

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΤΟΜΕΑΣ ΚΛΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ

Διευθυντής Εργαστηρίου:

Καθηγητής Αθανάσιος Παπαβασιλείου

Επιβλέπουσα:

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Σταυρούλα Κουλοχέρη

ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΟΥ ΑΝΟΣΟΒΙΟΧΗΜΙΚΟΥ ΠΡΟΦΙΛ

ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΕΚΠΤΩΣΗ ΤΩΝ ΓΝΩΣΙΑΚΩΝ

ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΩΝ ΚΑΙ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΤΑ

ΝΕΥΡΟΨΥΧΙΑΤΡΙΚΑ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΕΥΑΓΓΕΛΙΑΣ Κ. ΣΤΑΜΟΥΛΗ

ΓΕΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΟΥ

ΑΘΗΝΑ

2013

Ημερομηνία κατάθεσης αίτησης εκπόνησης Διδακτορικής Διατριβής:	26-07-2005
Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:	18-10-2005
Ημερομηνία ορισμού του θέματος Διδακτορικής Διατριβής:	13-01-2006
Ημερομηνία καταθέσεως της διδακτορικής διατριβής:	01-02-2013

Μέλη της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Σ. ΚΟΥΛΟΧΕΡΗ	Αναπλ. Καθηγήτρια Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών
Χ. ΠΙΠΕΡΗ	Επικ. Καθηγήτρια Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών
Α. ΠΟΛΙΤΗΣ	Αναπλ. Καθηγητής Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών

Πρόεδρος Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών:

Μ.Α. ΔΗΜΟΠΟΥΛΟΣ	Καθηγητής Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών
-----------------	---

Μέλη της Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής:

Γ. ΠΑΠΑΔΗΜΗΤΡΙΟΥ	Καθηγητής Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών
Σ. ΚΟΥΛΟΧΕΡΗ	Αναπλ. Καθηγήτρια Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών
Α. ΜΑΪΛΛΗΣ	Αναπλ. Καθηγητής Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών
Α. ΠΟΛΙΤΗΣ	Αναπλ. Καθηγητής Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών
Χ. ΠΙΠΕΡΗ	Επικ. Καθηγήτρια Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών
Α. ΠΕΧΛΙΒΑΝΙΔΗΣ	Επικ. Καθηγητής Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών
Α. ΠΑΠΑΠΑΝΑΓΙΩΤΟΥ	Επικ. Καθηγήτρια Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών

Η παρούσα διδακτορική διατριβή έγινε δεκτή με το βαθμό ΑΡΙΣΤΑ.

ΙΠΠΟΚΡΑΤΙΚΟΣ ΟΡΚΟΣ

ΚΕΙΜΕΝΟ

ΟΜΝΥΜΙ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΙΗΤΡΟΝ ΚΑΙ ΑΣΚΛΗΠΙΟΝ ΚΑΙ ΥΓΕΙΑΝ ΚΑΙ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ ΚΑΙ ΘΕΟΥΣ ΠΑΝΤΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΠΑΣΑΣ, ΙΣΤΟΡΑΣ ΠΟΙΟΥΜΕΝΟΣ, ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΕΙΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ ΟΡΚΟΝ ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΣΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝΔΕ. ΗΓΗΣΕΣΘΑΙ ΜΕΝ ΤΟΝ ΔΙΔΑΞΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ ΙΣΑ ΓΕΝΕΤΗΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΟΙΝΩΣΕΣΘΑΙ ΚΑΙ ΧΡΕΩΝ ΧΡΗΖΟΝΤΙ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΕΣΘΑΙ ΚΑΙ ΓΕΝΟΣ ΤΟ ΕΞ ΕΑΥΤΟΥ ΑΔΕΛΦΕΟΙΣ ΙΣΟΝ ΕΠΙΚΡΙΝΕΕΙΝ ΑΡΡΕΣΙ ΚΑΙ ΔΙΔΑΞΕΙΝ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ, ΗΝ ΧΡΗΖΩΣΙ ΜΑΝΘΑΝΕΙΝ, ΑΝΕΥ ΜΙΣΘΟΥ ΚΑΙ ΣΥΓΓΡΑΦΗΣ. ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΗΣ ΤΕ ΚΑΙ ΑΚΡΟΗΣΙΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΛΟΙΠΗΣ ΑΠΑΣΗΣ ΜΑΘΗΣΙΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΕΣΘΑΙ ΥΙΟΙΣΙ ΤΕ ΕΜΟΙΣ ΚΑΙ ΤΟΙΣ ΤΟΥ ΕΜΕ ΔΙΔΑΞΑΝΤΟΣ ΚΑΙ ΜΑΘΗΤΑΙΣΙ ΣΥΓΓΕΓΡΑΜΜΕΝΟΙΣΙ ΤΕ ΚΑΙ ΩΡΚΙΣΜΕΝΟΙΣ ΝΟΜΩ ΙΗΤΡΙΚΩ, ΑΛΛΩ ΔΕ ΟΥΔΕΝΙ. ΔΙΑΙΤΗΜΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ, ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ. ΕΠΙ ΔΗΛΗΣΕΙ ΔΕ ΚΑΙ ΑΔΙΚΗ ΕΙΡΞΕΙΝ. ΟΥ ΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΦΑΡΜΑΚΟΝ ΟΥΔΕΝΙ ΑΙΤΗΘΕΙΣ ΘΑΝΑΣΙΜΟΝ, ΟΥΔΕ ΥΦΗΓΗΣΟΜΑΙ ΣΥΜΒΟΥΛΙΗΝ ΤΟΙΗΝΔΕ, ΟΜΟΙΩΣ ΔΕ ΟΥΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ ΠΕΣΣΟΝ ΦΘΟΡΙΟΝ ΔΩΣΩ. ΑΓΝΩΣ ΔΕ ΚΑΙ ΟΣΙΩΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΟΝ ΤΟΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΝ ΤΗΝ ΕΜΗΝ. ΟΥ ΤΕΜΕΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΜΗΝ ΛΙΘΙΩΝΤΑΣ, ΕΚΧΩΡΗΣΩ ΔΕ ΕΡΓΑΤΗΣΙΝ ΑΔΡΑΣΙΝ ΠΡΗΞΙΟΣ ΤΗΣΔΕ. ΕΣ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΑΣ ΑΝ ΕΣΙΩ, ΕΣΕΛΕΥΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ, ΕΚΤΟΣ ΕΩΝ ΠΑΣΗΣ ΑΔΙΚΗΣ ΕΚΟΥΣΙΗΣ ΚΑΙ ΦΘΟΡΙΗΣ ΤΗΣ ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΑΦΡΟΔΙΣΙΩΝ ΕΡΓΩΝ ΕΠΙ ΤΕ ΓΥΝΑΙΚΕΙΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΕΙΩΝ, ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΤΕ ΚΑΙ ΔΟΥΛΩΝ. Α Δ' ΑΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΕΙΗ Η ΙΔΩ Η ΑΚΟΥΣΩ, Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ ΘΕΡΑΠΕΙΗΣ ΚΑΤΑ ΒΙΟΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ, Α ΜΗ ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΛΑΛΕΙΣΘΑΙ ΕΞΩ, ΣΙΓΗΣΟΜΑΙ, ΑΡΡΗΤΑ ΗΓΕΥΜΕΝΟΣ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΤΟΙΑΥΤΑ. ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΕΟΝΤΙ ΚΑΙ ΜΗ ΣΥΓΧΕΟΝΤΙ ΕΙΗ ΕΠΑΥΡΑΣΘΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ, ΔΟΞΑΖΟΜΕΝΩ ΠΑΡΑ ΠΑΣΙΝ ΑΝΘΡΩΠΟΙΣ ΕΣ ΤΟΝ ΑΙΕΙ ΧΡΟΝΟΝ, ΠΑΡΑΒΑΙΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΙ ΕΠΙΟΡΚΟΥΝΤΙ, ΤΑΝΑΝΤΙΑ ΤΟΥΤΕΩΝ.

ΙΠΠΟΚΡΑΤΙΚΟΣ ΟΡΚΟΣ

ΜΕΤΑΦΡΑΣΗ

ΟΡΚΙΖΟΜΑΙ ΕΙΣ ΤΟΝ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΤΟΝ ΙΑΤΡΟ ΚΑΙ ΕΙΣ ΤΟΝ ΑΣΚΛΗΠΙΟ ΚΑΙ ΕΙΣ ΤΗΝ ΥΓΕΙΑ ΚΑΙ ΕΙΣ ΤΗΝ ΠΑΝΑΚΕΙΑ ΚΑΙ ΕΙΣ ΟΛΟΥΣ ΤΟΥΣ ΘΕΟΥΣ ΚΑΙ ΤΙΣ ΘΕΕΣ, ΕΠΙΚΑΛΟΥΜΕΝΟΣ ΑΥΤΟΥΣ ΩΣ ΜΑΡΤΥΡΕΣ, ΟΤΙ ΘΑ ΤΗΡΗΣΩ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΥΝΑΜΗ ΚΑΙ ΤΗΝ ΚΡΙΣΗ ΜΟΥ ΑΥΤΟΝ ΤΟΝ ΟΡΚΟ ΚΑΙ ΑΥΤΟ ΕΔΩ ΤΟ ΣΥΜΒΟΛΑΙΟ ΜΟΥ. ΘΑ ΘΕΩΡΩ ΕΚΕΙΝΟΝ Ο ΟΠΟΙΟΣ ΜΕ ΔΙΔΑΞΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗ ΑΥΤΗ ΙΣΟ ΠΡΟΣ ΤΟΥΣ ΓΟΝΕΙΣ ΜΟΥ ΚΑΙ ΘΑ ΜΟΙΡΑΣΤΩ ΜΑΖΙ ΤΟΥ ΤΑ ΥΠΑΡΧΟΝΤΑ ΜΟΥ ΚΑΙ ΘΑ ΤΟΝ ΒΟΗΘΩ ΟΤΑΝ ΕΥΡΙΣΚΕΤΑΙ ΣΕ ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΗ ΑΝΑΓΚΗ. ΘΑ ΘΕΩΡΩ ΤΟΥΣ ΑΠΟΓΟΝΟΥΣ ΤΟΥ ΩΣ ΑΔΕΛΦΟΥΣ ΜΟΥ ΚΑΙ ΘΑ ΤΟΥΣ ΔΙΔΑΣΚΩ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗ ΑΥΤΗ, ΕΑΝ ΕΠΙΘΥΜΟΥΝ ΝΑ ΤΗ ΜΑΘΟΥΝ, ΧΩΡΙΣ ΑΜΟΙΒΗ ΚΑΙ ΣΥΜΒΟΛΑΙΟ. ΘΑ ΜΕΤΑΔΩΣΩ ΜΕ ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΕΣ, ΟΔΗΓΙΕΣ ΚΑΙ ΣΥΜΒΟΥΛΕΣ ΟΛΕΣ ΤΙΣ ΠΟΛΟΙΠΕΣ ΓΝΩΣΕΙΣ ΚΑΙ ΕΙΣ ΤΑ ΠΑΙΔΙΑ ΜΟΥ ΚΑΙ ΕΙΣ ΤΑ ΠΑΙΔΙΑ ΤΟΥ ΔΙΔΑΣΚΑΛΟΥ ΜΟΥ ΚΑΙ ΕΙΣ ΤΟΥΣ ΜΑΘΗΤΕΣ ΟΙ ΟΠΟΙΟΙ ΕΧΟΥΝ ΟΡΚΙΣΤΕΙ ΟΤΙ ΘΑ ΤΗΡΟΥΝ ΤΟΥΣ ΙΑΤΡΙΚΟΥΣ ΚΑΝΟΝΕΣ ΚΑΙ ΕΧΟΥΝ ΣΥΜΦΩΝΗΣΕΙ ΕΓΓΡΑΦΩΣ, ΕΙΣ ΟΥΔΕΝΑ ΔΕ ΑΛΛΟΝ. ΘΑ ΘΕΡΑΠΕΥΩ ΤΟΥΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΥΝΑΜΗ ΚΑΙ ΤΗΝ ΚΡΙΣΗ ΜΟΥ, ΧΩΡΙΣ ΠΟΤΕ ΕΚΟΥΣΙΩΣ ΝΑ ΤΟΥΣ ΒΛΑΨΩ Η ΝΑ ΤΟΥΣ ΑΔΙΚΗΣΩ. ΔΕ ΘΑ ΧΟΡΗΓΗΣΩ ΘΑΝΑΤΗΦΟΡΟ ΦΑΡΜΑΚΟ ΣΕ ΚΑΝΕΝΑΝ, ΟΥΤΕ ΚΑΙ ΕΑΝ ΜΟΥ ΖΗΤΗΘΕΙ ΚΑΙ ΟΥΤΕ ΘΑ ΔΩΣΩ ΤΕΤΟΙΑ ΣΥΜΒΟΥΛΗ. ΕΠΙΣΗΣ ΔΕ ΘΑ ΔΩΣΩ ΣΕ ΓΥΝΑΙΚΑ ΦΑΡΜΑΚΟ ΓΙΑ ΝΑ ΑΠΟΒΑΛΕΙ. ΘΑ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΤΟ ΒΙΟ ΜΟΥ ΚΑΙ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗ ΜΟΥ ΚΑΤΑ ΤΡΟΠΟ ΑΓΝΟ ΚΑΙ ΣΥΜΦΩΝΟ ΠΡΟΣ ΤΟΝ ΘΕΙΟ ΝΟΜΟ. ΔΕ ΘΑ ΧΕΙΡΟΥΡΓΗΣΩ ΟΥΤΕ ΤΟΥΣ ΠΑΣΧΟΝΤΑΣ ΑΠΟ ΛΙΘΙΑΣΙΝ, ΑΛΛΑ ΘΑ ΕΚΧΩΡΗΣΩ ΤΗΝ ΠΡΑΞΗ ΑΥΤΗ ΣΤΟΥΣ ΕΙΔΙΚΟΥΣ. ΣΕ ΟΣΕΣ ΔΕ ΟΙΚΙΕΣ ΕΙΣΕΛΘΩ, ΘΑ ΕΙΣΕΛΘΩ ΓΙΑ ΩΦΕΛΕΙΑ ΤΩΝ ΠΑΣΧΟΝΤΩΝ, ΑΠΕΧΟΝΤΑΣ ΑΠΟ ΚΑΘΕ ΕΚΟΥΣΙΑ ΑΔΙΚΙΑ ΚΑΙ ΑΛΛΗ ΖΗΜΙΑ ΚΑΙ ΚΑΘΕ ΓΕΝΕΤΗΣΙΑ ΠΡΑΞΗ ΕΠΙ ΓΥΝΑΙΚΕΙΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΙΚΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ, ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ Η ΔΟΥΛΩΝ. ΟΣΑ ΔΕ ΔΩ Η ΑΚΟΥΣΩ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΑΣΚΗΣΗ ΤΟΥ ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΟΣ ΜΟΥ Η ΚΑΙ ΕΚΤΟΣ, ΓΙΑ ΤΗ ΖΩΗ ΤΩΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ, ΤΑ ΟΠΟΙΑ ΔΕΝ ΠΡΕΠΕΙ ΠΟΤΕ ΝΑ ΚΟΙΝΟΠΟΙΗΘΟΥΝ, ΘΑ ΚΡΑΤΗΣΩ ΜΥΣΤΙΚΑ, ΘΕΩΡΩΝΤΑΣ ΟΤΙ ΑΥΤΑ ΕΙΝΑΙ ΑΠΟΡΡΗΤΑ. ΟΣΟ ΛΟΙΠΟΝ ΘΑ ΤΗΡΩ ΤΟΝ ΟΡΚΟ ΜΟΥ ΑΥΤΟΝ ΚΑΙ ΔΕ ΘΑ ΤΟΝ ΠΑΡΑΒΑΙΝΩ, ΕΙΘΕ ΝΑ ΑΠΟΛΑΥΩ ΚΑΙ ΤΗΣ ΖΩΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΤΕΧΝΗΣ, ΕΚΤΙΜΩΜΕΝΟΣ ΕΣΑΕΙ ΑΠΟ ΟΛΟΥΣ ΤΟΥΣ ΑΝΘΡΩΠΟΥΣ. ΕΑΝ ΟΜΩΣ ΤΟΝ ΠΑΡΑΒΩ ΚΑΙ ΓΙΝΩ ΕΠΙΟΡΚΟΣ, ΝΑ ΥΠΟΣΤΩ ΤΑ ΑΝΤΙΘΕΤΑ ΑΠΟ ΑΥΤΑ.

Στους γονείς μου Κώστα και Ειρήνη...

Στο σύζυγό μου Κώστα...

Στα παιδιά μου Μαρία και Ειρήνη Άννα...

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ

Aβ:	Αμυλοειδές πεπτίδιο β
ACE:	Angiotensinconverting enzyme
AChE:	Ακετυλοχολινεστεράση
AChEI:	Acetylcholinesterase inhibitor
ACT:	Αντιχυμοθρυψίνη
ADCS-ADL:	Alzheimer's Disease Cooperative Study-Activities of Daily Living
AEE:	Αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο
ΑΕΦ:	Αιματοεγκεφαλικός φραγμός
[ΑΘ]:	Ομάδα ασθενών άνευ θεραπείας
[ΑΘ-ΜΘ]:	Ομάδα ασθενών άνευ θεραπείας-μετά θεραπεία
AIDS:	Acquired Immunodeficiency Syndrome
AMPA:	α-αμινο-3-υδροξυ-5-μεθυλ-4-ισοξαζολεπροπιονικό οξύ
Anti-oxLDL:	Αντισώματα έναντι της oxLDL
ΑΠ:	Αρτηριακή πίεση
ΑΡΟ:	Απολιποπρωτεΐνες
ΑΡΟΑ-I:	Απολιποπρωτεΐνη Α-I
ΑΡΟΑ-II:	Απολιποπρωτεΐνη Α-II
ΑΡΟΒ:	Απολιποπρωτεΐνη Β
ΑΡΟC-I:	Απολιποπρωτεΐνη C-I
ΑΡΟC-II:	Απολιποπρωτεΐνη C-II
ΑΡΟΕ:	Απολιποπρωτεΐνη Ε
ΑΡΟΕ2:	Ε2 αλλήλιο της απολιποπρωτεΐνης Ε
ΑΡΟΕ4:	Ε4 αλλήλιο της απολιποπρωτεΐνης Ε
ΑΡΡ:	Πρόδρομος πρωτεΐνη του αμυλοειδούς
[ΑΤΕ]:	Ομάδα ασθενών με εκτιμώμενη τελική έκβαση
BCIP:	5-Bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate
BMI:	Body Mass Index
BSA:	Bovine serum albumin
bv-FTD:	Behavioral variant of frontotemporal dementia
CADASIL:	Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy
CDR:	Clinical Dementia Rating
CRH:	Corticotrophin-Releasing Hormone
CSDD:	Cornell scale for depression in dementia
CT:	Computed Tomography

ΔΑΠ:	Διαστολική αρτηριακή πίεση
DMSO:	Dimethyl sulfoxide
ΔΜΣ:	Δείκτης Μάζας Σώματος
DSM-IV:	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders
ECE-1:	Μετατρεπτικό ένζυμο της ενδοθηλίνης 1
ECEs:	Endothelin-converting enzymes
EDTA:	Ethylenediaminetetraacetic acid
ELISA:	Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay
ELISPOT:	Enzyme-Linked-Immuno-SPOT
EUROCODE:	European Collaboration on Dementia
FCS:	Fetal calf serum
fMRI:	Functional Magnetic Resonance Imaging
FTD:	Frontotemporal dementia
FTLD:	Frontotemporal lobar degeneration
GDS:	Global Deterioration Scale
HCl:	Υδροχλωρικό οξύ
HDL:	High-density lipoprotein
HIV:	Human Immunodeficiency Virus
HLA:	Human leukocyte antigen
HRP:	Horseradish peroxidase
ICAM-1:	Intracellular adhesion molecule-1
ICAM-2:	Intracellular adhesion molecule-2
ICE:	IL-1 β converting enzyme
IDE:	Insulin degrading enzyme
IDL:	Intermediate-density lipoprotein
IFN γ :	Ιντερφερόνη γ
IL-1:	Ιντερλευκίνη 1
IL-4:	Ιντελευκίνη 4
IL-6:	Ιντερλευκίνη 6
IL-10:	Ιντελευκίνη 10
IL-1 α :	Ιντερλευκίνη 1 α
IL-1 β :	Ιντερλευκίνη 1 β
IL-1 Ra:	Ανταγωνιστής του υποδοχέα της IL-1
ILs:	Ιντερλευκίνες
iNOS:	Inducible nitric oxide synthase
kDa:	Kilodalton
ΚΝΣ:	Κεντρικό νευρικό σύστημα
LDL:	Low-density lipoprotein
Lp(a):	Λιποπρωτεΐνη α

LPS:	Λιποπολυσακχαρίτες
Mad CAM-1:	Mucosal addressin
MCH:	Major histocompatibility complex
MCP-1:	Monocyte chemoattractant protein 1
ΜΔΑΠ:	Μέση Διαστολική Αρτηριακή Πίεση
MMSE:	Mini-mental state examination
MRI:	Magnetic Resonance Imaging
MRS:	Magnetic resonance spectroscopy
ΜΣΑΠ:	Μέση Συστολική Αρτηριακή Πίεση
ΜΣΑΦ:	Μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα
NA:	Νόσος του Alzheimer
NBT:	Nitro blue tetrazolium
NCEP:	National Cholesterol Education Program
NEP:	Neprilysin
NF-κB:	Πυρηνικός μεταγραφικός παράγοντας κB
NINCDS-ADRDA:	National Institute of Neurologic and Communicative Disorders and Stroke-Alzheimer's Disease and Related Disorders Association
NK:	Natural Killer
NMDA:	N-Methyl-D-aspartate
NO:	Νιτρικό οξύ
NPI:	Neuropsychiatric Inventory
O.D.:	Optical density
oxLDL:	Οξειδωμένη χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη
PAI-1:	Plasminogen activator inhibitor-1
PBMCs:	Peripheral blood mononucleates cells
PBS:	Phosphate Buffered Saline
PCD:	Programmed cell death
PECAM-1:	Platelet endothelial cell adhesion molecule-1
PET:	Positron emission tomography
PMA:	Phorbol 12-myristate 13-acetate
PNFA:	Progressive nonfluent aphasia
RPMI:	Roswell Park Memorial Institute medium
PSD:	Post-stroke dementia
PSEN1:	Πρεσενιλίνη 1
PSEN2:	Πρεσενιλίνη 2
RT-PCR:	Reverse transcription polymerase chain reaction
SD:	Semantic dementia
SD:	standard deviation

ΣΑΠ:	Συστολική αρτηριακή πίεση
ΣΚΠ:	Σκλήρυνση κατά πλάκας
ΣΝ:	Στεφανιαία νόσος
SPSS:	Superior Performance Software System
tau-P:	Φωσφορυλιωμένη ΤΑU πρωτεΐνη
TGF-β:	Μετασχηματιστικός αυξητικός παράγοντας β
TH1:	T helper cells 1
TH2:	T helper cells 2
TMB:	Τετραμεθυλβενζιδίνη
TNF:	Παράγοντας νέκρωσης των όγκων
TNF-α:	Παράγοντας νέκρωσης των όγκων α
TNFR1:	Υποδοχέας 1 του παράγοντα νέκρωσης των όγκων
TNFR2:	Υποδοχέας 2 του παράγοντα νέκρωσης των όγκων
[ΥΘ]:	Ομάδα ασθενών υπό θεραπεία
ΥΥΕ:	Άξονας υποθάλαμος-υπόφυση-επινεφρίδια
VCAM-1:	Vascular cell adhesion molecule-1
VLDL:	Very low-density lipoprotein
WHR:	Waist-to-Hip Ratio

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Κατά τη διάρκεια της εκπαίδευσής μου ως γενική γιατρός στο Λαϊκό Νοσοκομείο της Αθήνας, βίωνα καθημερινά τη δυσκολία στην αντιμετώπιση της συννοσηρότητας των ηλικιωμένων, καθώς και την παραμέληση σε μεγάλο βαθμό της ομάδας αυτής των ασθενών, τόσο από το συγγενικό περιβάλλον, όσο και από το ιατρικό και παραϊατρικό προσωπικό, εξαιτίας της ελλιπέστατης εκπαίδευσης στον τομέα της γηριατρικής στην Ελλάδα. Όταν βρέθηκα στην Α΄ Ψυχιατρική Κλινική του Αιγινήτειου Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου για την προβλεπόμενη τρίμηνη εκπαίδευση στην ψυχιατρική, πληροφορήθηκα τη λειτουργία του ειδικού ιατρείου ψυχογηριατρικής υπό την επίβλεψη του αναπληρωτή καθηγητή κ. Πολίτη, το οποίο όμως δεν συμπεριλαμβανόταν στο εκπαιδευτικό μας πρόγραμμα. Όταν τον πλησίασα με σκοπό να μου προτείνει κάποιο σύγγραμμα σχετικό με την άνοια, αντί αυτού ο κ. Πολίτης μου πρότεινε να παρακολουθήσω τις εργασίες του ιατρείου. Η παρότρυνση αυτή έμμελε να είναι η πλέον καθοριστική στην πορεία μου ως γιατρός. Εντυπωσιάστηκα από την επιστημονική του κατάρτιση, από το σεβασμό και την αναγνώριση των ιδιαιτεροτήτων κάθε ασθενούς και από το ειλικρινές ενδιαφέρον του για την πορεία της υγείας τους. Η μετάδοση της γνώσης στους νεότερους αποτελεί για τον ίδιο βασικό στόχο, ενώ η αναλυτική και συνδυαστική του σκέψη αποτέλεσαν για μένα πρότυπο. Θα ήθελα να εκφράσω τη βαθιά μου ευγνωμοσύνη στον κ. Πολίτη για την εκτίμηση και την εμπιστοσύνη που μου έδειξε, προτείνοντας την εκπόνηση της παρούσας διατριβής, καθώς και για την ακούραστη καθοδήγηση, την ακλόνητη πίστη του και την πολύτιμη βοήθειά του σε όλα τα στάδια πραγματοποίησης της μελέτης.

Θερμότατες ευχαριστίες υποβάλλω στον καθηγητή κ. Παπαδημητρίου, αφενός για τη συνεχή συμπαράσταση και καθοδήγηση, αφετέρου για τις πολύτιμες συμβουλές του, τις οποίες θα κρατήσω ως οδηγό και για τη μελλοντική μου πορεία. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τον αναπληρωτή καθηγητή κ. Μαΐλλη και τον αναπληρωτή καθηγητή κ. Πεχλιβανίδη για τη στήριξή τους, τις εύστοχες υποδείξεις τους, αλλά και την πρόκληση για συνέχιση της έρευνας και σε άλλα πεδία στο μέλλον.

Θα ήθελα να εκφράσω τη βαθιά μου ευγνωμοσύνη στον ομότιμο καθηγητή κ. Καλοφούτη για την ανάθεση της διατριβής και να ευχαριστήσω τον καθηγητή κ. Παπαβασιλείου, ο οποίος διαδέχθηκε τον κ. Καλοφούτη στη διεύθυνση του εργαστηρίου της Βιολογικής Χημείας του Πανεπιστημίου Αθηνών. Στη διατριβή αυτή ευτύχησα να έχω συνεπιβλέπουσες από το εργαστήριο της Βιολογικής Χημείας δύο εξαιρετικές καθηγήτριες, των οποίων η συμβολή ήταν καθοριστική για την

ολοκλήρωση της μελέτης. Ευχαριστώ από καρδιάς την αναπληρώτρια καθηγήτρια κ. Κουλοχέρη για το ενδιαφέρον, την καθοδήγηση και τη στήριξη, που μου προσέφερε αφειδώς μέχρι το τέλος. Στην επίκουρη καθηγήτρια κ. Πιπέρη οφείλω, μεταξύ πολλών άλλων, την επιτυχή μύησή μου στις απαιτούμενες τεχνικές του εργαστηρίου για τη διεξαγωγή του πειραματικού μέρους της μελέτης. Την ευχαριστώ πάνω από όλα, γιατί ήταν πάντα διαθέσιμη να μου προτείνει λύση στα προβλήματα που προέκυπταν, εμπνέοντάς μου αισιοδοξία κάθε φορά που με κυρίευε η απογοήτευση. Ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω και στα υπόλοιπα μέλη του εργαστηρίου και ιδιαίτερος στην επιστημονική συνεργάτιδα κ. Νταλαγιώργου και τον διδακτορικό φοιτητή κ. Αδαμόπουλο για τη θερμή υποδοχή, τις πολύτιμες συμβουλές και την αμέριστη ηθική συμπαράσταση. Ευχαριστώ επίσης θερμότατα την εξαιρετική συνάδελφο ενδοκρινολόγο κ. Αλεξανδράκη για την πολύτιμη βοήθειά της στην στατιστική ανάλυση των δεδομένων και για τις σημαντικές υποδείξεις της στην παρουσίαση των αποτελεσμάτων.

Τέλος θα ήθελα να πω ένα μεγάλο ευχαριστώ στους γονείς μου, που ήτανε δίπλα μου όλα αυτά τα χρόνια για να με βοηθούν και να με ενθαρρύνουν σε κάθε δύσκολη στιγμή, όπως και στο σύζυγό μου, ο οποίος με την υπομονή και την πίστη του μου έδινε δύναμη να προχωρώ και να επιμένω στο στόχο μου. Ευχαριστώ και τους γονείς του συζύγου μου, που με στήριξαν πραγματικά σε όλη αυτή την προσπάθεια και ιδιαίτερος τη μητέρα του, η οποία κάποιες στιγμές φάνηκε να αγωνιά και να άγχεται περισσότερο από εμένα για την ολοκλήρωση της μελέτης. Στα παιδιά μου χρωστώ ευγνωμοσύνη για όλη την αγάπη και την κατανόηση που έδειξαν, παρόλο που εξαιτίας του νεαρού της ηλικίας δεν μπορούσαν να αντιληφθούν τι ακριβώς ήταν αυτό που με απασχολούσε και τους έκλεβε τον πολύτιμο χρόνο από τις κοινές μας δραστηριότητες.

Πίνακας περιεχομένων

	Σελ.
ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ	19
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	
<i>1.1 Γνωστικές λειτουργίες (ορισμοί - στοιχεία ανατομίας)</i>	23
<i>1.2 Γνωστικές διαταραχές</i>	27
<i>1.2.1 Άνοια</i>	
<i>1.2.1.1 Ορισμός</i>	28
<i>1.2.1.2 Επιδημιολογία</i>	28
<i>1.2.1.3 Αιτιολογία</i>	30
<i>1.2.1.4 Τύποι άνοιας</i>	31
<i>1.2.1.4.1 Νόσος του Alzheimer</i>	32
<i>1.2.1.4.2 Αγγειακή άνοια</i>	34
<i>1.2.1.4.3 Μετωποκροταφική άνοια</i>	35
<i>1.2.1.4.4 Άνοια σωματίων Lewy</i>	37
<i>1.2.1.4.5 Άνοια της νόσου Huntington</i>	37
<i>1.2.1.4.6 Άνοια της νόσου του Parkinson</i>	38
<i>1.2.1.4.7 Ήπια γνωστική έκπτωση</i>	38
<i>1.2.1.5 Παράγοντες κινδύνου</i>	39
<i>1.2.1.5.1 Μεταλλάξεις</i>	39
<i>1.2.1.5.2 APOE4</i>	40
<i>1.2.1.5.3 Ηλικία</i>	41
<i>1.2.1.5.4 Οικογενειακό ιστορικό</i>	41
<i>1.2.1.5.5 Φύλο</i>	42
<i>1.2.1.5.6 Αγγειακοί παράγοντες κινδύνου</i>	42
<i>1.2.1.5.7 Τραυματισμός κεφαλής</i>	43
<i>1.2.1.5.8 Κατάθλιψη</i>	43
<i>1.2.1.5.9 Παράγοντες κινδύνου για την αγγειακή άνοια</i>	44
<i>1.2.1.6 Προστατευτικοί παράγοντες</i>	
<i>1.2.1.6.1 Περιβαλλοντικοί παράγοντες και έξεις</i>	44
<i>1.2.1.6.2 APOE2</i>	46
<i>1.2.1.6.3 Θεραπεία υποκατάστασης με οιστρογόνα</i>	46
<i>1.2.1.6.4 Αντιφλεγμονώδη φάρμακα</i>	46

1.2.1.7 Διάγνωση και κλινικά χαρακτηριστικά	47
1.2.1.8 Πορεία και πρόγνωση.....	50
1.2.1.9 Θεραπεία.....	50
1.3. Μεσολαβητές φλεγμονής	
1.3.1 Φλεγμονή και ανοσιακό σύστημα.....	52
1.3.2 Ανοσιακό σύστημα και εγκέφαλος.....	53
1.3.3 Φλεγμονή και νόσος Alzheimer.....	54
1.3.4 Κυτοκίνες.....	55
1.3.4.1 Ιντερλευκίνη1β (Interleukin 1β, IL-1β)	57
1.3.4.2 Παράγοντας Νέκρωσης όγκων-α(Tumor Necrosis Factor α, TNF-α)	58
1.3.4.3 Ιντερλευκίνη 6 (Interleukin 6, IL-6)	59
1.3.4.4 Ιντερφερόνη γ (Interferon-γ, IFN-γ)	61
1.3.4.5 Ανίχνευση κυτοκινών στο πλάσμα.....	62
1.3.5 Κυτταρικά μόρια προσκόλλησης (Cell Adhesion molecules:VCAM-1, ICAM-1) 63	
1.3.6 C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (C-Reactive Protein, CRP)	65
1.4 Λιπίδια	
1.4.1 Γενικά στοιχεία	67
1.4.2 Λιπίδια και εγκέφαλος	69
1.4.3 Λιπίδια και άνοια.....	69
1.4.4 Απολιποπρωτεΐνη A-I (apoA-I)	71
1.4.5 Λιποπρωτεΐνη α (Lp-a)	73
1.4.5 Οξειδωμένη χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη (oxLDL)	75
1.5 Σκοπός της μελέτης	77

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1.1 Επιλογή και χαρακτηριστικά του πληθυσμού μελέτης	79
2.1.2 Κλίμακα σύντομης εξέτασης της νοητικής κατάστασης (Mini Mental State Examination, MMSE)	80
2.1.3 Κλίμακα κλινικής ταξινόμησης για την άνοια (Clinical Dementia Rating, CDR) 81	
2.1.4 Κλίμακα Νευροψυχιατρικής εκτίμησης (Neuropsychiatric Inventory, NPI)	82
2.1.5 Κλίμακα Cornell Scale for Depression in Dementia (CSDD)	83
2.1.6 Κλίμακα για την εκτίμηση των καθημερινών δραστηριοτήτων (Alzheimer's Disease Cooperative Study-Activities of Daily Living, ADCS-ADL)	84

2.1.7 Κλίμακα σφαιρικής επιδείνωσης (GDS, Global Deterioration Scale).....	84
2.1.8 Αιμοληψία	85
2.2. Ανοσοενζυμικές αναλύσεις.....	86
2.2.1. Μέθοδος ενζυμικής-ανοσοπροσροφητικής μεθόδου στερεάς φάσης (Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay, ELISA)	86
2.2.1.1 Ποσοτικός προσδιορισμός του διαλυτού μορίου προσκόλλησης <i>Vascular Cellular Adhesion Molecule-1 (sVCAM-1)</i> στα δείγματα πλάσματος.....	87
2.2.1.2 Ποσοτικός προσδιορισμός του διαλυτού μορίου προσκόλλησης <i>Inter Cellular Adhesion Molecule-1 (sICAM-1)</i> στα δείγματα πλάσματος.....	89
2.2.1.3 Ποσοτικός προσδιορισμός της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP) των δειγμάτων πλάσματος	90
2.2.1.4 Ποσοτικός προσδιορισμός της απολιποπρωτεΐνης A-I (<i>ApoA-I</i>) των δειγμάτων πλάσματος	92
2.2.1.5 Ποσοτικός προσδιορισμός της ολικής λιποπρωτεΐνης A (<i>Lp(a)</i>) των δειγμάτων πλάσματος	93
2.2.1.5 Ποσοτικός προσδιορισμός των αυτοαντισωμάτων της οξειδωμένης χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης (<i>anti-oxLDL</i>) των δειγμάτων πλάσματος.....	94
2.2.2 ELISPOT (Enzyme-Linked-Immuno-SPOT)	97
2.2.2.1 Απομόνωση των μονοπύρηνων κυττάρων του περιφερικού αίματος (PBMCs) 101	
2.2.2.2 ELISPOT διαλύματα	102
2.2.2.3. Πρωτόκολλο TNF α ELISPOT.....	102
2.2.2.4. Πρωτόκολλο IL-1 β ELISPOT	103
2.2.2.5. Πρωτόκολλο IL-6 ELISPOT	105
2.2.2.6. Πρωτόκολλο IFN γ ELISPOT.....	106
2.4 Στατιστική ανάλυση.....	107

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 Περιγραφική στατιστική

3.1.1 Δημογραφικά στοιχεία ασθενών και μαρτύρων.....	108
3.1.2 Κλινικά στοιχεία ασθενών	109
3.1.3 Ψυχομετρικές δοκιμασίες.....	111

3.2 Επαγωγική στατιστική

3.2.1. Σύγκριση των κλινικών παραμέτρων μεταξύ των ομάδων [ΥΘ] και [ΑΘ] και των ασθενών [ΑΘ-ΜΘ] προ και μετά θεραπείας	111
--	-----

3.2.2 Σύγκριση των ψυχομετρικών δοκιμασιών.....	113
3.2.3 Σύγκριση των εργαστηριακών αποτελεσμάτων	
3.2.3.1 Λιπιδαιμικό προφίλ ασθενών	115
3.2.3.2 Φλεγμονώδεις παράγοντες ασθενών και μαρτύρων.....	116
3.2.4 Συσχετίσεις μεταξύ των υπό μελέτη παραμέτρων	
3.2.4.1 Ομάδα ασθενών υπό θεραπεία.....	124
3.2.4.2 Ομάδα ασθενών άνευ θεραπείας.....	125
3.2.4.3 Ομάδα ασθενών προ και μετά θεραπεία	127
3.2.5 Αποτελέσματα στους ασθενείς με τελική έκβαση [ATE]	128
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	
4.1 Παρουσίαση της μελέτης	
4.1.1 Κυτοκίνες.....	131
4.1.1.1 Συγκριτικά αποτελέσματα των ομάδων ασθενών και μαρτύρων	135
4.1.1.2 Συσχέτιση των κυτοκινών με τα νευροψυχιατρικά συμπτώματα.....	137
4.1.1.3 Επίδραση της λήψης AChEI στα επίπεδα των κυτοκινών	140
4.1.2 Αποτελέσματα λοιπών βιοχημικών παραμέτρων	
4.1.2.1 Λιπίδια.....	141
4.1.2.2 Μόρια προσκόλλησης sVCAM-1 και sICAM-1	144
4.1.2.3 CRP.....	145
4.1.2.4 Επίδραση της λήψης AChEI στα επίπεδα λοιπών βιοχημικών παραγόντων ...	145
4.1.3 Διερεύνηση των διαφόρων παραγόντων στην ομάδα ασθενών [ATE]	146
4.2 Πιθανοί μηχανισμοί.....	149
4.3 Κλινική χρησιμότητα.....	150
4.4 Περιορισμοί	150
4.5 Συμπέρασμα.....	150
4.6 Επεκτάσεις.....	151
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	152
ABSTRACT	154
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	156
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	164

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΟΝΟΜΑ: Ευαγγελία

ΕΠΙΘΕΤΟ: Σταμούλη

ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ-ΔΙΠΛΩΜΑΤΑ:

1987: -“ZERTIFIKAT” στη γερμανική γλώσσα

1989: -“ZEUGNIS ZENTRALE MITTELSTUFENPRÜFUNG” στη γερμανική γλώσσα

1991: - Αποφοίτηση από το Πολυκλαδικό Λύκειο Καβάλας με γενικό βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ»

1991: -Εισαγωγή στην Ιατρική Σχολή του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών

1995: -“FIRST CERTIFICATE IN ENGLISH”στην αγγλική γλώσσα

1998: -Αποφοίτηση από την Ιατρική Σχολή του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών με γενικό βαθμό «ΚΑΛΩΣ»

Παρακολούθηση Ελληνικών σεμιναρίων και συνεδρίων: **51**

Παρακολούθηση Διεθνών σεμιναρίων και συνεδρίων: **10**

Παρακολούθηση Μετεκπαιδευτικών μαθημάτων: **9**

Παρακολούθηση Προγραμμάτων Κατάρτισης –«ΚΕΚ»: **1**

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΤΑΔΙΟΔΡΟΜΙΑ:

- Από τον 27/04/98 έως 26/07/98 υπηρέτησα την υποχρεωτική μου εκπαίδευση ιατρού στο Νομαρχιακό Γενικό Νοσοκομείο Σύρου «ΒΑΡΔΑΚΕΙΟ ΚΑΙ ΠΡΩΙΟ»
- Από 27/07/98 έως 28/07/99 υπηρέτησα την υποχρεωτική υπηρεσία υπαίθρου στο Κ.Υ.Θήρας
- Από το Σεπτέμβριο του 1999 έως τον Ιανουάριο του 2000 απασχολήθηκα στη μονάδα Τηλεϊατρικής του Γενικό Νοσοκομείου «ΣΙΣΜΑΝΟΓΛΕΙΟ»
- Από 14/04/00 έως 31/08/00 διατηρούσα Ιδιωτικό Ιατρείο στις Καλύβες Αποκορώνου Χανίων
- Από 08/09/00 έως 07/06/04 υπηρέτησα ως ειδικευόμενη στη Γενική Ιατρική στο Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «ΛΑΪΚΟ»
- Τον Απρίλιο του 2002 συμμετείχα στην ελληνική ομάδα εργασίας για τη σύνταξη κατευθυντήριων οδηγιών (guidelines) για τη διαχείριση της Χρόνιας Αποφρακτικής Πνευμονοπάθειας (ΧΑΠ) στην Πρωτοβάθμια Φροντίδα Υγείας
- Από 15/02/05 έως 14/02/06 απασχολήθηκα ως επικουρική ιατρός στην Κ.Υ. Αθηνών του Ε.Κ.Α.Β.
- Από 17/08/09 έως 31/12/2010 είμαι διορισμένη στη Δ/νση Δημόσιας Υγείας της Νομαρχίας Πειραιά
- Το 2010 συμμετείχα στο πολυσυγγραφικό βιβλίο «ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΨΥΧΟΓΗΡΙΑΤΡΙΚΗΣ» με το κεφάλαιο «Η ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΣΩΜΑΤΙΚΗΣ ΥΓΕΙΑΣ – ΟΙ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ», ΒΗΤΑ ΙΑΤΡΙΚΕΣ ΕΚΔΟΣΕΙΣ 2011.
- Από 01/01/2011 μετατάχθηκα στη Δ/νση Δημόσιας Υγείας και Κοινωνικής Προστασίας του Δήμου Πειραιά

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ

Δημοσιεύσεις που προέκυψαν από τη διδακτορική διατριβή σε διεθνή περιοδικά:

“Improvement of depressive symptoms associated with inflammatory cytokine levels of AD patients treated with an Ache Inhibitor” E.Stamouli, G.Dalagiorgou, K.Alexandraki, S.Kouloheri, C.Piperi, A.Politis. International Journal of Geriatric Psychiatry (Υπό δημοσίευση)

Δημοσιεύσεις που προέκυψαν από τη διδακτορική διατριβή σε ελληνικά περιοδικά:

«Προφλεγμονώδεις κυτοκίνες στη νόσο Alzheimer» E.Σταμούλη, Α.Πολίτης. Ψυχιατρική (Υπό δημοσίευση)

Ανακοινώσεις που προέκυψαν από τη διδακτορική διατριβή σε διεθνή συνέδρια:

1. **“Comparison of Soluble apoptosis mediators in Alzheimer patients with depression and Alzheimer patients without depression without symptoms of depression”** A. Politis, C. Piperi, E. Stamouli, A. Maillis, A Kalofoutis. Alzheimer Disease and Dementia , vol.2 (3), suppl 1, July 2006, S41.
2. **“Acetylcholinesterase inhibitors treatment late effects on IL-1b and IL-6 release from lymphocytes of Alzheimer disease patients.”** E. Stamouli, A. Politis, C. Piperi, M. Passa, A. Maillis, G.N. Papadimitriou. 10th Annual Meeting of the International College of Geriatric Psychoneuropharmacology, 15-18/09/10, Athens, Greece.

Ανακοινώσεις που προέκυψαν από τη διδακτορική διατριβή σε ελληνικά συνέδρια:

1. **«Αναστολείς χολινεστεράσης: επίδραση στους παράγοντες φλεγμονής σε ασθενείς με νόσο Alzheimer»** E.Σταμούλη, Α.Πολίτης , Χ.Πιπέρη, Μ.Πασσά, Α.Μαΐλλης, ΓΝ. Παπαδημητρίου. 21^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ψυχιατρικής, 05-08/05/11.
2. **«Κατάθλιψη σε ασθενείς με νόσο Alzheimer: συσχέτιση με παράγοντες φλεγμονής»** E.Σταμούλη, Α.Πολίτης , Χ.Πιπέρη, Μ.Πασσά, Α.Μαΐλλης, ΓΝ. Παπαδημητρίου. 21^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ψυχιατρικής, 05-08/05/11.

Δημοσιεύσεις σχετιζόμενες με τη διδακτορική διατριβή σε διεθνή περιοδικά:

1. **“Lack of association between interleukin-1 alpha rs1800587 polymorphism and Alzheimer's disease in two Independent European samples.”** Serretti A, Olgiati P, Politis A, Malitas P, Albani D, Dusi S, Polito L, De Mauro S, Zisaki A, Piperi C, Liappas I, Stamouli E, Mailis A, Atti AR, Morri M, Ujkaj M, Batelli S, Forloni G, Soldatos CR, Papadimitriou GN, De Ronchi D, Kalofoutis A. J Alzheimers Dis. 2009 Jan;16(1):181-7.
2. **“APOE epsilon-4 allele and cytokine production in Alzheimer’s disease.”** Olgiati P, Politis A, Malitas P, Albani D, Dusi S, Polito L, De Mauro S, Zisaki A, Piperi C, Stamouli E, Mailis A, Batelli S, Forloni G, De Ronchi D, Kalofoutis A, Liappas I, Serretti A. Int J Geriatr Psychiatry 2010;25:338–344.

3. **“Vitamin B12 Levels in Alzheimer's Disease: Association with Clinical Features and Cytokine Production.”**Politis A, Olgiati P, Malitas P, Albani D, Signorini A, Polito L, De Mauro S, Zisaki A, Piperi C, Stamouli E, Mailis A, Batelli S, Forloni G, De Ronchi D, Kalofoutis A, Liappas I, Serretti A. J Alz Dis. 2010;19(2):481-8.
4. **“Association of SORL1 alleles with late-onset Alzheimer's disease. Findings from the GIGAS_LOAD study and mega-analysis.”**Olgiati P, Politis A, Albani D, Rodilossi S, Polito L, Ateri E, Zisaki A, Piperi C, Liappas I, Stamouli E, Mailis A, Atti AR, Ferrari B, Morini V, Moretti F, Biella G, Forloni G, Papadimitriou GN, Ronchi DD, Kalofoutis A, Serretti A. Curr Alzheimer Res. 2012 May;9(4):491-9.
5. **“Effects of SORL1 Gene on Alzheimer's Disease. Focus on Gender, Neuropsychiatric Symptoms and Pro-Inflammatory Cytokines.”**Olgiati P, Politis A, Albani D, Rodilossi S, Polito L, Zisaki A, Piperi C, Liappas I, Stamouli E, Mailis A, Batelli S, Forloni G, Marsano A, Balestri M, Soldatos CR, De Ronchi D, Kalofoutis A, Serretti A. Curr Alzheimer Res. 2013 Feb 1;10(2):154-64.
6. **“Association between Sirtuin 2 gene rs10410544 polymorphism and depression in Alzheimer's disease in two independent European samples.”** Porcelli S, Salfi R, Politis A, Atti AR, Albani D, Chierchia A, Polito L, Zisaki A, Piperi C, Liappas I, Alberti S, Balestri M, Marsano A, Stamouli E, Mailis A, Biella G, Forloni G, Bernabei V, Ferrari B, Lia L, Papadimitriou GN, De Ronchi D, Serretti A. J Neural Transm. 2013 May 28. [Epub ahead of print]

Άλλες ανακοινώσεις σε διεθνή συνέδρια:

1. **“The role of ultrasound in differential diagnosis of acute abdominal pain in Primary Care Medicine”** A.Georga, B. Dermetzoglou, E.Stamouli, K.Soulis, S.Dimitrakopoulos. Conference of the European Society of General Practice/Family Medicine, Florence, Italy, 27-30/08/06
2. **“Validity and reliability of the newly translated Cornell Scale for Depression in Dementia (CSDD) applied to Greek outpatients with depression and depression and Alzheimer's disease.”** Politis A, Maillis A, Thomadaki O, Passa M, Stamouli E, Kotrotsou M, Kontoaggellos K. Soldatos C. Annals of General Psychiatry 2006, 5(Suppl 1), S245.

Άλλες ανακοινώσεις σε ελληνικά συνέδρια:

1. **« Άνοια και Γενικός Γιατρός»** Α.Πολίτης, Ε.Σταμούλη, Μ.Πασσά, Θ.Ματσούκας, Α.Μαΐλλης, Α.Ραμπαβίλας. 8^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γηροντολογίας-Γηριατρικής, Αθήνα, 22-24/01/04
2. **«Η συχνότητα του μεταβολικού συνδρόμου σε πληθυσμό ενηλίκων διαβητικών ασθενών νησιωτικής περιοχής»** Α.Γεώργα, Χ.Λαδάκη, Σ.Χατζοπούλου, Μ.Βαλλά, Ε.Σταμούλη, Π.Ηλιόπουλος, Α.Σαριδάκη, Ν.Μουλικιώτης, Β.Μαύρος, Κ.Σούλης. 10ο Πανελλήνιο Διαβητολογικό Συνέδριο, 28/2-4/3/07.

3. «Οι προφλεγμονώδεις κυτοκίνες στις χρόνιες επιπλοκές του Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου Ι και τύπου ΙΙ» Κ.Αλεξανδράκη, Χ.Πιπέρη, Κ.Μακρυλάκης, Χ.Αδαμόπουλος, Ε.Φαρμάκη, Ε.Σταμούλη, Γ.Καλτσάς, Α.Καλοφούτης. 33^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ενδοκρινολογίας και Μεταβολισμού, Κρήτη, 28-31/3/2007.

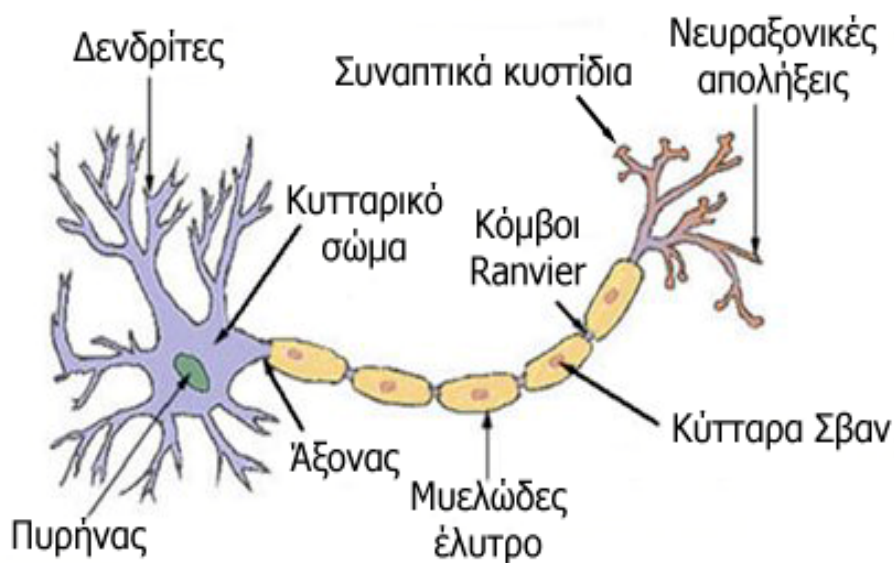
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Γνωστικές λειτουργίες (ορισμοί - στοιχεία ανατομίας)

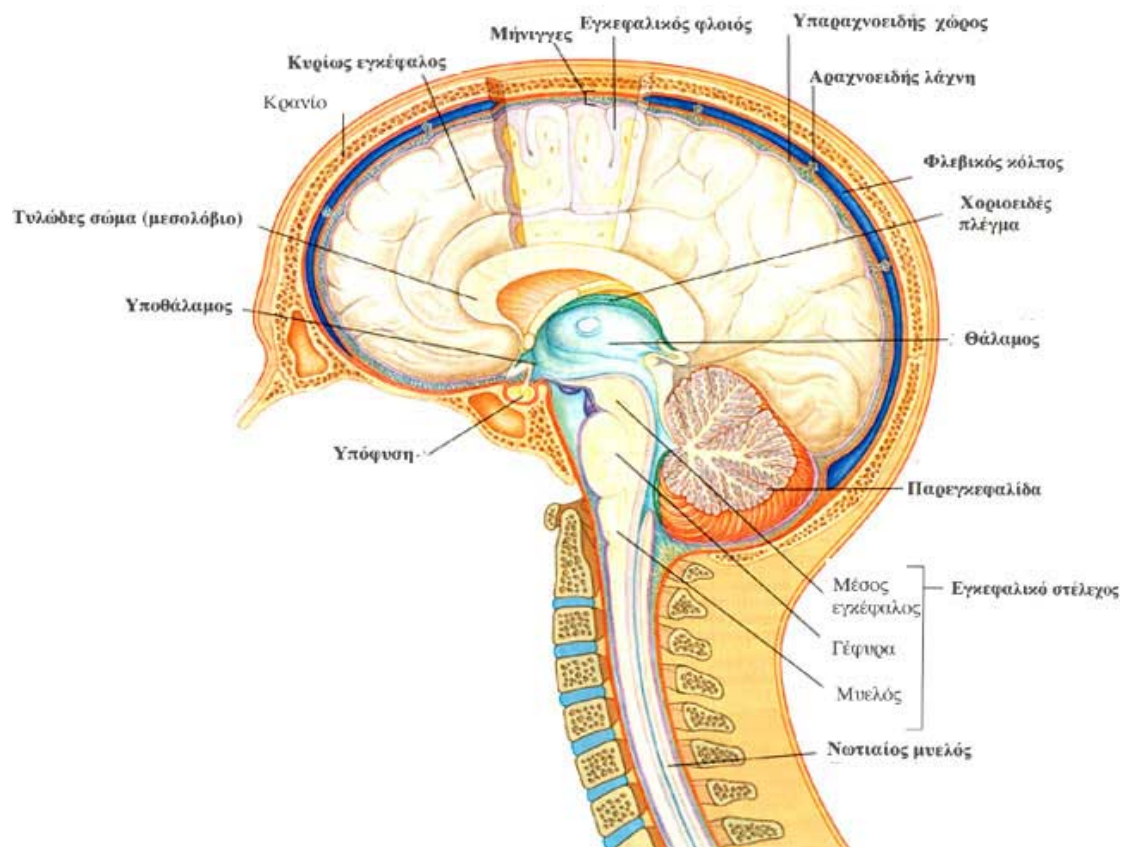
Ο εγκέφαλος αποτελεί το πολυπλοκότερο και σημαντικότερο για τη ζωή μας τμήμα του κεντρικού νευρικού συστήματος. Οι γνωστικές λειτουργίες του ανθρώπινου οργανισμού, όπως η αντίληψη, η γλώσσα, η μνήμη, η σκέψη, η συνείδηση και η προσοχή συνδέονται με τα συστήματα του εγκεφάλου, με αποτέλεσμα να έχουν επιτευχθεί διάφορα επίπεδα ανάλυσης και οργάνωσης για την κατανόηση και τη μελέτη του εγκεφάλου.

Στο επίπεδο των νευρώνων, οι οποίοι αποτελούν τις στοιχειώδεις μονάδες επεξεργασίας στο νευρικό σύστημα, οι πολλαπλοί διακλαδιζόμενοι δενδρίτες λαμβάνουν τις πληροφορίες από άλλους νευρώνες, τις οποίες ενοποιεί το κυτταρικό σώμα (Εικ.1). Η λειτουργία της μάθησης συνδέεται με τη δημιουργία νέων νευρωνικών συνδέσεων και ως εκ τούτου με αύξηση της πολυπλοκότητας ή μεγαλύτερη διακλάδωση των δενδριτών στον εγκέφαλο. Οι συνάψεις, οι οποίες αποτελούν τη συμβολή ανάμεσα στα τελικά κομβία ενός ή περισσότερων νευρώνων και τους δενδρίτες (ή κάποιες φορές το κυτταρικό σώμα) ενός ή περισσότερων άλλων νευρώνων, είναι πολύ σημαντικές για τη λειτουργία του ανθρώπινου γνωστικού.



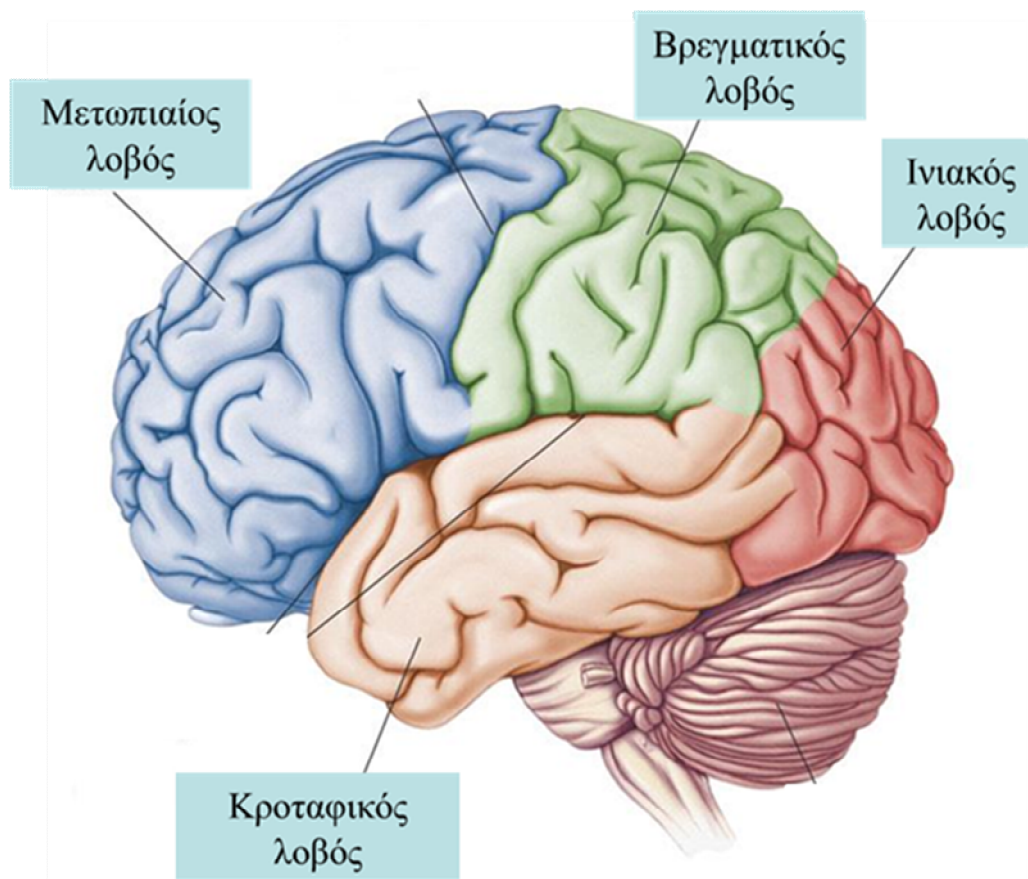
Εικ.1

Πειράματα έχουν δείξει ότι στους αρουραίους παρουσιάζεται αύξηση στο μέγεθος και τον αριθμό των εγκεφαλικών συνάψεων, ως αποτέλεσμα της λειτουργίας της μάθησης (Turner & Greenough, 1985). Η μειωμένη γνωστική λειτουργία, όπως για παράδειγμα στη νόσο Alzheimer, συνδέεται με μειωμένη απόδοση της συναπτικής μεταβίβασης των νευρικών ώσεων (Selkoe, 1991). Η μεταβίβαση των σημάτων λαμβάνει χώρα όταν τα τελικά κομβία απελευθερώνουν στη σύναψη έναν ή περισσότερους νευροδιαβιβαστές, οι οποίοι παίζουν το ρόλο των χημικών αγγελιοφόρων για τη μεταβίβαση των πληροφοριών διαμέσου του συναπτικού κενού προς τους δενδρίτες υποδοχής του επόμενου νευρώνα (Cooper, Bloom & Roth, 1986). Ένας από αυτούς, η ακετυλοχολίνη, σχετίζεται με τη μνήμη, καθώς απαντάται σε υψηλή συγκέντρωση στον υπόκαμπο και έχει διεγερτική δράση στον εγκέφαλο. Στο διάμεσο εγκέφαλο βρίσκουμε το θάλαμο, ο οποίος επεξεργάζεται τις περισσότερες πληροφορίες που φτάνουν στο φλοιό των ημισφαιρίων, προερχόμενες από το υπόλοιπο νευρικό σύστημα (Εικ.2). Λόγω των πολλαπλών συνδέσεών του μέσα στον εγκέφαλο, συμμετέχει σε πολλές από τις λειτουργίες του, όπως η μνήμη, η αίσθηση, η ομιλία και η προσοχή.



Εικ.2

Τα εγκεφαλικά ημισφαίρια αποτελούνται από τρεις δομές: τα βασικά γάγγλια, τον υπόκαμπο και την αμυγδαλή. Τα βασικά γάγγλια και η παρεγκεφαλίδα είναι πολύ σημαντικά για τη μάθηση δεξιοτήτων. Ο υπόκαμπος συμβάλλει τόσο στην καταχώρηση νέων πληροφοριών, όσο και στην ανάκλησή τους, ενώ η αμυγδαλή σχετίζεται με τη μνήμη συναισθηματικά φορτισμένων γεγονότων. Έχει καταδειχθεί ότι επιδρά στην επιθετικότητα, το φόβο και το άγχος, τη σεξουαλική ζωή και γενικότερα στη διάθεση.



Εικ.3

Κάθε ημισφαίριο διαιρείται σε τέσσερις λοβούς: μετωπιαίο, βρεγματικό, κροταφικό και ινιακό (Εικ.3). Ο μετωπιαίος λοβός σχετίζεται με την ομιλία, με τα περισσότερα γλωσσικά επίπεδα (σύνταξη, γραμματική, λεξιλόγιο) να καθορίζονται από το αριστερό ημισφαίριο, ενώ οι μη λεκτικές πλευρές της ομιλίας (χιούμορ, υπονοούμενα, τόνος φωνής και συναίσθημα) από το δεξιό ημισφαίριο. Η σημαντικότερη όμως λειτουργία τους και ιδιαίτερα των προμετωπιαίων λοβών έχει σχέση με την προσωπικότητα, την κρίση, τις συγκινήσεις και τη μετάφραση των σκέψεων σε πράξεις. Σε περίπτωση βλάβης στο βρεγματικό λοβό εμφανίζεται αδυναμία ονομασίας αντικειμένων, προβλήματα στην ανάγνωση, δυσκολία στην

εκτέλεση μαθηματικών πράξεων, αδυναμία επικέντρωσης της οπτικής προσοχής, καθώς και αδυναμία αναγνώρισης μερών του σώματος ή του περιβάλλοντα χώρου. Βλάβη στην περιοχή του δεξιού κροταφικού λοβού οδηγεί σε διαταραχές στην κατανόηση της συναισθηματικής ποιότητας του λόγου, ενώ βλάβη στην περιοχή του αριστερού κροταφικού λοβού οδηγεί σε δυσκολία στην έκφραση των συναισθηματικών όψεων του λόγου. Η κύρια λειτουργία του ινιακού λοβού σχετίζεται με την επεξεργασία, την ολοκλήρωση και ερμηνεία των οπτικών ερεθισμάτων, δηλαδή με την όραση.

Είναι εμφανές λοιπόν ότι η είσοδος και η επεξεργασία πληροφοριών, που οδηγούν στη μάθηση και τη γνώση, ακολουθούν μια διαδικασία παρόμοια με εκείνη της επεξεργασίας των τροφών κατά τη λειτουργία της πέψης. Με την επεξεργασία αυτή οι γνώσεις μετασχηματίζονται και αποθηκεύονται, για να ενεργοποιηθούν, όταν τις χρειαστούμε. Αυτό σημαίνει ότι για να μετατραπεί η πληροφορία σε γνώση, μεσολαβούν όχι μόνον οι αισθήσεις, οι οποίες φιλτράρουν τα εξωτερικά ερεθίσματα, αλλά και κάποιες διαδικασίες επεξεργασίας, οι οποίες μετασχηματίζουν τα δεδομένα σε γνώση. Οι διαδικασίες αυτές καθορίζονται από τις γνωστικές λειτουργίες, δηλαδή την αντίληψη, τη μνήμη, τη γλώσσα, τη σκέψη, την προσοχή, τη συνείδηση και την ικανότητα επίλυσης προβλημάτων.

Αντίληψη είναι η διαδικασία ερμηνείας των πληροφοριών, που εισέρχονται στον εγκέφαλο μέσω των αισθητηριακών οργάνων, για τη σχηματοποίηση αντικειμένων, εικόνων, ήχων, προτάσεων κλπ. Η προσοχή είναι η γνωστική διαδικασία, κατά την οποία γίνεται επιλεκτική συγκέντρωση σε μία πτυχή του περιβάλλοντος, αγνοώντας άλλα πράγματα. Η συνείδηση συνδέεται άμεσα με την επίγνωση και σχετίζεται τόσο με το αίσθημα της επίγνωσης, όσο και με το περιεχόμενο της επίγνωσης, μέρος του οποίου είναι τα πράγματα, οι καταστάσεις ή οι σκέψεις, στα οποία στρέφουμε συνειδητά την προσοχή μας.

Η μνήμη ορίζεται ως η ικανότητα ενός ατόμου να αποθηκεύει, να επεξεργάζεται και να ανακτά πληροφορίες, που προέρχονται από τον έξω κόσμο και αποτελείται από τρία στάδια: α) την κωδικοποίηση, που χρησιμεύει στην εισαγωγή των πληροφοριών στη μνήμη, β) την αποθήκευση, που αναφέρεται στη διατήρηση των πληροφοριών για μεγάλο χρονικό διάστημα και γ) την ανάσυρση, που είναι η διαδικασία μέσω της οποίας η πληροφορία, που είχε αποθηκευτεί νωρίτερα, μπορεί να ανακτηθεί στη συνείδηση. Οι ερευνητές δεν είναι ακόμη σε θέση να καθορίσουν τη συγκεκριμένη σχέση αιτίας-αιτιατού ανάμεσα σε μια δεδομένη εγκεφαλική

αλλοίωση και μια συγκεκριμένη μνημονική ανεπάρκεια. Το γεγονός ότι μια συγκεκριμένη δομή ή περιοχή του εγκεφάλου συνδέεται με τη διακοπή μιας λειτουργίας, δεν σημαίνει ότι η περιοχή αυτή είναι η μόνη υπεύθυνη για τον έλεγχο αυτής της λειτουργίας. Ωστόσο, σε νεκροτομικές μελέτες ασθενών με νόσο Alzheimer ανευρέθηκαν συσσωρευση μη φυσιολογικών πρωτεϊνών στους νευρώνες και σωροί εκφυλισμένων νευρικών απολήξεων στις περιοχές του εγκεφάλου που είναι σημαντικές για τη μνήμη, ενώ πιο πρόσφατο εύρημα αποτελεί η ελάττωση του μεγέθους του ιπποκάμπου.

1.2 Γνωστικές διαταραχές

Οι γνωστικές διαταραχές αποτελούν μία ομάδα νοσημάτων, που χαρακτηρίζεται από την έκπτωση των γνωστικών λειτουργιών (Caine και Lyness, 2000). Σύμφωνα με το Διαγνωστικό και Στατιστικό Εγχειρίδιο των Ψυχικών Διαταραχών (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders) (DSM-IV, 1994) περιγράφονται οι ακόλουθες γνωστικές διαταραχές:

Άνοια

Νόσος του Alzheimer

Αγγειακή άνοια

Άνοια οφειλόμενη σε άλλη γενική ιατρική κατάσταση

Άνοια οφειλόμενη σε HIV λοίμωξη

Άνοια οφειλόμενη σε τραύμα κεφαλής

Άνοια οφειλόμενη σε νόσο του Parkinson

Άνοια οφειλόμενη σε νόσο του Huntington

Άνοια οφειλόμενη σε νόσο του Pick

Άνοια οφειλόμενη σε νόσο Creutzfeldt-Jakob

Άνοια οφειλόμενη σε άλλη γενική ιατρική κατάσταση

Επίμονη άνοια επαγόμενη από ουσίες

Άνοια οφειλόμενη σε πολλαπλές αιτίες

Άνοια μη προσδιοριζόμενη άλλως

Οξύ οργανικό ψυχοσύνδρομο (Delirium)

Αμνηστικές διαταραχές

Από τις ανωτέρω διαταραχές, η παρούσα μελέτη επικεντρώνεται στην άνοια.

1.2.1 Άνοια

1.2.1.1 Ορισμός

Η άνοια είναι ένας γενικός όρος που περιγράφει τη χρόνια ή προοδευτική έκπτωση φλοιωδών και υποφλοιωδών εγκεφαλικών λειτουργιών με αποτέλεσμα την έκπτωση των γνωστικών λειτουργιών (Ritchie και Lovestone, 2002). Το βασικό της χαρακτηριστικό, το οποίο τη διακρίνει από εστιακές ή ειδικές δυσλειτουργίες (αφασία, αμνηστική διαταραχή κλπ), είναι η υποβάθμιση δύο ή περισσότερων γνωστικών λειτουργιών, ενώ δεν υπάρχει διαταραχή του επιπέδου συνείδησης, όπως στο οξύ οργανικό ψυχosύνδρομο. Η άνοια αφορά στην έκπτωση των γνωστικών λειτουργιών σε σχέση με τα προηγούμενα επίπεδα λειτουργικότητας του ασθενή, όπως αυτή συνάγεται από το ιστορικό υποβάθμισης των επιδόσεών του, καθώς και από τις διαταραχές, που διαπιστώνονται κατά την κλινική εξέταση και με την εφαρμογή νευροψυχιατρικών δοκιμασιών. Η διάγνωση της άνοιας τίθεται κλινικά με βάση τη συμπεριφορά, ενώ με τον εργαστηριακό έλεγχο μπορούν να αναδειχθούν συγκεκριμένες αιτίες άνοιας (McKhann, 1984).

1.2.1.2 Επιδημιολογία

Σύμφωνα με μια μεγάλη επιδημιολογική μελέτη του 2005, ο αριθμός των πασχόντων από άνοια έφτανε τα 24 εκατομμύρια παγκοσμίως. Ο αριθμός αυτός θα διπλασιάζεται κάθε 20 χρόνια, έτσι ώστε το 2020 να φτάσει στα 42 εκατομμύρια και το 2040 στα 81 εκατομμύρια πάσχοντες (ένα καινούριο περιστατικό κάθε 7 δευτερόλεπτα). 60% των πασχόντων διαμένουν σε αναπτυσσόμενες χώρες και το ποσοστό αυτό θα φτάσει στο 71% το 2040 (Ferri και συν., 2005).

Ο επιπολασμός της άνοιας αυξάνει εκθετικά με την αύξηση της ηλικίας, όπως φαίνεται χαρακτηριστικά στον πίνακα 1 σύμφωνα με τη μελέτη EUROCODE (European Collaboration on Dementia), με την οποία έγινε ανασκόπηση στις επιδημιολογικές μελέτες της τελευταίας εικοσαετίας για τον επιπολασμό της άνοιας στην Ευρώπη (EUROCODE, 2012).

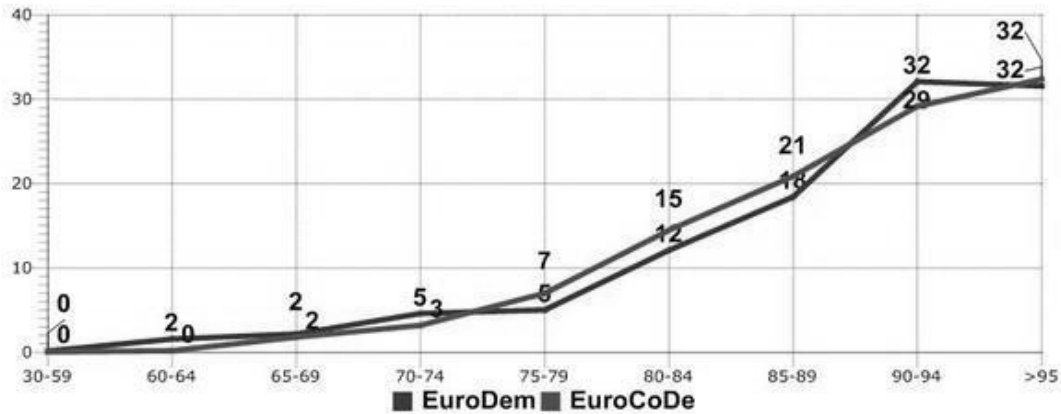
Ηλικιακή κατανομή πληθυσμού (έτη)	Επιπολασμός (%)
60-64	0.6
65-69	1.6
70-74	3.5
75-79	7.4
80-84	15.7
85-89	26.2
90-94	41.0
>95	46.3

Πίνακας 1. Επιπολασμός άνοιας στις διάφορες ηλικιακές ομάδες σύμφωνα με τη μελέτη EUROCODE

Στους πίνακες 2 και 3 φαίνονται συγκριτικά τα αποτελέσματα της EUROCODE και της EURODEM, η οποία δημοσίευσε το 1991 τα στοιχεία 12 μελετών από οκτώ ευρωπαϊκές χώρες και ανανεώθηκε το 2000. Στην πλειονότητα των διαφόρων ηλικιακών ομάδων δεν παρατηρείται σημαντική διαφορά στον επιπολασμό της άνοιας, εκτός από την ομάδα των γυναικών άνω των 85 ετών, όπου υπάρχει σημαντική αύξηση, η οποία όμως αποδίδεται στην καλύτερη αναφορά και καταγραφή των περιστατικών αυτής της ηλικίας (EUROCODE, 2006).

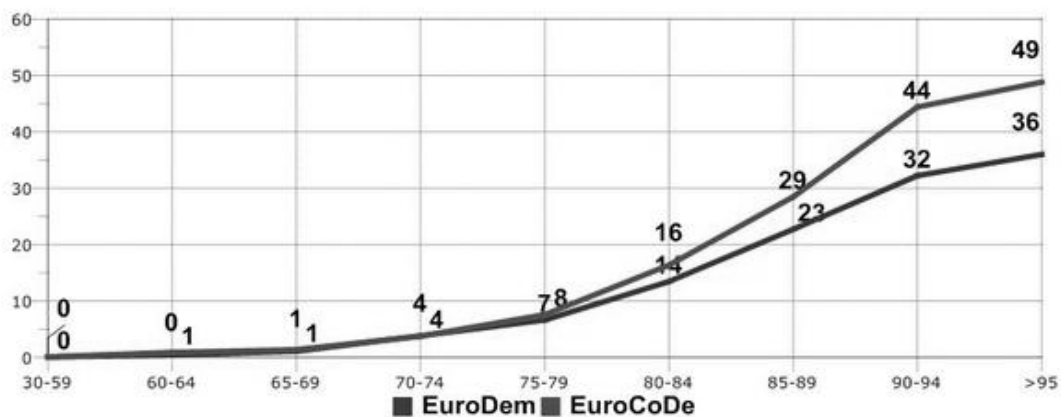
Στις ΗΠΑ ο επιπολασμός της νόσου στα άτομα άνω 71 ετών υπολογίζεται στο 13,9% και κυμαίνεται από 5,0% στην ομάδα από 71-79 ετών έως 37,4% στους ηλικιωμένους άνω των 90 ετών (Plassman και συν., 2007). Η επίπτωση της άνοιας αυξάνεται με την ηλικία από 2,8 ανά 1000 άτομα-έτη στην ομάδα των 65-69 ετών στο 56,1 ανά 1000 άτομα-έτη στην ομάδα άνω των 90 ετών (Kukull και συν., 2002).

ΕΠΠΟΛΑΣΜΟΣ ΑΝΟΙΑΣ (ΑΝΤΡΕΣ)



Πίνακας 2. Συγκριτικά αποτελέσματα των μελετών EURODEM και EUROCODE σχετικά με τον επιπολασμό της άνοιας στους άντρες

ΕΠΠΟΛΑΣΜΟΣ ΑΝΟΙΑΣ (ΓΥΝΑΙΚΕΣ)



Πίνακας 3. Συγκριτικά αποτελέσματα των μελετών EURODEM και EUROCODE σχετικά με τον επιπολασμό της άνοιας στις γυναίκες

1.2.1.3 Αιτιολογία

Έχουν αναγνωριστεί πάνω από 55 ασθένειες, που μπορούν να προκαλέσουν άνοια (Geldmacher και Whitehouse, 1996). Μερικές αιτίες άνοιας αναφέρονται κατά σειρά συχνότητας στον πίνακα 4.

<u>Αιτία</u>	<u>Συχνότητα(%)</u>
Νόσος Alzheimer	50-60
Αγγειακής αιτιολογίας	15-20
Μικτής αιτιολογίας	10-20
Άλλες	<10
Άνοια με σωματίδια Lewy-Body	
Μετωποκροταφική άνοια (Νόσος του Pick)	
Νόσος του Parkinson	
Άνοια που σχετίζεται με κατάχρηση αλκοόλ	
Νόσος του Huntington	
Νόσος Jacob-Creutzfeldt	
Τραύμα (υποσκληρίδιο αιμάτωμα)	
Λοιμώξεις (σύφιλη, AIDS)	
Εγκεφαλίτιδα	
Υποθυρεοειδισμός	
Έλλειψη βιταμίνης B12	
Κατάθλιψη	
Υδροκέφαλος φυσιολογικής πίεσης	

Πίνακας 4. Αίτια ανοιών

Όπως φαίνεται και στον ανωτέρω πίνακα, λιγότερο από 10% των ανοιών οφείλονται σε δυνητικά θεραπεύσιμα αίτια («αναστρέψιμη άνοια») (Adelman και συν., 2005).

1.2.1.4 Τύποι άνοιας

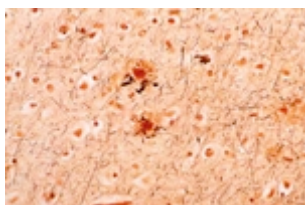
Η κυριότερη διάκριση γίνεται μεταξύ των πρωτοπαθών εκφυλιστικών ανοιών (νόσος του Alzheimer, άνοια σωματίων Lewy, μετωποκροταφική άνοια) και των δευτεροπαθών ανοιών, οι οποίες είναι αποτέλεσμα άλλων παθολογικών διεργασιών (π.χ. λοιμώξεων). Διαφορετικές μορφές ανοιών μπορεί να παρουσιάζουν κοινές υποκείμενες νευροπαθολογικές διεργασίες, ενώ ιστολογικές μελέτες έχουν αποκαλύψει ότι οι μικτές καταστάσεις είναι πιθανόν πιο συχνές από τα αμιγή ανοϊκά σύνδρομα (Ritchie και Lovestone, 2002). Στη συνέχεια αναφέρονται οι πιο κοινοί τύποι άνοιας με επικέντρωση στη νόσο του Alzheimer και την αγγειακή άνοια.

1.2.1.4.1 Νόσος του Alzheimer

Η νόσος του Alzheimer (NA) αποτελεί τη συχνότερη αιτία άνοιας στους ηλικιωμένους, με επιπολασμό 5% μετά την ηλικία των 65 ετών. Η αρχική περιγραφή της νόσου ανήκει στους Alois Alzheimer και Gaetano Perusini το 1906 και κλινικά χαρακτηρίζεται από προοδευτική εξασθένηση των γνωστικών λειτουργιών, στις οποίες περιλαμβάνονται η μειωμένη κριτική ικανότητα, η αδυναμία λήψης αποφάσεων, η δυσκολία προσανατολισμού και στα πιο προχωρημένα στάδια συνοδεύονται από διαταραχές της συμπεριφοράς και μειωμένη λεκτική ικανότητα (Galimberti και Scarpini, 2010). Χαρακτηριστική για τη νόσο είναι η έκπτωση της λειτουργικότητας, όπου το άτομο προοδευτικά χάνει τα υψηλότερα επίπεδα καθημερινής λειτουργίας, όπως είναι η γραφή και η χρήση μαζικών μέσων μεταφοράς. Καθώς η νόσος εξελίσσεται ο ασθενής παρουσιάζει δυσκολίες σε βασικές δραστηριότητες - σίτιση, χρήση της τουαλέτας και ντύσιμο (Galasko και συν., 1997). Οι διαταραχές συμπεριφοράς και οι μεταβολές του συναισθήματος μπορεί να εμφανιστούν στα αρχικά στάδια της νόσου, ενώ η ανησυχία και τα ψυχωτικά συμπτώματα παρουσιάζονται σε πιο προχωρημένα στάδια (Mega και συν., 1996).

Σύμφωνα με τα κριτήρια που διαμορφώθηκαν από το National Institute of Neurologic and Communicative Disorders and Stroke-Alzheimer's Disease and Related Disorders Association (NINCDS-ADRDA), η διάγνωση μπορεί να ταξινομηθεί σε βέβαιη (κλινική διάγνωση και ιστολογική επιβεβαίωση), πολύ πιθανή (τυπικό κλινικό σύνδρομο) ή πιθανή (άτυπο κλινικό σύνδρομο χωρίς όμως εναλλακτική διάγνωση) (McKann και συν., 1984). Συνεπώς, η βέβαιη διάγνωση της NA απαιτεί νεκροτομική εξέταση εγκεφαλικού ιστού, κατά την οποία να ανευρίσκεται ικανός αριθμός πλακών και νευροϊνιδίων (Dickson, 1997, Braak και Braak, 1998).

Μακροσκοπικά παρατηρείται ατροφία, με σμίκρυνση των ελίκων και διεύρυνση των αυλάκων του φλοιού και των κοιλιών του εγκεφάλου. Σπουδαιότερα χαρακτηριστικά είναι τα μικροσκοπικά παθολογοανατομικά ευρήματα της νόσου, που συνίστανται σε παθολογικές εναποθέσεις αδιάλυτων πρωτεϊνών στον εξωκυττάριο και ενδοκυττάριο χώρο.



Η 'γερωντική πλάκα' (Εικ.4) είναι ένα εξωκυττάριο μόρφωμα, το οποίο αποτελείται από ένα πυρήνα

αμυλοειδούς πεπτιδίου Αβ και προέρχεται από την πρωτεΐνη πρόδρομο του αμυλοειδούς APP (Hardy, 1997). Το πεπτίδιο Αβ εμπλέκεται στη δραστηριότητα των νευρώνων, ασκώντας διεγερτική επίδραση στην παραγωγή ελευθέρων ριζών, η οποία οδηγεί σε οξειδωτικό στρες και θάνατο των νευρώνων (Cummings και συν., 1998).

Οι νευροϊνιδώδεις σχηματισμοί είναι βλάβες, οι οποίες εντοπίζονται εντός του νευρώνα και αποτελούνται από συσσωρευμένη πρωτεΐνη tau υψηλής φωσφορυλίωσης. Η πρωτεΐνη tau αποτελεί φυσιολογικό συστατικό των νευρώνων και ο ρόλος της είναι να σταθεροποιεί το σκελετό των μικροσωληνίσκων. Στη ΝΑ παρατηρείται διαταραχή της αρχιτεκτονικής του κυτταροσκελετού με συσσώρευση της tau πρωτεΐνης, η οποία αποτελεί τον παθογενετικό μηχανισμό, που σχετίζεται με τη γνωστική έκπτωση (Rithcie και Lovestone, 2002).

Στη φαιά ουσία του εγκεφάλου ασθενών με ΝΑ ανευρίσκονται επίσης άφθονες πλάκες ΑΜΥ, οι οποίες δεν περιέχουν αμυλοειδές, αλλά την πρωτεΐνη 100-kd και πήρανε το όνομά τους από το μονοκλωνικό αντίσωμα ΑΜΥ117, που χρησιμοποιήθηκε για την ανίχνευσή τους (Schmidt και συν., 1997). Η απώλεια νευρικών κυττάρων, ιδιαίτερα των μεγάλων νευρώνων του φλοιού, αποτελεί επίσης σταθερό χαρακτηριστικό της ΝΑ, ενώ η απώλεια συνάψεων φαίνεται να προκαλεί μεγαλύτερη γνωστική έκπτωση από τις πλάκες και τους νευροϊνιδώδεις σχηματισμούς (Cummings και συν., 1998). Οι νευρώνες που χρησιμοποιούν γλουταμικό ή ακετυλοχολίνη ως νευροδιαβιβαστές επηρεάζονται ιδιαίτερα, αλλά και οι νευρώνες που παράγουν σεροτονίνη και νορεπινεφρίνη βλάπτονται επίσης (Cummings και συν., 2004, Mattson, 2004).

Έχει διατυπωθεί η υπόθεση ότι διάφορες μεταλλάξεις ευθύνονται για την εμφάνιση της νόσου, η οποία με τη σειρά της οδηγεί στην αύξηση του Αβ. Το κυτταρικό stress προηγείται της αύξησης του Αβ (Nunomura και συν., 2001) και έχει παρατηρηθεί ότι μείωση του stress οδηγεί στη μείωση του αμυλοειδούς σε μοντέλα ζώων (Lee και συν., 2004). Φαίνεται, λοιπόν, ότι το Αβ αποτελεί αντιοξειδωτικό αμυντικό μηχανισμό και θεμελιώδη αντισταθμιστική αντίδραση στη νόσο και τη γήρανση (Obrenovich και συν., 2002). Ωστόσο, δεν υπάρχουν ακόμη αρκετές αποδείξεις σε μοντέλα ζώων ή σε ανθρώπους, που να οδηγούν σε ασφαλή συμπεράσματα (Rottkamp και συν., 2002, Lee και συν., 2004).

1.2.1.4.2 Αγγειακή άνοια

Η δεύτερη πιο κοινή αιτία μη αναστρέψιμης γνωστικής έκπτωσης στους ηλικιωμένους είναι η άνοια αγγειακής αιτιολογίας. Την αρχική ορολογία ‘πολυεμφρακτική άνοια’ αντικατέστησε ο όρος ‘αγγειακή άνοια’, καθώς εντοπίστηκαν επιπλέον αίτια πλην των πολλαπλών εμφράκτων, όπως μεμονωμένα έμφρακτα σε περιοχές έκφρασης του λόγου, επεισόδια υπότασης, λευκοαραιώση, ατελές έμφρακτο και αιμορραγία (Bowler, 2007). Την τελευταία δεκαετία έχει επικρατήσει ο όρος ‘αγγειακή γνωστική έκπτωση’, ο οποίος αναφέρεται σε οποιαδήποτε γνωστική έκπτωση προκαλείται ή σχετίζεται με αγγειακούς παράγοντες κινδύνου και περιλαμβάνει ένα ευρύ γνωστικό φάσμα, που κυμαίνεται από ήπια γνωστική έκπτωση έως έκδηλη άνοια. Η ιδέα της αγγειακής γνωστικής έκπτωσης περικλείει επίσης τη σύνδεση μεταξύ αγγειακής νόσου του εγκεφάλου και νόσου Alzheimer, καθώς και το ενδεχόμενο πρόληψης αυτής (Di Legge και Hachinski, 2010).

Η διατύπωση διαγνωστικών κριτηρίων τη δεκαετία του '90 οδήγησε στην πραγματοποίηση μεγάλου αριθμού επιδημιολογικών και κλινικοπαθολογικών μελετών (Román, 2008). Ωστόσο, τα αποτελέσματα των μελετών παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές μεταξύ τους, καθώς εξαρτώνται από τη μεθοδολογία της εκάστοτε μελέτης και τα εφαρμοζόμενα ερευνητικά κριτήρια. Από τα υπάρχοντα δεδομένα, η επίπτωση της νόσου υπολογίζεται περίπου στις 3,8 περιπτώσεις ανά 1000 άτομα ετησίως. Ο επιπολασμός της άνοιας κάθε αιτιολογίας είναι 8% στον πληθυσμό ηλικίας άνω των 65 ετών και από τις περιπτώσεις αυτές το 9-39% (αλλά τυπικά το 13-19%) αφορούν αγγειακή άνοια (Bowler, 2007).

Η διάγνωση βασίζεται στην κλινική εικόνα, τα απεικονιστικά ευρήματα από τον εγκέφαλο και την ταυτοποίηση προδιαθεσικών παραγόντων. Έχουν περιγραφεί τρία κύρια κλινικοπαθολογικά σύνδρομα: α) έμφρακτα στο θάλαμο, τα βασικά γάγγλια και την έσω κάψα, που δημιουργούν διακοπή των προσθιο-υποφλοιωδών συνδέσεων, β) πολλαπλά φλοιώδη έμφρακτα που οδηγούν σε μια κλιμακωτή έκπτωση της γνωστικής λειτουργίας και γ) νόσος των μικρών αγγείων, που προκαλεί ένα κλινικό σύνδρομο το οποίο χαρακτηρίζεται από εκτελεστική δυσπραγία, «απραξία» βαδίσσεως και ακράτεια ούρων (Schott και συν., 2003). Ο κίνδυνος για την εμφάνιση άνοιας μετά από ένα αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο (post-stroke dementia, PSD) φαίνεται να σχετίζεται κυρίως με την προχωρημένη ηλικία, με προϋπάρχουσες αλλοιώσεις στη λευκή ουσία ή ατροφία και αιμοδυναμικούς παράγοντες, παρά με τα

χαρακτηριστικά του επεισοδίου αυτού καθαυτού (Selnes και Vinters, 2006). Η εγκεφαλική αυτοσωμική επικρατητική αρτηριοπάθεια με υποφλοιώδη έμφρακτα και λευκοεγκεφαλοπάθεια (Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy, CADASIL) είναι μια κληρονομική νόσος των μικρών αγγείων χωρίς αμυλοειδές, η οποία σχετίζεται συχνά με γνωστική έκπτωση ή άνοια (Chabriat, 2009).

Η κλινική εικόνα της αγγειακής γνωστικής έκπτωσης διαμορφώνεται κυρίως από υποφλοιώδη στοιχεία, με χαρακτηριστική ψυχοκινητική επιβράδυνση και ελλείμματα στις εκτελεστικές λειτουργίες, ενώ διατηρούνται σχετικά η λεκτική ικανότητα και η αναγνωριστική μνήμη (Selnes και Vinters, 2006). Οι τομείς που φαίνεται να επηρεάζονται κατά κύριο λόγο είναι η αφαιρετική σκέψη, η διανοητική ευελιξία, η ταχύτητα μετάδοσης των πληροφοριών και η λειτουργική μνήμη (Sachdev και συν., 2004). Κατά συνέπεια, τα νευροψυχολογικά τεστ που χρησιμοποιούνται για την εκτίμηση της νόσου Alzheimer, ειδικότερα το mini-mental state examination (MMSE), δεν αποτελούν κατάλληλα εργαλεία για την αγγειακή γνωστική έκπτωση (Jefferson και συν., 2002). Απαιτούνται εργαλεία ικανά να εκτιμήσουν τη λειτουργικότητα του μετωπιαίου λοβού και των υποφλοιωδών περιοχών και τις εκτελεστικές λειτουργίες. Μπορεί κάποια από τα ήδη υπάρχοντα τεστ με κατάλληλες τροποποιήσεις να είναι χρήσιμα, αλλά κρίνεται απαραίτητη η δημιουργία εξειδικευμένων εργαλείων για το σκοπό αυτό (O'Sullivan και συν., 2005).

1.2.1.4.3 Μετωποκροταφική άνοια

Η μετωποκροταφική άνοια (frontotemporal dementia, FTD) περιλαμβάνει μία ομάδα νευροεκφυλιστικών νοσημάτων, που χαρακτηρίζονται από εστιακή ατροφία του μετωπιαίου και των πρόσθιων κροταφικών λοβών (McKhann και συν., 2001), ενώ τελευταία έχει επικρατήσει ο όρος μετωποκροταφικός φλοιικός εκφυλισμός (frontotemporal lobar degeneration – FTLD) (Neary και συν., 2000). Σε άτομα ηλικίας κάτω των 65 ετών είναι το ίδιο συχνή με τη νόσο Alzheimer και η επικράτηση της νόσου έχει υπολογιστεί στους 15 ανά 100.000 ασθενείς, ηλικίας από 45 έως 64 ετών, με εντυπωσιακή υπεροχή του ανδρικού φύλου (14:3) (Ratnavalli και συν., 2002).

Οι ασθενείς με FTD παρουσιάζουν ετερογένεια στην κλινική εικόνα, η οποία μπορεί να περιλαμβάνει διαταραχές της συμπεριφοράς, των γνωστικών λειτουργιών και της κινητικότητας (Josephs, 2008). Ωστόσο, βάσει των προεξάρχοντων συμπτωμάτων, η μετωποκροταφική άνοια μπορεί να διαιρεθεί ευχερώς σε δύο

ομάδες: τη συμπεριφορική μορφή (behavioral variant, bv-FTD), η οποία χαρακτηρίζεται από απώλεια της επίγνωσης, αλλαγές στην προσωπικότητα και διαταραχές της κοινωνικής συμπεριφοράς και τη λεκτική μορφή, η οποία αναφέρεται και ως πρωτοπαθής προοδευτική αφασία (Mesulam, 2001). Η τελευταία μορφή μπορεί να διακριθεί περαιτέρω σε μια σαφώς προσδιορισμένη κλινικοπαθολογική οντότητα, τη γνωσιακή-σημασιολογική (κροταφική) άνοια (semantic dementia, SD) (Hodges και Patterson, 2007) και την προϊούσα με ρέουσα αφασική άνοια (progressive nonfluent aphasia, PNFA) (Knibb και συν., 2006).

Τα ιστοπαθολογικά ευρήματα ανήκουν σε τρεις βασικούς τύπους. Στο 60% των περιπτώσεων ανευρίσκεται ο μικροκενοτοπιώδης τύπος, που χαρακτηρίζεται από απώλεια των μεγάλων νευρώνων του φλοιού και σπογγιόμορφες μεταβολές ή μικροκενοτοπιώδη εκφύλιση. Ο δεύτερος τύπος του Pick, που παρατηρείται στο 25% των περιπτώσεων, χαρακτηρίζεται επίσης από απώλεια μεγάλων νευρώνων του φλοιού, συνοδευόμενη όμως από ευρύτατη και άφθονη γλοιώση. Οι οιδηματώδεις νευρώνες ή τα έγκλειστα (σωμάτια του Pick), που είναι θετικά για την ύπαρξη tau πρωτεΐνης ή και ουβικιτίνης, είναι παρόντα στις περισσότερες περιπτώσεις και προσβάλλουν κυρίως το δρεπανοειδές σύστημα και το ραβδωτό σώμα. Στο 15% των περιπτώσεων εμφανίζονται ταυτόχρονα κλινικά χαρακτηριστικά μετωποκροταφικής άνοιας και νόσου του κινητικού νευρώνα και τα ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά του μικροκενοτοπιώδη (ή σπανιότερα του τύπου του Pick) συνυπάρχουν με αυτά της νόσου του κινητικού νευρώνα (Snowden και συν., 2005).

Για τη διάγνωση της μετωποκροταφικής άνοιας είναι απαραίτητη η νευροψυχιατρική εκτίμηση, τα νευροψυχολογικά τεστ και ο νευροαπεικονιστικός έλεγχος. Το MMSE είναι αναξιόπιστο εργαλείο για την ανίχνευση και την παρακολούθηση των ασθενών αυτών, διότι μπορεί να έχουν καλή απόδοση στο τεστ, ενώ χρήζουν φροντίδας και βοήθειας στο σπίτι (Hodges, 2001). Ο McKhann και οι συνεργάτες του ανέπτυξαν κλινικά κριτήρια, τα οποία να είναι εύχρηστα από τον κλινικό γιατρό, ώστε να γίνεται έγκαιρη διάγνωση της νόσου (McKhann και συν., 2001). Παράλληλα, η νευροπαθολογική διάγνωση της εκφύλισης των μετωποκροταφικών λοβών γίνεται με τη χρήση αλγορίθμου, βάσει του οποίου η εκτίμηση επιτυγχάνεται με τη βοήθεια ανίχνευσης ειδικών αντισωμάτων, βιοχημικών αναλύσεων και τεχνικών μοριακής γενετικής για τον προσδιορισμό της υποκείμενης νοσολογικής οντότητας (Cairns και συν., 2007).

1.2.1.4.4 Άνοια σωματίων Lewy

Η άνοια με σωματία Lewy περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1984 από τον Kosaka και τους συνεργάτες του (Kosaka και συν., 1984) και υπολογίζεται ότι προσβάλλει τουλάχιστον το 5% των ηλικιωμένων άνω των 85 ετών στην κοινότητα, ενώ η νόσος αντιπροσωπεύει κατά προσέγγιση το 22% των ασθενών με άνοια (McKeith και συν., 2004). Τα σωματία Lewy είναι ηωσινοφιλικά κυτταροπλασματικά έγκλειστα, τα οποία χαρακτηρίζονται από ανώμαλη συσσώρευση α-συνουκλείνης (Baba και συν., 1998) και ανευρίσκονται στις υποφλοιώδεις και φλοιώδεις μετωποκροταφικές περιοχές του εγκεφάλου, μαζί με πλάκες αμυλοειδούς (McKeith και συν., 2004). Ο βιοχημικός έλεγχος αναδεικνύει ελλείμματα τόσο στην ακετυλοχολίνη, όσο και στην ντοπαμίνη, τα οποία αποτελούν χαρακτηριστικό εύρημα στη νόσο του Alzheimer και στη νόσο του Πάρκινσον αντίστοιχα (Leverenz και McKeith, 2002).

Το κλινικό σύνδρομο της άνοιας σωματίων Lewy περιλαμβάνει άνοια, παρκινσονισμό, διακυμάνσεις του γνωστικού επιπέδου και οπτικές ψευδαισθήσεις. Συνεπώς από κλινικής, παθολογοανατομικής και βιοχημικής απόψεως, η νόσος φαίνεται να βρίσκεται στη μέση ενός νοσολογικού φάσματος, που κυμαίνεται μεταξύ της νόσου Alzheimer και της νόσου του Πάρκινσον. Η διάγνωση της νόσου γίνεται με προσεκτική εκτίμηση της συνολικής κλινικής εικόνας του ασθενούς, διότι τόσο τα νευροψυχολογικά τεστ, όσο και η νευροαπεικόνιση δεν μπορούν αξιόπιστα να διαφοροδιαγνώσουν την άνοια σωματίων Lewy από τη νόσο Alzheimer (Knopman και συν., 2001). Επιπλέον οι δύο καταστάσεις μπορούν να συνυπάρχουν σε έναν ασθενή (Larson, 2000). Τόσο η θεραπευτική προσέγγιση, όσο και η πρόγνωση της νόσου διαφοροποιείται συγκριτικά με τα άλλα ανοϊκά σύνδρομα, εξαιτίας της σοβαρής αντίδρασης των πασχόντων από άνοια με σωματία Lewy στα νευροληπτικά φάρμακα και της καλύτερης θεραπευτικής ανταπόκρισης στους αναστολείς ακετυλοχολινεστεράσης (Neef και Walling, 2006).

1.2.1.4.5 Άνοια της νόσου Huntington

Η νόσος Huntington προκαλείται από μετάλλαξη στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 4 (Gusella και συν., 1993). Κληρονομείται με αυτοσωμικό επικρατή τρόπο και έχει πλήρη διεισδυτικότητα. Το γονίδιο κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη άγνωστης λειτουργίας, τη χαντιγκτίνη (Sampson και συν., 2003). Τα κύρια ιστολογικά ευρήματα της νόσου αποτελούν η νευρωνική απώλεια και η γλοίωση στο

μετωπιαίο λοβό. Η κλινική εικόνα χαρακτηρίζεται από βραδεία έναρξη ανωμάτων κινήσεων (χορεία και εξωπυραμιδικά σημεία), ενώ συχνές εκδηλώσεις αποτελούν η ευερεθιστότητα, η απάθεια, η επιθετικότητα, η άρση αναστολών και η κατάθλιψη (Brandt, 2002).

1.2.1.4.6 Άνοια της νόσου του Parkinson

Η νόσος του Parkinson είναι μια προοδευτική νευροεκφυλιστική νόσος, που εμφανίζεται συνήθως στη μέση ηλικία και χαρακτηρίζεται από κινητικές διαταραχές, όπως τρόμος, δυσκαμψία και βραδυκίνησια. Οι ασθενείς με νόσο του Parkinson παρουσιάζουν 3,7 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο να αναπτύξουν άνοια συγκριτικά με μάρτυρες αναλόγου φύλου και ηλικίας (Rocca, 2002) και τελικά το 40-70% των ασθενών αναπτύσσει άνοια στην πορεία της νόσου (Aarsland και συν., 2003). Το γνωστικό προφίλ είναι παρόμοιο με αυτό της νόσου Alzheimer, αλλά οι ασθενείς με νόσο του Parkinson παρουσιάζουν μεγαλύτερα οπτικοχωρικά ελλείμματα, διακυμάνσεις της προσοχής, οπτικές ψευδαισθήσεις και λιγότερα προβλήματα μνήμης (Press, 2004).

1.2.1.4.7 Ήπια γνωστική έκπτωση

Η ήπια γνωστική έκπτωση περιγράφεται για πρώτη φορά τη δεκαετία του '90 από τον Flicker και συν. (Flicker και συν., 1991). Αργότερα ο Petersen και συν. πρότεινε μια κλινική συνέχεια, από το φυσιολογικό γήρας στην ήπια γνωστική έκπτωση ως μεταβατικό στάδιο και τελικά στην άνοια (Petersen και συν., 1999). Διακρίνουμε δύο κατηγορίες, τον αμνησιακό και τον μη αμνησιακό τύπο (Petersen, 2004). Στον αμνησιακό τύπο παρατηρείται κλινικά σημαντική έκπτωση της μνήμης, η οποία όμως δεν πληρεί τα κριτήρια της άνοιας, ενώ άλλες γνωστικές λειτουργίες, όπως και η λειτουργική ικανότητα διατηρούνται σε σχετικά ικανοποιητικό επίπεδο. Ο μη αμνησιακός τύπος χαρακτηρίζεται από ανεπαίσθητη έκπτωση λειτουργιών, που δεν σχετίζονται με τη μνήμη, όπως προσοχή, λεκτική ικανότητα και οπτικοχωρική αντίληψη. Απαντάται σε μικρότερη συχνότητα από τον αμνησιακό τύπο και μπορεί να αποτελεί πρόδρομο στάδιο άνοιας, που δεν σχετίζεται με τη νόσο Alzheimer, όπως η μετωποκροταφική εκφύλιση και η άνοια με σωματίδια Lewy (Molano και συν., 2010).

Η διάγνωση της ήπιας γνωστικής διαταραχής σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο για την εμφάνιση άνοιας κατά τη διάρκεια της ζωής (Petersen και συν., 2001) και ο

συνδυασμός κάποιων παραμέτρων μπορεί να μας βοηθήσει να αναγνωρίσουμε τα άτομα με μέτριο ή υψηλό κίνδυνο, ώστε να γίνεται τακτική κλινική επανεκτίμηση (Visser, 2000). Δυστυχώς, δεν υπάρχουν ενδείξεις από τις μέχρι τώρα μελέτες, για κάποια φαρμακευτική αγωγή, που να προλαμβάνει την εξέλιξη σε άνοια. Ωστόσο, η έγκαιρη διάγνωση παραμένει σημαντική και η ήπια γνωστική έκπτωση πρέπει να εκτιμάται μάλλον ως σύνδρομο, παρά ως νοσολογική οντότητα (Visser, 2006).

1.2.1.5 Παράγοντες κινδύνου

Οι μόνοι επιβεβαιωμένοι παράγοντες κινδύνου από την έρευνα μέχρι τώρα - κυρίως για τη νόσο Alzheimer (NA) - είναι η ηλικία, η ύπαρξη στενού συγγενή με άνοια και το E4 αλληλίο του γονιδίου της απολιποπρωτεΐνης E (APOE) (Ritchie και Lovestone, 2002). Οι μεταλλάξεις αφορούν περίπου το 0,5% των ασθενών με άνοια τύπου NA, οι οποίοι έχουν κυρίως πρώιμης έναρξης οικογενή NA, ενώ η πλειοψηφία των ατόμων με άνοια παρουσιάζουν σύνδρομο που ξεκινούν όψιμα και είναι σποραδικά ή εμφανίζονται σε οικογένειες χωρίς συγκεκριμένο πρότυπο κληρονομικότητας (Cummings και συν., 1998).

1.2.1.5.1 Μεταλλάξεις

Μεταλλάξεις που συνήθως προκαλούν οικογενή, πρώιμης έναρξης NA, εμφανίζονται στα χρωμοσώματα 21, 14 και 1 και κληρονομούνται με αυτοσωμικό επικρατητικό χαρακτήρα (Hutton και Hardy, 1997, Lendon και συν., 1997).

Σύνδρομο Down: Στο χρωμόσωμα 21 εδράζεται το γονίδιο που κωδικοποιεί την πρόδρομη πρωτεΐνη του αμυλοειδούς (amyloid precursor protein, APP), η οποία στην περίπτωση αυτή παράγει αυξημένη πρωτεΐνη Αβ, τοξικό κλάσμα προερχόμενο από την APP (Hardy, 1997).

Μεταλλάξεις χρωμοσώματος 21: Έχει βρεθεί αριθμός μεταλλάξεων του γονιδίου της APP στο χρωμόσωμα 21 σε ασθενείς με άνοια πρώιμης έναρξης, σε ποσοστό 1-3%. Η αλλαγή στο μεταβολισμό της APP οδηγεί στην υπέρμετρη παραγωγή του Αβ42, με αποτέλεσμα την παραγωγή νευριτικών πλακών, που εναποτίθενται σε διαφορετικά κέντρα του εγκεφάλου (Hardy, 1997). Τα άτομα με σύνδρομο Down έχουν τρία χρωμοσώματα 21 και από την ηλικία των 30 ετών παρουσιάζουν παθολογία τύπου NA στον εγκέφαλο σε ποσοστό >95%. Η μέση ηλικία έναρξης της νόσου είναι τα 54 έτη και η επικράτηση φτάνει το 75% στα άτομα ηλικίας άνω των 60 ετών (Holland, 1995).

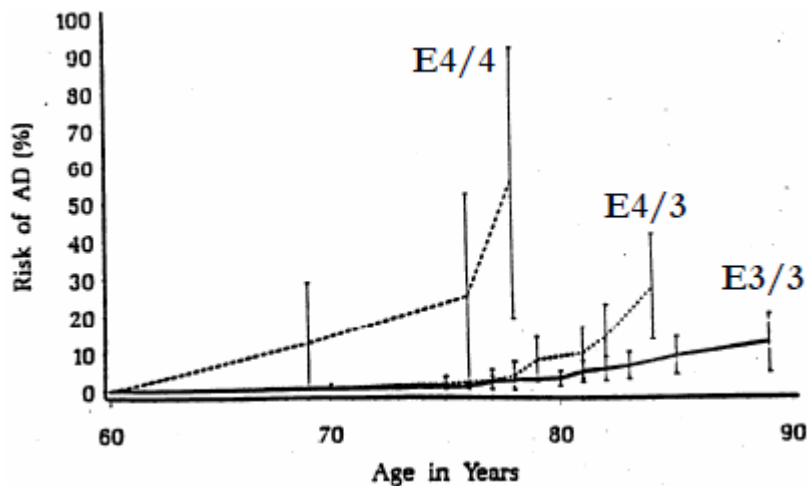
Μεταλλάξεις χρωμοσώματος 14: Μελέτες σύνδεσης σε οικογένειες και αλληλουχίας DNA έδειξαν ότι μεταλλάξεις στο γονίδιο της πρεσενιλίνης 1 (PSEN1) είναι υπεύθυνες για την πλειοψηφία των οικογενών ανοιών με πρόωμη έναρξη (Nussbaum και Ellis, 2003). Αυτές οι μεταλλάξεις επίσης αυξάνουν την παραγωγή Αβ και τη δημιουργία νευριτικών πλακών.

Μεταλλάξεις χρωμοσώματος 1: Σε μικρό αριθμό οικογενειών ορισμένα άτομα είχαν μεταλλάξεις στο γονίδιο της πρεσενιλίνης 2 (PSEN2) που εδράζεται στο χρωμόσωμα 1. Οι μεταλλάξεις αυτές είναι υπεύθυνες για την αύξηση της παραγωγής του Αβ (Mann και συν., 1997) και οδηγούν στη συσσώρευση του τοξικού πεπτιδίου Αβ₄₂ και όχι του φυσικού τύπου του Αβ₄₀ (Nussbaum και Ellis, 2003).

Οι πιο γνωστοί παράγοντες κινδύνου για ΝΑ και αγγειακές άνοιες είναι οι ακόλουθοι:

1.2.1.5.2 APOE4

Η απολιποπρωτεΐνη Ε (APOE) αποτελεί συστατικό της λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας (LDL) και παίζει ρόλο στην ανάνηψη του ΚΝΣ μετά από τραυματισμό (Horsburgh και συν., 2000). Το γονίδιο που κωδικοποιεί την APOE εδράζεται στο χρωμόσωμα 19 και έχει συσχετιστεί με τη ΝΑ (Strittmatter και Roses, 1996). Το γονίδιο APOE απαντά σε 3 αλληλόμορφες παραλλαγές (ε2, ε3 και ε4), με πιο συχνή την ε3. Η συσχέτιση μεταξύ του αλληλίου ε4 με τη ΝΑ περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1993 (Saunders και συν., 1993) και έχει επιβεβαιωθεί σε αρκετές μελέτες οικογενειών και άλλες κλινικές μελέτες (VanDuijn και συν., 1994, Breitner και συν., 1995). Η ύπαρξη ενός αλληλίου APOE ε4 σχεδόν διπλασιάζει τον κίνδυνο για ΝΑ, ενώ η απουσία του μειώνει τον κίνδυνο κατά 40% (Seshadri και συν., 1995). Μόνο το 30 με 60% των ατόμων με ένα αλληλίο APOE ε4 και το 10% των ομοζυγωτών δεν εκδηλώνουν τη νόσο μετά την ηλικία των 80 ετών (Strittmatter και Roses, 1996). Άλλοι ερευνητές θεωρούν ότι η κύρια δράση του αλληλίου APOE ε4 είναι η πρωιμότερη έναρξη της ΝΑ σε άτομα με προϋπάρχουσα ευπάθεια για τη νόσο (Farrer και συν., 1997) (Εικ. 5).



Εικόνα 5. Η επίδραση του αλληλίου APOE E4 στην ηλικία εμφάνισης της νόσου (Myers και συν., 1996).

Οι μοριακοί μηχανισμοί με τους οποίους τα αλληλία APOE μεταβάλλουν την ηλικία έναρξης και τον κίνδυνο ζωής για ΝΑ είναι άγνωστοι (Nussbaum και Ellis, 2003). Ωστόσο, το APOE ε4 σχετίζεται με ένα μικρό ποσοστό ασθενών σε μελέτες πληθυσμών (Evans και συν., 1997) και συνεπώς ο ευρύς έλεγχος για το αλληλίο φαίνεται να είναι περιορισμένης αξίας. Η αρνητική προγνωστική αξία σε ασυμπτωματικούς ασθενείς είναι περιορισμένη, καθώς νεκροτομικές μελέτες έδειξαν ότι το 50% των ασθενών με ΝΑ δεν ήταν φορείς του APOE ε4. Έτσι, ο έλεγχος για το αλληλίο APOE ε4 δεν θα πρέπει να εφαρμόζεται σε ασυμπτωματικά άτομα, καθώς έχει πολύ πτωχή αρνητική και θετική προγνωστική αξία (Seshadri και συν., 1995).

1.2.1.5.3 Ηλικία

Η ηλικία είναι ο πιο ισχυρός παράγοντας κινδύνου για τη ΝΑ (Ritchie και Lovestone, 2002). Στην πορεία της φυσιολογικής γήρανσης συμβαίνουν γεγονότα, που συμβάλλουν στα συμπτώματα της άνοιας, όπως η απώλεια νευρώνων, η απώλεια συνάψεων και η ελάττωση της ακετυλοχολίνης του φλοιού. Η επικράτηση και η επίπτωση της ΝΑ διπλασιάζεται κάθε 5 χρόνια μετά την ηλικία των 60 ετών (Cummings και συν., 1998). Στα 80 έτη η επικράτηση φθάνει το 30% και η συνολική επίπτωση αυξάνεται κατά 1% κάθε χρόνο (Ritchie και Lovestone, 2002).

1.2.1.5.4 Οικογενειακό ιστορικό

Η ύπαρξη άνοιας σε στενό συγγενικό πρόσωπο αποτελεί επιβεβαιωμένο παράγοντα κινδύνου ανάπτυξης της νόσου, ενώ 15-35% των ασθενών με ΝΑ έχουν

συγγενή πρώτου βαθμού, που έχει προσβληθεί από τη νόσο (Breitner και συν., 1984). Το θετικό οικογενειακό ιστορικό επεκτείνεται πέραν των μεταλλάξεων του γονοτύπου APOE ε4 και αυξάνει τον κίνδυνο κατά 2-4 φορές σε σχέση με ηλικιωμένους χωρίς οικογενειακό ιστορικό NA (Mohs και συν., 1987).

1.2.1.5.5 Φύλο

Στο γυναικείο φύλο παρατηρείται αυξημένη επίπτωση της NA κατά 1,5-3 φορές, σε σύγκριση με το ανδρικό (Baum, 2005). Ο αυξημένος κίνδυνος για NA συμπίπτει χρονικά με την εμμηνόπαυση, ενοχοποιώντας την έλλειψη των οιστρογόνων ως το βασικό παράγοντα κινδύνου, που σχετίζεται με το φύλο (Gandy και Duff, 2000, Manly και συν., 2000). Τα οιστρογόνα ελαττώνουν το σχηματισμό του β-αμυλοειδούς (Chang και συν., 1997, Morinaga και συν., 2007) και δρουν προστατευτικά ενάντια στις τοξικές του επιπτώσεις in vitro (Marin και συν., 2003). Επιπροσθέτως, διάφορες μελέτες με πειραματόζωα υποστηρίζουν τον προστατευτικό ρόλο των οιστρογόνων έναντι της παθογένεσης της NA (Carroll και συν., 2007, Levin-Allerhand και συν., 2002, Zhang και συν., 2004), ωστόσο έχουν παρατηρηθεί και αρνητικά αποτελέσματα (Coma και συν., 2005, Green και συν., 2005) και για το λόγο αυτό χρειάζεται περαιτέρω μελέτη.

1.2.1.5.6 Αγγειακοί παράγοντες κινδύνου

Πολλές περιγραφικές μελέτες συνέβαλλαν στη διερεύνηση του ρόλου των αγγειακών παραγόντων κινδύνου στη NA (The Rotterdam Study, the Framingham Study, the Italian Longitudinal Study of Aging, the Chicago Health and Aging Project) (Gorelick, 2002). Οι παραπάνω μελέτες ανέδειξαν τον πιθανό ρόλο της υπέρτασης, της ομοκυστεΐνης, του καπνίσματος, του σακχαρώδη διαβήτη, των λιπιδίων και άλλων αγγειακών παραγόντων που μπορούν να αυξήσουν τον κίνδυνο για γνωστική έκπτωση, NA ή αγγειακή άνοια (Gorelick, 2004).

Η ύπαρξη αρτηριακής υπέρτασης στη μέση ηλικία σχετίζεται σε μεγαλύτερο βαθμό με την εμφάνιση άνοιας, σε σύγκριση με τα επίπεδα της αρτηριακής πίεσης στην τρίτη ηλικία (Qiu και συν., 2005, Johnson και συν., 2008). Η ανεύρεση αυξημένων επιπέδων χοληστερόλης ορού στη μέση ηλικία αυξάνει επίσης τον κίνδυνο ανάπτυξης άνοιας δεκαετίες αργότερα (Kivipelto και συν., 2002, Dufouil και συν., 2005). Η παχυσαρκία (Δείκτης Μάζας Σώματος - ΔΜΣ ≥ 30) στη μέση ηλικία σχετίζεται με τριπλάσιο κίνδυνο για NA, ενώ αν κάποιος είναι υπέρβαρος (ΔΜΣ \geq

25) έχει διπλάσιο κίνδυνο εμφάνισης ΝΑ (Whitmer και συν., 2007). Αυτή η συσχέτιση παραμένει, ακόμη και όταν άλλοι καρδιαγγειακοί παράγοντες κινδύνου έχουν ελεγχθεί αποτελεσματικά.

Ο κίνδυνος για ΝΑ αυξάνεται επίσης με την εμφάνιση σακχαρώδους διαβήτη και πιο συγκεκριμένα με τον διαβήτη τύπου 2 και την υπερινσουλιναιμία (Ott και συν., 1996, Luchsinger και συν., 2004). Η εμφάνιση του ΣΔ τύπου 2 πριν την ηλικία των 65 ετών αντιστοιχεί σε έναν αυξημένο κίνδυνο για ΝΑ κατά 125% (Xu και συν., 2009). Αρκετά είναι τα ευρήματα από μελέτες που συνδέουν την υπερινσουλιναιμία με τη ΝΑ, καθώς έχει διαπιστωθεί ότι η ινσουλίνη, διαπερνώντας τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, ανταγωνίζεται με το Αβ στο ΚΝΣ για το αποικοδομητικό ένζυμο της ινσουλίνης (IDE, insulin degrading enzyme), το οποίο είναι ο κύριος ρυθμιστής των επιπέδων Αβ στους νευρώνες και τα κύτταρα γλοίας. Η υπερινσουλιναιμία στην περιφέρεια μπορεί επίσης να αυξήσει τον κίνδυνο για ΝΑ, καθώς παρεμποδίζει την παραγωγή ινσουλίνης στον εγκέφαλο, οδηγώντας σε μειωμένη κάθαρση του αμυλοειδούς (Farris και συν., 2003).

1.2.1.5.7 Τραυματισμός κεφαλής

Η λοίμωξη από έρπητα και το ιστορικό τραυματισμού κεφαλής έχουν προταθεί ως παράγοντες κινδύνου, ωστόσο είναι πιθανό να αλληλεπιδρούν με το γονότυπο APOE στην τροποποίηση του κινδύνου (Ritchie και Lovestone, 2002). Ο κίνδυνος για ΝΑ που αποδίδεται σε τραυματισμό κεφαλής μπορεί να είναι αυξημένος έως και 15% (Graves και συν., 1990). Ήδη από το 1920 είναι γνωστό ότι ο επαναλαμβανόμενος εγκεφαλικός τραυματισμός, που σχετίζεται με την ενασχόληση με την πυγμαχία, μπορεί να προκαλέσει προοδευτική νευρολογική εκφύλιση, γνωστή ως χρόνια τραυματική εγκεφαλοπάθεια (McKee και συν., 2009).

1.2.1.5.8 Κατάθλιψη

Η κατάθλιψη έχει σχετιστεί με γνωστική εξασθένηση σε ηλικιωμένους (Barnes και συν., 2006) και μια μεταανάλυση του 2001 σε μελέτες, που εξέταζαν τη σχέση κατάθλιψης και άνοιας, κατέληξε στο συμπέρασμα ότι το ιστορικό κατάθλιψης διπλασιάζει τον κίνδυνο άνοιας (Jorm, 2001). Πράγματι, υπάρχουν ενδείξεις από κλινικές μελέτες ασθενών-μαρτύρων για συσχέτισμό του ιστορικού κατάθλιψης ή καταθλιπτικών συμπτωμάτων κατά την έναρξη της μελέτης και του κινδύνου για εμφάνιση άνοιας σε 10 ή περισσότερα έτη (Jorm και συν., 1991, Speck και συν.,

1995, Green και συν., 2003). Ωστόσο, δεν έχει ξεκαθαριστεί εάν η κατάθλιψη αποτελεί παράγοντα κινδύνου για την άνοια ή αν τα καταθλιπτικά συμπτώματα είναι πρόωμη ένδειξη ανοϊκής διεργασίας (Berger και συν., 1999, Chen και συν., 1999, Geerlings και συν., 2000).

1.2.1.5.9 Παράγοντες κινδύνου για την αγγειακή άνοια

Οι παράγοντες κινδύνου για την αγγειακή άνοια μπορούν να διακριθούν σε τέσσερις κατηγορίες: δημογραφικοί (όπως η ηλικία, το άρρεν φύλο και το χαμηλό μορφωτικό επίπεδο), γενετικοί, παράγοντες που σχετίζονται με αθηροσκλήρωση και παράγοντες που σχετίζονται με αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο (ΑΕΕ) (Gorelick, 1997). Στους γενετικούς παράγοντες ανήκουν οι οικογενείς αγγειακές εγκεφαλοπάθειες, συμπεριλαμβανομένης της αυτοσωμικής επικρατητικής εγκεφαλικής αρτηριοπάθειας με υποφλοιώδη έμφρακτα και λευκοεγκεφαλοπάθεια (CADASIL) και πιθανώς η περίπτωση της APOE ε4 (Erkinjuntti, 2000). Σύμφωνα με ορισμένους ωστόσο, η συσχέτιση που έχει δειχθεί μεταξύ APOE ε4 και αγγειακής άνοιας σε διάφορες μελέτες, οφείλεται στις δυσκολίες της διαφορικής διάγνωσης μεταξύ NA και αγγειακής άνοιας (Ritchie και Lovestone, 2002).

Οι σημαντικότεροι παράγοντες κινδύνου, που σχετίζονται με αθηροσκλήρωση, είναι το ιστορικό αρτηριακής υπέρτασης (Yoshitake και συν., 1995), το κάπνισμα, το έμφραγμα του μυοκαρδίου (Gorelick και συν., 1993), ο σακχαρώδης διαβήτης και η υπερλιπιδαιμία (Desmond και συν., 1993). Οι παράγοντες κινδύνου, που σχετίζονται με ΑΕΕ, είναι ο όγκος του απολεσθέντος εγκεφαλικού ιστού, ενδείξεις για αμφίπλευρα εγκεφαλικά έμφρακτα, έμφρακτα σε στρατηγικής σημασίας σημεία (π.χ. σε θάλαμο, γωνιώδες σώμα ή υποφλοιώδη μετωπιαία έμφρακτα) και νόσος της λευκής ουσίας περικουιλιακά. Τα σιωπηλά εγκεφαλικά έμφρακτα, η εγκεφαλική ατροφία και το μέγεθος των κοιλιών πιστεύεται ότι παίζουν επίσης ρόλο στην αύξηση του κινδύνου για αγγειακή άνοια (Gorelick, 1997).

1.2.1.6 Προστατευτικοί παράγοντες

1.2.1.6.1 Περιβαλλοντικοί παράγοντες και έξεις

Αρκετές μελέτες υποστηρίζουν τον προστατευτικό ρόλο κάποιων παραγόντων σχετικών με τον τρόπο ζωής, όπως η υγιεινή διατροφή (Scarmeas και συν., 2009), η μέτρια κατανάλωση αλκοόλ (Anstey και συν., 2009, Peters και συν., 2008) και η κοινωνική δραστηριότητα ή υποστήριξη (Hakansson και συν., 2009, Fratiglioni και

συν., 2004). Μελέτες σε ζώα έδειξαν ότι το περιβάλλον που είναι πλούσιο σε γνωστικά ερεθίσματα, η σωματική άσκηση και οι διαιτητικές τροποποιήσεις αυξάνουν την αντίσταση των νευρώνων στην εκφύλιση, αυξάνουν τη δημιουργία νευρώνων και βελτιώνουν τη μνήμη (Mattson, 2003). Συμπληρώματα βιταμινών C και E, υψηλά επίπεδα φυλλικού οξέος και χαμηλά επίπεδα ομοκυστεΐνης μπορεί να μειώσουν τον κίνδυνο για NA (Mattson, 2004).

Η εκπαίδευση θεωρείται επίσης ότι δρα προστατευτικά ενάντια στη NA (Sando και συν., 2008). Η προστατευτική δράση της εκπαίδευσης μπορεί να αποδοθεί στη γνωστική εφεδρεία (ή εγκεφαλική εφεδρεία), ενώ η αυξημένη διέγερση (μέσω της μάθησης) οδηγεί σε αλλαγές στον εγκέφαλο, οι οποίες επιτρέπουν στο άτομο να ανταποκριθεί αποτελεσματικότερα στην εγκεφαλική βλάβη. Αν και η εκπαίδευση δεν σχετίζεται με μειωμένη νευροπαθολογία (Querbes και συν., 2009, Kemppainen και συν., 2008), οι αλλαγές που επιφέρουν στον εγκέφαλο οι εμπειρίες του ατόμου, μπορεί να περιλαμβάνουν αυξημένη συναπτική πυκνότητα, νευρογένεση ή βελτίωση της αποτελεσματικότητας και της ευελιξίας των εγκεφαλικών δικτύων (Stern, 2009). Η παρατηρούμενη προστατευτική δράση της μόρφωσης μπορεί επίσης να αποδοθεί στο γεγονός ότι άτομα υψηλότερου μορφωτικού επιπέδου μπορεί να υπεκφεύγουν της διάγνωσης, πιθανώς λόγω καλύτερης επιδεξιότητας στις διαγνωστικές δοκιμασίες. Χρειάζεται περαιτέρω μελέτη για να εξακριβωθεί αν ο ευεργετικός ρόλος της εκπαίδευσης επεκτείνεται πέρα από την κλινική παρατήρηση (Bendlin και συν., 2010).

Η σωματική άσκηση έχει επίσης σχετιστεί με βελτίωση της γνωστικής λειτουργίας και πρόληψη της NA (Hamer και συν., 2009, Lautenschlager και συν., 2008) και το επίπεδο της σωματικής άσκησης στη μέση ηλικία αποτελεί προγνωστικό παράγοντα για την άνοια. Σε μια μελέτη, που διεξήχθη σε 1449 άτομα σχετικά με τη σωματική άσκηση στη μέση ηλικία και με επανεκτίμηση αυτών μετά από εικοσαετία, παρατηρήθηκε ότι η συμμετοχή σε σωματική δραστηριότητα τουλάχιστον δύο φορές την εβδομάδα σχετίζεται με μειωμένη πιθανότητα εμφάνισης άνοιας στη μετέπειτα ζωή, σε σύγκριση με έναν καθιστικό τρόπο ζωής (Ronio και συν., 2005). Είναι πιθανό ότι οι διαφορές στον τρόπο ζωής στη μέση ηλικία να είναι ήδη ενδεικτικές μιας προκλινικής νοσολογικής οντότητας, ωστόσο, παραδείγματα παρέμβασης - όπως με τη σωματική άσκηση - υποδεικνύουν ότι μπορούν να επηρεάσουν την εξέλιξη των γνωστικών λειτουργιών (Masley και συν., 2009).

1.2.1.6.2 APOE2

Σε αντίθεση με τον γονότυπο APOE4, ο οποίος αυξάνει τον κίνδυνο για άνοια, το αλληλίο ε2 (APOE2) φαίνεται να δρα προστατευτικά κατά της εμφάνισης της ΝΑ. Πιο συγκεκριμένα, το APOE2 έχει σχετιστεί με καθυστερημένη έναρξη της ΝΑ (Corder και συν., 1994) και η παρουσία του συνδέεται με μειωμένη συχνότητα εμφάνισης σποραδικών περιπτώσεων ΝΑ (West και συν., 1994). Επιπλέον, οι φορείς του αλληλίου ε2 έχουν μικρότερη ποσότητα β-αμυλοειδούς στον εγκεφαλικό φλοιό (Lippa και συν., 1997), λιγότερες γεροντικές πλάκες και λιγότερους νευροϊνιδώδεις σχηματισμούς, σε σύγκριση με τα άτομα με τον πιο συνήθη γονότυπο ε3/ε3 (APOE3/3) (Oyama και συν., 1995, Benjamin και συν., 1994, Tiraboschi και συν., 2004, Nagy και συν. 1995). Σε ό,τι αφορά τις γνωστικές λειτουργίες, το APOE2 έχει σχετιστεί με διατήρηση της μνήμης σε υγιείς ηλικιωμένους (Helkala και συν., 1996, Wilson και συν., 2002, Blacker και συν., 2007). Ο μηχανισμός ωστόσο, της προστατευτικής δράσης δεν είναι γνωστός.

1.2.1.6.3 Θεραπεία υποκατάστασης με οιστρογόνα

Τα δεδομένα για τη σχέση μεταξύ της θεραπείας υποκατάστασης με οιστρογόνα και της ΝΑ είναι αμφιλεγόμενα. Υπάρχουν μελέτες που υποστηρίζουν ότι η θεραπεία με οιστρογόνα δρα ευεργετικά, μειώνοντας τον κίνδυνο για ΝΑ σε μετεμνηνοπαυσιακές γυναίκες (Paganini και Henderson, 1994,1996), ενώ σε άλλες μελέτες δεν παρατηρήθηκε καμία επίδραση (Seshadri και συν., 2001). Γυναίκες που ελάμβαναν οιστρογόνα είχαν καλύτερες γνωστικές επιδόσεις από άλλες που δεν έκαναν χρήση τους (Ohkura και συν., 1994), γεγονός που έχει αποδοθεί σε ένα αριθμό ευεργετικών δράσεων που περιλαμβάνουν νευροτροφικές λειτουργίες, νευροπροστατευτικές επιδράσεις και βελτίωση της εγκεφαλικής αιματικής ροής (Greene, 2000). Εντούτοις, άλλοι ερευνητές ισχυρίζονται ότι η τροποποίηση του κινδύνου για ΝΑ μετά από θεραπεία υποκατάστασης με οιστρογόνα είναι αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης με το γονότυπο APOE4 (Ritchie και Lovestone, 2002).

1.2.1.6.4 Αντιφλεγμονώδη φάρμακα

Σε ασθενείς με ρευματοειδή αρθρίτιδα, οι οποίοι ελάμβαναν μακροχρόνια αντιφλεγμονώδη θεραπεία με μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα (ΜΣΑΦ), παρατηρήθηκε χαμηλότερη επίπτωση της ΝΑ από την αναμενόμενη (Jenkinson και συν., 1989), υποδεικνύοντας μια πιθανή προστατευτική δράση αυτών των φαρμάκων

κατά της εμφάνισης ΝΑ. Επιπλέον, τα ΜΣΑΦ έχουν συσχετιστεί με επιβράδυνση της γνωστικής έκπτωσης σε ασθενείς με άνοια (Rich και συν., 1995). Συνολικά, τα αποτελέσματα περιγραφικών μελετών είναι αντιφατικά όσον αφορά τη συσχέτιση των ΜΣΑΦ και της ΝΑ (Breitner και συν., 1994, Brooks και συν., 1998, Cornelius και συν., 1998, Antony και συν., 2000). Σε όλες σχεδόν τις μελέτες οι πληροφορίες για τα ΜΣΑΦ αποκτήθηκαν αναδρομικά από τους ασθενείς, τους συγγενείς ή τα ιατρικά αρχεία, ενώ νεκροτομικές μελέτες έχουν δείξει ότι η χρόνια χρήση αντιφλεγμονωδών φαρμάκων δε μειώνει το ποσό της γλοίας, των πλακών ή των νευροϊνιδίων (Halliday και συν., 2000).

Μελέτες που εξετάζουν το θεραπευτικό ρόλο των ΜΣΑΦ στην άνοια είναι σπάνιες και συνήθως εμπεριέχουν μικρό αριθμό ασθενών (Rogers και συν., 1993, Bruce-Jones και συν., 1994). Εν τούτοις, η ινδομεθακίνη φάνηκε σημαντικά πιο αποτελεσματική από το εικονικό φάρμακο στη σταθεροποίηση των γνωστικών ικανοτήτων, όταν δοκιμάστηκε σε ασθενείς με ΝΑ (Rogers και συν., 1993). Αυτά τα αποτελέσματα ωστόσο είναι αμφίβολα και δεν έχει καθοριστεί ακόμη ο τύπος του φαρμάκου που πρέπει να χρησιμοποιηθεί. Κάποιοι μελετητές έχουν αναφέρει ακόμη και εξασθένηση των γνωστικών λειτουργιών με τη χρήση των ΜΣΑΦ ναπροξένης και ιβοπροφένης (Goodwin & Regan, 1982). Οι νεότερες ενδείξεις ότι η κυκλοοξυγενάση εμπλέκεται στην εκφύλιση των νευρώνων, μαζί με την εξέλιξη των εκλεκτικών αναστολέων της κυκλοοξυγενάσης, έχουν ανανεώσει το ενδιαφέρον για έναν πιθανό θεραπευτικό ρόλο των ΜΣΑΦ στη ΝΑ (Pasinetti, 1998).

1.2.1.7 Διάγνωση και κλινικά χαρακτηριστικά

Τα διαγνωστικά κριτήρια των ανοιών σύμφωνα με το DSM IV (DSM-IV, 1994) είναι τα κάτωθι:

A. Ανάπτυξη πολλαπλών γνωστικών ελλειμμάτων που εκδηλώνονται σε δύο περιοχές:

1. έκπτωση της μνήμης (αναδρομικής και προοπτικής)
2. μία ή περισσότερες από τις παρακάτω γνωστικές διαταραχές:
 - αφασία (διαταραχή του λόγου)
 - απραξία (περιορισμός της ικανότητας κινητικής δραστηριότητας χωρίς να έχει βλαφθεί η κινητική λειτουργία)
 - αγνωσία (αδυναμία αναγνώρισης αντικειμένων με άθικτη αισθητηριακή λειτουργία)

- έκπτωση εκτελεστικής λειτουργίας (αδυναμία σχεδιασμού, οργάνωσης, διαταραχές αφαιρετικής ικανότητας)

B. Τα ανωτέρω ελλείμματα προκαλούν σημαντική έκπτωση της λειτουργικότητας του ατόμου και σημαντική υποβάθμιση από το προηγούμενο επίπεδο λειτουργίας του

Γ. Η έναρξη της διαταραχής είναι βαθμιαία και η πορεία συνεχιζόμενη στο χρόνο

Δ. Η γνωστική έκπτωση δεν οφείλεται σε:

Άλλες διαταραχές του κεντρικού νευρικού συστήματος (π.χ. όγκοι, λοιμώξεις)

Συστηματικές νόσους (π.χ. υποθυρεοειδισμός, HIV λοίμωξη)

Χρήση ουσιών

Ε. Η διαταραχή δεν συμβαίνει αποκλειστικά κατά τη διάρκεια ενός παραληρήματος

ΣΤ. Τα γνωστικά ελλείμματα δεν εξηγούνται καλύτερα από κάποια άλλη διαταραχή (π.χ. σχιζοφρένεια)

Τα ανωτέρω διαγνωστικά κριτήρια είναι ειδικά για τη ΝΑ. Όμως εάν παραλειφθεί το κριτήριο Δ μπορούν να εφαρμοστούν γενικότερα στις άνοιες. Έτσι, εάν πληρούνται τα τρία πρώτα κριτήρια χρειάζεται να καθοριστεί (εάν αυτό είναι εφικτό) η αιτιολογία της γνωστικής έκπτωσης με τη βοήθεια του ιστορικού, της κλινικής εξέτασης και των εργαστηριακών εξετάσεων.

Το οικογενειακό ιστορικό είναι σημαντικό για τη ΝΑ και για τις κληρονομούμενες άνοιες, όπως η νόσος του Huntington. Το ατομικό αναμνηστικό τραυματισμού της κεφαλής θα πρέπει να εγείρει υποψίες για άνοια σχετιζόμενη με τραυματισμό του εγκεφάλου και το ιστορικό μη θεραπευμένων σεξουαλικών νοσημάτων για νευροσύφιλη.

Η κλινική εξέταση μπορεί να αποκαλύψει στοιχεία συστηματικής νόσου που προκαλεί εγκεφαλική δυσλειτουργία. Για παράδειγμα η αναγνώριση μιας βλάβης από σάρκωμα Karosi μπορεί να θέσει την υποψία HIV άνοιας, ενώ η ανεύρεση εστιακών νευρολογικών σημείων καθοδηγεί περισσότερο σε αγγειακή άνοια παρά σε νευροεκφυλιστικά νοσήματα (Caine και Lyness, 2000).

Οι εργαστηριακές εξετάσεις είναι απαραίτητες για την αναγνώριση ορισμένων αιτιών άνοιας. Οι εξετάσεις θυρεοειδικής λειτουργίας, η γενική αίματος, οι ηπατικές δοκιμασίες, η γλυκόζη και η ουρία αίματος, καθώς και ο έλεγχος των επιπέδων της βιταμίνης B12 και του φυλλικού οξέος είναι κάποιες από τις εξετάσεις που θα πρέπει να γίνονται (Knopman και συν., 2001).

Η νευροαπεικόνιση έχει γίνει σημαντικό εργαλείο για διαγνωστικούς και ερευνητικούς σκοπούς στην άνοια. Η αξονική (Computed Tomography, CT) και

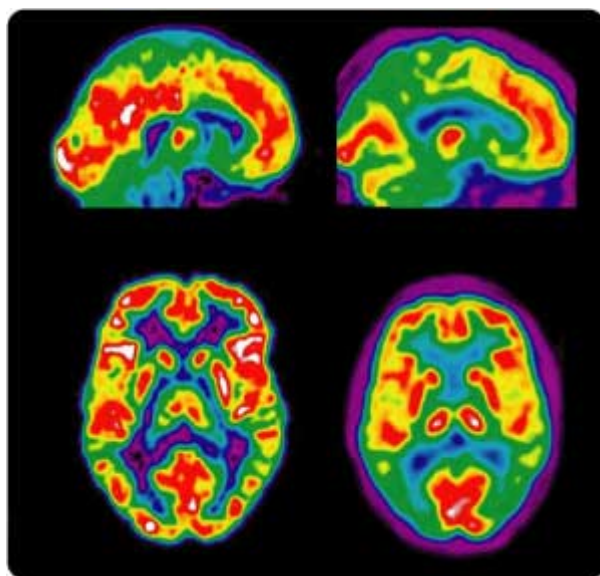
μαγνητική τομογραφία (Magnetic Resonance Imaging, MRI) μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την αναγνώριση σπανίων μορφών άνοιας και για την ενίσχυση της ειδικότητας στη διαφορική διάγνωση της ΝΑ, της αγγειακής άνοιας και της άνοιας σωματίων Lewy (Ritchie και Lovestone, 2002). Οι βλάβες στη λευκή ουσία του εγκεφάλου και η ατροφία αποτελούν ενδείξεις αγγειακής άνοιας και ΝΑ αντίστοιχα.



Η λειτουργική μαγνητική τομογραφία (functional Magnetic Resonance Imaging, fMRI) (Εικ.6) χρησιμοποιεί την αύξηση κατανάλωσης οξυγόνου στον εγκέφαλο για τη δημιουργία απεικονίσεων της εγκεφαλικής δραστηριότητας. Ο συμμετέχοντας εκτελεί ένα έργο μέσα στο μαγνητικό τομογράφο, ο οποίος δημιουργεί ένα μαγνητικό πεδίο, που προκαλεί αλλαγές στα σωματίδια των ατόμων του οξυγόνου. Οι περισσότερο ενεργές εγκεφαλικές

περιοχές προσελκύουν περισσότερο οξυγονωμένο αίμα κι έτσι παρέχονται πληροφορίες για την αιματική ροή και δίνονται έμμεσες ενδείξεις του μεταβολισμού του εγκεφάλου, με αποτέλεσμα να έχει μεγαλύτερη διαγνωστική επιτυχία από την

μεμονωμένη MRI (Harris και συν., 1998).



Η τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων (positron emission tomography, PET) (Εικ.7), στηρίζεται στην καταγραφή της αυξημένης κατανάλωσης γλυκόζης στις εγκεφαλικές περιοχές, που είναι ενεργές κατά τη διάρκεια ορισμένου τύπου επεξεργασίας πληροφοριών. Προκειμένου να εντοπιστεί η γλυκόζη, δίνεται στους

συμμετέχοντας ένα είδος ελαφριάς ραδιενεργού γλυκόζης, η οποία εκπέμπει ποζιτρόνια καθώς μεταβολίζεται. Στη συνέχεια γίνεται σπινθηρογράφηση για την ανίχνευση ποζιτρονίων και μέσω ηλεκτρονικού υπολογιστή γίνεται ανάλυση των

δεδομένων, ενώ παράγει απεικονίσεις κατά τη διάρκεια μιας φυσιολογικής λειτουργίας.

Οι βιοχημικές μεταβολές στον εγκέφαλο που σχετίζονται με την άνοια μπορούν να μελετηθούν με τη φασματοσκοπία μαγνητικού συντονισμού (magnetic resonance spectroscopy, MRS). Η τεχνική αυτή αποτελεί μια μη αιματηρή μέθοδο ανίχνευσης των βιοχημικών μεταβολών σε αντιστοιχία με την κλινική έκπτωση.

1.2.1.8 Πορεία και πρόγνωση

Η πορεία της άνοιας εξαρτάται από την αιτία. Αν και η έναρξη μπορεί να συμβεί σε νεαρή ηλικία (άνοια πρώιμης έναρξης), συνήθως συμβαίνει μετά την ηλικία των 60 ετών και στη συνέχεια η επικράτηση αυξάνει σημαντικά για κάθε δεκαετία που περνά. Παρά το γενικό κανόνα της προοδευτικής έκπτωσης, ορισμένοι μπορεί να φθάσουν σε κάποιο επίπεδο έκπτωσης και να παραμείνουν σε αυτό για χρόνια, ενώ άλλοι (όπως συμβαίνει στην αγγειακή άνοια) μπορεί να ακολουθούν ένα κλιμακωτό πρότυπο, στο οποίο η έκπτωση να ακολουθεί νέα αγγειακά συμβάματα.

Οι ασθενείς με άνοια έχουν σημαντικά μειωμένο προσδόκιμο επιβίωσης. Έχουν γίνει περισσότερες από 100 μελέτες σχετικά με τη θνητότητα της άνοιας και η πλειοψηφία τους έχει δείξει αυξημένο κίνδυνο θανάτου στους ασθενείς με άνοια (Helmer και συν., 2001), αν και η ακριβής επιβίωση δεν είναι ακριβώς γνωστή και οι μελέτες χαρακτηρίζονται από ασυμφωνία. Ακόμη και μεταξύ μελετών στην κοινότητα, η 2ετής επιβίωση κυμαίνεται από 37% σε 86%, πιθανώς λόγω των διαφορών στο σχεδιασμό των μελετών (van Dijk και συν., 1991). Έτσι, η μέση επιβίωση από τη στιγμή της διάγνωσης υπολογίζεται να είναι μεταξύ 4, 5 και 8 ετών (Helmer και συν., 2001). Οι γυναίκες ζουν περισσότερο από τους άνδρες ανεξάρτητα από την επίδραση του φύλου στο προσδόκιμο επιβίωσης (Burns και συν., 1991) και οι ασθενείς με ΝΑ ζουν περισσότερο από ασθενείς με άλλες μορφές άνοιας (Helmer και συν., 2001).

1.2.1.9 Θεραπεία

Η ορθή διάγνωση είναι απαραίτητη για τη θεραπεία. Η αναγνώριση του αιτίου οδηγεί σε αιτιολογική προσέγγιση, η οποία αποτελεί ακρογωνιαίο λίθο της θεραπευτικής προσέγγισης. Αν, για παράδειγμα, τεθεί η διάγνωση της αγγειακής άνοιας, θα πρέπει το άτομο να αλλάξει τον τρόπο ζωής εφαρμόζοντας διαιτητικούς περιορισμούς, κάνοντας σωματική άσκηση και διακόπτοντας το κάπνισμα. Επιπλέον,

είναι απαραίτητη η ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης και ο έλεγχος του διαβήτη. Η ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης θα πρέπει να έχει ως στόχο το ανώτερο φυσιολογικό όριο, επειδή η σημαντική μείωση της αρτηριακής πίεσης μπορεί να οδηγήσει σε περαιτέρω γνωστική έκπτωση (Caine και Lyness, 2000).

Υπάρχουν ενδείξεις ότι τα αντιοξειδωτικά μπορεί να επηρεάσουν την πορεία της ΝΑ, αν και τα αποτελέσματα δεν συμφωνούν μεταξύ τους στο σύνολό τους. Από αυτά η βιταμίνες E και C φαίνεται να έχουν κεντρικότερο ρόλο (Engelhart και συν., 2002, Zandi και συν., 2004).

Μελέτες με αντιφλεγμονώδη φάρμακα έχουν δείξει αρνητικά αποτελέσματα για φάρμακα όπως η πρεδνιζόνη, η δικλοφενάκη και η ναπροξένη (Cummings, 2004). Σε πολλές μελέτες παρατήρησης έχει διερευνηθεί η συσχέτιση μεταξύ της χρήσης μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών φαρμάκων (ΜΣΑΦ) και του κινδύνου για άνοια και γνωστική έκπτωση (Fouquier και συν., 1996, Hanlon και συν., 1997, Cornelius και συν., 1998, Veld και συν., 2001, Wolfson και συν., 2002). Ορισμένες ανέδειξαν αντίστροφη σχέση, ενώ άλλες δεν ανέδειξαν καμία συσχέτιση. Πρόσφατα, έχουν δημοσιευτεί τα αποτελέσματα μελετών δευτερογενούς πρόληψης, τα οποία δεν ανέδειξαν κάποια ωφέλιμη δράση των ΜΣΑΦ στη γνωστική λειτουργία (Aisen και συν., 2003, de Craen και συν., 2004). Δεν είναι διαθέσιμα αποτελέσματα μελετών πρωτογενούς πρόληψης και έτσι δεν είναι γνωστό αν η χρήση των ΜΣΑΦ έχει στην πραγματικότητα προφυλακτική δράση για την άνοια (Helmuth, 2002). Πολλά από τα ωφέλιμα αποτελέσματα των ΜΣΑΦ σε μελέτες παρατήρησης μπορεί να οφείλονται σε συστηματικά λάθη (bias) στην συνταγογράφηση, στην ανάκληση πληροφοριών και στο σχεδιασμό της μελέτης (de Craen και συν., 2004).

Τυχαιοποιημένες μελέτες χορήγησης θεραπείας υποκατάστασης με οιστρογόνα σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες δεν έδειξαν οφέλη στη γνωστική λειτουργία (Henderson και συν., 2000, Mulnard και συν., 2000). Η θεραπεία ορμονικής υποκαταστάσεως δεν συνιστάται για την αντιμετώπιση της ΝΑ (Cummings, 2004).

Οι αναστολείς της ακετυλοχολινεστεράσης έχουν πάρει έγκριση για ήπια και μέσης βαρύτητας ΝΑ (Fuller και Sajatovic, 2002), αφού η ακετυλοχολίνη αποτελεί βασικό νευροδιαβιβαστή για τις γνωστικές λειτουργίες και η αναστολή της ακετυλοχολινεστεράσης (ενζύμου που διασπά την ακετυλοχολίνη) αυξάνει την ακετυλοχολίνη στη συναπτική σχισμή. Τα φάρμακα αυτά θεωρούνται πλέον η βασική θεραπευτική προσέγγιση των ασθενών με ΝΑ (Doody και συν., 2001).

Η υπερδιέγερση των NMDA υποδοχέων (N-Methyl-D-aspartate) οδηγεί σε μεγάλη συσσώρευση ιόντων ασβεστίου, η οποία πυροδοτεί μια αλληλουχία γεγονότων που καταλήγει στον κυτταρικό θάνατο. Η μεμαντίνη αποτελεί ανταγωνιστή των υποδοχέων αυτών και έχει φανεί ότι προλαμβάνει την νευρωνική εκφύλιση σε ζώα με άνοια (Valera και συν, 2002) και ελαττώνει τη νευρωνική καταστροφή μετά από αγγειακά συμβάματα (Mobious, 1999). Διάφορες τυχαιοποιημένες και πολυκεντρικές μελέτες έδειξαν ότι η μεμαντίνη είναι αποτελεσματική σε ήπια, μέσης βαρύτητας αλλά και σοβαρή άνοια, όσον αφορά τη βελτίωση των γνωστικών λειτουργιών ή την επιβράδυνση της γνωστικής έκπτωσης (Orgogoso και συν., 2002, Wilcock και συν., 2002, Reisberg και συν., 2003).

Διάφορες θεραπείες χρησιμοποιούνται για τη συμπτωματική αντιμετώπιση των νευροψυχιατρικών διαταραχών στην άνοια, συμπεριλαμβανομένων των αντιψυχωσικών, των αγχολυτικών και των αντικαταθλιπτικών. Οι θεραπείες αυτές δεν είναι αιτιολογικές, ωστόσο ανακουφίζουν τους ασθενείς και τους φροντιστές τους, ιδιαίτερα κατά τη διάρκεια των τελευταίων σταδίων της άνοιας, όπου τα άτομα είναι αποπροσανατολισμένα, ευερέθιστα και παρουσιάζουν παραληρήματα και αϋπνία.

1.3. Μεσολαβητές φλεγμονής

1.3.1 Φλεγμονή και ανοσιακό σύστημα

Φλεγμονή ορίζεται η τοπική φυσιολογική απάντηση του τραυματισμένου ιστού. Χαρακτηρίζεται από τη διήθηση κυττάρων και τοπικές μεταβολικές και συστηματικές μεταβολές, που συνοδεύονται μερικές φορές από λειτουργική ή δομική ιστική βλάβη. Η διεργασία της φλεγμονής έχει ευεργετικές δράσεις, αφού έχει σκοπό την προστασία του οργανισμού από τον βλαπτικό παράγοντα, ωστόσο μπορεί να προκαλέσει και ασθένεια από την ιστική καταστροφή λόγω των φλεγμονωδών μεσολαβητών, των απολιποπρωτεϊνών (APO) και των συστατικών του συμπληρώματος (Donath και συν., 2003). Η φλεγμονή έχει αναγνωριστεί ως το υπόστρωμα σχεδόν κάθε χρόνιας νόσου. Εκτός από τη φανερή σχέση της φλεγμονής στο άσθμα, στη ρευματοειδή αρθρίτιδα, τη νόσο του Crohn, πρόσφατα στον κατάλογο περιλαμβάνονται επίσης ο διαβήτης, η κατάθλιψη, η σχιζοφρένεια, η νόσος του Alzheimer και οι καρδιαγγειακές παθήσεις.

Η φλεγμονή έχει ως εναρκτήριο και κεντρικό παθοφυσιολογικό γεγονός την απάντηση της οξείας φάσης, δηλαδή την ταχεία, μη ειδική, συστηματική αντίδραση

του οργανισμού, που αποσκοπεί στη διατήρηση της ομοιόστασής του, όταν διαταράσσεται από ποικίλου τύπου ιστικές βλάβες. Η αύξηση της συγκέντρωσης των πρωτεϊνών οξείας φάσης είναι αποτέλεσμα της αυξημένης σύνθεσης και απελευθέρωσής τους από τα ηπατοκύτταρα υπό την άμεση επίδραση της ιντερλευκίνης 1 (IL-1), του παράγοντα νέκρωσης των όγκων (TNF) και κυρίως της ιντερλευκίνης 6 (IL-6), μέσω μηχανισμών που δεν είναι πλήρως γνωστοί (Γερμένης, 2000).

Οι κυτταρικοί πληθυσμοί, που κατ'εξοχήν ευθύνονται για την έναρξη της απάντησης οξείας φάσης είναι τα ιστικά μακροφάγα και τα μονοκύτταρα του αίματος. Τα ενεργοποιημένα μακροφάγα παράγουν ένα ευρύ φάσμα μεσολαβητών, με σημαντικότερους την IL-1 και τον TNF (alarm cytokines). Υπό την επίδραση αυτών των κυτοκινών από τους ινοβλάστες και τα ενδοθηλιακά κύτταρα, εκκρίνονται στο σημείο της ιστικής βλάβης άλλες κυτοκίνες, οι κυτοκίνες του δεύτερου κύματος, που κινητοποιούν με τη σειρά τους άλλα κύτταρα για την περαιτέρω παραγωγή κυτοκινών. Παρακρινικά, οι κυτοκίνες προκαλούν τη χημειοτακτική προσέλκυση κοκκιοκυττάρων, την τροποποίηση της παραγωγής και της έκφρασης των μορίων προσκόλλησης στο ενδοθήλιο και την αλλαγή του αγγειακού τόνου των μετατριχοειδικών φλεβιδίων, με αποτέλεσμα την εξαγγείωση πλάσματος και λευκοκυττάρων στο σημείο της βλάβης. Η ενδοκρινής δράση των κυτοκινών του δεύτερου κύματος, οδηγεί στην αύξηση της θερμοκρασίας του σώματος, στην κινητοποίηση του υποθαλαμο-υποφυσιο-επινεφριδιακού άξονα και την τροποποίηση του ηπατικού μεταβολισμού.

Το ήπαρ αποτελεί το κυριότερο όργανο-στόχο των κυτοκινών του δεύτερου κύματος και των προϊόντων που παράγονται από την κινητοποίηση των διαφόρων κυτταρικών πληθυσμών. Τα προϊόντα αυτά διακρίνονται σε τέσσερις ομάδες: α) τις κυτοκίνες τύπου 6, β) τις κυτοκίνες τύπου 1, γ) τα γλυκοκορτικοειδή, δ) τους αυξητικούς παράγοντες. Οι μεσολαβητές των δύο πρώτων κατηγοριών δρουν ως πρωτογενείς διεγέρτες της έκφρασης των γονιδίων των πρωτεϊνών οξείας φάσης, ενώ των δύο τελευταίων ως τροποποιητές της δράσης των κυτοκινών.

1.3.2 Ανοσιακό σύστημα και εγκέφαλος

Μέχρι και πριν από λίγα χρόνια, ο εγκέφαλος θεωρείτο όργανο με το προνόμιο της ανοσίας, καθώς πίστευαν ότι δεν μπορούσε να προσβληθεί από φλεγμονή λόγω του αιματοεγκεφαλικού φραγμού (ΑΕΦ). Η άποψη αυτή έχει σήμερα

αντικατασταθεί από μία πολύ διαφορετική θεώρηση σχετικά με τη σχέση του με το ανοσοποιητικό σύστημα. Αυτό οφείλεται στην πρόσφατη γνώση ότι ο εγκέφαλος μπορεί να αντιδρά σε σήματα, που προέρχονται από το ανοσοποιητικό σύστημα και τους κατεστραμμένους ιστούς. Πειράματα έδειξαν ότι ο εγκέφαλος εκδηλώνει μία σειρά τοπικών άνοσων και φλεγμονωδών απαντήσεων και είναι ουσιαστικά ο σημαντικός ελεγκτής του ανοσοποιητικού συστήματος και της αντίδρασης στην οξεία φάση. Πολλές απαντήσεις σε σχέση με την ασθένεια, όπως ο πυρετός (θερμοκρασία σώματος), ο ύπνος και η όρεξη, ρυθμίζονται κυρίως από τον υποθάλαμο.

Ο εγκέφαλος δέχεται σήματα από τραυματισμένους ιστούς ή από ιστούς με λοίμωξη, τα οποία μπορεί να είναι νευρικά ή χημικά. Τα νευρικά σήματα φαίνεται να μεταδίδονται μέσω C-ινών (οι οποίες επίσης συμμετέχουν στον πόνο και μέσω του πνευμονογαστρικού νεύρου από το ήπαρ – ένα όργανο κλειδί για την παραγωγή πρωτεϊνών οξείας φάσης). Η φύση των κυριότερων κυκλοφορούντων σημάτων προς τον εγκέφαλο δεν είναι πλήρως κατανοητή, αλλά πιστεύεται ότι περιλαμβάνει τις προσταγλανδίνες και τις πρωτεΐνες του συμπληρώματος, αλλά ίσως το πιο σημαντικό σήμα να αφορά στις κυτοκίνες.

1.3.3. Φλεγμονή και νόσος Alzheimer

Η παρουσία, στις ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις της νόσου, ενεργοποιημένης μικρογλοίας, αντιδραστικών αστροκυττάρων, παραγόντων συμπληρώματος και πρωτεϊνών οξείας φάσης (McGeer και McGeer, 2002), υποδεικνύουν ότι οι φλεγμονώδεις μηχανισμοί συμβάλλουν τόσο στη διατήρηση, όσο και στην πρόοδο της ασθένειας (Griffin και Mraz, 2002). Η φλεγμονώδης απάντηση, που κατευθύνεται από τα ενεργοποιημένα νευρογλοιακά κύτταρα, καταλήγει στην υπερπαραγωγή πρωτεϊνών οξείας φάσης, ενεργοποίηση του συμπληρώματος και επαγωγή φλεγμονωδών ενζυμικών συστημάτων. Οι παράγοντες αυτοί μπορούν να συμβάλλουν στη νευρωνική δυσλειτουργία και το θάνατο των κυττάρων (Abbas και συν., 2002, Brown και BalPrice, 2003).

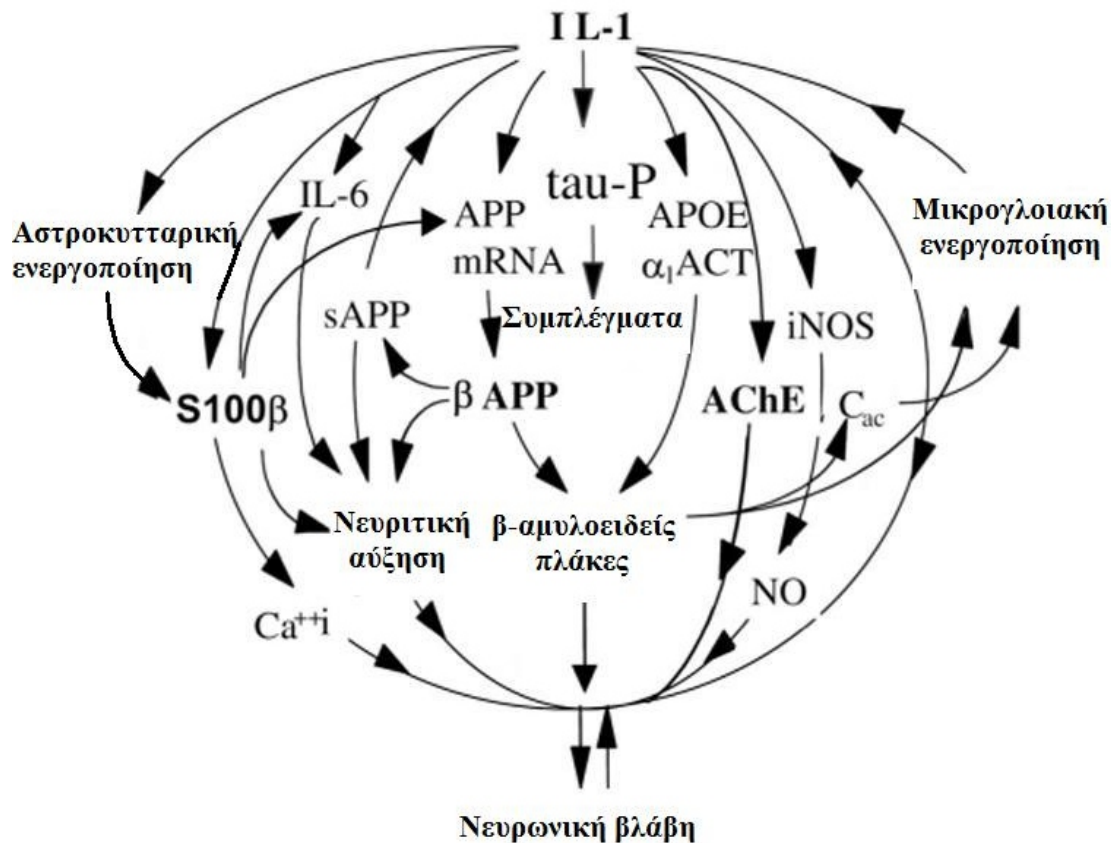
Δεδομένου ότι η φλεγμονή φυσιολογικά αποτελεί έναν αμυντικό και ταυτόχρονα προστατευτικό μηχανισμό του οργανισμού, το τελικό ευεργετικό ή καταστρεπτικό αποτέλεσμα θα εξαρτηθεί από την ισορροπία όλου του φάσματος των ουσιών που μεσολαβούν στη φλεγμονή. Αναμφίβολα η φλεγμονώδης αντίδραση έχει προστατευτικό ρόλο ενάντια στην ανάπτυξη της νευροεκφυλιστικής διαδικασίας,

αφού στοχεύει στην εκκαθάριση των κατεστραμμένων νευρώνων και την απομάκρυνση τοξικών ουσιών. Στη ΝΑ, η αποτυχία της φλεγμονής να προστατεύσει τη δομή και τη λειτουργία του νευρικού ιστού, βάζει ερωτήματα τόσο για τους μηχανισμούς δράσης και τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των φλεγμονωδών μεσολαβητών που απελευθερώνονται, όσο και για τους νευροεκφυλιστικούς μηχανισμούς, που επάγονται από τη φλεγμονή και οδηγούν τελικά στο νευρωνικό θάνατο. Τα συστατικά του συμπληρώματος, χυμοκίνες, κυτοκίνες και ένζυμα έχουν το δικό τους ρόλο στη νευροφλεγμονώδη αντίδραση στη ΝΑ.

1.3.4.Κυτοκίνες

Αυτοί οι φλεγμονώδεις μεσολαβητές εκκρίνονται από τα νευρογλοιακά κύτταρα και μπορούν είτε να ενισχύσουν τη φλεγμονώδη αντίδραση είτε να την καταστείλουν, ρυθμίζοντας έτσι την ένταση και τη διάρκεια της άνοσης απάντησης (Turro και Arias, 2005). Στην κατηγορία των κυτοκινών ανήκουν αρκετές ιντερλευκίνες (ILs) και διάφοροι παράγοντες (TNF- α , TGF- β).

Η ιντερλευκίνη 1 (IL-1) παράγεται από τα αστροκύτταρα και προκαλεί την παραγωγή ιντερλευκίνης 6 (IL-6), υποκινεί τη δραστηριότητα της επαγωγίσιμης συνθετάσης νιτρικού οξειδίου (inducible nitric oxide synthase - iNOS) (Rossi και Bianchini, 1996), ενισχύει τη δραστηριότητα της νευρωνικής ακετυλοχολινεστεράσης και προκαλεί νευρογλοιακή ενεργοποίηση και έκφραση της κυτοκίνης S100 β , δημιουργώντας έτσι έναν κύκλο αυτοδιασποράς (Mrak και Griffin, 2001) (Σχ.1). Η IL-6 υποκινεί την παραγωγή πρωτεϊνών οξείας φάσης (Castell και συν., 1989). Ο TNF- α σε χαμηλές συγκεντρώσεις έχει νευροπροστατευτική δράση στον εγκέφαλο (Akiyama και συν., 2000), όταν όμως η έκκρισή του αυξάνεται από τα ενεργοποιημένα νευρογλοιακά κύτταρα, αποκτά νευροτοξική δράση (Comps και συν., 2001).



Σχήμα 1 : Σχηματική αναπαράσταση του κεντρικού ρόλου της IL-1 στη ΝΑ. ApoE=απολιποπρωτεΐνη E, NO=νιτρικό οξείδιο, iNOS=επαγωγίμη συνθετάση του NO, AChE=ακετυλοχολινεστεράση, tau-P=φωσφορυλιωμένη TAU πρωτεΐνη (Griffin, 2006).

Στον αντίποδα της φλεγμονώδους επαγωγής, ανασταλτικές αντιφλεγμονώδεις κυτοκίνες – όπως ο ανταγωνιστής του υποδοχέα της IL-1 (IL-1 Ra), η ιντελευκίνη 4 (IL-4), η ιντελευκίνη 10 (IL-10) και ο μετασχηματιστικός παράγοντας β (TGF-β) – αναλαμβάνουν την ευθύνη της ομοίωσης της νευροφλεγμονής στη ΝΑ (Grammas & Ovase, 2002, Rota και συν., 2006). Από το σύνολο των κυτοκινών που έχουν μελετηθεί, τόσο οι φλεγμονώδεις όσο και οι ανασταλτικές φαίνεται υπερεκφράζονται στους ασθενείς με ΝΑ, σε σχέση με υγιή άτομα ελέγχου (Akiyama και συν., 2000, Turro και Agias, 2005).

Εκτός από το γενικό ρόλο των κυτοκινών στη φλεγμονή, ενδιαφέρον παρουσιάζει στη ΝΑ η σχέση ορισμένων κυτοκινών με το Αβ πεπτίδιο. Έτσι ο TNF-α με την ιντερφερόνη γ (IFNγ) φαίνεται ότι παρεμβαίνουν στο μεταβολισμό του APP μορίου και αυξάνουν την Αβ παραγωγή (Blasko και συν., 1999). Το ινδικό Αβ, αλλά και τα τελικά προϊόντα γλύκωσης του τροποποιημένου TAU και Αβ, προκαλούν την παραγωγή IL-6 (Akiyama και συν., 2000). Επίσης, το Αβ μπορεί μέσω της

υποκίνησης της διάβασης του πυρηνικού μεταγραφικού παράγοντα κB (NF-κB) να παρέμβει στη μεταγραφή των γονιδίων των κυτοκινών (Combs και συν., 2001). Η αμφίδρομη σχέση αλληλεπίδρασης κυτοκινών και Αβ στη ΝΑ, φαίνεται να δημιουργούν ένα κύκλο διαιώνισης της αντίδρασης του αμυλοειδούς καταρράκτη (Ho και συν., 2005).

1.3.4.1. Ιντερλευκίνη 1β (Interleukin 1β, IL-1β)

Η IL-1 στην πραγματικότητα είναι μια οικογένεια τριών στενά σχετιζόμενων πρωτεϊνών, οι οποίες κωδικοποιούνται από τρία διαφορετικά, αλλά σχετιζόμενα γονίδια στο χρωμόσωμα 2. Οι ιντερλευκίνες 1α (IL-1α) και 1β (IL-1β) επιδεικνύουν μεγάλη ομολογία της πρωτοταγούς ακολουθίας ανάμεσά τους και έχουν παρόμοιες βιολογικές δράσεις (Auron και Webb, 1994, Murzin και συν., 1992). Αυτές οι δύο ισομορφές μεταφράζονται ως πρόδρομες πρωτεΐνες και κατόπιν καταλύονται ενζυμικά, προκειμένου να σχηματίσουν τις ενεργές τους μορφές. Η IL-1α είναι ενεργός τόσο στην πρόδρομη, όσο και στην ώριμή της μορφή. Αντίθετα, η IL-1β, η οποία στην ενεργή της μορφή έχει Μ.Β. περίπου 17 kDa και μέγεθος 153 αμινοξέα, είναι ενεργός μόνο στην ώριμη μορφή, η οποία εκκρίνεται από το κύτταρο προκειμένου να δράσει ως διακυτταρικός αγγελιοφόρος. Η πρόδρομη μορφή της IL-1β καταλύεται από ένα ενδοκυτταρικό ένζυμο, τον μετατροπέα της IL-1β (IL-1β converting enzyme, ICE). Το ένζυμο ICE (το οποίο είναι επίσης γνωστό ως κασπάση-1) είναι το πρώτο μόριο, που περιγράφηκε ως μέλος μιας οικογένειας πρωτεασών κυστεΐνης, οι οποίες ενέχονται στο μονοπάτι του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου (Programmed cell death, PCD). Το τρίτο μέλος της οικογένειας είναι ο ανταγωνιστής του υποδοχέα της IL-1 (IL-1 receptor antagonist, IL-1ra), ο οποίος αντιδρά, αλλά δεν ενεργοποιεί τον υποδοχέα της IL-1, δρώντας έτσι ως φυσιολογικός ανταγωνιστικός αναστολέας της δράσης των IL-1α και IL-1β (Gabay και συν., 1997).

Η προφλεγμονώδης κυτοκίνη IL-1 αποτελεί τον κεντρικό ρυθμιστή της οξείας φλεγμονώδους διεργασίας στο κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ) (Basu και συν., 2004). Έτσι, μετά από λοίμωξη, τραύμα, ΑΕΕ ή άλλου είδους προσβολή του ΚΝΣ παρατηρείται μια πρότυπη αντίδραση με αυξημένη έκκριση της IL-1 (Allan και συν., 2005). Αυτή η αντίδραση, γνωστή με τον όρο νευροφλεγμονή, χαρακτηρίζεται από ενεργοποίηση της νευρογλοίας και απελευθέρωση των φλεγμονωδών μεσολαβητών τοπικά. Πρόσφατες μελέτες επιβεβαιώνουν το γεγονός, ότι η αυξημένη

δραστηριότητα της IL-1 αποτελεί την κεντρική κινητήρια δύναμη στην οξεία νευροφλεγμονή και υπάρχουν ενδείξεις για το βλαπτικό της ρόλο στη διεργασία αυτή (Allan και συν., 2005, Emsley και συν., 2005). Αυτή η καθοδηγούμενη από την IL-1 νευροφλεγμονή φαίνεται να συμβάλλει στην παθοφυσιολογία των νευροεκφυλιστικών νοσημάτων (Griffin και συν., 1989, Van Everbroeck και συν., 2002, McGuinness και συν., 1997, Mrak και Griffin, 1997), πυροδοτώντας την παραγωγή άλλων κυτοκινών και NO (Rossi και Bianchini, 1996). Η συνύπαρξη έντονης νευροφλεγμονής και δραστηριότητας της IL-1 τεκμηριώθηκαν αρχικά στη ΝΑ (Griffin και συν., 1989, McGeer και συν., 1987). Η IL-1 προάγει την απόθεση του Αβ μέσω της αυξημένης παραγωγής και έκφρασης της APP (Rothwell και Hopkins, 1996) και μπορεί να διευκολύνει το σχηματισμό δυστροφικών νευριτών στις εξαπλούμενες μη νευριτικές πλάκες (Griffin και συν., 1995). Ωστόσο, μια μελέτη σε πειραματόζωα υπέδειξε αντίθετα αποτελέσματα, καθώς η αυξημένη έκφραση της IL-1β στον ιπόκαμπο οδήγησε σε βελτίωση της παθολογίας του αμυλοειδούς. Αυτό υποδεικνύει έναν προσαρμοστικό ρόλο της καθοδηγούμενης από την IL-1β νευροφλεγμονής στη ΝΑ και μπορεί να εξηγήσει την αποτυχία αντιφλεγμονωδών θεραπευτικών σκευασμάτων στη νόσο αυτή (Shaftel και συν., 2007).

1.3.4.2. Παράγοντας Νέκρωσης όγκων-α (*Tumor Necrosis Factor α, TNF-α*)

Ο παράγοντας νέκρωσης όγκων-α (*Tumor Necrosis Factor α, TNF-α*) είναι ένας πλειοτροπικός μεσολαβητής ποικίλων φυσιολογικών και νευρολογικών λειτουργιών, συμπεριλαμβανομένων τόσο των ομαλών ρυθμιστικών μηχανισμών, όσο και της ανοσιακής απάντησης σε λοιμώδεις παράγοντες. Κύρια κυτταρική πηγή του TNF-α είναι τα ενεργοποιημένα από τους λιποπολυσακχαρίτες (LPS) των Gram αρνητικών βακτηρίων μακροφάγα, τα T κύτταρα και τα κύτταρα φυσικοί φονείς (Natural Killer, NK). Ο TNF-α παράγεται τόσο ως εκκριτική πρωτεΐνη, όσο και σε μεμβρανική μορφή και η βιολογική δράση του φαίνεται να αποτελεί συνάρτηση της ποσότητας στην οποία παράγεται (Γερμένης, 2000).

Στο νευρικό σύστημα φαίνεται να παίζει προεξέχοντα και ταυτόχρονα παράδοξο ρόλο. Μελέτες σε μη φλεγμονώδη ή «φυσιολογικό» εγκέφαλο έχουν προσδώσει γενικά στον TNF-α μια νευρορρυθμιστική ιδιότητα. Αντιθέτως, σε φλεγμονώδη ή νοσούντα εγκέφαλο, η πλειονότητα των ενδείξεων υποδεικνύει μια νευροτοξική επίδραση του TNF-α, η οποία μπορεί να είναι ιδιαίτερα έντονη σε νευρολογικά νοσήματα ιογενούς αιτιοπαθογένειας. Ωστόσο, άλλοι ερευνητές

διαπίστωσαν ότι ο TNF-α μπορεί να δρα προστατευτικά σε κάποιες καταστάσεις νευρολογικής προσβολής. Παραμένει αδιευκρίνιστος ο τρόπος, με τον οποίο ο TNF-α καταφέρνει να προκαλέσει αυτά τα αντίθετα αποτελέσματα, μέσω ενεργοποίησης υποδοχέων από ένα περιορισμένο αριθμό κυτταρικών σηματοδοτικών μονοπατιών (Perry και συν., 2002).

Η σύνδεση του TNF στον υποδοχέα 1 του TNF (TNFR1) μπορεί να οδηγήσει σε κυτταρικές αντιδράσεις, όπως φλεγμονή, αναπαραγωγή, απόπτωση, κυτταρική νέκρωση ή κυτταρική διαφοροποίηση (Liu και συν., 1996). Στον εγκέφαλο και ιδιαίτερα στην περιοχή του υποκάμπτου, η σηματοδότηση μέσω του υποδοχέα 2 του TNF (TNFR2) δρα προστατευτικά ενάντια στην τοξική δράση του άλατος του γλουταμινικού οξέος (Marchetti και συν., 2004), μειώνει τους σπασμούς ως απάντηση στη χορήγηση καϊνικού οξέος (Balosso και συν., 2005) και πιθανότατα προάγει την επιβίωση των νευροβλαστών στον υπόκαμφο μετά από ισχαιμική βλάβη (Heldmann και συν., 2005).

Ο TNF-α έχει βρεθεί σε αυξημένα επίπεδα στον ορό και στο ENY ασθενών με NA (Chao και συν., 1994, Tarkowski και συν., 1999) και φαίνεται να εμπλέκεται στην εξέλιξη της νόσου (Perry και συν., 2001). Αυτό φαίνεται να το κατορθώνει μέσω της επίδρασης που έχει στην παραγωγή των ενζύμων αποδόμησης του αμυλοειδούς Αβ, όπως είναι η νεπριλυσίνη (neprilysin, NEP), τα μετατρεπτικά ένζυμα της ενδοθηλίνης (endothelin-converting enzymes, ECEs), το αποικοδομητικό ένζυμο της ινσουλίνης (insulindegrading enzyme, IDE) και το μετατρεπτικό ένζυμο της αγγειοτενσίνης (angiotensin-converting enzyme, ACE). Ο TNF-α έχει φανεί ότι αυξάνει την έκφραση της νεπριλυσίνης στα κοκκιοκύτταρα (Stefano και συν., 1992) και του μετατρεπτικού ενζύμου της ενδοθηλίνης 1 (ECE-1) στα ενδοθηλιακά κύτταρα (Zhao και συν., 2005), ενώ μειώνει τη ρύθμιση της έκφρασης του αποικοδομητικού ενζύμου της ινσουλίνης στα μικρογλοιακά κύτταρα μύος (Yamamoto και συν., 2008) και του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης στα ανθρώπινα ενδοθηλιακά (Saijonmaa και συν., 2001) και μακροφάγα κύτταρα (Viinikainen και συν., 2002). Ωστόσο, ελάχιστα είναι γνωστά για την επίδραση του TNF-α στα ένζυμα αποδόμησης του αμυλοειδούς Αβ στους νευρώνες (Culpan και συν., 2011).

1.3.4.3. Ιντερλευκίνη 6 (Interleukin 6, IL-6)

Η ιντερλευκίνη-6 (IL-6) είναι μια πλειοτρόπος κυτοκίνη με ένα ευρύ φάσμα βιολογικών δράσεων. Παράγεται τόσο από λεμφικά, όσο και από μη λεμφικά κύτταρα

και βοηθά στη ρύθμιση της ανοσιακής απάντησης, της φλεγμονής και της αιμοποίησης (Song & Kellum, 2005). Συγκεκριμένα, συμμετέχει στην παραγωγή της ανοσοσφαιρίνης-G, στην ενεργοποίηση των T λεμφοκυττάρων και στην επαγωγή των πρωτεϊνών οξείας φάσεως (Benveniste και συν., 1990, LeMay και συν., 1990), ενώ επιπλέον διεγείρει την παραγωγή της αδρενοκορτικοτρόπου ορμόνης από την υπόφυση και προάγει τη σύνθεση του αυξητικού παράγοντα των νευρώνων. Η IL-6 ρυθμίζει ακόμη την ανάπτυξη των αιμοποιητικών και των αρχέγονων εμβρυικών κυττάρων (Song και Kellum, 2005).

Η έκφραση της IL-6 αυξάνεται με την πάροδο της ηλικίας (Fagiolo και συν., 1993), ανεξαρτήτως νόσων, που συνοδεύουν πιθανώς το γήρας (Giuliani και συν., 2001). Η παραγωγή της ξεκινά στην ηλικία των 30-40 ετών (Mysliwska και συν., 1998) και είναι παρούσα ακόμη και στους αιωνόβιους (Ershler και Keller, 2000). Επιπρόσθετα, σε μελέτες πληθυσμών, η IL-6 έχει αναγνωριστεί ως αξιόπιστος δείκτης έκπτωσης της λειτουργικότητας και προγνωστικός παράγοντας νοσηρότητας και θνησιμότητας στους ηλικιωμένους (Ferrucci και συν., 1999, Harris και συν., 1999). Ακόμη, συμμετέχει στην παθογένεια ποικίλων νόσων με φλεγμονώδες υπόβαθρο, όπως ο διαβήτης τύπου 2 και η αθηροσκλήρωση (Fulop και συν., 2006). Η IL-6 είναι μεσολαβητής μερικών αντιθέτων λειτουργιών στο κεντρικό νευρικό σύστημα (Papassotiropoulos και συν., 2001), δηλαδή της ανάπτυξης των νευρώνων αφ' ενός και της φλεγμονής και νευρωνικής εκφύλισης αφ' ετέρου. Έχει βρεθεί, ότι η IL-6 επάγει τη σύνθεση της πρόδρομης πρωτεΐνης του Αβ (Vandenabeele και Fiers, 1991) και ότι παρουσιάζει αυξημένη δραστηριότητα κοντά σε πλάκες αμυλοειδούς (Strauss και συν., 1992). Διάφορες μελέτες έχουν δείξει, ότι τα επίπεδά της είναι αυξημένα στον εγκέφαλο, το αίμα και το ENY ασθενών με ΝΑ (Gruol και Nelson, 1997, Kalman και συν., 1997, Terreni και De Simoni, 1998).

Τα επίπεδα IL-6 πλάσματος έχουν συσχετιστεί με τη γνωστική έκπτωση (αρνητική συσχέτιση με την επίδοση στο MMSE) σε μελέτη πληθυσμών πολλών εθνικοτήτων. Η συσχέτιση διατηρήθηκε ακόμα και μετά την προσαρμογή για παρουσία αθηροσκλήρωσης, γεγονός που μαρτυρά άμεση δράση στον εγκέφαλο (Wright και συν., 2006). Αυξημένα επίπεδα προφλεγμονωδών κυτοκινών συμπεριλαμβανομένης και της IL-6 έχουν βρεθεί στο πλάσμα ατόμων με σύνδρομο Down, το οποίο είναι μια παρόμοια φλεγμονώδης και νευροεκφυλιστική νόσος με τη ΝΑ (Carta και συν., 2002). Ωστόσο, άλλοι ερευνητές θεωρούν ότι η επίδραση των κυτοκινών και της IL-6 ειδικότερα είναι διαφορετική στις διάφορες περιοχές του

εγκεφάλου και η φλεγμονώδης απάντηση των κυτοκινών συμβαίνει μόνο στα τελικά στάδια της ΝΑ (Luterman και συν., 2000). Επιπλέον, υπάρχουν πρόσφατες μελέτες, στις οποίες δεν βρέθηκε αύξηση της IL-6 πλάσματος σε ηλικιωμένους ασθενείς με άνοια (Dik και συν., 2005, Zuliani και συν., 2006). Τέλος, σύγχρονες εργαστηριακές έρευνες έδειξαν ότι σε ασθενείς με ΝΑ, όχι μόνο δεν υπάρχει αυξημένη παραγωγή IL-6, αλλά τουναντίον η παραγωγή αυτή είναι σημαντικά μειωμένη (Richartz και συν., 2006).

1.3.4.4. Ιντερφερόνη γ (Interferon-γ, IFN-γ)

Η ιντερφερόνη-γ (IFN-γ) είναι μία πλειοτροπική κυτοκίνη, που απελευθερώνεται κυρίως από τα T-λεμφοκύτταρα και τα κυτταροκτόνα κύτταρα (Natural Killers, NK). Η IFN-γ φαίνεται να παίζει κεντρικό ρόλο στην παθογένεια της σκλήρυνσης κατά πλάκας (ΣΚΠ) (Hemmer και συν., 2002), η οποία είναι μία φλεγμονώδης απομυελινωτική και νευροεκφυλιστική νόσος του κεντρικού νευρικού συστήματος (ΚΝΣ). Περιβάλλοντας τα κύτταρα της μικρογλοίας στις βλάβες της σκλήρυνσης κατά πλάκας (ΣΚΠ), αυξάνει την παραγωγή του TNF-α, του NO και του υπεροξειδίου (Lee και συν., 1993, Chao και συν., 1995, Lafortune και συν., 1996, Possel και συν., 2000) και οδηγεί την αντίδραση της μικρογλοίας σε αξονική εκφύλιση (Jensen και συν., 2000). Συνεπώς, η νευροτοξική επίδραση της IFN-γ φαίνεται να διαμεσολαβείται κυρίως από την ενεργοποίηση της μικρογλοίας. Αντιθέτως, οι άμεσες επιπτώσεις της IFN-γ στους νευρώνες είναι αμφιλεγόμενες και όχι απολύτως κατανοητές. Η IFN-γ φέρεται να προάγει την αύξηση των νευριτικών αποφύσεων και την επιβίωση των νευρικών κυττάρων σε καλλιέργειες εμβρυϊκών κυττάρων από το φλοιό και τον υπόκαμπο (Barish και συν., 1991, Song και συν., 2005). Άλλη μελέτη όμως έδειξε ότι η IFN-γ προκαλεί την παλίνδρομη συστολή των δενδριτών και αναστέλλει το σχηματισμό συνάψεων (Kim και συν., 2002).

Κλινικές μελέτες έχουν συνδέσει την απορρυθμισμένη έκφραση της IFN-γ με νευροεκφυλιστικές διαδικασίες, σχετιζόμενες με ΝΑ. Έτσι έχει φανεί ότι η IFN-γ σχετίζεται με την επαγωγή και των δύο πεπτιδίων του αμυλοειδούς-β 1-40 (Αβ1-40) και 1-42 (Αβ1-42) για το σχηματισμό ινιδίων και πλακών (Blasko και συν., 2000) και ότι ενισχύει την παραγωγή TNF-α από τη μικρογλοία, όταν αυτή διεγείρεται από τα πεπτίδια του αμυλοειδούς *in vitro* (Meda και συν., 1995). Άλλες μελέτες έδειξαν ότι η συνύπαρξη IFN-γ και TNF-α στον εγκέφαλο έχει αρνητική συνεργική επίδραση και επιδείνωση στην παθολογοανατομία της ΝΑ, οδηγώντας σε αυξημένη παραγωγή των

πεπτιδίων Αβ και μειωμένη απομάκρυνση αυτών σε πειράματα τρωκτικών με ΝΑ (Yamamoto και συν., 2007).

Παράλληλα, αρκετές πρόσφατες μελέτες υποδεικνύουν ένα νευροπροστατευτικό ρόλο της IFN-γ, προάγοντας την ρυθμιστική ικανότητα της γλοίας να απελευθερώνει την περίσσεια ποσότητα του γλουταμινικού οξέος (Shaked και συν., 2005) και τη διαθεσιμότητα της τρυπτοφάνης στα Τ κύτταρα (Kwidzinski και συν., 2005). Επιπροσθέτως, υπάρχουν ενδείξεις ότι τα επίπεδα της IFN-γ ρυθμίζονται θετικά στον ιππόκαμπο, ως απάντηση σε διαλείπουσα νηστεία, προσφέροντας με τον τρόπο αυτό προστασία στους νευρώνες του ιππόκαμπου από διεγερσιμοτοξικότητα (Lee και συν., 2006). Πιθανώς, λοιπόν, οι βλαβερές επιδράσεις της IFN-γ στον εγκέφαλο να οφείλονται, είτε στις υψηλές συγκεντρώσεις της, είτε στη συνύπαρξή της με φλεγμονώδεις μεσολαβητές, όπως είναι οι LPS ή ο TNF-α, κατά τη διάρκεια σοβαρών λοιμώξεων.

1.3.4.5. Ανίχνευση κυτοκινών στο πλάσμα

Η ανίχνευση των κυτοκινών στο πλάσμα ή στο ΕΝΥ γίνεται δύσκολα σε κανονικές συνθήκες, λόγω του σύντομου χρόνου ημίσειας ζωής τους, για το λόγο αυτό στις περισσότερες μελέτες γίνεται αξιολόγηση των κυτοκινών που απελευθερώνονται μετά από ερέθισμα. Τα αποτελέσματα είναι αμφιλεγόμενα, αλλά όλες οι μελέτες έδειξαν ενεργοποίηση της περιφερικής ανοσολογικής κατάστασης, η οποία προφανώς συνδέεται με την παρουσία φλεγμονής στον εγκέφαλο των ασθενών με ΝΑ (Sala και συν., 2003). Τα προβλήματα, που προκύπτουν στις μελέτες σχετικά με τον προσδιορισμό των φλεγμονωδών παραγόντων, περιλαμβάνουν διαφορές στα πρωτόκολλα συλλογής του πλάσματος, στη μεθοδολογία και την ευαισθησία της δοκιμασίας, μικρό αριθμό δειγμάτων, ετερογένεια στους πληθυσμούς των ασθενών, επιπτώσεις από τη σοβαρότητα της νόσου (Kalman και συν., 1997), την ηλικία (Ershler και συν., 1993) και τη συννοσηρότητα με άλλα φλεγμονώδη νοσήματα.

Για το λόγο αυτό, ενώ μεγάλος αριθμός μελετών αναφέρει την ανεύρεση αυξημένων επιπέδων IL-6 στο περιφερικό αίμα ασθενών με ΝΑ (Licastro και συν., 2000, Singh και Guthikonda, 1997, Bonaccorso και συν., 1998), άλλοι ερευνητές απέτυχαν να επιβεβαιώσουν το παραπάνω εύρημα (Van Duijn και συν., 1990, Angelis και συν., 1998). Το ίδιο έχει συμβεί και με άλλους φλεγμονώδεις παράγοντες, που φαίνεται να εμπλέκονται στην παθογένεια της ΝΑ, όπως ο TNF-α, η IL-1β ή η IFN-γ (Alvarez και συν., 1996, Bruunsgaard και συν., 1999, Fillit και συν., 1991, Guerreiro

και συν., 2007, De Luigi και συν.,2001, Richartz και συν., 2005, Alvarez και συν., 2007, Zuliani και συν., 2007). Επίσης έχει γίνει προσπάθεια συσχέτισης των επιπέδων αυτών των παραγόντων στο πλάσμα με τον τύπο ή τη σοβαρότητα της νόσου (Huberman και συν., 1995, Kalman και συν., 1997, Paganelli και συν., 2002, Holmes και συν., 2003, Sala και συν., 2003, Angelopoulos και συν., 2008), με τη λήψη αναστολέων της ακετυλοχολινεστεράσης ως θεραπευτική αγωγή (Gambi και συν., 2004, Reale και συν., 2004) και πρόσφατα και με τα νευροψυχιατρικά συμπτώματα (Holmes και συν., 2011). Τα αποτελέσματα των μελετών αυτών δείχνουν να υπάρχει συσχέτιση με τους φλεγμονώδεις παράγοντες, αλλά χρειάζεται περαιτέρω έρευνα με καλά σχεδιασμένες μελέτες στον τομέα αυτό.

1.3.5 Κυτταρικά μόρια προσκόλλησης (Cell Adhesion molecules: VCAM-1, ICAM-1)

Η υπεροικογένεια των ανοσοσφαιρινών (Ig) περιλαμβάνει πρωτεΐνες της κυτταρικής επιφάνειας, που εμπλέκονται στην αναγνώριση αντιγόνων, στη σύνδεση του συμπληρώματος και στην κυτταρική προσκόλληση. Πέντε μέλη της κατηγορίας αυτής συμμετέχουν στην προσκόλληση των λευκοκυττάρων: τα ενδοκυττάρια μόρια προσκόλλησης 1 και 2 (intracellular adhesion molecule-1 και 2, ICAM-1, ICAM-2), το μόριο προσκόλλησης-1 των αγγειακών κυττάρων (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1), το μόριο προσκόλλησης-1 των αιμοπεταλίων στα κύτταρα του ενδοθηλίου (platelet endothelial cell adhesion molecule-1, PECAM-1) και η αντρεσίνη του βλεννογόνου (mucosal addressin, Mad CAM-1) (Carlos και Harlan, 1994).

Το ICAM-1 (CD54) έχει ευρεία κατανομή στους ιστούς και εκφράζεται σε αιμοποιητικά και μη αιμοποιητικά κύτταρα (Smith και Thomas, 1990). Η έκφραση του ICAM-1 στο ενδοθήλιο και σε άλλα μη αιμοποιητικά κύτταρα υφίσταται ισχυρή θετική παλίνδρομη ρύθμιση (up-regulation) από μεσολαβητές της φλεγμονής (Springer, 1990). Μια διαλυτή μορφή του ICAM-1 ανιχνεύεται στο αίμα (Gearing και Newman, 1993). Το ενδοθηλιακό ICAM-1 συμβάλλει στην έξοδο των λευκών αιμοσφαιρίων από τα αιμοφόρα αγγεία, ιδιαίτερα σε περιοχές φλεγμονής. Στα κύτταρα που παρουσιάζουν αντιγόνα, το CD54 συνεισφέρει στην ενεργοποίηση των T λεμφοκυττάρων, πιθανώς αυξάνοντας τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των T κυττάρων και των «αντιγονοπαρουσιαστικών».

Το VCAM-1 (CD 106) εκφράζεται κυρίως στο ενδοθήλιο των αγγείων, αλλά έχει επίσης εντοπιστεί στα μακροφάγα, στα κύτταρα του στρώματος του μυελού των

οστών και σε μη αγγειακά κύτταρα του νεφρού, της καρδιάς και του εγκεφάλου (Bevilacqua, 1993, Vonderheide και συν., 1994). Η έκφραση του CD106 στα ενδοθηλιακά και σε άλλα κύτταρα προάγεται από φλεγμονώδη ερεθίσματα και από κυτοκίνες (Bevilacqua, 1993, Carlos και Harlan, 1994). Διαλυτές μορφές του VCAM-1 απελευθερώνονται από ενεργοποιημένα ενδοθηλιακά κύτταρα και ανιχνεύονται στο αίμα (Gearing και Newman, 1993). Το ενδοθηλιακό CD106 συμβάλλει στην εξαγγείωση των λευκών αιμοσφαιρίων (εκτός από τα ουδετερόφιλα), ιδιαίτερα σε περιοχές φλεγμονής (Bevilacqua, 1993, Carlos και Harlan, 1994, Vonderheide και συν., 1994). Το VCAM-1 που εκφράζεται σε μη αγγειακά κύτταρα θεωρείται ότι συμμετέχει στη διέγερση των T λεμφοκυττάρων και στην ανάπτυξη του εμβρύου (Carlos και Harlan, 1994, Vonderheide και συν., 1994).

Οι διαλυτές μορφές των μορίων προσκόλλησης (sVCAM-1, sICAM-1) αυξάνονται στο πλάσμα σε καταστάσεις φλεγμονής, όπως στην πνευμονική ίνωση, την αγγειίτιδα, το μελάνωμα, τη μεταμόσχευση καρδιάς (Ballantyne και συν., 1994, Hackman και συν., 1996). Αυξημένα επίπεδα ICAM-1 και VCAM-1 στην κυκλοφορία του αίματος, έχουν βρεθεί σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη (Ceriello και συν., 2004). Οι αυξημένες συγκεντρώσεις των διαλυτών μορφών των μορίων προσκόλλησης σε ασθενείς με υπερλιπιδαιμία μπορεί να αποτελούν δείκτη αθηροσκλήρωσης (Hackman και συν., 1996), αν και ορισμένοι ερευνητές ισχυρίζονται, ότι μόνο το VCAM-1 παίζει σημαντικό ρόλο στην έναρξη της αθηροσκλήρωσης (Cybulsky και συν., 2001).

Μελέτες σε πλάκες αμυλοειδούς στον εγκέφαλο ασθενών με ΝΑ έδειξαν την ύπαρξη ICAM-1 εντός των πλακών και στο ενδοθήλιο των αγγείων (Akiyama και συν., 1993, Eikelenboom και συν., 1994), ενώ στο φυσιολογικό εγκέφαλο η δραστηριότητα του ICAM-1 περιορίζεται κυρίως στο ενδοθήλιο των αγγείων (Frohman και συν., 1991, Eikelenboom και συν., 1994). Ωστόσο, το VCAM-1 δεν ανιχνεύτηκε στο αγγειακό ενδοθήλιο εγκεφαλικού ιστού πλακών αμυλοειδούς (Eikelenboom και συν., 1994). Οι βλάβες στη λευκή ουσία προκαλούνται από νόσο των μικρών αγγείων (Breteler και συν., 1994, De Leeuw και συν., 2000) και υπάρχουν αυξανόμενες ενδείξεις ότι παίζουν σημαντικό ρόλο στην παθοφυσιολογία της γνωστικής έκπτωσης και της άνοιας (Skoog και συν., 1996). Οι De Leeuw και συν., (2002) βρήκαν θετική συσχέτιση μεταξύ αυτών των βλαβών και της ενεργοποίησης των κυττάρων του ενδοθηλίου με τη μορφή της αυξημένης συγκέντρωσης του sVCAM-1, αλλά όχι του sICAM-1. Δεν βρέθηκαν επίσης σταθερά

αποτελέσματα σε μελέτες διερεύνησης της συσχέτισης των πολυμορφισμών του γονιδίου του ICAM-1 και της NA (Pola και συν., 2003, Rodero και συν., 2004). Ορισμένες μελέτες έδειξαν ότι το sICAM-1 αυξάνεται σε ασθενείς με NA (Rentzos και συν., 2004), αν και αυτή η παρατήρηση δεν επιβεβαιώθηκε στη μελέτη του Rotterdam (Engelhart και συν., 2004).

Ο λόγος της επιλογής των παραμέτρων αυτών είναι η πιθανή συσχέτιση μεταξύ άνοιας και φλεγμονής. Επιπρόσθετα, υπάρχουν αυξανόμενες ενδείξεις για το ρόλο των αγγειακών παραγόντων στην άνοια πέρα από τα στενά όρια της αγγειακής άνοιας. Τα VCAM-1 και ICAM-1 πλάσματος είναι ενδιαφέροντα, όχι μόνο ως δείκτες ενδοθηλιακής ενεργοποίησης, αλλά και ως πιθανοί βιοχημικοί δείκτες, που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για την έγκαιρη αναγνώριση των ηλικιωμένων με αυξημένο κίνδυνο για άνοια.

1.3.6 C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (C-Reactive Protein, CRP)

Η CRP είναι μια πρωτεΐνη του πλάσματος, μέλος μιας ομάδας παραγόντων οξείας φάσεως. Τα επίπεδά της αυξάνονται ταχέως ως αντίδραση στο στρες, στον τραυματισμό των ιστών και σε μια ποικιλία φλεγμονωδών ερεθισμάτων (Aziz και συν., 2003). Η CRP είναι μια α-σφαιρίνη που συντίθεται από πέντε πανομοιότυπες υπομονάδες, που συναρμολογούνται με τη μορφή ενός κυκλικού πενταμερούς (Pepys και Baltz, 1983). Συντίθεται στο ήπαρ, είναι φυσιολογικά παρούσα σε πολύ μικρές ποσότητες στο πλάσμα και ρυθμίζεται από προφλεγμονώδεις κυτοκίνες, όπως ο παράγοντας νέκρωσης των όγκων-α (tumor necrosis factor alpha, TNF-α) και η IL-6 (Castell και συν., 1990, Kushner και Rzewnicki, 1994). Κατά τη διάρκεια της αντίδρασης οξείας φάσης παρατηρείται ταχεία αύξηση της παραγωγής της (≥ 100 -πλάσια), που οδηγεί σε αύξηση των επιπέδων της στην κυκλοφορία (Yue και συν., 1996).

Αν και η λειτουργία της είναι ασαφής, οι φυσιολογικοί της ρόλοι είναι πολλοί και ποικίλοι (Aziz και συν., 2003). Η CRP αποτελεί πρωτεΐνη «καθαριστή», αναγνωρίζοντας και δεσμεύοντας τοξικά μόρια που απελευθερώνονται από κατεστραμμένους ιστούς (Volanakis, 2001). Δεσμεύει επίσης μια ποικιλία μικροοργανισμών και ενεργοποιεί την κλασική οδό του συμπληρώματος (Wolbink και συν., 1998), ενώ συνολικά, έχει διάφορες λειτουργίες παρόμοιες με αυτές των ανοσοσφαιρινών στην άμυνα του ξενιστή (Schultz και Arnold, 1990).

Τα επίπεδα πλάσματος της CRP αυξάνονται κατά τη διάρκεια γενικευμένων, μη ειδικών αντιδράσεων σε ένα ευρύ φάσμα νοσημάτων, όπως οι λοιμώξεις από gram-θετικούς και gram-αρνητικούς μικροοργανισμούς, η ρευματοειδής αρθρίτιδα, η χολοκυστίτιδα, η πολλαπλή σκλήρυνση, τα εγκαύματα και το χειρουργικό τραύμα. Η CRP μπορεί να αυξηθεί και σε μη φλεγμονώδεις καταστάσεις, όπως η παχυσαρκία (Yudkin και συν., 1999), η έλλειψη άσκησης (Aziz και συν., 2003) και το κάπνισμα (Rohde και συν., 1999). Η IL-6, η οποία διεγείρει την παραγωγή CRP από το ήπαρ, αναφέρεται ότι αυξάνεται με την ηλικία (Hager και συν., 1994), ερμηνεύοντας έτσι την πιθανή αύξηση της CRP με την πάροδο των ετών (Kushner, 2001). Επιπλέον, διάφορες μελέτες έχουν δείξει ότι η CRP αποτελεί παράγοντα κινδύνου για καρδιαγγειακή νόσο και έχει προγνωστική αξία για τους ασθενείς με οξεία στεφανιαία σύνδρομο (Kuller και συν., 1996, Ridker και συν., 1998, Aziz και συν., 2003), αν και αυτό έχει αμφισβητηθεί από εκείνους που ισχυρίζονται ότι η CRP αποτελεί μέσης αξίας προγνωστικό παράγοντα για τη στεφανιαία νόσο. Συνεπώς, οι συστάσεις σχετικά με την προγνωστική αξία της στη στεφανιαία νόσο, χρειάζονται αναθεώρηση (Danesh και συν., 2004). Επιπρόσθετα, κάθε προγνωστική ισχύς της CRP για καρδιαγγειακά νοσήματα φαίνεται να εξαφανίζεται μετά την ηλικία των 75 με 80 ετών (Strandberg και Tilvis, 2000).

Από μεγάλες μελέτες έχει φανεί ότι τα αυξημένα επίπεδα CRP πλάσματος αυξάνουν τον κίνδυνο εμφάνισης άνοιας (Engelhart και συν., 2004), ενώ φαίνεται να συμβάλλουν και στην έκπτωση των γνωστικών λειτουργιών (Yaffe και συν., 2004). Εργαστηριακές μελέτες έχουν δείξει ότι η CRP εμφανίζεται στον εγκέφαλο ασθενών με ΝΑ (Iwamoto και συν., 1994). Ωστόσο, αν και η φλεγμονή φαίνεται να παίζει κάποιο ρόλο στην παθοφυσιολογία της άνοιας, τα επίπεδα της CRP πλάσματος δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ ασθενών με άνοια και μαρτύρων σε διάφορες μελέτες (Giometto και συν., 1988, Licastro και συν., 2000).

Συνοπτικά, αν και τα αυξημένα επίπεδα CRP πλάσματος δεν είναι ειδικά για κάποια νόσο, η αύξηση αυτή αποτελεί χρήσιμη ένδειξη φλεγμονωδών διεργασιών (Morley και Kushner, 1982). Η πιθανότητα της εμπλοκής της φλεγμονής στην άνοια είναι ισχυρή, γεγονός που αποδίδει κάποιο βαθμό χρησιμότητας στη CRP, όσον αφορά το διαγνωστικό προσανατολισμό.

1.4. Λιπίδια

1.4.1. Γενικά στοιχεία

Τα λιπίδια αποτελούν μια ομάδα φυσικών λιπαρών ουσιών του αίματος και των ιστών του σώματος. Περιλαμβάνουν τη χοληστερόλη, τους εστέρες της χοληστερόλης, τα τριγλυκερίδια και τα φωσφολιπίδια και αποτελούν βασικά διαιτητικά συστατικά, επειδή συμμετέχουν σε σημαντικές λειτουργίες. Γενικά, παρέχουν ενέργεια, χρησιμεύουν ως κύρια δομικά συστατικά των κυτταρικών μεμβρανών, εμπλέκονται στην απορρόφηση των λιποδιαλυτών βιταμινών και αποτελούν πρόδρομα μόρια για τη βιοσύνθεση άλλων ουσιών (π.χ. η χοληστερόλη αποτελεί πρόδρομη ουσία των στεροειδών ορμονών των γονάδων και των επινεφριδίων) (Marks και συν., 2000). Τα τριγλυκερίδια και οι εστέρες της χοληστερόλης, τα οποία είναι αδιάλυτα σε υδάτινο περιβάλλον, μεταφέρονται στον πυρήνα σφαιρικών μακρομοριακών συμπλεγμάτων, που ονομάζονται λιποπρωτεΐνες. Στα λιποπρωτεϊνικά σωματίδια, ο υδρόφοβος λιπιδιακός πυρήνας περιβάλλεται από μια μονή στιβάδα φωσφολιπιδίων, ελεύθερης χοληστερόλης και ειδικών απολιποπρωτεϊνών. Οι απολιποπρωτεΐνες παρέχουν δομική σταθερότητα στις λιποπρωτεΐνες και καθορίζουν τη μεταβολική «τύχη» των λιποπρωτεϊνών, λειτουργώντας ως θέσεις σύνδεσης με υποδοχείς και ενεργοποιώντας ένζυμα που εμπλέκονται στο μεταβολισμό των λιπιδίων. Οι λιποπρωτεΐνες διαφέρουν στο είδος των απολιποπρωτεϊνών και στο ποσό των τριγλυκεριδίων, της χοληστερόλης και των φωσφολιπιδίων. Συνεπώς, οι λιποπρωτεΐνες μπορούν να ταυτοποιηθούν με βάση το μέγεθος του σωματιδίου, τη χημική σύνθεση, τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά, την επιπλευσιμότητα και την κινητικότητά τους στην ηλεκτροφόρηση. Οι κύριες λιποπρωτεΐνες συνήθως ταξινομούνται σύμφωνα με την πυκνότητά τους ως εξής: χυλομικρά, πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη (very low-density lipoprotein, VLDL), ενδιάμεσης πυκνότητας λιποπρωτεΐνη (intermediate-density lipoprotein, IDL), χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη (low-density lipoprotein, LDL) και υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη (high-density lipoprotein, HDL) (Martin και συν., 1984).

Η HDL απομονώθηκε για πρώτη φορά από ορό ίππου το 1929, ενώ στη συνέχεια μετά από υπερφυγοκέντρηση πλάσματος ανακαλύφθηκαν και οι λιποπρωτεΐνες VLDL και LDL (Olson, 1998). Η HDL συντίθεται *de novo* στο ήπαρ και το λεπτό έντερο, έχει δισκοειδή μορφή και είναι πλούσια σε πρωτεΐνες. Η νεοσχηματισμένη HDL είναι σχεδόν ελεύθερη χοληστερόλης και χολεστερυλεστέρων. Οι κύριες απολιποπρωτεΐνες της HDL είναι οι apoA-I, apoC-I, apoC-II και

η apoE. Στην πραγματικότητα, μια μείζων λειτουργία της HDL είναι να λειτουργεί ως κυκλοφορούσα αποθήκη απολιποπρωτεϊνών apoC-I, apoC-II and apoE (Marks και συν., 2000). Η HDL μετατρέπεται σε σφαιρικά λιποπρωτεϊνικά σωματίδια μέσω της συσσώρευσης χοληστερυλεστέρων, γεγονός που μετατρέπει την HDL σε HDL₂ και HDL₃. (Martin και συν., 1984, Marks και συν., 2000).

Η HDL προσλαμβάνει χοληστερόλη αποσπώντας την από την επιφάνεια της κυτταρικής μεμβράνης, διαδικασία που έχει ως συνέπεια τη μείωση της ενδοκυττάριας χοληστερόλης, αφού η χοληστερόλη, που έχει αποθηκευτεί στο εσωτερικό του κυττάρου με τη μορφή χοληστερυλ-εστέρων, κινητοποιείται για να αντικαταστήσει τη χοληστερόλη, που έχει απομακρυνθεί από τη μεμβράνη. Η πλούσια σε χοληστερόλη HDL επιστρέφει στο ήπαρ, όπου και υφίσταται ενδοκυττάρωση (Marks και συν., 2000).

Αν και ο ρόλος των λιπιδίων είναι ζωτικός, πολλές μελέτες έχουν αποκαλύψει πιθανούς κινδύνους, όταν η σύνθεση και η χρησιμοποίηση της χοληστερόλης δεν ρυθμίζεται κανονικά. Η υψηλή συγκέντρωση και η παθολογική εναπόθεση χοληστερόλης και λιποπρωτεϊνών πλούσιων σε χοληστερόλη τελικά οδηγεί σε αθηροσκλήρωση, η οποία αποτελεί βασικό παράγοντα για στεφανιαία νόσο και νόσο των αγγείων του εγκεφάλου. Είναι γνωστή η συσχέτιση μεταξύ της ολικής χοληστερόλης πλάσματος και της στεφανιαίας νόσου (Olusi και Fido, 1996). Η μελέτη Framingham έδειξε με σαφήνεια, ότι η υψηλή ολική χοληστερόλη αποτελεί παράγοντα κινδύνου για αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο (Elias και συν., 2004). Το National Cholesterol Education Program (NCEP) με βάση ένα σημαντικό αριθμό καλά ελεγχόμενων μελετών καθόρισε τη χαμηλή HDL και την υψηλή LDL χοληστερόλη ως παράγοντες κινδύνου για στεφανιαία νόσο (ΣΝ) (Homma, 2004), ενώ επιπλέον και τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων πλάσματος έχουν ενοχοποιηθεί ως παράγοντες κινδύνου για ΣΝ (The BIP Study Group, 2000, Jonkers και συν., 2001, Talmud και συν., 2002). Σύμφωνα με το NCEP, τα αυξημένα επίπεδα τριγλυκεριδίων πλάσματος αποτελούν ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για ΣΝ, όπως και ορισμένες λιποπρωτεΐνες πλούσιες σε τριγλυκερίδια, για παράδειγμα η μερικώς αποδομημένη VLDL (*υπολείμματα λιποπρωτεϊνών*). Στην κλινική πράξη, η VLDL χοληστερόλη είναι το πιο εύκολα μετρήσιμο αθηρογόνο υπόλειμμα λιποπρωτεΐνης (Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults, 2001).

1.4.2. Λιπίδια και εγκέφαλος

Το ΚΝΣ είναι το πλέον πλούσιο όργανο σε λίπος, καθώς περίπου το 25% της συνολικής ποσότητας της χοληστερόλης του ανθρώπινου σώματος εντοπίζεται στον εγκέφαλο και στο ΚΝΣ, κυρίως στο περίβλημα της μυελίνης και στις μεμβράνες των αστροκυττάρων και των νευρώνων (Jurevics και Morell, 1995, Michikawa, 2003). Τα συμπλέγματα των λιποπρωτεϊνών παίζουν σημαντικότατο ρόλο στο σχηματισμό και τη διατήρηση της ευπλαστότητας των συνάψεων, έτσι ώστε η ανάπτυξη και η αναγέννηση των συνάψεων και των νευριτικών αποφύσεων να εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη διαθεσιμότητα των εγκεφαλικών λιπιδίων (Koudinou και Koudinou, 2001, Mauch και συν., 2001, Fan και συν., 2001). Υπάρχουν αυξανόμενες ενδείξεις, ότι οι πλούσιες σε λιπίδια μικροπεριοχές των μεμβρανών εμπλέκονται στη ρύθμιση της διακίνησης της πρόδρομης πρωτεΐνης του αμυλοειδούς, καθώς και στη διαδικασία της αμυλοειδογένεσης από αυτή. Το ένζυμο προσκόλλησης του β-αμυλοειδούς, η κυριότερη β-σεκρετάση των νευρώνων, κατοικοεδρεύει σε λέμβους λιπιδίων και ένα υποσύνολο της πρόδρομης πρωτεΐνης του αμυλοειδούς εξαρτάται από το ένζυμο αυτό κατά την εξέλιξη της αμυλοειδογένεσης (η ακεραιότητα του οποίου είναι απαραίτητη για τη διαδικασία αυτή). Επιπροσθέτως, σημαντικές ποσότητες από κάθε συστατικό της γ-σεκρετάσης έχουν σχέση - εξαρτώμενη από τη χοληστερόλη - με λέμβους λιπιδίων (Vetrivel και συν., 2004).

Η περίσσεια της χοληστερόλης του εγκεφάλου μετατρέπεται σε 24S-υδροξυχοληστερόλη, μια ειδική οξυστερόλη του εγκεφάλου, η οποία περνά τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό (Dietschy και Turley, 2001). Η 24S-υδροξυχοληστερόλη είναι δείκτης της ομοιόστασης της χοληστερόλης στον εγκέφαλο και τα επίπεδά της στο πλάσμα δείχνουν την ισορροπία μεταξύ της παραγωγής της χοληστερόλης στον εγκέφαλο και του μεταβολισμού της στο ήπαρ. Έχει αναφερθεί θετική συσχέτιση μεταξύ των αυξημένων επιπέδων της 24S-υδροξυχοληστερόλης πλάσματος και της ΝΑ και/ή της αγγειακής άνοιας (Lütjohann και συν., 2000). Σε άλλες μελέτες έχει υποστηριχθεί, ότι αυτή η αύξηση υπάρχει ήδη από τα πρώιμα στάδια της άνοιας (Papassotiropoulos και συν., 2002).

1.4.3. Λιπίδια και άνοια

Μολονότι η επίδραση των λιπιδίων στην αθηρογόνο διεργασία είναι σε μεγάλο βαθμό γνωστή, δεν συμβαίνει το ίδιο για την άνοια. Μελέτες για την ανάδειξη πιθανών συσχετίσεων μεταξύ των λιπιδίων και των γνωστικών επιδόσεων κατέληξαν

σε αντιφατικά συμπεράσματα. Οι Yaffe και συν. (Yaffe και συν., 2002) υποστηρίζουν ότι η υψηλή ολική χοληστερόλη σχετίζεται με γνωστική έκπτωση, ενώ άλλοι ερευνητές (Henderson και συν., 2003, Shalk και συν., 2004) υποστηρίζουν ακριβώς το αντίθετο. Σε ορισμένες μελέτες τα χαμηλά επίπεδα της HDL συσχετίστηκαν με γνωστική έκπτωση στους ηλικιωμένους (van Exel και συν., 2002, Arai και Hirose, 2004), ενώ δεν βρέθηκε κάποια συσχέτιση για την ολική ή την χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη (LDL) (Arai και Hirose, 2004).

Έχει δειχθεί και σε άλλες μελέτες ότι η υπερχοληστερολαιμία αποτελεί πρώιμο παράγοντα κινδύνου για την ανάπτυξη ΝΑ (Pappolla και συν., 2003), ενώ ακόμη και σε ασθενείς που δεν ήταν φορείς του αλληλίου ε4, τα αυξημένα επίπεδα χοληστερόλης συσχετιζόταν με αυξημένο κίνδυνο για ΝΑ (Evans και συν., 2000). Έχει αναφερθεί επίσης η ύπαρξη συσχέτισης μεταξύ αθηροσκλήρωσης και ΝΑ (Hofman και συν., 1997), ενώ σε άλλες μελέτες περιγράφεται συσχέτιση μεταξύ αυξημένης χοληστερόλης στη μέση ηλικία και γνωστικής έκπτωσης ή/και άνοιας στην τρίτη ηλικία (Kivipelto και συν., 2001, Simons και συν., 2001). Ωστόσο, η μελέτη Framingham έδειξε ότι τα αρχικά και τα μακροπρόθεσμα μέσα επίπεδα χοληστερόλης πλάσματος δεν σχετιζόταν με τον κίνδυνο για ΝΑ (Tan και συν., 2003).

Κουνέλια και ποντίκια στα οποία χορηγήθηκε δίαιτα πλούσια σε χοληστερόλη, παρουσίασαν τάση συσσώρευσης Αβ στον εγκέφαλο, ενώ πειραματόζωα «guinea pigs», στα οποία χορηγήθηκαν στατίνες, είχαν χαμηλότερα επίπεδα Αβ στο ΕΝΥ (Refolo και συν., 2000, Fassbender και συν., 2001). Τέλος, τα αυξημένα επίπεδα χοληστερόλης σε κυτταρικές καλλιέργειες προήγαγαν το σχηματισμό Αβ από την πρόδρομη πρωτεΐνη του αμυλοειδούς (Casserly και Topol, 2004).

Η αύξηση της ολικής χοληστερόλης έχει συνδεθεί με την αγγειακή άνοια (Moroney και συν., 1999, Ross, 1999) και η HDL έχει βρεθεί ελαττωμένη (Kuriyama και συν., 1994), μολονότι άλλοι δεν επιβεβαίωσαν αυτό το εύρημα (Giubilei και συν., 1990). Οι Henderson και συν., (2003) δεν παρατήρησαν συσχετίσεις μεταξύ των τριγλυκεριδίων αίματος και της μνημονικής ικανότητας, αν και άλλοι ισχυρίζονται ύπαρξη ασθενούς συσχέτισεως (Reitz και συν., 2004).

Μολονότι ο ακριβής ρόλος των λιπιδίων στην άνοια είναι άγνωστος, έχει διατυπωθεί ένας αριθμός υποθέσεων, όπως η ρύθμιση της αποδομής της πρόδρομης πρωτεΐνης του αμυλοειδούς και της παραγωγής και κάθαρσης του Αβ. Ωστόσο, επί

του παρόντος δεν υπάρχουν ακλόνητες αποδείξεις και πολλά σημαντικά ερωτήματα παραμένουν αναπάντητα. Τα αντιφατικά ευρήματα της βιβλιογραφίας θα μπορούσαν να εξηγηθούν από την τάση των επιπέδων των λιπιδίων να αλλάζουν με την πάροδο της ηλικίας (Abbott και συν., 1997). Αυτό το φαινόμενο δικαιολογείται εν μέρει από τη φυσιολογία της γήρανσης, από ακούσιες ή εκούσιες αλλαγές στον τρόπο ζωής (εξαιτίας της αυξανόμενης ενημέρωσης του κοινού σχετικά με την υγεία και της εφαρμογής προγραμμάτων παρέμβασης με σκοπό τη μείωση των επιπέδων χοληστερόλης), από την επιλεκτική θνησιμότητα και κλινική-υποκλινική νόσο (Ferrara και συν., 1997). Μια άλλη πιθανή εξήγηση για τις αντικρουόμενες επιδημιολογικές συσχετίσεις μεταξύ λιπιδίων και άνοιας, είναι ότι κάποια συστατικά των λιποπρωτεϊνών μπορεί να σχετίζονται βιολογικά σε μεγαλύτερο βαθμό με την παθολογία της ΝΑ ή της αγγειακής άνοιας και για το λόγο αυτό να αποτελούν πιο ακριβή παράγοντα κινδύνου για άνοια, όπως για παράδειγμα η apoA-I.

1.4.4. Απολιποπρωτεΐνη A-I (apoA-I)

Η απολιποπρωτεΐνη A-I (apoA-I) αποτελεί το κύριο πρωτεϊνικό συστατικό της HDL και παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάστροφη μεταφορά της χοληστερόλης (Leroy και συν., 1995). Φαίνεται να εμπλέκεται σε διάφορες αντιαθηρογενετικές λειτουργίες, παρέχοντας προστασία ενάντια στη θρόμβωση και την οξειδωση (Rosenson, 1996). Η HDL περιέχει δύο κύριες πρωτεΐνες, την apoA-I και την apoA-II, οι οποίες αποτελούν περίπου το 70% και το 20% της συνολικής πρωτεϊνικής μάζας της HDL αντιστοίχως. Η HDL κυκλοφορεί στο ανθρώπινο πλάσμα σε δύο κύριες μορφές: η μία περιέχει apoA-I και apoA-II (ApoA-I/ApoA-II-HDL) και η άλλη μόνον την apoA-I (ApoA-I-HDL). Έχει φανεί ότι η ApoA-I-HDL είναι πιο αντιαθηρογενετική από την ApoA-I/ApoA-II-HDL (Schultz και συν., 1993), ενώ τα επίπεδα apoA-I έχουν συσχετιστεί αντίστροφα με τον κίνδυνο για στεφανιαία νόσο (von Eckardstein και συν., 2001, Luc και συν., 2002, Sharp και συν., 2000).

Το ENY περιέχει πολύ μικρές ποσότητες από την LDL και την VLDL, ενώ η apoA-I έχει βρεθεί σε μόρια της HDL στο ENY (Borghini και συν., 1995, Pitas και συν., 1987, Roheim και συν., 1979). Τα επίπεδα της apoA-I στο ENY έχει φανεί ότι σχετίζονται σημαντικά με τα επίπεδα της apoA-I στο πλάσμα, γεγονός που υποδεικνύει ότι η apoA-I μπορεί να διαδραματίζει κάποιο ρόλο στο μεταβολισμό των λιποπρωτεϊνών στο ΚΝΣ και επομένως και του β-αμυλοειδούς (Fagan και συν., 2000). Ωστόσο, σε αντιδιαστολή με τις διαφορές στα επίπεδα της apoA-I στο πλάσμα

μεταξύ ασθενών και μαρτύρων, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στην έκφραση της apoA-I στον εγκέφαλο (Haig και συν., 1996) ή στα επίπεδα της apoA-I στο ENY μεταξύ ασθενών με NA και μαρτύρων (Song και συν., 1997). Αυτά τα ευρήματα μπορούν να εξηγηθούν από μια αύξηση είτε της διαβατότητας της apoAI προς το ENY, είτε της λειτουργίας του αιματοεγκεφαλικού φραγμού. Μία αύξηση της διαβατότητας της apoA-I προς το ENY μπορεί προκληθεί από μια αυξημένη ανάγκη του ΚΝΣ για apoA-I, κατά τη διάρκεια αφενός μιας αναγέννησης του νευρικού συστήματος, αφετέρου μιας δευτεροπαθούς εγκεφαλικής βλάβης εξαιτίας μίας λοίμωξης (Boyles και συν., 1989).

Η apoA-I θα μπορούσε να εμπλακεί στην παθολογία της NA με πολλαπλούς τρόπους. Πρώτον, η apoA-I θα μπορούσε να μετέχει με άμεσο τρόπο στη διαδικασία της αμυλοειδογένεσης, συνδεδεμένη με το β-αμυλοειδές (Koudinou και συν., 1994) ή σχηματίζοντας ινίδια παρόμοια με αυτά του αμυλοειδούς (Wisniewski και συν., 1995). Έχει βρεθεί έκφραση της apoA-I στον εγκέφαλο ασθενών με NA, με ανοσοεντοπισμό της apoA-I σε πλάκες αμυλοειδούς στον εγκέφαλο με NA (Haig και συν., 1996). Δεύτερον, θα μπορούσε να διαδραματίζει ένα ρόλο στην διατήρηση των νευρώνων, δεδομένου ότι έχει εμπλακεί στη διαδικασία της μετατραυματικής νευρωνικής αναγέννησης (Boyles και συν., 1989). Τρίτον, η apoA-I μπορεί να συντελεί στην παθογένεια της NA μέσω της σχέσης της με άλλες πρωτεΐνες, όπως είναι η απολιποπρωτεΐνη J (Stuart και συν., 1992). Μεταβολές των επιπέδων της apoA-I μπορούν να επηρεάσουν τη δομή ή/και τη λειτουργία της απολιποπρωτεΐνης J στη NA, κυρίως σε σχέση με τη διατήρηση της ευδιαλυτότητας του β-αμυλοειδούς ή/και με τη μεταφορά του μέσω του ΑΕΦ (Golabek και συν., 1995, Zlokovic και συν., 1994, Zlokovic και συν., 1996).

Σε μεγάλη προοπτική μελέτη διαπιστώθηκε ότι τα υψηλά επίπεδα της ApoA-I σχετίστηκαν με χαμηλότερο κίνδυνο για την εμφάνιση άνοιας και το αποτέλεσμα αυτό ήταν ανεξάρτητο από άλλες μεταβλητές, όπως το επίπεδο διαβίωσης και δημογραφικούς ή βιολογικούς παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων των επιπέδων της HDL και των τριγλυκεριδίων (Saczynski και συν., 2007). Σε μια μελέτη ασθενών-μαρτύρων, τα επίπεδα της ApoA-I βρέθηκαν σημαντικά μειωμένα στους ασθενείς με NA και ακόμη περισσότερο στους ασθενείς με αγγειακή άνοια, σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες (Kuriyama και συν., 1994). Παρόμοια αποτελέσματα διαπιστώθηκαν σε έτερη μελέτη ασθενών με NA και υγιών μαρτύρων, όπου τα μειωμένα επίπεδα της ApoA-I δεν φάνηκε να επηρεάζονται από την παρουσία του ε4 αλληλίου (Kawano

και συν., 1995). Επιπροσθέτως, τα χαμηλά επίπεδα της ApoAI έχουν σχετιστεί με τη σοβαρότητα της NA (Merched και συν., 2000). Συνεκτιμώντας όλες αυτές τις ενδείξεις, φαίνεται ότι η ApoA-I θα μπορούσε να συμβάλλει στη διαγνωστική ακρίβεια της NA και στην παρακολούθηση της εξέλιξης της νόσου, ακόμη και αν οι ακριβείς βιολογικοί μηχανισμοί, με τους οποίους η apoA-I επηρεάζει τον κίνδυνο για άνοια, δεν είναι ακόμη πλήρως κατανοητοί.

1.4.5 Λιποπρωτεΐνη (α) (Lp(a))

Η λιποπρωτεΐνη α αποτελείται από ένα μόριο LDL-χοληστερόλης, του οποίου η απολιποπρωτεΐνη B-100 είναι συνδεδεμένη με δισουλφιδικό δεσμό με την απολιποπρωτεΐνη α (Rees, 1991). Παράγεται αποκλειστικά στο ήπαρ και η σύνθεσή της γίνεται σε δύο βήματα: το πρώτο περιλαμβάνει μη ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις ανάμεσα στην ApoA-1 και στην απολιποπρωτεΐνη B (ApoB) και το δεύτερο το σχηματισμό δισουλφιδικού δεσμού μέσω συγκεκριμένων αλληλουχιών αμινοξέων (kringle IV repeats) (Παπαζαφειροπούλου και συν., 2012). Τα επίπεδα πλάσματος της Lp(a) διαφέρουν μεταξύ των ατόμων, γιατί καθορίζονται κυρίως από πολυμορφισμούς στο γονίδιο LPA, που εδράζεται στο χρωμόσωμα 6 και κωδικοποιεί την απολιποπρωτεΐνη A (Kraft et al, 1992). Τα επίπεδα της Lp(a) στο αίμα σχετίζονται αντίστροφα με τον αριθμό των αλληλουχιών αμινοξέων στο μόριο της ApoA, που μπορεί να είναι από 10 έως και πάνω από 50. Τα ελαφρότερα μόρια είναι και τα πλέον αθηρογόνα (Lackner και συν., 1993).

Η Lp(a) έχει παρόμοια δομή με το μόριο του πλασμινογόνου, με αποτέλεσμα τον ανταγωνισμό των δύο μορίων για τη θέση σύνδεσης στο αγγειακό τοίχωμα. Άλλωστε το γονίδιο της Lp(a) προέρχεται από διπλασιασμό του γονιδίου του πλασμινογόνου. Η αυξημένη σύνδεση του μορίου της Lp(a) στη θέση αυτή, όταν τα επίπεδά της είναι αυξημένα, ελαττώνει την παραγωγή πλασμίνης και κατά συνέπεια και την ινωδόλυση. Επίσης η Lp(a) διεγείρει την παραγωγή του αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1), ο οποίος μειώνει τη δραστηριότητα του ενεργοποιητή του ιστικού πλασμινογόνου, μπλοκάροντας την ενεργοποίηση του πλασμινογόνου και τη διάσπαση του ινώδους. Με τον τρόπο αυτό αναστέλλει την ινωδόλυση, επιτρέποντας την παραμονή του θρόμβου και την ευόδωση της θρομβωτικής διαδικασίας (Ichikawa και συν., 2002).

Η ανεύρεση υψηλών επιπέδων Lp(a) στο πλάσμα έχει συσχετιστεί με την εμφάνιση αθηροσκλήρωσης, στεφανιαίας νόσου και αγγειακών εγκεφαλικών

συμβαμάτων (Milionis και συν., 2000). Η ApoA έχει ανιχνευτεί στον εγκέφαλο πρωτευόντων θηλαστικών, υποδηλώνοντας ότι μόρια της Lp(a) (τα οποία μπορεί να φέρουν και APOE) εμπλέκονται στον μεταβολισμό των λιποπρωτεϊνών στον εγκέφαλο (Ramharack και συν., 1996). Επιπλέον, έχουν παρατηρηθεί υψηλότερα επίπεδα της Lp(a) στο πλάσμα ασθενών με αγγειακή άνοια και αγγειακή εγκεφαλική νόσο, σε βαθμό στατιστικά σημαντικό σε σύγκριση με τα επίπεδα υγιών μαρτύρων (Urakami και συν., 2000). Φαίνεται ότι η αύξηση συγκεκριμένα των χαμηλομοριακών apo(a) ισομορφών της Lp(a) ευθύνεται για την ανεύρεση των αφύσικα υψηλών επιπέδων Lp(a) στο πλάσμα.

Η πιθανή σχέση της Lp(a) με τη νόσο Alzheimer παραμένει αμφιλεγόμενη, αν και υπάρχουν αποδεικτικά στοιχεία ότι η κλινική έκφραση της NA σχετίζεται με την ύπαρξη εγκεφαλικών εμφράκτων, καθιστώντας την Lp(a) πιθανό παράγοντα κινδύνου για τη NA (Snowdon και συν., 1997). Έτσι, έχει φανεί ότι η Lp(a) αποτελεί έναν επιπλέον παράγοντα κινδύνου, ανεξάρτητο από την ηλικία, για την εμφάνιση NA με όψιμη έναρξη σε άτομα φέροντα το ApoE4 αλληλίο, ενώ ταυτόχρονα μπορεί να δρα προστατευτικά κατά της νόσου σε άτομα άνω των 80 ετών, μη φέροντα το ApoE4 αλληλίο (Mooser και συν., 2000). Σε άλλη μελέτη έχει φανεί ότι η συγκέντρωση της Lp(a) στον ορό εμφανίζει στατιστικά σημαντική μη γραμμική συσχέτιση με τον αυξημένο κίνδυνο για NA, ανεξάρτητη από γενοτύπους της ApoE και το φύλο, αλλά εξαρτημένη από την ηλικία (Solfrizzi και συν., 2002). Πιο πρόσφατα αποτελέσματα υποδεικνύουν έναν πιθανό διπλό αντιφατικό ρόλο της Lp(a) στην εμφάνιση όψιμης έναρξης NA, όπου τα υψηλά επίπεδα της Lp(a) καταστέλλουν την παθολογική διεργασία της NA και προάγουν ισχαιμικές αλλοιώσεις στη λευκή ουσία του εγκεφάλου (Iwamoto και συν., 2004). Σε μια άλλη μελέτη, η διαφορά στα επίπεδα της Lp(a) στον ορό δεν φάνηκε να επηρεάζει σε στατιστικά σημαντικό βαθμό τις γνωστικές επιδόσεις ενός δείγματος ατόμων από το γενικό πληθυσμό, σύμφωνα με τα αποτελέσματα των νευροψυχολογικών δοκιμασιών (Sarti και συν., 2001).

Είναι επίσης ενδιαφέρον, ότι κάποιες μελέτες έχουν αναδείξει συσχετίσεις μεταξύ της Lp(a) και φλεγμονωδών παραγόντων, όπως του TNF- α , του TGF- β , της IL-6 (Schultz και συν., 2010), της χημειοτακτικής πρωτεΐνης των μονοκυττάρων 1 (monocyte chemoattractant protein 1, MCP-1) και της CRP (Stenvinkel και συν., 1998). Το γονίδιο της Apo(a) περιέχει πολλαπλά στοιχεία ανταπόκρισης της IL-6 (Wade και συν., 1993) και μελέτες σε κυτταρικές καλλιέργειες έχουν δείξει ότι η

έκφραση του γονιδίου της Apo(α) υπερρυθμίζεται από την IL-6, οδηγώντας σε μια συσσώρευση των σωματιδίων της Lp(α) (Ramharack και συν., 1998).

Ωστόσο, αν και οι περισσότερες μελέτες ενοχοποιούν την Lp(α) ως παράγοντα κινδύνου, υπάρχουν και οι μελέτες που εισηγούνται έναν ευεργετικό ρόλο. Αυτό μπορεί να οφείλεται είτε στην επιρροή εξωτερικών παραγόντων, είτε να είναι το αποτέλεσμα μιας ουδέτερης εξέλιξης. Δυστυχώς, ο προσδιορισμός των επιπέδων της δεν γίνεται ακόμη σε ευρεία κλίμακα, ενώ παράλληλα δεν υπάρχουν αρκετά αποτελεσματικές φαρμακευτικές παρεμβάσεις για την αντιμετώπιση των υψηλών επιπέδων στο πλάσμα κάποιων ασθενών. Συνεπώς, η Lp(α) συνεχίζει να μας εκπλήσσει και χρειάζονται περισσότερες μελέτες, ώστε να διερευνηθεί αυτό το μυστήριο φαινόμενο.

1.4.6 Οξειδωμένη χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη (oxLDL)

Η οξείδωση της χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης (LDL) εμφανίζεται, όταν τα επίπεδα των LDL σωματιδίων αντιδρούν με τις ελεύθερες ρίζες. Η οξειδωμένη LDL τότε γίνεται πιο αντιδραστική με τους περιβάλλοντες ιστούς και μπορεί να τους βλάψει. Μερικοί από τους παράγοντες, που φαίνεται να αυξάνουν τα επίπεδα της οξειδωμένης LDL, περιλαμβάνουν διατροφή πλούσια σε τρανς λιπαρά, κάπνισμα και κακώς ελεγχόμενο διαβήτη ή μεταβολικό σύνδρομο.

Μόλις η LDL οξειδώνεται, πηγαίνει απευθείας στο ενδοθήλιο των αρτηριών του σώματος, συμπεριλαμβανομένης της καρωτίδας, της στεφανιαίας αρτηρίας ή των αρτηριών που τροφοδοτούν τα άνω και κάτω άκρα με αίμα. Εκεί ευνοεί τη συσσώρευση των φλεγμονωδών κυττάρων, όπως τα μακροφάγα και τα αιμοπετάλια και προωθεί την προσκόλλησή τους στην περιοχή της βλάβης. Περισσότερα μακροφάγα, μόρια χοληστερόλης και άλλων λιπιδίων αρχίζουν να συσσωρεύονται στο σημείο, σχηματίζοντας μια πλάκα που αρχίζει να αναπτύσσεται σε πάχος. Με την πάροδο του χρόνου, αυτό μπορεί να επιβραδύνει – ή και να περιορίσει εντελώς – τη ροή και την ποσότητα του αίματος, που αρδεύει μία ή περισσότερες περιοχές του σώματος.

Η LDL ανευρίσκεται στον εγκέφαλο και είναι ιδιαίτερος ευάλωτη σε οξειδωτικές μεταβολές. Μόλις σχηματιστεί, η οξειδωμένη μορφή της LDL είναι ικανή να προάγει την κυτταρική τοξίκωση, τη διαφοροποίηση και τη φλεγμονώδη διεργασία σε μη νευρωνικά κύτταρα (Pietzsch και συν., 2005). Αν και η οξειδωμένη LDL έχει μελετηθεί κυρίως για το ρόλο της στην εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης,

πρόσφατες μελέτες έχουν προσδιορίσει κάποιον πιθανό της ρόλο σε νευρολογικές διαταραχές, που σχετίζονται με οξειδωτικό στρες. Έχει αναφερθεί ότι πολυμορφισμός στο γονίδιο, που κωδικοποιεί τον υποδοχέα-1 της οξειδωμένης LDL, έχει σχετιστεί με καθυστερημένης έναρξης νόσο Alzheimer (D'Introno και συν., 2005, Stanyer και συν., 2004). Επίσης έχει βρεθεί σημαντική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων αντιχμοθρυπίνης (ACT), IL-6, MCP-1 και oxLDL στο ENY και της αναλογίας της αλβουμίνης στο ENY προς την αλβουμίνη πλάσματος, η οποία χρησιμοποιείται ως δείκτης λειτουργικότητας του αιματοεγκεφαλικού φραγμού (ΑΕΦ).

Η oxLDL χαρακτηρίζεται από υψηλή ανοσογονικότητα, με αποτέλεσμα να παράγονται ειδικά αντισώματα έναντι της oxLDL (anti-oxLDL) από το ανοσιακό σύστημα. Τα anti-oxLDL είναι ανιχνεύσιμα στην κυκλοφορία και αντανακλούν τις διεργασίες οξείδωσης *in vivo*. Κατά τη διάρκεια ενός προληπτικού ιατρικού ελέγχου στη Βιέννη το 1995, υπολογίστηκε η κανονική κατανομή των επιπέδων των anti-oxLDL σε 800 υγιείς άνδρες και γυναίκες ηλικίας από 20 έως 60 ετών και καταγράφηκε μια αντιστρόφως ανάλογη κατανομή των επιπέδων σε σχέση με την ηλικία των ατόμων. Στην ηλικιακή ομάδα των 20-40 ετών, παρατηρήθηκε σημαντική προοδευτική μείωση των επιπέδων των anti-oxLDL, η οποία θα μπορούσε να υποδεικνύει αρχικά στάδια της αθηροσκλήρωσης. Η υψηλή συγκέντρωση των anti-oxLDL σε νεαρά άτομα μπορεί να ερμηνευτεί ως ένας μηχανισμός προστασίας του οργανισμού (Temmel, 1996). Τα επίπεδα των anti-oxLDL επηρεάζονται από διάφορους παράγοντες, π.χ. ηλικία, οξειδωτικό status, πρόσληψη βιταμινών, διατροφικές συνήθειες, κάπνισμα (έχουν βρεθεί πολύ χαμηλά επίπεδα των anti-oxLDL σε καπνιστές) και άσκηση. Επιπροσθέτως, δεν έχει αποσαφηνιστεί ακόμη αν τα αυτοαντισώματα απομακρύνονται από την κυκλοφορία με μηχανισμό προσρόφησης από τους ιστούς ή αν τα ανιχνεύσιμα επίπεδα αντανακλούν την ολική ποσότητα των anti-oxLDL. Πάντως, έχουν ανευρεθεί αυξημένα επίπεδα στον ορό ή στο ENY ασθενών με NA (Kankaanpää και συν., 2009), τα οποία θα μπορούσαν να αποτελέσουν ένα σημαντικό διαγνωστικό εργαλείο σε βάθος χρόνου, ενώ σε κάποιες περιπτώσεις φαίνεται να σχετίζονται με το στάδιο της νόσου. Ο ευεργετικός ή, αντιθέτως, ο παθογενετικός τους ρόλος χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση, ώστε να σχεδιαστεί μια πιο αποτελεσματική θεραπευτική στρατηγική (Colasanti και συν., 2010).

1.5. Σκοπός της μελέτης

Η παρούσα μελέτη έχει γενικά ως στόχο α) τη μέτρηση των επιπέδων φλεγμονωδών δεικτών στο πλάσμα ασθενών με έκπτωση των γνωσιακών λειτουργιών, β) τη συσχέτιση των επιπέδων αυτών με τα νευροψυχιατρικά συνοδά συμπτώματα και τα κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών και γ) τη διερεύνηση της επίδρασης της φαρμακευτικής θεραπείας στους φλεγμονώδεις αυτούς παράγοντες. Η έκπτωση των γνωσιακών διαταραχών απαντάται πλέον συχνά στους ηλικιωμένους, με αποτέλεσμα να επηρεάζεται σε σημαντικό βαθμό η ποιότητα ζωής των πασχόντων, των φροντιστών τους και του κοινωνικού συνόλου. Δυστυχώς, παρόλες τις έρευνες, δεν έχουν διαλευκανθεί οι ακριβείς παθογενετικοί μηχανισμοί, που οδηγούν στην κατάσταση αυτή, ενώ παράλληλα δεν έχει βρεθεί ακόμη τρόπος αναστολής ή/και αναστροφής των παθοφυσιολογικών διεργασιών στον εγκέφαλο.

Στη συγκεκριμένη μελέτη ερευνάται η συσχέτιση των δεικτών φλεγμονής με το είδος και το επίπεδο των γνωστικών διαταραχών στους ηλικιωμένους, με τυχόν νευροψυχιατρικά συμπτώματα των ασθενών αυτών, όπως είναι η απάθεια, η κατάθλιψη, η διέγερση, τα ψευδαισθητικά ή παραληρητικά συμπτώματα και με τα κλινικά τους χαρακτηριστικά. Επίσης διερευνάται η επίδραση της φαρμακευτικής αγωγής με αναστολέα της ακετυλοχολινεστεράσης (acetylcholinesterase inhibitor, AChEI) στην έκκριση των παραγόντων αυτών, σε σχέση και με τυχόν μεταβολές στην κλινική εικόνα των ασθενών. Τέλος, διερευνάται η επίδραση, τόσο των νευροψυχιατρικών συμπτωμάτων και της λήψης επικουρικής φαρμακευτικής θεραπείας (αντιψυχωσικής - αντικαταθλιπτικής), όσο και των παραγόντων φλεγμονής στην πρόγνωση των ασθενών και στην εξέλιξη της νόσου. Η διεξοδική μελέτη τέτοιων παραγόντων στο αίμα αυτών των ασθενών ενδέχεται να προσφέρει σημαντικές πληροφορίες σχετικά με τους υποκείμενους παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς και την εξελικτική πορεία της νόσου.

Για τη διεξαγωγή της μελέτης, ο πληθυσμός επιλέχθηκε τυχαία από το σύνολο των ασθενών, που παρακολουθούνται στο εξωτερικό ιατρείο ψυχογηριατρικής του Αιγινήτειου Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου. Ο πληθυσμός της μελέτης εκτιμήθηκε διεξοδικά με τη λήψη ιστορικού, την κλινική εξέταση και τη χρήση ψυχομετρικών κλιμάκων. Με βάση την τρέχουσα βιβλιογραφία, διερευνήθηκαν διάφοροι φλεγμονώδεις παράγοντες στο πλάσμα των συμμετεχόντων: η ιντερλευκίνη-6, η ιντερλευκίνη-1β, ο παράγοντας νέκρωσης των όγκων-α, η ιντερφερόνη-γ, η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, η λιποπρωτεΐνη A, η απολιποπρωτεΐνη A1, τα αυτοαντισώματα

για την οξειδωμένη χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη και τα κυτταρικά μόρια προσκόλλησης VCAM-1 και ICAM-1.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1. ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1.1. Επιλογή και χαρακτηριστικά του πληθυσμού μελέτης

Η διαλογή των συμμετεχόντων, όπως και οι λοιπές διαδικασίες στη διάρκεια αυτής μελέτης, έγιναν σύμφωνα με τις διεθνείς κατευθυντήριες γραμμές, που αφορούν τις κλινικές έρευνες. Συμμετείχαν συνολικά 128 άτομα: 105 άτομα με νόσο Alzheimer και 23 υγιή άτομα. Οι ασθενείς, που περιελήφθησαν στη μελέτη, προέρχονται από το εξωτερικό ιατρείο Ψυχογηριατρικής της Α' Ψυχιατρικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών στο Αιγινήτειο Νοσοκομείο. Για να εξασφαλιστεί η σωστή διάγνωση, υιοθετήθηκαν τα διαγνωστικά κριτήρια του DSM IV της Αμερικανικής Ψυχιατρικής Εταιρείας για την άνοια. Τα 23 άτομα ελέγχου προέρχονται από τον τοπικό υγιή πληθυσμό.

Το πρωτόκολλο της μελέτης εγκρίθηκε από την τοπική Ερευνητική επιτροπή και γραπτή συγκατάθεση ενημέρωσης λήφθηκε από όλα τα άτομα, που συμμετείχαν στη μελέτη ή από συγγενείς αυτών. Όλες οι πληροφορίες που ελήφθησαν, καθώς και τα αποτελέσματα της εργαστηριακής έρευνας θεωρούνται απόρρητα, ενώ ο κάθε συμμετέχων μπορούσε να αποσυρθεί οποτεδήποτε από τη μελέτη, διατηρώντας το δικαίωμα να μη χρησιμοποιηθούν τα στοιχεία που προέκυψαν από τον ίδιο.

Το πρώτο βήμα, κατά την είσοδο των ασθενών στη μελέτη, αποτελούσε η συμπλήρωση ενός ερωτηματολογίου, με τη βοήθεια συγγενών όπου κρινόταν απαραίτητο. Το ερωτηματολόγιο περιλάμβανε (1) τα δημογραφικά στοιχεία (φύλο, ηλικία, μορφωτικό επίπεδο), (2) το ατομικό αναμνηστικό (ιστορικό σωματικών ασθενειών, ιστορικό ψυχικών νοσημάτων και τρέχουσα φαρμακευτική αγωγή), (3) το οικογενειακό ιστορικό (4) τις ατομικές έξεις (κάπνισμα και κατανάλωση οινοπνεύματος).

Οι ακόλουθες κλινικές πληροφορίες λήφθηκαν από όλους τους συμμετέχοντες: βάρος, ύψος, περιφέρεια μέσης και γλουτών, αριθμός σφύξεων ανά λεπτό, συστολική (ΣΑΠ) και διαστολική (ΔΑΠ) αρτηριακή πίεση σε όρθια και καθιστή θέση. Η αρτηριακή πίεση (ΑΠ) μετρήθηκε με πιεσόμετρο υδραργύρου σε

κάθε άτομο σε καθιστή θέση μετά από ανάπαυση διάρκειας 5 λεπτών και σε όρθια θέση μετά από πεντάλεπτη ορθοστασία. Υπολογίστηκαν ο Δείκτης Μάζας Σώματος [$\Delta\text{ΜΣ} = \text{βάρος (kg)} / \text{ύψος (m)}^2$] και η περιφέρεια μέσης προς περιφέρεια ισχίου [Waist-to-Hip Ratio, WHR = περιφέρεια μέσης (cm)/ περιφέρεια ισχίου (cm)]. Η περιφέρεια μέσης προσδιορίστηκε ως η ελάχιστη περιφέρεια στο επίπεδο του ομφαλού και η περιφέρεια ισχίου ως η μέγιστη περιφέρεια στο επίπεδο των γλουτών. Όλοι οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε ψυχιατρική εξέταση για την επιβεβαίωση της διάγνωσης και την ανίχνευση συνοδών ψυχιατρικών συμπτωμάτων. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν οι εξής κλίμακες: (1) η κλίμακα σύντομης εξέτασης της νοητικής κατάστασης (Mini Mental State Examination, MMSE) για την εκτίμηση των γνωστικών λειτουργιών, (2) η κλίμακα κλινικής ταξινόμησης για την άνοια (Clinical Dementia Rating, CDR) για την εκτίμηση του επιπέδου της λειτουργικότητας, (3) η κλίμακα Νευροψυχιατρικής εκτίμησης (Neuropsychiatric Inventory, NPI) για την ανίχνευση συνοδών ψυχιατρικών συμπτωμάτων, (4) η κλίμακα Cornell για την εκτίμηση της κατάθλιψης στην άνοια (Cornell scale for depression in dementia, CSDD), (5) η κλίμακα για την εκτίμηση των καθημερινών δραστηριοτήτων (Alzheimer's Disease Cooperative Study-Activities of Daily Living, ADCS-ADL) και (6) η κλίμακα σφαιρικής επιδείνωσης (Global Deterioration Scale, GDS) για τον προσδιορισμό του σταδίου της νόσου.

Ακολούθως ελήφθη δείγμα περιφερικού αίματος για τον προσδιορισμό των κυτοκινών και οι ασθενείς χωρίστηκαν σε δύο ομάδες, με κριτήριο τη λήψη ή μη αναστολέα χολινεστεράσης. Έτσι 45 ασθενείς αποτέλεσαν την ομάδα που ελάμβανε ήδη αναστολέα χολινεστεράσης (υπό θεραπεία, [ΥΘ]), ενώ στους υπόλοιπους 60 ασθενείς το φάρμακο προσετέθη στην αγωγή τους μετά την λήψη του αίματος (άνευ θεραπείας, [ΑΘ]). Έξι μήνες μετά την έναρξη της φαρμακευτικής αγωγής (δονεπεξίλη 10 mg ημερησίως), 19 ασθενείς της ομάδας [ΑΘ] υπεβλήθησαν ξανά σε κλινική και ψυχιατρική εξέταση, ελήφθη δεύτερο δείγμα αίματος και αποτέλεσαν μια υποομάδα στην πραγματοποίηση της μελέτης (άνευ θεραπείας-μετά θεραπεία [ΑΘ-ΜΘ]).

2.1.2 Κλίμακα σύντομης εξέτασης της νοητικής κατάστασης (Mini Mental State Examination, MMSE)

Η κλίμακα Mini Mental State Examination είναι μια έγκυρη και αξιόπιστη μέθοδος, η οποία χρησιμοποιείται για την εκτίμηση των γνωστικών λειτουργιών των ηλικιωμένων (Folstein, 1975). Αποτελείται από 11 μέρη και ελέγχει πέντε περιοχές

της γνωστικής λειτουργίας: προσανατολισμό, μνημονική καταγραφή, προσοχή και ικανότητα υπολογισμών, ανάκληση και γλωσσική ικανότητα (Kurlowiz και Wallace, 1999). Η δοκιμασία βαθμολογείται και έχει ως ανώτερη τιμή το 30 (καθόλου έκπτωση λειτουργικότητας). Η βαθμολογία κάτω από την οποία υπάρχει ένδειξη παθολογίας, είναι μεταξύ 23 και 25 (Sajatonic και Ramirez, 2003), ενώ τα αποτελέσματα μεταξύ 26 και 30 θεωρούνται φυσιολογικά στο γενικό πληθυσμό. Τα άτομα που βαθμολογούνται μεταξύ 20 και 25 έχουν ήπια γνωστική έκπτωση, όμως συνήθως αντεπεξέρχονται μόνοι τους στην καθημερινότητα παρά τις υπάρχουσες δυσκολίες (ψώνια, οικονομικές υποθέσεις). Αποτελέσματα μεταξύ 10 και 20 δείχνουν μέσης βαρύτητας περιορισμό της ικανότητας και δυσκολία στην καθημερινότητα. Οι ασθενείς με βαθμολογίες κάτω του 10 έχουν βαριά έκπτωση και χρειάζονται τη βοήθεια φροντιστών (Vertesi και συν., 2001). Η κλίμακα είναι σταθμισμένη σε ελληνικό πληθυσμό (Fountoulakis και συν., 1994).

Η κλίμακα MMSE είναι βραχεία, εύκολη στη χρήση και μπορεί να χορηγηθεί και από μη επαγγελματίες ψυχικής υγείας. Η συμπλήρωσή της διαρκεί 5 έως 10 λεπτά και είναι αποτελεσματικό εργαλείο στο διαχωρισμό των ατόμων με γνωστική έκπτωση από εκείνους χωρίς γνωστική έκπτωση (Kurlowiz και Wallace, 1999). Ωστόσο, δεν συνιστά εργαλείο διάγνωσης, αλλά εκτίμησης και παρακολούθησης. Θα πρέπει συμπληρωματικά να λαμβάνεται ιστορικό, να γίνεται κλινική εξέταση και να εκτιμάται η γνωστική έκπτωση και τα συνυπάρχοντα προβλήματα υγείας του ατόμου (Vertesi και συν., 2001). Τέλος, θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη ότι η μόρφωση έχει ανάλογη σχέση με τη βαθμολογία, ενώ η ηλικία αντιστρόφως ανάλογη (Crum και συν., 1993).

2.1.3 Κλίμακα κλινικής ταξινόμησης για την άνοια (Clinical Dementia Rating, CDR)

Η κλίμακα Clinical Dementia Rating δημιουργήθηκε στην Ιατρική σχολή του Πανεπιστημίου της Ουάσινγκτον το 1979 για την εκτίμηση της σοβαρότητας της άνοιας (Hughes και συν., 1982). Αναθεωρήθηκε το 1993 και παραμένει ένα αξιόπιστο εργαλείο για όλους τους εκπαιδευμένους επαγγελματίες υγείας (Williams και συν., 2009). Η συμπλήρωση της κλίμακας γίνεται με συγκέντρωση πληροφοριών από τον ασθενή και το φροντιστή του (όπου είναι αναγκαίο) και διακρίνει 5 διαβαθμίσεις, ανάλογα με το γνωστικό και λειτουργικό επίπεδο του ασθενούς. Εξετάζεται η απόδοση του ασθενούς σε 6 τομείς: μνήμη, προσανατολισμό, κρίση και επίλυση προβλημάτων, κοινωνικές υποθέσεις, σπίτι και ενδιαφέροντα και

αυτοεξυπηρέτηση και βαθμολογείται καθένα χωριστά (Lim και συν., 2007). Το CDR-0 υποδηλώνει ότι δεν υπάρχει γνωστική ή λειτουργική έκπτωση, ενώ οι υπόλοιπες διαβαθμίσεις αντιστοιχούν σε διαφορετικά επίπεδα έκπτωσης ως εξής:

- CDR-0,5: Πολύ ήπια ή αμφισβητήσιμη γνωστική διαταραχή
- CDR-1: Ήπια γνωστική διαταραχή
- CDR-2: Μέτρια γνωστική διαταραχή
- CDR-3: Σοβαρή γνωστική διαταραχή (Williams και συν., 2009)

Η βαθμολόγηση σε κάθε τομέα εξαρτάται μόνο από τη γνωστική ικανότητα του ασθενούς και δεν πρέπει να επηρεάζεται από τυχόν περιορισμούς λόγω σωματικής ανικανότητας. Για το λόγο αυτό πρέπει να γίνεται λεπτομερής καταγραφή των πληροφοριών και να ζητούνται διευκρινήσεις, όπου κρίνεται αναγκαίο για τη σωστή συμπλήρωση της κλίμακας, ενώ σημαντικό ρόλο παίζει και η κλινική κρίση του εξεταστή. Η βαθμολογία στους επιμέρους τομείς μπορεί να διαφέρει, κυρίως στα πιο προχωρημένα στάδια της νόσου, ενώ η τελική βαθμολογία προκύπτει με τη χρήση ενός καθορισμένου αλγορίθμου (Morris , 1993).

2.1.4 Κλίμακα Νευροψυχιατρικής εκτίμησης (Neuropsychiatric Inventory, NPI)

Η κλίμακα Neuropsychiatric Inventory δημιουργήθηκε με σκοπό να προσφέρει ένα εργαλείο για την εκτίμηση των νευροψυχιατρικών συμπτωμάτων και της ψυχοπαθολογίας σε ασθενείς με νόσο Alzheimer και άλλες νευροεκφυλιστικές παθήσεις (Cumplings και συν., 1994). Η κλίμακα εξετάζει 12 τομείς διαταραχών της συμπεριφοράς: παραληρητικές ιδέες, ψευδαισθήσεις, επιθετικότητα, κατάθλιψη, άγχος, διάθεση ευφορίας, απάθεια, άρση αναστολών, ευερεθιστότητα, παθολογική κινητική συμπεριφορά, διαταραχές συμπεριφοράς τη νύχτα και διαταραχές πρόσληψης τροφής. Οι πληροφορίες πρέπει να συλλέγονται από αξιόπιστο πληροφοριοδότη, κατά προτίμηση κάποιον που συζεί με τον ασθενή και αναφέρονται σε αλλαγές της συμπεριφοράς τον τελευταίο μήνα. Η συνέντευξη περιλαμβάνει ένα σύνολο ανιχνευτικών ερωτήσεων για κάθε τομέα και αν η απάντηση είναι θετική, τότε ακολουθούν διευκρινιστικά υποερωτήματα (Kaufar και συν., 2000). Ολοκληρώνοντας κάθε τομέα, ο φροντιστής καλείται να εκτιμήσει τη σοβαρότητα και τη συχνότητα εμφάνισης της διαταραχής. Η σοβαρότητα βαθμολογείται από 1-3 και η συχνότητα από 1-4, έτσι ώστε το τελικό γινόμενο να έχει μέγιστο όριο το 12 (Forester και συν., 2003). Το άθροισμα των επιμέρους γινομένων κάθε τομέα

αποτελεί την τελική βαθμολογία. Κατόπιν βαθμολογούν το δικό τους επίπεδο ανησυχίας με 0-5 και το άθροισμα αυτών αποτελεί ξεχωριστή κλίμακα για την ψυχολογική επιβάρυνση των φροντιστών (Kaufert και συν., 1998).

Η εξέταση διαρκεί περίπου 30 λεπτά και αποτελεί ένα πολύ αξιόπιστο εργαλείο (Rush και συν., 2008), ενώ είναι σταθμισμένη και σε ελληνικό πληθυσμό (Politis και συν., 2004).

2.1.5 Κλίμακα Cornell Scale for Depression in Dementia (CSDD)

Η κλίμακα Cornell δημιουργήθηκε ειδικά για την εκτίμηση σημείων και συμπτωμάτων μείζονος κατάθλιψης σε ασθενείς με άνοια. Οι πληροφορίες εκμαιεύονται τόσο από τον ασθενή, όσο και από το συνοδό πληροφοριοδότη μέσω διεξοδικής συζήτησης διάρκειας περίπου 20 λεπτών. Κατά τη συνέντευξη με το συνοδό γίνεται μια πρώτη εκτίμηση και βαθμολόγηση, συμπληρώνοντας την αντίστοιχη στήλη του ερωτηματολογίου. Κατόπιν το ερωτηματολόγιο χρησιμοποιείται ως οδηγός για την εκτίμηση του ασθενούς, με τον εξεταστή να εστιάζει σε καταθλιπτικά συμπτώματα και σημεία, που εμφανίστηκαν την τελευταία εβδομάδα. Η λεπτομερής επισκόπηση του ασθενούς μπορεί να βοηθήσει στη συμπλήρωση του ερωτηματολογίου. Αν υπάρχουν σημεία αντίφασης στις απαντήσεις ασθενούς και πληροφοριοδότη, ο εξεταστής επανέρχεται σε αυτά με διευκρινιστικές ερωτήσεις, ώστε να τα ξεδιαλύνει. Η τελική βαθμολόγηση αντιπροσωπεύει κυρίως την κλινική εκτίμηση του εξεταστή και λιγότερο τις απαντήσεις από τον ασθενή και το συνοδό.

Κάθε ερώτημα βαθμολογείται αναλόγως της σοβαρότητας από 0-2 (0=απουσία σημείου ή συμπτώματος, 1=ήπια ή μέτρια διαταραχή, 2=σοβαρή διαταραχή). Οι επιμέρους βαθμολογίες αθροίζονται και ένα αποτέλεσμα άνω του 10 καταδεικνύει την πιθανότητα ύπαρξης μείζονος κατάθλιψης, ενώ αυτή θεωρείται βέβαιη σε ασθενείς με βαθμολογία άνω του 18. Ένα αποτέλεσμα κάτω του 6 υποδηλώνει απουσία σημαντικών καταθλιπτικών συμπτωμάτων (Alexopoulos και συν., 1988).

Η κλίμακα έχει αποδειχτεί έγκυρη και αξιόπιστη ανεξάρτητα από τη σοβαρότητα της άνοιας του ασθενούς και αποτελεσματικότερη σε σύγκριση με άλλες κλίμακες (Müller-Thomsen και συν., 2005), ενώ έχει σταθμιστεί και σε ελληνικό πληθυσμό (Politis και συν., 2006).

2.1.6 Κλίμακα για την εκτίμηση των καθημερινών δραστηριοτήτων (Alzheimer's Disease Cooperative Study-Activities of Daily Living, ADCS-ADL)

Η κλίμακα Alzheimer's Disease Cooperative Study-Activities of Daily Living δημιουργήθηκε μετά τη μελέτη 45 καθημερινών δραστηριοτήτων και την επιλογή 23 από αυτών, που αποδείχτηκαν ευαίσθητες σε μεταβολές κατά τη διάρκεια 12 μηνών, είχαν θετική συσχέτιση με την κλίμακα MMSE και καλή αξιοπιστία ελέγχου-επανελέγχου (test-retest reliability). Η συμπλήρωσή της διαρκεί περίπου 20 λεπτά (Burns και συν., 2002), κατά την οποία ζητείται από τον πληροφοριοδότη-φροντιστή να περιγράψει ενέργειες και συμπεριφορές του ασθενούς κατά τη διάρκεια των τελευταίων 4 εβδομάδων. Στο ερωτηματολόγιο περιλαμβάνονται απλές καθημερινές δραστηριότητες, όπως σίτιση και βάδιση, αλλά και πιο σύνθετες δεξιότητες, όπως ψώνια, προσωπικά ενδιαφέροντα και χρήση ηλεκτρικών συσκευών (Goldberg και συν., 2010). Για κάθε δραστηριότητα, είτε υπάρχουν περιγραφές διαβαθμισμένου επιπέδου προς επιλογή, είτε ερωτάται αν η δραστηριότητα πραγματοποιήθηκε αυτόνομα, με επίβλεψη ή με βοήθεια (Galasko και συν., 1997). Η τελική βαθμολογία κυμαίνεται από 0-78, όπου το 78 υποδηλώνει πλήρη λειτουργικότητα χωρίς διαταραχές (Livingston και συν., 2004).

Η απώλεια της ικανότητας εκτέλεσης καθημερινών δραστηριοτήτων αποτελεί ουσιώδες κριτήριο για τη διάγνωση της άνοιας, ενώ επηρεάζει σημαντικά το μέγεθος και την ποιότητα της φροντίδας του ασθενούς. Για το λόγο αυτό συνίσταται η εκτίμησή της από εκπαιδευμένο ιατρικό προσωπικό, σύμφωνα με τις διεθνείς κατευθυντήριες οδηγίες που εξέδωσε η European Federation of Neurological Societies (EFNS) (Επίπεδο A) (Waldemara και συν., 2007). Η αξιολόγηση αυτή είναι χρήσιμη από τα πρώτα στάδια της ήπιας γνωστικής έκπτωσης (Pedrosa και συν., 2010), μέχρι το επίπεδο σοβαρής ανοϊκής διαταραχής (Galasko και συν., 2005).

2.1.7 Κλίμακα σφαιρικής επιδείνωσης (GDS, Global Deterioration Scale)

Η κλίμακα της σφαιρικής επιδείνωσης (GDS) δημοσιεύτηκε για πρώτη φορά από τον Dr. Barry Reisberg και την ομάδα του (Reisberg και συν., 1982), για να παρέχει στους επαγγελματίες υγείας και στους φροντιστές μια επισκόπηση των σταδίων της γνωσιακής λειτουργίας των ατόμων, που πάσχουν από πρωτοπαθή εκφυλιστική άνοια, όπως είναι η νόσος Alzheimer. Διαιρείται σε 7 διαφορετικά στάδια. Τα τρία πρώτα είναι τα στάδια προ-άνοιας, ενώ τα επόμενα 4-7 είναι τα

στάδια της άνοιας. Από το στάδιο 5, το άτομο δεν μπορεί πλέον να επιβιώσει χωρίς βοήθεια.

Στην κλίμακα αυτή κάθε στάδιο αριθμείται (1-7), δίνεται ένας σύντομος τίτλος και ακολουθεί μια σύντομη περιγραφή των χαρακτηριστικών για κάθε στάδιο:

- Στάδιο 1: Υποκειμενικά και αντικειμενικά φυσιολογικός
- Στάδιο 2: Υποκειμενικά παράπονα για γνωσιακό έλλειμμα
- Στάδιο 3: Ήπια γνωστική διαταραχή
- Στάδιο 4: Ήπια άνοια
- Στάδιο 5: Μέτρια άνοια
- Στάδιο 6: Μετρίως σοβαρή άνοια
- Στάδιο 7: Σοβαρή άνοια

Οι φροντιστές μπορούν να αντιληφθούν σε ποιο στάδιο στην εξέλιξη της νόσου βρίσκεται ο ασθενής, παρατηρώντας τα χαρακτηριστικά της συμπεριφοράς του ατόμου και συγκρίνοντάς τα με την GDS. Είναι μία σύντομης διάρκειας (5-10 λεπτών) κλίμακα, εύκολη και ευρέως χρησιμοποιούμενη από τους επαγγελματίες υγείας.

2.1.8 Αιμοληψία

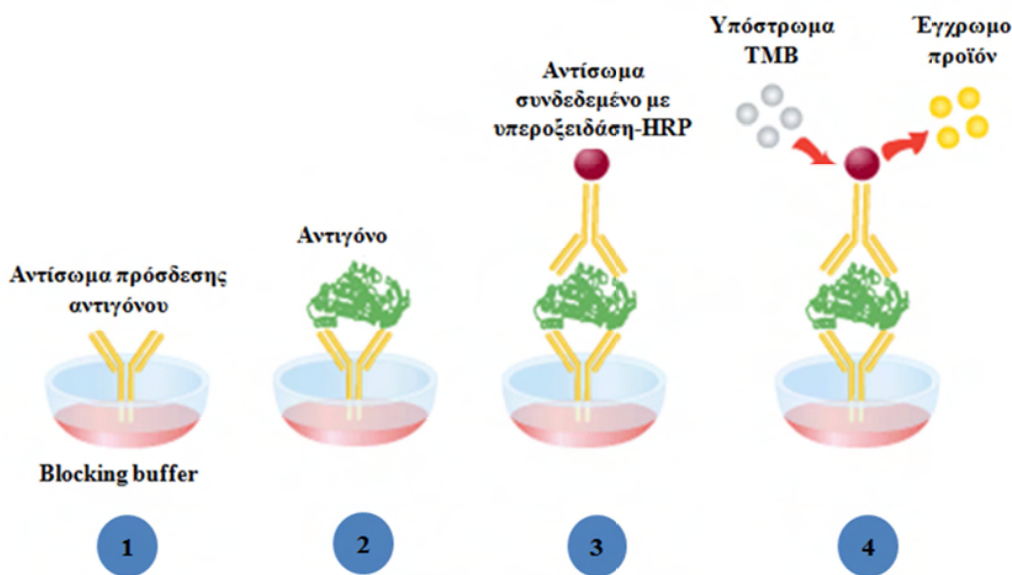
Σε κάθε συμμετέχοντα έγινε λήψη πρωινού αίματος νηστείας χρησιμοποιώντας την τυποποιημένη τεχνική φλεβοκέντησης, το οποίο τοποθετήθηκε σε σωληνάρια πήγματος ή με EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid) ή ηπαρίνη. Η ποσότητα του αίματος που ελήφθη ήταν 20 ml ανά άτομο. Το υλικό μεταφερόταν σε συνθήκες ψύξης στο Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών για περαιτέρω επεξεργασία εντός 4 ωρών από τη συλλογή του. Τα 10 ml αίματος, στη συνέχεια, φυγοκεντρώνταν στις 1500 rpm για 15 min και το απομονωθέν πλάσμα ή ορός αποθηκευόταν στους -80 °C μέχρι την ανάλυσή του, ενώ το υπολειπόμενο πήγμα μεταφερόταν κατεψυγμένο σε εξειδικευμένο εργαστήριο για γενετική ανάλυση. Τα άλλα 10 ml αίματος υποβάλλονταν σε διαδικασία απομόνωσης των μονοπύρηνων κυττάρων του περιφερικού αίματος, τα οποία αποθηκεύονταν σε υγρό άζωτο έως την ανάλυσή τους.

2.2. Ανοσοενζυμικές αναλύσεις

Οι συγκεντρώσεις της CRP, των λιπιδαιμικών παραγόντων (λιποπρωτεΐνη Α, απολιποπρωτεΐνη Α1, αυτοαντισώματα κατά της οξειδωμένης χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης) και των κυτταρικών μορίων προσκόλλησης VCAM-1 και ICAM-1 στον ορό μετρήθηκαν με τη μέθοδο της ενζυμικής-ανοσοπροσροφητικής μεθόδου στερεάς φάσης (Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay, ELISA). Όλες οι μετρήσεις επιτελέστηκαν στον αυτόματο αναλυτή Chemwell (της εταιρείας Awareness, ΗΠΑ). Η μέθοδος ELISPOT χρησιμοποιήθηκε για την καταμέτρηση του αριθμού των μονοπύρηνων κυττάρων, που παράγουν τις κυτοκίνες που μελετήθηκαν.

2.2.1. Μέθοδος ενζυμικής-ανοσοπροσροφητικής μεθόδου στερεάς φάσης (Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay, ELISA)

Η ELISA είναι μια βιοχημική μέθοδος, η οποία χρησιμοποιείται κυρίως στην ανοσολογία για να ανιχνεύσει τη παρουσία ενός αντιγόνου ή ενός αντισώματος σε ένα δείγμα. Στην ELISA μια άγνωστη ποσότητα του αντιγόνου ακινητοποιείται σε μια επιφάνεια και στη συνέχεια ένα ειδικό αντίσωμα απλώνεται σ' αυτή την επιφάνεια, ώστε να προστεθεί στο αντιγόνο. Αυτό το αντίσωμα είναι συνδεδεμένο με ένα ένζυμο, το οποίο με την προσθήκη ενός υποστρώματος μπορεί να οδηγήσει στην παραγωγή μιας χρωμογόνου ένωσης. Η συγκέντρωση της χρωμογόνου ουσίας, μπορεί να μετρηθεί φασματοφωτομετρικά και έτσι να υπολογιστεί και η συγκέντρωση της υπό εξέταση ουσίας. Στην παρούσα εργασία η χρησιμοποιήθηκε μια παραλλαγή της ELISA, η Sandwich ELISA. Σε αυτή την τεχνική, αρχικά ένα αντίσωμα ειδικό για το αντιγόνο ακινητοποιείται στην επιφάνεια. Κατόπιν προστίθεται το αντιγόνο, το οποίο προσδένεται από το αντίσωμα. Στο τέλος προστίθεται το δεύτερο αντίσωμα, που είναι συνδεδεμένο με το ένζυμο και παράγει τη χρωμογόνο ένωση (Εικ.7).



Εικόνα 7. Αρχή της μεθόδου σάντουιτς ELISA.

2.2.1.1 Ποσοτικός προσδιορισμός του διαλυτού μορίου προσκόλλησης *Vascular Cellular Adhesion Molecule-1 (sVCAM-1)* στα δείγματα πλάσματος

Η τυποποιημένη συσκευασία (kit) για τον προσδιορισμό του VCAM-1 (Diaclone Research, France) αποτελεί μια ενζυμική-ανοσοπροσροφητική μέθοδο στερεάς φάσης (Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay, ELISA), που χρησιμοποιεί ένα ειδικό για το VCAM-1 μονοκλωνικό αντίσωμα, το οποίο είναι εκ των προτέρων καθηλωμένο στα φρεάτια (wells) ειδικών πλακιδίων (microtiter strips). Τα πρότυπα διαλύματα γνωστών συγκεντρώσεων sVCAM-1, τα διαλύματα μαρτύρων, καθώς και τα άγνωστα δείγματα μεταγγίζονται με πιπέτα σε αυτά τα φρεάτια. Κατά τη διάρκεια της πρώτης επώασης, το sVCAM-1 αντιγόνο και το συνδεδεμένο με βιοτίνη ειδικό για το sVCAM-1 μονοκλωνικό αντίσωμα, επωάζονται ταυτόχρονα. Μετά από πλύση, προστίθεται το ένζυμο στρεπταβιδίνη-υπεροξειδάση. Μετά από επώαση και εκ νέου πλύση για να απομακρυνθεί το αδέσμευτο ένζυμο, προστίθεται ένα διάλυμα υποστρώματος (substrate solution), το οποίο δρα στο δεσμευμένο ένζυμο και οδηγεί στο σχηματισμό ενός έγχρωμου προϊόντος. Η πυκνότητα αυτού του προϊόντος είναι ευθέως ανάλογη της συγκέντρωσης του sVCAM-1 του δείγματος.

Μέθοδος

100 μL προτύπου διαλύματος sVCAM-1 (με διακύμανση συγκέντρωσης από 50 έως 1,56 ng/mL), δείγματος πλάσματος ή δείγματος μάρτυρα προστίθενται στα φρεάτια του πλακιδίου (microwell plate) και ακολουθεί η προσθήκη 50 μL διαλυμένου anti-sVCAM-1 αντισώματος συνδεδεμένου με βιοτίνη. Το πλακίδιο καλύπτεται και επώάζεται για 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου ($18^{\circ}\text{C} - 25^{\circ}\text{C}$). Στο τέλος του χρόνου επώασης, το πλακίδιο πλένεται τρεις φορές με ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης (washing buffer) και στη συνέχεια διανέμονται 100 μL διαλύματος στρεπταβιδίνης-HRP (horseradish peroxidase) σε όλα τα φρεάτια, συμπεριλαμβανομένων και των κενών (blank wells). Το πλακίδιο καλύπτεται εκ νέου και επώάζεται για 30 min σε θερμοκρασία δωματίου.

Μετά από τρεις εκπλύσεις, προστίθενται σε όλα τα φρεάτια 100 μL έτοιμου προς χρήση διαλύματος υποστρώματος (substrate solution) τετραμεθυλβενζιδίνης (TMB). Το πλακίδιο, στη συνέχεια, επώάζεται στο σκοτάδι για 12-15 min σε θερμοκρασία δωματίου. Η έκθεση στο φως αποφεύγεται με την περιτύλιξη της πλάκας με αλουμινόχαρτο.

Η αντίδραση ενζύμου-υποστρώματος σταματά μετά από γρήγορη μετάγγιση με πιπέτα 100 μL τερματικού αντιδραστηρίου ($\text{H}_2\text{SO}_4^{2+}$ stop reagent) σε κάθε φρεάτιο, για να απενεργοποιηθεί το ένζυμο ομοιόμορφα και ολοκληρωτικά. Τα αποτελέσματα μετρώνται στο φωτόμετρο αμέσως μετά την προσθήκη του αντιδραστηρίου $\text{H}_2\text{SO}_4^{2+}$. Η απορρόφηση κάθε φρεατίου μετρήθηκε με φασματοφωτόμετρο Chemwell (Awareness, USA) με τη χρησιμοποίηση πρωτίστως μήκους κύματος 450 nm ή εναλλακτικά 620 nm, ως μήκος κύματος αναφοράς.

Η ανάλυση των στοιχείων έγινε με τη δημιουργία μιας γραμμικής καμπύλης αναφοράς αντιστοιχίζοντας τις απορροφήσεις στον κάθετο άξονα με τις συγκεντρώσεις του sVCAM-1 των προτύπων διαλυμάτων στον οριζόντιο άξονα. Ο υπολογισμός της ποσότητας του sVCAM-1 σε κάθε δείγμα πλάσματος, έγινε προεκτείνοντας τις τιμές των απορροφήσεων επάνω στην καμπύλη, ώστε στη συνέχεια να προκύψουν οι αντίστοιχες συγκεντρώσεις στον οριζόντιο άξονα.

Η μέση συγκέντρωση του sVCAM-1 σε φυσιολογικά δείγματα πλάσματος (σύμφωνα με τον κατασκευαστή, Diaclone Research, France) ήταν 626 ± 340 ng/mL, όπως υπολογίστηκε στο πλάσμα 80 υγιών ανθρώπων. Η ελάχιστη ανιχνεύσιμη δόση sVCAM-1 ήταν 0,6 ng/mL. Οι ανώτερες τιμές σε μία μέτρηση (intra-assay) ήταν $48,79 \pm 0,221$, CV 0,45% ενώ οι κατώτερες ήταν $5,81 \pm 0,132$, CV 2,27%.

2.2.1.2 Ποσοτικός προσδιορισμός του διαλυτού μορίου προσκόλλησης *Inter Cellular Adhesion Molecule-1 (sICAM-1)* στα δείγματα πλάσματος

Η τυποποιημένη συσκευασία (kit) για τον προσδιορισμό του ICAM-1 αποτελεί μια ενζυμική-ανοσοπροσροφητική μέθοδο στερεάς φάσης (Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay, ELISA), που χρησιμοποιεί ένα ειδικό για το ICAM-1 μονοκλωνικό αντίσωμα, το οποίο είναι εκ των προτέρων στερεωμένο σε φρεάτια (wells) ειδικών πλακιδίων (microtiter strips). Τα πρότυπα διαλύματα γνωστών συγκεντρώσεων sICAM-1, τα διαλύματα μαρτύρων, καθώς και τα άγνωστα δείγματα μεταγγίζονται με πιπέττα σε αυτά τα φρεάτια. Κατά τη διάρκεια της πρώτης επώασης, το sICAM-1 αντιγόνο και το συνδεδεμένο με βιοτίνη ειδικό για το sICAM-1 μονοκλωνικό αντίσωμα, επωάζονται ταυτόχρονα. Μετά από πλύση, προστίθεται το ένζυμο στρεπταβιδίνη-υπεροξειδάση. Στη συνέχεια, κατόπιν επώασης και έκπλυσης για να απομακρυνθεί το αδέσμευτο ένζυμο, προστίθεται ένα διάλυμα υποστρώματος, το οποίο δρα στο δεσμευμένο ένζυμο και οδηγεί στο σχηματισμό ενός έγχρωμου προϊόντος. Η πυκνότητα αυτού του προϊόντος είναι ανάλογη της συγκέντρωσης του sICAM-1 του δείγματος.

Μέθοδος

100 μL προτύπου διαλύματος sICAM-1 (με διακύμανση συγκέντρωσης από 8 έως 0.25 ng/mL), δείγματος πλάσματος ή δείγματος μάρτυρα προστίθενται στα φρεάτια του πλακιδίου (microwell plate) και ακολουθεί η προσθήκη 50 μL διαλυμένου anti-sICAM-1 αντισώματος συνδεδεμένου με βιοτίνη. Το πλακίδιο καλύπτεται και επωάζεται για 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου ($18^{\circ}\text{C} - 25^{\circ}\text{C}$). Στο τέλος της επώασης, το πλακίδιο πλένεται τρεις φορές με ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης και στη συνέχεια διανέμονται 100 μL διαλύματος στρεπταβιδίνης-HRP σε όλα τα φρεάτια, συμπεριλαμβανομένων και των τυφλών φρεατίων (blank wells). Το πλακίδιο ξανακαλύπτεται και επωάζεται για 30 min σε θερμοκρασία δωματίου.

Μετά από τρεις εκπλύσεις, προστίθενται σε όλα τα φρεάτια 100 μL διαλύματος υποστρώματος (substrate solution) τετραμεθυλβενζιδίνης (TMB). Το πλακίδιο, στη συνέχεια, επωάζεται στο σκοτάδι για 12-15 min σε θερμοκρασία δωματίου. Η έκθεση στο φως αποφεύγεται με την περιτύλιξη της πλάκας με αλουμινόχαρτο.

Η αντίδραση ενζύμου-υποστρώματος σταματά μετά από γρήγορη μετάγγιση με πιπέτα 100 μL $\text{H}_2\text{SO}_4^{2+}$ σε κάθε φρεάτιο, επιτυγχάνοντας τον τερματισμό της αντίδρασης (stop reagent), για να απενεργοποιηθεί το ένζυμο ομοιόμορφα και

ολοκληρωτικά. Τα αποτελέσματα μετρώνται στο φωτόμετρο αμέσως μετά την προσθήκη του αντιδραστηρίου $H_2SO_4^{2+}$. Οι απορροφήσεις μετρήθηκαν με φασματοφωτόμετρο Chemwell (Awareness, USA) με τη χρησιμοποίηση μήκους κύματος 450 nm ή εναλλακτικά 620 nm, ως μήκος κύματος αναφοράς.

Η ανάλυση των στοιχείων έγινε με τη δημιουργία μιας γραμμικής καμπύλης αναφοράς αντιστοιχίζοντας τις απορροφήσεις στον κάθετο άξονα με τις συγκεντρώσεις του sICAM-1 των προτύπων διαλυμάτων στον οριζόντιο άξονα. Ο υπολογισμός της ποσότητας του sICAM-1 σε κάθε δείγμα πλάσματος, έγινε προεκτείνοντας τις τιμές των απορροφήσεων επάνω στην καμπύλη, ώστε στη συνέχεια να προκύψουν οι αντίστοιχες συγκεντρώσεις στον οριζόντιο άξονα.

Η μέση συγκέντρωση του sICAM-1 σε φυσιολογικά δείγματα πλάσματος, σύμφωνα με τον κατασκευαστή (Diacclone Research, France) ήταν 571 ± 168 ng/mL, όπως υπολογίστηκαν σε 77 υγιείς ανθρώπους. Η ελάχιστη ανιχνεύσιμη συγκέντρωση sICAM-1 ήταν 0,1 ng/mL. Οι ανώτερες τιμές για μία μέτρηση (intra-assay) ήταν $7,82 \pm 0,081$, CV 1,03% και οι κατώτερες $1,17 \pm 0,033$, CV 2,82%. Οι ανώτερες τιμές μεταξύ-αναλύσεων (inter-assay) ήταν $8,05 \pm 0,317$, CV 3,93% και οι κατώτερες $1,03 \pm 0,084$, CV 8,15%.

2.2.1.3 Ποσοτικός προσδιορισμός της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP) των δειγμάτων πλάσματος

Η υψηλής ευαισθησίας μέθοδος ELISA για τη CRP (Diagnostic Automation, Inc, U.S.A.) βασίζεται στις αρχές της ενζυμικής-ανοσοπροσροφητικής μεθόδου στερεάς φάσης. Η διαδικασία περιλαμβάνει τη χρησιμοποίηση ενός μοναδικού μονοκλωνικού αντισώματος που κατευθύνεται εναντίον ενός ειδικού αντιγονικού καθοριστή του μορίου της CRP. Αυτό το μονοκλωνικό αντι-CRP αντίσωμα ποντικού χρησιμοποιείται για την καθήλωση του αντιγόνου στη στερεά φάση των φρεατίων του πλακιδίου (microtiter wells). Ένα αντι-CRP αντίσωμα κατσίκας υπάρχει στο διάλυμα σύνδεσης αντισώματος-ενζύμου (υπεροξειδάση: horseradish peroxidase). Το υπό εξέταση δείγμα αντιδρά ταυτόχρονα με τα δύο αντισώματα, με αποτέλεσμα τα μόρια της CRP να παγιδούνται (δίκηνη σάντουιτς) μεταξύ της στερεάς φάσης και των αντισωμάτων που είναι συνδεδεμένα με ένζυμο. Μετά από επώαση 45 min σε θερμοκρασία δωματίου, τα φρεάτια εκπλύονται με νερό, για να απομακρυνθούν τα αδέσμευτα σημασμένα αντισώματα. Στη συνέχεια, προστίθεται αντιδραστήριο TMB και επακολουθεί επώαση για 20 min με αποτέλεσμα την εμφάνιση μπλε χρώματος. Η

μπλε χρώση τερματίζεται με την προσθήκη 1N HCl, με συνέπεια το χρώμα να μεταβληθεί σε κίτρινο. Η συγκέντρωση της CRP είναι ευθέως ανάλογη της πυκνότητας του χρώματος του δείγματος.

Μέθοδος

Τα δείγματα πλάσματος των «συμμετεχόντων» και του μάρτυρα αραιώνονται σε αναλογία 1:100 με αποσταγμένο νερό πριν το πείραμα. 10 μ L από μη αραιωμένα πρότυπα διαλύματα CRP (standards) (εύρος συγκεντρώσεων από 0 έως 0,1mg/ml), από αραιωμένα δείγματα και δείγμα μάρτυρα, μεταγγίζονται στα φρεάτια (wells) του πλακιδίου και στη συνέχεια προστίθενται σε κάθε φρεάτιο 100 μ L του αντιδραστηρίου που περιέχει το ένζυμο (CRP Enzyme Conjugate Reagent). Μετά από επιμελή και έντονη ανάμιξη για 30 sec, το πλακίδιο επωάζεται σε θερμοκρασία δωματίου (18⁰C - 25⁰C) για 45 min. Ακολούθως, γίνεται έκπλυση 5 φορές με απιονισμένο ή αποσταγμένο νερό, προστίθενται 100 μ L διαλύματος TMB σε κάθε φρεάτιο και γίνεται ήπια ανάμιξη για 5 sec. Το πλακίδιο επωάζεται σε θερμοκρασία δωματίου για 20 min και η αντίδραση σταματά με την προσθήκη 100 μ L τερματικού διαλύματος (Stop Solution, 1N HCl) σε κάθε φρεάτιο. Μετά από ήπια ανάμιξη 30 sec, το μπλε χρώμα μετατρέπεται εντελώς σε κίτρινο και η απορρόφηση μετράται σε μήκος κύματος 450 nm εντός 15 min. Στην παρούσα μελέτη η μέτρηση έγινε με φασματοφωτόμετρο Chemwell (Awareness, USA).

Οι τιμές της CRP κυμαίνονται στους υγιείς ενήλικες μεταξύ 0,068 και 8,2 mg/L, ενώ το κατώτερο όριο της μεθόδου είναι \approx 0,1 mg/L CRP και το ανώτερο = 10 mg/L CRP σύμφωνα με τους κατασκευαστές (Linear Chemicals, Spain) και τη βιβλιογραφία (Tietz, 1995). Για τη διακύμανση σε μία μέτρηση (intra-assay), οι κατώτερες τιμές ήταν $0,546 \pm 0,041$ mg/l, CV 7,5% και οι ανώτερες $17,549 \pm 0,397$, CV 2,3%. Για τη διακύμανση μεταξύ-αναλύσεων (inter-assay), οι κατώτερες τιμές ήταν $0,490 \pm 0,020$, CV 4,1% και οι ανώτερες $17,432 \pm 0,438$, CV 2,5%.

Ακρίβεια

A) Ακρίβεια εντός του ίδιου κύκλου (intra-assay)

Η ακρίβεια εντός του ίδιου κύκλου καθορίστηκε από επαναλαμβανόμενους προσδιορισμούς 5 διαφορετικών δειγμάτων πλάσματος σε μία ανάλυση. Η διακύμανση φαίνεται κατωτέρω:

Πίνακας 5. Ακρίβεια εντός του ίδιου κύκλου της μεθόδου προσδιορισμού της CRP

Δείγμα	1	2	3	4	5
#Επαναλήψεις	22	22	22	22	20
Μέση τιμή CRP (mg/L)	0.546	0.894	2.021	3.492	17.549
SD	0.041	0.037	0.085	0.146	0.397
CV (%)	7.5	4.1	4.2	4.1	2.3

B) Ακρίβεια μεταξύ κύκλων (inter-assay)

Η ακρίβεια μεταξύ κύκλων καθορίστηκε από επαναλαμβανόμενες μετρήσεις 5 διαφορετικών δειγμάτων πλάσματος σε μια σειρά ξεχωριστά βαθμονομημένων (calibrated) αναλύσεων. Η διακύμανση φαίνεται κατωτέρω:

Πίνακας 6. Ακρίβεια μεταξύ κύκλων της μεθόδου προσδιορισμού της CRP

Δείγμα	1	2	3	4	5
#Επαναλήψεις	20	20	20	20	20
Μέση τιμή CRP (mg/L)	0.490	0.890	1.925	3.529	17.435
SD	0.020	0.023	0.078	0.114	0.438
CV (%)	4.1	2.5	4.1	3.2	2.5

2.2.1.4 Ποσοτικός προσδιορισμός της απολιποπρωτεΐνης A-I (ApoA-I) των δειγμάτων πλάσματος

Η τυποποιημένη συσκευασία (kit) για τον προσδιορισμό της ApoA-1 (ALERCHEK, U.S.A.) αποτελεί μια ενζυμική-ανοσοπροσροφητική μέθοδο στερεάς φάσης (Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay, ELISA), που χρησιμοποιεί λωρίδες πλακιδίων μικροφρεατίων (microwell strips), όπου υπάρχει προσροφημένο αντίσωμα έναντι της ανθρώπινης ApoA-1. Τα πρότυπα διαλύματα γνωστών συγκεντρώσεων ApoA-1, τα διαλύματα μαρτύρων, καθώς και τα δείγματα ασθενών μεταγγίζονται με πιπέτα σε αυτά τα φρεάτια. Με τη σύνδεση αντιγόνου-αντισώματος δημιουργούνται ανοσοσυμπλέγματα. Στη συνέχεια προστίθεται δεύτερο αντίσωμα συζευγμένο με ένζυμο (HRP), το οποίο συνδέεται με τα ήδη υπάρχοντα ανοσοσυμπλέγματα. Έπειτα από επώαση και έκπλυση για να απομακρυνθεί το αδέσμευτο ένζυμο, προστίθεται ένα διάλυμα υποστρώματος (TMB/Peroxide), το οποίο αντιδρά με το δεσμευμένο ένζυμο και οδηγεί στο σχηματισμό ενός έγχρωμου προϊόντος. Η πυκνότητα αυτού του προϊόντος είναι ανάλογη της συγκέντρωσης της ApoA-1 του δείγματος.

Μέθοδος

Κάθε δείγμα πλάσματος ή ορού αραιώθηκε σε αναλογία 1:10.000 με το αραιωμένο ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης πριν το πείραμα. 100 µL αραιωμένου δείγματος ή προτύπου διαλύματος ApoA-1 ή δείγματος μάρτυρα διανεμήθηκαν στα αντίστοιχα φρεάτια και επώαστηκαν για 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Μετά από εκκένωση και έκπλυση (x4) με το ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης, προστέθηκαν 100 µL του συζευγμένου με κεκαθαρωμένο anti-ApoA-1 κατσίκας HRP σε όλα τα φρεάτια και έγινε εκ νέου επώαση για 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου.

Το πλακίδιο εκκενώθηκε και πλύθηκε 4 φορές με το διάλυμα έκπλυσης και προστέθηκαν 100 µL διαλύματος ανάπτυξης χρώματος του υποστρώματος (substrate solution) τετραμεθυλβενζιδίνης (TMB)/υπεροξειδίου του υδρογόνου. Το μίγμα επώαστηκε για 30 min σε θερμοκρασία δωματίου και διακόψαμε την αντίδραση με την προσθήκη 100 µL 0.5N θειικού οξέος.

Ο αυτόματος αναλυτής μηδενίστηκε στα 450 nm, χρησιμοποιώντας το κενό ρυθμιστικό φρεάτιο και υπολογίστηκε η οπτική πυκνότητα (optical density, O.D.) στα υπόλοιπα φρεάτια. Ακολούθησε ο σχεδιασμός μιας πρότυπης καμπύλης χρησιμοποιώντας τις O.D. τιμές, που λαμβάνονται για κάθε ένα από τα πρότυπα διαλύματα της ApoA-1 και από την καμπύλη αυτή μπορούν προσδιορίστηκαν οι τιμές συγκέντρωσης στα δείγματα των ασθενών.

Το κατώτερο όριο της μεθόδου είναι = 9,375 mg/dL ApoA-1 και το ανώτερο = 600,0 mg/dL ApoA-1. Η επαναληψιμότητα της μεθόδου κυμαίνεται από 6-10%, ανάλογα με την περιοχή της πρότυπης καμπύλης.

2.2.1.5 Ποσοτικός προσδιορισμός της ολικής λιποπρωτεΐνης A (Lp(a)) των δειγμάτων πλάσματος

Η τυποποιημένη συσκευασία (kit) για τον προσδιορισμό της Lp(a) (Diagnostic Automation, Inc, U.S.A.) αποτελεί μια ενζυμική-ανοσοπροσοφορητική μέθοδο στερεάς φάσης (Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay, ELISA) τύπου “sandwich”. Η Lp(a) των δειγμάτων πλάσματος και των προτύπων διαλυμάτων ενώνεται με αντισώματα προσροφημένα στο πλακίδιο μικροτιτλοποίησης. Μετά από ένα στάδιο έκπλυσης προστίθεται ένα αντίσωμα ανίχνευσης σημασμένο με HRP. Ένα δεύτερο στάδιο έκπλυσης ακολουθείται από την προσθήκη του χρωμογόνου υποστρώματος TMB, το οποίο αντιδρώντας με την υπεροξειδάση χρωματίζεται μπλε. Η αντίδραση τερματίζεται με την προσθήκη ενός όξινου διαλύματος παύσης και την αλλαγή του

χρώματος σε κίτρινο. Η ένταση του χρώματος είναι ανάλογη της συγκέντρωσης της Lp(a) στο δείγμα.

Μέθοδος

Κάθε δείγμα πλάσματος ή ορού αραιώθηκε σε αναλογία 1:400 με το αραιωτικό δείγματος Lp(a) (Specimen Diluent Green II) πριν το πείραμα. 100 μ L αραιωμένου δείγματος ή προτύπου διαλύματος Lp(a) διανεμήθηκαν στα αντίστοιχα φρεάτια και ακολούθησε επώαση για 60 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Μετά από εκκένωση και έκπλυση (x4) με το αραιωμένο ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης (1:15), προστέθηκαν 100 μ L του συζευγμένου με anti-human Apo B-100 HRP σε όλα τα φρεάτια και έγινε εκ νέου επώαση για 60 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου.

Το πλακίδιο εκκενώθηκε και πλύθηκε 4 φορές με το διάλυμα έκπλυσης και προστέθηκαν 100 μ L χρωμογόνου υποστρώματος τετραμεθυλβενζιδίνης/υπεροξειδίου του υδρογόνου (TMB/peroxide substrate color developer). Το μίγμα επώαστηκε για 30 min σε θερμοκρασία δωματίου και έγινε διακοπή της αντίδρασης με την προσθήκη 100 μ L 0.5N θειικού οξέος.

Ο αυτόματος αναλυτής μηδενίστηκε στα 450 nm, χρησιμοποιώντας το κενό ρυθμιστικό φρεάτιο και υπολογίστηκε η οπτική πυκνότητα (optical density, O.D.) στα υπόλοιπα φρεάτια. Έγινε σχεδιασμός μιας πρότυπης καμπύλης, χρησιμοποιώντας τις O.D. τιμές, που λαμβάνονται για κάθε ένα από τα πρότυπα διαλύματα της Lp(a) και από την καμπύλη αυτή μπορούν προσδιορίστηκαν οι τιμές συγκέντρωσης της Lp(a) στα δείγματα των ασθενών.

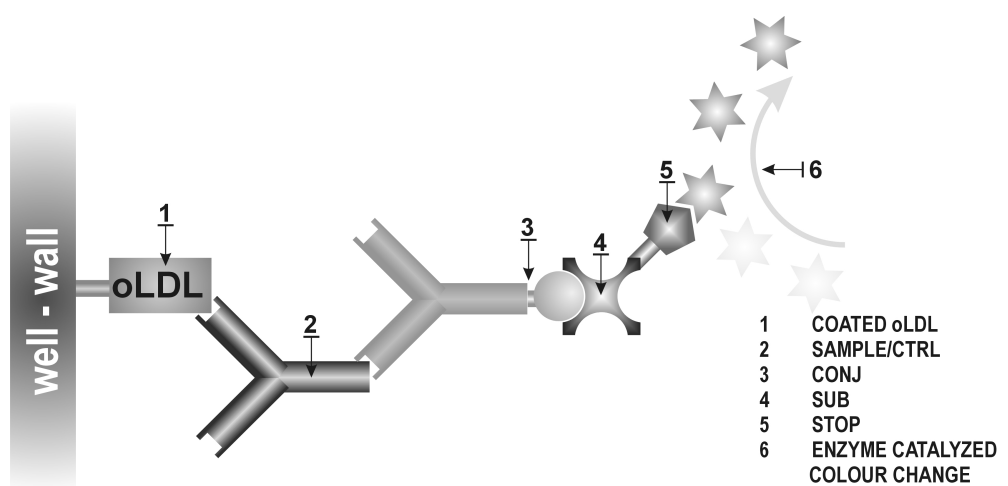
Το κατώτερο όριο της μεθόδου είναι = 0,975 mg/dL Lp(a) και το ανώτερο = 62,4 mg/dL Lp(a). Η επαναληψιμότητα της μεθόδου κυμαίνεται από 4%-8%, ανάλογα με την περιοχή της πρότυπης καμπύλης.

2.2.1.5 Ποσοτικός προσδιορισμός των αυτοαντισωμάτων της οξειδωμένης χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης (anti-oxLDL) των δειγμάτων πλάσματος

Η οξειδωμένη χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη (oxLDL) φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη και εξέλιξη της αθηροσκληρωτικής διαδικασίας. Η συσσώρευση της oxLDL στα μακροφάγα και στα λεία μυϊκά κύτταρα προκαλεί το σχηματισμό των αφρωδών κυττάρων, που αποτελεί το αρχικό στάδιο της νόσου (Vanizor Kural και συν., 2003). Τα αυτοαντισώματα κατά της oxLDL (anti-oxLDL) μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως μια παράμετρος, που αντικατοπτρίζει την εμφάνιση της οξειδωτικής διεργασίας in vivo. Στην πραγματικότητα, ανεβασμένα επίπεδα των

anti-oxLDL έχουν ανιχνευτεί στην αιματική ροή ασθενών με στεφανιαία νόσο (Fang και συν., 2002, McDowell και συν., 2002). Επιπροσθέτως, πρόσφατες μελέτες υποδεικνύουν ότι υπάρχει συσχέτιση μεταξύ των anti-oxLDL και της ανάπτυξης αθηροσκλήρωσης στις καρωτίδες. Αυξημένα επίπεδα των anti-oxLDL έχουν ανευρεθεί και σε άλλες νόσους, όπως είναι η προεκλαμψία και ο συστηματικός ερυθρηματώδης λύκος. Μειωμένα επίπεδα των anti-oxLDL έχουν παρατηρηθεί στη σηψαιμία και στο έμφραγμα του μυοκαρδίου. Έχει δημοσιευτεί μια ανασκόπηση σχετικά με τις κλινικές εφαρμογές των anti-oxLDL.

Η τυποποιημένη συσκευασία (kit) για τον προσδιορισμό των anti-oxLDL στον ορό αποτελεί μια ενζυμική-ανοσοπροσοροφητική μέθοδο (ELISA). Οι ταινίες με τα φρεάτια μικροανάλυσης είναι επιστρωμένα με την οξειδωμένη LDL ως αντιγόνο. Τα αυτοαντισώματα, αν υπάρχουν στα προ-αραιωμένα δείγματα ορού, συνδέονται ειδικά με το αντιγόνο. Μετά από ένα στάδιο έκπλυσης, ένα ειδικό μονοκλωνικό αντίσωμα σημασμένο με υπεροξειδάση (anti human IgG-HRPO) ανιχνεύει την παρουσία των συνδεδεμένων αυτοαντισωμάτων. Ακολουθεί ένας κύκλος πλύσης, ώστε να απομακρυνθεί το αδέσμευτο σύμπλεγμα και προστίθεται τετραμεθυλβενζιδίνη (TMB) στα φρεάτια, ως μη τοξικό χρωμογόνο υπόστρωμα. Ένα αντίσωμα καταλύει την αντίδραση αλλαγής του χρώματος και η συγκέντρωση του ειδικού IgG στο δείγμα είναι ανάλογη της έντασης του χρώματος, η οποία ανιχνεύεται σε έναν τυπικό αναλυτή ELISA (Εικ.8).



Εικόνα 8: Σχηματική παράσταση της μεθόδου προσδιορισμού των anti-oxLDL

Μέθοδος

Διανεμήθηκαν 200 μl από το ρυθμιστικό διάλυμα της δοκιμασίας στα αντίστοιχα φρεάτια, συμπεριλαμβανομένων και των κενών. Κατόπιν προστέθηκαν 20 μl από το προ-αραιωμένο (1:5) πρότυπο διάλυμα / δείγμα ασθενούς / δείγμα μάρτυρα στα αντίστοιχα φρεάτια, εκτός από τα κενά και έγινε απαλή περιδίνηση. Το πλακίδιο καλύφθηκε ερμητικά και έγινε επώαση στους 37° C για 1,5 ώρα. Μετά από αναρρόφηση και έκπλυση (x4) των φρεατίων με 300 μl αραιωμένο ρυθμιστικό διάλυμα, το υπολειπόμενο διάλυμα απομακρύνθηκε, χτυπώντας το πλακίδιο πάνω σε απορροφητικό χαρτί μετά την τελευταία πλύση. Προστέθηκαν 100 μl συζευγμένου μονοκλωνικού αντισώματος σημασμένο με υπεροξειδάση (anti human IgG-HRPO) σε κάθε φρεάτιο. Το πλακίδιο καλύφθηκε ερμητικά και επώαστηκε σε θερμοκρασία δωματίου (18-26°C) για 30 λεπτά. Ακολούθησε ένα στάδιο αναρρόφησης και έκπλυσης με ρυθμιστικό διάλυμα, όπως περιγράφηκε παραπάνω. Κατόπιν προστέθηκαν 100 μl χρωμογόνου υποστρώματος τετραμεθυλβενζιδίνης (TMB) σε κάθε φρεάτιο και ακολούθησε επώαση για 15 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (18-26°C) στο σκοτάδι. Για να σταματήσει η αντίδραση, προστέθηκαν 50 μl τερματικού διαλύματος θεικού οξέος (H₂SO₄) και η απορρόφηση μετρήθηκε άμεσα στα 450 nm με το φίλτρο αναφοράς ρυθμισμένο στα 620 nm.

Για τον υπολογισμό των συγκεντρώσεων, αρχικά αφαιρέθηκε η τιμή του κενού υποστρώματος (διαφάνεια) από την τιμή κάθε δείγματος. Σχεδιάστηκε η πρότυπη καμπύλη από τις τιμές των πρότυπων δειγμάτων και σύμφωνα με αυτήν υπολογίστηκαν οι συγκεντρώσεις των δειγμάτων ασθενών και μαρτύρων.

Η μέση συγκέντρωση των anti-oxLDL σε φυσιολογικά δείγματα πλάσματος, σύμφωνα με τον κατασκευαστή, ήταν 263 mU/mL, όπως υπολογίστηκαν σε 50 υγιείς ανθρώπους. Το πρότυπο εύρος της δοκιμασίας ήταν από 37 έως 1200 mU/mL. Η ελάχιστη ανιχνεύσιμη συγκέντρωση anti-oxLDL ήταν 48m U/mL(37mU/mL+3x SD).

Εύρος τιμών ακρίβειας

A) Ακρίβεια μεταξύ δειγμάτων (intra-assay)

Πίνακας 7. Ακρίβεια μεταξύ των δειγμάτων της μεθόδου προσδιορισμού των anti-oxLDL

Intra-assay (n=8)		
Μέση τιμή (mU/mL)	119	324
SD	4	14
CV (%)	3.6%	4.3%

B) Ακρίβεια μεταξύ δοκιμασιών (inter-assay)

Πίνακας 8. Ακρίβεια μεταξύ δοκιμασιών της μεθόδου προσδιορισμού των anti-oxLDL

Inter-assay (n=5)		
Μέση τιμή (mU/mL)	139	544
SD	11	22
CV (%)	8.2%	4%

2.2.2 ELISPOT (Enzyme-Linked-Immuno-SPOT)

Για τον προσδιορισμό των επιπέδων έκκρισης των κυτοκινών από περιφερικά πολυμορφοπύρηνα κύτταρα αίματος ασθενών και μαρτύρων στη μελέτη, επιλέχθηκε η μέθοδος ELISPOT (Enzyme-Linked-Immuno-SPOT, ELISPOT, ανοσοενζυμική μέθοδος κηλίδας). Η μεθοδολογία αυτή αποτελεί ένα ισχυρό εργαλείο για τον εντοπισμό και την ανάλυση μεμονωμένων κυττάρων, που εκκρίνουν μια ειδική πρωτεΐνη σε συνθήκες εργαστηρίου (Helms και συν., 2000). Έχει το πλεονέκτημα του εντοπισμού των κυττάρων που εκκρίνουν ακόμη και πολύ μικρά ποσά πρωτεϊνών. Βασική αρχή της μεθόδου είναι ο εντοπισμός του εκκρινόμενου από ένα κύτταρο αντισώματος ή αντιγόνου διά της σύνδεσής του με το αντίστοιχο αντιγόνο ή αντίσωμα, το οποίο είναι καθηλωμένο στην επιφάνεια μιας μεμβράνης νιτροκυτταρίνης, στην οποία τοποθετούνται αρχικά τα κύτταρα και κατόπιν απομακρύνονται με πλύσεις. Η σύνδεση εκκρινόμενου αντιγόνου με το αντίστοιχο αντίσωμα ανιχνεύεται χρωματομετρικά.

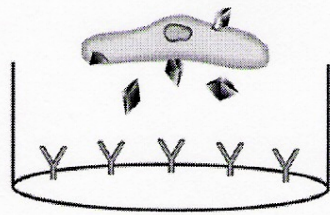
Η μέθοδος χρησιμοποιήθηκε αρχικά για την εκτίμηση της έκκρισης αντισωμάτων από τα Β-λεμφοκύτταρα (Sedgwick και συν., 1983, Czerkinsky και συν., 1983), αλλά σήμερα πιο χρήσιμη εφαρμογή της αποτελεί η εκτίμηση της έκκρισης κυτοκινών (Ronblom και συν., 1988, Czerkinsky και συν., 1988, Fujihashi και συν., 1993). Η μέθοδος ELISPOT παρουσιάζει σημαντικά πλεονεκτήματα σε σχέση με τις υπόλοιπες μεθόδους ανίχνευσης κυτοκινών, επιτρέποντας την εκτενέστερη διερεύνηση της λειτουργίας του ανοσολογικού συστήματος. Πιο συγκεκριμένα έχει την δυνατότητα ανίχνευσης των κυττάρων που εκκρίνουν κυτοκίνες ανάμεσα σε ενεργοποιημένα μονοκύτταρα, κύτταρα μνήμης και σε μια ποικιλία άλλων κυττάρων. Η έκκριση κυτοκινών μπορεί να εξακριβωθεί σε επίπεδο

κυττάρου, επιτρέποντας τον άμεσο και ακριβή καθορισμό του ποσοστού των κυττάρων που εκκρίνουν κυτοκίνες (Czerkinsky και συν., 1988). Επίσης συγκριτικά με άλλες μεθόδους διερεύνησης της παραγωγής και έκκρισης κυτοκινών, η μέθοδος ELISPOT φαίνεται να πλεονεκτεί ως προς την ακρίβεια και την πιστότητα στην ανίχνευση των εκκρινόμενων κυτοκινών. Συγκριτικά με την ELISA - την πλέον διαδεδομένη μέθοδο - και τις βιοχημικές μεθόδους (μέθοδοι ανίχνευσης έκκρισης κυτοκινών βασισμένες στη δράση τους σε κυτταρικές σειρές) η μέθοδος ELISPOT φαίνεται πως είναι πιο ευαίσθητη (Helms και συν., 2000, Tanguay και συν., 1994) και έχει το πλεονέκτημα ότι επιτρέπει τον άμεσο καθορισμό ακόμη και μικρού αριθμού κυττάρων που εκκρίνουν μια κυτοκίνη - οι κυτοκίνες συνήθως εκκρίνονται σε μικρά ποσά (Rininsland και συν., 2000). Οι άλλες δύο μέθοδοι έχουν τα μειονεκτήματα του μη ακριβούς προσδιορισμού του ποσού των εκκριθέντων κυτοκινών, λόγω της αδυναμίας διάκρισης ανάμεσα στις προσληφθείσες και στις εκκριθείσες κυτοκίνες, του μη καθορισμού του εκκρινόντος κυτταρικού τύπου και του μη καθορισμού του χρόνου έκκρισης. Συγκριτικά με την ενδοκυττάρια χρώση ανοσοφθορισμού και τις μεθόδους Northern-Blot και RT-PCR (Reverse transcription polymerase chain reaction), έχει το πλεονέκτημα ότι επιτρέπει τον ακριβή προσδιορισμό της τελικώς παραχθείσας και εκκριθείσας πρωτεΐνης. Αντίθετα, η ενδοκυττάρια χρώση ανοσοφθορισμού εξετάζει το ποσό της ενδοκυτταρίως παραχθείσας κυτοκίνης, που πιθανώς αλλά όχι σίγουρα θα εκκριθεί σε άγνωστο χρόνο, ενώ οι άλλες δύο μέθοδοι το ποσό του ενδοκυτταρίου m-RNA που πιθανώς θα μεταφραστεί σε κυτοκίνη σε άγνωστο χρόνο. Επομένως, είναι σαφές ότι η μέθοδος ELISPOT προσφέρει πλήρη και ακριβή καθορισμό της τελικώς εκκριθείσας κυτοκίνης.

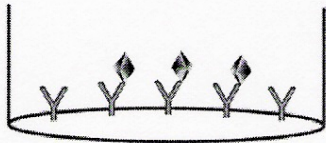
Η αρχή της μεθόδου βασίζεται στην καλλιέργεια μονοπύρηνων κύτταρων σε μεμβράνη νιτροκυτταρίνης τοποθετημένη στο βυθό μιας πλάκας μικροτιλοποίησης 96 εμβυθίσεων, η οποία φέρει συζευγμένο ειδικό αντίσωμα ως προς την υπό μελέτη κυτοκίνη (Εικ.9). Τα μονοπύρηνια καλλιεργούνται σε κάθε εμβύθιση στο κατάλληλο εύρος αραιώσεων (1×10^5 - 2×10^6 κύτταρα/ml), από δύο ώρες μέχρι όλη τη νύχτα σε κλίβανο CO₂ στους 37° C. Στη συνέχεια τα κύτταρα αφαιρούνται και η ανίχνευση του αριθμού των κυττάρων, που έχουν εκκρίνει την υπό μελέτη κυτοκίνη επιτυγχάνεται με την προσθήκη αντισώματος ως προς την υπό μελέτη κυτοκίνη σημασμένου με βιοτίνη. Ακολουθεί επώαση με το σύμπλοκο στρεπταβιδίνης-αλκαλικής φωσφατάσης, και στη συνέχεια ακολουθεί προσθήκη του κατάλληλου υποστρώματος για την

παραγωγή χρωματικού προϊόντος σε μορφή κηλίδας. Ο αριθμός των κηλίδων αντιστοιχεί στον αριθμό των κυττάρων που εκκρίνουν την υπό μελέτη κυτοκίνη.

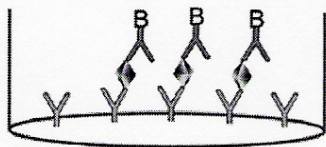
Η ανάλυση των κηλίδων και η απεικόνιση της συχνότητας των κυττάρων, που εκκρίνουν την υπό μελέτη κυτοκίνη επιτυγχάνεται με την βοήθεια ειδικού αναλυτή σάρωσης κηλίδων (Immunospot Analyser, Aid, Germany), ο οποίος φέρει ανάλογο λογισμικό με πρότυπες τιμές για τις υπό μελέτη κυτοκίνες (Εικ. 10,11). Η μέθοδος ELISPOT για τη διερεύνηση της έκκρισης κυτοκινών έχει χρησιμοποιηθεί στο πεδίο της ογκολογίας και των λοιμωδών και αυτοάνοσων νοσημάτων και πιο πρόσφατα στο πεδίο της νευροανοσολογίας.



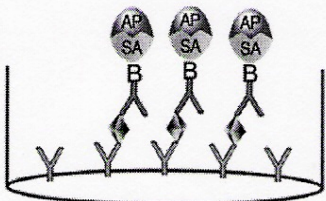
Επώαση των κυττάρων που εκκρίνουν την κυτοκίνη με το αντίσωμα στην πλάκα



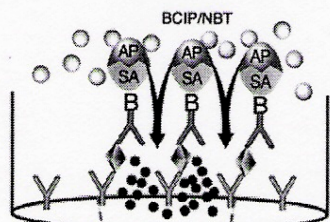
Απομάκρυνση των κυττάρων με έκπλυση. Η κυτοκίνη που εκκρίνεται δεσμεύεται από το ακινητοποιημένο αντίσωμα



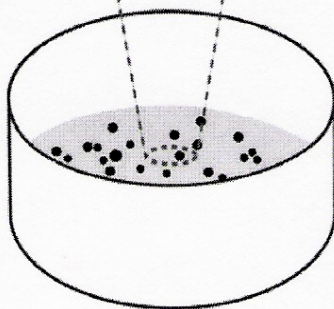
Επώαση με το βυτινιωμένο αντίσωμα αντικυτοκίνης



Επώαση με το ένζυμο στρεπταβιδίνη-αλκαλική φωσφατάση



Προσθήκη υποστρώματος και παρακολούθηση της εμφάνισης έγχρωμων κηλίδων



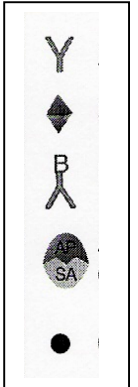
Αντίσωμα

Παράγωγο προς ανάλυση

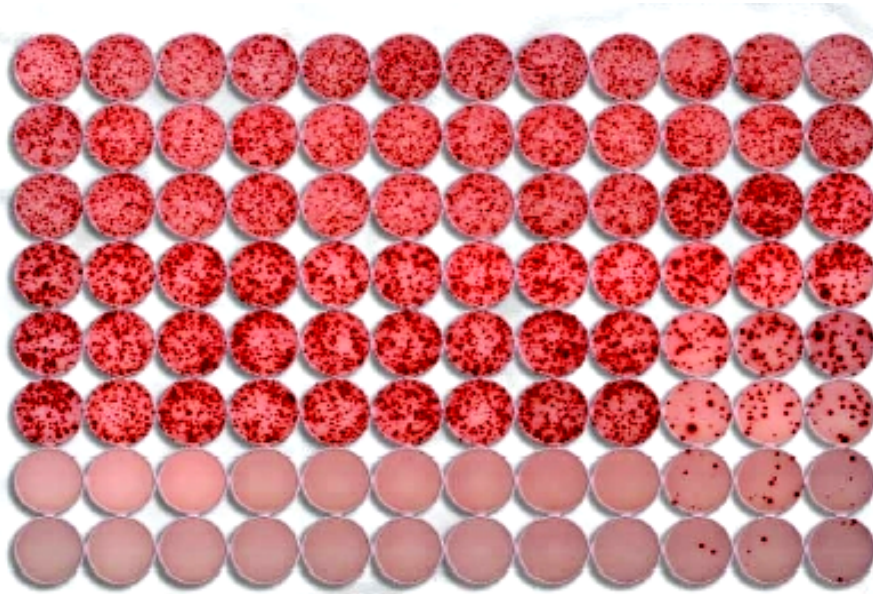
Βυτινιωμένο αντίσωμα

Ένζυμο στρεπταβιδίνη-αλκαλική φωσφατάση

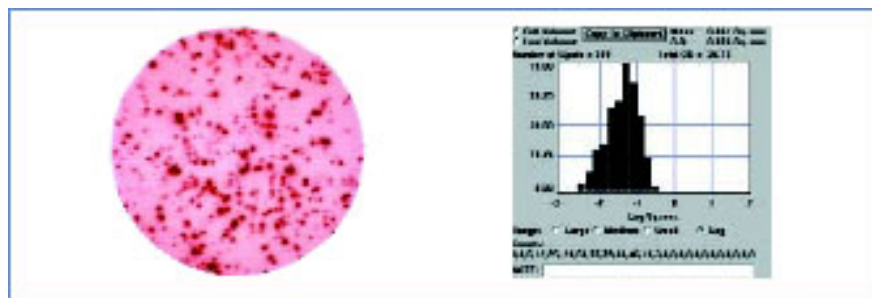
Έγχρωμο παράγωγο



Εικόνα 9: Διάγραμμα απεικόνισης της μεθόδου ELISPOT για τον εντοπισμό περιφερικών μονοπύρηνων κυττάρων που εκκρίνουν την υπό μελέτη κυτοκίνη.



Εικόνα 10: Συνολική απεικόνιση αποτελεσμάτων της μεθόδου ELISPOT σε μια μικροπλάκα τιτλοποίησης 96 εμβυθήσεων.



Εικόνα 11: Ανάλυση των κηλίδων από ειδικό αναλυτή σάρωσης κηλίδων και απεικόνιση της συχνότητας των κυττάρων που εκκρίνουν την υπό μελέτη κυτοκίνη.

2.2.2.1 Απομόνωση των μονοπύρηνων κυττάρων του περιφερικού αίματος (PBMCs)

10 ml περιφερικού αίματος σε σωληνάρια εμπεριέχοντα ηπαρίνη επιστρώνονται σε 6 ml διαλύματος Ficoll-Ηyraque (Amersham). Το μίγμα φυγοκεντρείται στις 1500 rpm για 20 min σε θερμοκρασία δωματίου, έτσι ώστε να προκύψουν διακριτέα κυτταρικά στρώματα. Τα ερυθρά και τα κοκκιώδη κύτταρα βρίσκονται ως ίζημα στο βάθος του σωληναρίου και τα μονοπύρηνια του περιφερικού αίματος (peripheral blood mononucleates cells, PBMCs) συγκεντρώνονται στη μέση επιφάνεια. Χρησιμοποιώντας άσηπτες τεχνικές, τα λεμφοκύτταρα συλλέγονται σε ξεχωριστά σωληνάρια, πλένονται, καταμετρούνται και επανατοποθετούνται σε 1.5ml

διαλύματος, που περιέχει 80% ορό εμβρύου μόσχου (fetal calf serum, FCS) and 20% DMSO (Dimethyl sulfoxide). Η ζωτικότητα των κυττάρων υπολογίζεται με μέθοδο αποκλεισμού, βάσει της χρώσης trypan blue. Τα κρυοσωληνάρια με τα λεμφοκύτταρα (1×10^6 cells/ml) αποθηκεύονται σε υγρό άζωτο έως την ανάλυσή τους.

2.2.2.2 ELISPOT διαλύματα

- Phosphate Buffered Saline (PBS): Φωσφοριούχο ρυθμιστικό διάλυμα (x 10 συγκέντρωση διαλύματος): Για 1 lt ζυγίζουμε: 80 g NaCl; 2 g KH_2PO_4 2 H_2O . Προσθήκη απεσταγμένου νερού στο 1 lt. Ελέγχουμε πως το pH είναι $7,4 \pm 0,1$. Αραίωση του διαλύματος x 1 πριν τη χρήση
- Streptavidin alkaline phosphatase: Διάλυμα του ενζύμου στρεπταβιδίνη-αλκαλική φωσφατάση: Αραίωση 1/5000 στο PBS 1% BSA. Πρώτο βήμα: προ-αραίωση 1/100: 5ml διαλύματος στρεπταβιδίνης σε 495 ml PBS 1% BSA. Δεύτερο βήμα: Αραίωση 1/50: για ένα πιάτο 200ml από το προ-αραιωμένο διάλυμα + 9,8 mL του PBS 1% BSA.
- 1% BSA σε PBS: Για μια πλάκα απαιτείται αραίωση 0,2 g BSA σε 20 mL του αραιωμένου x1 PBS.
- 0,1% Tween σε PBS: Για μια πλάκα απαιτείται αραίωση 100ml Tween 20 σε 100ml του αραιωμένου x1 PBS
- 70% αιθυλικής αλκοόλης στο νερό: Για μια πλάκα, αναμιγνύονται 7 ml αιθανόλης σε 3 ml απεσταγμένου νερού.
- Γάλα με λιπαρά 2% (εμπορίου)

2.2.2.3. Πρωτόκολλο TNF α ELISPOT

1. Επώαση της πλάκας με 25ml διαλύματος 70% αιθανόλης για 30 sec σε θερμοκρασία δωματίου
2. Εκκένωση των φρεατίων και έκπλυση (τρεις φορές) με διάλυμα PBS
3. Προσθήκη 100 μl του αντι-TNF α αντισώματος σε 10 mL PBS. Ανάμιξη και προσθήκη 100 μl μείγματος σε κάθε φρεάτιο, κάλυψη της πλάκας και ολονύχτια επώαση στους 4°C
4. Εκκένωση των φρεατίων και έκπλυση (μία φορά) με διάλυμα PBS
5. Προσθήκη 100 μl γάλακτος με λίπη 2% σε PBS στα φρεάτια, επικάλυψη και επώαση για 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου

6. Έκπλυση της πλάκας με PBS
7. Προσθήκη στα φρεάτια 100 μl του κυτταρικού εναιωρήματος (2×10^6 κύτταρα/ml), με ή χωρίς 300 ng διεγέρτη PMA (phorbol 12-myristate 13-acetate, οξική μυριστική φορβόλη). Επώαση των κυττάρων στους 37°C σε κλίβανο με 5%CO₂ για 15 ώρες. Σε αυτό το χρονικό διάστημα η πλάκα δεν ανακινείται
8. Εκκένωση των φρεατίων και προσθήκη 100 μl του διαλύματος PBS-0,1% tween 20 στα φρεάτια και παραμονή του διαλύματος για 10 min στους 4°C
9. Έκπλυση της πλάκας τρεις φορές με διάλυμα PBS-0,1% tween 20
10. Για κάθε πλάκα, πραγματοποιείται ανάμιξη 100 μl του βυτινιωμένου αντι-TNFα αντισώματος ανίχνευσης σε 10 ml PBS που περιέχει 1% BSA. Προσθήκη 100 μl σε κάθε φρεάτιο, επικάλυψη της πλάκας και επώαση για μία ώρα και 30 min σε θερμοκρασία δωματίου
11. Εκκένωση των φρεατίων και έκπλυση (τρεις φορές) με διάλυμα PBS-0,1% tween 20
12. Προσθήκη 100 μl ενζύμου στρεπταβιδίνη-αλκαλική φωσφατάση σε διάλυση (1/5000) ανά φρεάτιο. Επικάλυψη της πλάκας και επώαση για 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου
13. Εκκένωση των φρεατίων και έκπλυση (τρεις φορές) με διάλυμα PBS-0,1% tween 20.
14. Προσθήκη 100 μl του έτοιμου προς χρήση ρυθμιστικού διαλύματος BCIP/NBT (5-Bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate/Nitro blue tetrazolium) ανά φρεάτιο
15. Αναμονή για την πραγματοποίηση της αντίδρασης για 2-10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και παρακολούθηση της εμφάνισης των «κηλίδων»
16. Ενυδάτωση των φρεατίων τρεις φορές με αποσταγμένο νερό
17. Στέγνωμα των φρεατίων. Ανάγνωση των «κηλίδων». Φύλαξη της πλάκας όλη τη νύχτα στους 4°C. Ανάλυση των «κηλίδων» στον αναλυτή σάρωσης κηλίδων ELISPOT. Φύλαξη της πλάκας σε θερμοκρασία δωματίου μακριά από το φως.

2.2.2.4. Πρωτόκολλο IL-1β ELISPOT

1. Επώαση της πλάκας με 25μl διαλύματος 70% αιθανόλης για 30 sec σε θερμοκρασία δωματίου

2. Εκκένωση των φρεατίων και έκπλυση (τρεις φορές) με διάλυμα PBS
3. Προσθήκη 100 μl του αντι-IL-1β αντισώματος σε 10 mL PBS. Ανάμιξη και προσθήκη 100 μl μίγματος σε κάθε φρεάτιο, κάλυψη της πλάκας και ολονύχτια επώαση στους 4°C
4. Εκκένωση των φρεατίων και έκπλυση (μία φορά) με διάλυμα PBS
5. Προσθήκη 100 μl RPMI 10% FCS στα φρεάτια, επικάλυψη και επώαση για 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου
6. Έκπλυση της πλάκας μια φορά με PBS
7. Προσθήκη στα φρεάτια 100 μl του κυτταρικού εναιωρήματος (2×10^6 κύτταρα/ml), με ή χωρίς 300 ng διεγέρτη PMA. Επώαση των κυττάρων στους 37°C σε κλίβανο με 5% CO₂ για 15 ώρες. Σε αυτό το χρονικό διάστημα η πλάκα δεν ανακινείται
8. Εκκένωση των φρεατίων και προσθήκη 100 μl του διαλύματος PBS-0,1% tween 20 στα φρεάτια και παραμονή του διαλύματος για 10 min στους 4°C
9. Έκπλυση της πλάκας τρεις φορές με διάλυμα PBS-0,1% tween 20
10. Για κάθε πλάκα, πραγματοποιείται ανάμιξη 100 μl του βυτινιλωμένου αντι-IL-1β αντισώματος ανίχνευσης σε 10 mL PBS που περιέχει 1% BSA. Προσθήκη 100 μl σε κάθε φρεάτιο, επικάλυψη της πλάκας και επώαση για μία ώρα και 30 min σε θερμοκρασία δωματίου
11. Εκκένωση των φρεατίων και έκπλυση (τρεις φορές) με διάλυμα PBS-0,1% tween 20
12. Προσθήκη 100 μl ενζύμου στρεπταβιδίνη-αλκαλική φωσφατάση σε διάλυση (1/5000) ανά φρεάτιο. Επικάλυψη της πλάκας και επώαση για 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου
13. Εκκένωση των φρεατίων και έκπλυση (τρεις φορές) με διάλυμα PBS-0,1% tween 20.
14. Προσθήκη 100 μl του έτοιμου προς χρήση ρυθμιστικού διαλύματος BCIP/NBT ανά φρεάτιο
15. Αναμονή για την πραγματοποίηση της αντίδρασης για 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου και παρακολούθηση της εμφάνισης των «κηλίδων»
16. Ενυδάτωση των φρεατίων τρεις φορές με αποσταγμένο νερό
17. Στέγνωμα των φρεατίων. Ανάγνωση των «κηλίδων». Φύλαξη της πλάκας όλη τη νύχτα στους 4°C. Ανάλυση των «κηλίδων» στον αναλυτή σάρωσης

κηλίδων ELISPOT. Φύλαξη της πλάκας σε θερμοκρασία δωματίου μακριά από το φως.

2.2.2.5. Πρωτόκολλο IL-6 ELISPOT

1. Επώαση της πλάκας με 25μl διαλύματος 70% αιθανόλης για 30 sec σε θερμοκρασία δωματίου
2. Εκκένωση των φρεατίων και έκπλυση (τρεις φορές) με διάλυμα PBS
3. Προσθήκη 100 μl του αντι-IL-6 αντισώματος σε 10 mL PBS. Ανάμιξη και προσθήκη 100 μl μίγματος σε κάθε φρεάτιο, κάλυψη της πλάκας και ολονύχτια επώαση στους 4°C
4. Εκκένωση των φρεατίων και έκπλυση (μία φορά) με διάλυμα PBS
5. Προσθήκη 100 μl RPMI (Roswell Park Memorial Institute medium) 10% FCS στα φρεάτια, επικάλυψη και επώαση για 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου
6. Έκπλυση της πλάκας μια φορά με PBS
7. Προσθήκη στα φρεάτια 100 μl του κυτταρικού εναιωρήματος (2×10^6 κύτταρα/ml), με ή χωρίς 300 ng διεγέρτη PMA. Επώαση των κυττάρων στους 37°C σε κλίβανο με 5% CO₂ για 15 ώρες. Σε αυτό το χρονικό διάστημα η πλάκα δεν ανακινείται
8. Εκκένωση των φρεατίων και προσθήκη 100 μl του διαλύματος PBS-0,1% tween 20 στα φρεάτια και παραμονή του διαλύματος για 10 min στους 4°C
9. Έκπλυση της πλάκας τρεις φορές με διάλυμα PBS-0,1% tween 20
10. Για κάθε πλάκα, πραγματοποιείται ανάμιξη 100 μl του βυτινλιωμένου αντι-IL-6 αντισώματος ανίχνευσης σε 10 mL PBS που περιέχει 1% BSA. Προσθήκη 100 μl σε κάθε φρεάτιο, επικάλυψη της πλάκας και επώαση για μία ώρα και 30 min στους 37°C
11. Εκκένωση των φρεατίων και έκπλυση (τρεις φορές) με διάλυμα PBS-0,1% tween 20
12. Προσθήκη 100 μl ενζύμου στρεπταβιδίνη-αλκαλική φωσφατάση σε διάλυση (1/5000) ανά φρεάτιο. Επικάλυψη της πλάκας και επώαση για 1 ώρα στους 37°C
13. Εκκένωση των φρεατίων και έκπλυση (τρεις φορές) με διάλυμα PBS-0,1% tween 20. Απομάκρυνση της περίσσειας του ρυθμιστικού διαλύματος με συνεχές και επαναλαμβανόμενο σκούπισμα σε απορροφητικό χαρτί

14. Προσθήκη 100 μl του έτοιμου προς χρήση ρυθμιστικού διαλύματος BCIP/NBT ανά φρεάτιο
15. Αναμονή για την πραγματοποίηση της αντίδρασης για 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου και παρακολούθηση της εμφάνισης των «κηλίδων»
16. Ενυδάτωση των φρεατίων τρεις φορές με αποσταγμένο νερό
17. Στέγνωμα των φρεατίων. Ανάγνωση των «κηλίδων». Φύλαξη της πλάκας όλη τη νύχτα στους +4°C. Ανάλυση των «κηλίδων» στον αναλυτή σάρωσης κηλίδων ELISPOT. Φύλαξη της πλάκας σε θερμοκρασία δωματίου μακριά από το φως

2.2.2.6. Πρωτόκολλο IFN γ ELISPOT

1. Επώαση της πλάκας με 25μl διαλύματος 70% αιθανόλης για 30 sec σε θερμοκρασία δωματίου
2. Εκκένωση των φρεατίων και έκπλυση (τρεις φορές) με διάλυμα PBS
3. Προσθήκη 100 μl του αντι-IFN γ αντισώματος σε 10 mL PBS. Ανάμιξη και προσθήκη 100 μl μείγματος σε κάθε φρεάτιο, κάλυψη της πλάκας και ολονύχτια επώαση στους 4°C
4. Εκκένωση των φρεατίων και έκπλυση (μία φορά) με διάλυμα PBS
5. Προσθήκη 100 μl γάλακτος με λίπη 2% σε PBS στα φρεάτια, επικάλυψη και επώαση για 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου
6. Έκπλυση της πλάκας με PBS
7. Προσθήκη στα φρεάτια 100 μl του κυτταρικού εναιωρήματος (2×10^6 κύτταρα/ml), με ή χωρίς 300 ng διεγέρτη PMA. Επώαση των κυττάρων στους 37°C σε κλίβανο με 5%CO $_2$ για 15 ώρες. Σε αυτό το χρονικό διάστημα η πλάκα δεν ανακινείται
8. Εκκένωση των φρεατίων και προσθήκη 100 μl του διαλύματος PBS-0,1% tween 20 στα φρεάτια και παραμονή του διαλύματος για 10 min στους 4°C
9. Έκπλυση της πλάκας τρεις φορές με διάλυμα PBS-0,1% tween 20
10. Για κάθε πλάκα πραγματοποιείται ανάμιξη 100 μl του βυτινιωμένου αντι-IFN γ αντισώματος ανίχνευσης σε 10 ml PBS που περιέχει 1% BSA. Προσθήκη 100 μl σε κάθε φρεάτιο, επικάλυψη της πλάκας και επώαση για μία ώρα και 30 min σε θερμοκρασία δωματίου

11. Εκκένωση των φρεατίων και έκπλυση (τρεις φορές) με διάλυμα PBS-0,1% tween 20
12. Για κάθε πλάκα πραγματοποιείται ανάμιξη 10 μl ενζύμου στρεπταβιδίνη-αλκαλική φωσφατάση σε 10 ml PBS που περιέχει 1% BSA. Προσθήκη 100 μl σε κάθε φρεάτιο, επικάλυψη της πλάκας και επώαση για μία ώρα στους 37°C
13. Εκκένωση των φρεατίων και έκπλυση (τρεις φορές) με διάλυμα PBS-0,1% tween 20.
14. Προσθήκη 100 μl του έτοιμου προς χρήση ρυθμιστικού διαλύματος BCIP/NBT ανά φρεάτιο
15. Αναμονή για την πραγματοποίηση της αντίδρασης για 2-10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και παρακολούθηση της εμφάνισης των «κηλίδων»
16. Ενυδάτωση των φρεατίων τρεις φορές με αποσταγμένο νερό
17. Στέγνωμα των φρεατίων. Ανάγνωση των «κηλίδων». Φύλαξη της πλάκας όλη τη νύχτα στους 4°C. Ανάλυση των «κηλίδων» στον αναλυτή σάρωσης κηλίδων ELISPOT. Φύλαξη της πλάκας σε θερμοκρασία δωματίου μακριά από το φως.

2.4 Στατιστική ανάλυση

Έγινε στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων της μελέτης με τη χρησιμοποίηση του στατιστικού προγράμματος για Η/Υ, SPSS for Windows. Τα αποτελέσματα αναφέρονται ως μέση τιμή \pm σταθερές αποκλίσεις (SD), με την τιμή του P μικρότερη από 0,05 να θεωρείται ως στατιστικά σημαντική. Θεωρήθηκε τάση προς στατιστικά σημαντική διαφορά η τιμή του P μεταξύ 0,05 και 0,1. Η κανονική κατανομή στις συνεχείς μεταβλητές εκτιμήθηκε με την εφαρμογή της μη παραμετρικής δοκιμασίας Kolmogorov-Smirnov. Η δοκιμασία ANOVA εφαρμόστηκε για τη σύγκριση μεταξύ των ομάδων [ΥΘ], [ΑΘ] και μαρτύρων και για τη σύγκριση των παραμέτρων πριν και μετά τη θεραπεία εφαρμόστηκε το Paired-Samples T Test. Οι μη παραμετρικές μεταβλητές συγκρίθηκαν με τη δοκιμασία Mann-Whitney. Οι συσχετίσεις μεταξύ των μεταβλητών εκτιμήθηκαν με το συντελεστή Pearson's coefficient, εκτός από τις μεταβλητές που δεν είχαν κανονική κατανομή, οπότε οι συσχετίσεις εκτιμήθηκαν με το συντελεστή Spearman's. Η δοκιμασία Chi square εφαρμόστηκε για τη σύγκριση των ποιοτικών μεταβλητών.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 Περιγραφική στατιστική

3.1.1 Δημογραφικά στοιχεία ασθενών και μαρτύρων

Τα κύρια δημογραφικά χαρακτηριστικά των ομάδων ασθενών και μαρτύρων φαίνονται στον Πίνακα 9. Από τους 128 συμμετέχοντες, το 54,68% (70) ήταν γυναίκες και το 45,31% (58) άνδρες. Η μέση ηλικία (\pm SD) των συμμετεχόντων ήταν $73,33 \pm 6,5$ έτη.

	<i>Άνοια</i>	<i>Μάρτυρες</i>
<i>N</i>	105	23
<i>Φύλο</i>		
Άνδρες	45 (42,85%)	13 (56,52%)
Γυναίκες	60 (57,14%)	10 (43,47%)
<i>Ηλικία</i>	$75 \pm 5,63$	$65,74 \pm 7,32$

Πίνακας 9. Κύρια δημογραφικά στοιχεία ασθενών – μαρτύρων.

Από τους 128 συμμετέχοντες, οι 45 ήταν ασθενείς με άνοια υπό θεραπεία με αναστολέα ακετυλοχολινεστεράσης [ΥΘ], οι 60 ήταν ασθενείς με άνοια άνευ θεραπευτικής αγωγής [ΑΘ] και οι 23 ήταν μάρτυρες. Η μέση ηλικία (\pm SD) στις ομάδες της άνοιας [ΥΘ] και [ΑΘ] ήταν αντίστοιχα $74,42 \pm 5,02$ και $75,39 \pm 5,83$. Οι γυναίκες ήταν περισσότερες από τους άνδρες στην ομάδα των ασθενών [ΑΘ] (63,33%), ενώ στις άλλες ομάδες υπερετερούσαν λίγο οι άντρες. Η πλειοψηφία των ασθενών είχε λάβει πρωτοβάθμια εκπαίδευση, ενώ το μικρότερο ποσοστό ασθενών αφορά όσους είχαν λάβει πανεπιστημιακή εκπαίδευση (Πίν.10).

	<i>Άνοια [ΥΘ]</i>	<i>Άνοια [ΑΘ]</i>
<i>N</i>	45 (42,85%)	60 (57,14%)
<i>Ηλικία</i> (Μέση τιμή±SD)	74,42±5,02	75,39±5,83
<i>Φύλο</i>		
Άνδρες	24 (53,33%)	21 (35%)
Γυναίκες	21 (46,66%)	39 (65%)
<i>Εκπαίδευση</i>		
Στοιχειώδης	13 (28,88%)	15 (25%)
Πρωτοβάθμια	15 (33,33%)	17 (28,33%)
Δευτεροβάθμια	11 (24,44%)	17 (28,33%)
Τριτοβάθμια	6 (13,33%)	11 (18,33%)

Πίνακας 10. Κύρια δημογραφικά στοιχεία ασθενών [ΥΘ] και [ΑΘ].

Από την ομάδα [ΑΘ] διακρίναμε μια υποομάδα 19 ασθενών, οι οποίοι 6 μήνες μετά την έναρξη της φαρμακευτικής αγωγής με δονεπεζίλη υποβλήθηκαν σε νέα κλινική εκτίμηση και αιμοληψία και τα αποτελέσματα αυτά μελετήθηκαν ξεχωριστά ([ΑΘ-ΜΘ]). Επίσης, πέντε χρόνια μετά την αρχική εκτίμηση όλων των ασθενών, έγινε νέα εκτίμηση της σοβαρότητας της νόσου των ασθενών εν ζωή και καταγραφή του αριθμού των ασθενών που απεβίωσαν. Από το σύνολο των 105 ασθενών, υπήρχαν ελλείψεις πληροφορίες για 17 ασθενείς, έτσι η τελική εκτίμηση έγινε στους υπόλοιπους 88 ([ΑΤΕ]).

3.1.2 Κλινικά στοιχεία ασθενών

Από το ιστορικό των ασθενών καταγράφεται ο χρόνος έναρξης των συμπτωμάτων για να υπολογιστεί η διάρκεια της νόσου. Στον Πίνακα 11, εκτός από τη μέση τιμή±SD της διάρκειας της νόσου σε έτη, έγινε επίσης κατανομή των ασθενών σε δύο κατηγορίες (1-3 και ≥4 έτη), με τους ασθενείς της δεύτερης κατηγορίας να βρίσκονται σε πιο προχωρημένο στάδιο της νόσου από τους ασθενείς της πρώτης κατηγορίας. Οι δύο ομάδες ελέγχθηκαν για στατιστικά σημαντική διαφορά, τόσο στα κλινικά τους, όσο και στα εργαστηριακά τους ευρήματα.

	<i>Άνοια [ΥΘ]</i> N=45	<i>Άνοια [ΑΘ]</i> N=60	<i>Σύνολο ασθενών</i> N=105
<i>Διάρκεια νόσου (έτη)</i> (Μέση τιμή±SD)	3,97±2,45	2,52±2,16	3,18±1,83
<i>1-3 έτη</i>	N=24 (53,33%)	N=47 (78,33%)	N=72 (68,57%)
<i>≥ 4 έτη</i>	N=21 (46,66%)	N=13 (21,66%)	N=33 (31,42%)

Πίνακας 11. Διάρκεια της νόσου στις ομάδες των ασθενών.

	<i>Άνοια [ΥΘ]</i>	<i>Άνοια [ΑΘ]</i>
<i>Σφύξεις (ανά λεπτό)</i> (Μέση τιμή±SD)	71±12	75±10
<i>ΣΑΠ (καθιστή θέση, mmHg)</i> (Μέση τιμή±SD)	139±21	131±19
<i>ΔΑΠ (καθιστή θέση, mmHg)</i> (Μέση τιμή±SD)	80±11	78±8
<i>ΣΑΠ (όρθια θέση, mmHg)</i> (Μέση τιμή±SD)	138±22	128±17
<i>ΔΑΠ (όρθια θέση, mmHg)</i> (Μέση τιμή±SD)	81±12	78±7
<i>ΔΜΣ (kg/m²)</i> (Μέση τιμή±SD)	26,76±3,87	26,65±4,97
<i>Περίμετρος μέσης (cm)</i> (Μέση τιμή±SD)	98±10	93,5±15
<i>Λόγος μέσης/ισχίων (WHR)</i> (Μέση τιμή±SD)	0,92±0,053	0,90±0,08

Πίνακας 12. Κλινικά στοιχεία ασθενών.

Στα κλινικά στοιχεία των ασθενών περιλαμβάνονται οι σφύξεις ανά λεπτό, οι οποίες συχνά επηρεάζονται από τη θεραπεία με AChEI, καθώς και η μέτρηση της αρτηριακής πίεσης σε καθιστή και όρθια θέση για την ανίχνευση τυχόν ορθοστατικής υπότασης. Επίσης μετρήθηκαν ο ΔΜΣ, η περίμετρος της μέσης και των ισχίων και

υπολογίστηκε ο λόγος τους (WHR), στο πλαίσιο της διερεύνησης του ρόλου του σωματικού βάρους και του κοιλιακού λίπους στη σοβαρότητα και την εξέλιξη της νόσου και μελετήθηκε τυχόν συσχέτιση με το λιπιδαιμικό προφίλ των ασθενών (Πίνακας 12).

3.1.3 Ψυχομετρικές δοκιμασίες

Για τη συλλογή του δείγματος των ασθενών εφαρμόστηκαν τα διαγνωστικά κριτήρια του DSM IV της Αμερικανικής Ψυχιατρικής Εταιρείας για την άνοια. Κατά την ψυχιατρική εξέταση χρησιμοποιήθηκαν ψυχομετρικές δοκιμασίες, των οποίων οι βαθμολογίες φαίνονται στον πίνακα 13. Οι βαθμολογίες της υποομάδας των ασθενών [ΑΘ-ΜΘ], καθώς και οι βαθμολογίες της GDS, που χρησιμοποιήθηκε στην ομάδα των ασθενών [ΑΤΕ], θα αναφερθούν παρακάτω.

	<i>Άνοια [ΥΘ]</i>	<i>Άνοια [ΑΘ]</i>
<i>CDR</i> (Μέση τιμή±SD)	1,48±0,68	1,15±0,87
<i>MMSE</i> (Μέση τιμή±SD)	16,04±5,13	18,05±7,66
<i>ADCS</i> (Μέση τιμή±SD)	44,02±22,31	52,18±23,3
<i>NPI</i> (Μέση τιμή±SD)	36,39±26,63	38,35±32,97
<i>CSDD</i> (Μέση τιμή±SD)	6,42±7,13	7,44±6,31

Πίνακας 13. Μέσες τιμές βαθμολογίας ασθενών στις ψυχομετρικές δοκιμασίες.

3.2 Επαγωγική στατιστική

3.2.1. Σύγκριση των κλινικών παραμέτρων μεταξύ των ομάδων [ΥΘ] και [ΑΘ] και των ασθενών[ΑΘ-ΜΘ] προ και μετά θεραπείας

Η καρδιακή συχνότητα υπολογίστηκε στους συμμετέχοντες σε σφύξεις ανά ένα λεπτό και η αρτηριακή πίεση μετρήθηκε σε καθιστή και όρθια θέση με υδραργυρικό πιεσόμετρο. Από τη μέτρηση του ύψους και του βάρους υπολογίστηκε ο

ΔΜΣ και από την περιφέρεια της μέσης και των ισχίων ο λόγος μέσης προς ισχία (WHR). Όπως φαίνεται στον πίνακα 14, οι δύο ομάδες [ΥΘ] και [ΑΘ] δεν διέφεραν σημαντικά σε καμία παράμετρο.

	Άνοια [ΥΘ]	Άνοια [ΑΘ]	Τιμή P*
Σφύξεις (ανά λεπτό) (Μέση τιμή±SD)	71±12	75±10	p>0,05
ΣΑΠ (καθιστή θέση, mmHg) (Μέση τιμή±SD)	139±21	131±19	p>0,05
ΔΑΠ (καθιστή θέση, mmHg) (Μέση τιμή±SD)	80±11	78±8	p>0,05
ΣΑΠ (όρθια θέση, mmHg) (Μέση τιμή±SD)	138±22	128±17	p>0,05
ΔΑΠ (όρθια θέση, mmHg) (Μέση τιμή±SD)	81±12	78±7	p>0,05
ΔΜΣ (kg/m ²) (Μέση τιμή±SD)	26,76±3,87	26,65±4,97	p>0,05
Περίμετρος μέσης (cm) (Μέση τιμή±SD)	98±10	93,5±15	p>0,05
Λόγος μέσης/ισχίων (WHR) (Μέση τιμή±SD)	0,92±0,053	0,90±0,08	p>0,05

*One-way ANOVA

Πίνακας 14. Σύγκριση των κλινικών παραμέτρων στις ομάδες [ΥΘ] και [ΑΘ].

Στην ομάδα των ασθενών [ΑΘ-ΜΘ] υπολογίστηκε τιμή της μέσης συστολικής ΑΠ (ΜΣΑΠ) και της μέσης διαστολικής ΑΠ (ΜΔΑΠ) από τις αντίστοιχες τιμές της ΑΠ σε καθιστή και όρθια θέση. Από τον πίνακα 15 φαίνεται ότι οι τιμές των κλινικών παραμέτρων δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά προ και μετά θεραπείας.

	<i>Προ θεραπείας</i>	<i>Μετά θεραπείας</i>	<i>Τιμή P*</i>
<i>Σφύξεις (ανά λεπτό)</i> <i>(Μέση τιμή±SD)</i>	71±8	73±25	<i>p>0,05</i>
<i>ΜΣΑΠ (mmHg)</i> <i>(Μέση τιμή±SD)</i>	127±23	131±21	<i>p>0,05</i>
<i>ΜΔΑΠ (mmHg)</i> <i>(Μέση τιμή±SD)</i>	79±17	75±9	<i>p>0,05</i>
<i>ΔΜΣ (kgr/m²)</i> <i>(Μέση τιμή±SD)</i>	26,11±2,67	26,04±2,65	<i>p>0,05</i>
<i>Περίμετρος μέσης (cm)</i> <i>(Μέση τιμή±SD)</i>	93,08±11,43	90,23±11,36	<i>p>0,05</i>

*Paired-Samples T Test

Πίνακας 15. Σύγκριση κλινικών παραμέτρων στην ομάδα [ΑΘ-ΜΘ] προ και μετά θεραπείας.

3.2.2 Σύγκριση των ψυχομετρικών δοκιμασιών

Όπως φαίνεται στον πίνακα 16, η ομάδα [ΥΘ] εμφανίζει υψηλότερη βαθμολογία στο CDR σε στατιστικά σημαντικό βαθμό, σε σύγκριση με την ομάδα [ΑΘ]. Αυτό μπορεί να δικαιολογηθεί από τη στατιστικά σημαντική διαφορά, που παρατηρείται και στη διάρκεια της νόσου μεταξύ των δύο ομάδων ($p=0,001$), με αποτέλεσμα οι ασθενείς αυτής της ομάδας να είναι σε πιο προχωρημένο στάδιο της νόσου. Στις υπόλοιπες ψυχομετρικές κλίμακες οι ομάδες δεν εμφανίζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

	Άνοια [ΥΘ]	Άνοια [ΑΘ]	Τιμή P
<i>CDR</i> (Μέση τιμή±SD)	1,48±0,68	1,15±0,87	$p=0,003^*$
<i>MMSE</i> (Μέση τιμή±SD)	16,04±5,13	18,05±7,66	$p>0,05^{**}$
<i>ADCS</i> (Μέση τιμή±SD)	44,02±22,31	52,18±23,3	$p>0,05^{**}$
<i>NPI</i> (Μέση τιμή±SD)	36,39±26,63	38,35±32,97	$p>0,05^*$
<i>CSDD</i> (Μέση τιμή±SD)	6,42±7,13	7,44±6,31	$p>0,05^*$

**Mann-Whitney test*

***Independent Samples T Test*

Πίνακας 16. Σύγκριση της βαθμολογίας στις ψυχομετρικές δοκιμασίες των ομάδων [ΥΘ] και [ΑΘ].

Στην ομάδα των ασθενών [ΑΘ-ΜΘ] έγινε σύγκριση της βαθμολογίας στις ψυχομετρικές δοκιμασίες πριν και μετά τη θεραπεία. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα 17, όπου παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μείωση στις κλίμακες MMSE και CSDD.

	<i>Προ θεραπείας</i>	<i>Μετά θεραπείας</i>	<i>Τιμή P</i>
<i>CDR</i> (Μέση τιμή±SD)	0,74±0,3	0,87±0,35	<i>P=0,059**</i>
<i>MMSE</i> (Μέση τιμή±SD)	23±3,47	19,32±2,86	<i>P<0,01*</i>
<i>ADCS</i> (Μέση τιμή±SD)	61,94±11,7	54,07±14,19	<i>P=0,055*</i>
<i>NPI</i> (Μέση τιμή±SD)	29,85±22,27	46,6±24,08	<i>p>0,05*</i>
<i>CSDD</i> (Μέση τιμή±SD)	7,05±4,46	3,47±2,98	<i>P=0,003*</i>

* Paired-Samples T Test

**Wilcoxon Signed Ranks Test

Πίνακας 17. Σύγκριση της βαθμολογίας των ασθενών [ΑΘ-ΜΘ] στις ψυχομετρικές δοκιμασίες προ και μετά θεραπείας.

3.2.3 Σύγκριση των εργαστηριακών αποτελεσμάτων

3.2.3.1 Λιπιδαιμικό προφίλ ασθενών

Προσδιορίστηκαν τα επίπεδα των λιπιδαιμικών παραγόντων ApoA-I, Lp(α) και anti-oxLDL στον ορό των ασθενών, προκειμένου να διερευνηθεί τυχόν συσχέτισή τους, τόσο με τα κλινικά στοιχεία, όσο και με τη βαθμολογία των ψυχομετρικών δοκιμασιών των ασθενών, όπως επίσης και τυχόν διαφορές στα επίπεδα των ασθενών υπό και άνευ θεραπευτικής αγωγής. Διερευνήθηκε αρχικά αν η διάρκεια της νόσου επηρεάζει τις τιμές των λιπιδαιμικών παραγόντων και δεν βρέθηκε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά, τόσο στο σύνολο των ασθενών, όσο και σε κάθε μία ομάδα χωριστά.

Στον πίνακα 18 φαίνονται τα αποτελέσματα στις ομάδες [ΥΘ] και [ΑΘ], όπου διαπιστώνουμε στατιστική σημαντική διαφορά στις τιμές της ApoA-I και της Lp(α), με την ομάδα [ΥΘ] να εμφανίζει χαμηλότερη μέση τιμή ApoA-I και υψηλότερη μέση τιμή Lp(α) σε σύγκριση με την ομάδα [ΑΘ]. Δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τιμών των anti-oxLDL.

	<i>Άνοια [ΥΘ]</i>	<i>Άνοια [ΑΘ]</i>	<i>Τιμή P*</i>
<i>ApoA-I (mg/dl)</i> <i>(Μέση τιμή±SD)</i>	399,75±82,76	464,07±96,67	<i>P=0,007</i>
<i>Lp(a) (mg/dl)</i> <i>(Μέση τιμή±SD)</i>	46±29,62	31,64±18,01	<i>P=0,04</i>
<i>anti-oxLDL (mU/ml)</i> <i>(Μέση τιμή±SD)</i>	301,45±303,17	395,38±470,65	<i>p>0,05</i>

* Mann-Whitney test

Πίνακας 18. Σύγκριση τιμών λιπιδαιμικών παραγόντων ασθενών [ΥΘ] και [ΑΘ].

Στην ομάδα [ΑΘ-ΜΘ] μετά τη θεραπεία παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μείωση στις τιμές της ApoA-I. Στα επίπεδα των άλλων λιπιδαιμικών παραγόντων δεν παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά (Πίνακας 19).

	<i>Πρό θεραπείας</i>	<i>Μετά θεραπείας</i>	<i>Τιμή P</i>
<i>ApoA-I (mg/dl)</i> <i>(Μέση τιμή±SD)</i>	508,63±99,628	410,94±151,28	<i>P=0,024*</i>
<i>Lp(a) (mg/dl)</i> <i>(Μέση τιμή±SD)</i>	26,56±16,03	24,67±16,06	<i>p>0,05*</i>
<i>anti-oxLDL (mU/ml)</i> <i>(Μέση τιμή±SD)</i>	429,79±612,635	476±572,31	<i>p>0,05**</i>

* Paired-Samples T Test

**Wilcoxon Signed Ranks Test

Πίνακας 19. Σύγκριση τιμών λιπιδαιμικών παραγόντων στην ομάδα [ΑΘ-ΜΘ] προ και μετά θεραπείας.

3.2.3.2 Φλεγμονώδεις παράγοντες ασθενών και μαρτύρων

Η έκκριση των κυτοκινών από τα μονοκύτταρα του περιφερικού αίματος ασθενών και μαρτύρων εξετάστηκε με τη μέθοδο ELISPOT, σύμφωνα με τη μεθοδολογία που περιγράφηκε στο προηγούμενο κεφάλαιο. Η μέτρηση των κυττάρων, που εκκρίνουν κυτοκίνες, έγινε (α) σε βασικές συνθήκες και (β) μετά από

διέγερση με PMA. Εξετάζοντας τις τιμές σε σχέση με τη διάρκεια της νόσου, δεν βρέθηκε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά στο σύνολο των ασθενών και σε κάθε ομάδα χωριστά, δηλαδή η διάρκεια της νόσου δεν φαίνεται να επηρεάζει τα επίπεδα των κυτοκινών.

	Άνοια [ΥΘ]	Άνοια [ΑΘ]	Μάρτυρες	Τιμή P [ΥΘ]- [ΑΘ]	Τιμή P [ΥΘ]- Μάρτυρες	Τιμή P [ΑΘ]- Μάρτυρες
<i>IFNγ</i> (pg/ml) (Μέση τιμή \pm SD)	725,1 \pm 293,46	1092,93 \pm 195,78	210,56 \pm 81,07	$P < 0,01^*$	$P < 0,01^*$	$P < 0,01^*$
<i>IFNγPMA</i> (pg/ml) (Μέση τιμή \pm SD)	1087,26 \pm 377,4	1384,83 \pm 469,19	712,91 \pm 283,6	$P = 0,036^{**}$	$P = 0,009^{**}$	$P < 0,01^{**}$
<i>TNFα</i> (pg/ml) (Μέση τιμή \pm SD)	938,22 \pm 233,74	1042,09 \pm 279,72	286,69 \pm 124,02	$P > 0,05^{**}$	$P < 0,01^{**}$	$P < 0,01^{**}$
<i>TNFαPMA</i> (pg/ml) (Μέση τιμή \pm SD)	1279,47 \pm 362,47	1492,78 \pm 611,07	720 \pm 201,56	$P = 0,035^*$	$P < 0,01^*$	$P < 0,01^*$
<i>IL-6</i> (pg/ml) (Μέση τιμή \pm SD)	947,13 \pm 466,55	1101,96 \pm 296,61	301,17 \pm 99,26	$P > 0,05^*$	$P < 0,01^*$	$P < 0,01^*$
<i>IL-6PMA</i> (pg/ml) (Μέση τιμή \pm SD)	1128,4 \pm 518,61	1422,84 \pm 552,42	781,73 \pm 343,73	$P > 0,05^{**}$	$P = 0,06^{**}$	$P < 0,01^{**}$
<i>IL-1β</i> (pg/ml) (Μέση τιμή \pm SD)	776,31 \pm 549,48	727,5 \pm 394,63	253,82 \pm 105,55	$p > 0,05^*$	$P < 0,01^*$	$P < 0,01^*$
<i>IL-1βPMA</i> (pg/ml) (Μέση τιμή \pm SD)	950,75 \pm 732,61	899,1 \pm 551,17	548,52 \pm 150,8	$P > 0,05^*$	$P > 0,05^*$	$P = 0,007^*$

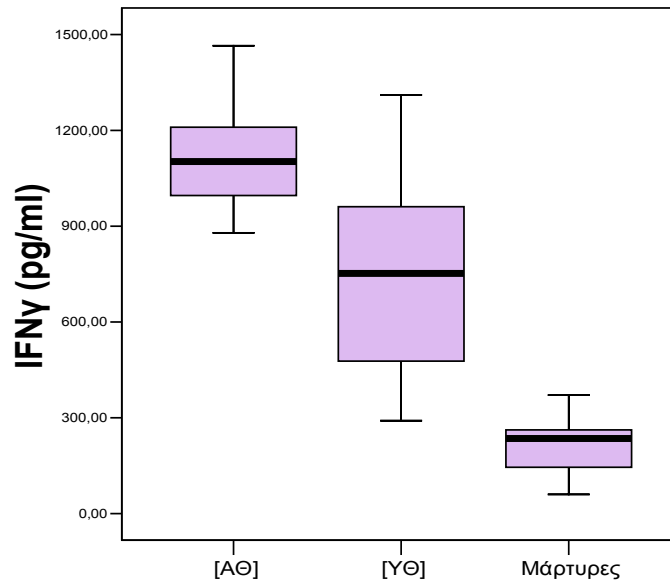
* Mann-Whitney test

** Bonferroni post-hoc test

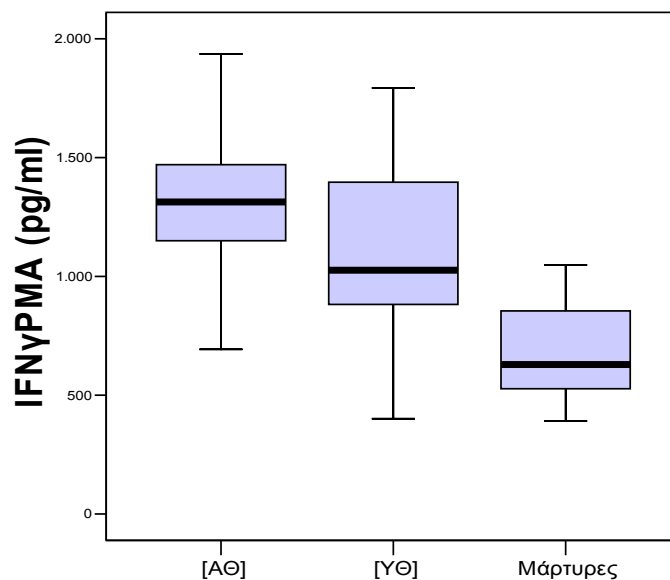
Πίνακας 20. Σύγκριση μέσων τιμών κυττάρων που εκκρίνουν κυτοκίνες ανά 10^5 μονοπύρηνων στις ομάδες ασθενών [ΥΘ], [ΑΘ] και μαρτύρων.

Ωστόσο, η νόσος καθεαυτή είναι ο καθοριστικός παράγοντας για τα επίπεδα των κυτοκινών, όπως φαίνεται στον πίνακα 20, όπου η ομάδα των μαρτύρων σε σύγκριση με τις ομάδες των ασθενών εμφανίζει στατιστικά σημαντική διαφορά σε όλες τις τιμές των κυττάρων που εκκρίνουν κυτοκίνες, με εξαίρεση μόνο τις περιπτώσεις

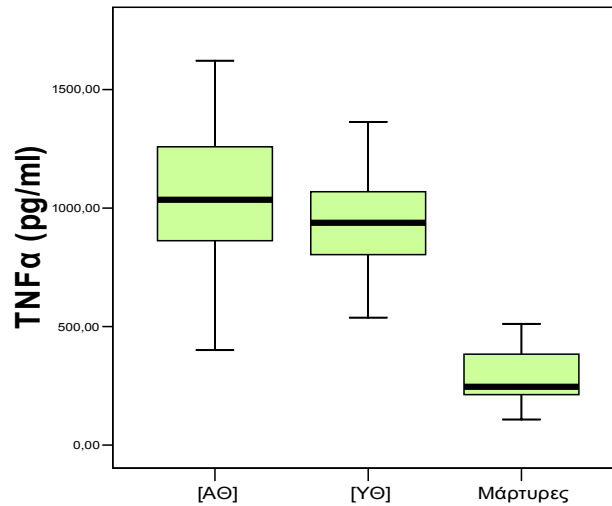
της IL-6 και IL-1β μετά από διέγερση σε σύγκριση με την ομάδα [ΥΘ]. Μεταξύ των ομάδων των ασθενών [ΥΘ] και [ΑΘ] παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά στις τιμές των κυττάρων που εκκρίνουν IFN γ σε βασικές συνθήκες και IFN γ και TNF α μετά από διέγερση (Γράφημα 1,2,3,4).



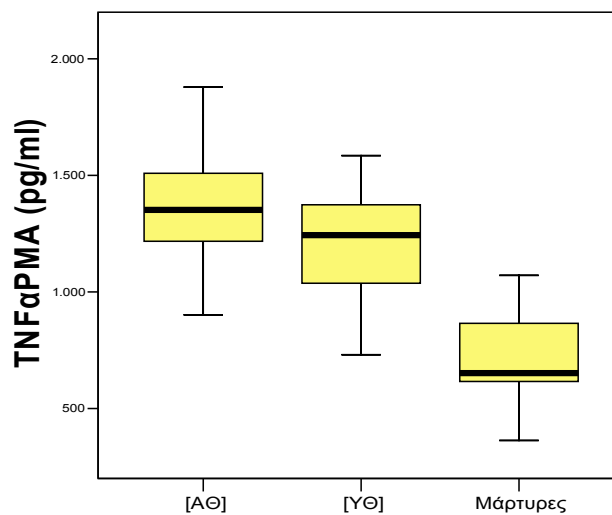
Γράφημα 1. Αριθμός κυττάρων που εκκρίνουν IFN γ ανά 10^5 σε βασικές συνθήκες σε ασθενείς [ΑΘ], [ΥΘ] και μάρτυρες.



Γράφημα 2. Αριθμός κυττάρων που εκκρίνουν IFN γ ανά 10^5 μετά από διέγερση σε ασθενείς [ΑΘ], [ΥΘ] και μάρτυρες.



Γράφημα 3. Αριθμός κυττάρων που εκκρίνουν TNFα ανά 10^5 σε βασικές συνθήκες σε ασθενείς [AΘ], [YΘ] και μάρτυρες.



Γράφημα 4. Αριθμός κυττάρων που εκκρίνουν TNFα ανά 10^5 μετά από διέγερση σε ασθενείς [AΘ], [YΘ] και μάρτυρες.

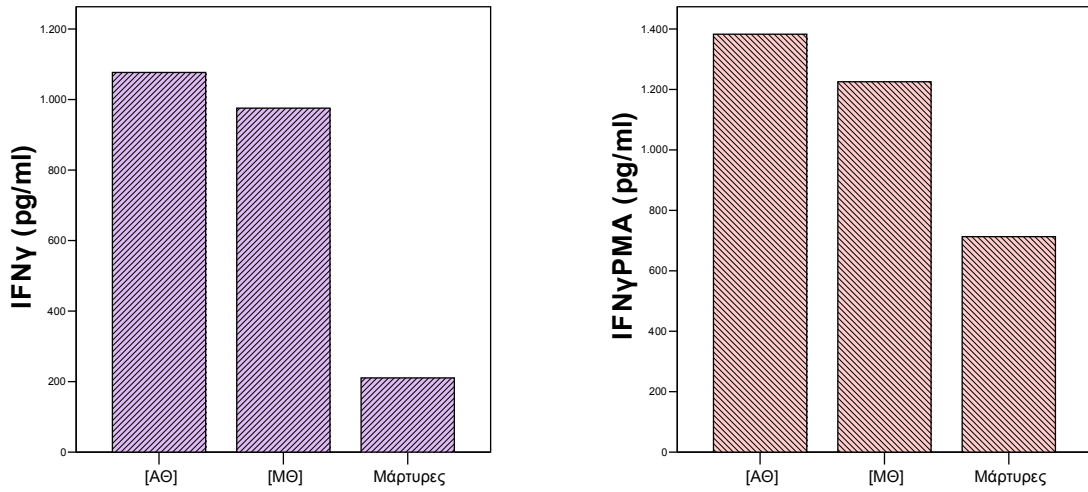
Στην ομάδα των ασθενών [AΘ-MΘ] παρατηρείται στατιστικά σημαντική μείωση στα αποτελέσματα της μεθόδου ELISPOT για όλες τις κυτοκίνες μετά τη θεραπεία, εκτός από τις τιμές των IFN γ μετά από διέγερση και IL-6 σε βασικές συνθήκες. Οι τιμές των μαρτύρων διαφέρουν στατιστικά σημαντικά σε όλες τις παραμέτρους συγκρινόμενες με τις τιμές προ θεραπείας, ενώ μετά τη θεραπεία δεν παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά μόνο στις τιμές των κυττάρων που εκκρίνουν IL-6 και IL-1 β μετά από διέγερση (Πίνακας 21) (Γράφημα 5-8).

	Προ θεραπείας	Μετά θεραπείας	Μάρτυρες	Τιμή P Προ-Μετά θεραπείας	Τιμή P Προ θεραπείας- Μάρτυρες	Τιμή P Μετά θεραπείας- Μάρτυρες
<i>IFNγ</i> (pg/ml) (Μέση τιμή \pm SD)	1076,81 \pm 223,06	975,61 \pm 247,3	210,56 \pm 81,07	$P=0,033^*$	$P<0,001^{**}$	$P<0,001^{**}$
<i>IFNγPMA</i> (pg/ml) (Μέση τιμή \pm SD)	1382,81 \pm 591,26	1225,61 \pm 310,76	712,91 \pm 283,6	$P>0,05^*$	$P<0,001^{**}$	$P<0,001^{**}$
<i>TNFα</i> (pg/ml) (Μέση τιμή \pm SD)	1146,32 \pm 271,14	974,32 \pm 205,33	286,69 \pm 124,02	$P=0,016^*$	$P<0,001^{**}$	$P<0,001^{**}$
<i>TNFαPMA</i> (pg/ml) (Μέση τιμή \pm SD)	1769,89 \pm 800,88	1246,32 \pm 282,66	720 \pm 201,56	$P=0,016^*$	$P<0,001^{**}$	$P=0,003^{**}$
<i>IL6</i> (pg/ml) (Μέση τιμή \pm SD)	975,5 \pm 356,43	755,17 \pm 184,35	301,17 \pm 99,26	$P=0,062^*$	$P<0,001^{**}$	$P<0,001^{**}$
<i>IL6PMA</i> (pg/ml) (Μέση τιμή \pm SD)	1260,33 \pm 556,00	881,67 \pm 176,41	781,73 \pm 343,73	$P=0,022^*$	$P=0,001^{**}$	$P>0,05^{**}$
<i>IL-1β</i> (pg/ml) (Μέση τιμή \pm SD)	916,19 \pm 256,44	611 \pm 218,1	253,82 \pm 105,55	$P=0,003^*$	$P<0,001^{**}$	$P<0,001^{**}$
<i>IL-1βPMA</i> (pg/ml) (Μέση τιμή \pm SD)	1055,06 \pm 355,1	731,93 \pm 282,99	548,52 \pm 150,8	$P=0,04^*$	$P<0,001^{**}$	$P>0,05^{**}$

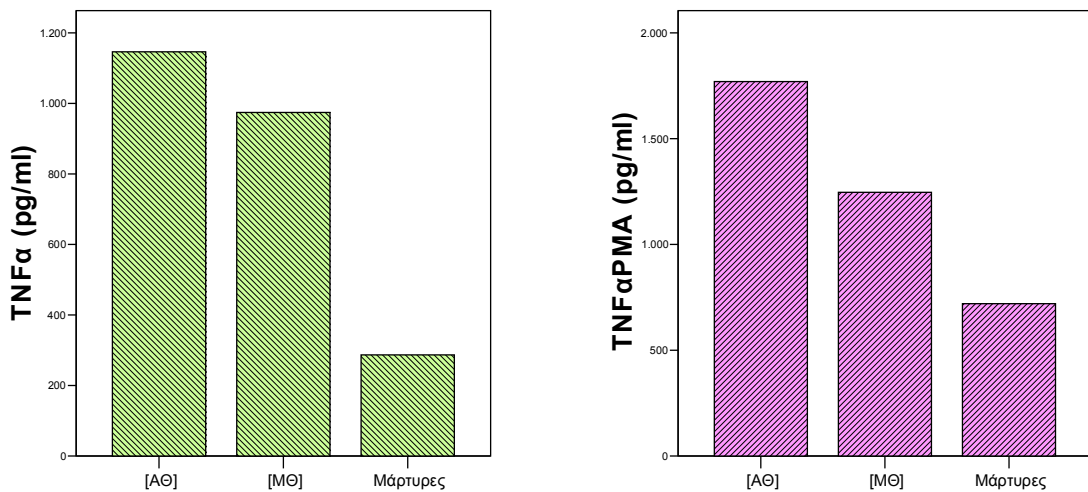
* Paired-Samples T Test

** Bonferroni post-hoc test

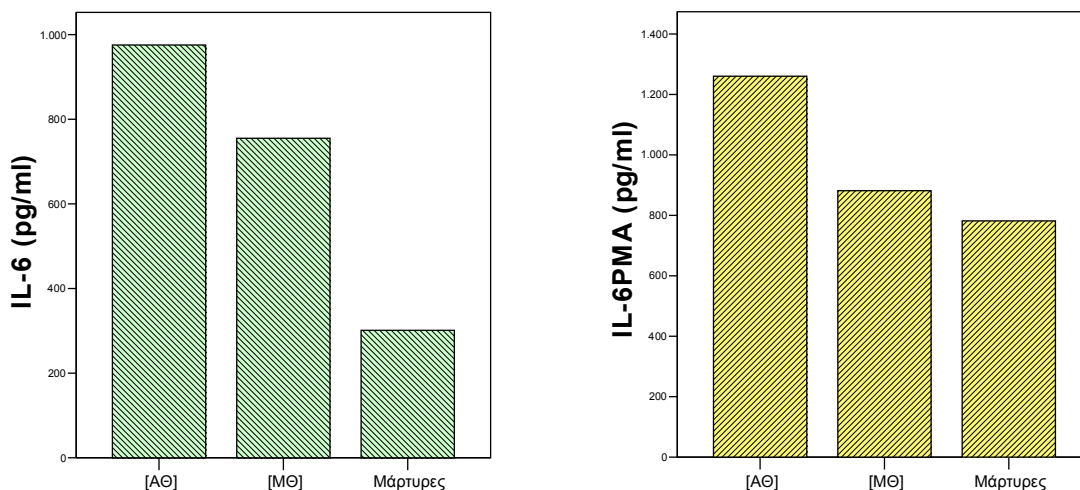
Πίνακας 21. Σύγκριση μέσων τιμών κυττάρων που εκκρίνουν κυτοκίνες ανά 10^5 μονοπύρηνων μαρτύρων και ασθενών προ και μετά θεραπείας.



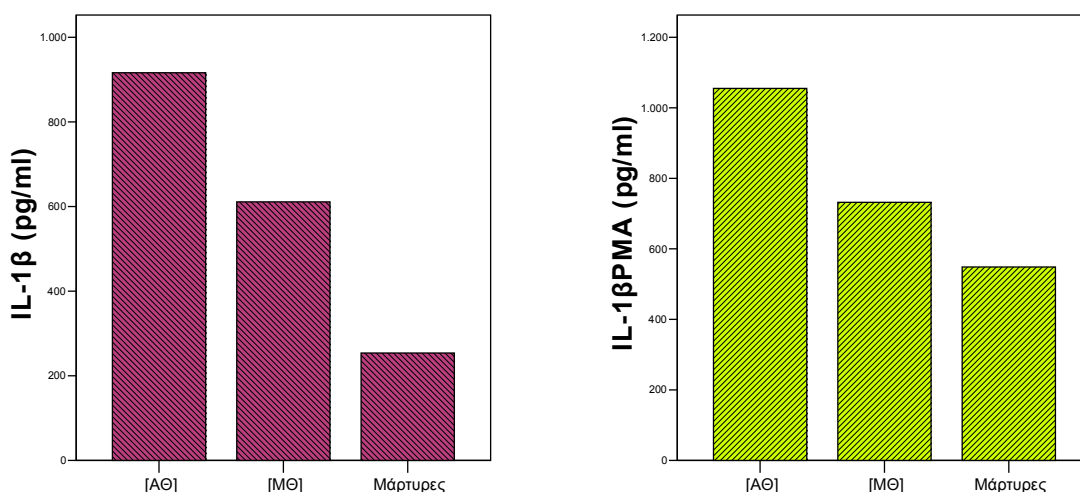
Γράφημα 5. Αριθμός κυττάρων που εκκρίνουν IFN γ ανά 10^5 σε βασικές συνθήκες και μετά από διέγερση σε ασθενείς προ [ΑΘ] και μετά θεραπείας [ΜΘ] και μάρτυρες.



Γράφημα 6. Αριθμός κυττάρων που εκκρίνουν TNF α ανά 10^5 σε βασικές συνθήκες και μετά από διέγερση σε ασθενείς προ [ΑΘ] και μετά θεραπείας [ΜΘ] και μάρτυρες.



Γράφημα 7. Αριθμός κυττάρων που εκκρίνουν IL-6 ανά 10^5 σε βασικές συνθήκες και μετά από διέγερση σε ασθενείς προ [AΘ] και μετά θεραπείας [MΘ] και μάρτυρες.



Γράφημα 8. Αριθμός κυττάρων που εκκρίνουν IL-1β ανά 10^5 σε βασικές συνθήκες και μετά από διέγερση σε ασθενείς προ [AΘ] και μετά θεραπείας [MΘ] και μάρτυρες.

Τα επίπεδα της CRP και των μορίων προσκόλλησης sVCAM-1 και sICAM-1 μετρήθηκαν στο πλάσμα των ασθενών, χρησιμοποιώντας τη μέθοδο ELISA. Δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στις τιμές των παραγόντων αυτών, τόσο μεταξύ των ομάδων [YΘ] και [AΘ] (Πίνακας 22), όσο και στην ομάδα [AΘ-MΘ] πριν και μετά τη θεραπεία (Πίνακας 23).

	<i>Άνοια [ΥΘ]</i>	<i>Άνοια [ΑΘ]</i>	<i>Τιμή P*</i>
<i>CRP (mg/l)</i> <i>(Μέση τιμή±SD)</i>	10,6±7,02	8,93±7,93	<i>P>0,05</i>
<i>sVCAM-1 (ng/ml)</i> <i>(Μέση τιμή±SD)</i>	2459,57±911,69	2009,58±1165,87	<i>P>0,05</i>
<i>sICAM-1 (ng/ml)</i> <i>(Μέση τιμή±SD)</i>	831,6±210,74	802,43±214,15	<i>p>0,05</i>

*Independent Samples T Test

Πίνακας 22. Σύγκριση τιμών CRP, sVCAM-1 και sICAM-1 στο πλάσμα ασθενών [ΥΘ] και [ΑΘ].

	<i>Προ θεραπείας</i>	<i>Μετά θεραπείας</i>	<i>Τιμή P*</i>
<i>sVCAM-1 (ng/ml)</i> <i>(Μέση τιμή±SD)</i>	1609,22±884,9	1486,55±874,64	<i>P>0,05</i>
<i>sICAM-1 (ng/ml)</i> <i>(Μέση τιμή±SD)</i>	809,21±173,86	823,94±247,65	<i>P>0,05</i>

* Paired-Samples T Test

Πίνακας 23. Σύγκριση τιμών sVCAM-1 και sICAM-1 στο πλάσμα ασθενών [ΑΘ-ΜΘ] προ και μετά θεραπείας.

Εξετάζοντας τις ομάδες [ΥΘ], [ΑΘ] και το σύνολο των ασθενών με βάση τη διάρκεια της νόσου, βρέθηκε ότι οι τιμές του sICAM-1 αυξάνονται σε στατιστικά σημαντικό βαθμό, όταν η διάρκεια της νόσου ξεπερνάει τα τρία έτη. Η διαφορά αυτή ωστόσο δεν παρατηρήθηκε στην ομάδα των ασθενών [ΥΘ], γεγονός που θα μπορούσε ίσως να αποδοθεί στη λήψη της θεραπευτικής αγωγής (AChEI) (Πίνακας 24).

	<i>Άνοια [ΥΘ]</i>	<i>Άνοια [ΑΘ]</i>	<i>Σύνολο ασθενών</i>
<i>sICAM-1 (ng/ml)</i> <i>(Μέση τιμή±SD)</i>			
Διάρκεια νόσου 1-3 έτη	848,44±210,88	758,83±200,45	773,82±204,25
Διάρκεια νόσου ≥4 έτη	817,81±219,87	947,77±203,17	893,36±209,04
<i>Τιμή P*</i>	p>0,05	P=0,018	P=0,042

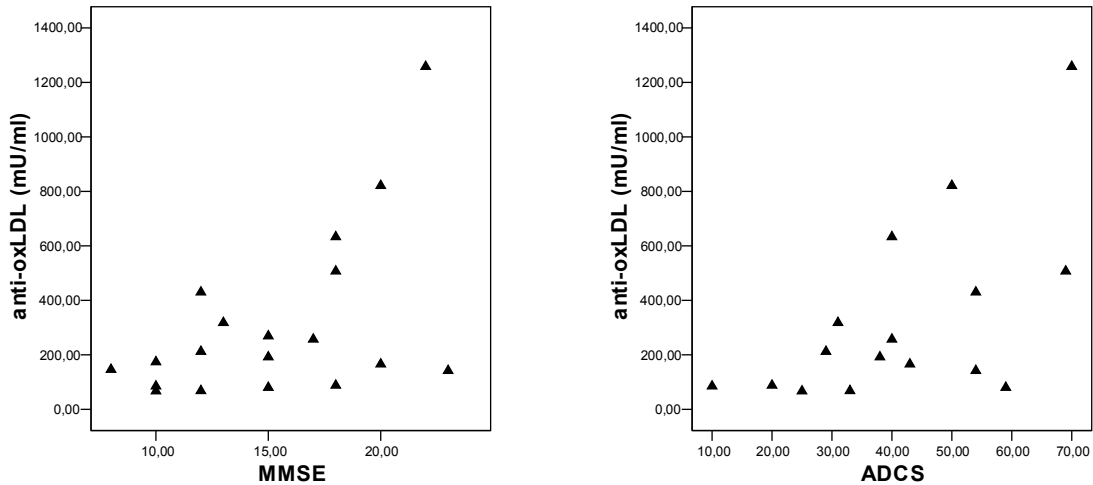
* Independent Samples T Test

Πίνακας 24. Σύγκριση τιμών sICAM-1 στις ομάδες και στο σύνολο των ασθενών βάσει της διάρκειας της νόσου.

3.2.4 Συσχετίσεις μεταξύ των υπό μελέτη παραμέτρων

3.2.4.1 Ομάδα ασθενών υπό θεραπεία [ΥΘ]

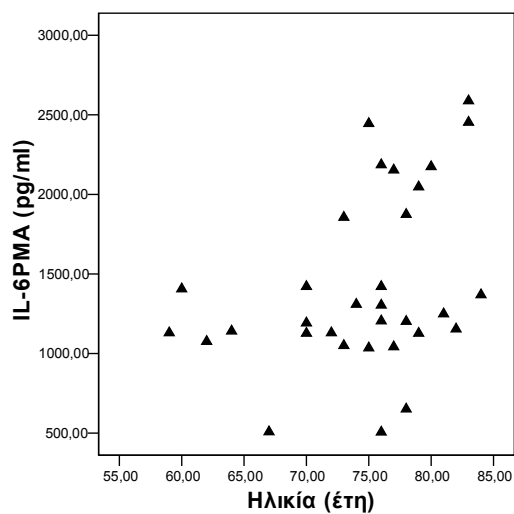
Στην ομάδα των ασθενών [ΥΘ], η διάρκεια της νόσου έχει αρνητική συσχέτιση με τις ψυχομετρικές κλίμακες MMSE (Pearson's $r = -0,431$, $p=0,004$) και ADCS (Pearson's $r = -0,509$, $p=0,002$), γεγονός αναμενόμενο από την εξέλιξη της νόσου. Σε σχέση με τους υπό μελέτη φλεγμονώδεις παράγοντες, η κλίμακα MMSE (Pearson's $r = 0,521$, $p=0,022$) (Γράφημα 9) και η κλίμακα ADCS (Pearson's $r = 0,601$, $p=0,014$) (Γράφημα 10) εμφανίζουν θετική συσχέτιση με τα επίπεδα των anti-oxLDL. Η κλίμακα CDR εμφανίζει θετική συσχέτιση με τα επίπεδα των κυττάρων, που εκκρίνουν IFN γ μετά από διέγερση (Spearman's $\rho = 0,548$, $p=0,015$), ενώ ο ΔΜΣ συσχετίζεται θετικά με τα επίπεδα της CRP (Pearson's $r = 0,558$, $p=0,038$).



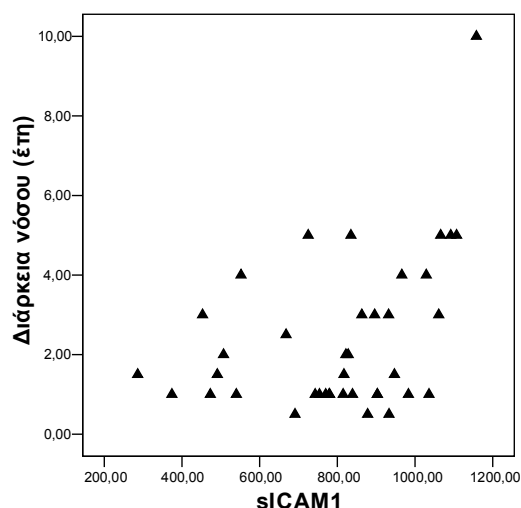
Γράφημα 9. Θετική γραμμική συσχέτιση της βαθμολογίας στις κλίμακες MMSE και ADCS με τα επίπεδα anti-oxLDL στην ομάδα ασθενών [ΥΘ].

3.2.4.2 Ομάδα ασθενών άνευ θεραπείας [ΑΘ]

Στην ομάδα των ασθενών [ΑΘ], η κλίμακα CDR συσχετίζεται θετικά, τόσο με την ηλικία των ασθενών (Spearman's rho = 0,323, $p=0,013$), όσο και με τη διάρκεια της νόσου (Spearman's rho = 0,518, $p<0,001$), ενώ η κλίμακα MMSE και σε αυτή την ομάδα εμφανίζει αρνητική συσχέτιση με τη διάρκεια της νόσου (Spearman's rho = -0,439, $p=0,001$). Η ηλικία των ασθενών σε αυτή την ομάδα συσχετίζεται θετικά με τον αριθμό των κυττάρων που εκκρίνουν IL-6 μετά από διέγερση (Pearson's $r = 0,370$, $p=0,037$) (Γράφημα 11) και η διάρκεια της νόσου εμφανίζει θετική συσχέτιση με τα επίπεδα sICAM-1 (Spearman's rho = 0,319, $p=0,048$) (Γράφημα 12).

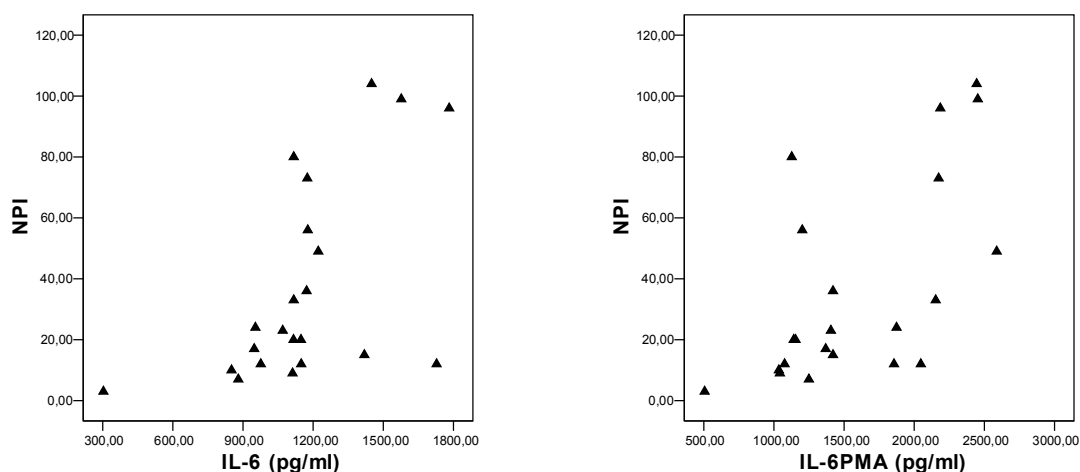


Γράφημα 11. Θετική γραμμική συσχέτιση της ηλικίας των ασθενών [ΑΘ] με τα επίπεδα των κυττάρων ανά 10^5 που εκκρίνουν IL-6 μετά από διέγερση.



Γράφημα 12. Θετική γραμμική συσχέτιση της διάρκειας της νόσου στους ασθενείς [ΑΘ] με τα επίπεδα sICAM-1.

Το σημαντικότερο εύρημα σε αυτή την κατηγορία των ασθενών είναι η θετική συσχέτιση της κλίμακας NPI με τα επίπεδα των κυττάρων που εκκρίνουν IL-6, τόσο σε βασικές συνθήκες (Spearman's rho = 0,642, $p=0,001$), όσο και μετά από διέγερση (Spearman's rho = 0,653, $p=0,001$) (Γράφημα 13). Από τους υπόλοιπους παράγοντες, ο ΔΜΣ σχετίζεται και πάλι θετικά με τα επίπεδα της CRP (Pearson's $r = 0,383$, $p=0,036$), ενώ τα επίπεδα των anti-oxLDL σχετίζονται θετικά, τόσο με το ΔΜΣ (Spearman's rho = 0,538, $p=0,002$), όσο και με την περίμετρο της μέσης (Spearman's rho = 0,410, $p=0,03$).

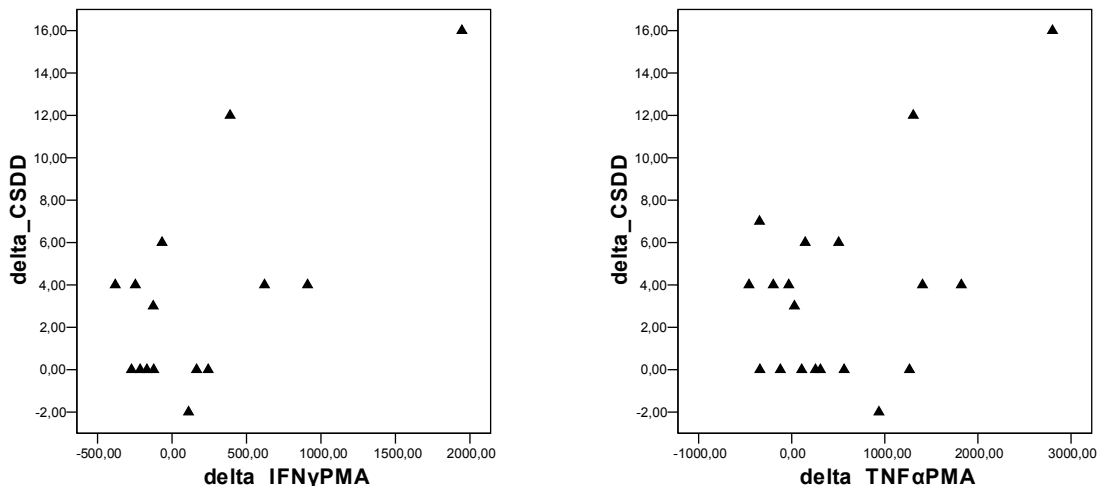


Γράφημα 13. Θετική γραμμική συσχέτιση της βαθμολογίας στην κλίμακα NPI με τα επίπεδα των κυττάρων ανά 10^5 που εκκρίνουν IL-6 σε κανονικές συνθήκες και μετά από διέγερση στην ομάδα ασθενών [ΑΘ].

3.2.4.3 Ομάδα ασθενών προ και μετά θεραπεία με AChEI

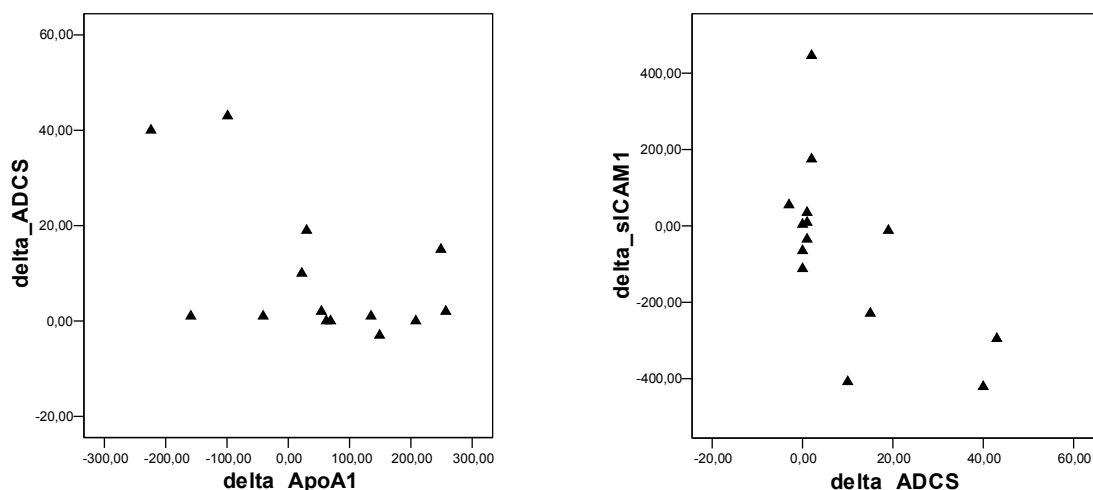
Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, οι τιμές των περισσότερων παραμέτρων πριν και μετά τη θεραπεία με AChEI διαφέρουν μεταξύ τους σε σημαντικό βαθμό, το οποίο είναι ένα αξιόλογο εύρημα. Ωστόσο, το πιο σημαντικό κομμάτι στην ομάδα αυτή των ασθενών είναι η διερεύνηση, αν οι διαφορές στις ψυχομετρικές κλίμακες συσχετίζονται με τις διαφορές στους φλεγμονώδεις παράγοντες.

Έτσι, για την κλίμακα CSDD, η οποία έδειξε στατιστικά σημαντική μείωση μετά τη θεραπεία με AChEI, υπάρχει θετική συσχέτιση της μείωσης της βαθμολόγησης των ασθενών στην κλίμακα CSDD με τη διαφορά που παρατηρήθηκε στον αριθμό των κυττάρων, που παράγουν IFN γ (Pearson's $r = 0,694$, $p=0,004$) και TNF α (Pearson's $r = 0,493$, $p=0,032$) μετά από διέγερση (Γράφημα 14), ενώ φαίνεται μία τάση συσχέτισης με τη διαφορά στον αριθμό των κυττάρων που παράγουν IL-6 μετά από διέγερση (Pearson's $r = 0,444$, $p=0,074$) και IL-1 β σε κανονικές συνθήκες (Pearson's $r = 0,503$, $p=0,08$).



Γράφημα 14. Θετική γραμμική συσχέτιση της μείωσης στη βαθμολόγηση στην κλίμακα CSDD με τη διαφορά στα επίπεδα των κυττάρων ανά 10^5 που εκκρίνουν IFN γ και TNF α μετά από διέγερση στους ασθενείς πριν και μετά τη θεραπεία.

Στην κλίμακα NPI, η διαφορά στη βαθμολόγηση πριν και μετά τη θεραπεία με AChEI εμφανίζει στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση με τη διαφορά στον αριθμό των κυττάρων που εκκρίνουν IL-6 μετά από διέγερση (Pearson's $r = 0,895$, $p=0,04$). Αρνητική συσχέτιση παρατηρείται μεταξύ της διαφοράς στη βαθμολόγηση της κλίμακας ADCS και της διαφοράς των τιμών της ApoA-I (Pearson's $r = -0,537$, $p=0,048$) και του sICAM-1 (Pearson's $r = -0,630$, $p=0,016$) (Γράφημα 15).



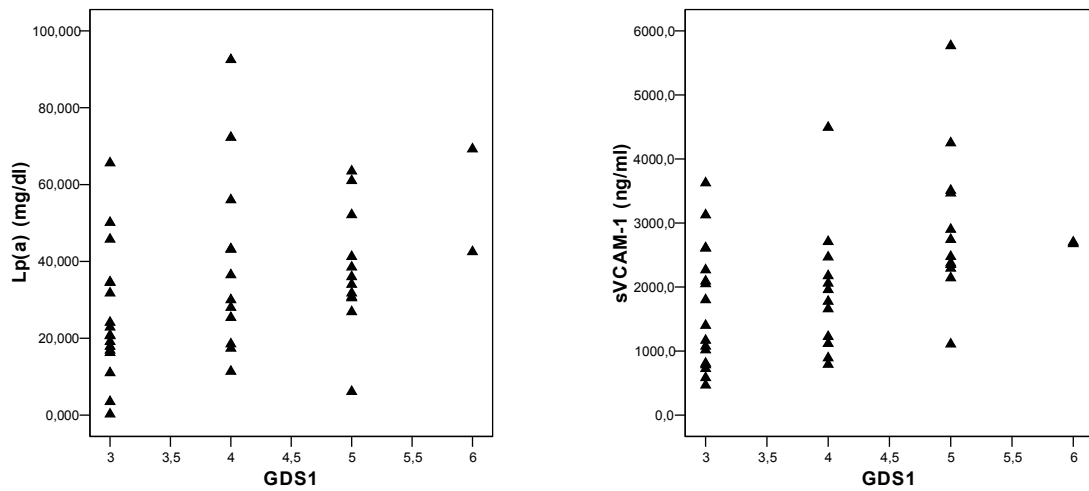
Γράφημα 15. Αρνητική γραμμική συσχέτιση της διαφοράς στη βαθμολόγηση της κλίμακας ADCS πριν και μετά τη θεραπεία με AChEI και της διαφοράς στις τιμές των ApoA-I και sICAM-1.

3.2.5 Αποτελέσματα στους ασθενείς με τελική έκβαση [ATE]

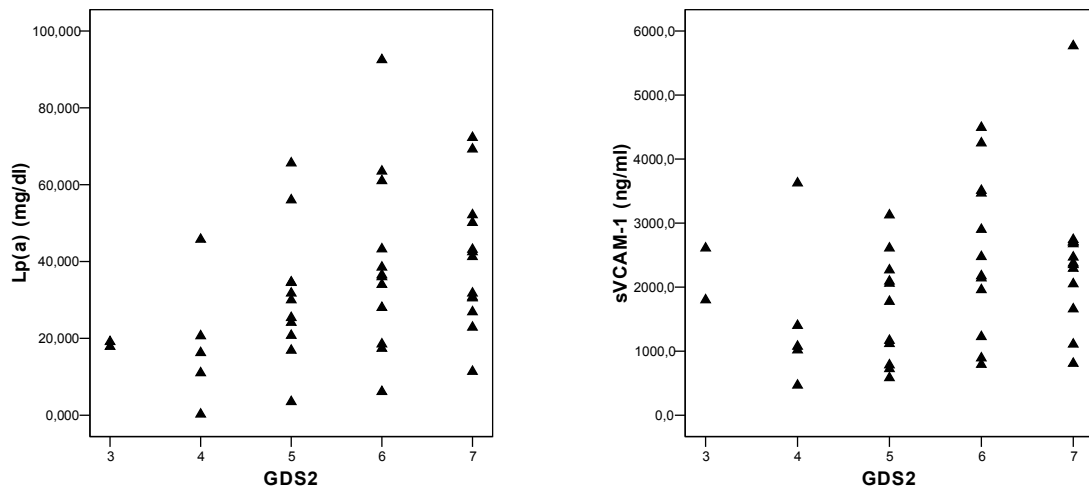
Στην ομάδα αυτή των ασθενών η σοβαρότητα της νόσου εκτιμήθηκε με την κλίμακα σφαιρικής επιδείνωσης (GDS) κατά την είσοδό τους στη μελέτη και 5 χρόνια μετά την αρχική εκτίμηση. Από τους 88 ασθενείς, που ανευρέθηκαν για την επανεκτίμηση, οι 23 είχαν αποβιώσει από τη νόσο και η επανεκτίμηση έγινε στους υπόλοιπους 65 ασθενείς. Η στατιστική ανάλυση περιλαμβάνει τις υπό εκτίμηση εργαστηριακές παραμέτρους σε σχέση με την αρχική και την τελική βαθμολογία στην κλίμακα GDS και τη διαφορά στην GDS. Επίσης διερευνήθηκε η σχέση της επικουρικής λαμβανόμενης φαρμακευτικής αγωγής στη διάρκεια των πέντε ετών (αντιψυχωσικού φαρμάκου ή/και αντικαταθλιπτικού φαρμάκου) με την αρχική και την τελική βαθμολογία στην κλίμακα GDS και με τη διαφορά στην GDS. Τέλος έγινε διερεύνηση για την ανεύρεση παραγόντων, που σχετίζονται με τη θνητότητα.

Τόσο η αρχική (Spearman's rho = 0,614, $p < 0,001$), όσο και η τελική βαθμολογία (Spearman's rho = 0,396, $p = 0,001$) στην κλίμακα GDS συσχετίζονται θετικά με τη διάρκεια της νόσου. Η αρχική βαθμολογία στην GDS εμφανίζει θετική συσχέτιση με τα επίπεδα στο πλάσμα της CRP (Spearman's rho = 0,379, $p = 0,012$), της Lp(a) (Spearman's rho = 0,392, $p = 0,009$) και του sVCAM-1 (Spearman's rho = 0,491, $p = 0,001$) (Γράφημα 16). Η θετική συσχέτιση παραμένει για τους δύο τελευταίους παράγοντες και με την τελική βαθμολογία στην GDS: Lp(a) (Spearman's rho = 0,401, $p = 0,008$) και sVCAM-1 (Spearman's rho = 0,307, $p = 0,046$) (Γράφημα

17). Καμία στατιστικά σημαντική συσχέτιση δεν βρέθηκε μεταξύ των εργαστηριακών παραμέτρων και της διαφοράς στη βαθμολογία της κλίμακας GDS.



Γράφημα 16. Θετική συσχέτιση της αρχικής βαθμολογίας στην κλίμακα GDS και των επιπέδων Lp(a) και sVCAM-1 στους ασθενείς με τελική έκβαση [ATE].



Γράφημα 17. Θετική συσχέτιση της τελικής βαθμολογίας στην κλίμακα GDS και των επιπέδων Lp(a) και sVCAM-1 στους ασθενείς με τελική έκβαση [ATE].

Η στατιστική ανάλυση (Mann-Whitney U test) για την επίδραση της φαρμακευτικής αγωγής στην κλίμακα GDS έδειξε ότι η λήψη αντικαταθλιπτικής αγωγής συσχετίζεται τόσο με την πρώτη ($z = -2,309, p = 0,021$), όσο και με την τελική βαθμολογία ($z = -2,116, p = 0,034$), αλλά όχι με τη διαφορά στη βαθμολογία της κλίμακας GDS ($z = -2,627, p = 0,486$), ενώ η λήψη αντιψυχωσικής αγωγής συσχετίζεται με όλες τις παραμέτρους (GDS1: $z = -3,487, p < 0,001$, GDS2: $z = -4,171,$

$p < 0,001$ και $\text{delta_GDS: } z = -2,125, p = 0,034$). Αυτό σημαίνει ότι οι ασθενείς, που χρειάστηκε να λάβουν επικουρική φαρμακευτική αγωγή λόγω συνοδών συμπτωμάτων καταθλιπτικού ή ψυχωσικού τύπου, εμφανίζουν μεγαλύτερη έκπτωση των γνωστικών λειτουργιών, τόσο στην αρχή της μελέτης, όσο και μετά την παρέλευση της πενταετίας, σε σύγκριση με τους ασθενείς που έλαβαν μόνον AChEI. Επιπροσθέτως, η ανάγκη λήψης αντιψυχωσικής θεραπείας σχετίζεται με μεγαλύτερη ή/και γρηγορότερη επιδείνωση των γνωστικών λειτουργιών σε αυτή την ομάδα των ασθενών, συγκριτικά με τους ασθενείς που δεν έλαβαν αντιψυχωσική αγωγή.

Τέλος, κατά τη συγκριτική μελέτη της ομάδας των επιζώντων με την ομάδα των αποθανόντων, βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στη βαθμολογία των ασθενών των δύο ομάδων στις ψυχομετρικές κλίμακες CDR, GDS, MMSE και NPI (Πίνακας 25). Από το αποτέλεσμα αυτό φαίνεται ότι, εκτός από τη σοβαρότητα της νόσου, η ύπαρξη των συνοδών νευροψυχιατρικών συμπτωμάτων αποτελεί επιπρόσθετο παράγοντα, που αυξάνει τη θνητότητα στους ασθενείς αυτούς. Καμία στατιστικά σημαντική διαφορά δεν βρέθηκε σε σχέση με τη λήψη επικουρικής φαρμακευτικής αγωγής (Pearson Chi-Square $p > 0,05$).

	<i>Επιζώντες</i>	<i>Αποθανόντες</i>	<i>Τιμή P</i>
<i>CDR</i> (Μέση τιμή±SD)	1,13±0,74	1,73±0,75	$P < 0,001^*$
<i>GDS</i> (Μέση τιμή±SD)	3,92±0,90	4,83±0,93	$P < 0,001^*$
<i>MMSE</i> (Μέση τιμή±SD)	18,98±6,38	12,86±5,65	$P = 0,031^{**}$
<i>ADCS</i> (Μέση τιμή±SD)	50,57±19,78	40,47±24,03	$p > 0,05^{**}$
<i>NPI</i> (Μέση τιμή±SD)	32,69±26,63	49,58±26,60	$P = 0,031^{**}$
<i>CSDD</i> (Μέση τιμή±SD)	7,00±7,02	8,93±7,30	$p > 0,05^{**}$

*Mann-Whitney *U* test

**Independent Samples Test

Πίνακας 25. Σύγκριση της βαθμολογίας στις ψυχομετρικές δοκιμασίες των επιζώντων και των αποθανόντων ασθενών.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

4.1 Παρουσίαση της μελέτης

Η παρούσα μελέτη σχεδιάστηκε για τη διερεύνηση των επιπέδων δεικτών φλεγμονής του περιφερικού αίματος σε ηλικιωμένα άτομα με γνωστική έκπτωση και τη σχέση τους με τα νευροψυχιατρικά συμπτώματα και την εξέλιξη της νόσου. Οι ηλικιωμένοι αποτελούν μια διαρκώς αυξανόμενη ομάδα του πληθυσμού, έτσι ώστε μέχρι το 2050 να αναμένεται αύξηση κατά 70% των Ευρωπαίων με ηλικία μεγαλύτερη των 65 ετών και κατά 170% εκείνων με ηλικία μεγαλύτερη των 80 ετών. Ειδικότερα στην Ελλάδα, η αύξηση του προσδόκιμου χρόνου ζωής και η δραματική πτώση της γεννητικότητας, έχουν ως αποτέλεσμα η χώρα μας να είναι ένα από τα πλέον γηρασμένα έθνη του κόσμου μαζί με την Ιταλία, τη Γερμανία και τη Σουηδία. Το έτος 2030, ο αριθμός των ατόμων άνω των 60 ετών, στη χώρα μας, σύμφωνα με την Εθνική Στατιστική Υπηρεσία της Ελλάδος, θα αυξηθεί κατά 10% φτάνοντας το 1/3 του συνόλου. Η σημαντικότερη πρόκληση είναι η φροντίδα για υγιείς και δραστήριους ηλικιωμένους, γιατί όσο περισσότερο διατηρείται η καλή υγεία, τόσο βελτιώνεται η ποιότητα ζωής και αυξάνονται οι δυνατότητες για ανεξαρτησία και παραμονή των ηλικιωμένων στην ενεργό ζωή.

Η άνοια αποτελεί μια χρόνια ή προοδευτική φλοιϊκή ή υποφλοιϊκή δυσλειτουργία, που οδηγεί σε προοδευτική έκπτωση των νοητικών λειτουργιών, στην οποία μνήμη, σκέψη και κρίση έχουν υποστεί διαταραχή, ενώ και η προσωπικότητα μπορεί να υποστεί αλλαγές. Πλήττει κυρίως άτομα ηλικίας άνω των 60 ετών και είναι μία από τις πιο σημαντικές αιτίες ανικανότητας στους ηλικιωμένους. Με το αυξανόμενο ποσοστό των ηλικιωμένων σε πολλούς πληθυσμούς, ο αριθμός των ασθενών με άνοια θα αυξηθεί επίσης. Οι πιο κοινές αιτίες της άνοιας είναι η νόσος του Alzheimer (έως και 70%) και τα αλλεπάλληλα εγκεφαλικά επεισόδια (10-20%), που οδηγούν σε πολυεμφρακτική άνοια.

Σε ποσοστό 95% οι περιπτώσεις νόσου Alzheimer είναι σποραδικές και μόνο το υπόλοιπο 5% σχετίζεται με κάποια γονίδια. Αν και η πιθανότητα εμφάνισης της νόσου αυξάνεται με την ηλικία, η νόσος Alzheimer δεν είναι μέρος της φυσιολογικής γήρανσης, αλλά είναι αποτέλεσμα διαταραχών στο μεταβολισμό των κυττάρων του εγκεφάλου. Το κύριο παθολογικό χαρακτηριστικό της νόσου είναι ο σχηματισμός πλακών στον εγκέφαλο, που αποτελούνται από συσσωματώματα αμυλοειδούς πεπτιδίου β (Αβ). Η ηλικία και η κληρονομικότητα ανήκουν στους λεγόμενους μη

τροποποιήσιμους παράγοντες κινδύνου. Όμως, σήμερα γνωρίζουμε την επίδραση άλλων παραγόντων, η τροποποίηση των οποίων μπορεί να μειώσει τον κίνδυνο για τη νόσο Alzheimer. Όλοι οι λεγόμενοι αγγειακοί παράγοντες κινδύνου (αρτηριακή υπέρταση, σακχαρώδης διαβήτης, υπερχοληστερολαιμία, κάπνισμα), οι οποίοι ενοχοποιούνται για την αθηροσκλήρωση, τη στεφανιαία νόσο και τα εγκεφαλικά επεισόδια, είναι δυνατόν να παραβλάψουν και τις νοητικές λειτουργίες. Από την άλλη, γενετικές μελέτες των τελευταίων χρόνων έδειξαν ότι υπάρχουν κοινά γονίδια, που εμπλέκονται στη ΝΑ και την αθηροσκλήρωση: γονίδιο που κωδικοποιεί την απολιποπρωτεΐνη E (ApoE), γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες που εμπλέκονται στο μεταβολισμό της χοληστερόλης, την αρτηριακή υπέρταση, την οξείδωση λιπιδίων και σε φλεγμονώδεις διεργασίες.

Η ApoE είναι μία κύρια πρωτεΐνη του συστήματος μεταφοράς λιπιδίων και παίζει σημαντικό ρόλο στη δυσλιπιδαιμία, στην αθηροσκλήρωση και στην παθογένεση της ΝΑ. Η ApoE εκφράζεται στο ήπαρ, τον εγκέφαλο και άλλους ιστούς και εμφανίζεται με τρεις κοινές ισομορφές στο γενικό πληθυσμό (ApoE-ε2, ApoE-ε3, ApoE-ε4). Η πιο μελετημένη δράση της ApoE σχετίζεται με τη μεταφορά λιπιδίων και την ικανότητά της να προάγει την απομάκρυνση χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων από το αίμα. Στον εγκέφαλο δρα καταλυτικά στην πρωτεόλυση του αμυλοειδούς πεπτιδίου, τόσο μέσα όσο και ανάμεσα στα κύτταρα. Έχει φανεί όμως ότι η ApoE-ε4 ισομορφή δεν είναι τόσο ενεργή, με αποτέλεσμα οι φορείς του γονιδίου αυτού να διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου. Ωστόσο δεν συστήνεται ο ευρύς έλεγχος για το αλληλίο το APOE ε4 στην κλινική πράξη, διότι έχει σχετιστεί με ένα μικρό ποσοστό ασθενών σε μελέτες πληθυσμών (Evans και συν., 1997).

Η έναρξη της διαταραχής του μεταβολισμού του εγκεφάλου, που οδηγεί σε ΝΑ, τοποθετείται από τους ερευνητές 10-20 χρόνια, πριν εμφανιστούν τα πρώτα συμπτώματα της νοητικής έκπτωσης. Ανοσοϊστοχημικές, ιστοπαθολογικές και μοριακές μελέτες υποστηρίζουν την παρουσία φλεγμονώδους διεργασίας στον εγκέφαλο ασθενών με νόσο Alzheimer, ήδη από τα αρχικά στάδια της νόσου (McGeer και McGeer, 1995). Σε αυτό συνηγορεί η παρουσία της ενεργοποιημένης νευρογλοίας, των πρωτεϊνών που εμπλέκονται σε ανοσολογικές αντιδράσεις, όπως πρωτεΐνες του συμπληρώματος και οι ρυθμιστές του, φλεγμονώδεις κυτοκίνες (ιντερλευκίνες IL-1α, IL-1β, IL-6, TNFα) και αναστολείς πρωτεασών, όπως η α1 αντιχυμοθρυψίνη και α2 μακροσφαιρίνη και άλλα στοιχεία ανοσιακής αντίδρασης

(McGeer και McGeer, 2001). Οι επιδράσεις της φλεγμονής στη νευροδιαβίβαση (ειδικά του NO, του γλουταμινικού και της ακετυλοχολίνης), που επέρχονται με τη μεσολάβηση κυτοκινών και άλλων παραγόντων από τα ενεργοποιημένα νευρογλοιακά κύτταρα και ο ρόλος της ενεργοποίησης του συμπληρώματος από το Αβ, φαίνεται ότι είναι οι κύριοι παράγοντες στην εξέλιξη της εκφύλισης.

Διάφοροι βιοχημικοί δείκτες σε ορό και πλάσμα έχουν προταθεί για τον εντοπισμό και την παρακολούθηση γνωστικής έκπτωσης, εκφυλιστικής (ΝΑ) ή αγγειακής προέλευσης, και των προανοιακών συνδρόμων (ήπια γνωστική έκπτωση), με βάση παθοφυσιολογικές διεργασίες, όπως το μεταβολισμό λιποπρωτεϊνών (ολική χοληστερόλη, απολιποπρωτεΐνη Ε, απολιποπρωτεΐνη Α-Ι, 24S-υδροξυ-χοληστερόλη), την αγγειακή νόσο (ομοκυστεΐνη, λιποπρωτεΐνη (α), οξειδωμένη LDL), το οξειδωτικό στρες (ισοπροστάνια, βιταμίνη Ε) και τη φλεγμονή (κυτοκίνες, μόρια προσκόλλησης). Οι μελετητές προσπαθούν να εξιχνιάσουν τον ακριβή ρόλο των βιοχημικών αυτών παραγόντων στην παθογένεια της νόσου, με στόχο την πιο έγκυρη διάγνωση των διαταραχών αυτών και την παρέμβαση με αποτελεσματικότερες φαρμακευτικές θεραπείες.

Η παρούσα μελέτη έχει σκοπό τη διερεύνηση των επιπέδων βιοχημικών παραμέτρων στο περιφερικό αίμα ηλικιωμένων με γνωστική έκπτωση και τη συσχέτισή τους με τη σοβαρότητα της νόσου, την εξέλιξή της και τα συνοδά νευροψυχιατρικά συμπτώματα, καθώς και της επίδρασης της λαμβανόμενης φαρμακευτικής αγωγής, τόσο στα κλινικά, όσο και στα εργαστηριακά ευρήματα. Την ομάδα μελέτης συνέθεσαν ασθενείς ηλικίας άνω των 50 ετών του εξωτερικού ιατρείου Ψυχογηριατρικής της Α' Ψυχιατρικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών στο Αιγινήτειο Νοσοκομείο της Αθήνας. Την πρώτη ομάδα αποτέλεσαν 45 ασθενείς, που είχαν ήδη διαγνωστεί για ΝΑ και ελάμβαναν φαρμακευτική αγωγή με ΑChEI ([ΥΘ]), ενώ τη δεύτερη ομάδα αποτέλεσαν 60 ασθενείς πρωτοδιαγνωσθέντες με ΝΑ, οι οποίοι δεν είχαν λάβει έως τότε καμία σχετική φαρμακευτική αγωγή ([ΑΘ]). Από τη λήψη του ιστορικού αποκλείστηκαν από τη μελέτη ασθενείς με μείζονα άλλα προβλήματα υγείας, όπως καρκίνο, στεφανιαία νόσο, ΑΕΕ κλπ. Την ομάδα των μαρτύρων αποτέλεσαν 23 υγιή άτομα άνω των 55 ετών ανάλογου κοινωνικού και μορφωτικού επιπέδου, σε σύγκριση με τους ασθενείς.

Οι γυναίκες υπερεπερέχον στην ομάδα ασθενών [ΑΘ], ενώ στις άλλες ομάδες επικρατούσε μικρή υπεροχή των ανδρών. Το γυναικείο φύλο έχει θεωρηθεί ότι παίζει ρόλο στην άνοια, σε σχέση όμως με το γονότυπο ΑΡΟΕ ε4 (Ritchie και Lovestone,

2002), ενώ ο ρόλος των οιστρογόνων παραμένει αμφιλεγόμενος. Μετά τη στατιστική ανάλυση πάντως δεν διαπιστώθηκαν σημαντικές διαφορές, όσον αφορά το φύλο, μεταξύ των τριών ομάδων. Επίσης δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ του μορφωτικού επιπέδου των τριών ομάδων.

Από την καταγραφή των σωματικών κλινικών παραμέτρων, δεν παρατηρήθηκε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δύο ομάδες των ασθενών, αλλά ούτε και στατιστικά σημαντική επίδραση της φαρμακευτικής αγωγής στις παραμέτρους αυτές. Ωστόσο, παρατηρήθηκε μια διαφορά στη διάρκεια της νόσου των δύο ομάδων των ασθενών, η οποία υπολογίστηκε ως ο χρόνος από την αναφερόμενη έναρξη των συμπτωμάτων έως τη χρονική στιγμή ένταξης του ασθενούς στη μελέτη. Για το λόγο αυτό, έγινε διαχωρισμός των ασθενών κάθε ομάδας σε όσους είχαν διάρκεια νόσου έως τρία έτη και πιο ήπια συμπτωματολογία και σε όσους είχαν διάρκεια νόσου άνω των τριών ετών και μελετήθηκαν ξεχωριστά στη στατιστική ανάλυση.

Οι κλίμακες MMSE και CDR εφαρμόστηκαν και στις τρεις ομάδες και βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά των υγιών μαρτύρων σε σύγκριση με καθεμιά από τις ομάδες των ασθενών, διαφοροποιώντας και κλινικά τις ομάδες ασθενών και μαρτύρων. Μεταξύ των δύο ομάδων των ασθενών βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην κλίμακα CDR, με τους ασθενείς [ΥΘ] να εμφανίζουν μεγαλύτερη βαθμολογία, γεγονός που μπορεί να αποδοθεί στη μεγαλύτερη διάρκεια της νόσου στην ομάδα αυτή. Ωστόσο, στις υπόλοιπες κλίμακες δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων, άρα οι δύο ομάδες δεν διέφεραν ως αναφορά τις γνωστικές τους επιδόσεις, τη λειτουργικότητά τους και τα νευροψυχιατρικά συμπτώματα.

Στην παρούσα μελέτη μελετήθηκαν οι προφλεγμονώδεις κυτοκίνες IFN γ , IL-6, IL-1 β και TNF α , οι λιπιδαιμικοί παράγοντες ApoAI, Lp(α) και anti-oxLDL, τα κυτταρικά μόρια προσκόλλησης VCAM-1 και ICAM-1, και ο δείκτης φλεγμονής CRP. Ακολούθως διερευνήθηκε η συσχέτισή τους με τη σοβαρότητα και την εξέλιξη της νόσου, τα συνοδά νευροψυχιατρικά συμπτώματα και τη λαμβανόμενη φαρμακευτική θεραπεία.

4.1.1 Κυτοκίνες

4.1.1.1 Συγκριτικά αποτελέσματα των ομάδων ασθενών και μαρτύρων

Τα ευρήματα της παρούσας μελέτης, σχετικά με τις διαφορές στα επίπεδα των υπό εξέταση κυτοκινών μεταξύ ασθενών με ΝΑ και υγιών μαρτύρων, επιβεβαιώνουν απολύτως την υπόθεση της συμμετοχής των παραγόντων αυτών στους φλεγμονώδεις παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς της νόσου (Hüll και συν., 1996, Griffin και Mrak, 2002, Blasko και συν., 1999). Ειδικότερα, η IL-6, ο TNFα και η IL-1β έχουν βρεθεί σε αυξημένα επίπεδα στις περισσότερες σχετικές μελέτες ασθενών με άνοια (Singh και Guthikonda, 1997, Licastro και συν., 2000, Zuliani και συν., 2006, Guerreiro και συν., 2007, Angelopoulos και συν., 2008). Στην παρούσα μελέτη παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στις μετρήσεις όλων των υπό μελέτη κυτοκινών, συμπεριλαμβανομένης και της IFNγ, μεταξύ ασθενών και υγιών μαρτύρων, ακόμη και των ασθενών που ελάμβαναν θεραπεία με AChEI.

Υπάρχουν πλέον άφθονες ενδείξεις για τη συμμετοχή των κυτοκινών στις παθοφυσιολογικές φλεγμονώδεις διεργασίες της ΝΑ, μετά την ανίχνευσή τους στον εγκέφαλο ασθενών με ΝΑ, όπου παρατηρήθηκε έντονη έκφραση των παραγόντων αυτών στις περιοχές εναπόθεσης του β-αμυλοειδούς και στις νευροϊνιδιακές αλλοιώσεις. Η ανοσοδιεγερμένη IL-1 έχει βρεθεί σε πολύ υψηλότερα επίπεδα στα ενεργοποιημένα μικρογλοιακά κύτταρα ασθενών με ΝΑ, σε σύγκριση με μάρτυρες της ίδιας ηλικίας (Griffin και συν., 1989) και έχει σχετιστεί επίσης και με το σχηματισμό των νευριτικών πλακών (Mrak και συν., 1995). Η IL-6 έχει βρεθεί σε αυξημένα επίπεδα σε γεροντικές πλάκες στο φλοιό και στον ιππόκαμπο ασθενών με ΝΑ (Huell και συν., 1995). Τα επίπεδα του TNFα έχουν βρεθεί μειωμένα σε κάποιες περιοχές στον εγκεφαλικό ιστό ασθενών με ΝΑ, σε σύγκριση με άτομα που δεν έπασχαν από άνοια (Lanzrein και συν., 1998), παρόλο που στο ENY έχει ανευρεθεί σε υψηλά επίπεδα (Tarkowski και συν., 1999).

Ακόμη δεν είναι γνωστός ο μηχανισμός, με τον οποίο κάποια διεργασία στο ENY μπορεί να επηρεάσει τις φλεγμονώδεις αντιδράσεις στο περιφερικό αίμα, αν και έχει περιγραφεί με σαφήνεια η ύπαρξη ενός σηματοδοτικού μονοπατιού από τον εγκέφαλο προς την περιφέρεια (De Simoni και συν., 1990, 1995; De Luigi και συν., 1998). Πειραματικές μελέτες έχουν δείξει ότι ένας φλεγμονώδης διεγέρτης οξείας φάσης (όπως η IL-1 ή η ενδοτοξίνη), που απελευθερώνεται στον εγκέφαλο, μπορεί να προκαλέσει αποτελεσματικά την παραγωγή φλεγμονωδών κυτοκινών στην

περιφέρεια (De Simoni και συν., 1990, 1995). Αν και η μέτρησή τους στο περιφερικό αίμα δεν μπορεί να θεωρηθεί ότι αντικατοπτρίζει ακριβώς ό,τι συμβαίνει στον εγκέφαλο, ωστόσο αποτελούν ικανοποιητικά ενδεικτικά στοιχεία.

Είναι ελάχιστες οι μελέτες, στις οποίες έχει γίνει προσπάθεια να υπολογιστούν τα επίπεδα της IFN γ στο περιφερικό αίμα ασθενών με άνοια. Η παρούσα μελέτη είναι η πρώτη, στην οποία ανευρίσκεται στατιστικά σημαντική διαφορά στα επίπεδα της IFN γ μεταξύ ασθενών με ΝΑ και υγιών μαρτύρων. Καταλυτικός παράγοντας για το αποτέλεσμα αυτό φαίνεται να είναι η χρησιμοποιούμενη μέθοδος προσδιορισμού (ELISPOT), η οποία φαίνεται να πλεονεκτεί ως προς την ακρίβεια και την πιστότητα στην ανίχνευση των εκκρινόμενων κυτοκινών. Στις προηγούμενες μελέτες είχε χρησιμοποιηθεί η ELISA ως μέθοδος προσδιορισμού και στις μισές από αυτές είχε προηγηθεί διέγερση με κάποιον παράγοντα. Στις μετρήσεις υπό βασικές συνθήκες οι τιμές της IFN γ , είτε ήταν μη ανιχνεύσιμες (Rota και συν., 2006), είτε δεν διέφεραν σε στατιστικά σημαντικό βαθμό μεταξύ των ομάδων ασθενών και μαρτύρων, οι οποίες περιελάμβαναν μικρότερο αριθμό ατόμων από την παρούσα μελέτη (Singh & Guthikonda, 1997). Μικρότερος ήταν ο αριθμός των ατόμων και στη μελέτη, όπου χρησιμοποιήθηκαν διάφοροι διεγέρτες, αλλά και πάλι τα επίπεδα της IFN γ ασθενών και μαρτύρων δεν διέφεραν σε στατιστικά σημαντικό βαθμό (Speciale και συν., 2007). Σε μία μελέτη μόνον βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ ασθενών με μέτρια έως σοβαρή ΝΑ και υγιών μαρτύρων, αλλά δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ ήπιας ΝΑ και υγιών μαρτύρων (Huberman και συν., 1994). Τέλος, υπάρχει μία μελέτη, όπου οι μετρήσεις των κυτοκινών IFN γ , IL-6, IL-12 και TNF α έγιναν σε δείγματα ολικού αίματος μετά από διέγερση και τα επίπεδα όλων των κυτοκινών των ασθενών με ΝΑ βρέθηκαν μειωμένα σε στατιστικά σημαντικό βαθμό, κάτι που έρχεται σε αντίθεση γενικά με τα αποτελέσματα όλων των άλλων μελετών και πιθανή αιτία είναι η χρησιμοποιούμενη μέθοδος προσδιορισμού (Richartz και συν., 2005). Σε σχέση με τη σοβαρότητα της νόσου, τα αποτελέσματα της IFN γ μετά από διέγερση εμφάνισαν θετική συσχέτιση με την κλίμακα CDR στους ασθενείς [ΥΘ], η οποία όμως δεν παρατηρήθηκε και στην ομάδα [ΑΘ].

Η IFN γ θεωρείται γενικά ότι δεν παράγεται ενδογενώς στον εγκέφαλο, αλλά ότι η παρουσία της στο ΚΝΣ σχετίζεται με νοσογόνες καταστάσεις, όπου ενεργοποιημένα T-λεμφοκύτταρα ή μακροφάγα διαπερνούν τον ΑΕΦ, οπότε στις περιπτώσεις αυτές έχουν ανιχνευτεί υψηλά επίπεδα της IFN γ στον εγκεφαλικό ιστό.

Αν και δεν υπάρχουν αρκετές πληροφορίες για το ρόλο της IFN γ στον εγκέφαλο, θεωρείται ότι μπορεί να ενεργοποιήσει την ανοσιακή απάντηση τοπικά. Μελέτες *in vitro* έχουν δείξει ότι η IFN γ μπορεί να επηρεάσει τη γονιδιακή έκφραση στα αστροκύτταρα και στη μικρογλοία. Επίσης, μπορεί να ενισχύσει την έκφραση των αντιγόνων ανθρώπινων λευκοκυττάρων (human leukocyte antigen, HLA) κλάσης II του συμπλέγματος μείζονος ιστοσυμβατότητας (Major histocompatibility complex, MCH) και του ICAM-1 στα αστροκύτταρα και τη μικρογλοία. Αυτό μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα, τα κύτταρα αυτά να αποκτήσουν την ικανότητα να συμπεριφέρονται ως αντιγόνα στο ΚΝΣ και να ενεργοποιήσουν ανώμαλες ανοσιακές αντιδράσεις στην περιοχή (Benveniste και συν., 1995). Η συμμετοχή της IFN γ στην παθογένεια της ΝΑ έχει προταθεί από μελέτες, οι οποίες υποδεικνύουν ότι το αμυλοειδές β συνεργάζεται με την IFN γ , πυροδοτώντας την παραγωγή ενεργοποιημένων νιτρικών μεσολαβητών και TNF α από τα μικρογλοιακά κύτταρα, με αποτέλεσμα τον τραυματισμό των νευρώνων (Meda και συν., 1995). Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι και τα μικρογλοιακά κύτταρα μπορούν να παράγουν IFN γ , μετά από διέγερση με IL-12 και/ή IL-18 (Kawanokuchi και συν., 2006). Παράλληλα, πειραματικές μελέτες έδειξαν ότι η IFN γ συνεργεί με το γλουταμικό οξύ, ενισχύοντας τη νευροτοξικότητα του τελευταίου, η οποία ρυθμίζεται από υποδοχείς AMPA (α -αμινο-3-υδροξυ-5-μεθυλ-4-ισοξαζολεπροπιονικό οξύ) και όχι NMDA, προτείνοντας έτσι ένα νέο μηχανισμό για τη συμμετοχή της IFN γ στην παθογένεια νευροεκφυλιστικών νοσημάτων (Mizuno και συν., 2008).

4.1.1.2 Συσχέτιση των κυτοκινών με τα νευροψυχιατρικά συμπτώματα

Μια πολύ σημαντική παρατήρηση ήταν η συσχέτιση μεταξύ της μείωσης στη βαθμολογία της κλίμακας CSDD των ασθενών μετά τη θεραπεία με donepezil με τη μείωση στα αποτελέσματα της IFN γ και TNF α μετά από διέγερση, ενώ φαίνεται μία τάση συσχέτισης με τη διαφορά στον αριθμό των κυττάρων, που παράγουν IL-6 μετά από διέγερση και IL-1 β σε κανονικές συνθήκες. Έτσι, εκτός από την εμπλοκή της IFN γ στις φλεγμονώδεις διεργασίες της ΝΑ, διαφαίνεται παράλληλα ότι μπορεί να εμπλέκεται και στην παθογένεια της κατάθλιψης και μάλιστα να εκφράζεται ως βιολογικός δείκτης της νόσου. Δεν υπάρχουν δυστυχώς δεδομένα προηγούμενων μελετών, που να ενισχύουν το αποτέλεσμα αυτό. Τα μόνα υπάρχοντα δεδομένα προέρχονται από ασθενείς, οι οποίοι, κατά τη διάρκεια της θεραπείας τους με ιντερφερόνη, εμφανίζουν συχνά ανεπιθύμητες ενέργειες, όπως καταθλιπτική διάθεση,

άγχος, διαταραχές του ύπνου, απώλεια της λίμπιντο και διαταραχές στην πρόσφατη μνήμη (Leonard, 2007). Ως πιθανός μηχανισμός έχει προταθεί η διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ της IFN γ και του TGF- β , που εκκρίνονται από τα T-βοηθητικά κύτταρα τύπου 1 (T helper cells 1-TH1) και των κυτοκινών IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13, που παράγονται από τα T-βοηθητικά κύτταρα τύπου 2 (T helper cells 2-TH2), η οποία παρατηρείται σε ασθενείς με κατάθλιψη και εκφράζεται ως αύξηση των λόγων IFN γ /TGF- β και IFN γ / IL-4 (Myint και συν., 2005).

Για τις κυτοκίνες IL-6, IL-1 β και TNF α υπάρχουν περισσότερα δεδομένα για την πιθανή εμπλοκή τους στην εμφάνιση της κατάθλιψης. Για παράδειγμα, οι κυτοκίνες αυτές μπορούν να διεγείρουν την παραγωγή της ορμόνης απελευθέρωσης κορτικοτροπίνης (Corticotrophin-Releasing Hormone, CRH), με συνέπεια την ενεργοποίηση του άξονα υποθάλαμος-υπόφυση-επινεφρίδια (YYE) και την υπερκορτιζολαιμία (Sternberg και συν., 1992). Πιθανώς, μέσω αυτού του μηχανισμού, τα υψηλά επίπεδα των κυτοκινών μπορούν να προκαλέσουν την εμφάνιση συστηματικών συμπτωμάτων, όπως κόπωση, ανορεξία, απώλεια βάρους, διαταραχές του ύπνου, ανηδονία και μειωμένη ψυχοκινητική δραστηριότητα (Ershler, 1993), τα οποία αποτελούν και τα χαρακτηριστικά συμπτώματα της καταθλιπτικής διαταραχής. Σε άλλη μελέτη ασθενών με NA, όπου μελετήθηκαν τα νευροψυχιατρικά συμπτώματα εν γένει, σε σχέση με τις IL-6 και TNF α , τα υψηλά επίπεδα TNF α σχετίστηκαν περισσότερο με την εμφάνιση συμπτωμάτων καταθλιπτικού τύπου, ενώ τα υψηλά επίπεδα της IL-6 με συμπτώματα ψυχωσικού τύπου (Holmes και συν., 2011).

Για την IL-1 β υπάρχουν αρκετές μελέτες, όπου τα υψηλά επίπεδα της IL-1 β σχετίζονται με την εμφάνιση μείζονος κατάθλιψης σε ενήλικες ασθενείς. Τα τελευταία χρόνια μελετάται ο ρόλος της και στην εμφάνιση καταθλιπτικών συμπτωμάτων στους ηλικιωμένους. Σε μία σχετική μελέτη, τα υψηλά επίπεδα της IL-1 β σχετίστηκαν με την εμφάνιση κατάθλιψης στην τρίτη ηλικία και μάλιστα παρατηρήθηκε θετική συσχέτιση των επιπέδων της με τη σοβαρότητα των συμπτωμάτων (Thomas και συν., 2005). Μία άλλη μελέτη χαρακτηρίζει την IL-1 β ως παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση καταθλιπτικών συμπτωμάτων σε ηλικιωμένους ασθενείς (van den Biggelaar και συν., 2007). Ειδικότερα, παρατηρήθηκε ότι η μεγαλύτερη παραγωγή της IL-1 β σχετίστηκε με μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης καταθλιπτικών συμπτωμάτων, ενώ η μεγαλύτερη παραγωγή του φυσικού ανταγωνιστή της, του ανταγωνιστή των υποδοχέων της IL-1 (IL-1Ra)

σχετίστηκε με μικρότερη συχνότητα, υποδεικνύοντας ένα σημαντικό ρόλο του δικτύου σηματοδότησης της IL-1 στην εμφάνιση καταθλιπτικών συμπτωμάτων στην τρίτη ηλικία.

Το σημαντικότερο εύρημα στην ομάδα των ασθενών [ΑΘ] είναι η θετική συσχέτιση της κλίμακας NPI και των αποτελεσμάτων για την IL-6 σε βασικές συνθήκες και μετά από διέγερση. Επίσης, στην ομάδα των ασθενών [ΑΘ-ΜΘ] παρατηρήθηκε θετική συσχέτιση μεταξύ της μείωσης στη βαθμολογία της κλίμακας NPI και της μείωσης των αποτελεσμάτων της IL-6 μετά από διέγερση. Τα αποτελέσματα αυτά έρχονται σε συμφωνία με προηγηθείσα μελέτη, όπου τα επίπεδα της IL-6 εμφάνισαν στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση με τη βαθμολογία στην κλίμακα NPI ασθενών με ΝΑ, ενώ παρατηρήθηκε τάση συσχέτισης με τη χαμηλή βαθμολογία στην κλίμακα MMSE και το υψηλό σκορ στην κλίμακα CDR (Kaplin και συν., 2009). Σε πιο πρόσφατη μελέτη, τα υψηλά επίπεδα της IL-6 και του TNFα σχετίστηκαν θετικά με υψηλότερη βαθμολογία στην κλίμακα NPI και μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης νευροψυχιατρικών συμπτωμάτων σε ασθενείς με ΝΑ (Holmes και συν., 2011). Ως παθοφυσιολογικός μηχανισμός για το φαινόμενο αυτό προτείνεται μία δράση των κυτοκινών IL-6 και TNFα, ανάλογη με αυτή που περιγράφεται για το ‘sickness behavior syndrome’, το οποίο αναφέρεται σε ένα συνδυασμό αλλαγών της συμπεριφοράς, που εκδηλώνονται κατά τη διάρκεια αυξημένης συστηματικής φλεγμονής. Στα κύρια συμπτώματα του συνδρόμου περιλαμβάνονται το αυξημένο άγχος, η καταθλιπτική διάθεση και η απάθεια και θεωρείται ως ένας προστατευτικός μηχανισμός, που αναπτύσσει ο οργανισμός, προκειμένου να εξοικονομήσει ενέργεια και να ελαττώσει την περαιτέρω έκθεση σε συστηματικές φλεγμονώδεις επιθέσεις (Dantzer και συν., 2007). Στη μελέτη αυτή βρέθηκε ότι τα τρία κύρια συμπτώματα του ‘sickness behavior syndrome’ ήταν τα τρία συχνότερα εμφανιζόμενα σε ασθενείς με ΝΑ, οι οποίοι είχαν υψηλές τιμές προφλεγμονωδών κυτοκινών. Τα υψηλά επίπεδα IL-6 και TNFα σχετίστηκαν επίσης με μια γενικά αυξημένη συχνότητα εμφάνισης διαφόρων συμπτωμάτων, τα οποία δεν περιλαμβάνονται συνήθως στο ‘sickness behavior syndrome’, αλλά είναι συνήθη στη ΝΑ, όπως η διέγερση και οι ψευδαισθήσεις. Το γεγονός αυτό μπορεί να αντικατοπτρίζει μια υπερβολική ανταπόκριση του εγκεφάλου στην επίστρωση της μικρογλοίας και αυξημένη ευαισθησία σε ήπια συστηματικά φλεγμονώδη σήματα (Holmes και συν., 2011). Σε συνδυασμό με τα ευρήματα άλλων μελετών, όπου τα υψηλά επίπεδα της IL-6 σχετίζονται με τη σοβαρότητα της νόσου (Kalman και συν.,

1997), η IL-6 θα μπορούσε να αποτελέσει έναν πολύ χρήσιμο δείκτη στην παρακολούθηση των ασθενών με ΝΑ και νευροψυχιατρικά συμπτώματα και την εκτίμηση της ανταπόκρισης στη θεραπεία.

Τέλος, στην ομάδα των ασθενών [ΑΘ] η ηλικία σχετίστηκε θετικά με την κλίμακα CDR και με τη μέτρηση της IL-6 μετά από διέγερση, αποτέλεσμα που έρχεται σε συμφωνία με αρκετές μελέτες, που καταδεικνύουν αύξηση των επιπέδων της IL-6 στους ηλικιωμένους (Mysliwska και συν., 1997, Ershler και Keller, 2000).

4.1.1.3 Επίδραση της λήψης AChEI στα επίπεδα των κυτοκινών

Έξι μήνες μετά τη θεραπεία με donepezίλη, παρατηρήθηκε μείωση στα αποτελέσματα όλων των κυτοκινών, η οποία ήταν στατιστικά σημαντική σε όλες τις περιπτώσεις, εκτός από την IFN- γ μετά από διέγερση και την IL-6 σε βασικές συνθήκες, όπου σημειώνεται μία τάση στατιστικής σημαντικότητας ($p=0,062$). Όλα τα αποτελέσματα των κυτοκινών στους ασθενείς πριν τη θεραπεία εμφανίζονται αυξημένα σε στατιστικά σημαντικό βαθμό, σε σύγκριση με τα αποτελέσματα της ομάδας των μαρτύρων. Μετά τη θεραπεία τα αποτελέσματα των κυτοκινών εμφανίζονται και πάλι υψηλότερα στην ομάδα των ασθενών, σε σύγκριση με αυτά της ομάδας των μαρτύρων, ωστόσο χάνεται η στατιστική σημαντικότητα για τις IL-6 και IL-1 β μετά από διέγερση.

Τα ευρήματα αυτά έρχονται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα των ελάχιστων, σε αριθμό, προηγούμενων μελετών, για τη διερεύνηση της επίδρασης των AChEI στα επίπεδα των κυτοκινών του περιφερικού αίματος. Έτσι, έχει αναφερθεί η μείωση στα επίπεδα ασθενών με ΝΑ της IL-6, IL-1 β και TNF α , σε βασικές συνθήκες και μετά από διέγερση, μετά από θεραπεία διάρκειας ενός μήνα με donepezίλη 10 mg ημερησίως και τα οποία στατιστικά ήταν σημαντικά υψηλότερα προ θεραπείας, σε σύγκριση με τα επίπεδα υγιών μαρτύρων (Reale και συν., 2004). Στη μελέτη αυτή προτείνεται για τους AChEI ένας ρυθμιστικός ρόλος στην ανοσολογική απάντηση. Οι AChEI φαίνεται πως μειώνουν την παραγωγή των λειτουργικά σημαντικών προ-φλεγμονωδών κυτοκινών, οι οποίες μπορεί να συμμετέχουν στις ανοσοπαθολογικές διεργασίες που σχετίζονται με τη ΝΑ, ενώ ταυτόχρονα ενισχύουν την ανταπόκριση των TH2 κυττάρων, συμβάλλοντας έτσι στην αναδιαμόρφωση του δικτύου των κυτοκινών. Σύμφωνα με πειραματικά δεδομένα, η ακετυλοχολίνη *in vitro*, επιδρώντας στο λεμφοκυτταρικό χολινεργικό σύστημα, μειώνει την απελευθέρωση των κυτοκινών TNF, IL-1 β , IL-6 και IL-18 (Bozonikova και συν., 2000). Σε άλλη μελέτη

(Gambi και συν., 2004) τα επίπεδα της IL-1β σε ασθενείς με ΝΑ μειώθηκαν στατιστικά σημαντικά, σε βασικές συνθήκες και μετά από διέγερση, ένα μήνα μετά τη θεραπεία με 5 mg δονεπεζίλη.

Στην παρούσα μελέτη είναι η πρώτη φορά που εξετάζεται η επίδραση της θεραπείας με AChEI στα επίπεδα της IFNγ ασθενών με ΝΑ, διευρύνοντας έτσι την ομάδα των προφλεγμονωδών κυτοκινών, που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως βιοχημικοί δείκτες για την παρακολούθηση της εξέλιξης της ΝΑ και της ανταπόκρισης των ασθενών στη θεραπεία. Ωστόσο, τα καλά αποτελέσματα της επίδρασης των AChEI στα επίπεδα των κυτοκινών δεν συμβαδίσανε με τα αποτελέσματα στις ψυχομετρικές δοκιμασίες για την εκτίμηση των γνωστικών λειτουργιών. Έτσι παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μείωση της κλίμακας MMSE, ενώ στις κλίμακες CDR και ADCS διαφαίνεται μία τάση σημαντικότητας μεταξύ των τιμών προ και μετά θεραπείας ($p=0,59$ και $p=0,55$ αντίστοιχα). Από τα αποτελέσματα αυτά φαίνεται ότι, παρόλη τη λήψη θεραπείας με AChEI, έξι μήνες μετά οι ασθενείς εμφάνιζαν στατιστικά σημαντική μείωση στις γνωστικές τους λειτουργίες. Παράλληλα, όμως, παρατηρείται στατιστικά σημαντική βελτίωση των καταθλιπτικών συμπτωμάτων στους ασθενείς με τη στατιστικά σημαντική μείωση στην κλίμακα CSDD, όπως έχει παρατηρηθεί και σε κάποιες προηγούμενες μελέτες (Rozzini και συν., 2007, Weiner και συν., 2000), επιβεβαιώνοντας για άλλη μια φορά την ευεργετική επίδραση των AChEI στα καταθλιπτικά συμπτώματα ασθενών με ΝΑ.

4.1.2 Αποτελέσματα λοιπών βιοχημικών παραμέτρων

4.1.2.1 Λιπίδια

Κατά τη διερεύνηση του λιπιδαιμικού προφίλ, στην ομάδα [ΑΘ] βρέθηκαν τα επίπεδα της ApoA-I αυξημένα και τα επίπεδα της Lp(α) μειωμένα, σε σύγκριση με τα επίπεδα της ομάδας [ΥΘ], ενώ δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στα επίπεδα των anti-oxLDL. Τα αποτελέσματα για την ApoAI μπορούν να ερμηνευτούν από τα αποτελέσματα προηγούμενων ερευνών, όπου τα υψηλά επίπεδα της ApoAI σχετίζονται με μικρότερη γνωστική έκπτωση, αφού οι ασθενείς [ΑΘ] εμφανίζουν μικρότερη βαθμολογία στην κλίμακα CDR (Merched και συν., 2000). Η ApoA-I συντίθεται κυρίως στο ήπαρ, αλλά και στον εγκέφαλο από τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Η παρουσία της στις γεροντικές πλάκες έχει επιβεβαιωθεί ανοσοϊστοχημικά και με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, ενώ in vitro το ακέραιο μόριο της ApoA-I μπορεί να σχηματίσει ινίδια, προσομοιάζοντα αυτά του αμυλοειδούς, τα οποία είναι θετικά σε

ερυθρό του Κονγκό (Wisniewski και συν., 1995). Είναι γνωστή η ικανότητά της να συνδέει AP3 πεπτιδία, όπως και ότι αποτελεί δευτερεύοντα μεταφορέα του sAβ3 και τα στοιχεία αυτά διευρύνουν τον πιθανό ρόλο των απολιποπρωτεϊνών στην ινιδιογένεση. Είναι ενδιαφέρον ότι μελέτες σε ηλικιωμένους έδειξαν ότι υψηλά επίπεδα στον ορό των apoA-I και HDL σχετίζονται με χαμηλή ολική θνητότητα και αυξημένη μακροζωία (Luoma, 1997). Στο πλάσμα ασθενών με ΝΑ, τα επίπεδα apoA-I έχουν βρεθεί χαμηλά, ενώ υψηλότερα επίπεδα της apoA-I βρεθήκανε στους ασθενείς με τη μικρότερη γνωστική έκπτωση (Merched και συν., 1999), υποδεικνύοντας μια αναλογία μεταξύ των βιοχημικών δεικτών για την αθηροσκλήρωση (apoE4, apoAI, HDL, κλπ.) με τους δείκτες της ΝΑ.

Για τη διαφορά στα επίπεδα της Lp(α) δεν ισχύει κάτι παρόμοιο, εφόσον είναι γνωστό ότι τα επίπεδά της καθορίζονται κυρίως γενετικά και επηρεάζονται ελάχιστα από υπολιπιδαιμικούς, διαιτητικούς ή άλλους εξωγενείς παράγοντες. Και στις δύο ομάδες ασθενών πάντως εμφανίζονται αυξημένα επίπεδα, με μέση τιμή >30mg/dl, που αποτελεί το όριο πάνω από το οποίο αυξάνεται ο κίνδυνος για την εμφάνιση πρώιμης αθηροσκλήρωσης. Η Lp(α) μοιάζει δομικά με την LDL, έχοντας την απολιποπρωτεΐνη α (Apo(α)-ομοιάζουσα του πλασμινογόνου) συνδεδεμένη με δισουλφιδικό δεσμό με την απολιποπρωτεΐνη Β-100. Πιστεύεται ότι έχει αθηρογόνες και θρομβωτικές ιδιότητες και έχει σχετιστεί με αγγειακή νόσο (Marcovina και συν., 2003). Τα επίπεδά της ρυθμίζονται κυρίως γενετικά, με αποτέλεσμα αυξημένα επίπεδα της Lp(α) να παρατηρούνται στις ισομορφές χαμηλού μοριακού βάρους και αντίστροφα. Φαίνεται ότι κάποια μέρη της Lp(α) εμπλέκονται στον λιποπρωτεϊνικό μεταβολισμό στον εγκέφαλο και υπάρχουν αρκετές ενδείξεις, που συνδέουν την κλινική έκφραση της ΝΑ με εγκεφαλικά έμφρακτα, υποδεικνύοντας ότι η Lp(α) μπορεί να αποτελεί παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση της ΝΑ (Snowdon και συν., 1997).

Στην ομάδα των ασθενών [ΥΘ] παρατηρήθηκε θετική συσχέτιση των επιπέδων των αυτοαντισωμάτων της oxLDL με τις κλίμακες MMSE και ADCS, το οποίο δεν παρατηρείται όμως στην ομάδα [ΑΘ]. Οι δύο ομάδες διαφέρουν, αν και όχι σε στατιστικά σημαντικό βαθμό, και στις τρεις αυτές παραμέτρους, με τους ασθενείς [ΥΘ] να έχουν μικρότερες τιμές. Σε μία πρόσφατη μελέτη ασθενών με άνοια, οι οποίοι ελάμβαναν αγωγή με AChEI, τα επίπεδα της oxLDL ήταν υψηλότερα στους ασθενείς που ελάμβαναν μακροχρόνια αγωγή, σε σύγκριση με τους ασθενείς που ελάμβαναν την αγωγή για μικρό χρονικό διάστημα. Το MMSE συσχετίστηκε

αρνητικά, τόσο με τα επίπεδα του NO, όσο και της oxLDL (Sinem και συν., 2010). Σε άλλη μελέτη το MMSE έδειξε αρνητική συσχέτιση με τα επίπεδα του NO και αυτά σχετίστηκαν θετικά με τα επίπεδα της oxLDL, αλλά δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ MMSE και oxLDL (Dildar και συν., 2010). Στην παρούσα μελέτη ανιχνεύτηκαν τα επίπεδα των anti-oxLDL και τα αποτελέσματα αυτά μπορούν να δικαιολογηθούν πιθανώς από μειωμένη ικανότητα παραγωγής των αυτοαντισωμάτων από τον οργανισμό, ως αποτέλεσμα της εξέλιξης της νόσου.

Στην ομάδα των ασθενών [ΑΘ] τα επίπεδα των anti-oxLDL σχετίζονται θετικά με το ΔΜΣ και την περιφέρεια μέσης. Η μέση τιμή του ΔΜΣ σε αυτή την ομάδα των ασθενών ήταν 26,65, δηλαδή οι περισσότεροι ασθενείς ανήκουν στην κατηγορία των υπέρβαρων. Υπάρχουν πάρα πολλές μελέτες, οι οποίες υποστηρίζουν το παράδοξο φαινόμενο της παχυσαρκίας στους ηλικιωμένους, όπου άτομα με ΔΜΣ 25-30 kg/m² έχουν μικρότερο κίνδυνο ολικής θνητότητας (Mathus-Vliegen και συν., 2012). Έτσι, παρά την αύξηση του συστηματικού οξειδωτικού στρες λόγω προχωρημένης ηλικίας (Vincent και συν., 2007), μπορεί τα anti-oxLDL να παρέχουν ένα είδος προστασίας στα άτομα αυτά. Η οξείδωση της χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης (LDL) είναι μια πολύπλοκη διαδικασία, κατά την οποία τόσο η πρωτεΐνη, όσο και τα λιπίδια υφίστανται οξειδωτικές αλλαγές και σχηματίζουν σύνθετα παράγωγα. Αυξημένα επίπεδα της κυκλοφορούσας οξειδωμένης LDL (oxLDL) έχουν αναφερθεί σε ασθενείς με καρδιαγγειακή νόσο, ενώ στο πλάσμα ασθενών με ΝΑ έχουν παρατηρηθεί αυξημένα επίπεδα LDL, σε συνδυασμό με μια αυξημένη ευπάθεια των λιποπρωτεϊνών στην οξείδωση στο πλάσμα και στο ENY ασθενών με ΝΑ (Aldred και συν., 2010). Υπάρχουν δεδομένα που υποστηρίζουν ότι η oxLDL επιφέρει το θάνατο νευρώνων σε καταστάσεις που σχετίζονται με αυξημένα επίπεδα αντιδραστικών ειδών οξυγόνου (reactive oxygen species, ROS), συμπεριλαμβανομένης και της ΝΑ (Keller και συν., 1999). Η oxLDL διαθέτει υψηλή ανοσογονικότητα, με αποτέλεσμα να προάγει την συστηματική παραγωγή αντισωμάτων, τα οποία έχουν ανιχνευθεί σε αυξημένα επίπεδα στο ENY (Kankaanpää και συν., 2009) και στο πλάσμα (Laske και συν., 2011) ασθενών με ΝΑ, σε σύγκριση με τα επίπεδα ασθενών με μετωποκροταφικό φλοιικό εκφυλισμό και υγιών μαρτύρων. Η ανίχνευση των αντισωμάτων αυτών στο πλάσμα θα μπορούσε να χρησιμεύσει διαγνωστικά ως εργαλείο διαλογής ασθενών με ΝΑ, πριν υποβληθούν σε πλήρη εργαστηριακό και απεικονιστικό έλεγχο, αλλά και για τη διαφοροδιάγνωση από άλλους τύπους άνοιας.

Στην ομάδα των ασθενών [ΑΘ-ΜΘ] η μείωση στη βαθμολογία της κλίμακας ADCS σχετίστηκε αρνητικά με τη μείωση στα επίπεδα της ApoA-I. Η αρνητική συσχέτιση με την ApoA-I αποτελεί παράδοξο εύρημα, σύμφωνα με τα έως τώρα δεδομένα, τα οποία καταδεικνύουν έναν προστατευτικό ρόλο της ApoA-I έναντι στους οξειδωτικούς μηχανισμούς της NA και γι'αυτό χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση.

4.1.2.2 Μόρια προσκόλλησης sVCAM-1 και sICAM-1

Εξετάζοντας τις ομάδες [ΥΘ], [ΑΘ] και το σύνολο των ασθενών με βάση τη διάρκεια της νόσου, βρέθηκε ότι οι τιμές του sICAM αυξάνονται σε στατιστικά σημαντικό βαθμό, όταν η διάρκεια της νόσου ξεπερνάει τα τρία έτη. Η διαφορά αυτή ωστόσο δεν παρατηρήθηκε στην ομάδα των ασθενών [ΥΘ], γεγονός που θα μπορούσε ίσως να αποδοθεί στη λήψη της θεραπευτικής αγωγής (AChEI).

Στην ομάδα των ασθενών [ΑΘ] η διάρκεια της νόσου σχετίστηκε θετικά με το CDR και αρνητικά με το MMSE. Επίσης σχετίστηκε θετικά με τα επίπεδα του sICAM-1, το οποίο σε μελέτες έχει βρεθεί σε αυξημένα επίπεδα σε ασθενείς με NA και στη μία από αυτές σχετίστηκε αρνητικά με το MMSE, το οποίο συνάδει εμμέσως και με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης (Rentzos και συν., 2004), εφόσον όσο μεγαλύτερη είναι η διάρκεια της νόσου, τόσο πιο σοβαρή είναι η γνωστική έκπτωση. Στην ομάδα των ασθενών [ΑΘ-ΜΘ] η μείωση στη βαθμολογία της κλίμακας ADCS σχετίστηκε αρνητικά με τη διαφορά στα επίπεδα του sICAM-1, αποτέλεσμα που έρχεται σε συμφωνία με προηγούμενη μελέτη, στην οποία τα αυξημένα επίπεδα του sICAM-1 εμφάνισαν αρνητική συσχέτιση με τη βαθμολογία στην κλίμακα MMSE (Nielsen και συν., 2006), υποδεικνύοντας τη σχέση του με τη σοβαρότητα της NA.

Το sICAM-1 έχει ανιχνευτεί σε γεροντικές πλάκες, που περιείχαν ινιδώδες ή μη ινιδώδες Αβ, όπως και σε σχηματισμούς με χαμηλά επίπεδα Αβ. Εκκρίνεται από ενεργοποιημένα ενδοθηλιακά κύτταρα, λεμφοκύτταρα, μονοκύτταρα ή μικρογλοία. Το βρίσκουμε κατά κύριο λόγο συνδεδεμένο με την κυτταρική μεμβράνη, υπάρχει όμως και σε διαλυτή μορφή και έχει βρεθεί σε αυξημένα επίπεδα σε ασθενείς με NA (Rentzos και συν., 2004). Το sVCAM-1 εκκρίνεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και ενέχεται στην προσκόλληση των λεμφοκυττάρων και μονοκυττάρων, γι'αυτό και τα αυξημένα επίπεδά του μπορεί να αντανακλούν βλάβη στο αγγειακό σύστημα. Μελέτες έχουν δείξει ότι τα επίπεδά του σχετίζονται σε σημαντικό βαθμό με την ηλικία, ανεξάρτητα από τον καρδιαγγειακό κίνδυνο (Richter και συν., 2003), ενώ

αυξημένα επίπεδα έχουν ανιχνευτεί σε ασθενείς με ΝΑ και αγγειακή άνοια (Zuliani και συν., 2008).

4.1.2.3 CRP

Στις ομάδες των ασθενών [ΥΘ] και [ΑΘ] ο ΔΜΣ σχετίζεται θετικά με τη CRP, όπως έχουν καταδείξει πλήθος άλλων μελετών στο γενικό πληθυσμό. Τα επίπεδα της CRP σχετίστηκαν θετικά μόνο με την GDS1 στην ομάδα των ασθενών [ΑΤΕ], υποδεικνύοντας μια σχέση της CRP με τη σοβαρότητα της νόσου. Δεν βρέθηκε καμία συσχέτιση της CRP με τα νευροψυχιατρικά συμπτώματα. Εργαστηριακές μελέτες έχουν δείξει ότι η CRP εμφανίζεται στον εγκέφαλο ασθενών με ΝΑ (Iwamoto και συν., 1994) και ότι αυξάνει τον κίνδυνο για έκπτωση των γνωστικών λειτουργιών (Komulainen και συν., 2007) και για εμφάνιση άνοιας (Kuo και συν., 2005). Ωστόσο, τα αποτελέσματα των μελετών, όπου διερευνήθηκαν τα επίπεδά της σε ασθενείς με ΝΑ, είναι εντελώς διφορούμενα, γεγονός που μπορεί να ερμηνευτεί από το ότι τα επίπεδά της μπορούν να επηρεαστούν στη στιγμή από πλήθος άλλων παραγόντων. Δεν παύει, πάντως, να αποτελεί έναν χρήσιμο δείκτη φλεγμονής στην άνοια και κυρίως στο διαγνωστικό προσανατολισμό.

4.1.2.4 Επίδραση της λήψης AChEI στα επίπεδα των λοιπών βιοχημικών παραγόντων

Στατιστικά σημαντική μείωση παρατηρήθηκε στα επίπεδα της ApoA-I των ασθενών μετά από τη χορήγηση θεραπείας με donepezίλη. Η μείωση αυτή φαίνεται μάλλον να συμβαδίζει με την επιδείνωση των γνωστικών λειτουργιών, όπως αποτυπώνεται από τη στατιστικά σημαντική μείωση στην κλίμακα MMSE, ωστόσο πρέπει να διερευνηθεί και ο ρόλος της φαρμακευτικής αγωγής, ο οποίος δεν έχει τύχει διερεύνησης έως τώρα. Τα επίπεδα της Lp(α) παρέμειναν σχεδόν σταθερά, εφόσον αυτά καθορίζονται κυρίως γενετικά και επηρεάζονται ελάχιστα από εξωγενείς παράγοντες, όπως η νιασίνη (Crouse και συν., 1996). Στα επίπεδα των anti-oxLDL παρατηρήθηκε αύξηση μη στατιστικά σημαντική, η οποία θα μπορούσε, ωστόσο, με τα υπάρχοντα δεδομένα, να υποδηλώνει μια ενίσχυση του ανοσιακού συστήματος των ασθενών έναντι στη νόσο. Δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στα επίπεδα των μορίων προσκόλλησης sVCAM-1 και sICAM-1.

4.1.3 Διερεύνηση των διαφόρων παραγόντων στην ομάδα ασθενών [ATE]

Η αρχική βαθμολογία στην GDS εμφανίζει θετική συσχέτιση με τα επίπεδα στο πλάσμα της CRP, της Lp(a) και του sVCAM-1. Η θετική συσχέτιση παραμένει για τους δύο τελευταίους παράγοντες και με την τελική βαθμολογία στην GDS, υποδηλώνοντας ίσως έναν προγνωστικό ρόλο στις παραμέτρους αυτές. Καμία στατιστικά σημαντική συσχέτιση δεν βρέθηκε μεταξύ των εργαστηριακών παραμέτρων και της διαφοράς στη βαθμολογία της κλίμακας GDS.

Μια ενδιαφέρουσα παρατήρηση στην ομάδα αυτή των ασθενών είναι η στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ της αύξησης στην κλίμακα GDS και της λήψης αντιψυχωσικής αγωγής. Οι ασθενείς, που χρειάστηκε να λάβουν αντιψυχωσική αγωγή κατά τη διάρκεια της πενταετίας, εμφάνισαν μεγαλύτερη επιδείνωση στις γνωστικές τους λειτουργίες. Σε αυτό το συμπέρασμα έχουν καταλήξει αρκετές μελέτες (Devanand και Schultz, 2011), γι'αυτό η χορήγηση των αντιψυχωσικών συστήνεται να γίνεται με μεγάλη φειδώ και διαρκείς επανελέγχους της κλινικής εικόνας στους ασθενείς αυτούς. Δεν παρατηρήθηκε παρόμοια συσχέτιση με την αντικαταθλιπτική θεραπεία.

Διερευνήθηκε επίσης η πιθανή συσχέτιση κάποιας από τις υπό μελέτη παραμέτρους με τη θνητότητα και βρέθηκε ότι οι ασθενείς, που αποβίωσαν, είχαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερη βαθμολογία στις κλίμακες CDR, GDS, NPI και χαμηλότερη στην κλίμακα MMSE. Το αποτέλεσμα αυτό συμφωνεί με τα συμπεράσματα προηγούμενων μελετών, όπου η βαρύτητα της νόσου αυξάνει τη θνητότητα σε ασθενείς με ΝΑ (Andersen και συν., 2010). Επίσης η εμφάνιση των νευροψυχιατρικών συμπτωμάτων, όπως εκτιμάται με την κλίμακα NPI, έχει σχετιστεί με χειρότερη πρόγνωση και αυξημένη θνητότητα (Russ και συν., 2012). Ωστόσο, δεν βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ θνητότητας και της λήψης αντιψυχωσικής ή αντικαταθλιπτικής αγωγής, ενώ υπάρχουν μελέτες που συνδέουν τη λήψη αντιψυχωσικής αγωγής με χαμηλότερα ποσοστά επιβίωσης σε ασθενείς με ΝΑ και κυρίως με τα κλασικά αντιψυχωσικά (Corbett και Ballard, 2012).

4.2 Πιθανοί μηχανισμοί

Στη μελέτη αυτή είναι ενδιαφέρον ότι παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην έκκριση όλων των υπό εξέταση κυτοκινών από τα περιφερικά πολυμορφοπύρηνα κύτταρα του αίματος ασθενών με ΝΑ και υγιών μαρτύρων. Επίσης, διαπιστώθηκε η επίδραση της λήψης ενός AChEI στην έκκριση των κυτοκινών και στα συνοδά καταθλιπτικά και νευροψυχιατρικά συμπτώματα σε ασθενείς με ΝΑ. Μάλιστα η μείωση της έκκρισης των κυτοκινών σχετίστηκε με τη βελτίωση των συμπτωμάτων αυτών.

Οι κυτοκίνες είναι φλεγμονώδεις παράγοντες, οι οποίοι έχουν μελετηθεί πολύ για τον ρόλο τους στην παθογένεια της ΝΑ. Το αμυλοειδές-β₁₋₄₂ αποτελεί ισχυρό ενεργοποιητή των μικρογλοιακών κυττάρων, τα οποία διεγερόμενα απελευθερώνουν προφλεγμονώδεις κυτοκίνες στον εγκέφαλο, όπως IL-6, IL-1β και TNFα. Οι κυτοκίνες αυτές έχουν βρεθεί σε αφθονία στην περιοχή των γεροντικών πλακών ασθενών με ΝΑ, από όπου ενδέχεται να προάγουν τη νευροτοξικότητα με διάφορους τρόπους, δρώντας συνεργικά μεταξύ τους.

Έχει καταστεί πλέον προφανές ότι υπάρχει αθρόα επικοινωνία μεταξύ του περιφερικού ανοσοποιητικού συστήματος και του ΚΝΣ. Πολυάριθμες μελέτες έχουν καταδείξει μηχανισμούς, με τους οποίους ο εγκέφαλος μπορεί να ελέγξει την ύπαρξη περιφερικής φλεγμονής και να προκαλέσει αντίδραση οξείας φάσης. Για παράδειγμα, μετά από την πρόκληση πυρετού με τη χορήγηση ενδοτοξίνης, παρατηρήθηκε απώλεια της όρεξης και μειωμένη δραστηριότητα (Dantzer και συν., 1999, Dantzer και συν., 2000, Koonsman και συν., 2002). Έχει γίνει ευρέως αποδεκτό ότι οι προφλεγμονώδεις κυτοκίνες IL-1β (Bluthe και συν., 2000a), IL-6 (Bluthe και συν., 2000b, Cartmell και συν., 2000) και TNF-α (Bluthe και συν., 2000a) παίζουν καθοριστικό ρόλο στην εκδήλωση αυτών των συμπτωμάτων. Αυτές οι κυτοκίνες παράγονται στην περιοχή της φλεγμονής και στη συνέχεια πιστεύεται ότι μεταφέρουν το σήμα στον εγκέφαλο με έναν από τους τέσσερις μηχανισμούς: (α) απευθείας μέσω του ΑΕΦ, (β) μέσω άλλων θέσεων που στερούνται του ΑΕΦ, (γ) ακολουθώντας την περιτοναϊκή φλεγμονώδη διαδρομή μέσω του πνευμονογαστρικού νεύρου, ή (δ) μέσω άμεσης ενεργοποίησης του εγκεφαλικού ενδοθηλίου από ενδοτοξίνη (Teeling και συν., 2007).

Επίσης, έχει αναφερθεί η συσχέτιση της IL-6 και του TNFα με τα νευροψυχιατρικά συμπτώματα σε ασθενείς με άνοια (Holmes και συν., 2011). Ως πιθανός παθοφυσιολογικός μηχανισμός έχει προταθεί μία αντίδραση ανάλογη με

αυτή που παρατηρείται στο “sickness behavior syndrome”, που αποτελεί μια υπερβολική ανταπόκριση του εγκεφάλου, ακόμη και σε ήπια φλεγμονώδη ερεθίσματα, με σκοπό την προστασία του οργανισμού από πιθανή περαιτέρω βλάβη. Το σύνδρομο αυτό αποτελεί έκφραση της προσαρμοστικής αναδιοργάνωσης των προτεραιοτήτων του ξενιστή κατά τη διάρκεια ενός λοιμώδους επεισοδίου. Η διαδικασία αυτή ενεργοποιείται από προ-φλεγμονώδεις κυτοκίνες (IL-1α, IL-1β, IL-6 και TNF-α), εκκρινόμενες από τα φαγοκύτταρα της περιφέρειας, όταν αυτά έρθουν σε επαφή με τους εισερχόμενους μικροοργανισμούς. Το μήνυμα από το περιφερικό ανοσοποιητικό σύστημα μεταβιβάζεται στον εγκέφαλο διαμέσου ενός ταχέως νευρωνικού μονοπατιού και μιας πιο αργής χυμικής διάβασης, με αποτέλεσμα την έκφραση των προ-φλεγμονωδών κυτοκινών στα μακροφάγα, όπως και στα μικρογλοιακά κύτταρα του εγκεφάλου (Konsman και συν., 2002). Τα ευρήματα αυτά υποδηλώνουν ότι το ευρύ σύστημα εγκεφάλου-κυτοκινών αποτελεί έναν αγωγό για το σύνολο των νευρωνικών κυκλωμάτων και των νευροδιαβιβαστών, που οργανώνουν τη φυσιολογική και παθολογική συμπεριφορά (Dantzer και συν., 2008).

Το “sickness behavior syndrome” δεν αποτελεί παθολογικό φαινόμενο αυτό καθαυτό, αλλά μπορεί να καταστεί παθολογικό, όταν συμβαίνει έξω από τα συνήθη πλαίσια, όπως στην περίπτωση έλλειψης οποιουδήποτε φλεγμονώδους ερεθίσματος ή όταν το φλεγμονώδες ερέθισμα είναι υπερβολικό σε ένταση ή διάρκεια. Διάφορες συνθήκες μπορούν να ευθύνονται για την κατάσταση αυτή: (1) προφλεγμονώδεις κυτοκίνες μπορούν να παραχθούν σε υψηλότερες ποσότητες και για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα από το κανονικό, (2) τα ρυθμιστικά μόρια, τα οποία υπό κανονικές συνθήκες εμποδίζουν την ενεργοποίηση των μοριακών και κυτταρικών συστατικών της αντίδρασης είναι ελαττωματικά ή (3) ευαισθητοποιούνται τα νευρωνικά κυκλώματα-στόχοι των φλεγμονωδών μεσολαβητών, τα οποία είναι υπεύθυνα για την εμφάνιση του συνδρόμου. Εξαιτίας των στενών ομοιοτήτων ανάμεσα στα συμπτώματα του συνδρόμου και τα κλινικά συμπτώματα της κατάθλιψης, οποιαδήποτε από αυτές τις συνθήκες αποτελεί πιθανό παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση μείζονων καταθλιπτικών διαταραχών. Για το ενδεχόμενο της μετάπτωσης από το “sickness behavior syndrome” σε κατάθλιψη, υπάρχουν στοιχεία διαθέσιμα, τόσο από κλινικές έρευνες, όσο και από πειραματικές μελέτες καταθλιπτικών διαταραχών σε ζωικά μοντέλα (Dantzer, 2009).

Έχουν περιγραφεί και άλλοι πιθανοί μηχανισμοί για την εμπλοκή των κυτοκινών στην παθογένεια της κατάθλιψης. Για παράδειγμα, έχει παρατηρηθεί ότι

τα αντικαταθλιπτικά φάρμακα μπορούν να μειώσουν το λόγο IFN γ /IL-10, φαινόμενο που οφείλεται εν μέρει στην αυξανόμενη έκκριση της αντιφλεγμονώδους κυτοκίνης IL-10 (Kubera και συν., 2001). Η IFN- γ παράγεται κυρίως από TH1 και τα κύτταρα NK (Richtsmeyer και συν., 1985), ενώ η IL-10 παράγεται κυρίως από τα κύτταρα TH2 (Fiorentino και συν., 1991). Στο σύνολό τους, πολλές μελέτες προτείνουν ότι η διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ TH1 κυτοκινών και TH2 κυτοκινών ή προφλεγμονωδών και αντι-φλεγμονωδών κυτοκινών μπορεί να διαδραματίζει έναν ρόλο στη κατάλληλη τροποποίηση της κυτταρικής απάντησης του εγκεφάλου κατά τη διάρκεια ψυχολογικού στρες και ψυχιατρικών διαταραχών (Anisman και Merali, 2003, Kim και Maes, 2003).

Ο προσδιορισμός των λιπιδαιμικών παραγόντων στο πλάσμα των ασθενών έδειξε επίσης κάποια ενδιαφέροντα στοιχεία. Για παράδειγμα, τα επίπεδα της apoA-I ήταν χαμηλότερα στους ασθενείς [ΥΘ] και παράλληλα παρατηρήθηκε μείωση των επιπέδων της μετά τη θεραπεία με AChEI. Η διαφορά αυτή θα μπορούσε να αποδοθεί είτε στην πρόοδο της νόσου, είτε στη λαμβανόμενη φαρμακοθεραπεία με AChEI. Ωστόσο, εφόσον δεν υπάρχουν σχετικά στοιχεία στην τρέχουσα βιβλιογραφία για την επίδραση των AChEI, η παρατηρούμενη διαφορά μάλλον οφείλεται στη διαφορά της σοβαρότητας της νόσου μεταξύ των συγκρινόμενων ομάδων των ασθενών. Έτσι, αν και το οξειδωτικό στρες φαίνεται να εμπλέκεται στους παθογενετικούς μηχανισμούς της NA, ο ρόλος των συγκεκριμένων λιπιδαιμικών παραγόντων, που εξετάστηκαν στη μελέτη, παραμένει αμφιλεγόμενος.

Τα αποτελέσματα για τα μόρια προσκόλλησης, εκτός από κάποιες συσχετίσεις τους με τη σοβαρότητα της νόσου, δεν φαίνεται από την παρούσα μελέτη τουλάχιστον να μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως αξιόπιστοι δείκτες περιφερικού αίματος της νόσου. Μπορεί να συμμετέχουν στις φλεγμονώδεις διεργασίες του εγκεφάλου της NA, ωστόσο μπορεί αυτή η κατάσταση να μην αντανακλάται με τον ίδιο τρόπο στην περιφέρεια. Η CRP, ως μη ειδικός δείκτης φλεγμονής, σχετίστηκε κυρίως με τα ανθρωπομετρικά στοιχεία (ΔΜΣ) και δεν φαίνεται από την παρούσα μελέτη να αποτελεί ένα χρήσιμο δείκτη της νόσου μελλοντικά.

Η παρούσα μελέτη δεν καθιερώνει σε καμία περίπτωση τις βιοχημικές παραμέτρους, που εξετάστηκαν, ως βιολογικούς δείκτες για χρήση στην καθημερινή κλινική πρακτική. Ωστόσο, τα ευρήματα κυρίως των κυτοκινών υποδηλώνουν την ύπαρξη σημαντικής συσχέτισής τους με τη NA και την κλινική της έκφραση. Μπορεί

κάθε κυτοκίνη ξεχωριστά να έχει περιορισμένη αξία, ενώ ο συνδυασμός τους να αποβεί πιο χρήσιμος και αποτελεσματικός.

4.3 Κλινική χρησιμότητα

Από τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης φαίνεται ότι οι κυτοκίνες θα μπορούσαν να αποτελέσουν, ενδεχομένως στο μέλλον, αξιόπιστο εργαλείο για τη διάγνωση και την παρακολούθηση ασθενών με ΝΑ, καθώς και για τη διερεύνηση της ανταπόκρισης στη θεραπεία με AChEI. Είναι σημαντικό ότι και οι λιπιδαιμικοί παράγοντες έδωσαν κάποια ενθαρρυντικά αποτελέσματα, διότι είναι πιο εύκολα προσδιορίσιμοι και μπορούν να τροποποιηθούν από εξωγενείς παράγοντες (πλην της Lp(α)), όπως για παράδειγμα διαιτητικούς. Επίσης η θεραπεία με AChEI φαίνεται να έχει θετική επίδραση και στα συνοδά συμπτώματα της ΝΑ, διευρύνοντας έτσι τη χρησιμότητά τους στην καθημερινή κλινική πράξη.

4.4 Περιορισμοί

Η παρούσα μελέτη διεξήχθη σε σχετικά μικρό αριθμό ατόμων. Ο προσδιορισμός των παραγόντων στο περιφερικό αίμα ή στα κύτταρα του περιφερικού αίματος μπορεί να μην αντικατοπτρίζει με ακρίβεια τις διεργασίες του εγκεφάλου. Ο προσδιορισμός της έκκρισης των κυτοκινών από τα κύτταρα του περιφερικού αίματος παραμένει μία σχετικά πολύπλοκη και ακριβή διαδικασία, η οποία για το λόγο αυτό δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί ευρέως στο γενικό πλυθυσμό, πέρα από πειραματικές και κλινικές μελέτες.

4.5 Συμπεράσματα

Από τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης φαίνεται ότι οι ασθενείς με ΝΑ χαρακτηρίζονται από αυξημένη φλεγμονώδη δραστηριότητα, η οποία εκφράζεται στην περιφέρεια με αύξηση της έκκρισης των κυτοκινών IFN γ , IL-6, IL-1 β και TNF α από τα πολυμορφοπύρηνα κύτταρα του αίματος, σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες. Η χορήγηση του AChEI μείωσε την έκκριση των κυτοκινών σε στατιστικά σημαντικό βαθμό και η μείωση αυτή συσχετίστηκε με τη βελτίωση, που σημειώθηκε στα καταθλιπτικά και νευροψυχιατρικά συμπτώματα των ασθενών. Η apoA-I και τα anti-oxLDL στη συγκεκριμένη μελέτη φάνηκε να σχετίζονται αρνητικά με τη σοβαρότητα της νόσου, ενώ η Lp(α) σχετίζεται θετικά. Τα μόρια προσκόλλησης και κυρίως το sICAM-1 σχετίστηκαν θετικά με τη σοβαρότητα της νόσου. Από τα αποτελέσματα

αυτά της μελέτης διαφαίνεται η πιθανότητα, κυρίως για τις κυτοκίνες, να μπορέσουν να χρησιμοποιηθούν στο μέλλον, τόσο για τη διαφοροδιάγνωση, όσο και για την παρακολούθηση ασθενών με νόσο Alzheimer. Υπογραμμίζεται, ωστόσο, η αναγκαιότητα για περαιτέρω έρευνα σε μεγαλύτερο αριθμό ασθενών, προκειμένου να καταλήξουμε σε πιο ασφαλή και αξιόπιστα συμπεράσματα.

4.6 Επεκτάσεις

Η παρούσα μελέτη έχει τη δυνατότητα να επεκταθεί και η μελλοντική έρευνα θα μπορούσε να επικεντρωθεί:

1. Σε γενετικές μελέτες του πληθυσμού, συμπεριλαμβανομένου του γονοτύπου APOE ε4 ή άλλων υποψηφίων γονιδίων για την άνοια, τα οποία ενδέχεται να εμπλέκονται στην έκφραση των βιοχημικών παραμέτρων της μελέτης
2. Στην επέκταση της μελέτης σε μεγαλύτερο αριθμό ασθενών και στην προοπτική παρακολούθησή τους ανά τακτά χρονικά διαστήματα.
3. Στην ανεύρεση παραγόντων, που να παρεμβαίνουν στις φλεγμονώδεις διεργασίες της ΝΑ, αναστέλλοντας την παραγωγή και τη δράση των προ-φλεγμονωδών κυτοκινών, οι οποίοι ενδεχομένως να μπορούν να χρησιμοποιηθούν στη θεραπευτική προσέγγιση της νόσου.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Η άνοια και ειδικότερα η νόσος Alzheimer αποτελεί μια νόσο της τρίτης ηλικίας, με διαρκώς αυξανόμενο επιπολασμό και μεγάλη ατομική, κοινωνική και οικονομική επιβάρυνση. Η φροντίδα του ευάλωτου αυτού πληθυσμού αποτελεί πλέον προτεραιότητα και οι έρευνες επικεντρώνονται στην ανεύρεση μεθόδων για πιο έγκυρη διάγνωση και πιο αποτελεσματικές θεραπείες. Από τις υπάρχουσες ενδείξεις, φαίνεται πως η φλεγμονή κατέχει κεντρικό ρόλο στην παθογένεια της νόσου και θα ήταν πολύτιμη η ανίχνευση ειδικών παραγόντων φλεγμονής στην περιφέρεια, ως δείκτες διάγνωσης και παρακολούθησης της νόσου.

Μεθοδολογία: Μελετήθηκαν συνολικά 128 άτομα, 105 ασθενείς με νόσο Alzheimer και 23 υγιείς μάρτυρες. Οι ασθενείς χωρίστηκαν αρχικά σε δύο ομάδες, με βάση τη λήψη ([YΘ]) ή όχι ([AΘ]) αναστολέα ακετυλοχολινεστεράσης (AChEI) και συγκρίθηκαν μεταξύ τους και με ομάδα μαρτύρων. Έξι μήνες μετά την έναρξη της θεραπείας με AChEI μια υποομάδα των [AΘ] επανεκτιμήθηκε κλινικά και εργαστηριακά, ενώ μετά την παρέλευση πενταετίας επανεκτιμήθηκε η βαρύτητα της νόσου στο σύνολο των ασθενών. Η κλινική εξέταση περιελάμβανε σωματομετρικές μετρήσεις (ΔΜΣ, περιφέρεια μέσης, περιφέρεια ισχίων), αριθμό σφύξεων και αρτηριακή πίεση σε καθιστή και όρθια θέση. Χρησιμοποιήθηκαν ψυχομετρικές κλίμακες για την εκτίμηση των γνωστικών λειτουργιών (Mini Mental State Examination, MMSE), της λειτουργικότητας (Alzheimer's Disease Cooperative Study-Activities of Daily Living, ADCS-ADL), του σταδίου της νόσου (Clinical Dementia Rating, CDR, Global Deterioration Scale, GDS) και για την ανίχνευση καταθλιπτικών (Cornell Scale for Depression in Dementia, CSDD) και νευροψυχιατρικών συμπτωμάτων (Neuropsychiatric Inventory, NPI).

Με βάση τη σύγχρονη βιβλιογραφία μελετήθηκαν προφλεγμονώδεις κυτοκίνες (IFN γ , IL-6, IL-1 β , TNF α), λιπιδαιμικοί παράγοντες (ApoA-I, Lp(α), anti-oxLDL), μόρια προσκόλλησης (VCAM-1, ICAM-1) και ο δείκτης φλεγμονής CRP. Για τον προσδιορισμό των κυτοκινών επιλέχτηκε η ανοσοενζυμική μέθοδος κηλίδας (Enzyme-Linked-Immuno-SPOT, ELISPOT), η οποία ανιχνεύει την παραγωγή κυτοκινών από περιφερικά πολυμορφοπύρρηνα κύτταρα αίματος. Θεωρείται πιο ευαίσθητη και ακριβής μέθοδος για τον προσδιορισμό των κυτοκινών σε σύγκριση με τη μέθοδο ELISA, η οποία έχει χρησιμοποιηθεί στις περισσότερες από τις

προηγούμενες μελέτες. Οι υπόλοιποι παράγοντες προσδιορίστηκαν στο πλάσμα των συμμετεχόντων με τη μέθοδο ELISA.

Αποτελέσματα: Η έκκριση όλων των κυτοκινών διέφερε σε στατιστικά σημαντικό βαθμό, τόσο μεταξύ ασθενών και μαρτύρων, όσο και στους ίδιους ασθενείς μετά τη λήψη του AChEI. Η μείωση της έκκρισης των IFN γ και TNF α σχετίστηκε με τη βελτίωση των καταθλιπτικών συμπτωμάτων, ενώ η μείωση της IL-6 σχετίστηκε με τη βελτίωση των νευροψυχιατρικών συμπτωμάτων. Από τους υπόλοιπους παράγοντες, μόνο τα επίπεδα της apoA-I μειώθηκαν μετά τη θεραπεία με AChEI. Τα επίπεδα των anti-oxLDL συσχετίστηκαν θετικά με τις κλίμακες MMSE και ADCS, ενώ τα επίπεδα του sICAM-1 με τη διάρκεια της νόσου. Τα επίπεδα της Lp(α) και του sVCAM-1 σχετίστηκαν με τη βαρύτητα της νόσου. Η CRP δεν έδειξε να σχετίζεται με καμία παράμετρο της νόσου. Η λήψη αντιψυχωσικής αγωγής σχετίστηκε με χειρότερη πρόγνωση, ενώ η βαρύτητα της νόσου και η εμφάνιση νευροψυχιατρικών συμπτωμάτων σχετίστηκαν με αυξημένη θνητότητα.

Συμπεράσματα: Η παρατηρούμενη σημαντική διαφορά στην έκκριση των κυτοκινών ασθενών και μαρτύρων καταδεικνύει ότι η φλεγμονή είναι παρούσα στη ΝΑ και πιθανώς ενέχεται ενεργά στην παθογένειά της. Μετά τη χορήγηση αναστολέα της ακετυλοχολινεστεράσης η έκκριση των κυτοκινών μειώθηκε, χωρίς ωστόσο να φτάσει στα επίπεδα των υγιών μαρτύρων. Η παρατηρούμενη συσχέτιση μεταξύ της μείωσης των καταθλιπτικών και νευροψυχιατρικών συμπτωμάτων και της μείωσης της έκκρισης των κυτοκινών είναι πολύ σημαντική και θέτει νέα ερωτήματα προς διερεύνηση για το ρόλο των κυτοκινών τόσο στη ΝΑ, όσο και στην κατάθλιψη.

ABSTRACT

Background: Dementia and especially Alzheimer disease is a disease of the elderly, with a growing prevalence and high individual, social and economic burden. The care of vulnerable population has become a priority and investigations focus on finding methods for more accurate diagnosis and more effective treatments. Of the existing evidence, it appears that inflammation plays a central role in the pathogenesis of the disease and it would be valuable to detect specific factors of inflammation in peripheral blood, as markers of disease diagnosis and monitoring.

METHODS: A total of 128 people were studied, 105 patients with Alzheimer's disease and 23 healthy controls. Patients were divided initially into two groups, based on the receipt ([A]) or not ([NA]) acetylcholinesterase inhibitor (AChEI) and compared among themselves and with the group of controls. Six months after starting treatment with AChEI, a subgroup of [NA] has been re-assessed clinically and new blood measurements have been performed. Five years later there was a re-assessment about the disease severity in all patients. The clinical examination included somatometric measurements (BMI, waist circumference, hip circumference), heartbeat and arterial pressure in sitting and standing position. Psychometric scales were used for the assessment of cognition (Mini Mental State Examination, MMSE), functionality (Alzheimer's Disease Cooperative Study-Activities of Daily Living, ADCS-ADL), the stage of the disease (Clinical Dementia Rating, CDR, Global Scale Deterioration, GDS) and to detect depressive (Cornell Scale for Depression in Dementia, CSDD) and neuropsychiatric symptoms (Neuropsychiatric Inventory, NPI). Based on the latest literature, proinflammatory cytokines (IFN γ , IL-6, IL-1 β , TNF α), lipidemic factors (ApoA-I, Lp(α), anti-oxLDL), adhesion molecules (VCAM-1, ICAM-1) and CRP were studied. For the measurements of cytokines, an enzyme-linked immunosorbent assay (Enzyme-Linked-Immuno-SPOT, ELISPOT) was selected, which detects the production of cytokines by peripheral monocytes blood cells. It is considered more sensitive and accurate method for the determination of cytokines in comparison with ELISA method, which is used in most previous studies. The rest of biochemical factors were measured in plasma of participants with ELISA.

Results: The secretion of cytokines differed in statistically significant extent, both between patients and controls, as also before and after the admission of AChEI. The reduction in the secretion of IFN γ and TNF α was associated with improvement of

depressive symptoms, while the decrease of IL-6 was associated with improvement in neuropsychiatric symptoms. Also, apoA-I levels were decreased after treatment with AChEI. Anti-oxLDL levels were correlated positively with the scales MMSE and ADCS, while levels of sICAM-1 were correlated positively with the duration of the disease. The levels of Lp(a) and sVCAM-1 associated with disease severity. CRP has not been associated with any of disease parameter. Receiving antipsychotic therapy was associated with a worse prognosis, while the severity of the disease and the occurrence of neuropsychiatric symptoms associated with increased mortality.

Conclusion: The observed significant difference on the secretion of cytokines between patients and controls indicates that inflammation is present in AD and is eventually involved in pathogenesis of the disease. After the administration of therapy with acetylcholinesterase inhibitor for six months period, secretion of cytokines declined, without however reaching the levels of healthy controls. The observed correlation between the reduction of depressive and neuropsychiatric symptoms and the reduction of cytokine secretion is very important and raises the need for further investigation about the actual role of cytokines in both AD and depression.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

1. Γενικό ερωτηματολόγιο

Ημερομηνία εξέτασης:

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΣΘΕΝΟΥΣ

ΟΝΟΜΑ : ΦΥΛΟ :
ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΓΕΝΝΗΣΗΣ :
ΤΟΠΟΣ ΓΕΝΝΗΣΗΣ :
ΕΠΑΓΓΕΛΜΑ :

ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΟ ΑΝΑΜΝΗΣΤΙΚΟ :

ΑΤΟΜΙΚΟ ΑΝΑΜΝΗΣΤΙΚΟ :

ΚΑΠΝΙΣΜΑ : ΟΧΙ ΝΑΙ τσιγάρα ημερησίως έτη

ΑΛΚΟΟΛ :

ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ : ΟΧΙ ΝΑΙ Έτος διάγνωσης :

ΑΡΤΗΡΙΑΚΗ ΥΠΕΡΤΑΣΗ : ΟΧΙ ΝΑΙ

ΔΥΣΛΙΠΙΔΑΙΜΙΑ : ΟΧΙ ΝΑΙ

ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑ ΝΟΣΟΣ : ΟΧΙ ΝΑΙ

ΚΟΛΠΙΚΗ ΜΑΡΜΑΡΥΓΗ : ΟΧΙ ΝΑΙ

ΑΕΕ : ΟΧΙ ΝΑΙ

ΗΠΑΡ :

ΝΕΦΡΟΙ :

ΘΥΡΕΟΕΙΔΗΣ ΑΔΕΝΑΣ :

ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΑΓΩΓΗ:

ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ :

ΥΨΟΣ : cm

ΒΑΡΟΣ : kg

BMI : kg/m²

ΠΕΡΙΜΕΤΡΟΣ ΜΕΣΗΣ : cm

/

ΑΠ (όρθια θέση) : / mmHg ΑΠ (καθιστή θέση) : / mmHg

ΣΦΥΞΕΙΣ : /λεπτό

2. Κλίμακα MMSE (Mini Mental State Examination)

(ΣΥΝΤΟΜΗ ΕΞΕΤΑΣΗ ΤΗΣ ΝΟΗΤΙΚΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ)

Για κάθε σωστή απάντηση θα προστίθεται ένας βαθμός

I. Προσανατολισμός

Θα σας κάνω μερικές απλές ερωτήσεις για να δούμε πως πάει η μνήμη σας.

1. Τι έτος έχουμε;

2. Ποια εποχή;

3. Τι μήνα;

4. Ποια ημερομηνία;

5. Ποια μέρα της εβδομάδας;

6. Σε ποια χώρα βρισκόμαστε;

7. Σε ποια πόλη;

8. Σε ποια περιοχή ή διεύθυνση;

9. Σε ποιο νοσοκομείο;

10. Σε ποιο όροφο;

II. Καταγραφή

Θα σας πω τρεις λέξεις που θέλω να επαναλάβετε μετά από μένα και να τις θυμόσαστε όταν σας ξαναρωτήσω.

11. Λεμόνι

12. Κλειδί

13. Μολύβι

III. Συγκέντρωση/Δυνατότητα αριθμητικών πράξεων

Αφαιρέστε από το 100 διαδοχικά 7 μονάδες κάθε φορά

Εναλλακτικά: γράψτε τη λέξη «πόρτα» ανάποδα

14. 93 -α-

15. 86 -τ-

16. 79 -ρ-

17. 72 -ο-

18. 65 -π-

IV. Ανάκληση

Επαναλάβετε παρακαλώ τις 3 λέξεις που σας είχα ζητήσει προηγουμένως

19. Λεμόνι

20. Κλειδί

21. Μολύβι

V. Κατονομασία

Δείχνουμε στον ασθενή 2 αντικείμενα και ζητούμε να τα κατονομάσει- τι είναι αυτό;

22. Ρολόι

23. Μολύβι

VI. Επανάληψη

Ζητήστε από τον ασθενή να επαναλάβει μετά από εσάς:

24. «Το ‘να χέρι νίβει τ’ άλλο»

VII. Εκτέλεση εντολής τριών σταδίων

Δώστε στον ασθενή ένα λευκό χαρτί και πείτε του:

25. Πάρτε το χαρτί με το δεξί σας χέρι

26. Διπλώστε το στη μέση

27. Αφήστε το στο πάτωμα

VIII. Αντίδραση

Δείξτε στον ασθενή ένα χαρτί που να γράφει με κεφαλαία:

ΚΛΕΙΣΕ ΤΑ ΜΑΤΙΑ ΣΟΥ και πείτε:

28. Παρακαλώ κάντε ότι γράφει το χαρτί που σας δείχνω

IX. Αυτόματη γραφή

Δώστε στον ασθενή χαρτί και μολύβι και πείτε:

29. Παρακαλώ γράψτε μια ολοκληρωμένη πρόταση, όποια θέλετε.

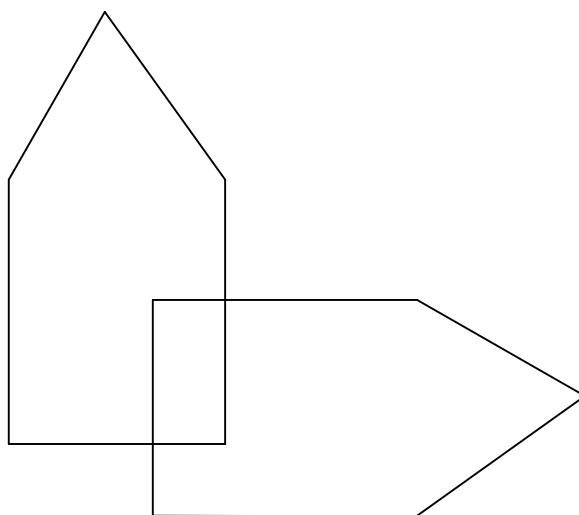
(Πρέπει να περιέχει υποκείμενο-ρήμα)

X. Αντιγραφή

Ζητήστε από τον ασθενή να αντιγράψει ένα σχήμα από δύο πεντάγωνα που τέμνονται

(πρέπει να διακρίνονται οι 10 γωνίες εκ των οποίων οι δύο να τέμνονται)

30.



Συνολικό άθροισμα:

3. Κλίμακα κλινικής ταξινόμησης για την άνοια

(Clinical Dementia Rating, CDR)

THE CLINICAL DEMENTIA RATING SCALE

	NONE	QUESTIONABLE	MILD	MODERATE	SEVERE
	0	0.5	1	2	3
Memory	No memory loss or slight Inconsistent forgetfulness	Consistent slight forgetfulness; partial recollection of events; "benign" forgetfulness	Moderate memory loss: more marked for recent events; defect interferes with everyday activity	Severe memory loss, only highly learned material retrained: new material rapidly lost	Severe memory loss only fragments remain
Orientation	Fully oriented	Fully oriented but with slight difficulty with time relationships	Moderate difficulty with time relationships; oriented for place at examination; may have geographic disorientation elsewhere	Severe difficulty with time relationships; usually disoriented to time, often to place	Oriented to person only
Judgement and Problem Solving	Solves everyday problems and handles business and financial affairs well; judgement good in relation to past performance	Slight impairment in solving problems, similarities and differences	Moderate difficulty in handling problems, similarities and differences; social judgement usually maintained	Severely impaired in handling problems, similarities and differences; social judgment usually impaired	Unable to make judgements or solve problems
Community Affairs	Independent function as usual in job, shopping, volunteer and social groups	Slight impairment in these activities	Unable to function independently at these activities though may still be engaged in some; appears normal to casual inspection	No pretense of independent function home; appears well enough to be taken to functions outside the family home	Appears too ill to be taken to functions outside the family home
Home and Hobbies	Life at home, hobbies and intellectual interests well maintained	Life at home, hobbies and intellectual interests slightly impaired	Mild but definite impairment of functions at home; more difficult chores, and complicated hobbies and interests abandoned	Only simple chores preserved; very restricted interests, poorly maintained	No significant function in the home
Personal Care	Fully capable of self-care		Needs prompting	Requires assistance in dressing hygiene and keeping of personal effects	Requires much help with personal care; frequent incontinence

Score only as decline from previous usual level due to cognitive loss, not impairment due to other factors.

Morris, J.C. (1993) The Clinical Dementia Rating (CDR): current version and scoring rules. *Neurology*, 43, 2412-4.

4.Κλίμακα Νευροψυχιατρικής εκτίμησης (Neuropsychiatric Inventory, NPI)

Name of patient: _____ Date: _____

Informant: Spouse: _____ Child: _____ Other: _____

Please answer the following questions based on *changes* that have occurred since the patient first began to experience memory problems. Circle "yes" only if the symptom has been present in the *past month*. Otherwise, circle "no".

For each item marked "yes":

Rate the *severity* of the symptom (how it affects the patient):

1 = Mild (noticeable, but not a significant change)

2 = Moderate (significant, but not a dramatic change)

3 = Severe (very marked or prominent; a dramatic change)

Rate the *distress* you experience because of that symptom (how it affects you):

0 = Not distressing at all

1 = Minimal (slightly distressing, not a problem to cope with)

2 = Mild (not very distressing, generally easy to cope with)

3 = Moderate (fairly distressing, not always easy to cope with)

4 = Severe (very distressing, difficult to cope with)

5 = Extreme or very severe (extremely distressing, unable to cope with)

Please answer each question honestly and carefully. Ask for assistance if you are not sure how to answer any question.

Delusions	Does the patient believe that others are stealing from him or her, or planning to harm him or her in some way?
Yes No	Severity: 1 2 3 Distress: 0 1 2 3 4 5
Hallucinations	Does the patient act as if he or she hears voices? Does he or she talk to people who are not there?
Yes No	Severity: 1 2 3 Distress: 0 1 2 3 4 5
Agitation or aggression	Is the patient stubborn and resistive to help from others?
Yes No	Severity: 1 2 3 Distress: 0 1 2 3 4 5
Depression or dysphoria	Does the patient act as if he or she is sad or in low spirits? Does he or she cry?
Yes No	Severity: 1 2 3 Distress: 0 1 2 3 4 5
Anxiety	Does the patient become upset when separated from you? Does he or she have any other signs of nervousness, such as shortness of breath, sighing, being unable to relax, or feeling excessively tense?
Yes No	Severity: 1 2 3 Distress: 0 1 2 3 4 5
Elation or euphoria	Does the patient appear to feel too good or act excessively happy?
Yes No	Severity: 1 2 3 Distress: 0 1 2 3 4 5
Apathy or indifference	Does the patient seem less interested in his or her usual activities and in the activities and plans of others?
Yes No	Severity: 1 2 3 Distress: 0 1 2 3 4 5
Disinhibition	Does the patient seem to act impulsively? For example, does the patient talk to strangers as if he or she knows them, or does the patient say things that may hurt people's feelings?
Yes No	Severity: 1 2 3 Distress: 0 1 2 3 4 5
Irritability or lability	Is the patient impatient and cranky? Does he or she have difficulty coping with delays or waiting for planned activities?
Yes No	Severity: 1 2 3 Distress: 0 1 2 3 4 5
Motor disturbance	Does the patient engage in repetitive activities, such as pacing around the house, handling buttons, wrapping string, or doing other things repeatedly?
Yes No	Severity: 1 2 3 Distress: 0 1 2 3 4 5
Nighttime behaviors	Does the patient awaken you during the night, rise too early in the morning, or take excessive naps during the day?
Yes No	Severity: 1 2 3 Distress: 0 1 2 3 4 5
Appetite and eating	Has the patient lost or gained weight, or had a change in the food he or she likes?
Yes No	Severity: 1 2 3 Distress: 0 1 2 3 4 5

5. Κλίμακα Cornell Scale for Depression in Dementia (CSDD)

Cornell Scale for Depression in Dementia (CSDD)

NAME _____ AGE _____ SEX _____ DATE _____

WING _____ ROOM _____ PHYSICIAN _____ ASSESSER _____

Ratings should be based on symptoms and signs occurring during the week before interview. No score should be given if symptoms result from physical disability or illness.

SCORING SYSTEM

a = Unable to evaluate 0 = Absent 1 = Mild to intermittent 2 = Severe

a 0 1 2 A. MOOD-RELATED SIGNS

1. Anxiety: anxious expression, rumination, worrying
2. Sadness: sad expression, sad voice, tearfulness
3. Lack of reaction to present events
4. Irritability: annoyed, short tempered

a 0 1 2 B. BEHAVIORAL DISTURBANCE

5. Agitation: restlessness, hand wringing, hair pulling
6. Retardation: slow movements, slow speech, slow reactions
7. Multiple physical complaints (score 0 if gastrointestinal symptoms only)
8. Loss of interest: less involved in usual activities (score only if change occurred acutely, i.e., in less than one month)

a 0 1 2 C. PHYSICAL SIGNS

9. Appetite loss: eating less than usual
10. Weight loss: (score 2 if greater than 5 pounds in one month)
11. Lack of energy: fatigues easily, unable to sustain activities

a 0 1 2 D. CYCLIC FUNCTIONS

12. Diurnal variation of mood: symptoms worse in the morning
13. Difficulty falling asleep: later than usual for this individual
14. Multiple awakening during sleep
15. Early morning awakening: earlier than usual for this individual

a 0 1 2 E. IDEATIONAL DISTURBANCE

16. Suicidal: feels life is not worthy living
17. Poor self-esteem: self-blame, self-depreciation, feelings of failure
18. Pessimism: anticipation of the worst
19. Mood congruent delusions: delusions of poverty, illness or loss

SCORE _____ Score greater than 12 = Probable depression

Notes/Current Medications:

Instructions for use:

1. The same CNA (certified nursing assistant) should conduct the interview each time to assure consistency in response.
2. The assessment should be based on the patient's normal weekly routine.
3. If uncertain of answers, questioning other caregivers may further define the answer.
4. Answer all questions by placing a check in the column under the appropriately numbered answer. (a = unable to evaluate, 0 = absent, 1 = mild to intermittent, 2 = severe)
5. Add the total score for all numbers checked for each question.
6. Place the total score in the "Score" box and record any subjective observation notes in the "Notes/Current Medications" section.
7. Scores totaling twelve (12) points or more indicate probable depression.

6.Κλίμακα σφαιρικής επιδείνωσης (GDS, Global Deterioration Scale)

GLOBAL DETERIORATION SCALE (GDS) Stage	Deficits in cognition and function	Usual care setting
1	Subjectively and objectively normal	Independent
2	Subjective complaints of mild memory loss. Objectively normal on testing. No functional deficit	Independent
3	Mild Cognitive Impairment (MCI) Earliest clear-cut deficits. Functionally normal but co-workers may be aware of declining work performance. Objective deficits on testing. Denial may appear.	Independent
4	Early dementia Clear-cut deficits on careful clinical interview. Difficulty performing complex tasks, e.g. handling finances, travelling. Denial is common. Withdrawal from challenging situations.	Might live independently – perhaps with assistance from family or caregivers.
5	Moderate dementia Can no longer survive without some assistance. Unable to recall major relevant aspects of their current lives, e.g. an address or telephone number of many years, names of grandchildren, etc. Some disorientation to date, day of week, season, or to place. They require no assistance with toileting, eating, or dressing but may need help choosing appropriate clothing.	At home with live-in family member. In seniors' residence with home support. Possibly in facility care, especially if behavioural problems or comorbid physical disabilities.
6	Moderately severe dementia May occasionally forget name of spouse. Largely unaware of recent experiences and events in their lives. Will require assistance with basic ADLs. May be incontinent of urine. Behavioural and psychological symptoms of dementia (BPSD) are common, e.g. delusions, repetitive behaviours, agitation.	Most often in Complex Care facility.
7	Severe dementia Verbal abilities will be lost over the course of this stage. Incontinent. Needs assistance with feeding. Lose ability to walk.	Complex Care

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Aarsland D, Andersen K, Larsen JP, Lolk A, Kragh-Sorensen P. Prevalence and characteristics of dementia in Parkinson's disease: an 8-year prospective study. *Arch Neurol* 2003; 60: 387-392.
- Abbas N, Bednar I, Mix E, Marie S, Paterson D, Ljungberg A, Morris C, Winblad B, Nordberg A, Zhu J. Up-regulation of the inflammatory cytokines IFN-gamma and IL-12 and down-regulation of IL-4 in cerebral cortex regions of APP(SWE) transgenic mice. *J Neuroimmunol* 2002;126(1-2):50-7.
- Abbott RD, Sharp DS, Burchfiel CM, et al. Cross-sectional and longitudinal changes in total and high-density-lipoprotein cholesterol levels over a 20-year period in elderly men: the Honolulu Heart Program. *Ann Epidemiol* 1997;7:417-24.
- Adelman AM, Daly MP. Initial Evaluation of the Patient with Suspected Dementia. *Am Fam Physician* 2005;71:1745-50.
- Aisen P, Schafer KA, Grundman M, et al. Effects of rofecoxib or naproxen vs placebo on Alzheimer disease progression: a randomized controlled trial. *JAMA* 2003;289:2819-2826.
- Akiyama H, Barger S, Barnum S, Bradt B, Bauer J, Cole GM, Cooper NR, Eikelenboom P, Emmerling M, Fiebich BL, Finch CE, Frautschy S, Griffin WS, Hampel H, Hull M, Landreth G, Lue L, Mrak R, Mackenzie IR, McGeer PL, O'Banion MK, Pachter J, Pasinetti G, Plata-Salaman C, Rogers J, Rydel R, Shen Y, Streit W, Strohmeyer R, Tooyama I, Van Muiswinkel FL, Veerhuis R, Walker D, Webster S, Wegrzyniak B, Wenk G, Wyss-Coray T. Inflammation and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2000;21(3):383-421.
- Akiyama H, Kawamata T, Yamada T, Tooyama I, Ishii T, McGeer PL. Expression of intercellular adhesion molecule (ICAM)-1 by a subset of astrocytes in Alzheimer disease and some other degenerative neurological disorders. *Acta Neuropathol (Berl)* 1993;85:628-234.
- Aldred S, Bennett S, Mecocci P. Increased low-density lipoprotein oxidation, but not total plasma protein oxidation, in Alzheimer's disease. *Clin Bioch* 2010;43(3):267-271
- Alexopoulos GA, Abrams RC, Young RC & Shamoian CA. Cornell scale for depression in dementia. *Biol Psych* 1988;23:271-284.
- Alexopoulos GS, Abrams RC, Young RC, Shamoian CA: Use of the Cornell scale in nondemented patients. *Journal of American Geriatrics Soc* 36:230-236, 1988.
- Allan SM, Tyrrell PJ, Rothwell NJ. Interleukin-1 and neuronal injury. *Nat Rev Immunol* 2005;5:629-640.
- Alvarez A, Cacabelos R, Sanpedro C, Garcva-Fantini M, Aleixandre M. Serum TNF-alpha levels are increased and correlate negatively with free IGF-I in Alzheimer disease. *Neurobiol Aging* 2007;28(4):533-6.
- Alvarez X, Franco A, Fernandez-Novoa L, Cacabelos R: Blood levels of histamine, IL-1 β , and TNF- α in patients with mild to moderate Alzheimer disease. *Mol Chem Neuropathol* 1996; 29: 237-252.
- Andersen K, Lolk A, Martinussen T, Kragh-Sørensen P. Very mild to severe dementia and mortality: A 14-year follow-up - The Odense study. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2010;29(1):61-7.
- Angelis P, Sharf S, Mander A, Vajda F, Christophidis N. Serum interleukin-6 and interleukin-6 soluble receptor in Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 1998;244:106-108.
- Angelopoulos P, Agouridaki H, Vaiopoulos H, Siskou E, Doutsou K, Costa V, Baloyiannis SI. Cytokines in Alzheimer's disease and vascular dementia. *Int J Neurosci* 2008 Dec;118(12):1659-72.
- Anisman H, Merali Z. Cytokines, stress and depressive illness: brain-immune interactions. *Ann Med* 2003;35(1):2-11.

- Anstey KJ, Mack HA, Cherbuin N. Alcohol consumption as a risk factor for dementia and cognitive decline: meta-analysis of prospective studies. *Am J Geriatr Psychiatry* 2009;17(7):542–555.
- Anthony J, Breitner JC, Zandi PP, et al. Reduced prevalence of AD in users of NSAIDs and H2 receptor antagonists: the Cache County study. *Neurology* 2000;54: 2066-2071.
- Arai Y & Hirose N. Aging and HDL metabolism in elderly people more than 100 years old. *J Atheroscler Thromb* 2004;11:246-252.
- Auron PE, Webb AC. Interleukin-1: a gene expression system regulated at multiple levels. *Eur Cytokine Netw* 1994;5:573-592.
- Azin N, Fahey JI, Detels R, Butch AW. Analytical Performance of a Highly Sensitive C-Reactive Protein-Based Immunoassay and the Effects of Laboratory Variables on Levels of Protein in Blood. *Clin Diagn Lab Immunol* 2003;10:652-657.
- Baba M, Nakajo S, Tu PH, Tomita T, Nakaya K, Lee VM, et al. Aggregation of alpha-synuclein in Lewy bodies of sporadic Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. *Am J Pathol* 1998;152:879-84.
- Ballantyne C, Mainolfi EA, Young JB, Windsor NT, Cocanougher B, Lawrence EC, Pollack MS, Entman ML, Rothlein R. Relationship of increased levels of circulating intercellular adhesion molecule 1 after heart transplantation to rejection: human leukocyte antigen mismatch and survival. *J Heart Lung Transplant* 1994;13:597-603.
- Balosso S, Ravizza T, Perego C, Peschon J, Campbell IL, De Simoni MG, Vezzani A. Tumor necrosis factor-alpha inhibits seizures in mice via p75 receptors. *Ann. Neurol* 2005;57:804–812.
- Barish ME, Mansdorf NB, Raissdana SS. Gamma-interferon promotes differentiation of cultured cortical and hippocampal neurons. *Dev Biol* 1991;144:412–423.
- Barnes DE, Alexopoulos GS, Lopez OL, Williamson JD, Yaffe K. Depressive symptoms, vascular disease, and mild cognitive impairment: findings from the Cardiovascular Health Study. *Arch Gen Psychiatry* 2006;63:273–279.
- Basu A, Krady JK, Levison SW. Interleukin- 1: a master regulator of neuroinflammation. *J Neurosci Res* 2004;78:151–156.
- Baum LW. Sex, hormones, and Alzheimer's disease. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2005;60(6):736–743.
- Bevilacqua M. Endothelial-leukocyte adhesion molecules. *Annu Rev Immunol* 1993;11:767-804.
- Bendlin BB, Carlsson CM, Gleason CE, Johnson SC, Sodhi A, Gallagher CL, Puglielli L, Engelman CD, Ries ML, Xu G, Wharton W, Asthana S. Midlife predictors of Alzheimer's disease. *Maturitas* 2010;65(2): 131–137.
- Benjamin R, Leake A, McArthur FK, et al. Protective effect of apoE epsilon 2 in Alzheimer's disease. *Lancet* 1994;344:473.
- Benveniste EN, Benos DJ. TNF-a- and IFN-g-mediated signal transduction pathways: effects on glial cell gene expression and function. *FASEB J* 1995;9:1577–1584
- Benveniste EN, Sparacia SM, Norris JG, Grenott HE, Muller GM. Induction and regulation of interleukin-6 gene expression in rat astrocytes. *J Neuroimmunol* 1990;30:201-212.
- Berger AK, Fratiglioni L, Forsell Y, Winblad B, Backman L. The occurrence of depressive symptoms in the preclinical phase of AD: a population-based study. *Neurology* 1999;53:1998 –2002.

- Blacker D, Lee H, Muzikansky A, et al. Neuropsychological measures in normal individuals that predict subsequent cognitive decline. *Arch Neurol* 2007;64:862–871.
- Blasko I, Marx F, Steiner E, Hartmann T, Grubeck-Loebenstien B. TNFalpha plus IFNgamma induce the production of Alzheimer beta-amyloid peptides and decrease the secretion of APPs. *FASEB J* 1999;13(1):63-8.
- Blasko I, Veerhuis R, Stampfer-Kountchev M, Saurwein-Teissl M, Eikelenboom P, Grubeck-Loebenstien B. Costimulatory effects of interferon-gamma and interleukin-1 β or tumor necrosis factor α on the synthesis of A β 1–40 and A β 1–42 by human astrocytes. *Neurobiol Dis* 2000;7:682–689.
- Bluthe RM, Layé S, Michaud B, Combe C, Dantzer R, Parnet P. Role of interleukin-1beta and tumour necrosis factor-alpha in lipopolysaccharide-induced sickness behaviour: a study with interleukin-1 type I receptor-deficient mice. *Eur J Neurosci* 2000a;12(12):4447–4456.
- Bluthe RM, Michaud B, Poli V, Dantzer R. Role of IL-6 in cytokine-induced sickness behavior: a study with IL-6 deficient mice. *Physiol Behav* 2000b;70(3–4):367–373.
- Bonaccorso S, Lin A, Song C, Verkerk R, Kenis G, Bosmans E, Scharpe S, Vandewoude M, Dossche A, Maes M. Serotonine-immune interactions in elderly volunteers and in patients with Alzheimer's disease (DAT): lower plasma tryptophan availability to the brain in the elderly and increased serum interleukin-6 in DAT. *Aging Milano* 1998;10:316–323.
- Borghini I, Barja F, Pometta D, et al. Characterization of subpopulations of lipoprotein particles isolated from human cerebrospinal fluid. *Biochim Biophys Acta* 1995;1255:192–200.
- Borovikova LV, Ivanova S, Zhang M, Yang H, Botchkina GI, Watkins LR, Wang H, Abumrad N, Eaton JW, Tracey KJ. Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. *Nature* 2000;405:458–462.
- Boyles JK, Zoellner CD, Anderson LJ, et al. A role for apolipoprotein E, apolipoprotein A-I, and low density lipoprotein receptors in cholesterol transport during regeneration and remyelination of the rat sciatic nerve. *J Clin Invest* 1989;83:1015–31.
- Bowler JV. Modern concept of vascular cognitive impairment. *Brit Med Bull* 2007; 83: 291–305.
- Braak H, Braak E. Evolution of neuronal changes in the course of Alzheimer's disease. *J Neural Transm* 1998; 53: S127-S140.
- Brandt, J. Dementia in Huntington's disease. *Neurobiol Aging* 2002; 23 (S1): 8.
- Breitner J, Gau BA, Welsh KA, et al. Inverse association of anti-inflammatory treatments and Alzheimer's disease: initial results of a co-twin control study. *Neurology* 1994;44:227-232.
- Breitner J, Wels KA, Gau BA, et al. Alzheimer's disease in the National Academy of Sciences-National Research Council Registry of Aging Twin Veterans, III: detection of cases, longitudinal results and observations on twin concordance. *Arch Neurol* 1995;52: 763-771.
- Breitner JC, Folstein MF. Familial Alzheimer Dementia: a prevalent disorder with specific clinical features. *Psychol Med* 1984;14:63-80.
- Bremmer MA, Beekman AT, Deeg DJ, Penninx BW, Dik MG, Hack CE, Hoogendijk WJ. Inflammatory markers in late-life depression: results from a population-based study. *J Affect Disord*. 2008;106(3):249-55.
- Breteler M, van Swieten JC, Bots ML, et al. Cerebral white matter lesions, vascular risk factors and cognitive function in a population based study: The Rotterdam Study. *Neurology* 1994;44:1246-1252.
- Brooks W, Grayson D, Nicholson G, et al. APOE-E4 predicts, but anti-inflammatory drugs do not prevent, incident Alzheimer's disease in an elderly community sample. *Neurobiol Aging* 1998;19 (Suppl. 4): 140.

- Brown GC, Bal-Price A. Inflammatory neurodegeneration mediated by nitric oxide, glutamate, and mitochondria. *Mol Neurobiol* 2003;27(3):325-55.
- Bruce-Jones PNE, Crome P, Kalra L. Indomethacin and cognitive function in healthy elderly volunteers. *Br J Clin Pharmacol* 1994;38:45-51.
- Bruunsgaard H, Andersen-Ranberg K, Jeune B, Pedersen AN, Skinhoj P, Pedersen BK. A high plasma concentration of TNF- α is associated with dementia in centenarians. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 1999; 54:M357-M364.
- Burns A, Lawlor B, Craig S. Rating scales in old age psychiatry. *Br J Psychiatry*. 2002 Feb;180:161-7.
- Burns A, Lewis G, Jacoby R, Levy R. Factors affecting survival in Alzheimer's disease. *Psychol Med* 1991;21: 363-370.
- Γερμένης ΑΕ. Κυτταροκίνες. ΙΑΤΡΙΚΗ ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑ. ΕΚΔΟΣΕΙΣ ΠΑΠΑΖΗΣΗ. Αθήνα 2000. Σελ.125-142.
- Caine E & Lyness J. Delirium, dementia and amnesic and other cognitive disorders. Kaplan & Sadock's Textbook of Psychiatry 2000: 854-923.
- Cairns NJ, Bigio EH, Mackenzie IR, Neumann M, Lee VM, Hatanpaa KJ, White CL 3rd, Schneider JA, Grinberg LT, Halliday G, Duyckaerts C, Lowe JS, Holm IE, Tolnay M, Okamoto K, Yokoo H, Murayama S, Woulfe J, Munoz DG, Dickson DW, Ince PG, Trojanowski JQ, Mann DM; Consortium for Frontotemporal Lobar Degeneration. Neuropathologic diagnostic and nosologic criteria for frontotemporal lobar degeneration: consensus of the Consortium for Frontotemporal Lobar Degeneration. *Acta Neuropathol*. 2007 Jul;114(1):5-22.
- Carroll JC, Rosario ER, Chang L, Stanczyk FZ, Oddo S, LaFerla FM, Pike CJ. Progesterone and estrogen regulate Alzheimer-like neuropathology in female 3xTg-AD mice. *J Neurosci* 2007;27(48):13357-13365.
- Carta MG, Serra P, Ghiani A, Manca E, Hardoy MC, Del Giacco GS, Diaz G, Carpiniello B, Manconi PE. Chemokines and pro-inflammatory cytokines in Down's syndrome: an early marker for Alzheimer-type dementia? *Psychother Psychosom* 2002;71:233-236.
- Cartmell T, Poole S, Turnbull AV, Rothwell NJ, Luheshi GN. Circulating interleukin-6 mediates the febrile response to localized inflammation in rats. *J Physiol* 2000;526(Pt. 3):653-661.
- Casserly I, Topol E. Convergence of atherosclerosis and Alzheimer's disease: inflammation, cholesterol, and misfolded proteins. *Lancet* 2004;363:1139-46.
- Castell J, Gomez-Lechon MJ, David M, Fabra R, Trullenque R, Heinrich PC. Acute-phase response of human hepatocytes: regulation of acute-phase protein synthesis by interleukin-6. *Hepatology* 1990;12: 1179-1186.
- Castell JV, Andus T, Kunz D, Heinrich PC. Interleukin-6. The major regulator of acute-phase protein synthesis in man and rat. *Ann N Y Acad Sci*. 1989;557:87-99.
- Ceriello A, Quagliaro L, Piconi L, Assaloni R, Da Ros R, Maier A, Esposito K, Giugliano D. Effect of Postprandial Hypertriglyceridemia and Hyperglycemia on Circulating Adhesion Molecules and Oxidative Stress Generation and the Possible Role of Simvastatin Treatment. *Diabetes* 2004;53:701-710.
- Chabriat H, Joutel A, Dichgans M, Tournier-Lasserre E, Boussier MG. CADASIL. *Lancet Neurol* 2009;8:643-53.
- Chang D, Kwan J, Timiras PS. Estrogens influence growth, maturation, and amyloid beta-peptide production in neuroblastoma cells and in a beta-APP transfected kidney 293 cell line. *Adv Exp Med Biol* 1997;429:261-271.

- Chao C, Hu S, Frey W, 2nd, Ala T, Tourtellotte W, Peterson P. Transforming growth factor beta in Alzheimer's disease. *Clin Diagn Lab Immunol* 1994;1:109-110.
- Chao C, Hu S, Peterson PK. Modulation of human microglial cell superoxide production by cytokines. *J Leukoc Biol* 1995;58:65-70.
- Chen P, Ganguli M, Mulsant BH, DeKosky ST. The temporal relationship between depressive symptoms and dementia: a community-based prospective study. *Arch Gen Psychiatry* 1999;56:261-266.
- Cockerill GW, Huehns TY, Weerasinghe A, et al. Elevation of plasma high-density lipoprotein concentration reduces interleukin-1-induced expression of E-selectin in an in vivo model of acute inflammation. *Circulation* 2001;103:108-12.
- Colasanti T, Barbati C, Rosano G, Malorni W, Ortona E. Autoantibodies in patients with Alzheimer's disease: pathogenetic role and potential use as biomarkers of disease progression. *Autoimmun Rev* 2010;9(12):807-11.
- Coma M, Guix FX, Uribesalgo I, Espuna G, Sole M, Andreu D, Munoz FJ. Lack of oestrogen protection in amyloid-mediated endothelial damage due to protein nitrotyrosination. *Brain* 2005;128 (Pt 7):1613-1621.
- Combs CK, Karlo JC, Kao SC, Landreth GE. beta-Amyloid stimulation of microglia and monocytes results in TNFalpha-dependent expression of inducible nitric oxide synthase and neuronal apoptosis. *J Neurosci* 2001;15;21(4):1179-88.
- Cooper JR, Bloom FE, Roth RH. *The biochemical basis of neuropharmacology*. Oxford University Press, 1986.
- Corbett A & Ballard C. Antipsychotics and mortality in dementia. *Am J Psychiatry* 2012;169(1):7-9.
- Corder EH, Saunders AM, Risch NJ, et al. Protective effect of apolipoprotein E type 2 allele for late onset Alzheimer disease. *Nat Genet* 1994;7:180-184.
- Cornelius C, Fratiglioni L, Fastbom J, Guo Z, Viitanen M, Winblad B. No support for a protective effect of NSAIDs against Alzheimer's disease from a follow-up population-based study. *Neurobiol Aging* 1998;19:Suppl 4:S28-S28.
- Crouse JR, 3rd. New developments in the use of niacin for treatment of hyperlipidemia: new considerations in the use of an old drug. *Coron Artery Dis* 1996;7:321-6.
- Crum R, Anthony JC, Bassett SS, Folstein MF. Population-based norms for the Mini Mentals State Examination by age and educational level. *JAMA* 1993;269:2386-2391.
- Culpan D, Palmer J, Miners JS, Love S, Kehoe PG. The influence of tumour necrosis factor- α (TNF- α) on amyloid- β (A β)-degrading enzymes in vitro. *Int J Mol Epidemiol Genet* 2011;2(4):409-415.
- Cummings J, Vinters H, Cole G, Khachaturian Z. Alzheimer's disease. Etiologies, pathophysiology, cognitive reserve and treatment opportunities. *Neur* 1998; 51(1): 2-17.
- Cummings J. Alzheimer's disease. *NEJM* 2004; 351: 56-67.
- Carlos T, Harlan JM. Leukocyte-Endothelial Adhesion Molecules. *Blood* 1994;84: 2068-2101.
- Cummings JL, Mega M, Gray K, Rosenberg-Thompson S, Carusi DA, Gornbein J. The Neuropsychiatric Inventory: comprehensive assessment of psychopathology in dementia. *Neurology*. 1994 Dec;44(12):2308-14.
- Cybulsky M, Iiyama K, Li L, Zhu S, Chen M, Iiyama M, Davis V, Gutierrez-Ramos JC, Connelly PW, Milstone DS. A major role for VCAM-1, but not ICAM-1, in early atherosclerosis. *J Clin Invest* 2001;107:1255-1262.

- Czerkinsky C, Andersson G, Ekre HP, Nilsson LA, Klareskog L, Ouchterlony O. Reverse ELISPOT assay for clonal analysis of cytokine production. I. Enumeration of gamma-interferon-secreting cells. *J Immunol Methods* 1988;110(1):29-36
- Czerkinsky CC, Nilsson LA, Nygren H, Ouchterlony O, Tarkowski A. A solid-phase enzyme-linked immunospot (ELISPOT) assay for enumeration of specific antibody-secreting cells. *J Immunol Methods* 1983;65(1-2):109-21
- Danesh J, Wheeler JG, Hirschfield GM, Eda S, Eiriksdottir G, Rumley A, Lowe GDO, Pepys MB, Gudnason V. C-Reactive Protein and Other Circulating Markers of Inflammation in the Prediction of Coronary Heart Disease. *NEJM* 2004;350:1387-1397.
- Dantzer R. Cytokine, sickness behavior, and depression. *Immunol Allergy Clin North Am* 2009;29(2):247-64.
- Dantzer R, Aubert A, Bluthé RM, Gheusi G, Cremona S, Layé S, Konsman JP, Parnet P, Kelley KW. Mechanisms of the behavioural effects of cytokines. *Adv Exp Med Biol* 1999;461:83-105.
- Dantzer R, Kelley KW. Twenty years of research on cytokine-induced sickness behavior. *Brain Behav Immun* 2007;21:153-160.
- Dantzer R, Konsman JP, Bluthé RM, Kelley KW. Neural and humoral pathways of communication from the immune system to the brain: parallel or convergent? *Auton Neurosci* 2000;85(1-3):60-65.
- Dantzer R, O'Connor JC, Freund GG, Johnson RW, Kelley KW. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nat Rev Neurosci* 2008;9(1):46-56.
- De Craen J, Gussekloo J, Vrijisen B, Westendorp RGJ. Meta-Analysis of Nonsteroidal Antiinflammatory Drug Use and Risk of Dementia. *Am J Epidemiol* 2004;161:114-120.
- De Leeuw F, de Groot JC, Bots ML, et al. Carotid atherosclerosis and cerebral white matter lesions in a population based magnetic resonance imaging study. *J Neurol* 2000;247:291-296.
- De Leeuw F, de Kleine M, Frijns CJM, Fijnheer R, van Gijn J, Kappelle LJ. Endothelial cell activation is associated with cerebral white matter lesions in patients with cerebrovascular disease. *Ann N Y Acad Sci* 2002;977:306-314.
- De Luigi A, Fragiaco C, Lucca U, Quadri P, Tettamanti M, Grazia De Simoni M. Inflammatory markers in Alzheimer's disease and multi-infarct dementia. *Mech Ageing Dev* 2001;122(16):1985-95.
- De Luigi A, Terreni L, Sironi M, De Simoni MG. The sympathetic nervous system tonically inhibits peripheral interleukin-1 β and interleukin-6 induction by central lipopolysaccharide. *Neuroscience* 1998;83:1245-1250.
- De Simoni MG, Sironi M, De Luigi A, Manfredi A, Mantovani A, Ghezzi P. Intracerebroventricular injection of interleukin-1 induces high circulating levels of interleukin-6. *J Exp Med* 1990;171:1773-1778.
- De Simoni MG, Del Bo R, De Luigi A, Simard S, Forloni G. Central endotoxin induces different patterns of interleukin (IL)-1 β and IL-6 messenger ribonucleic acid expression and IL-6 secretion in the brain and periphery. *Endocrinology* 1995;136:897-902.
- Desmond DW, Tatemichi TK, Paik M, Stern Y. Risk factors for cerebrovascular disease as correlates of cognitive function in a stroke-free cohort. *Arch Neurol* 1993;50:162-166.
- Di Legge S, Hachinski V. Vascular cognitive impairment (VCI). Progress towards knowledge and treatment. *Dement Neuropsychol* 2010;4(1):4-13.
- Dickson D. Neuropathological diagnosis of Alzheimer's disease: a perspective from longitudinal clinicopathological studies. *Neurobiol Aging* 1997; 18: S21-S26.

Dietschy J & Turley SD. Cholesterol metabolism in the central nervous system during early development and in the mature animal. *Curr Opin Lipidol* 2001;12: 105–112.

Dik MG, Jonker C, Hack CE, Smit JH, Comijs HC, Eikelenboom P. Serum inflammatory proteins and cognitive decline in older persons. *Neurology* 2005;64:1371-1377.

Dildar K, Sinem F, Gökhan E, Orhan Y, Filiz M. Serum nitrosative stress levels are increased in Alzheimer disease but not in vascular dementia. *Alzheimer Dis Assoc Disord*. 2010;24(2):194-7.

D'Introno A, Solfrizzi V, Colacicco AM, Capurso C, Torres F, Capurso SA, Capurso A, Panza F. Polymorphisms in the oxidized low-density lipoprotein receptor-1 gene and risk of Alzheimer's disease. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2005;60(3):280.

Donath MY, Størling , Maedler K, Mandrup-Poulsen T. Inflammatory mediators and islet β -cell failure: a link between type 1 and type 2 diabetes. *J Mol Med* 2003;81(8):455-470.

Doody R, Stevens JC, Beck C, et al. Practice parameter: management of dementia (an evidence-based review): report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 2001;56:1154-1166.

Draczynska-Lusiak B, Doung A, Sun AY. Oxidized lipoproteins may play a role in neuronal cell death in Alzheimer disease. *Mol Chem Neuropathol* 1998;33(2):139.

Dufouil C, Richard F, Fievet N, Dartigues JF, Ritchie K, Tzourio C, Amouyel P, Alperovitch A. APOE genotype, cholesterol level, lipid-lowering treatment, and dementia: the Three-City Study. *Neurology* 2005;64(9):1531–1538.

Eikelenboom P, Zhan SS, Kamphorst W, van der Valk P, Rozemuller JM. Cellular and substrate adhesion molecules (integrins) and their ligands in cerebral amyloid plaques in Alzheimer's disease. *Virchows Arch* 1994;424:421-427.

Elias M, Sullivan LM, D'Agostino RB, Elias PK, Beiser A, Au R, Seshadri S, DeCarli C, Wolf PA. Framingham stroke risk profile and lowered cognitive performance. *Stroke* 2004;35:404-409.

Emsley HC, Smith CJ, Georgiou RF, Vail A, Hopkins SJ, Rothwell NJ, Tyrrell PJ. A randomised phase II study of interleukin-1 receptor antagonist in acute stroke patients. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 2005;76:1366–1372.

Engelhart M, Geerlings MI, Meijer J, Kiliaan A, Ruitenberg A, van Swieten JC, Stijnen T, Hofman A, Witteman J, Breteler MMB. Inflammatory proteins in plasma and the risk of dementia. The Rotterdam Study. *Arch Neurol* 2004;61:668-672.

Engelhart M, Geerlings MI, Ruitenberg A, et al. Dietary intake of antioxidants and risk of Alzheimer's disease. *JAMA* 2002;287:3223-3229.

Engelhart MJ, Geerlings MI, Meijer J, Kiliaan A, Ruitenberg A, van Swieten JC, Stijnen T, Hofman A, Witteman JCM, Breteler MMB. Inflammatory Proteins in Plasma and the Risk of Dementia. The Rotterdam Study. *Arch Neurol* 2004;61:668-672.

Evans R, Emsley MS, Gao S, Sahota A, Hall KS, Farlow MR, Hendrie H. Serum cholesterol, APOE genotype, and the risk of Alzheimer's disease: A population-based study of African Americans. *Neurology* 2000;54:240.

Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001;285:2486-2497.

Erkinjuntti T. Vascular dementia: an overview. In: O' Brien J, Ames D, Burns A, eds *Dementia*, 2000. Oxford: Oxford University Press.

- Ershler WB. Interleukin-6: A cytokine for gerontologists. *J Am Geriatr Soc* 1993;41:176–181.
- Ershler WB, Keller ET. Age-associated increased interleukin-6 gene expression, late-life diseases and frailty. *Annu Rev Med* 2000;51:245-270.
- Ershler WB, Sun WH, Binkley N, Gravenstein S, Volk MJ, Kamoske G, et al. Interleukin-6 and aging: blood levels and mononuclear cell production increase with advancing age and in vitro production is modifiable by dietary restriction. *Lymphokine Cytokine Res* 1993;12:225–230.
- Evans D, Beckett LA, Field TS, Feng L, Albert MS, Bennett DA, Tycko B, Mayeux R. Apolipoprotein E ϵ 4 and incidence of Alzheimer's disease in a community population of older persons. *JAMA* 1997;277: 822-824.
- EUROCODE: Prevalence of Dementia in Europe. Report of WP 7 2006
- Fagan AM, Younkin LH, Morris JC, et al. Differences in the A β 40/A β 42 ratio associated with cerebrospinal fluid lipoproteins as a function of apolipoprotein E genotype. *Ann Neurol* 2000;48:201–10.
- Fagiolo U, Cossarizza A, Scala E, Fanales-Belasio E, Ortolani C, Cozzi E, Monti D, Franceschi C, Paganelli R. Increased cytokine production in mononuclear cells of healthy elderly people. *Eur J Immunol* 1993;23:2375-2378.
- Fan QW, Yu W, Senda T, et al. Cholesterol-dependent modulation of tau phosphorylation in cultured neurons. *J Neurochem* 2001;76:391–400.
- Fang JC, Kinlay S, Behrendt D, Hikita H, Witztum JL, Selwyn AP, Ganz P. Circulating autoantibodies to oxidized LDL correlate with impaired coronary endothelial function after cardiac transplantation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22(12):2044-8
- Farrer LA, Cupples LA, Haines JL, Hyman B, Kukull WA, Mayeux R, Myers RH, Pericak-Vance MA, Risch N, van Duijn CM. Effects of age, sex and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer's disease: a meta-analysis. *JAMA* 1997;278: 1349-1356.
- Farris W, Mansourian S, Chang Y, Lindsley L, Eckman EA, Frosch MP, Eckman CB, Tanzi RE, Selkoe DJ, Guenette S. Insulin-degrading enzyme regulates the levels of insulin, amyloid β protein, and the beta-amyloid precursor protein intracellular domain in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100(7):4162–4167.
- Fassbender K, Simons M, Bergmann C, Stroick M, Lutjohann D, Keller P, Runz H, Kuhl S, Bertsch T, von Bergmann K, Hennerici M, Beyreuther K, Hartmann T. Simvastatin strongly reduces levels of Alzheimer's disease beta -amyloid peptides A β 42 and A β 40 in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:5856–5861.
- Ferrara A, Barrett-Connor E, Shan J. Total, LDL, and HDL cholesterol decrease with age in older men and women. The Rancho Bernardo Study 1984–1994. *Circulation* 1997;96:37–43.
- Ferri CP, Prince M, Brayne C, Brodaty H, Fratiglioni L, Ganguli M, Hall K, Hasegawa K, Hendrie H, Huang Y, Jorm A, Mathers C, Menezes PR, Rimmer E, Sczufca M. Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. *Lancet* 2005; 366: 2112–2117.
- Ferrucci L, Harris TB, Guralnik JM, Tracy RP, Corti MC, Cohen HJ, Penninx B, Pahor M, Wallace R, Havlik RJ. Serum IL-6 level and the development of disability in older persons. *J Am Geriatr Soc* 1999;47:639-646.
- Fillit H, Ding W, Buee L, et al. Elevated circulating TNF levels in Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 1991; 129: 318–320.
- Fiorentino DF, Zlotnik A, Mosmann TR, Howard M, O'Garra A. IL-10 inhibits cytokine production by activated macrophages. *J Immunol* 1991;147(11):3815-22.

- Flicker C, Ferris SH, Reisberg B. Mild cognitive impairment in the elderly predictors of dementia. *Neurology* 1991;41:1006-1009.
- Folstein M, Folstein S, McHugh PR. Mini- Mental State. A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 1975;12:189-198.
- Forester BP, Oxman TE. Measures to Assess the Noncognitive Symptoms of Dementia in the Primary Care Setting. *J Clin Psychiatry* 2003;5:158-163.
- Fountoulakis C, Tsolaki M, Chazi H, Kazis A. Mini Mental State Examination (MMSE): a validation study in demented patients from the elderly Greek population. *Encephalos* 1994;31:93-102.
- Fourrier A, Letenneur L, Begaud B, et al. Nonsteroidal antiinflammatory drug use and cognitive function in the elderly: inconclusive results from a population-based cohort study. *J Clin Epidemiol* 1996;49:1201.
- Fratiglioni L, Paillard-Borg S, Winblad B. An active and socially integrated lifestyle in late life might protect against dementia. *Lancet neurology* 2004;3(6):343-353.
- Frohman E, Frohman TC, Gupta S, de Fougerolles A, van den Noort S. Expression of intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) in Alzheimer's disease. *J Neurol Sci* 1991;106:105-111.
- Fujihashi K, McGhee JR, Beagley KW, McPherson DT, McPherson SA, Huang CM, Kiyono H. Cytokine-specific ELISPOT assay. Single cell analysis of IL-2, IL-4 and IL-6 producing cells. *J Immunol Methods* 1993;160(2):181-189.
- Fuller M & Sajatovic M. In: *Psychotropic Drug Information Handbook* 3d edition Lexi-Comp INC, Cleveland, Ohio 2002.
- Fulop T, Larbi A, Douziech N, Levesque I, Varin A, Herbein G. Cytokine receptor signalling and aging. *Mech Ageing Develop* 2006;127:526-537.
- Gabay C, Smith MF, Eidlen D, Arend WP. Interleukin 1 receptor antagonist (IL-1Ra) is an acute-phase protein. *J Clin Invest* 1997;99(12):2930-40.
- Galasko D, Bennett D, Sano M, Ernesto C, Thomas R, Grundman M, Ferris S. An inventory to assess activities of daily living for clinical trials in Alzheimer's disease. The Alzheimer's Disease Cooperative Study. *Alzheimer Dis Assoc Disord.* 1997;11 Suppl 2:S33-9.
- Galasko D, Schmitt F, Thomas R, Jin S, Benett D, Ferris S. Detailed assessment of activities of daily living in moderate to severe Alzheimer's disease. *J Inter Neuropsych Soc* 2005;11: 446-453.
- Galimberti D, Scarpini E. Genetics and biology of Alzheimer's disease and Frontotemporal lobar degeneration. *Int J Clin Exp Med* 2010; 3(2):129-143.
- Gambi F, Reale M, Iarlori C, Salone A, Toma L, Paladini C, De Luca G, Feliciani C, Salvatore M, Salerno RM, Theoharides TC, Conti P, Exton M, Gambi D. Alzheimer patients treated with an AchE inhibitor show higher IL-4 and lower IL-1 beta levels and expression in peripheral blood mononuclear cells. *J Clin Psychopharmacol.* 2004 Jun;24(3):314-21.
- Gandy S, Duff K. Post-menopausal estrogen deprivation and Alzheimer's disease. *Exp Gerontol* 2000;35(4):503-511.
- Garner B, Waldeck AR, Witting PK, et al. Oxidation of high density lipoproteins. II. Evidence for direct reduction of lipid hydroperoxides by methionine residues of apolipoproteins AI and AII. *J Biol Chem* 1998;273:6088-95.
- Gearing A, Newman W. Circulating adhesion molecules in disease. *Immunol Today* 1993;14:506-512.

- Geerlings MI, Bouter LM, Schoevers R, et al. Depression and risk of cognitive decline and Alzheimer's disease: results of two prospective community-based studies in the Netherlands. *Br J Psychiatry* 2000;176:568–575.
- Geldmacher DWP. Evaluation of dementia. *NEJM* 1996;335: 330-336.
- Giometto B, Argentiero V, Sanson F, Ongaro G, Tavolato B. Acute-phase proteins in Alzheimer's disease. *Eur Neurol* 1988;28:30-33.
- Giubilei F, D'Antona R, Antonini R, Lenzi GL, Ricci G, Fieschi C. Serum lipoprotein pattern variations in dementia and ischemic stroke. *Acta Neurol Scand* 1990;81:84-86.
- Giuliani N, Sansoni P, Girasole G, Vescovini R, Passeri G, Passeri M, Pedrazzoni M. Serum interleukin-6, soluble interleukin-6 receptor and soluble gp130 exhibit different patterns of age- and menopause-related changes. *Exp Gerontol* 2001;36:477-482.
- Golabek A, Marques MA, Lalowski M, et al. Amyloid beta binding proteins in vitro and in normal human cerebrospinal fluid. *Neurosci Lett* 1995;191:79–82.
- Goldberg TE, Koppel J, Keehlisen L, Christen E, Dreses-Werringloer U, Conejero-Goldberg C, Gordon ML, Davies P. Performance-Based Measures of Everyday Function in Mild Cognitive Impairment. *Am J Psychiatry* 2010; 167(7): 845–853.
- Goodwin JS, Regan M. Cognitive dysfunction associated with naproxen and ibuprofen in the elderly. *Arthritis Rheum* 1982;25:1013–5.
- Gorelick P. Prevention. In: Bowler JV, Hachinski V, eds. *Vascular Cognitive Impairment*. London, UK: Martin Dunitz, 2002.; 571-586.
- Gorelick P. Risk factors for vascular dementia and Alzheimer's disease. *Stroke* 2004; 35 (S1): 2620-2622.
- Gorelick PB. Status of risk factors for dementia associated with stroke. *Stroke* 1997;28: 459–463.
- Gorelick PB, Brody JA, Cohen DC, Freels S, Levy P, Dollear W, Forman H, Harris Y. Risk factors for dementia associated with multiple cerebral infarcts: a case-control analysis in predominantly African-American hospital-based patients. *Arch Neurol* 1993;50:714-720.
- Grammas P, Ovase R. Cerebrovascular transforming growth factor-beta contributes to inflammation in the Alzheimer's disease brain. *Am J Pathol*. 2002 May;160(5):1583-7.
- Graves AB, White E, Koepsell TD, Reifler BV, van Belle G, Larson EB, et al. The association between head trauma and Alzheimer's disease. *Am J Epidemiol* 1990;131:491–501.
- Green PS, Bales K, Paul S, Bu G. Estrogen therapy fails to alter amyloid deposition in the PDAPP model of Alzheimer's disease. *Endocrinology* 2005;146(6):2774–2781.
- Green RC, Cupples LA, Kurz A, et al. Depression as a risk factor for Alzheimer disease: the MIRAGE study. *Arch Neurol* 2003;60:753–759.
- Greene RA. Estrogen and cerebral blood flow: a mechanism to explain the impact of estrogen on the incidence and treatment of Alzheimer's disease. *Int J Fertil Womens Med*. 2000 Jul-Aug; 45(4):253-7.
- Griffin WS, Mrak RE. Interleukin-1 in the genesis and progression of and risk for development of neuronal degeneration in Alzheimer's disease. *J Leukoc Biol* 2002;72(2):233-8.
- Griffin WS, Sheng JG, Roberts GW, Mrak RE. Interleukin-1 expression in different plaque types in Alzheimer's disease: significance in plaque evolution. *J Neuropathol Exp Neurol* 1995;54(2):276-81.

- Griffin WS, Stanley LC, Ling C, White L, MacLeod V, Perrot LJ, White CL 3rd, Araoz C. Brain interleukin 1 and S-100 immunoreactivity are elevated in Down syndrome and Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989;86:7611–7615.
- Griffin WST. Inflammation and neurodegenerative diseases. *Am J Clin Nutr* 2006;83(suppl):470S–4S.
- Griffin WST & Mrak RE. Interleukin-1 in the genesis and progression of and risk for development of neuronal degeneration in Alzheimer's disease. *J Leuk Biol* 2002;72:233-238.
- Gruol DL, Nelson TE. Physiological and pathological roles of interleukin-6 in the central nervous system. *Mol Neurobiol* 1997;15:307-339
- Guerreiro RJ, Santana I, Bras JM, Santiago B, Paiva A, Oliveira C. Peripheral Inflammatory Cytokines as Biomarkers in Alzheimer's Disease and Mild Cognitive Impairment. *Neurodegenerative Dis* 2007;4:406–412.
- Gusella, J., McDonald, ME., Ambrose, CM., et al. Molecular genetics of Huntington's disease. *Arch Neurol* 1993; 50: 1157-1163.
- Hackman A, Abe Y, Insull W, Pownall H, Smith L, Dunn K, Gotto AM, Ballantyne CM. Levels of Soluble Cell Adhesion Molecules in Patients With Dyslipidemia. *Circulation* 1996;93:1334-1338.
- Hager K, Machein U, Krieger S, Platt D, Seefried G, Bauer J. Interleukin-6 and selected plasma proteins in healthy persons of different ages. *Neurobiol Aging* 1994;15:771-772.
- Hakansson K, Rovio S, Helkala EL, Vilska AR, Winblad B, Soininen H, Nissinen A, Mohammed AH, Kivipelto M. Association between mid-life marital status and cognitive function in later life: population based cohort study. *BMJ* 2009;339:b2462.
- Halliday G, Sheperd CE, McCann H, Reid WGJ, Grayson DA, Broe GA, Kril JJ. Effect of anti-inflammatory medications on neuropathological findings in Alzheimer's disease. *Arch Neurol* 2000;57: 831-836.
- Hamer M, Chida Y. Physical activity and risk of neurodegenerative disease: a systematic review of prospective evidence. *Psychol Med* 2009;39(1):3–11.
- Hardy J. Amyloid, the presenilins and Alzheimer's disease. *Trends Neurosci* 1997; 20: 154-159.
- Harr SD, Uint L, Hollister R, et al. Brain expression of apolipoproteins E, J, and A-I in Alzheimer's disease. *J Neurochem* 1996;66:2429–35.
- Harris G, Lewis RF, Satlin A, et al. Dynamic susceptibility contrast MRI of regional cerebral blood volume in Alzheimer's disease: a promising alternative to nuclear medicine. *Am Soc Neuroradiol* 1998;19:1727-1732.
- Harris TB, Ferrucci L, Tracy RP, Corti MC, Wacholder S, Ettinger WH Jr, Heimovitz H, Cohen HJ, Wallace R. Associations of elevated interleukin-6 and C-reactive protein levels with mortality in the elderly. *Am J Med* 1999;106:506-512.
- Heldmann U, Thored P, Claasen JH, Arvidsson A, Kokaia Z, Lindvall O. TNF-alpha antibody infusion impairs survival of strokegenerated neuroblasts in adult rat brain. *Exp Neurol* 2005;196:204–208.
- Helkala EL, Koivisto K, Hanninen T, et al. Memory functions in human subjects with different apolipoprotein E phenotypes during a 3-year population-based follow-up study. *Neurosci Lett* 1996;204:177–180.
- Helmer C, Joly P, Letenneur L, Commenges D, Dartigues JF. Mortality with dementia: results from a French prospective community-based cohort. *Am J Epidemiol* 2001;154: 642-648.

- Helms T, Boehm BO, Asaad RJ, Trezza RP, Lehmann PV, Tary-Lehmann M. Direct visualization of cytokine-producing recall antigen-specific CD4 memory T cells in healthy individuals and HIV patients. *J Immunol* 2000;164(7):3723-32
- Helmuth L. NSAIDs for prevention? Protecting the brain while killing pain? *Science* 2002;297:1262-1263.
- Hemmer B, Archelos JJ, Hartung HP. New concepts in the immunopathogenesis of multiple sclerosis. *Nat Rev Neurosci* 2002;3:291-301.
- Henderson V, Guthrie JR, Dennerstein L. Serum lipids and memory in a population based cohort of middle age women. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2003;74:1530-1535.
- Henderson V, Paganini-Hill A, Miller BL, et al. Estrogen for Alzheimer's disease in women; randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Neurology* 2000;54:295-301.
- Ho GJ, Drego R, Hakimian E, Masliah E. Mechanisms of cell signaling and inflammation in Alzheimer's disease. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 2005;4(2):247-56.
- Hodges JR: Frontotemporal dementia (Pick's disease): clinical features and assessment. *Neurology* 2001, 56:S6-10.
- Hodges JR, Patterson K. Semantic dementia: A unique clinicopathological syndrome. *Lancet Neurol* 2007;6:1004-14.
- Hofman A, Ott A, Breteler MMB, et al. Atherosclerosis, apolipoprotein E, and prevalence of dementia and Alzheimer's disease in the Rotterdam study. *Lancet* 1997;349:151-154.
- Holland O. Down's syndrome and the links with Alzheimer's disease. *J Neur Neurosurg Psych* 1995;59:111-114.
- Holmes C, Cunningham C, Zotova E, Culliford D, Perry VH. Proinflammatory cytokines, sickness behavior, and Alzheimer disease. *Neurology* 2011;77(3):212-8.
- Holmes C, El-Okli M, Williams AL, Cunningham C, Wilcockson D, Perry VH. Systemic infection, interleukin 1beta, and cognitive decline in Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2003;74(6):788-9.
- Homma Y. Predictors of Atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb* 2004;11:265-270.
- Horsburgh K, McCarron MO, White F, Nicoll JA. The role of apolipoprotein E in Alzheimer's disease, acute brain injury and cerebrovascular disease: evidence of common mechanisms and utility of animal models. *Neurobiol Aging* 2000;21(2):245-55.
- Huberman M, Shalit F, Roth-Deri I, Gutman B, Brodie C, Kott E, Sredni B. Correlation of cytokine secretion by mononuclear cells of Alzheimer patients and their disease stage. *J Neuroimmunol* 1994;52(2):147-52.
- Huberman M, Sredni B, Stern L, Kott E, Shalit F. IL-2 and IL-6 secretion in dementia: correlation with type and severity of disease. *J Neurol Sci.* 1995 Jun;130(2):161-4.
- Huell M, Strauss S, Volk B, Berger M, Bauer M. Interleukin-6 is present in early stages of plaque formation and is restricted to the brains of Alzheimer disease patients. *Acta Neuropathol* 1995;89:544-551.
- Hüll M, Strauss S, Berger M, Volk B, Bauer J. The participation of interleukin-6, a stress-inducible cytokine, in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Behav Brain Res* 1996;78(1):37-41.
- Hughes CP, Berg L, Danziger WL, Coben LA, Martin RL. A new clinical scale for the staging of dementia. *Br J Psychiatry.* 1982 Jun;140:566-72.

- Hutton M, Hardy J. The Presenilins and Alzheimer's Disease. *Hum Mol Genet* 1997; 6 (10): 1639-1646.
- Ichikawa T, Unoki H, Sun H, Shimoyamada H, Marcovina S, Shikama H, Watanabe T, Fan J. Lipoprotein(a) Promotes Smooth Muscle Cell Proliferation and Dedifferentiation in Atherosclerotic Lesions of Human Apo(a) Transgenic Rabbits. *Am J Pathol.* 2002; 160(1): 227–236.
- Iwamoto N, Nishiyama E, Ohwada J, Arai H. Demonstration of CRP immunoreactivity in brains of Alzheimer's disease: immunohistochemical study using formic acid pretreatment of tissue sections. *Neurosci Lett* 1994;177:23-26.
- Iwamoto T, Watanabe D, Umahara T, Sakurai H, Hanju H, Kanaya K. Dual inverse effects of lipoprotein(a) on the dementia process in Japanese late-onset Alzheimer's disease. *Psychoger* 2004;4(3):64-71
- Jefferson AL, Cosentino SA, Ball SK, Bogdanoff B, Leopold N, Kaplan E, Libon DJ. Errors Produced on the Mini-Mental State Examination and Neuropsychological Test Performance in Alzheimer's Disease, Ischemic Vascular Dementia, and Parkinson's Disease. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 2002;14:311-320.
- Jenkinson ML, Bliss MR, Brain AT, Scott DL. Rheumatoid arthritis and senile dementia of the Alzheimer's type. *Br J Rheumatol* 1989;28:86–88.
- Jensen MB, Hegelund IV, Lomholt ND, Finsen B, Owens T. IFN gamma enhances microglial reactions to hippocampal axonal degeneration. *J Neurosci* 2000;20:3612–3621.
- Johnson KC, Margolis KL, Espeland MA, Colenda CC, Fillit H, Manson JE, Masaki KH, Mouton CP, Prineas R, Robinson JG, et al. A prospective study of the effect of hypertension and baseline blood pressure on cognitive decline and dementia in postmenopausal women: the Women's Health Initiative Memory Study. *J Am Geriatr Soc* 2008;56(8):1449–1458.
- Jonkers I, Smelt AH, van der Laarse A. Hypertriglyceridemia: associated risks and effect of drug treatment. *Am J Cardiovasc Drugs* 2001;1:455-466.
- Jorm AF. History of depression as a risk factor for dementia: an updated review. *Aust NZ J Psychiatry* 2001;35:776–781.
- Jorm AF, van Duijn CM, Chandra V, et al. Psychiatric history and related exposures as risk factors for Alzheimer's disease: a collaborative re-analysis of case-control studies: EURODEM Risk Factors Research Group. *Int J Epidemiol* 1991;20:S43–S47.
- Josephs KA. Frontotemporal dementia and related disorders: Deciphering the enigma. *Ann Neurol* 2008;64:4-14.
- Jurevics H, Morell P. Cholesterol for synthesis of myelin is made locally, not imported into brain. *J Neurochem* 1995;64:895–901.
- Kalman J, Juhasz A, Laird G, Dickens P, Járdánházy T, Rimanóczy A, Boncz I, Parry-Jones WL, Janka Z. Serum interleukin-6 levels correlate with the severity of dementia in Down syndrome and in Alzheimer's disease. *Acta Neurol Scand* 1997;96:236-240.
- Kankaanpää J, Turunen SP, Moilanen V, Hörkö S, Remes AM. Cerebrospinal fluid antibodies to oxidized LDL are increased in Alzheimer's disease. *Neurobiol Dis* 2009;33:467–72.
- Kaplin A, Carroll KA, Cheng J, Allie R, Lyketsos CG, Calabresi P, Rosenberg PB. IL-6 release by LPS-stimulated peripheral blood mononuclear cells as a potential biomarker in Alzheimer's disease. *Int Psychogeriatr.* 2009;21(2):413-4.
- Kaufers D, Cummings JL, Ketchel P, et al. Validation of NPI-Q: a brief clinical form of the NPI. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 2000;12: 233–239.

- Kaufer DI, Cummings JL, Christine D, Bray T, Castellon S, Masterman D, MacMillan A, Kelchel P, DeKosky ST. Assessing the impact of neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's disease: the Neuropsychiatric Inventory Caregiver Distress Scale. *J Am Geriatr Soc* 1998; 46: 210-215.
- Kawano M, Kawakami M, Otsuka M, Yashima H, Yaginuma T, Ueki A. Marked decrease of plasma apolipoprotein AI and AII in Japanese patients with late-onset non-familial Alzheimer's disease [letter]. *Clin Chim Acta* 1995;239:209–11.
- Kawanokuchi J, Mizuno T, Takeuchi H, Kato H, Wang J, Mitsuma N, Suzumura, A. Production of interferon gamma by microglia. *Mult Scler* 2006;12, 558–564.
- Keller JN, Hanni KB, Markesbery WR. Oxidized low-density lipoprotein induces neuronal death: implications for calcium, reactive oxygen species, and caspases. *J Neurochem* 1999;72(6):2601.
- Kemppainen NM, Aalto S, Karrasch M, Nagren K, Savisto N, Oikonen V, Viitanen M, Parkkola R, Rinne JO. Cognitive reserve hypothesis: Pittsburgh Compound B and fluorodeoxyglucose positron emission tomography in relation to education in mild Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 2008;63(1):112–118.
- Kim JJ, Beck HN, Lein PJ, Higgins D. Interferon gamma induces retrograde dendritic retraction and inhibits synapse formation. *J Neurosci* 2002;22:4530–4539.
- Kim J. Cytokines and adhesion molecules in stroke and related disorders. *J Neurol Sci* 1996;137:69-78.
- Kivipelto M, Helkala E-L, Hanninen T, et al. Midlife vascular risk factors and late-life mild cognitive impairment. A population-based study. *Neurology* 2001;56:1683–1689.
- Kivipelto M, Helkala EL, Laakso MP, Hanninen T, Hallikainen M, Alhainen K, Iivonen S, Mannermaa A, Tuomilehto J, Nissinen A, et al. Apolipoprotein E epsilon4 allele, elevated midlife total cholesterol level, and high midlife systolic blood pressure are independent risk factors for late-life Alzheimer disease. *Ann Intern Med* 2002;137(3):149–155.
- Knibb JA, Xuereb JH, Patterson K, Hodges JR. Clinical and pathological characterization of progressive aphasia. *Ann Neurol* 2006;59:156-65.
- Knopman D, DeKosky ST, Cummings JL, et al. Practice parameter: diagnosis of dementia (an evidence-based review): report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 2001;56:1143-1153.
- Knopman DS, DeKosky ST, Cummings JL, Chui H, Corey-Bloom J, Relkin N, et al. Practice parameter: diagnosis of dementia (an evidence-based review). *Neurology* 2001;56:1143-53.
- Komulainen P, Lakka TA, Kivipelto M, Hassinen M, Penttilä IM, Helkala EL, Gylling H, Nissinen A, Rauramaa R. Serum high sensitivity C-reactive protein and cognitive function in elderly women. *Age Ageing* 2007;36(4):443-8
- Konsman JP, Parnet P, Dantzer R. Cytokine-induced sickness behaviour: mechanisms and implications. *Trends Neurosci* 2002;25(3):154–159.
- Kontush A, Berndt C, Weber W, Akopyan V, Arlt S, Schippling S, Beisiegel U. Amyloid-beta is an antioxidant for lipoproteins in cerebrospinal fluid and plasma. *Free Radic Biol Med*, 2001; 30(1): 119.
- Kontush A, Chapman MJ. Antiatherogenic small, dense HDL—guardian angel of the arterial wall? *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2006;3:144–53.
- Kosaka K, Yoshimura M, Ikeda K, Budka H. Diffuse type of Lewy body disease: progressive dementia with abundant cortical Lewy bodies and senile changes of varying degree—a new disease? *Clin Neuropathol* 1984;3:185-92.

- Koudinov AR, Koudinova NV. Essential role for cholesterol in synaptic plasticity and neuronal degeneration. *FASEB J* 2001;15:1858–60.
- Koudinov A, Matsubara E, Frangione B, et al. The soluble form of Alzheimer's amyloid beta protein is complexed to high density lipoprotein 3 and very high density lipoprotein in normal human plasma. *Biochem Biophys Res Commun* 1994;205:1164–71.
- Kraft HG, Kϕchl S, Menzel HJ, Sandholzer C, Utermann G. The apolipoprotein (a) gene: a transcribed hypervariable locus controlling plasma lipoprotein (a) concentration. *Hum Gen* 1992;90(3):220-230
- Kubera M, Lin AH, Kenis G, Bosmans E, van Bockstaele D, Maes M. Anti-Inflammatory effects of antidepressants through suppression of the interferon-gamma/interleukin-10 production ratio. *J Clin Psychopharmacol* 2001;21(2):199-206.
- Kukull WA, Higdon R, Bowen JD, McCormick WC, Teri L, Schellenberg GD, van Belle G, Jolley L, Larson EB. Dementia and Alzheimer Disease Incidence-A Prospective Cohort Study. *Arch Neurol*. 2002;59:1737-1746.
- Kuller L, Tracy RP, Shaten J, Meilahn EN. Relation of C-reactive protein and coronary heart disease in the MRFIT nested case-control study. *Am J Epidemiol* 1996;144:537-547.
- Kuo HK, Yen CJ, Chang CH, Kuo CK, Chen JH, Sorond F. Relation of C-reactive protein to stroke, cognitive disorders, and depression in the general population: systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol* 2005;4(6):371-80.
- Kuriyama M, Takahashi K, Yamano T, Hokezu Y, Togo S, Osame M, Igakura T. Low levels of serum apoprotein AI and All in senile dementia. *Psych Clin Neuros* 1994;48:589-593.
- Kurlowicz L & Wallace M. The Mini Mental State Examination. Try This, best practice in nursing care to older adults 3, 1999. New York: Hartford Institute for Geriatric Nursing, New York University, Division of Nursing.
- Kushner I. C-reactive protein elevation can be caused by conditions other than inflammation and may reflect biologic aging. *Cleve Clin J Med* 2001;68:535-537.
- Kushner I, Rzewnicki DL. The acute phase response: general aspects. *Baillier's Clin Rheumatol* 1994;8:513-530.
- Kwidzinski E, Bunse J, Aktas O, Richter D, Mutlu L, Zipp F, Nitsch R, Bechmann I. Indolamine 2,3-dioxygenase is expressed in the CNS and down-regulates autoimmune inflammation. *FASEB J* 2005;19:1347–1349.
- Lackner C, Cohen JC, Hobbs HH. Molecular definition of the extreme size polymorphism in apolipoprotein(a). *Hum Mol Genet*. 1993 Jul;2(7):933-40.
- Lafortune L, Nalbantoglu J, Antel JP. Expression of tumor necrosis factor α (TNF α) and interleukin 6 (IL-6) mRNA in adult human astrocytes: comparison with adult microglia and fetal astrocytes. *J Neuropathol Exp Neurol* 1996;55:515–521.
- Lanzrein A, Johnston CM, Perry VH, Jobst KA, King EM, Smith AD. Longitudinal study of inflammatory factors in serum, cerebrospinal fluid, and brain tissue in Alzheimer disease: interleukin-1 β , interleukin-6, interleukin-1 receptor antagonist, tumor necrosis factor- α , the soluble tumor necrosis factor receptor I and II, and α 1-antichymotrypsin. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 1998;12:215–227.
- Larson EB. An 80-year-old man with memory loss [published correction appears in *JAMA* 2000;284:3129]. *JAMA* 2000;283:1046-53.
- Laske C, Leyhe T, Stransky E, Hoffmann N, Fallgatter AJ, Dietzsch J. Identification of a blood-based biomarker panel for classification of Alzheimer's disease. *Int J Neuropsychopharmacol* 2011; 14(9):1147-55.

Lautenschlager NT, Cox KL, Flicker L, Foster JK, van Bockxmeer FM, Xiao J, Greenop KR, Almeida OP. Effect of physical activity on cognitive function in older adults at risk for Alzheimer disease: a randomized trial. *JAMA* 2008;300(9):1027–1037.

Le May LB, Vander AJ, Kluger MJ. The effects of psychological stress on plasma interleukin-6 activity in rats. *Physiol Behav* 1990;47:957-961.

Lee HG, Casadesus G, Zhu X, Takeda A, Perry G, Smith M. Challenging the amyloid cascade hypothesis. Senile plaques and amyloid- β as protective adaptations to Alzheimer's disease. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1019: 1-4.

Lee J, Kim SJ, Son TG, Chan SL, Mattson MP. Interferon- γ is up-regulated in the hippocampus in response to intermittent fasting and protects hippocampal neurons against excitotoxicity. *J Neurosci Res* 2006;83:1552–1557.

Lee S, Dickson DW, Liu W, Brosnan CF. Induction of nitric oxide synthase activity in human astrocytes by interleukin-1 beta and interferon-gamma. *J Neuroimmunol* 1993;46:19–24, 43.

Lendon CL, Ashall F, Goate AM. Exploring the Etiology of Alzheimer Disease Using Molecular Genetics. *JAMA*. 1997;277(10):825-831.

Leonard BE. Inflammation, depression and dementia: are they connected? *Neurochem Res* 2007;32(10):1749-56.

Leroy A, Dallongeville J, Fruchart JC. Apolipoprotein A-I containing lipoproteins and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 1995;6:281–5.

Leverenz JB, McKeith IG. Dementia with Lewy bodies. *Med Clin North Am* 2002;86:519-35.

Levin-Allerhand JA, Lominska CE, Wang J, Smith JD. 17Alpha-estradiol and 17beta-estradiol treatments are effective in lowering cerebral amyloid-beta levels in AbetaPPSWE transgenic mice. *J Alzheimers Dis* 2002;4(6):449–457.

Licastro F, Pedrini S, Caputo L, Annoni G, Davis LJ, Ferri C, Casadei V, Grimaldi LM. Increased plasma levels of interleukin-1, interleukin-6 and alpha-1-antichymotrypsin in patients with Alzheimer's disease: peripheral inflammation or signals from the brain? *J Neuroimmunol* 2000;103(1):97-102.

Lieb K, Fiebich BL, Schaller H, Berger M, Bauer J. Interleukin-1 beta and tumor necrosis factor-alpha induce expression of alpha 1 antichymotrypsin in human astrocytoma cells by activation of nuclear factor-kappa B. *J Neurochem*. 1996 Nov;67(5):2039-44.

Lim WS, Chong MS, Sahadevan S. Utility of the clinical dementia rating in Asian populations. *Clin Med Res*. 2007 Mar; 5(1):61-70.

Lippa CF, Smith TW, Saunders AM, Hulette C, Pulaski-Salo D, Roses AD. Apolipoprotein E-epsilon 2 and Alzheimer's disease: genotype influences pathologic phenotype. *Neurology* 1997;48:515–519.

Liu ZG, Hsu H, Goeddel DV, Karin M. Dissection of TNF receptor 1 effector functions: JNK activation is not linked to apoptosis while NF-kappaB activation prevents cell death. *Cell* 1996;87: 565-576.

Livingston G, Katona C, Roch B, Guilhaume C, Rive B. A Dependency Model for Patients With Alzheimer's Disease: Its Validation and Relationship to the Costs of Care - The LASER-AD Study. *Curr Med Res Opin*. 2004;20(7):1007-16.

Luc G, Bard JM, Ferrieres J, et al. Value of HDL cholesterol, apolipoprotein A-I, lipoprotein A-I, and lipoprotein A-I/A-II in prediction of coronary heart disease: the PRIME Study. Prospective Epidemiological Study of Myocardial Infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:1155–61.

Luchsinger JA, Tang MX, Shea S, Mayeux R. Hyperinsulinemia and risk of Alzheimer disease. *Neurology* 2004;63(7):1187–1192.

Luoma PV. Gene activation, apolipoprotein A-I/high density lipoprotein, atherosclerosis prevention and longevity. *Pharmacol Toxicol* 1997;81:57–64.

Luterman JD, Haroutunian V, Yemul S, Ho L, Purohit D, Aisen PS, Mohs R, Pasinetti GM. Cytokine Gene Expression as a Function of the Clinical Progression of Alzheimer Disease Dementia. *Arch Neurol* 2000;57:1153-1160.

Lütjohann D, Papassotiropoulos A, Bjorkhem I, Locatelli S, Bagli M, Oehring RD, Schlegel U, Jessen F, Rao ML, von Bergmann C, Heun R. Plasma 24S-hydroxycholesterol (cerebrosterol) is increased in Alzheimer and vascular demented patients. *J Lipid Res* 2000;41:195-198.

Manly JJ, Merchant CA, Jacobs DM, Small SA, Bell K, Ferin M, Mayeux R. Endogenous estrogen levels and Alzheimer's disease among postmenopausal women. *Neurology* 2000;54(4):833–837.

Mann D, Iwatsubo T, Nochlin D, Sumi SM, Levy-Lahad E, Bird TD. Amyloid (Ass) deposition in chromosome 1-linked Alzheimer's disease: the Volga German families. *Ann Neurol* 1997;41: 52-57.

Marchetti L, Klein M, Schlett K, Pfizenmaier K, Eisel ULM. Tumor Necrosis Factor (TNF)-mediated Neuroprotection against Glutamate-induced Excitotoxicity Is Enhanced by *N*-Methyl-D-aspartate Receptor Activation. *J Biol Chem* 2004;279(31):32869–32881.

Marcovina SM, Koschinsky ML, Albers JJ, Skarlatos S. Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute Workshop on Lipoprotein(a) and Cardiovascular Disease: recent advances and future directions. *Clin Chem* 2003;49:1785–1796.

Marin R, Guerra B, Hernandez-Jimenez JG, Kang XL, Fraser JD, Lopez FJ, Alonso R. Estradiol prevents amyloid-beta peptide-induced cell death in a cholinergic cell line via modulation of a classical estrogen receptor. *Neuroscience* 2003;121(4):917–926.

Marks D, Marks AD, Smith CM. Basic medical biochemistry, a clinical approach. Textbook Williams & Wilkins ed 2000.

Marshak DR, Pesce SA, Stanley LC, GriYn WS. Increased S100 beta neurotrophic activity in Alzheimer's disease temporal lobe. *Neurobiol Aging* 1992;13:1–7.

Martin D, Mayes PA, Rodwell VW, et al. Harper's Review of Biochemistry. Textbook 1984 LANGE Medical Publications.

Masley S, Roetzheim R, Gualtieri T. Aerobic exercise enhances cognitive flexibility. *Journal of clinical psychology in medical settings* 2009;16(2):186–193.

Mathus-Vliegen EM, Basdevant A, Finer N, Hainer V, Hauner H, Micic D, Maislos M, Roman G, Schutz Y, Tsigos C, Toplak H, Hermann V, Zahorska-Markiewicz B. Obesity Management Task Force of the European Association for the Study of Obesity. Prevalence, pathophysiology, health consequences and treatment options of obesity in the elderly: a guideline. *Obes Facts* 2012;5(3):460-83.

Mattson M. Gene-diet interaction in brain aging and neurodegenerative disorders. *Ann Intern Med* 2003;139:441-444.

Mattson M. Pathways towards and away from Alzheimer's disease. *Nature* 2004;430:631-639.

Mauch DH, Nagler K, Schumacher S, et al. CNS synaptogenesis promoted by glia-derived cholesterol. *Science* 2001;294:1354–7.

- McDowell A, Young IS, Wisdom GB. Autoantibodies to malondialdehyde-modified low-density lipoprotein in patients with angiographically confirmed coronary artery disease. *J Pharm Pharmacol* 2002;54(12):1651-7
- McGeer PL, Itagaki S, Tago H, McGeer EG. Reactive microglia in patients with senile dementia of the Alzheimer type are positive for the histocompatibility glycoprotein HLA-DR. *Neurosci Lett* 1987;79:195-200.
- McGeer PL & McGeer EG. Local neuroinflammation and the progression of Alzheimer's disease. *J NeuroVir* 2002;8:529-538.
- McGeer PL & McGeer EG. Polymorphisms in inflammatory genes and the risk of Alzheimer disease. *Arch Neurol* 2001; 58:1790-1792
- McGeer PL & McGeer EG. The inflammatory response system of brain, implications for therapy of Alzheimer and other neurodegenerative diseases. *Brain Res Rev* 1995;21:195-218
- McGuinness MC, Powers JM, Bias WB, Schmeckpeper BJ, Segal AH, Gowda VC, Wesselingh SL, Berger J, Griffin DE, Smith KD. Human leukocyte antigens and cytokine expression in cerebral inflammatory demyelinating lesions of X-linked adrenoleukodystrophy and multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 1997;75:174-182.
- McKee AC, Cantu RC, Nowinski CJ, Hedley-Whyte ET, Gavett BE, Budson AE, et al. Chronic traumatic encephalopathy in athletes: progressive tauopathy after repetitive head injury. *J Neuropathol Exp Neurol* 2009;68:709-735.
- McKeith I, Mintzer J, Aarsland D, Burn D, Chiu H, Cohen-Mansfield J, et al. Dementia with Lewy bodies. *Lancet Neurol* 2004;3:19-28.
- McKhann G, Drachman D, Folstein M, Katzman R, Price D, Stadlan E. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: Report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology* 1984; 34: 939-944.
- McKhann GM, Albert MS, Grossman M, Miller B, Dickson D, Trojanowski JQ, et al. Clinical and pathological diagnosis of frontotemporal dementia: Report of the Work Group on Frontotemporal Dementia and Pick's Disease. *Arch Neurol* 2001;58:1803-9.
- Meda L, Cassatella MA, Szendrei GI, Otvos L, Jr, Baron P, Villalba M, Ferrari D, Rossi F. Activation of microglial cells by β -amyloid protein and interferon- γ . *Nature* 1995;374:647-650.
- Mega M, Cummings J, Fiorello T, Gornbein J. The spectrum of behavioral changes in Alzheimer's disease. *Neurology* 1996; 46: 130-135.
- Merched A, Xia Y, Visvikis S, et al. Decreased high-density lipoprotein cholesterol and serum apolipoprotein AI concentrations are highly correlated with the severity of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2000;21:27-30.
- Michikawa M. Cholesterol paradox: is high total or low HDL cholesterol level a risk for Alzheimer's disease? *J Neurosci Res* 2003;72:141-6.
- Milionis HJ, Winder AF, Mikhailidis DP. Lipoprotein (a) and stroke. *J Clin Pathol* 2000;53:487- 96
- Mizuno T, Zhang G, Takeuchi H, Kawanokuchi J, Wang J, Sonobe Y, Jin S, Takada N, Komatsu Y, Suzumura A. Interferon-gamma directly induces neurotoxicity through a neuron specific, calcium-permeable complex of IFN-gamma receptor and AMPA GluR1 receptor. *FASEB J* 2008;22(6):1797-806.
- Mobius HJ. Pharmacologic rationale for memantine in chronic cerebral hypoperfusion, especially vascular dementia. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 1999;13(3):S172-S178.

- Molano J, Boeve B, Ferman T, et al. Mild cognitive impairment associated with limbic and neocortical Lewy body disease: a clinicopathological study. *Brain* 2010;133:540-56.
- Mooser V, Helbecque N, Miklossy J, Marcovina SM, Nicod P, Amouyel P. Interactions between apolipoprotein E and apolipoprotein (a) in patients with late-onset Alzheimer's disease. *Ann Intern Med* 2000; 132: 533–537
- Morinaga A, Hirohata M, Ono K, Yamada M. Estrogen has anti-amyloidogenic effects on Alzheimer's beta-amyloid fibrils in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 2007;359(3):697–702.
- Morley J, Kushner I. Serum C-reactive protein levels in disease. *Ann N Y Acad Sci* 1982;389:406-418.
- Moroney J, Tang MX, Berglund L, Small S, Merchant C, Bell K, Stern Y, Mayeux R. Low-Density Lipoprotein Cholesterol and the Risk of Dementia With Stroke. *JAMA* 1999;282:254-260.
- Morris JC. Clinical dementia rating: a reliable and valid diagnostic and staging measure for dementia of the Alzheimer type. *Int Psychogeriatr.* 1997; 9(1):173-6; discussion 177-8.
- Morris JC. The Clinical Dementia Rating (CDR): current version and scoring rules. *Neurology* 1993;43:2412-2414
- Mrak RE, Griffin WS. Interleukin-1, neuroinflammation, and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2001;22(6):903-8.
- Mrak RE, Griffin WS. The role of chronic self-propagating glial responses in neurodegeneration: implications for long-lived survivors of human immunodeficiency virus. *J Neurovirol* 1997;3:241–246.
- Mrak RE, Sheng JGW, Griffin ST. Glial cytokines in Alzheimer's disease: review and pathogenic implications. *Hum Pathol* 1995;26:816–823.
- Müller-Thomsen T, Arlt S, Mann U, Mass R, Ganzer S. Detecting depression in Alzheimer's disease: evaluation of four different scales. *Arch Clin Neuropsych* 2005; 20(2):271-6.
- Mulnard R, Cotman CW, Kawas C, et al. Estrogen replacement therapy for treatment of mild to moderate Alzheimer's disease: a randomized controlled trial. *JAMA* 2000;283:1007-1015.
- Murzin AG, Lesk AM, Chothia C. β -Trefoil fold. Patterns of structure and sequence in the Kunitz inhibitors interleukins-1 β and 1 α and fibroblast growth factors. *J Med Biol* 1992;223:531-543.
- Myers RH, Schaefer EJ, Wilson PW, D'Agostino R, Ordovas JM, Espino A, Au R, White RF, Knoefel JE, Cobb JL, McNulty KA, Beiser A, Wolf PA. Apolipoprotein E epsilon4 association with dementia in a population-based study: The Framingham study. *Neur* 1996;46(3):673-7.
- Myint AM, Leonard BE, Steinbusch HW, Kim YK. Th1, Th2, and Th3 cytokine alterations in major depression. *J Affect Disord* 2005;88(2):167-73.
- Mysliwska J, Bryl E, Forester J, Mysliwski A. Increase of interleukin-6 and decrease of interleukin-2 production during the ageing process are influenced by the health status. *Mech Ageing Dev* 1998;100: 313-328.
- Nagy Z, Esiri MM, Jobst KA, et al. Influence of the apolipoprotein E genotype on amyloid deposition and neurofibrillary tangle formation in Alzheimer's disease. *Neuroscience* 1995;69:757–761.
- Navab M, Anantharamaiah GM, Fogelman AM. The role of high-density lipoprotein in inflammation. *Trends Cardiovasc Med* 2005;15:158–61.
- Navab M, Hama SY, Cooke CJ, et al. Normal high density lipoprotein inhibits three steps in the formation of mildly oxidized low density lipoprotein: step 1. *J Lipid Res* 2000;41:1481–94.
- Mesulam MM. Primary progressive aphasia. *Ann Neurol* 2001;49:425-32.

Neary D, Snowden JS, Mann DM. Classification and description of frontotemporal dementias. *Ann N Y Acad Sci* 2000;920:46-51.

Neef D, Walling AD. Dementia with Lewy Bodies: An Emerging Disease. *Am Fam Physician* 2006;73:1223-9, 1230.

Nunomura A, Perry G, Aliev G et al. Oxidative damage is the earliest event in Alzheimer's disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 2001; 60: 759-767.

Nussbaum R, Ellis CE. Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *NEJM* 2003;348: 1356-1364.

Obrenovich M, Joseph JA, Atwood CS, et al. Amyloid- β : a (life) preserver for the brain. *Neurobiol Aging* 2002; 23: 1097-1099.

Ohkura T, Isse K, Akazawa K, Hamamoto M, Yaoi Y, Hagino N. Evaluation of estrogen treatment in female patients with dementia of the Alzheimer type. *Endocr J* 1994;41:361-71.

Olson R. Discovery of the Lipoproteins, Their Role in Fat Transport and Their Significance as Risk Factors. *J Nutr* 1998;128 (Suppl 2):439-443.

Olusi S, Fido A. Serum lipid concentrations in patients with major depressive disorder. *Biol Psychiatry* 1996;40:1128-1131.

Orgogozo JM, Rigaudm AS, Stoffler A, et al. Efficacy and safety of memantine in patients with mild to moderate vascular dementia: a randomized, placebo-controlled trial. *Stroke* 2002;33:1834-1839.

O'Sullivan M, Morris RG, Markus HS. Brief cognitive assessment for patients with cerebral small vessel disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2005; 76: 1140-1145.

Ott A, Stolk RP, Hofman A, van Harskamp F, Grobbee DE, Breteler MM. Association of diabetes mellitus and dementia: the Rotterdam Study. *Diabetologia* 1996;39(11):1392-1397.

Oyama F, Shimada H, Oyama R, Ihara Y. Apolipoprotein E genotype, Alzheimer's pathologies and related gene expression in the aged population. *Brain Res Mol Brain Res* 1995;29:92-98.

Paganelli R, Di Iorio A, Patricelli L, Ripani F, Sparvieri E, Faricelli R, Iarlori C, Porreca E, Di Gioacchino M, Abate G. Proinflammatory cytokines in sera of elderly patients with dementia: levels in vascular injury are higher than those of mild-moderate Alzheimer's disease patients. *Exp Gerontol* 2002;37(2-3):257-63.

Paganini-Hill A, Henderson VW. Estrogen deficiency and risk of Alzheimer's disease in women. *Am J Epidemiol* 1994;140:256-61.

Paganini-Hill A, Henderson VW. Estrogen replacement therapy and risk of Alzheimer disease. *Arch Intern Med* 1996;156:2213-7.

Παπαζαφειροπούλου ΑΚ, Παπαγεωργίου Ι, Παππάς ΣΙ. Λιποπρωτεΐνη (α) και καρδιαγγειακή νόσος. *Ελλην Διαβητ Χρον* 2012; 25(2): 106-113

Papassotiropoulos A, Hock C, Nitsch RM. Genetics of interleukin-6: implications for Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2001;22:863-871.

Papassotiropoulos A, Lutjohann D, Bagli M, Locatelli S, Jessen F, Buschfort R, et al. 24S-hydroxycholesterol in cerebrospinal fluid is elevated in early stages of dementia. *J Psychiatr Res* 2002;36:27-32.

Pappolla M, Bryant-Thomas TK, Herbert D, et al. Mild hypercholesterolemia is an early risk factor for the development of Alzheimer amyloid pathology. *Neurology* 2003;61:199-205.

- Pasinetti GM. Cyclooxygenase and inflammation in Alzheimer's disease: experimental approaches and clinical interventions. *J Neurosci Res* 1998;54:1–6.
- Paterno R, Ruocco A, Postiglione A, et al. Reconstituted highdensity lipoprotein exhibits neuroprotection in two rat models of stroke. *Cerebrovasc Dis* 2004;17:204–11.
- Pedrosa H, De Sa A, Guerreiro M, Maroco J, Simoes MR, Galasko D, de Mendonca A. Functional evaluation distinguishes MCI patients from healthy elderly people--the ADCS/MCI/ADL scale. *J Nutr Health Aging* 2010;14(8):703-9.
- Penninx BW, Kritchevsky SB, Yaffe K, Newman AB, Simonsick EM, Rubin S, Ferrucci L, Harris T, Pahor M. Inflammatory markers and depressed mood in older persons: results from the Health, Aging and BodyComposition study. *Biol Psychiatry* 2003;54(5):566-72.
- Pepys M, Baltz ML. Acute phase proteins with special reference to C-reactive protein and related proteins (pentaxins) and serum amyloid A protein. *Adv Immunol* 1983;34:141-212.
- Perry RT, Collins JS, Wiener H, Acton R, Go RCP. The role of TNF and its receptors in Alzheimer's disease. *Neurobiol Ag* 2001;22:873-883.
- Perry SW, Dewhurst S, Bellizzi MJ, Gelbard HA. Tumor necrosis factor-alpha in normal and diseased brain: Conflicting effects via intraneuronal receptor crosstalk? *J Neurovirol* 2002;8(6):611-24.
- Peters R, Peters J, Warner J, Beckett N, Bulpitt C. Alcohol, dementia and cognitive decline in the elderly: a systematic review. *Age Ageing* 2008;37(5):505–512.
- Petersen RC. Mild cognitive impairment as a diagnostic entity. *J Intern Med* 2004; 256(3):183-194.
- Petersen RC, Doody R, Kurz A, et al. Current concepts in mild cognitive impairment. *Arch Neurol*. 2001;58(12):1985-1992
- Petersen RC, Smith GE, Waring SC, Ivnik RJ, Tangalos EG, Kolmen E. Mild cognitive impairment: clinical characterization and outcome. *Arch Neurol* 1999;56:303-308.
- Pietzsch J, Bergmann R, Wuest F, Pawelke B, Hultsch C, van den Hoff J. Catabolism of native and oxidized low density lipoproteins: in vivo insights from small animal positron emission tomography studies. *Amino Acids* 2005;29(4):389.
- Pitas RE, Boyles JK, Lee SH, et al. Lipoproteins and their receptors in the central nervous system. Characterization of the lipoproteins in cerebrospinal fluid and identification of apolipoprotein B,E(LDL) receptors in the brain. *J Biol Chem* 1987;262:14352–60.
- Plassman BL, Langa KM, Fisher GG, Heeringa SG, Weir DR, Ofstedal MB, Burke JR, Hurd MD, Potter GG, Rodgers WL, Steffens DC, Willis RJ, Wallace RB. Prevalence of Dementia in the United States: The Aging, Demographics, and Memory Study. *Neuroepidem* 2007;29:125–132.
- Pola R, Flex A, Gaetani E, Santoliquido A, Serricchio M, Pola P, Bernabei R. Intercellular adhesion molecule-1 K469E gene polymorphism and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2003;24:385-387.
- Politis A, Maillis A, Thomadaki O, Passa M, Stamouli E, Kotrotsou M, Kontoaggellos K, Soldatos C. Validity and reliability of the newly translated Cornell Scale for Depression in Dementia (CSDD) applied to Greek outpatients with depression and depression and Alzheimer's disease. *Annals of General Psychiatry* 2006;5(1):245.
- Politis AM, Mayer LS, Passa M, Maillis A, Lyketsos CG. Validity and reliability of the newly translated Hellenic Neuropsychiatric Inventory (H-NPI) applied to Greek outpatients with Alzheimer's disease: a study of disturbing behaviors among referrals to a memory clinic. *Int J Ger Psych* 2004;19(3): 203–208.

Possel H, Noack H, Putzke J, Wolf G, Sies H. Selective upregulation of inducible nitric oxide synthase (iNOS) by lipopolysaccharide (LPS) and cytokines in microglia: in vitro and in vivo studies. *Glia* 2000;32:51–59.

Press D. Parkinson's disease dementia-a first step. *NEJM* 2004; 351: 2547-2549.

Qin L, Wu X, Block ML, Liu Y, Breese GR, Hong JS, Knapp DJ, Crews FT. Systemic LPS causes chronic neuroinflammation and progressive neurodegeneration. *Glia* 2007;55(5):453-62.

Qiu C, Winblad B, Fratiglioni L. The age-dependent relation of blood pressure to cognitive function and dementia. *Lancet Neurol* 2005;4(8):487–499.

Querbes O, Aubry F, Pariente J, Lotterie JA, Demonet JF, Duret V, Puel M, Berry I, Fort JC, Celsis P. Early diagnosis of Alzheimer's disease using cortical thickness: impact of cognitive reserve. *Brain* 2009;132(Pt 8):2036–2047.

Ramharack E, Barkalow D, Spahr MA. Dominant negative effect of TGF-beta1 and TNF-alpha on basal and IL-6-induced lipoprotein(a) and apolipoprotein(a) mRNA expression in primary monkey hepatocyte cultures. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:984–90

Ramharack R, Spahr MA, Kreick JS, Sekerke CS. Expression of apolipoprotein [a] and plasminogen mRNAs in cynomolgus monkey liver and extrahepatic tissues. *J Lipid Res* 1996;37:2029–40

Ratnavalli E, Brayne C, Dawson K, Hodges JR. The prevalence of frontotemporal dementia. *Neurology* 2002;58:1615-21.

Reale M, Iarlori C, Gambi F, Feliciani C, Salone A, Toma L, DeLuca G, Salvatore M, Conti P, Gambi D. Treatment with an acetylcholinesterase inhibitor in Alzheimer patients modulates the expression and production of the pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines. *J Neuroimmunol* 2004; 148(1-2):162-71.

Rees A. Lipoprotein (a): a possible link between lipoprotein metabolism and thrombosis. *Br Heart J* 1991;65:2-3

Refolo L, Pappolla MA, Malester B, et al. Hypercholesterolemia accelerates the Alzheimer's amyloid pathology in a transgenic mouse model. *Neurobiol Dis* 2000;7:321–331.

Reisberg B, Doody R, Stoffler A, et al. Memantine in moderate to severe Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 2003;348:1333-1341.

Reisberg B, Ferris SH, Leon MJ, et al. The global deterioration scale for assessment of primary degenerative dementia. *Amer J Psych* 1982;139:1136-1139.

Reitz C, Tang MX, Luchsinger J, Mayeux R. Relation of plasma lipids to Alzheimer's disease and vascular dementia. *Arch Neurol* 2004;61:705-714.

Rentzos M, Michalopoulou M, Nikolaou C, Cambouri C, Rombos A, Dimitrakopoulos A, Kapaki E, Vassilopoulos D. Serum levels of soluble intercellular adhesion molecule-1 and soluble endothelial leukocyte adhesion molecule-1 in Alzheimer's disease. *J Geriatr Psychiatry Neurol* 2004;17:225-231.

Rich J, Rasmusson DX, Folstein MF, Carson KA, Kawas C, Brandt J. Non-steroidal antiinflammatory drugs in Alzheimer's disease. *Neurology* 1995;45:51-55.

Richard E, Ligthart SA, Moll van Charante EP, van Gool WA. Vascular risk factors and dementia – towards prevention strategies. *Neth J Med* 2010;68(10):284-290.

Richartz E, Batra A, Simon P, Wormstall H, Bartels M, Buchkremer G, Schott K. Diminished production of proinflammatory cytokines in patients with Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2005;19:184-188.

- Richter V, Rassoul F, Purschwitz K, Hentschel B, Reuter W, Kuntze T . Circulating vascular cell adhesion molecules VCAM-1, ICAM-1 and E-selectin in dependence on aging. *Gerontology* 2003;49(5):293-300
- Richtsmeier WJ, Johns ME, Cantrell RW, Sorge K. Interferon sensitivity of fibroblast cell cultures derived from patients with neoplasms of the head and neck. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1985;93(4):492-9.
- Ridker P, Buring JE, Shih J, Matias M, Hennekens CH. Prospective study of C-reactive protein and the risk of future cardiovascular events among apparently healthy women. *Circulation* 1998;98:731-733.
- Rininsland FH, Helms T, Asaad RJ, Boehm BO, Tary-Lehmann M. Granzyme B. ELISPOT assay for ex vivo measurements of T cell immunity. *J Immunol Methods* 2000;240(1-2):143-55.
- Ritchie K & Lovestone S. The dementias. *Lancet* 2002;360:1759-1766.
- Rocca W. Dementia in Parkinson's disease: an epidemiologic perspective. *Neurobiol Aging* 2002; 23 (S1): 7-8.
- Rockwood K, Strang D, MacKnight C, et. al. Interrater reliability of the Clinical Dementia Rating in a multicenter trial. *JAGS* 2000; 48:558-559.
- Rodero L, Infante J, Palacio E, Llorca J, Berciano J, Combarros O. Polymorphism at codon 469 of the intercellular adhesion molecule-1 gene is not associated with sporadic Alzheimer's disease. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2004;126:66-68.
- Rogers J, Kirby LC, Hempelman SR, et al. Clinical trial of indomethacin in Alzheimer's disease. *Neurology* 1993;43:1609-11.
- Rohde L, Hennekens CH, Ridker PM. Survey of C-reactive protein and cardiovascular risk factors in apparently healthy men. *Am J Cardiol* 1999;84:1018-1022.
- Roheim PS, Carey M, Forte T, et al. Apolipoproteins in human cerebrospinal fluid. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1979;76:4646-9.
- Rojo LE, Fernández JA, Maccioni AA, Jimenez JM, Maccioni RB. Neuroinflammation: implications for the pathogenesis and molecular diagnosis of Alzheimer's disease. *Arch Med Res* 2008;39(1):1-16.
- Román GC. The epidemiology of vascular dementia. *Handbook of Clinical Neurology* 2008, Vol. 89 (3rd series) Dementias (Ch 59).
- Ronnlom L, Cederblad B, Sandberg K, Alm GV. Determination of herpes simplex virus-induced alpha interferon-secreting human blood leucocytes by a filter immuno-plaque assay. *Scand J Immunol* 1988;27(2):165-70.
- Rosenson RS. Beyond low-density lipoprotein cholesterol. A perspective on low high-density lipoprotein disorders and Lp(a) lipoprotein excess. *Arch Intern Med* 1996;156:1278-84.
- Ross R. Mechanisms of disease: atherosclerosis – an inflammatory disease. *NEJM* 1999;340: 115-126.
- Rossi F, Bianchini E. Synergistic induction of nitric oxide by beta-amyloid and cytokines in astrocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 1996;14;225(2):474-8.
- Rota E, Bellone G, Rocca P, Bergamasco B, Emanuelli G, Ferrero P. Increased intrathecal TGF-beta1, but not IL-12, IFN-gamma and IL-10 levels in Alzheimer's disease patients. *Neurol Sci* 2006;27(1):33-9.
- Rothwell NJ, Hopkins SJ. Cytokines and the nervous system II: Actions and mechanisms of action. *Trends Neurosci* 1995;18(3):130-6.

- Rottkamp C, Atwood CS, Joseph JA, et al. The state versus amyloid- β : the trial of the most wanted criminal in Alzheimer's disease. *Peptides* 2002; 23: 1333-1341.
- Rovio S, Kareholt I, Helkala EL, Viitanen M, Winblad B, Tuomilehto J, Soininen H, Nissinen A, Kivipelto M. Leisure-time physical activity at midlife and the risk of dementia and Alzheimer's disease. *Lancet neurology* 2005;4(11):705-711.
- Rozzini L, Vicini Chilovi B, Bertolotti E, Trabucchi M, Padovani A. Acetylcholinesterase inhibitors and depressive symptoms in patients with mild to moderate Alzheimer's disease. *Aging Clin Exp Res* 2007;19(3):220-3.
- Rush JA, First MB, Blacker D. Handbook of psychiatric measures. Task Force for the American Psychiatric Association (Second Edition), 2008. Washington, D.C.: American Psychiatric Publications.
- Russ TC, Batty GD, Starr JM. Cognitive and behavioural predictors of survival in Alzheimer disease: results from a sample of treated patients in a tertiary-referral memory clinic. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2012 Aug;27(8):844-53
- Sachdev PS, Brodaty H, Valenzuela MJ, Lorentz L, Looi JCL, Wen W, Zagami AS. The neuropsychological profile of vascular cognitive impairment in stroke and TIA patients. *Neur* 2004;62:912-919.
- Saczynski JS, White L, Peila RL, et al. The relation between apolipoprotein A-I and dementia: The Honolulu-Asia Aging Study. *Am J Epidemiol* 2007;165:985-92.
- Saijonmaa O, Nyman T, Fyhrquist F. Downregulation of Angiotensin-Converting Enzyme by Tumor Necrosis Factor- α and Interleukin-1 β in Cultured Human Endothelial Cells. *J Vasc Res* 2001;38:370-378.
- Sajatovic M & Ramirez L. Rating scales in mental health. 2nd edition Hudson 2003, OH: Lexi-Comp.
- Sala G, Galimberti G, Canevari C, Raggi ME, Isella V, Facheris M, Appollonio I, Ferrarese C. Peripheral cytokine release in Alzheimer patients: correlation with disease severity. *Neurobiol Ag* 2003; 24:909-914.
- Sampson E, Warren JD, Rossor MN. Young onset dementia. *Postgrad Med J* 2003; 80: 125-139.
- Sando SB, Melquist S, Cannon A, Hutton M, Sletvold O, Saltvedt I, White LR, Lydersen S, Aasly J. Risk-reducing effect of education in Alzheimer's disease. *Int J Geriatr Psychiatry* 2008;23(11):1156-1162.
- Sarti C, Pantoni L, Pracucci G, Di Carlo A, Vanni P, Inzitari D. Lipoprotein(a) and Cognitive Performances in an Elderly White Population: Cross-sectional and follow-up data. *Stroke* 2001;32(7):1678-83
- Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel D, George-Hyslop PH, Pericak-Vance MA, Joo SH, Rosi BL, Gusella JF, Crapper-MacLachlan DR, Alberts MJ, et al. Association of apolipoprotein E allele e4 with late-onset familial and sporadic Alzheimer's disease. *Neurol* 1993;43:1467-1472.
- Scarmeas N, Luchsinger JA, Schupf N, Brickman AM, Cosentino S, Tang MX, Stern Y. Physical activity, diet, and risk of Alzheimer disease. *JAMA* 2009;302(6):627-637.
- Schalk B, Visser M, Deeg DJ, Bouter LM. Lower levels of serum albumin and total cholesterol and future decline in functional performance in older persons: the Longitudinal Aging Study Amsterdam. *Age Ageing* 2004;33:266-272.
- Schmidt ML, Lee VMY, Forman M, Chiu TS, Trojanowski JQ. Monoclonal antibodies to a 100-kd protein reveal abundant A β -negative plaques throughout gray matter of Alzheimer's disease brains. *Am J Path* 1997;151(1):69-80.

- Schroeter H, Williams RJ, Matin R, Iversen L, Rice-Evans CA. Phenolic antioxidants attenuate neuronal cell death following uptake of oxidized low-density lipoprotein. *Free Radic Biol Med* 2000;29(12):1222.
- Schultz D, Arnold PI. Properties of four acute phase proteins: C-reactive protein, serum amyloid A protein, glycoprotein and fibrinogen. *Sem Arthr Rheumat* 1990;20:129-147.
- Schultz JR, Verstuyft JG, Gong EL, et al. Protein composition determines the anti-atherogenic properties of HDL in transgenic mice. *Nature* 1993;365:762-4.
- Schultz O, Oberhauser F, Saech J, Rubbert-Roth A, Hahn M, Krone W, Laudes M. Effects of inhibition of Interleukin-6 signalling on insulin sensitivity and Lipoprotein (a) levels in human subjects with Rheumatoid diseases. *PLoS One* 2010; 5(12): e14328
- Sedgwick JD, Holt PG. A solid-phase immunoenzymatic technique for the enumeration of specific antibody-secreting cells. *J Immunol Methods* 1983;57(1-3):301-9
- Seshadri S, Drachman DA, Lippa CF. Apolipoprotein E epsilon 4 allele and the lifetime risk of Alzheimer's disease: what physicians know and what they should know. *Arch Neurol* 1995;52: 1074-1079.
- Seshadri S, Zornberg GL, Derby LE, Myers MW, Jick H, Drachman DA. Postmenopausal estrogen replacement therapy and the risk of Alzheimer disease. *Arch Neurol*. 2001 Mar; 58(3):435-40.
- Selkoe DJ. The molecular pathology of Alzheimer's disease. *Neuron* 1991;6(4):487-498.
- Selnes OA, Vinters HV. Vascular cognitive impairment. *Nat Clin Prac Neur* 2006; 2(10): 538-547.
- Shafiq SS, Kyrkanides S, Olschowka JA, Miller JH, Johnson RE, O'Banion MK. Sustained hippocampal IL-1 β overexpression mediates chronic neuroinflammation and ameliorates Alzheimer plaque pathology. *J Clin Invest* 2007;117:1595-1604.
- Shaked I, Tchoresh D, Gersner R, Meiri G, Mordechai S, Xiao X, Hart RP, Schwartz M. Protective autoimmunity: interferon- γ enables microglia to remove glutamate without evoking inflammatory mediators. *J Neurochem* 2005;92(5):997-1009.
- Sharp DS, Burchfiel CM, Rodriguez BL, et al. Apolipoprotein A-1 predicts coronary heart disease only at low concentrations of high-density lipoprotein cholesterol: an epidemiological study of Japanese-Americans. *Int J Clin Lab Res* 2000;30:39-48.
- Simons M, Keller P, Dichgans J, Schulz JB. Cholesterol and Alzheimer's disease. Is there a link? *Neurology* 2001;57:1089-1093.
- Sinem F, Dildar K, Gökhan E, Melda B, Orhan Y, Filiz M. The serum protein and lipid oxidation marker levels in Alzheimer's disease and effects of cholinesterase inhibitors and antipsychotic drugs therapy. *Curr Alzheimer Res*. 2010 Aug;7(5):463-9.
- Singh VK, Guthikonda P. Circulating cytokines in Alzheimer's disease. *J Psychiatr Res* 1997;31:657-660.
- Skoog I, Lernfelt S, Landahl S, et al. Fifteen-year longitudinal study of blood pressure and dementia. *Lancet* 1996;347:1141-1145.
- Smith ME, Thomas JA. Cellular expression of lymphocyte function associated antigens and the intercellular adhesion molecule-1 in normal tissue. *J Clin Pathol* 1990;43(11):893-900.
- Snowden J, Neary D, Mann D. Frontotemporal dementia. *Lancet Neurol* 2005; 4: 771-80.
- Snowdon DA, Greiner LH, Mortimer JA, et al. Brain infarction and the clinical expression of Alzheimer disease. The Nun Study. *JAMA* 1997;277:813-7.

- Solfrizzi V, Panza F, D'Introno A et al. Lipoprotein (a), apolipoprotein E genotype, and risk of Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2002; 72: 732–736.
- Song H, Saito K, Seishima M, et al. Cerebrospinal fluid apo E and apo A-I concentrations in early- and late-onset Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 1997;231:175–8.
- Song JH, Wang CX, Song DK, Wang P, Shuaib A, Hao C. Interferon gamma induces neurite outgrowth by up-regulation of p35 neuron-specific cyclin-dependent kinase 5 activator via activation of ERK1/2 pathway. *J Biol Chem* 2005;280:12896–12901.
- Song M & Kellum J. Interleukin-6. *Crit Care Med* 2005;33:S463-S465.
- Speck CE, Kukull WA, Brenner DE, et al. History of depression as a risk factor for Alzheimer's disease. *Epidemiology* 1995;6:366–369.
- Speciale L, Calabrese E, Saresella M, Tinelli C, Mariani C, Sanvito L, Longhi R, Ferrante P. Lymphocyte subset patterns and cytokine production in Alzheimer's disease patients. *Neurobiol Aging* 2007;28:1163–1169.
- Springer T. Adhesion receptors of the immune system. *Nature* 1990;346: 425-434.
- Stanyer L, Betteridge DJ, Smith CC. Potentiation of beta-amyloid polymerisation by low-density lipoprotein enhances the peptide's vasoactivity. *Biochim Biophys Acta* 2004;1670 (2):147.
- Stefano GB, Paemen LR, Hughes Jr TK. Autoimmunoregulation: differential modulation of CD10/neutral endopeptidase 24.11 by tumor necrosis factor and neuropeptides. *J Neuroimmun* 1992; 41:9-14.
- Stenvinkel P, Heimbürger O, Tuck CH, Berglund L. Apo(a)-isoform size, nutritional status and inflammatory markers in chronic renal failure. *Kidney Int* 1998;53:1336-42.
- Stern Y. Cognitive reserve. *Neuropsychologia* 2009;47(10):2015–2028.
- Sternberg EM, Chrousos GP, Wilder RL, Gold PW. The stress response and the regulation of inflammatory disease. *Ann Intern Med* 1992;117:854–866.
- Strandberg T, Tilvis RS. C-Reactive Protein, Cardiovascular Risk Factors, and Mortality in a Prospective Study in the Elderly. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:1057.
- Strauss S, Bauer J, Ganter U, Jonas U, Berger M, Volk B. Detection of IL-6 and alpha-2 macroglobulin immunoreactivity in cortex and hippocampus of Alzheimer's disease patients. *Lab Invest* 1992;66:223-230.
- Strittmatter W, Roses AD. Apolipoprotein E and Alzheimer's disease. *Annu Rev Neurosci* 1993;19: 53-77.
- Stuart WD, Krol B, Jenkins SH, et al. Structure and stability of apolipoprotein J-containing high-density lipoproteins. *Biochemistry* 1992;31:8552–9.
- Sun YX, Minthon L, Wallmark A, Warkentin S, Blennow K, Janciauskiene S. Inflammatory markers in matched plasma and cerebrospinal fluid from patients with Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2003;16(3):136.
- Talmud P, Hawe E, Miller GJ, Humphries SE. Nonfasting apolipoprotein B and triglyceride levels as a useful predictor of coronary heart disease risk in middle-aged UK men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:1911-1924.
- Tan Z, Seshadri S, Beiser A, Wilson PW, Kiel DP, Tocco M, D'Agostino RB, Wolf PA. Plasma total cholesterol level as a risk factor for Alzheimer disease: the Framingham Study. *Arch Intern Med* 2003;163:1053-1057.

- Tanguay S, Killion JJ. Direct comparison of ELISPOT and ELISA-based assays for detection of individual cytokine-secreting cells. *Lymphokine Cytokine Res* 1994;13(4):259-63
- Tarkowski E, Blennow K, Wallin A, Tarkowski A. Intracerebral production of tumor necrosis factor- α , a local neuroprotective agent, in Alzheimer disease and vascular dementia. *J Clin Immunol* 1999;19:223-230.
- Teeling JL, Felton LM, Deacon RM, Cunningham C, Rawlins JN, Perry VH. Sub-pyrogenic systemic inflammation impacts on brain and behavior, independent of cytokines. *Brain Behav Immun* 2007;21(6):836-50.
- Temmel et al. Age dependent decrease of antibodies to oxidized LDL (oLAB) in healthy people. *Oxidative Stress Workshop* 1996.
- Terreni L, De Simoni MG. Role of the brain in interleukin-6 modulation. *Neuroimmunomodulation* 1998;5:214-219
- The BIP Study Group. Secondary Prevention by Raising HDL Cholesterol and Reducing Triglycerides in Patients With Coronary Artery Disease. The Bezafibrate Infarction Prevention (BIP) Study. *Circulation* 2000;102:21-27.
- Thomas AJ, Davis S, Morris C, Jackson E, Harrison R, O'Brien JT. Increase in Interleukin-1 β in Late-Life Depression. *Am J Psychiatry* 2005;162:175-177.
- Tiraboschi P, Hansen LA, Masliah E, Alford M, Thal LJ, Corey-Bloom J. Impact of APOE genotype on neuropathologic and neurochemical markers of Alzheimer disease. *Neurology* 2004;62:1977-1983.
- Tuppo EE, Arias HR. The role of inflammation in Alzheimer's disease. *Inter J Bioch Cell Biol* 2005;37: 289-305.
- Turner AM, Greenough WT. Differential rearing effects on rat visual cortex synapses. I. Synaptic and neuronal density and synapses per neuron. *Brain Res* 1985;329:195-203.
- Urakami K, Wada-Isoe K, Wakutani Y, et al. Lipoprotein(a) phenotypes in patients with vascular dementia. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2000;11:135-8
- Valera E, Fernandez-Salguero PM, Planells-Cases R, et al. Neuroprotection against excitotoxicity by N-alkylglycines in rat hippocampal neurons. *Neuromolecular Med* 2002;2:271-280.
- Van den Biggelaar AH, Gussekloo J, de Craen AJ, Frölich M, Stek ML, van der Mast RC, Westendorp RG. Inflammation and interleukin-1 signaling network contribute to depressive symptoms but not cognitive decline in old age. *Exp Gerontol* 2007;42(7):693-701
- Van Dijk P, Dippel DWJ, Habbema JFD. Survival of patients with dementia. *J Am Geriatric Soc* 1991;39:603-610.
- Van Duijn C, DeKrijff P, Cruts M et al. Apolipoprotein e4 allele in a population-based study of early-onset Alzheimer's disease. *Nat Genet* 1994;7: 74-78.
- Van Duijn CM, Hofman A, Nagelkerken L. Serum levels of interleukin-6 are not elevated in patients with Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 1990;108:350-354.
- Van Everbroeck B, Dewulf E, Pals PH, Lübke U, Martin JJ, Cras P. The role of cytokines, astrocytes, microglia and apoptosis in Creutzfeldt- Jakob disease. *Neurobiol Aging* 2002;23:59-64.
- Van Exel E, de Craen AJ, Gussekloo J, Houx P, Bootsma-van der Wiel A, Macfarlane PW, Blauw GJ, Westendorp RG. Association between high-density lipoprotein and cognitive impairment in the oldest old. *Ann Neurol* 2002;51:716-721.

- Vandenabeele P, Fiers W. Is amyloidogenesis during Alzheimer's disease due to an IL-1/IL-6 mediated acute phase response in the brain? *Immunol Today* 1991;12:217-219.
- Vanizor Kural B, Orem A, Cimşit G, Yandi YE, Calapoglu M. Evaluation of the atherogenic tendency of lipids and lipoprotein content and their relationships with oxidant-antioxidant system in patients with psoriasis. *Clin Chim Acta* 2003;328(1-2):71-82
- Veld B, Ruitenbergh A, Hofman A, Launer LG, van Duijn CM, Stijnen T, Breteler M, Stricker B. Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs and the Risk of Alzheimer's Disease. *NEJM* 2001;345:1515-1521.
- Vertesi Lever JA, Molloy D, et al. Standardized Mini-Mental State Examination; use and interpretation. *Can Fam Physician* 2001;47:2018-2023.
- Vetrivel KS, Cheng H, Lin W, et al. Association of gammasecretase with lipid rafts in post-Golgi and endosome membranes. *J Biol Chem* 2004;279:44945-54.
- Viinikainen A, Nyman T, Fyhrquist F, Saijonmaa O. Downregulation of angiotensin converting enzyme by TNF- α in differentiating human macrophages. *Cytok* 2002;18:304-310.
- Visser PJ. *Mild Cognitive Impairment 2006; Principles and Practice of Geriatric Medicine*, 4th Edition.
- Vincent HK, Innes KE, Vincent KR. Oxidative stress and potential interventions to reduce oxidative stress in overweight and obesity Diabetes. *Obes Metab* 2007;9(6):813-839
- Visser PJ. *Predictors of Alzheimer Type Dementia in Subjects with Mild Cognitive Impairments 2000*; Neuropsych Publishers, Maastricht.
- Volanakis J. Human C-reactive protein: expression, structure, and function. *Mol Immunol* 2001;38:189-197.
- von Eckardstein A, Fischer F, Schulte H, et al. Association of serum apolipoprotein A-I (but not high-density lipoprotein cholesterol) with healed myocardial infarction in men independent of serum insulin and C-peptide. *Am J Cardiol* 2001;88:723-6.
- Vonderheide R, Tedder T-F, Springer T-A, Staunton D-E. Residues within a conserved amino acid motif of domains 1 and 4 of VCAM- 1 are required for binding to VLA-4. *J Cell Biol* 1994;125: 215-222.
- Wade DP, Clarke JG, Lindahl GE, Liu AC, Zysow BR, Meer K, Schwartz K, Lawn RM. 5' control regions of the apolipoprotein(a) gene and members of the related plasminogen gene family. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993;90(4):1369-73
- Wahle T, Thal DR, Sastre M et al. GGA1 is expressed in the human brain and affects the generation of amyloid β -peptide. *J. Neurosci* 2006;26:12838-12846 .
- Waldemara G, Dubois B, Emrec M, Georges J, McKeithe IG, Rossorf M, Scheltens P, Tariskah P, Winbladi B. Recommendations for the diagnosis and management of Alzheimer's disease and other disorders associated with dementia: EFNS guideline. *Eur J Neur* 2007;14: e1-e26.
- Weiner MF, Martin-Cook K, Foster BM, Saine K, Fontaine CS, Svetlik DA. Effects of donepezil on emotional/behavioral symptoms in Alzheimer's disease patients. *J Clin Psychiatry* 2000;61(7):487-92.
- West HL, Rebeck GW, Hyman BT. Frequency of the apolipoprotein E epsilon 2 allele is diminished in sporadic Alzheimer disease. *Neurosci Lett* 1994;175:46-48.
- Whitmer RA, Gunderson EP, Quesenberry CP Jr, Zhou J, Yaffe K. Body mass index in midlife and risk of Alzheimer disease and vascular dementia. *Curr Alzheimer Res* 2007;4(2):103-109.

- Wilcock G, Mobius HJ, Stoffler A, et al. A double-blind, placebo-controlled, multicentre study of memantine in mild to moderate vascular dementia. *Int Clin Psychopharmacol* 2002;17:297-305.
- Williams MM, Roe CM, Morris JC. Stability of the Clinical Dementia Rating, 1979-2007. *Arch Neurol*. 2009 Jun;66(6):773-7.
- Wilson RS, Bienias JL, Berry-Kravis E, Evans DA, Bennett DA. The apolipoprotein E epsilon 2 allele and decline in episodic memory. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2002;73:672-677.
- Wisniewski T, Golabek AA, Kida E, et al. Conformational mimicry in Alzheimer's disease. Role of apolipoproteins in amyloidogenesis. *Am J Pathol* 1995;147:238-44.
- Wolbink G, Bossink AW, Groeneveld AB, de Groot MC, Thijs LG, Hack CE. Complement activation in patients with sepsis is in part mediated by C-reactive protein. *J Infect Dis* 1998;177:81-87.
- Wolfson C, Perrault A, Moride A, et al. A case-control analysis of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and Alzheimer's disease: are they protective? *Neuroepidemiology* 2002;21:81-86.
- Wright CB, Sacco RL, Rundek TR, Delman JB, Rabbani LE, Elkind MSV. Interleukin-6 is associated with cognitive function: the Northern Manhattan Study. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 2006;15:34-38.
- Xu W, Qiu C, Gatz M, Pedersen NL, Johansson B, Fratiglioni L. Mid- and late-life diabetes in relation to the risk of dementia: a population-based twin study. *Diabetes* 2009;58(1):71-77.
- Yaffe K, Barrett-Connor E, Lin F, Grady D. Serum lipoprotein levels, statin use, and cognitive function in older women. *Arch Neurol* 2002;59:378-384.
- Yaffe K, Kanaya A, Lindquist K, Simonsick EM, Harris T, Shorr RI, Tylavsky FA, Newman AB. The Metabolic Syndrome, Inflammation, and Risk of Cognitive Decline. *JAMA* 2004;292:2237-2242.
- Yamamoto M, Kiyota T, Horiba M, Buescher JL, Walsh SM, Gendelman HE, Ikezu T. Interferon- γ and tumor necrosis factor- α regulate amyloid- β plaque deposition and β -secretase expression in Swedish mutant APP transgenic mice. *Am J Pathol*. 2007;170:680-692.
- Yamamoto M, Kiyota T, Walsh SM, Liu J, Kipnis J, Ikezu T. Cytokine-Mediated Inhibition of Fibrillar Amyloid- β Peptide Degradation by Human Mononuclear Phagocytes. *J Immunol* 2008; 181: 3877-3886.
- Yoshitake T, Kiyohara Y, Kato I, Ohmura T, Iwamoto H, Nakayama K, Ohmori S, Nomiyama K, Kawano H, Ueda K, Sueishi K, Tsuneyoshi M, Fujishima M. Incidence and risk factors of vascular dementia and Alzheimer's disease in a defined elderly Japanese population: the Hisayama Study. *Neurology* 1995;45:1161-1168.
- Yudkin JS, Stehouwer CDA, Emeis JJ, Coppack SW. C-reactive protein in healthy subjects: associations with obesity, insulin resistance, and endothelial dysfunction: a potential role for cytokines originating from adipose tissue? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:972-978.
- Yue C, Muller-Greven J, Dailey P, Lozanski G, Anderson V, Macintyre S. Identification of a C-reactive protein binding site in two hepatic carboxylesterases capable of retaining C-reactive protein within the endoplasmic reticulum. *Biol Chem* 1996;271:2245-2250.
- Zandi P, Anthony JC, Khachaturian AS, et al. Reduced risk of Alzheimer's disease in users of antioxidant vitamin supplements: the Cache County Study. *Arch Neurol* 2004;61:82-88.
- Zhang QH, Huang YH, Hu YZ, Wei GZ, Han XF, Lu SY, Zhao YF. Disruption of estrogen receptor beta in mice brain results in pathological alterations resembling Alzheimer disease. *Acta Pharmacol Sin* 2004;25(4):452-457.
- Zhao RZ, Chen X, Yao Q, Chen C. TNF- α induces interleukin-8 and endothelin-1 expression in human endothelial cells with different redox pathways. *Bioch Biophys Res Commun* 2005; 327: 985-992.

Zlokovic BV, Martel CL, Mackic JB, et al. Brain uptake of circulating apolipoproteins J and E complexed to Alzheimer's amyloid beta. *Biochem Biophys Res Commun* 1994;205:1431–7.

Zlokovic BV, Martel CL, Matsubara E, et al. Glycoprotein 330/megalin: probable role in receptor-mediated transport of apolipoprotein J alone and in a complex with Alzheimer disease amyloid beta at the blood-brain and blood-cerebrospinal fluid barriers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93:4229–34.

Zuliani G, Ranzini M, Guerra G, Rossi L, Munari MR, Zurlo A, Volpato S, Atti AR, Blè A, Fellin R. Plasma cytokines profile in older subjects with late onset Alzheimer's disease or vascular dementia. *J Psychiatr Res* 2007;41(8):686-93.

