και εντοπίζονται στο κυτταρόπλασμα, στον πυρήνα των κυττάρων, και στο ενδοπλασματικό δίκτυο. Η πιο σημαντική και μελετημένη από αυτές είναι η πρωτεΐνη Hsp27 σε αντίθεση με τις άλλες αυτής της κατηγορίας για τις οποίες λίγα είναι γνωστά. Έχουν πολύ υψηλή ενεργότητα και εμπλέκονται στην κυτταρική ανάπτυξη, στην θερμοαντοχή, στην κυτταρική διαφοροποίηση και στην απόπτωση. Επίσης, μπορούν να αυξήσουν τα επίπεδα της γλουταθειόνης με στόχο την προστασία των κυττάρων από τις συνέπειες του οξειδωτικού στρες (Maiti, et al, 2014).

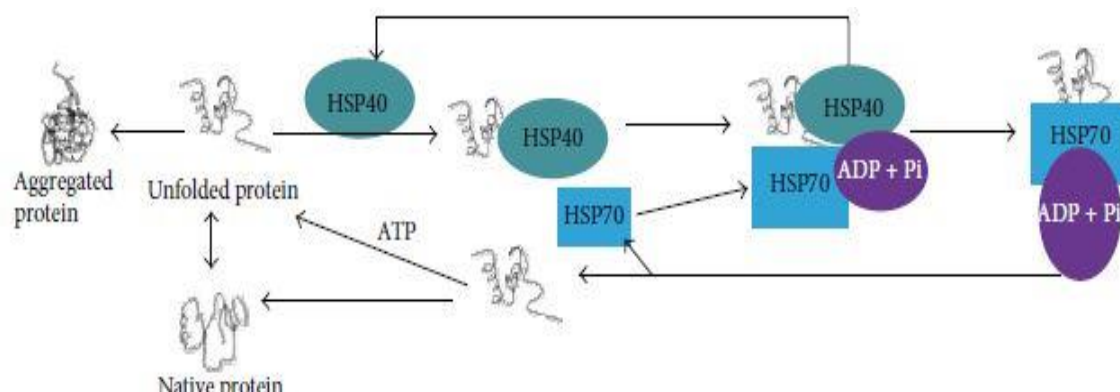
Hsp40

Οι Hsp40 αποτελεί μια μεγάλη οικογένεια πρωτεϊνών, που δρουν μαζί με την Hsp70. Λίγα είναι γνωστά για την απορύθμιση της πρωτεΐνης στις νευροεκφυλιστικές ασθένειες. Η Hsp40 ρυθμίζει την ενεργότητα ATPάσης της πρωτεΐνης Hsp70 γεγονός που χρειάζεται για την σωστή λειτουργία της δεύτερης.

Hsp60

Η Hsp60 είναι μιτοχονδριακός μοριακός συνοδός με μοριακή μάζα 60kDa που δουλεύει παράλληλα με την Hsp70 για την πρωτεϊνική αναδίπλωση. Η κύρια λειτουργία αυτής της πρωτεΐνης είναι να συνοδεύει την πρωτεϊνική αναδίπλωση και να διατηρεί τον δομικό σχηματισμό. Επιπλέον, μεταφέρει και διατηρεί τις μιτοχονδριακές πρωτεΐνες που

απαιτούνται για την αντιγραφή του DNA, και στο κυτταρόπλασμα αλληλεπιδρά με τις αντιαποπτωτικές πρωτεΐνες για την αποφυγή της απόπτωσης.



Εικόνα 9: Ο ρόλος της πρωτεΐνης Hsp40 στην αναδίπλωση των πρωτεϊνών και στην αποδιάταξη.

Πηγή: *Molecular chaperone dysfunction in Neurodegenerative diseases and effects of curcumin*, Maiti, 2014

Hsp70

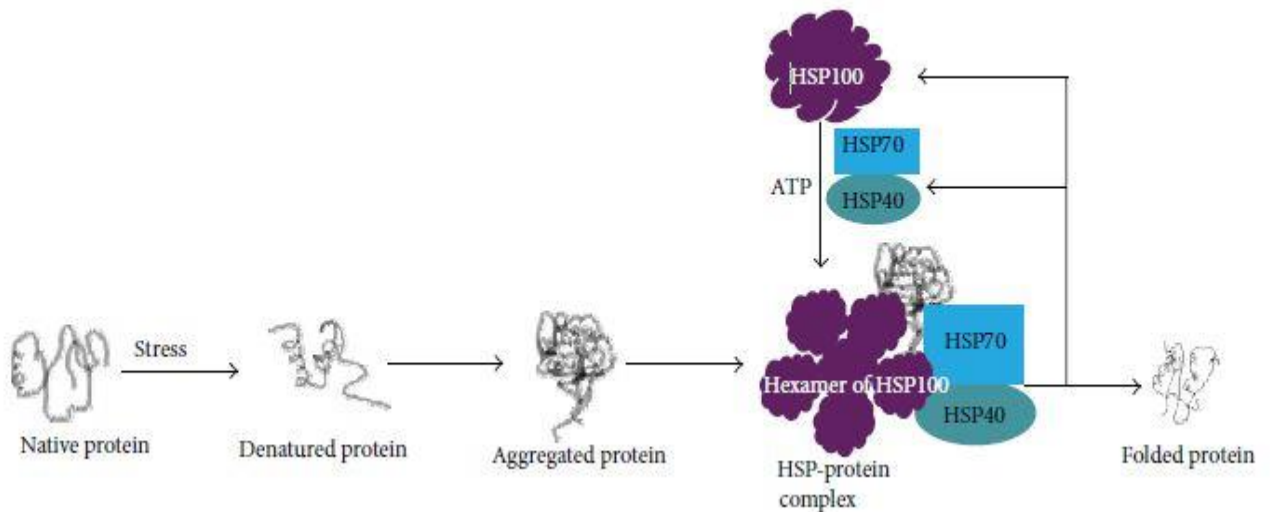
Πρόκειται για μοριακό συνοδό με μοριακή μάζα 70kDa που εντοπίζεται στο κυτταρόπλασμα και σε οργανίδια όπως το ενδοπλασματικό δίκτυο. Η περιοχή με ενεργότητα ATPάσης που έχει παρέχει την απαραίτητη ενέργεια που χρειάζεται για την πρωτεϊνική αναδίπλωση. Έχει νευροπροστατευτικό ρόλο σε όλες σχεδόν τις νευροεκφυλιστικές διαταραχές, και αλληλεπιδρά με τις Hsp40 και Hsp90 για την επίτευξη της πρωτεϊνικής αναδίπλωσης (Maiti, et al, 2014).

Hsp90

Ο ρόλος της πρωτεΐνης αυτής είναι ότι συμμετέχει στην λανθασμένη αναδίπλωση των πρωτεϊνών και ενεργοποιεί πάνω από 200 θερμοεπαγόμενες πρωτεΐνες που απαιτούνται για την κυτταρική σηματοδότηση και για την απάντηση στο στρες. Εντοπίζεται στα μιτοχόνδρια, στο ενδοπλασματικό δίκτυο και στο κυτταρόπλασμα. Ωστόσο, η υπερέκφρασή της μπορεί να προκαλέσει καρκίνους κάτι το οποίο έχει παρατηρηθεί (Maiti, et al, 2014)

Hsp100

Πρόκειται για μοριακό συνοδό με μοριακή μάζα 100kDa η οποία όμως φτάνει μέχρι και τα 110kDa, η οποία εντοπίζεται στο κυτταρόπλασμα. Η έκφρασή της μπορεί να επαχθεί σε ακραίες θερμοκρασιακές καταστάσεις ή μετά από έκθεση των κυττάρων σε συγκεκριμένες περιβαλλοντικές συνθήκες. Επιπλέον, η έκφραση της Hsp100/104, συχνά χρειάζεται στη μεταγραφή γονιδίων για την ρύθμισή τους. Μία άλλη ενδιαφέρουσα ιδιότητά της είναι ότι με τη βοήθεια και άλλων μοριακών συνοδών όπως είναι οι Hsp70, Hsp40 σπάει μεγάλα θραύσματα πρωτεϊνών σε μικρότερα τα οποία στη συνέχεια απομακρύνονται από το σύστημα του πρωτεασώματος (Maiti, et al, 2014).



Εικόνα 10: Ο ρόλος της πρωτεΐνης Hsp100 στην πρωτεϊνική αναδίπλωση, και η συνεργατική της δράση με τους άλλους μοριακούς συνοδούς. Πηγή: *Molecular chaperone dysfunction in Neurodegenerative diseases and effects of curcumin, Maiti, 2014*

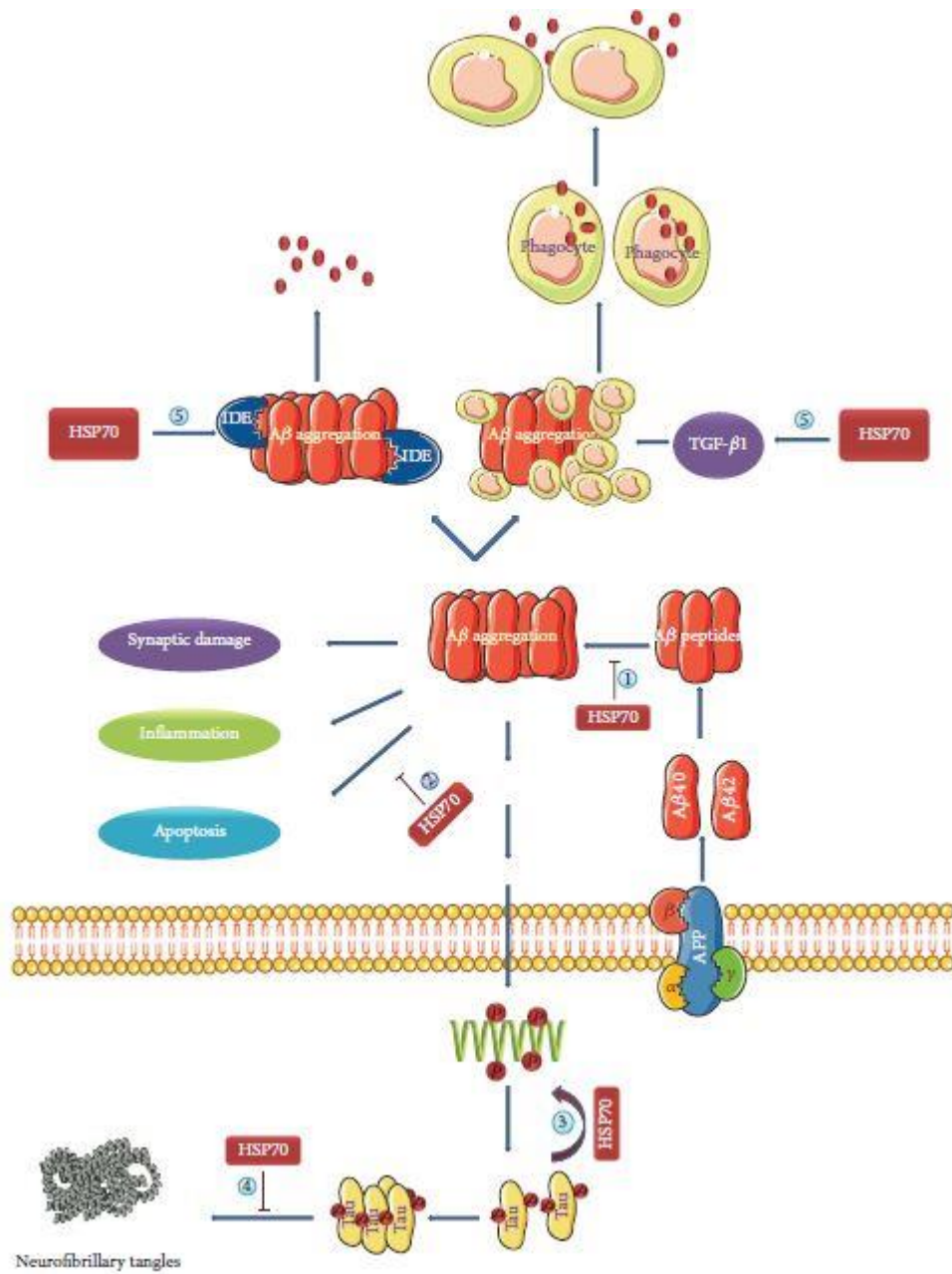
2.3 Ο ρόλος της πρωτεΐνης Hsp70 στη νόσο Alzheimer

Όπως γνωρίζουμε, το β-αμυλοειδές πεπτίδιο διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεση της νόσου «Alzheimer» διότι είναι νευροτοξικό. Η πρωτεΐνη Hsp70 παίζει κυτταροπροστατευτικό ρόλο στην συγκεκριμένη νόσο, εμποδίζοντας τον ολιγομερισμό του Αβ αμυλοειδούς. Η αυτοσυναρμολόγηση του Αβ αμυλοειδούς παράγει δομές όπως είναι τα διμερή, τα ολιγομερή, και τελικά τα χαρακτηριστικά αμυλοειδή ινίδια που είναι τα βασικά χαρακτηριστικά της νόσου «Alzheimer».

Θεωρητικά, η πρωτεΐνη Hsp70 καταστέλλει τον σχηματισμό των Αβ πεπτιδίων καθυστερώντας με αυτόν τον τρόπο την εξέλιξη της νόσου. Επομένως η υπερέκφραση της Hsp70 παρεμποδίζει την συσσωμάτωση του Αβ αμυλοειδούς, προστατεύοντας με αυτόν τον τρόπο από την συγκεκριμένη νόσο. Πρόσφατες έρευνες έδειξαν ότι η πρωτεΐνη Hsp70 αναγνωρίζει εκτεθειμένες υδρόφοβες περιοχές σε ολιγομερή και προσδένεται σε αυτές τις περιοχές τροποποιώντας την διαμόρφωσή τους (**Rui-Chun Lu, et al, 2014**).

Η Hsp70 παίζει ακόμη κυτταροπροστατευτικό ρόλο στη νόσο ενισχύοντας την εκκαθάριση του Αβ αμυλοειδούς. Εφόσον το β-αμυλοειδές θεωρείται σημαντικός τοξικός παράγοντας στην παθογένεση του «Alzheimer», η εκκαθάρισή του θα μπορούσε να καταστείλει την εξέλιξη της νόσου. Η υπερέκφραση λοιπόν της πρωτεΐνης Hsp70 προστατεύει αποτελεσματικά τα νευρικά κύτταρα από την ενδοκυττάρια εναπόθεση του Αβ προωθώντας την εκκαθάρισή του. Το Αβ πεπτίδιο καθαρίζεται από τον εγκέφαλο με μεσολάβηση ενζύμου, με φαγοκυττάρωση από τα μικρογλοιακά κύτταρα και τα αστροκύτταρα και με την μεταφορά στο αίμα και των λεμφαδένων.

Επιπλέον η Hsp70 προστατεύει από την νόσο του «Alzheimer» εμποδίζοντας την απόπτωση των νευρικών κυττάρων. Από τα σημαντικότερα παθολογικά χαρακτηριστικά σημάδια της νόσου είναι η ατροφία του εγκεφάλου που οφείλεται σε μεγάλη απώλεια των νευρώνων τα οποία λόγω εκτεταμένων βλαβών του DNA υφίστανται απόπτωση. Έχει επιβεβαιωθεί ότι η υπερέκφραση της Hsp70 εξασθενεί το θερμικό στρες που επάγει τον θάνατο των νευρώνων (**Mailhos, et al, 1994**). Οι μελέτες έχουν δείξει ότι η Hsp70 τροποποιεί το κασπασοεξαρτώμενο μονοπάτι του Araf-1, και το κασπασοανεξάρτητο μονοπάτι Aif καθυστερώντας την απόπτωση των νευρικών κυττάρων, όπως φαίνεται στην εικόνα που ακολουθεί



Εικόνα 11: Η εικόνα δείχνει τον κυτταροπροστατευτικό ρόλο της πρωτεΐνης Hsp70 στο Alzheimer.

Πηγή: Ruin Chun Lu, 2014

Η πρωτεΐνη Hsp70 παίζει επίσης κυτταροπροστατευτικό ρόλο στο «Alzheimer» αποκαθιστώντας την ομοιότητα της πρωτεΐνης T. Είναι γνωστό ότι τα νευροινδικά συμπλέγματα συντίθενται από τις υπερφωσφοριλιωμένες μορφές της πρωτεΐνης T και αποτελούν ένα από τα χαρακτηριστικά σημάδια της νόσου.

Η T πρωτεΐνη διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη διατήρηση και σταθεροποίηση των μικροσωληνίσκων, και η ομοιότητά της ρυθμίζεται από την έκφρασή της και την υπερφωσφοριλίωσή της. Ενώ, σε περίπτωση που διαταραχθεί αυτή η ομοιότητα το αποτέλεσμα είναι η υπερφωσφοριλίωσή και η εναπόθεση των ενδοκυττάρων συσσωμάτων, τα οποία είναι τοξικά και θεωρούνται υπεύθυνα για την παθογένεση της νόσου.

Φυσιολογικά η ομοιότητα της πρωτεΐνης T ελέγχεται μέσω της δράσης μοριακών συνοδών όπως η Hsp70. Έχει επιβεβαιωθεί ότι η Hsp70 προωθεί το δέσιμο της T στους μικροσωληνίσκους εμποδίζοντας με αυτόν τον τρόπο τον σχηματισμό των συσσωμάτων (Rui-Chun Lu, et al, 2014). Η Hsp70 αναστέλλει την συσσωμάτωση της πρωτεΐνης T μέσω ενός μηχανισμού που περιλαμβάνει την συσχέτιση με μονομερή και ολιγομερή κομμάτια της T πρωτεΐνης. Η Hsp70 βοηθά αυτούς τους συνδυασμούς που αποικοδομείται από το σύστημα ουβικιτίνης-πρωτεασώματος.

Συνοπτικά παρατηρούμε ότι η Hsp70 προστατεύει από την νόσο «Alzheimer» όμως υπάρχουν κάποιοι περιορισμοί που θα πρέπει να ξεπεραστούν προκειμένου να καθιερωθεί η χρήση της μαζί και με άλλους μοριακούς συνοδούς για την θεραπεία της νόσου.

2.4 Η πρωτεΐνη Hsp90 στο Alzheimer

Η πρωτεΐνη Hsp90 είναι μοριακός συνοδός που καταστέλλει την πρωτεϊνική συσσωμάτωση, διαλύει συσσωματώματα πρωτεϊνών κ.α. Οι θερμοεπαγόμενες πρωτεΐνες όπως οι Hsp90, Hsp70, και Hsp32 συμμετέχουν στην εκκαθάριση του Αβ αμυλοειδούς με ενεργοποίηση της φαγοκυττάρωσης των μικρογλοιακών κυττάρων και του υποβιβασμού του Αβ αμυλοειδούς από την ενεργοποίηση του NF-kB του p38 MAPK μέσω των μονοπατιών του υποδοχέα TLR4 (**Kakimura, et al**).

Στα κύτταρα των θηλαστικών, η Hsp90 υπάρχει σε δύο μορφές. Είναι η Hsp90α και η Hsp90β που είναι κατά 85% ταυτόσημες και βρίσκονται στο κυτταρόπλασμα. Η Hsp90α είναι ευαίσθητη σε καταστάσεις στρες, ενώ η Hsp90β σχετίζεται με την χρησιμοποίηση των στεροειδών ορμονών. Επιπρόσθετα, οι σημαντικότερες λειτουργίες της πρωτεΐνης Hsp90α περιλαμβάνουν την αναδίπλωση των πρωτεϊνών και την διατήρηση της φυσιολογικής τους κατάστασης, καθώς επίσης και πρωτεϊνική μεταφορά (**Jiang-Rong Ou, et al, 2014**).

Μέχρι σήμερα, οι γνωστές βιολογικές λειτουργίες της Hsp90 είναι κυρίως να βοηθούν την αναδίπλωση των πρωτεϊνών, την αυτοοργάνωση συμπλόκων, και την ενεργοποίηση των υποστρωμάτων, ή ενισχύουν την βιολογική ενεργότητα των πρωτεϊνών υποστρώματα. Ακόμη, η Hsp90 αλληλεπιδρά κυρίως με τρεις τύπος πρωτεϊνών στην μεταγωγή σήματος, συμπεριλαμβανομένου των συν-συνοδών (co chaperones), ρυθμιστικών παραγόντων, και πρωτεϊνών υποστρώματα. Αυτές οι αλληλεπιδράσεις που μετέχουν είναι απαραίτητες προκειμένου να λειτουργούν φυσιολογικά οι μοριακοί συνοδοί Hsp90 (**Jiang-Rong Ou, et al, 2014**).

Συγκεκριμένα, οι συν-συνοδοί παίζουν σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση της ενζυμικής ενεργότητας του ATP της Hsp90 στο κυτταρόπλασμα και την μεσολάβηση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μοριακών συνοδών Hsp90 και των υποστρωμάτων. Οι συν-συνοδοί ρυθμίζουν την λειτουργία της Hsp90 αναστέλλοντας και ενεργοποιώντας την ενεργότητα ATPάσης της πρωτεΐνης Hsp90, και στρατολογώντας συγκεκριμένες πρωτεΐνες με διαφορετικούς τρόπους.

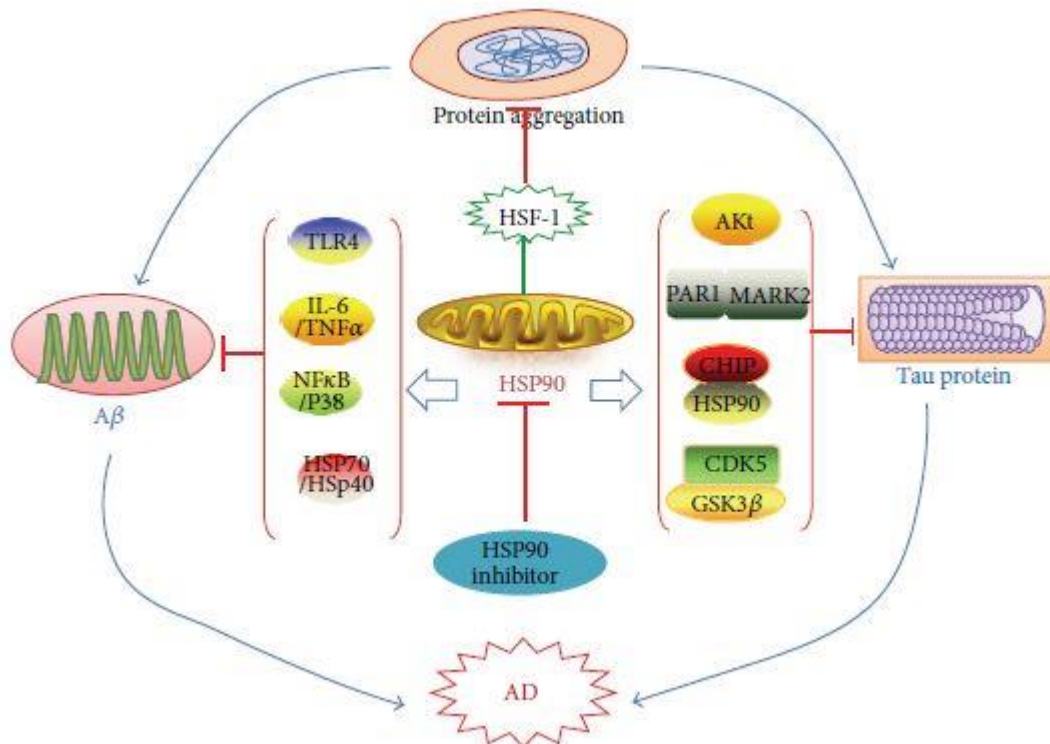
Εν γένει, οι θερμοεπαγόμενες πρωτεΐνες επάγουν την παραγωγή της πρωτεΐνης ιντερλευκίνη 6 (IL-6) και τον παράγοντα νέκρωσης όγκων τον TNFα και επίσης αυξάνουν την διαδικασία της φαγοκυττάρωσης και την εκκαθάριση των Αβ αμυλοειδών ινιδίων.

Έχει διαπιστωθεί πως η πρωτεΐνη Hsp90 επάγει την παραγωγή της ιντερλευκίνης 6 και ο παράγοντας TNFα αναστέλλεται από αναστολές τόσο από το μονοπάτι του NF-kB όσο και από το μονοπάτι p38MAPK. Αυτό έδειξε ότι η επαγόμενη ενεργοποίηση του μονοπατιού NF-kB και του p38 MAPK από τις θερμοεπαγόμενες πρωτεΐνες ίσως συνεισφέρει στην παραγωγή κυτοκινών (**Jiang-Rong Ou, et al, 2014**).

Το σύμπλοκο της Hsp90 και το σύμπλοκο Hsp70/Hsp40 επίσης μπορεί να αναστείλει τον σχηματισμό του Αβ αμυλοειδούς και να καθυστερήσει τον ρυθμό συσσωμάτωσης με τρόπο εξαρτώμενο από την συγκέντρωση των μοριακών συνοδών. Έχουν προταθεί δύο μηχανισμοί μέσω των οποίων οι θερμοεπαγόμενες πρωτεΐνες αναστέλλουν την αυτοοργάνωση των αμυλοειδών ινιδίων. Στην πρώτη περίπτωση, ο μοριακός συνοδός δένεται στην μη αναδιπλωμένη σωστά πρωτεΐνη β αμυλοειδής με τρόπο ανεξάρτητο από το ATP, εμποδίζοντάς το από την συσσωμάτωσή του, ενώ στην δεύτερη περίπτωση ο μοριακός συνοδός ίσως δένεται με το β-αμυλοειδής με τρόπο εξαρτώμενο από το ATP, αλλάζοντάς του σχηματισμό κάνοντάς το έτσι λιγότερο επιρρεπές στην συσσωμάτωση (**Jiang-Rong Ou, et al, 2014**).

Επίσης, η Akt κινάση και το ένζυμο CHIP μπορούν να υποβιβάσουν την πρωτεΐνη T μέσω συντονισμένων αλληλεπιδράσεων (**Dickey, et al**). Η Akt κινάση είναι σημαντική κυτταρική κινάση που ουβικιτινώνεται και υποβαθμίζεται από την λιγάση ουβικιτίνης της T CHIP, το οποίο εξαρτάται από το σύμπλοκο Hsp90. Η λιγάση CHIP είναι σημαντική για τον ποιοτικό έλεγχο των κυττάρων και για την ανάρρωση σε καταστάσεις στρες, η οποία δένεται με τις πρωτεΐνες Hsp70 και Hsp90. Η Akt ρυθμίζει επίσης το σύμπλοκο CHIP/Hsp90 και μειώνει την ουβικιτινίωση της T, ενώ το σύμπλοκο CHIP/Hsp90 μπορεί να προωθήσει την αναδίπλωση της T στην φυσιολογική της κατάσταση.

Όσον αφορά την ρύθμιση της Hsp90, οι πιο σημαντικοί ρυθμιστές της είναι οι συν-συνοδοί και οι μεταφραστικές της τροποποιήσεις που περιλαμβάνουν την ακετυλίωση της, την νιτροζυλίωση και την φωσφορυλίωση της (**Jiang-Rong Ou, et al, 2014**).



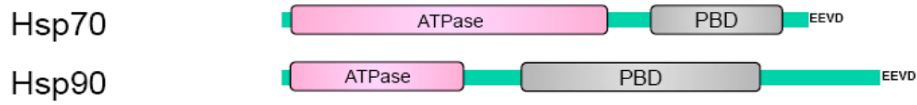
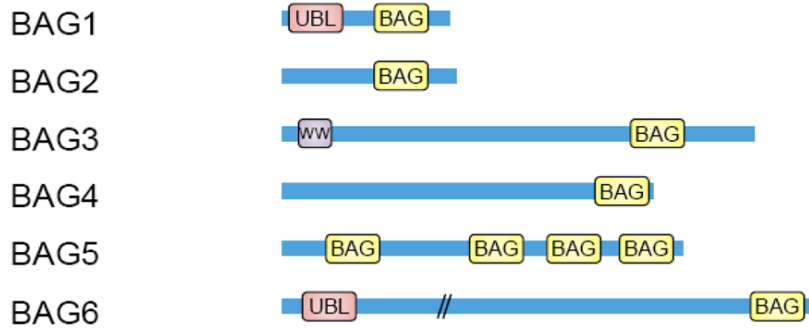
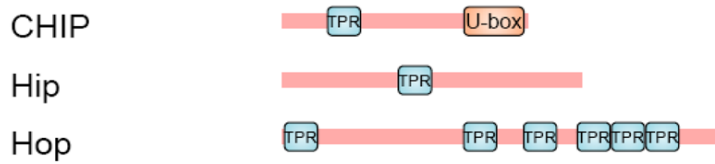
Εικόνα 12: Παρατηρούνται οι πιθανοί ρόλοι της Hsp90 στο «Alzheimer». Η πρωτεΐνη Hsp90 μπορεί να αυξήσει την εκκαθάριση των β-αμυλοειδών ινιδίων και να υποβιβάσει τον σχηματισμό του Αβ αμυλοειδούς μέσω του μονοπατιού TLR4 όπως φαίνεται στην εικόνα. Ακόμη, επάγει την παραγωγή ιντερλευκίνης 6 όταν είναι σε σύμπλοκο με την Hsp40. Συνοπτικά διαφαίνονται οι ρόλοι της που έχουν αναφερθεί αναλυτικά προηγουμένως. Πηγή : *Heat-Shock Protein 90 in Alzheimer's Disease*, Jiang-Rong Ou, 2014.

2.5 Οι ρόλοι της πρωτεΐνης Hsp70 και των συν-συνοδών της στη νόσο του Parkinson

Έχει αναφερθεί ότι οι μοριακοί συνοδοί είναι μόρια τα οποία βοηθούν την αναδίπλωση των πρωτεϊνών, την αυτοοργάνωση τους, και το ξεδίπλωμα τους. Στα θηλαστικά οι κυριότεροι μοριακοί συνοδοί είναι οι πρωτεΐνες Hsp70 και Hsp90 οι οποίες εμπλέκονται στις νευροεκφυλιστικές ασθένειες. Εκτός των μοριακών συνοδών, υπάρχουν και οι συν-συνοδοί που πρόκειται για μόρια τα οποία ρυθμίζουν την ικανότητα ενός μοριακού συνοδού να εκτελεί τις λειτουργίες του.

Οι συν-συνοδοί, μπορούν να διακριθούν με βάση την παρουσία διαφορετικών πρωτεϊνών σε bcl-2 επικράτεια, TPR επικράτεια, ή στην επικράτεια DnaJ, ή αλλιώς J επικράτεια. Όταν οι μη αναδιπλωμένες πρωτεΐνες ή αυτές με λανθασμένη αναδίπλωση δεν μπορούν να αναδιπλωθούν από τους μοριακούς συνοδούς, τότε στοχεύονται στο σύστημα ουβικιτίνης-πρωτεασώματος ή στα λυσοσώματα για αποικοδόμηση.

Όσον αφορά την νόσο του «Parkinson», έχουμε πει ότι σημαντικό χαρακτηριστικό της νόσου είναι ο σχηματισμός των σωματίων «Lewy» στον εγκέφαλο των πασχόντων ασθενών. Εκτός από την πρωτεΐνη « α -synuclein» που αποτελεί συστατικό των σωματίων αυτών, επίσης συστατικό τους είναι και οι μοριακοί συνοδοί και οι συν-συνοδοί τους που είναι τα ακόλουθα: Hsp70, Hsp90, Hsp27, Hsp40, Hsp60, BAG5, CHIP. (Kalia, et al, 2010). Από τα δεδομένα αυτά, κατανοούμε ότι οι παραπάνω μοριακοί συνοδοί φαίνεται να παίζουν ρόλο στην νόσο «Parkinson».

A**Molecular Chaperones****B****Co-Chaperones****BAG domain-containing****TPR domain-containing****DnaJ domain-containing**

Εικόνα 13 : Στην εικόνα A παρατηρούμε την δομή των μοριακών συνοδών Hsp70 και Hsp90. Στην B εικόνα διακρίνονται οι δομικές περιοχές των συν-συνοδών τους. Υπάρχουν έξι μέλη των BAG, διακρίνονται τα ένζυμα CHIP, Hip, Hop με την επικράτεια TPR, και η επικράτεια DnaJ που περιέχει την πρωτεΐνη Hsp40. Πηγή, *Molecular Chaperones as Rational Drug targets for Parkinson's Disease Therapeutics*, Kalia, 2010.

Οι μοριακοί συνοδοί Hsp70 και Hsp40 αποτελούν συστατικό των σωματίων «Lewy» που υπάρχουν στην νόσο του «Parkinson», υποδεικνύοντας έτσι τον πιθανό τους ρόλο στην παθογένεση της νόσου. Έχει φανεί πολυμορφισμός στον υποκινητή της πρωτεΐνης Hsp70 σε πάσχοντες ασθενείς, το οποίο ίσως επηρεάζει την μεταγραφή του γονιδίου που κωδικοποιεί τον συγκεκριμένο μοριακό συνοδό.

Υπερέκφραση της Hsp70 από θερμικό στρες έδειξε ότι εμποδίζει την επαγόμενη αποπτωση από την «3-synuclein» σε ζύμη, και προστατεύει τα κύτταρα PC12 τα οποία έχουν θεραπευτεί με την ενεργή μορφή του MPTP, 1-μεθυλ, 4-φαινυλοπυριδίνιο ιόν (MPP+). Ακόμη, έχει δειχθεί ότι η Hsp70 μπορεί να εμποδίσει τον θάνατο των ντοπαμινεργικών νευρώνων σε υπερέκφραση της «3-synuclein» σε μοντέλο της νόσου στη «Drosophila».

Σε μοντέλα ποντικών με «Parkinson», υπερέκφραση της Hsp70 έχει δείξει ότι οδηγεί σε μείωση υψηλής μοριακής μάζας των κομματιών της «3-synuclein». Επιπλέον, η στοχευμένη υπερέκφραση της Hsp70 από τον ιό AAV μέσα στο SNpc έδειξε ότι εμποδίζει την εκφύλιση των ντοπαμινεργικών νευρώνων και προστατεύει από την τοξικότητα που διαμεσολαβείται από το υπόστρωμα του «Parkin CDCrel-1» (**Kalia, et al, 2010**)

Η Hsp70 αλλάζει την διαμόρφωση της «3-synuclein», το οποίο έχει δειχθεί με μικροσκοπία φθορισμού, εμποδίζει τον ολιγομερισμό ή την διαμόρφωση των ινιδίων της «3-synuclein», και μετριάξει τον σχηματισμό της «3-synuclein» που περιέχουν πρωτεϊνικά συσσωματώματα. Ακόμη, η Hsp70 ίσως προστατεύει τα κύτταρα μετριάζοντας την τοξικότητα της πρωτεΐνης «3-synuclein», και δρα συνεργατικά με το «Parkin» εμποδίζοντας τον κυτταρικό θάνατο εξαιτίας των μη αναδιπλούμενων πρωτεϊνών σε συνθήκες στρες (**Kalia, et al, 2010**).

Επιπλέον, η Hsp70 θεωρείται ρυθμιστής των μονοπατιών κυτταρικού θανάτου μέσω της αλληλεπίδρασης και της αναστολής των επαγόμενων αποπτωτικών πρωτεϊνών και της κινάσης JNK. Ίσως εμποδίζει και την ενεργοποίηση της JNK και του μεταγενέστερου κυτταρικού θανάτου μέσω μηχανισμών που πιθανόν να είναι ανεξάρτητοι από τον ρόλο της ως μοριακός συνοδός. Όλα αυτά τα δεδομένα δείχνουν ότι η Hsp70 μπορεί να καταστείλει την νευροτοξικότητα που σχετίζεται με την έκφραση γονιδίων τα οποία προκαλούν την νόσο «Parkinson» καθώς και άλλες νευροεκφυλιστικές διαταραχές. (**Kalia, et al, 2010**).

CHIP

Η πρωτεΐνη CHIP θεωρείται συν-συνοδός της Hsp70 και αλληλεπιδρά με την επικράτεια TRP στο καρβοξυτελικό άκρο της Hsp70. In vitro βρέθηκε ότι η Chip αναστέλλει την μεσολαβημένη αναδίπλωση μέσω της αντιτιθέμενης δράσης της στην πρωτεΐνη Hsp40. Ωστόσο, σε κύτταρα, η Chip φαίνεται να ενισχύει την δράση της Hsp70 στην αναδίπλωση των πρωτεϊνών όπως είναι η λουσιφεράση (**Kalia, et al, 2010**).

Η ικανότητα της Chip να λειτουργεί ως μοριακός συν-συνοδός οφείλεται στο ότι περιέχει την λιγάση της ουβικιτίνης E3. Η ενεργότητα λιγάσης E3 μαζί με την αλληλεπίδρασή της με την Hsp70 καθορίζει τον ρόλο της. Ακόμη, η Chip έχει βρεθεί ότι αλληλεπιδρά με το «Parkin» και ίσως είναι σαν πρωτεΐνη E4 που λειτουργεί ενισχύοντας την ενεργότητα της λιγάσης της ουβικιτίνης E3 του «Parkin».

Ο συν-συνοδός Chip, συνδέεται με την «3-synuclein» οδηγώντας σε παρεμπόδιση του σχηματισμού των τοξικών ολιγομερών και αυξάνει την αποικοδόμηση μέσω των λυσοσωμάτων και του συστήματος πρωτεασώματος. Η Chip ρυθμίζει την τοξικότητα του LRRK2 τροποποιώντας την σταθερότητά του μέσω της δράσης λιγάσης. Πιθανότατα, η Chip ίσως παίζει ρόλο στην αναστολή της συσσωμάτωσης των πρωτεϊνών και του κυτταρικού θανάτου επάγοντας την έκφραση του μοριακού συνοδού Hsp70 (**Kalia, et al, 2010**).

Hip

Πρόκειται για έναν άλλο συν-συνοδό της Hsp70 που βρέθηκε ότι σχετίζεται με το «Parkinson». Σε οθόνη που φαίνεται η μεταγραφή του φάνηκε μείωση των επιπέδων έκφρασης του mRNA του Hip σε πάσχοντες ασθενείς από «Parkinson». Ο Roodveldt και οι συνεργάτες του έδειξαν ότι η Hip μπορεί να εμποδίσει την συν-συσσωμάτωση της Hsp70 με την πρωτεΐνη «3-synuclein» καταλήγοντας σε αύξηση της διαθέσιμης Hsp70 για την εκτέλεση των λειτουργιών της. (**Kalia, et al, 2010**).

BAG

Η οικογένεια των πρωτεϊνών Bag θεωρούνται μοριακοί συν-συνοδοί της Hsp70. Στους ανθρώπους έχουν βρεθεί έξι μέλη της οικογένειας αυτών των πρωτεϊνών, τα Bag1-Bag6, καθένα από τα οποία περιέχει μία επικράτεια Bag στο καρβοξυτελικό άκρο με εξαίρεση την Bag6 η οποία περιέχει πολλές τέτοιες επικράτειες.

Έχει καθιερωθεί πως η Bag1 αλληλεπιδρά με επικράτεια ATPάσης της Hsp70, το οποίο έχει ως αποτέλεσμα την αναστολή της ικανότητας αναδίπλωσης των πρωτεϊνών *in vitro* και *in vivo*. Ακόμη, έχει προταθεί ότι η Bag1 ανταγωνίζεται την ίδια περιοχή που δένεται και ο μοριακός συν-συνοδός Hip. Ο Demand και οι συνεργάτες του βρήκαν υπαρκτή αλληλεπίδραση μεταξύ των Bag1 και Chip και πρότειναν ότι η πρωτεΐνη Bag1 ίσως μεταβάλλει την λειτουργία της Hsp70 από την αναδίπλωση των λανθασμένων αναδιπλωμένων πρωτεϊνών σε λειτουργία στόχευσης των πρωτεϊνών για αποικοδόμηση.

Η Bag2 αλληλεπιδρά με την πρωτεΐνη Chip. Συγκεκριμένα, το σύμπλοκο Bag2-Hsp70-Chip έχει δειχθεί ότι είναι μέρος του μονοπατιού αποικοδόμησης για την πρωτεΐνη T η οποία εμπλέκεται σε πολλές νευροεκφυλιστικές διαταραχές συμπεριλαμβανομένου και του «Alzheimer» (Kalia, et al, 2010). Όσον αφορά την πρωτεΐνη Bag3 η υπερέκφρασή της αναστέλλει την αποικοδόμηση των βοηθών πρωτεϊνών όπως είναι η Akt. Βρέθηκε ακόμη ότι η Bag3 διεγείρει την αυτοφαγία στην αποικοδόμηση του «Huntingtin» με επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες πολυγλουταμίνης, η οποία είναι η μεταλλαγμένη πρωτεΐνη στην νόσο «Huntington».

Η Bag5 αναστέλλει την ενεργότητα της Hsp70 ως μοριακού συνοδού μετριάζοντας την ικανότητά της να διπλώνει μη αναδιπλωμένα υποστρώματα. Προσδένεται απευθείας στο «Parkin», ανεξάρτητα της Hsp70 και ρυθμίζει αρνητικά την ενεργότητα της λιγάσης της ουβικιτίνης E3 τόσο *in vivo*, όσο και *in vitro*. Επιπλέον, η στοχευμένη υπερέκφραση της Bag5 έχει αποδειχθεί ότι καταλήγει σε ενισχυμένη νευροεκφύλιση στο μοντέλο MPTP της νόσου «Parkinson» (Kalia, et al, 2010).

Hsp90

Η πρωτεΐνη Hsp90 αποτελεί μοριακό συνοδό με κεντρικό ρόλο στην μεταμεταφραστική αναδίπλωση και σταθεροποίηση των πρωτεϊνών βοηθών. Η Hsp90 ρυθμίζεται μέσω αλληλεπιδράσεων με πολλούς άλλους μοριακούς συνοδούς όπως είναι η Hsp90 και Hsp40. Αν υπάρξει αναστολή της ενεργότητας της Hsp90 ως μοριακός συνοδός, αυτό καταλήγει σε στρατολόγηση του μεταγραφικού παράγοντα HSF-1, καθώς και σε επαγωγή της έκφρασης της Hsp90. Επομένως, η αναστολή της Hsp90 είναι ζωτική για την αύξηση των επιπέδων της πρωτεΐνης Hsp70 (Kalia, et al, 2010).

Η Hsp90 προκυριαρχεί σαν θερμοεπαγόμενη πρωτεΐνη στα σωματίδια «Lewy», και στους νευρίτες «Lewy» σε εγκεφάλους ασθενών που πάσχουν από την νόσο «Parkinson». Το PPINK1 και LRRK2 έχουν αναγνωριστεί ως βοηθοί πρωτεϊνικών κινασών της Hsp90. Χαρακτηριστικό αποτελεί ότι το μετάλλαγμα του PINK1, L347P το οποίο σχετίζεται με επιθετική μορφή της νόσου «Parkinson», αδυνατεί δέσει το σύμπλοκο Hsp90. Κύτταρα που θεραπεύτηκαν με αναστολείς της Hsp90 έδειξαν σημαντική μείωση στα επίπεδα του PINK1. Ακόμη η Hsp90 διατηρεί την σταθερότητα του LRRK2 και η διαταραχή της αλληλεπίδρασης των Hsp90-LRRK2 οδηγεί σε αποικοδόμηση του τελευταίου από το σύστημα ουβικιτίνης-πρωτεασώματος.

2.6 Ο ρόλος των μοριακών συνοδών DNAJB6 και DNAJB8 στην εμπόδιση της συσσωμάτωσης πεπτιδίων πολυγλουταμίνης

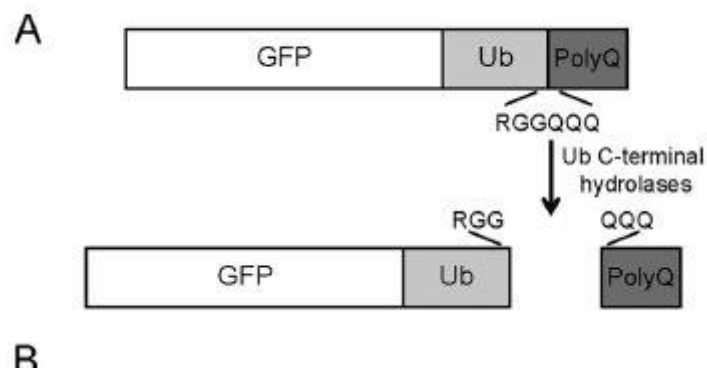
Οι διαταραχές πολυγλουταμίνης (PolyQ) είναι επικρατείς κληρονομούμενες προοδευτικές νευροεκφυλιστικές διαταραχές, που προκαλούνται από διεύρυνση πολυγλουταμίνης μέσα σε κωδικές περιοχές μη συνδεδεμένων πρωτεϊνών. Υπάρχουν τουλάχιστον εννέα τέτοιες διαταραχές με σημαντικότερη την νόσο «Huntington». Όπως έχει αναφερθεί σε προηγούμενο κεφάλαιο, χαρακτηριστικό της συγκεκριμένης ασθένειας είναι η ατροφία του εγκεφάλου σε συγκεκριμένες περιοχές και η παρουσία ενδοκυττάρων συσσωμάτων πρωτεϊνών. Στην παράγραφο αυτή θα αναφερθούν οι ρόλοι των μοριακών συνοδών DNAJB6 και DNAJB8 στη συσσωμάτωση πεπτιδίων πολυγλουταμίνης.

Η οικογένεια μοριακών συνοδών Hsp70 περιλαμβάνει 11 μέλη, ενώ η DNAJ (Hsp40) αποτελείται από παραπάνω από 40 πρωτεΐνες στους ανθρώπους. Οι πρωτεΐνες DNAJB6 και DNAJB8 έχουν αναγνωριστεί ως οι δύο σημαντικότερες πρωτεΐνες καταστολής της συσσωμάτωσης και της τοξικότητας των διευρυμένων πρωτεϊνών πολυγλουταμίνης. Από την μελέτη αυτών των μοριακών συνοδών βρέθηκε ότι μπορούν να καταστείλουν την συσσωμάτωση των πεπτιδίων πολυγλουταμίνης σε ζωντανά κύτταρα (Gillis, et al, 2013).

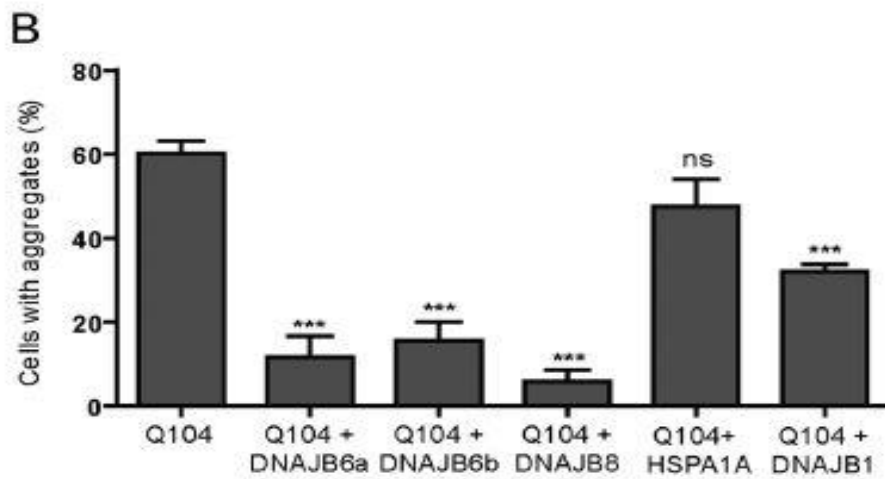
Η δράση των DNAJB6 και DNAJB8 σε μεγάλο βαθμό φαίνεται ότι εξαρτάται από μια περιοχή πλούσια σε σερίνη που βρίσκεται στο καρβοξυτελικό τους άκρο και σε μικρότερο βαθμό η δράση τους εξαρτάται από την αλληλεπίδραση με την πρωτεΐνη-μοριακό συνοδό Hsp70. Η ικανότητα των μοριακών συνοδών DNAJB6 και DNAJB8 να μειώνουν την συσσωμάτωση εκτεταμένων πεπτιδίων πολυγλουταμίνης σαφέστατα τα εμποδίζει να δρουν ως επαγωγείς της συσσωμάτωσης και βελτιώνει την εκκαθάρισή τους. Αυτό θα μπορούσε να συμβάλλει στην καταστολή ίσως της νευροεκφυλιστικής νόσου «Huntington».

Η Gillis μαζί με τους συνεργάτες της, προκειμένου να καθορίσουν την επίδραση των μοριακών συνοδών στην συσσωμάτωση των πεπτιδίων πολυγλουταμίνης σε ζωντανά κύτταρα, χρησιμοποίησαν κατασκευάσματα GFP-ουβικιτίνης-πολυγλουταμίνης, τα οποία διασπάστηκαν σε GFP-Ub και σε πεπτίδια πολυγλουταμίνης από υδρολάσες στο καρβοξυτελικό άκρο. Το αποτέλεσμα ήταν ότι τα πεπτίδια πολυγλουταμίνης δεν είχαν συνοδευτικά αμινοξέα, όπως η μεθειονίνη, και μόνο τα διευρυμένα πεπτίδια πάνω από 40 γλουταμίνες επάγουν την συσσωμάτωση.

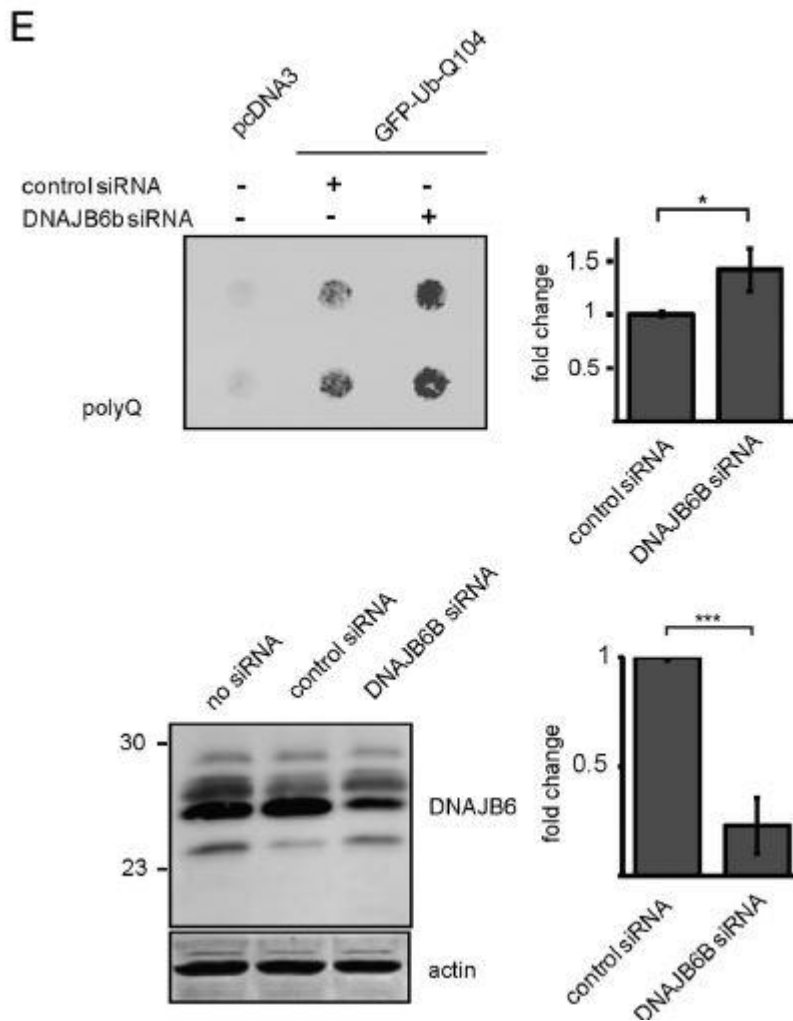
Η συνέκφραση των μοριακών συνοδών DNAJB6 και DNAJB8 είχε ως αποτέλεσμα την σημαντική μείωση των συσσωμάτων πεπτιδίων πολυγλουταμίνης (παραπομπή εικόνα 15), ενώ όταν τα επίπεδα ενδογενούς DNAJB6 μειώθηκαν από τα siRNA υπήρξε αύξηση της συσσωμάτωσης των πεπτιδίων πολυγλουταμίνης (παραπομπή εικόνα 16).



Εικόνα 14: Παρατηρείται η αποκοπή των GFP-Ub-PolyQ από τα ένζυμα υδρολάσες στο καρβοξυτελικό τους άκρο. Πηγή: *The DNAJB6 and DNAJB8 Protein Chaperones Prevent Intracellular Aggregation of Polyglutamine Peptides*, Gillis, et al, 2013.

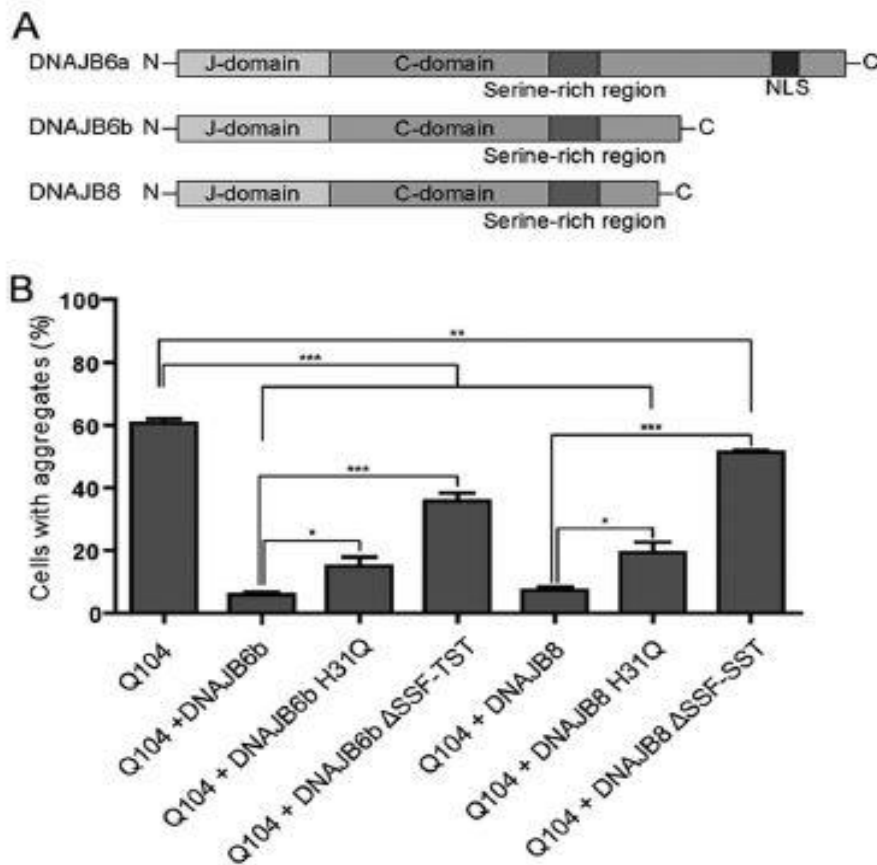


Εικόνα 15: Παρατηρούμε το ποσοστό των φθορίζων κυττάρων HEK293 με συσσωματώματα σε 72h μετά από διαμόλυνση με GFP-Ub-PolyQ σε συνδυασμό με τα DNAJB6a, DNAJB6b DNAJB8, HSPA1A, DNAJB1. Στα κύτταρα με τους μοριακούς συνοδούς DNAJB6 και DNAJB8 παρατηρείται σημαντική μείωση του ποσοστού των κυττάρων με συσσωματώματα. Πηγή: *The DNAJB6 and DNAJB8 Protein Chaperones Prevent Intracellular Aggregation of Polyglutamine Peptides*, Gillis, et al, 2013



Εικόνα 16: Στην πάνω εικόνα παρατηρούμε ότι η καταστολή της έκφρασης του μοριακού συνοδού DNAJB6 από SiRNA έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση των συσσωμάτων στα κύτταρα. Στην κάτω η καταστολή του DNAJB6 από SiRNA μειώνει τα επίπεδά του στα κύτταρα. Πηγή: *The DNAJB6 and DNAJB8 Protein Chaperones Prevent Intracellular Aggregation of Polyglutamine Peptides*, Gillis, et al, 2013

Στους μοριακούς συνοδούς DNAJB6 και DNAJB8 σημαντικό για την μείωση της συσσωμάτωσης είναι η περιοχή πλούσια σε σερίνη που εντοπίζεται στο καρβοξυτελικό τους άκρο. Οι περιοχές αυτές είναι οι SSF-TST και SSF-SST που δεν υπάρχουν στην πρωτεΐνη DNAJB1. Η διαγραφή αυτής της περιοχής που είναι πλούσια σε σερίνη φάνηκε ότι είναι σημαντική για τους μοριακούς συνοδούς DNAJB6 και DNAJB8 να αλληλεπιδρούν με τις αποακετυλάσες των ιστονών τα οποία ρυθμίζουν την λειτουργία τους ως καταστολείς της συσσωμάτωσης των εκτεταμένων πεπτιδίων πολυγλουταμίνης. Πειραματικά αποδείχθηκε ότι η διαγραφή της περιοχής πλούσιας σε σερίνη σε αυτούς τους μοριακούς συνοδούς επηρέασε την ικανότητά τους να μειώνουν την συσσωμάτωση των πεπτιδίων πολυγλουταμίνης (Gillis, et al, 2013).

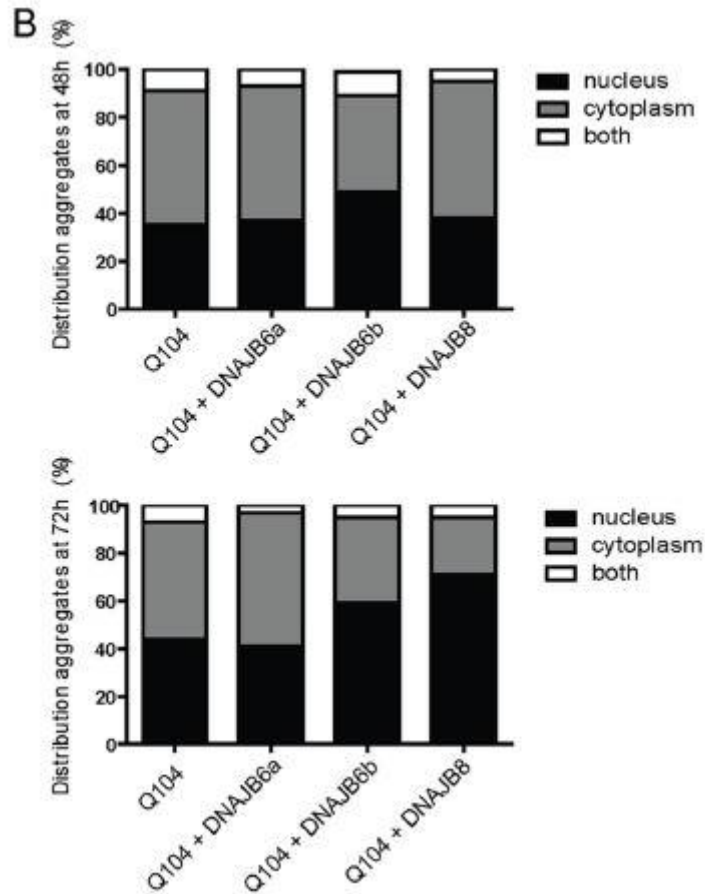


Εικόνα 17: A: Δομή των μοριακών συνοδών DNAJB6a, DNAJB6b, DNAJB8. Φαίνονται οι περιοχές στο αμινοτελικό τους άκρο και στο καρβοξυτελικό όπου υπάρχει και η περιοχή πλούσια σε σερίνη. Η περιοχή αυτή λείπει από την πρωτεΐνη DNAJB1. B: Η διαγραφή της περιοχής πλούσιας σε σερίνη επηρέασε την ικανότητά τους να μειώνουν τα συσσωματώματα πεπτιδίων πολυγλουταμίνης. Πηγή: *The DNAJB6 and DNAJB8 Protein Chaperones Prevent Intracellular Aggregation of Polyglutamine Peptides*, Gillis, et al, 2013

2.6.1 Η πυρηνική πρωτεΐνη DNAJB6a μειώνει την συσσωμάτωση στον πυρήνα και στο κυτταρόπλασμα

Ο μοριακός συνοδός DNAJB6 έχει δύο ισομορφές, τις DNAJB6a και DNAJB6b. Η DNAJB6b υπάρχει τόσο στο κυτταρόπλασμα όσο και στον πυρήνα των κυττάρων, ενώ ο DNAJB6a υπάρχει στον πυρήνα. Παρόλο που η τελευταία πρωτεΐνη εντοπίζεται μόνο στον πυρήνα, η έρευνα έδειξε ότι είναι εξίσου αποτελεσματική στην μείωση των εκτεταμένων πεπτιδίων πολυγλουταμίνης όπως και οι DNAJB6b και DNAJB8. Ακόμη, η μείωση των πεπτιδίων πολυγλουταμίνης δεν περιορίστηκε μόνο στα κυτταρικά διαμερίσματα στα οποία υπάρχουν αυτοί οι συνοδοί.

Η συνέκφραση του DNAJB8 δεν άλλαξε το ποσοστό των συσσωμάτων στον πυρήνα και στο κυτταρόπλασμα μετά από 48 ώρες, ενώ η συνέκφραση του DNAJB6b κατέληξε σε αλλαγή στο ποσοστό αυτό των εναποτιθέμενων συσσωμάτων στον πυρήνα (**Gillis, et al, 2013**). Τα δεδομένα έδειξαν ότι οι μοριακοί συνοδοί DNAJB6 και DNAJB8 είναι αποτελεσματικοί στην μείωση της συσσωμάτωσης σε πρώιμα στάδια, και ο συνοδός DNAJB6a παρόλο που εντοπίζεται στον πυρήνα, δεν μειώνει αποκλειστικά τα συσσωματώματα σε αυτό το οργανίδιο.



Εικόνα 18: Παρατηρείται το ποσοστό συσσωμάτων στο κυτταρόπλασμα, στον πυρήνα, και σε άλλα σε 42 ώρες και 72 με διαμόλυνση των κυττάρων με GFP-Ub-Q104 με DNAJB6a, DNAJB8, DNAJB6b.

Πηγή: *The DNAJB6 and DNAJB8 Protein Chaperones Prevent Intracellular Aggregation of Polyglutamine Peptides*, Gillis, et al, 2013

Τελικώς, η Gilli και οι συνεργάτες της βρήκαν πειραματικά ότι η οικογένεια των πρωτεϊνών DNAJ και συγκεκριμένα οι μοριακοί συνοδοί DNAJB6 και DNAJB8 καταστέλουν αποτελεσματικά την συσσωμάτωση εκτεταμένων πεπτιδίων πολυγλουταμίνης. Προφανώς αυτοί οι μοριακοί συνοδοί εμποδίζουν την συσσωμάτωση των PolyQ πεπτιδίων καταλήγοντας σε βελτιωμένη εκκαθάρισή τους.

Μόνο οι DNAJB6 και DNAJB8 ίσως είναι ικανοί να εμποδίζουν τον σχηματισμό συσσωμάτων πρωτεϊνών πολυγλουταμίνης αλληλεπιδρώντας άμεσα με την εκτεταμένη αλληλουχία πολυγλουταμίνης, ενώ οι περισσότεροι άλλοι μοριακοί συνοδοί δεν κάνουν το ίδιο. Επομένως, η βελτίωση της ενεργότητας αυτών των μοριακών συνοδών, ή η αύξηση των επιπέδων τους ίσως καθυστερεί ή ακόμη εμποδίζει τον σχηματισμό συσσωμάτων πεπτιδίων πολυγλουταμίνης επιτρέποντας την ενδοκυττάρια εκκαθάριση αυτών των πρωτεϊνών που συμβάλλουν στις αντίστοιχες νευροεκφυλιστικές ασθένειες (Gillis, et al, 2013).

Οι πρωτεΐνες DNAJB6 και DNAJB8 ίσως κρατούν τα κομμάτια πολυγλουταμίνης διαλυτά. Επίσης δεν έχει ακόμη καθιερωθεί αν οι συγκεκριμένοι μοριακοί συνοδοί μπορούν να ελέγξουν την αποικοδόμησή τους στοχοποιώντας τις πρωτεΐνες με αλληλουχίες PolyQ σε συγκεκριμένες πρωτεάσες ή στα φαγοκύτταρα για αυτοφαγία. Επιπρόσθετα, η ικανότητα της πρωτεΐνης DNAJB6 να μειώνει την συσσωμάτωση πεπτιδίων πολυγλουταμίνης στον πυρήνα των κυττάρων, δεν περιορίζεται μόνο στον πυρήνα διότι υπήρξε αντίστοιχη μείωση μέσα στο κυτταρόπλασμα.

Ωστόσο αποδείχθηκε ότι η διαγραφή της περιοχής πλούσια σε σερίνη των DNAJB6 και DNAJB8 είχε ως αποτέλεσμα την μείωση της ικανότητάς τους να εμποδίζουν τον σχηματισμό συσσωμάτων πεπτιδίων πολυγλουταμίνης. Αυτό δείχνει ότι η περιοχή αυτή είναι σημαντική για την αναγνώριση των πεπτιδίων και για την αναστολή της συσσωμάτωσής τους. Συνεπώς, καταλήγουμε από πειραματικά δεδομένα ότι οι μοριακοί συνοδοί DNAJB6 και DNAJB8 όντως εμποδίζουν την συσσωμάτωση πεπτιδίων πολυγλουταμίνης το οποίο είναι χαρακτηριστικό νευροεκφυλιστικών ασθενειών όπως είναι η νόσος «Huntington».

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΕΝΑΝΤΙ ΤΩΝ ΝΕΥΡΟΕΚΦΥΛΙΣΤΙΚΩΝ ΑΣΘΕΝΕΙΩΝ

3.1 Θεραπείες τροποποίησης κατά της νόσου Alzheimer

Σήμερα η έρευνα για την θεραπεία των νευροεκφυλιστικών ασθενειών στρέφεται σε διάφορες θεραπείες τροποποίησης και όχι σε προσεγγίσεις οι οποίες βελτιώνουν τα συμπτώματα που παρουσιάζονται σε ασθενείς που πάσχουν από αυτές, γεγονός το οποίο κυριαρχεί μέχρι σήμερα στην Ιατρική. Οι θεραπείες αυτές θα διαφέρουν από τις κλασικές θεραπείες βελτίωσης των συμπτωμάτων στο ότι θα καθυστερούν ή θα σταματούν εντελώς την εξέλιξη της νόσου «Alzheimer» αλλά και των άλλων ασθενειών γενικότερα. Η γνώση της παθοφυσιολογίας της νόσου «Alzheimer» επέτρεψε στους ερευνητές να προτείνουν συγκεκριμένες τροποποιητικές θεραπείες οι οποίες είναι ακόμη υπο έρευνα και είναι οι κάτωθι:

- **Θεραπείες κατά του αμυλοειδούς πεπτιδίου**
- **Θεραπείες που σχετίζονται με την πρωτεΐνη T**
- **Νευροπροστατευτικές θεραπείες**
- **Θεραπείες αποκατάστασης των νευρώνων**

Θεραπείες κατά του αμυλοειδούς πεπτιδίου

Οι συγκεκριμένες θεραπείες στοχεύουν γενικά στην παραγωγή, στην συσσωμάτωση και στην εκκαθάριση του Αβ αμυλοειδούς πεπτιδίου το οποίο είναι χαρακτηριστικό της νόσου «Alzheimer». Οι ουσίες αυτές μειώνουν την παραγωγή του αμυλοειδούς, μέσω αναστολής ή τροποποίησης των β και γ σεκρεατασών το οποίο εμποδίζει τον ολιγομερισμό και τον σχηματισμό των αμυλοειδών ινιδίων. Επίσης, ανοσοθεραπευτικές ουσίες μπορούν να συμβάλλουν στην εκκαθάριση του αμυλοειδούς πεπτιδίου (**Gallagher, et al, 2016**). Σε αυτές έχουν προταθεί και θεραπείες με στατίνες διότι υπάρχει συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων χαμηλής χοληστερόλης με μειωμένο ρίσκο εμφάνισης «Alzheimer», αλλά μένουν να γίνουν και άλλες μελέτες επί του θέματος. Η «Nilvadipine» μπλοκάρει των διάυλο ιόντων ασβεστίου κάτι το οποίο φαίνεται να ενισχύει την εκκαθάριση του Αβ αμυλοειδούς σε ποντικούς με «Alzheimer».

Θεραπείες που σχετίζονται με την πρωτεΐνη T

Εκτός από τις αμυλοειδείς πλάκες ένα άλλο χαρακτηριστικό που παρουσιάζεται στους ασθενείς που πάσχουν από «Alzheimer» είναι τα νευροινδικά συμπλέγματα τα οποία εξαρτώνται από την υπερφωσφοριλίωση της πρωτεΐνης T. Αυτή ρυθμίζεται από τις πρωτεϊνικές φωσφατάσες και κινάσες. Η GSK-3b (κινάση συνθάσης του γλυκογόνου) είναι ζωτική κινάση της T και υπάρχουν φάρμακα τα οποία αναστέλλουν την συγκεκριμένη, όπως το λίθιο το οποίο έδειξε καλά αποτελέσματα σε ζώα-μοντέλα. Εκτός αυτού, το βαλπροϊκό οξύ έχει αναφερθεί ότι αναστέλλει την GSK-3b. Συνοπτικά, σε αυτές τις θεραπείες προτείνονται γενικά αναστολείς κινασών οι οποίοι θα στοχοποιούν την GSK-3b (**Gallagher, et al, 2016**).

Θεραπείες αποκατάστασης των νευρώνων

Οι θεραπείες αποκατάστασης των νευρώνων εμπλέκουν τον νευροαυξητικό παράγοντα (NGF), βλαστικά κύτταρα, καθώς επίσης και εμφύτευση η οποία θα βοηθά την κυτταρική επιβίωση η την αναγέννηση των νευρικών κυττάρων. Ο NGF προωθεί την κυτταρική επιβίωση με σηματοδότηση μέσω συγκεκριμένων υποδοχέων με δράση κινάσης τυροσίνης για να μπλοκάρει αποτελεσματικά την απόπτωση των νευρώνων.

Νευροπροστατευτικές θεραπείες

Οι θεραπείες αυτές στοχεύουν τις νευροτοξικές επιδράσεις του Αβ αμυλοειδούς μέσω πολλών μονοπατιών, στα οποία περιλαμβάνονται η οξείδωση, η απομυελίνωση, και η φλεγμονή. Ένα αντισταμινικό φάρμακο το «dimebon», έχει ιδιότητες σταθεροποίησης των μιτοχονδρίων δοκιμάστηκε σε ασθενείς με μέτρια έως σοβαρή ασθένεια «Alzheimer» και έδειξε σημαντική επίδραση στην λειτουργία των ασθενών αυτών (Gallagher, et al, 2016).

Θεραπεία	Μηχανισμός
Θεραπείες βασισμένες στο αμυλοειδές	
Αναστολείς και τροποποιητές των σεκρετασών	Μειώνουν την παραγωγή του Αβ
Βοηθοί αντισυσσωμάτωσης	Εμποδίζουν τον ολιγομερισμό και τον σχηματισμό ινιδίων Αβ
Στατίνες	Μειώνουν την παραγωγή του Αβ
Ενεργητικά και παθητικά εμβόλια κατά των αμυλοειδών	Ενισχύουν την εκκαθάριση των πλακών από αμυλοειδές
Θεραπείες που σχετίζονται με την πρωτεΐνη T	
Αναστολείς κινασών	Μειώνουν την υπερφωσφορίωση της πρωτεΐνης T
Νευροπροστατευτικές θεραπείες	
Αντιοξειδωτικά	Μειώνουν την οξειδωτική βλάβη
Αντιφλεγμονώδη	Μειώνουν την φλεγμονή
Θεραπείες αποκατάστασης των νευρώνων	
Νευροαυξητικός παράγοντας NGF και νευροτροφίνες	Προωθεί την επιβίωση των νευρώνων και την αποκατάστασή τους
Θεραπεία βλαστικών κυττάρων	Αντικατάσταση των κυττάρων
Κυτταρική μεταμόσχευση	

Πίνακας 2: Συνοπτικός πίνακας που δείχνει τις τροποποιητικές θεραπείες στην νόσο Alzheimer.
 Πηγή: Neurodegenerative disorders, Springer books, 2016

3.2 Πρωτεΐνες που συμβάλλουν στην εκκαθάριση του Αβ αμυλοειδούς

Απολιποπρωτεΐνες

Οι απολιποπρωτεΐνες είναι πρωτεΐνες οι οποίες συζεύγονται με λιπίδια και σχηματίζουν διαφορετικές τάξεις σωματιδίων λιποπρωτεϊνών. Στον ανθρώπινο εγκέφαλο εκφράζονται μέλη αυτής της οικογένειας όπως η απολιποπρωτεΐνη ApoE, ApoJ, ApoD. Στον άνθρωπο εκφράζονται τρεις ισομορφές οι apoE2, apoE3, apoE4 τα οποία είναι προϊόντα αλληλόμορφα του ίδιου γονιδίου.

Η ApoJ είναι ετεροδιμερής γλυκοπρωτεΐνη που εκφράζεται στον εγκέφαλο από επιθηλιακά και νευρικά κύτταρα. Η πρωτεΐνη αυτή, συνεντοπίζεται με τα εναποθέματα Αβ και έχει προταθεί ότι προλαμβάνει την λανθασμένη αναδίπλωση και συσσωμάτωση του διαλυτού Αβ αμυλοειδούς (**Wilhelmus, et al, 2007**). Η απολιποπρωτεΐνη ApoE εμποδίζει τον σχηματισμό των τοξικών Αβ ολιγομερών, και πρωτοινιδίων και μπορεί να παίζει προστατευτικό ρόλο ενάντια στην ανάπτυξη της νόσου «Allzheimer».

Πρωτεογλυκάνες

Πρόκειται για μεγάλη οικογένεια μακρομορίων με μεγάλο εύρος λειτουργιών, όπως ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός, η διαφοροποίηση και η μορφογένεση των ιστών. Ένα μέλος αυτής της οικογένειας είναι η θεϊκή ηπαράνη πρωτεογλυκάνη HSPG που σχετίζονται με την παθογένεση της νόσου και την θεραπεία της. Καθώς δένονται στο Αβ πεπτίδιο και επεμβαίνουν στον σχηματισμό ινιδίων, θεωρούνται υποψήφιοι για θεραπευτικούς σκοπούς όσον αφορά το «Alzheimer». Μιμητές των GAGS μπορούν να αναστείλουν αυτό το δέσιμο και να μπλοκάρουν τον σχηματισμό των β-πτυχωτών επιφανειών. Συγκεκριμένα, οι HSPGs εμποδίζουν τον σχηματισμό των Αβ αμυλοειδών μορφών, όπως τα ολιγομερή, ή τα πρωτοινίδια και τα μετετρέπει σε μη τοξικά συσσωματώματα.

	SP/CAA	NFT	Απευθείας αλληλεπίδραση	Γενικές επιδράσεις στο Αβ και στην πρωτεΐνη T
Απολιποπρωτεΐνες				
ApoE	+	+	Αβ/T	↑ΙνιδίουΑβ/↓υπερφ T
ApoJ	+	?	Αβ	↓συσσωμάτωσης Αβ
HSPGs				
Perlecan	+-	+-	Αβ	HSPGs
Aggrin	+	-	Αβ	↓πρωτεολ μείωση Αβ
Glypican 1	+	-	?	↑Μη ινιδίων→ινιδικό Αβ
Syndecam 1-3	+	-	?	↑φωσφορλιωμένης T
ΚολλαγόνοXVIII	+	-	?	
GAGS	+	+	Αβ/T	
Συμπληρωματικοί παράγοντες				
Παράγοντας Hageman	+	+	?	Ενεργοποίηση Αβ
C1q	+	+	Αβ	↓Μείωση C3 εναπόθεση Αβ
C3/C4	+	+	Αβ	
C5-9	+	+	?	
Θερμοεπαγόμενες πρωτεΐνες				
Hsp90	+	?	T	↓συσσωμάτωσης T
Hsp70	+	?	Αβ/T	↓συσσωμάτωσης T
Μικρές Hsps				
αβ-κρυσταλλίνη	-	-	Αβ	↓σχηματισμού ινιδίων Αβ
Hsp27	-	+-	Αβ/T	↓σχηματισμού ινιδίων Αβ
Hsp20	+	-	Αβ	↓σχηματισμού ινιδίων Αβ
HspB2/B3	+	+	-	Καμία επίδραση
HspB8	+	-	Αβ	↓σχηματισμού ινιδίων Αβ

Πίνακας 3: Μοριακοί συνοδοί σε εγκεφάλους ασθενών με Alzheimer και η αλληλεπίδραση τους με τις πρωτεΐνες Αβ και T. Πηγή: Heat Shock Proteins and Amateur Chaperones in Amyloid-Beta Accumulation and Clearance in Alzheimer's Disease, Wilhelmus, et al, 2007

Ακριβείς πρωτεΐνες φάσης				
A1-αντιχυμοτρουσίνη	+	-	Aβ	↑σχηματισμού ινιδίων Aβ
A1-αντιμακρογλοβουλίνη	+	-	Aβ	
Ορός αμυλοειδούς P	+	+	Aβ	↑σχηματισμού ινιδίων Aβ
Διάφορες ενώσεις				
tPA	-	-	Aβ	↓σχηματισμού ινιδίων Aβ
Gelsolin	-	-	Aβ	↑σχηματισμού ινιδίων Aβ

Πίνακας 3 συνέχεια

Διάφορες πρωτεΐνες

Πολλές άλλες πρωτεΐνες έχουν προταθεί ότι εμπλέκονται στη νόσο «Alzheimer», και κάποιες από αυτές ίσως θα μπορούσαν να έχουν και θεραπευτικούς σκοπούς. Πρωτεΐνες όπως η $\alpha 1$ αντιχυμοτροψίνη (ACT), η $\alpha 2$ -μακρογλοβουλίνη ($\alpha 2M$) και η SAP. Η ACT όταν υπερεκφράζεται και δένεται με το Αβ αμυλοειδές επάγεται γένεση των αμυλοειδών ινιδίων. Αντιθέτως, η $\alpha 2M$ παρόλο που δένεται με το Αβ αμυλοειδές εμποδίζει τον σχηματισμό αμυλοειδών ινιδίων και από την τοξικότητα που σχετίζεται με αυτά. (Wilhelmus, et al, 2007).

Άλλη πρωτεΐνη που προστατεύει από τα τοξικά αμυλοειδή ινίδια είναι η «gelsolin» που ευρίσκεται ενδοκυττάρια και στο κυτταρόπλασμα. Η πρωτεΐνη αυτή δένεται στο Αβ πεπτιδίο αναστέλλοντας τον σχηματισμό των ινιδίων, και βοηθά στην αποικοδόμηση αυτών. Επιπλέον η πρωτεΐνη «gelsolin» αναστέλλει την τοξικότητα που οφείλεται στα Αβ πεπτιδία.

3.3 Εκκαθάριση του Αβ αμυλοειδούς

Οι πρωτεΐνες που δένονται στο Αβ αμυλοειδές παίζουν σημαντικό ρόλο στην εκκαθάριση του Αβ αμυλοειδούς διότι λειτουργούν ως μεταφορείς. Στην πρώτη περίπτωση εκκαθάρισης του Αβ πεπτιδίου, το πεπτιδίο απομακρύνεται από τον εγκέφαλο μέσω ενεργητικής μεταφοράς διαμέσω του αιματοεγκεφαλικού φραγμού. Αυτό επιτυγχάνεται από ειδικούς μεταφορείς που εκφράζονται από τα επιθηλιακά κύτταρα. Στην δεύτερη περίπτωση, το πεπτιδίο απομακρύνεται μέσω φαγοκυττάρωσης από τα μικρογλοιακά κύτταρα και τα αστροκύτταρα.

Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η απολιποπρωτεΐνη ApoE4 που ενισχύει την αποικοδόμηση του Αβ αμυλοειδούς πεπτιδίου πιο αποτελεσματικά από ότι η ApoE3. Επιπλέον η απουσία της ApoE μειώνει την αποικοδόμηση του Αβ αμυλοειδούς πεπτιδίου από τα αστροκύτταρα στον εγκέφαλο, το οποίο δείχνει ότι η ApoE εμπλέκεται απευθείας στην εκκαθάριση του Αβ πεπτιδίου από τον εγκέφαλο μέσω φαγοκυττάρωσης από τα κύτταρα που έχουν αναφερθεί (Wilhelmus, et al, 2007).

3.4 Στόχευση του μοριακού συνοδού Hsp90 και των συν-συνοδών του για την θεραπεία του Alzheimer

Αναστολείς της Hsp90

Ο πρώτος αναστολέας της Hsp90 ήταν η «Geldamycin» το οποίο πρόκειται για αντιβιοτικό το οποίο μείωνε τα επίπεδα της φωσφορυλιωμένης πρωτεΐνης T, αλλά είχε μεγάλο βαθμό τοξικότητας. Πραγματοποιήθηκαν βελτιώσεις αυτού του αναστολέα με λιγότερο τοξικές επιδράσεις όπως η «17-demethoxygeldamycin» που δένονται στο αμινοτελικό άκρο της Hsp90 και συμβάλλει στην εκκαθάριση της πρωτεΐνης T.

Άλλος αναστολέας της Hsp90 είναι το αντιβιοτικό «νονοβιοσίνη» που αλληλεπιδρά και δένεται με το καρβοξυτελικό άκρο της Hsp90 το οποίο έχει δράση ATPάσης. Πιο σύγχρονοι και βελτιωμένοι αναστολείς αυτού του τύπου είναι ο KU-32 που βελτιώνει και την ενεργητική των μιτοχονδρίων (Blair, et al, 2014).

Στόχευση της Hsp90 μέσω συν-συνοδών

Hsp90/Aha1

Ο Aha 1 είναι συν-συνοδός που αυξάνει την ενεργότητα ATPάσης του μοριακού συνοδού Hsp90. Ο Blair και οι συνεργάτες του έδειξαν ότι η καταστολή του Aha1 μέσω της τεχνικής siRNA μειώνει τα επίπεδα της πρωτεΐνης T.

Hsp90/Cdc37

Η Cdc37 σχετίζεται με την πρωτεΐνη T, διότι ρυθμίζει την σταθερότητά της. Υψηλά επίπεδα της Cdc37 σχετίζονται με υψηλότερα επίπεδα της T, ενώ η καταστολή της με siRNA συνεπάγεται εκκαθάριση της T. Τα «Celastrol» και «Withaferin A» είναι μικρά μόρια αναστολείς τα οποία αναστέλουν τα σύμπλοκα Hsp90/Cdc37, και τα οποία επάγουν αλλαγές στα επίπεδα της πρωτεΐνης T (Blair, et al, 2014).

Hsp90/Hop

Το Hop έχει τρεις περιοχές που μπορούν να δεθούν οι μοριακοί συνοδοί Hsp90 και Hsp70, γεγονός που επιτρέπει την μεταφορά συνοδών μεταξύ των Hsp90 και Hsp70. Πειραματικά βρέθηκε ότι όταν υπάρχει καταστολή του Hop παρατηρείται αύξηση των επιπέδων της πρωτεΐνης T, το οποίο μας δείχνει ότι το Hop με κάποιο τρόπο συμβάλλει στην μείωση των επιπέδων της πρωτεΐνης T.

Hsp90/p23

Η p23 είναι συν-συνοδός που δένεται στο ATP στην Hsp90 και παραμένει δεμένο ακόμη και μετά την υδρόλυση του ATP. Η απενεργοποίηση της πρωτεΐνης p23 μειώνει την σταθερότητα της T. Το προϊόν «Gedumín» μπορεί να απενεργοποιήσει απευθείας την p23 και να οδηγήσει στην αποικοδόμηση των βοηθών της Hsp90 , αλλά δεν βρέθηκε ότι έχει επίδραση στα επίπεδα του APP ή στην β-σεκρεατάση (BACE1). Μένουν να πραγματοποιηθούν περισσότερες μελέτες επι του θέματος για το αν η θεραπεία με «gedumín» επηρεάζει τα επίπεδα της T για την θεραπεία της νόσου AD (**Blair, et al, 2014**).

3.5 Θεραπείες βασισμένες σε μοριακούς συνοδούς για την νόσο Parkinson

3.5.1 Φάρμακα που ρυθμίζουν θετικά την λειτουργία των μοριακών συνοδών

Σε νευροεκφυλιστικές διαταραχές και στη νόσο του «Parkinson» έχουν μελετηθεί διάφοροι αναστολείς της πρωτεΐνης Hsp90. Η Hsp90 αποτελεί μέρος ενός συμπλόκου το οποίο ρυθμίζει αρνητικά την ενεργότητα του μεταγραφικού παράγοντα HSF1. Η αναστολή της Hsp90 που επιτυγχάνεται με μείωση της ενεργότητας της περιοχής ATPάσης, έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του παράγοντα HSF1 και την αύξηση της έκφρασης προστατευτικών πρωτεϊνών όπως είναι η Hsp70. Η «benzoquinone ansamycin» είναι αντιβιοτικό το οποίο δένεται στην περιοχή ATPάσης της Hsp90 και μπλοκάρει την αλληλεπίδρασή της με τον παράγοντα HSF1.

Άλλο μόριο αναστολέας της Hsp90 είναι ο SNA-2112 που δένεται επιλεκτικά στην περιοχή με δράση ATPάσης της Hsp90, και μπορεί να διασχίσει τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό. Μελέτες έδειξαν ότι το συγκεκριμένο φάρμακο παρουσιάζει καλή απορρόφηση στον εγκέφαλο και είναι βιοδιαθέσιμο (**Kalia, et al, 2014**).

Εκτός αυτών των φαρμάκων, υπάρχουν και άλλα τα οποία ρυθμίζουν θετικά την πρωτεΐνη Hsp70 όπως το «radicicol» το οποίο είναι και αυτό αναστολέας του μοριακού συνοδού Hsp90 αλλά μένουν να πραγματοποιηθούν και άλλες μελέτες διότι έχει περιορισμένη βιοδιαθεσιμότητα και δεν διαπερνά τόσο εύκολα τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό. Άλλοι μικροί συνθετικοί αναστολείς της Hsp90 που τώρα μελετώνται σε κλινικές δοκιμές για τον καρκίνο αλλά ίσως φανούν χρήσιμοι και για την νόσο του «Parkinson» είναι η «retapsimycin» και STA-9090.

3.5.2 Φάρμακα με ενεργότητα μοριακών συνοδών

Γενικά για την θεραπεία των νευροεκφυλιστικών διαταραχών, έχουν αναπτυχθεί ή αναπτύσσονται φαρμακολογικοί ή χημικοί συνοδοί. Ενώ τα μικρά μόρια φάρμακα που ρυθμίζουν θετικά την λειτουργία συγκεκριμένων μοριακών συνοδών, οι φαρμακολογικοί συνοδοί είναι μικρά μόρια με έμφυτες ιδιότητες των συνοδών. Οι φαρμακολογικοί συνοδοί δρουν προωθώντας την σταθεροποίηση των πρωτεϊνών και ή την αναδίπλωσή τους. Ένα τέτοιο παράδειγμα είναι η ουσία «Trehalose» που υπάρχει σε διάφορα φυτά και είδη η οποία σταθεροποιεί τις πρωτεΐνες σε καταστάσεις θερμικού στρες.

Επίσης η «Trehalose» προλαμβάνει τον σχηματισμό συσσωμάτων πρωτεϊνών όπως έχει αποδειχθεί *in vitro*. Μάλιστα πρόσφατα έχει βρεθεί ότι η εν λόγω ουσία ενισχύει την εκκαθάριση των μεταλλαγμάτων A30P και A35T της «3-synuclein» σε ντοπαμινεργικούς νευρώνες κάτι που ίσως θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για την χρήση της ενάντια στην νόσο του «Parkinson».

Άλλα φάρμακα που δίνονται στοματικά είναι η AT1001 και AT2220 τα οποία έχουν δοκιμαστεί σε κλινικές δοκιμές για τις νόσους «Pompe» και «Fabry». Ακόμη η ουσία AT2101 που διερευνάται για την θεραπεία της νόσου «Gaucher» διερευνάται επίσης και σαν μια πιθανή θεραπεία για την νόσο του «Parkinson» λόγω του πιθανού συσχετισμού από πλευράς παθοφυσιολογίας των δύο αυτών νόσων (Kalia, et al, 2014).

Αναστολείς Hsp90			
Στοιχείο	Μοντέλο ασθένειας	Ανάγνωση	Αναφορά
Geldamycin	Δροσόφιλα <i>melanogaster</i>	Επίπεδα Hsp70	Auluck et al. 2002
		Τοξικότητα	
	Κυτταρικό μοντέλο	Συσσωμάτωση a-synuclein	McLean et al. 2004
		Επίπεδα a-synuclein και συνοδών	
		Τοξικότητα	
	Δροσόφιλα <i>melanogaster</i>	Συσσωμάτωση a-synuclein	Auluck 2005 et al
		Επίπεδα Hsp70	
		Τοξικότητα	
	Σακχαρομύκητας <i>cerevisiae</i>	Οξειδωτικό στρες	Flower et al. 2005
		Απελευθέρωση κυτοχρώματος c	
	Κυτταρικό μοντέλο	Ενδοκυττάρια και εξωκυττάρια επίπεδα a-synuclein	Liu et al. 2009
		Μήκος νευριτών	
		Τοξικότητα	
	Κυτταρικό μοντέλο	Συσσωμάτωση a-synuclein	Emmanouilidou et al. 2010 [
		Ενεργότητα πρωτεασώματος	
		Επίπεδα πολυουβικιτινωμένων πρωτεϊνών	
17-AAG	Κυτταρικό μοντέλο	Εξωκυττάρια ολιγομερή a-synuclein	Danzer et al. 2011
		Εξωκυττάρια ολιγομερή a-synuclein και επίπεδα Hsp70	
	Κυτταρικό μοντέλο	ολιγομερή a-synuclein	Putchal et al. 2010
		Επίπεδα a-synuclein και Hsp70	
		Τοξικότητα	
	Κυτταρικό μοντέλο	Συσσωμάτωση a-synuclein	Riedel et al. 2010
		Επίπεδα συνοδών	
		Δείκτες μακροφάγων	

		Τοξικότητα	
Στοιχεία SNX	Κυτταρικό μοντέλο	Ολιγομερές synuclein	Putchal et al. 2010
		Επίπεδα α-synuclein και Hsp70	
		Τοξικότητα	
Ενισχυτές HSF1			
Στοιχείο	Μοντέλο ασθένειας	Ανάγνωση	Αναφορά
Carbenoxolone	Κυτταρικό μοντέλο	Συσσωμάτωση α-synuclein	Kilpatrick et al. 2013
		Επίπεδα α-synuclein και συνοδών	
		Τοποθεσία HSF1	
Χημικοί συνοδοί			
Στοιχείο	Μοντέλο ασθένειας	Ανάγνωση	Αναφορά
Trehalose	Κυτταρικό μοντέλο	Επίπεδα α-synuclein	Sarkar et al. 2007
		Δείκτες μακροφάγων	
	In vitro αναλύσεις	Συσσωμάτωση α-synuclein	Yu et al. 2012
Mannitol		Συσσωμάτωση α-synuclein	
		Ελλείματα συμπεριφοράς	
		Τοξικότητα	

Πίνακας 4: Φαρμακολογική στόχευση μοριακών συνοδών σε synucleinopathies. Πηγή: Molecular chaperones and protein folding as therapeutic targets in Parkinson's disease and other synucleinopathies. Fakhari, et al, 2013.

Στοιχείο	Μοντέλο ασθένειας	Ανάγνωση	Αναφορά
Mannosylglycerate	Σακχαρομύκητας cerevisiae	Συσσωμάτωση a-synuclein	Fania et al, 2013
		Επίπεδα a-synuclein και συνοδών	
		Τοξικότητα	
4-phenylbyrate	a-synuclein διαγονιδιακό ποντίκι	Φωσφοριλιωμένη a-synuclein	Oho et al, 2009
		Επίπεδα ντοπαμίνης	
		Συμπεριφορά	
		Τοξικότητα	

Πίνακας 5: Φαρμακολογική στόχευση μοριακών συνοδών σε synucleinopathies. Πηγή: *Molecular chaperones and protein folding as therapeutic targets in Parkinson's disease and other synucleinopathies. Fakhari, et al, 2013*

Στοιχείο	Μοντέλο ασθένειας	Ανάγνωση	Αναφορά
Geldamycin	MPTP μοντέλο ποντικού	Επίπεδα συνοδών και HSF1	Shen et al, 2005
		Επίπεδα ντοπαμίνης	
		Τοξικότητα	
Celastrol	MPTP μοντέλο ποντικού	Επίπεδα Hsp70	Cleren et al, 2005
		Επίπεδα ντοπαμίνης	
		Τοξικότητα	
Trehalose	Κυτταρικό μοντέλο eroxomicin	Συσσωμάτωση a-synuclein	Casarejos et al, 2011
		a-synuclein-επίπεδα συνοδών	
		Δείκτες μακροαυτοφαγίας	
		Ενεργότητα πρωτεασώματος	
		Οξειδωτικό στρες	
		Τοξικότητα	
4-phenylbyrate	Μοντέλο ποντικού rotenol	Συσσωμάτωση a-synuclein	Inden et al, 2007
		Επίπεδα a-synuclein	
		Επίπεδα ντοπαμίνης	
		Ελλειμματική συμπεριφορά	
		Οξειδωτικό στρες	
		Τοξικότητα	

Πίνακας 6: Φαρμακολογική στόχευση μοριακών συνοδών στο Parkinson. Πηγή: *Molecular chaperones and protein folding as therapeutic targets in Parkinson's disease and other synucleinopathies. Fakhari, et al, 2013.*

3.6 Θεραπείες κατά της νόσου Huntington

3.6.1 Αντιψυχωσικά και αντιαγχολυτικά φάρμακα κατά της νόσου Huntington

Όσον αφορά την νόσο «Huntington», δεν υπάρχει ακόμα θεραπεία η οποία θα μπορούσε να σταματήσει την εξέλιξή της, ή να την αναστρέψει. Όλα τα φάρμακα τα οποία χρησιμοποιούνται και δίνονται στους ασθενείς που πάσχουν από την συγκεκριμένη νόσο δεν θεραπεύουν την νόσο, απλά μετριάζουν και ελέγχουν τα συμπτώματα που προκαλεί.

Η «tetrabenazine» που εγκρίθηκε το 2008 από τον οργανισμό FDA στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής, ελέγχει τα κινητικά προβλήματα της νόσου και συνταγογραφείται στην Αμερική για τον έλεγχο των κινητικών διαταραχών. Η εν λόγω ουσία μειώνει την πρόσληψη ντοπαμίνης αναστέλλοντας τον μεταφορέα VMAT2 (Kaplan, et al, 2012). Εκτός αυτής της ουσίας χορηγούνται στους ασθενείς αντιψυχωσικά φάρμακα όπως είναι τα «clozapine, haloperidol, olanzapine» κ.α για να μειώσουν την νόσο. Εν γένει όμως τα φάρμακα αυτά μειώνουν τα επίπεδα της ντοπαμίνης, και ενώ δεν θεραπεύουν την ασθένεια, βοηθούν στον έλεγχο των ψυχοσικών επεισοδίων που κάποιοι ασθενείς παρουσιάζουν τα οποία σχετίζονται με την νόσο «Huntington».

Παρομοίως δίνονται στους πάσχοντες από την νόσο αντιαγχολυτικά φάρμακα όπως οι «diazepam» και «benzodiazepines» για τον έλεγχο του στρες καθώς επίσης λίθιο και «valprone» τα οποία βοηθούν και μετριάζουν τις διαταραχές της διάθεσης των ασθενών. Όμως όλα αυτά τα φάρμακα σε καμία περίπτωση δεν θεραπεύουν ή αναστέλλουν την εξέλιξη της νόσου και έχουν σοβαρές παρενέργειες που μπορούν να χειροτερέψουν τα συμπτώματα της ασθένειας αντί να τα καλυτερέψουν.

3.6.2 Φάρμακα υπο ανάπτυξη κατά της νόσου Huntington

Σήμερα βρίσκονται υπο ανάπτυξη διάφορα φάρμακα και γονιδιακές θεραπείες για την καταπολέμηση της νόσου «Huntington». Μερικά από αυτά είναι τα: ALN-HHT, CERE-120, ACR16 κ.α. τα οποία θα αναλύονται παρακάτω.

ALN-HHT

Πρόκειται για τεχνική παρεμβολής RNAi η οποία αναπτύχθηκε για την αποσιώπηση του mRNA του γονιδίου «Huntington», με στόχο την μείωση της μεταλλαγμένης πρωτεΐνης Htt. Πειράματα σε ποντικούς με απευθείας παρεμβολής RNAi στον εγκέφαλο έδειξαν προστασία νευρώνων από κυτταρικό θάνατο, μειωμένη συσσώματωση της μεταλλαγμένης πρωτεΐνης Htt και βελτίωση των κινητικών λειτουργιών (Kaplan, et al, 2012).

CERE-120

Ανήκει στα γονιδιακά φάρμακα και είναι ικός φορέας που περιέχει το γονίδιο «neurturin» το οποίο έχει νευροπροστατευτική δράση σε μοντέλα με ποντικούς που πάσχουν από «Parkinson». Το εν λόγω φάρμακο είναι ανεκτό όπως έδειξε η δοκιμή σε ανθρώπους της φάσης 1 και προκλινικές μελέτες έδειξαν μείωση της απώλειας των νευρώνων στο ραβδωτό σώμα.

ACR16

Πρόκειται για μικρό μόριο το οποίο στοχεύει την θεραπεία των συμπτωμάτων της νόσου και το οποίο έχει επιτυχώς ολοκληρώσει την κλινική δοκιμή της φάσης 3 στην Ευρώπη. Σε ασθενείς που χορηγήθηκε παρουσίασαν βελτίωση των κινήσεων εθελοντικά και ήταν ανεκτό ακόμα και σε υψηλές δόσεις. Το μόριο αυτό είναι σταθεροποιητής της ντοπαμίνης που δένεται στον ντοπαμινικό υποδοχέα 2 (Kaplan, et al, 2012).

Company	Compound	Type	Stage	Mechanism	Application	References
Accera, Inc.	AC-0523	Small Molecule	Preclinical	Restores impaired mitochondrial function	HD	(Accera, Inc., 2012)
Amylam Pharmaceuticals, Inc. Medtronic, Inc. CHDI Foundation, Inc.	ALN-HTT	siRNA	Preclinical	Silences huntingtin mRNA	HD	(DiFiglia <i>et al.</i> , 2007; Stiles <i>et al.</i> , 2011)
Avicena Group, Inc.	HD-02 (Creatine monohydrate)	Small Molecule	Phase III	Improves energy metabolism	HD	(Dedeoglu <i>et al.</i> , 2003; Ferrante <i>et al.</i> , 2000; Hersch <i>et al.</i> , 2006)
Ceregene, Inc.	CERE-120 (AAV-neurturin)	Gene Therapy	Preclinical (HD) Phase II (PD)	Promotes striatal survival through activation of RET tyrosine kinase pathway	HD, PD	(Alberch <i>et al.</i> , 2002; Perez-Navarro <i>et al.</i> , 2000; Ramaswamy <i>et al.</i> , 2007; Ramaswamy <i>et al.</i> , 2009)
Chaperone Therapeutics, Inc.	Lead compounds	Small Molecule	Preclinical	Activates HSF1 that leads to upregulation of heat-shock proteins	AD, ALS, CJD, HD, PD	(Neef <i>et al.</i> , 2010)
Charite University Berlin, Germany	EGCG	Small Molecule	Phase II	Reduces mutant huntingtin aggregates	HD	(Ehmhoefer <i>et al.</i> , 2006)
Cortex Pharmaceuticals, Inc.	CX929 (ampakines)	Small Molecule	Preclinical	Allosterically activates AMPA receptor resulting in the production of BDNF	HD	(Simmons <i>et al.</i> , 2009; Simmons <i>et al.</i> , 2011)
Edison Pharmaceuticals, Inc.	EPI-743	Small molecule	Preclinical (HD) Phase II (IMDs)	Potent Coenzyme Q ₁₀ analog that targets NQO1	IMDs, HD	(Edison Pharmaceuticals, 2011; Enns <i>et al.</i> , 2012)
Genervon Biopharmaceuticals, LLC	GM6 (MNTF analog)	Protein biologic	Preclinical (HD) Phase II (stroke, PD)	Activates neurogenesis and anti-apoptosis pathways	HD, AD, PD, ALS, MS, stroke, SCI	(Genervon Biopharmaceuticals, 2012; Yu <i>et al.</i> , 2008)

Πίνακας 6: Φάρμακα υπο ανάπτυξη για την θεραπεία της Huntington

Company	Compound	Type	Stage	Mechanism	Application	References
The Huntington Study Group NINDS University of Rochester Massachusetts General Hospital	CoQ10	Small molecule	Phase III	Anti-oxidant and restores impaired mitochondrial function	HD	(Koroshetz et al., 1997)
Indus Biotech	INDUS815C	Small molecule	Preclinical	SIRT2 inhibitor	HD	(Luthi-Carter <i>et al.</i> , 2010)
Isis Pharmaceuticals, Inc. CHDI Foundation, Inc.	Modified antisense oligo-nucleotides	siRNA	Preclinical	Selectively inhibit mutant huntingtin translation	HD	(Isis Pharmaceuticals, Inc., 2011; Carroll et al., 2011; Gagnon et al., 2010)
Link Medicine Corp.	LNK-754	Small molecule	Phase I (AD) Preclinical (HD)	Inhibits farnesyl-transferase and stimulates autophagy	AD, PD, HD	(Sommer and Stacy, 2008)
Neuralstem, Inc.	Region specific CNS stem cells	Stem cell	Preclinical (HD) Phase I (ALS)	Transplanted region specific stem cells will generate new neural circuits and provide neurotrophic pro-survival factors for existing neurons	HD, ALS, SCI, stroke	(Neuralstem, Inc., 2011)
Neurologix, Inc. Aegera Therapeutics, Inc.	XIAP	Gene Therapy	Preclinical	XIAP inhibits caspases and leads to degradation of Smac/Diablo	HD	(Neurologix, Inc., 2011; Goffredo et al., 2005; Nakamura et al., 2010)
NeuroSearch A/S	Huntexil® (pridopidine; ACR16)	Small molecule	Phase III	Dopaminergic stabilizer	HD	(de Yebenes et al., 2011; Lundin et al., 2010)
Novartis Pharmaceuticals	AFQ056	Small molecule	Phase II (HD) Phase II (PD) Phase III (FXS)	Reducing chorea	HD, PD, FXS	(Levenga et al., 2011)
NsGene A/S	NsG33 (Meteorin)	Protein biologic	Preclinical	Novel neurotrophic factor that promotes survival of striatal neurons	HD, NP	(NsGene A/S, 2012; Jorgensen et al., 2011)

Πίνακας 7: Φάρμακα υπο ανάπτυξη για την θεραπεία της Huntington

Company	Compound	Type	Stage	Mechanism	Application	References
Oryzon	LSD-1/ MAO-B	Small molecule	Preclinical	Inhibits both the lysine-specific demethylase-1 and monoamine oxidase B enzyme	HD, PD, AD	(Oryzon, 2012)
Prana Biotechnology, Ltd.	PBT2 (8-hydroxy- quinoline analog)	Small Molecule	Phase II	Prevents the formation of metal-mediated mutant protein aggregates and restores depleted metal ion levels in neurons	AD, HD	(Adlard et al., 2008; Crouch et al., 2011; Nguyen et al., 2005; Tardiff et al., 2012)
Prosensa	PRO289 (antisense oligo- nucleotide)	siRNA	Preclinical	Prevents the production of mutant huntingtin mRNA and protein	HD	(Prosensa, 2012)
Raptor Pharmaceutical, Corp.	RP103 (DR Cysteamine)	Small molecule	Phase II (HD) Phase III (NC)	Delayed release of cysteamine, which can increase levels of BDNF in neurons	HD, NC	(Borrell-Pages et al., 2006; Gibrat and Cicchetti, 2011)
ReNeuron	ReN005	ReN005 Stem cell	Preclinical (HD) Phase I (stroke)	Implanted into the brain to replace neuronal loss and improve motor functions	HD, stroke	(ReNeuron, 2011)
Repligen Corp.	Lead Compounds	Small molecule	Preclinical	HDAC3 inhibitors	HD	(Jia et al., 2012)
Siena Biotech S.p.A. Elixir Pharmaceuticals, Inc.	Selisistat (SEN196/ SEN0014196/ EX-527)	Small molecule	Phase II	SIRT1, class III histone deacetylase, inhibitor	HD	(Gray, 2010)
University of Iowa NINDS CHDI Foundation, Inc.	Citalopram (Celexa®)	Small molecule	Phase II	Selective serotonin reuptake inhibitor	HD	(ClinicalTrials.gov, 2012)
Varinel	VAR10300 (M30 and analogs)	Small molecule	Preclinical	Iron chelator and an irreversible inhibitor of brain- selective MAO-A and MAO-B	AD, ALS, HD, PD, FA	(Gal et al., 2005; Zheng et al., 2005)

Πίνακας 8: Φάρμακα υπο ανάπτυξη για την θεραπεία της Huntington

Από το 1983 που το γονίδιο HD χαρτογραφήθηκε στο χρωμόσωμα 4 μέχρι σήμερα έχουν σχεδόν κατανοηθεί αρκετά καλά οι μηχανισμοί που προκαλούν την παθογένεση της νόσου. Ωστόσο παρόλο που πέρασαν πάνω από δύο δεκαετίες δεν έχει βρεθεί μέχρι σήμερα αποτελεσματική θεραπεία η οποία να εμποδίζει την ασθένεια. Όπως έχει αναφερθεί στην εργασία αυτή η μεταλλαγμένη πρωτεΐνη HTT θεωρείται υπεύθυνη για τις τοξικές επιδράσεις οι οποίες μάλιστα εξαρτώνται από τον αριθμό των αλληλουχιών CAG στο γονίδιο.

Επομένως, το να εμποδιστεί η έκφραση της μεταλλαγμένης πρωτεΐνης mHTT που είναι η κύρια αιτία της νόσου θα ήταν ίσως μια πολλά υποσχόμενη θεραπεία ενάντια στη συγκεκριμένη νόσο. Το γεγονός αυτό έχει μελετηθεί από ερευνητές και είναι υπο ανάπτυξη δύο μέθοδοι αποσιώπησης του γονιδίου.

Η πρώτη μέθοδος αφορά την καταστολή της έκφρασης τόσο του wt όσο και της μεταλλαγμένης πρωτεΐνης, αλλά υπάρχουν προβλήματα διότι το wtHTT έχει διάφορους ρόλους που αφορούν την λειτουργία των νευρώνων. Ακόμη η απώλεια της HTT στο μισό προκαλεί κινητικές διαταραχές, περίεργη συμπεριφορά και αλλαγές στην μορφολογία του εγκεφάλου. Μελέτη έδειξε ότι η διαγραφή της στον εγκέφαλο νεαρών ποντικών οδήγησε σε νευροεκφύλιση. Αυτά τα αποτελέσματα μας δείχνουν ότι η λειτουργία της wtHTT είναι σημαντική για την λειτουργία του εγκεφάλου (**Skotte, et al, 2014**).

Μια άλλη εναλλακτική μέθοδος είναι η στόχευση των HD-SNPs χρησιμοποιώντας τεχνική RNAi ή ASOs «antisenseoligonucleotides» για την συγκεκριμένη θεραπεία της νόσου. Τα SNPs είναι πλούσια στα αλληλόμορφα HD και η κατασκευή ενός πάνελ συγκεκριμένων αλληλόμορφων ASOs θα πάρει σημαντικό χρόνο. Άλλο ένα πρόβλημα που ίσως προκύψει είναι ότι κάποιοι άνθρωποι που πάσχουν από την νόσο ίσως δεν μπορούν να θεραπευτούν με αυτήν την μέθοδο. Συνεπώς ενώ η μέθοδος θα μπορούσε να φέρει καλά αποτελέσματα, αλλά αν γίνει κάτι τέτοιο θα καθυστερήσει και θα πρέπει παράλληλα να εξεταστούν και άλλες θεραπείες οι οποίες θα μπορούσαν να είναι αποτελεσματικές.

ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΣΥΝΟΔΟΙ ΚΑΙ ΝΕΥΡΟΕΚΦΥΛΙΣΤΙΚΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ

ΠΑΝΤΕΛΗΣ ΜΠΟΥΡΑΖΑΝΗΣ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην εργασία αυτή μελετήθηκαν οι νευροεκφυλιστικές ασθένειες, τα αίτιά τους και οι πιθανές θεραπείες από μοριακή σκοπιά. Η παρούσα εργασία χωρίζεται σε τρία κεφάλαια. Στο πρώτο κεφάλαιο αναφέρονται αρχικά τα εισαγωγικά για τις νευροεκφυλιστικές ασθένειες και στην συνέχεια γίνεται ανάλυση των ασθενειών «Parkinson», «Alzheimer's» και «Huntington» που είναι και οι συνηθέστερες νευροεκφυλιστικές ασθένειες. Στο δεύτερο κεφάλαιο γίνεται εκτεταμένη ανάλυση των μοριακών συνοδών και των ρόλων που έχουν στις ασθένειες που αναφέρθηκαν. Συγκεκριμένα, παρουσιάζονται και εξηγούνται οι ρόλοι συγκεκριμένων μοριακών συνοδών όπως οι Hsp70, Hsp90 και άλλες στις νευροεκφυλιστικές ασθένειες. Οι μοριακοί συνοδοί συμμετέχουν και βοηθούν την σωστή αναδίπλωση των πρωτεϊνών και ως εκ τούτου η υπερέκφραση κάποιων θα μπορούσε να συμβάλει στην θεραπεία κάποιων νευροεκφυλιστικών ασθενειών. Τέλος, η εργασία αυτή κλείνει με ένα κεφάλαιο που αφορά τις θεραπευτικές προσεγγίσεις έναντι αυτών των ασθενειών, οι οποίες όμως είναι μη αποτελεσματικές ακόμη όσον αφορά την οριστική θεραπεία συγκεκριμένων ασθενειών. Το πεδίο στο οποίο αφορά η εργασία θεωρείται ένα από τα πιο σημαντικά και δύσκολα θέματα των Βιοεπιστημών καθώς οι εν λόγω ασθένειες μαστίζουν τον σύγχρονο άνθρωπο και δεν υπάρχουν αποτελεσματικές θεραπείες επι του παρόντος. Για τον λόγο αυτό η μοριακή μελέτη των νευροεκφυλιστικών ασθενειών έχει ιδιαίτερη σημασία στην σύγχρονη Ιατρική επιστήμη.

MOLECULAR CHAPERONES AND NEURODEGENERATIVE DISEASES

PANTELIS BOURAZANIS

ABSTRACT

In this master thesis there has been studied the causes and possible therapies of neurodegenerative disease from molecular standpoint. This work is divided into three chapters. At the first chapter there are initially mentioned introductory things about these diseases, and then there is analysis of Parkinson, Alzheimer's and Huntington disease which are the most common neurodegenerative diseases. In the second chapter there is a comprehensive analysis of molecular chaperones and their roles in the neurodegenerative diseases that are mentioned above. Specifically, this chapter presents the roles of specific molecular chaperones such as Hsp70, Hsp90 and others in the neurodegenerative diseases that this thesis is about. The molecular chaperones help the right protein folding, and their overexpression could contribute to the treatment of some neurodegenerative diseases. Finally, this thesis ends with a chapter on therapeutic approaches to these diseases which however are not yet effective. The field that concerns this thesis is considered to be one of the most important and difficult issues of Biosciences as these diseases plague the humanity and there are no effective treatments at the present. For this reason, the molecular study of neurodegenerative diseases is particularly important in modern Medical science.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ-ΑΝΑΦΟΡΕΣ

Το κύτταρο, Μια Μοριακή Προσέγγιση, Τόμος Πρώτος, Cooper, Hausman, 2009

Neurodegenerative disorders, Hardiman, Doherty, Springer books, 2016

- [1] Laura J. Blair, Jonathan J. Sabbagh, Chad A. Dickey. (2014) Targeting Hsp90 and its co-chaperones to treat Alzheimer's disease. *Expert Opin Ther Targets* 18(10): 1219-1232
- [2] Rui-Chun Lu, Meng-Shan Tan, Hao Wang, An-Mu Xie, Jin-Tai Yu, Lan Tan. (2014) Heat Shock Protein 70 in Alzheimer's Disease. *Biomed Research International* Volume 2014:8 pages
- [3] Judith Gillis, Sbine Schipper-Krom, Katrin Juenemann, Anna Gruber, Silvia Coolen, Rian van den Nieuwendijk, Henk van Veen, Hermen Overkleeft, Joachim Goedhart, Harm H. Kampinga, Eric A. Reits. (2013) The DNAJB6 and DNAJB8 Protein Chaperones Prevent Intracellular Aggregation of Polyglutamine Peptides. *The Journal Of Biological Chemistry* Vol 288: 17225-17237
- [4]] Wen Juan Huang, Wei-Wei Chen, Xia Zhang. (2016). Huntington's disease: Molecular basis of pathology and status of current therapeutic approaches. *Experimental and Therapeutic Medicine* 12: 1951-1956
- [5]] S.K.Kalia, L.V. Kalia, P.J McLean. (2010) Molecular Chaperones as Rational Drug Targets for Parkinson's Disease Therapeutics. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 9(6):741-753
- [6] Anna Kaplan, Brent R. Stockwell. (2012) Therapeutic approaches to preventing cell death in Huntington disease. *Prog Neurobiol* 99(3): 262-280
- [7] Kovacs. (2015) Classification of neurodegenerative diseases. Cambridge University Press. *Neuropathology of Neurodegenerative diseases: A Practical Guide*
- [8] Panchanan Maiti, Jayeeta Manna, Shobi Veleri Sally Frautschy. (2014). Molecular Chaperone Dysfunction in Neurodegenerative Diseases and Effects of Curcumin. *Biomed Research International* Volume 2014, 14 pages
- [9] Andre Nicoullon. (2011) Neurodegenerative diseases and neuroprotection:current views and prospects. *J. of Applied Biomedicine* 9: 173-183
- [10] Jiang-Rong Ou, Meng-Shan Tan, An-Mu Xie, Jin-Tai Yu, Lan Tan. (2014) Heat Shock Protein 90 in Alzheimer's Disease. *Biomed Research International* Volume 2014:7 pages

- [11] Niels H. Skotte, Amber L. Southwell, Michael E. Ostergaard, Jeffrey B. Carroll, Simon C. Warby, Crystal N. Doty, Eugenia Petoukhov, Kuljeet Vaid, Holly Kordasiewicz, Andrew T. Watt, Susan M. Frier, Gene Hung, C. Franak Bennett, Eric E. Swayze, Michael R. Hayden.(2014) Allele-Specific Suppression of Mutant Huntingtin Using Antisense Oligonucleotides:Providing a Therapeutic Option for all Huntington Disease Patients. Plos One Volume 9, Issue 9
- [12] Larry C. Walker, Mathias Jucker. (2015) Neurodegenerative Diseases: Expanding the Prion Concept. *Annu Rev Neurosci* 38: 87-103
- [13] Micha M. M. Wilhelmus, Robert M. W. de Waal, Marcel M. Verbeek. (2007) Heat Shock Proteins and Amateur Chaperones in Amyloid-Beta Accumulation and Clearance in Alzheimer's Disease. *Mol Neurobiol* 35: 203-216