

ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΒΙΟΔΕΙΚΤΩΝ ΣΤΗ ΝΟΣΟ PARKINSON – Η ΜΕΛΕΤΗ PPMI (PARKINSON'S PROGRESSION MARKERS INITIATIVE)

Κορός Χ.¹, Σιμιτσιά Α.¹, Παπαγιαννάκης Ν.¹, Παπαδημητρίου Δ.², Σταμέλου Μ.¹, Στεφανής Λ.¹

¹ Β' Πανεπιστημιακή Νευρολογική Κλινική, Νοσοκομείο Αττικών, Ιατρική Σχολή Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών

² Νοσοκομείο «Ερρίκος Ντυνάν»

Περίληψη

Τα τελευταία χρόνια, με τις εξελίξεις στην κατανόηση της παθογένειας της νόσου Parkinson και τις προοπτικές νευροπροστατευτικών θεραπειών, υπάρχει επιτακτική ανάγκη για ανεύρεση βιοδεικτών που θα βοηθήσουν την διάγνωση και την παρακολούθηση της πορείας της νόσου. Οι ανωτέρω βιοδείκτες μπορεί να αφορούν μέτρηση δεικτών σε βιολογικά υλικά, απεικονιστικά ή κλινικά ευρήματα. Στην παρούσα ανασκόπηση, θα αναφερθούμε περισσότερο στους λεγόμενους «wet biomarkers» (υγρούς βιολογικούς δείκτες), και ιδιαίτερα σε αυτούς που ανευρίσκονται στο Εγκεφαλονωτιαίο Υγρό (ENY), χωρίς να παραγνωρίζεται η σημασία άλλων βιολογικών δεικτών. Η μέτρηση της α-συνουκλεΐνης στο ENY αποτελεί έναν εν δυνάμει τέτοιον βιολογικό δείκτη. Η μελέτη PPMI (Parkinson's Progression Markers Initiative) αποτελεί μια κλινική μελέτη παρατήρησης - ορόσημο η οποία έχει ως στόχο να εντοπίσει βιοδείκτες της εξέλιξης της νόσου του Parkinson και να αναπτύξει τη μεγαλύτερη συλλογή κλινικών, απεικονιστικών και βιολογικών δεδομένων που δημιουργήθηκε ποτέ από μια ομάδα ασθενών με νόσο Parkinson. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το σκέλος της μελέτης στο οποίο υπάρχει Ελληνική συμμετοχή και που αφορά ασθενείς με γενετικές μορφές της νόσου, όπως οι φορείς της μετάλλαξης p.A53T στο γονίδιο της α-συνουκλεΐνης και μεταλλάξεων στο GBA1 γονίδιο που κωδικοποιεί την β-γλυκοσινιδάση.

Λέξεις ευρετηρίου: Νόσος Parkinson, βιοδείκτες, α-συνουκλεΐνη, εγκεφαλονωτιαίο υγρό, μελέτη PPMI

BIOMARKERS IN PARKINSON'S DISEASE – THE PPMI STUDY (PARKINSON'S PROGRESSION MARKERS INITIATIVE)

Koros C.¹, Simitsi A.¹, Papagiannakis N.¹, Papadimitriou D.², Stamelou M.¹, Stefanis L.¹

¹ 2nd University Neurology Clinic, Hospital Attikon, Medical School of the national and Kapodistrian University of Athens

² Hospital "Henry Dunant"

Abstract

Given recent advances in the understanding of the pathogenesis of Parkinson's disease and the prospects of neuroprotective therapies, it is imperative to develop novel biomarkers which could facilitate the diagnosis and follow up of afflicted patients. Such biomarkers could involve measurements in biological materials, imaging or clinical markers. In the current review we will focus on wet biomarkers, mainly those involving cerebrospinal fluid (CSF) analysis. Alpha-synuclein CSF levels currently represents a possible biomarker. PPMI study (Parkinson's Progression Markers Initiative) is an observational clinical study - milestone which aims to identify biomarkers for the progression of Parkinson's disease and to develop the largest collection of clinical, imaging and biological data ever created concerning a group of patients with Parkinson's disease. The part of this study (with Greek participation) assessing patients with genetic forms of the disease, such as carriers of the p.A53T mutation in the alpha-synuclein gene and of GBA1 mutations in the gene encoding for beta-glucocerebrosidase is of particular interest.

Key words: Parkinson's disease, biomarkers, a-synuclein, cerebrospinal fluid, PPMI study

Βιοδείκτες

Ένας βιοδείκτης οριζόμενος ως «ένα χαρακτηριστικό το οποίο μετράται αντικειμενικά και αξιολογείται ως ένας δείκτης κανονικών βιολογικών διεργασιών, παθολόγων διεργασιών ή φαρμακολογικών αποκρίσεων σε μία θεραπευτική παρέμβαση» μπορεί να είναι οποιαδήποτε φυσικό χαρακτηριστικό που σχετίζεται με την παρουσία της νόσου (διαγνωστικός δείκτης), ή κάθε χαρακτηριστικό που αλληλάζει την πάροδο του χρόνου με έναν τρόπο που μπορεί να συνδέεται με την εξέλιξη της νόσου (δείκτης προόδου). Δεν υπάρχει προς τον παρόν βιοδείκτης σε θέση να προβλέψει την έναρξη της Νόσου Parkinson (PD) ή να αποτελεί δείκτη εξέλιξης της νόσου που να μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε κλινικές μελέτες (1,2). Τα λάθη στη διάγνωση είναι συχνά στην έναρξη της νόσου. Δεδομένου ότι η κλινική διάγνωση της PD συμβαίνει συνήθως μόνο μετά από την εκκύλιση σημαντικού αριθμού ντοπαμινεργικών νευρώνων της μέλαινας ουσίας, υπάρχει ανάγκη για βιοδείκτες PD που περιλαμβάνουν (α) το πρόδρομο, προκλινικό ή προκινητικό στάδιο, και (β) βιοδείκτες του κινδύνου ή της ευαισθησίας για ανάπτυξη της νόσου (3,4). Μπορεί να αφορούν την κλινική εικόνα, την απεικόνιση, τη γενετική, την πρωτεομική, ή βιοχημικούς παράγοντες ή διάφορους συνδυασμούς αυτών (5). Η αποκλειστική εξάρτηση από την κλινική εκτίμηση για τον εντοπισμό ατόμων με PD παρεμποδίζει την πρόοδο της έρευνας. Περαιτέρω, η πρόοδος και η ανταπόκριση στη θεραπεία προσδιορίζεται κυρίως με τη χρήση ημιποσοτικών κλινικών κλιμάκων, όπως η UPDRS III που επικεντρώνονται σχεδόν αποκλειστικά στα κινητικά συμπτώματα. Η εξάρτηση από την κλινική διάγνωση και τα επακόλουθα προβλήματα έχουν οδηγήσει στην ανάγκη να αλληλάξουν τα κριτήρια για τη διάγνωση και σταδιοποίηση της νόσου. Πρόσθετα κριτήρια θα μπορούσε να συμπεριλαμβάνουν, για παράδειγμα, τα μη κινητικά κλινικά σημεία, όπως την ανοσμία και την διαταραχή του ύπνου REM.

Ένα ευρύ φάσμα υποψήφιων μετρήσεων έχει αξιολογηθεί, που συμπεριλαμβάνει οσφρητικό έλεγχο, ανάλυση ιστών, αίματος και εγκεφαλονωτιαίου υγρού, λειτουργική νευροαπεικόνιση, και έλεγχο γενετικής προδιάθεσης. Στο μέλλον η διάγνωση της PD είναι πιθανό να περιλαμβάνει πολλαπλούς δείκτες, συμπεριλαμβανομένων των κλινικών, εργαστηριακών, των δεικτών της απεικόνισης και της γενετικής. Ο ιδανικός βιοδείκτης θα είναι εύκολα αναπαραγόμενος και τεχνικά εφικτός για τα περισσότερα εργαστήρια, φθηνός, μη επεμβατικός και το πιο σημαντικό ευαίσθητος και ειδικός (6). Στην παρούσα ανασκόπηση, θα αναφερθούμε περισσότερο στους λεγόμενους «wet biomarkers» (υγρούς βιολογικούς δείκτες), και ιδιαίτερα σε αυτούς που ανευρίσκονται στο Εγκεφαλονωτιαίο Υγρό (ENY), χωρίς να παραγνωρίζεται η σημασία άλλων βιολογικών δεικτών.

Ο προσδιορισμός και η ανάπτυξη χρήσιμων βιοδεικτών για τις νευροεκφυλιστικές ασθένειες περιορίζεται από την περιορισμένη πρόσβαση σε νοσούντα ιστό

του εγκεφάλου μέχρι το θάνατο και τη νεκροψία όταν αυτή είναι εφικτή. Δεδομένου ότι δεν υπάρχει κανένα εμπόδιο μεταξύ του ENY και του εγκεφάλου, το υλικό αυτό θεωρείται ιδανικό για την ανεύρεση βιοδεικτών των νευροεκφυλιστικών ασθενειών συμπεριλαμβανομένης της PD (7). Ωστόσο, το ENY δεν είναι τόσο εύκολο προσβάσιμο όσο άλλα σωματικά υγρά όπως το αίμα και τα ούρα, των οποίων η συλλογή θεωρείται σχεδόν μη επεμβατική. Ένας αριθμός υποψηφίων βιομορίων που σχετίζονται με πτυχές της παθολογίας της PD έχουν αξιολογηθεί ως προς την καταλληλότητά τους ως βιοδείκτες (π.χ., neurofilaments νευρονημάτια, νευροδιαβιβαστές, ουρικό οξύ, DJ-1). Μέχρι σήμερα η α-συνουκλεΐνη είναι ένας από τους πιο μελετημένους βιοδείκτες, καθώς συνδέεται στενά με την παθογένεια της νόσου (8,9). Συγκεκριμένα, τα σωμάτια Lewy, που χαρακτηρίζουν παθολογοανατομικά τη νόσο, αποτελούν έγκλειστα πλούσια σε α-συνουκλεΐνη. Εξάλλου, η α-συνουκλεΐνη είναι το πρωτεϊνικό προϊόν του γονιδίου SNCA, μεταλλάξεις του οποίου προκαλούν μονογονιδιακή μορφή νόσου Parkinson (10). Η α-συνουκλεΐνη έχει βρεθεί σε μια ποικιλία βιολογικών υγρών και ιστών από ασθενείς, συμπεριλαμβανομένων του αίματος, των ούρων, του σάλιου, του γαστρεντερικού σωλήνα, του πνευμονογαστρικού νεύρου, των συμπαθητικών γάγγλιων, των αυτόνομων νεύρων του δέρματος, και του υπογνάθιου αδένου (11-13). Υπάρχει σημαντική σύγκλιση όσον αφορά την μέτρηση επιπέδων της α-συνουκλεΐνης στο ENY, αλλά οι μελέτες στις οποίες χρησιμοποιήθηκε ως δείκτης σε άλλα βιολογικά υλικά (περιφερικό αίμα, ούρα, σάλιο) δεν έχουν δώσει σαφή αποτελέσματα. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι υπάρχουν τεχνικά και μεθοδολογικά ζητήματα που σχετίζονται με τη συλλογή και την αποθήκευση των βιολογικών υλικών για τη μέτρηση βιοδεικτών που μπορούν να συμβάλουν στην υψηλού βαθμού μεταβλητότητας των αποτελεσμάτων. Μια τυποποίηση των διαδικασιών μπορεί να βοηθήσει στη μείωση ή την εξάλειψη αυτών των προβλημάτων.

Βιοδείκτες στο ENY

α-συνουκλεΐνη

Η α-συνουκλεΐνη είναι μια πρωτεΐνη 140 αμινοξέων που εντοπίζεται στις προσυναπτικές απολήξεις σε κοντινή θέση με τα συναπτικά κυστίδια. Η α-συνουκλεΐνη υφίσταται μετατροπές όπως ακετυλίωση, φωσφορυλίωση, οξειδωση, γλυκοζυλίωση. Τα σωμάτια Lewy σχηματίζονται από τροποποιημένες μορφές της α-συνουκλεΐνης. In vitro ο σχηματισμός ινιδίων α-συνουκλεΐνης προϋποθέτει τη δημιουργία πρόδρομων ολιγομερών μορφών που είναι τοξικές σε καλλιέργειες νευρωνικών κυττάρων (10,14).

Ολική α-συνουκλεΐνη (t-α-Syn)

Η μεγάλη πλειοψηφία των πρόσφατων μελετών

έχουν δείξει μια ελάττωση της ολικής α-συνουκλεΐνης στην PD σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Επίσης αναφέρεται μείωσή της σε άλλες συνουκλεινοπάθειες όπως η Ατροφία Πολληληπλών συστημάτων (MSA) και η άνοια με σωματια Lewy (DLB), χωρίς καλή διακριτική ικανότητα μεταξύ των νόσων (15-17). Δεν υπάρχει πάντως πλήρης συμφωνία σε αυτό το σημείο, καθώς έχουν αναφερθεί και αυξημένα επίπεδα ολικής α-συνουκλεΐνης στην DLB (18). Κατά τους Mollenhauer και συν. μόνο η ολική α-συνουκλεΐνη και όχι η ολική πρωτεΐνη του Αβ42 αμυλοειδούς διαχώρισαν τα άτομα με PD από τα άτομα ελέγχου ή τα άτομα με νόσο Alzheimer με προγνωστική αξία 91% (16). Ο Parnetti και συν διερεύνησαν αν ο συνδυασμός ολικής α-συνουκλεΐνης με την ολική και τη φωσφορυλιωμένη πρωτεΐνη του μπορεί να βελτιώσουν τη διάκριση της PD από άλλες νευρολογικές νόσους. Βρήκαν μια ανάστροφη συσχέτιση μεταξύ της ολικής α-συνουκλεΐνης και της ολικής πρωτεΐνης του και μειωμένη ειδικότητα της α-συνουκλεΐνης στο ENY ως δείκτη συνουκλεινοπάθειας (ευαισθησία 94%, ειδικότητα 25%) (19).

Ο λόγος t-tau/t-a-Syn και p-tau/t-a-Syn εξετάστηκαν ως πιθανοί βιοδείκτες για την PD (ευαισθησία 89%, ειδικότητα 61%). Ο Shi και συν έδειξαν ότι ο συνδυασμός ολικής α-συνουκλεΐνης και p-tau/t-tau έκανε εφικτό τον διαχωρισμό της PD από την MSA. Στις περισσότερες μελέτες, δεν υπήρχε συσχέτιση της ολικής α-συνουκλεΐνης με την διάρκεια ή την βαρύτητα της νόσου (20).

Οι Mollenhauer και συν και Kang και συν μελέτησαν ασθενείς με PD που δεν είχαν λάβει αγωγή και βρήκαν επίσης ελάττωση στην ολική α-συνουκλεΐνη, απόδειξη ότι το εύρημα δε σχετιζόταν με την επίδραση της ντοπαμινεργικής θεραπείας. Τα υψηλά επίπεδα ολικής α-συνουκλεΐνης στον εγκέφαλο και τα χαμηλά στο ENY πιθανόν αντανακλούν μια παθολογική παγίδευση πρωτεΐνης, ανάλογα με αυτό που συμβαίνει για το Αβ42 αμυλοειδούς στη νόσο Alzheimer (16,21).

Ολιγομερείς μορφές της α-συνουκλεΐνης

Οι Tokuda και συν αξιολόγησαν τις διαλυτές ολιγομερείς μορφές της α-συνουκλεΐνης ως πιθανούς δείκτες της πρώιμης PD και βρήκαν ότι ο λόγος ολιγομερών/ολικής α-συνουκλεΐνης ήταν υψηλότερος σε ασθενείς με PD σε σχέση με την ομάδα ελέγχου και με άλλες νευροεκφυλιστικές νόσους. Ο λόγος ολιγομερών προς ολική α-συνουκλεΐνη είχε ευαισθησία 89% και ειδικότητα 91% για την PD. Αυτά τα ευρήματα επιβεβαιώθηκαν σε δυο νεώτερες μελέτες (22).

Αβ42 αμυλοειδές

Το αμυλοειδές Αβ42 είναι μια πρωτεΐνη 42 αμινοξέων που προέρχεται από την πρωτεολυτική επεξεργασία της πρόδρομης πρωτεΐνης του αμυλοειδούς και αποτελεί ένα σημαντικό συστατικό των αμυλο-

ειδικών πλάκων. Στις περισσότερες μελέτες το Αβ42 είναι σημαντικά μειωμένο στην PD σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου και συσχετίζεται με χειρότερες νοντικές επιδόσεις (20,21,23). Σε άλλες ωστόσο έρευνες δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές (24-26). Οι Compta και συν. συνέλεξαν ENY από 27 άτομα με PD χωρίς άνοια και τους παρακολούθησαν σε μακροπρόθεσμη βάση. Οι ασθενείς που εμφάνισαν άνοια σε διάστημα 18 μηνών είχαν χαμηλότερα επίπεδα Αβ42 αμυλοειδούς σε σχέση με τους ασθενείς που δεν εμφάνισαν άνοια. Οι ασθενείς με DLB είχαν τα χαμηλότερα επίπεδα αμυλοειδούς στο ENY σε σχέση με όλες τις ομάδες που εξετάστηκαν (27). Σε μια μελέτη βρέθηκε ότι τα επίπεδα Αβ42 ήταν συγκρίσιμα στην DLB με αυτά που ανευρίσκονται στη νόσο Alzheimer (28). Υπάρχουν λοιπόν στοιχεία ότι το αμυλοειδές Αβ42, ένας δείκτης της νόσου Alzheimer, μπορεί να προβλέπει την εξέλιξη της νοντικής επιβάρυνσης στην PD, αλλά και να εμφανίζεται σε χαμηλά επίπεδα στην DLB.

Δείκτες νευρωνικής θλάθης Ταυ Ολική και φωσφορυλιωμένη μορφή της πρωτεΐνης του (t-tau and p-tau)

Η πρωτεΐνη του είναι ένα σημαντικό συστατικό των μικροσωληνίσκων. Στην PD οι περισσότερες μελέτες έδειξαν φυσιολογικά επίπεδα της πρωτεΐνης του στο ENY αλλά σε κάποιες έχουν αναφερθεί χαμηλότερα επίπεδα (19,24,29). Στα άτυπα παρκινσονικά σύνδρομα υψηλά επίπεδα ολικής του έχουν βρεθεί στην DLB και χαμηλός λόγος p-tau/t-tau στην MSA και την Προϊούσα Υπερηπρινική Παράλυση (PSP) σε σχέση με την PD (30). Άλλες μελέτες ωστόσο δεν επιβεβαίωσαν τα ανωτέρω αποτελέσματα (20). Η ολική και η φωσφορυλιωμένη μορφή της πρωτεΐνης του πιθανώς θα αποδειχθούν χρήσιμες στη διαφοροδιάγνωση της PD από την νόσο Alzheimer, ειδικά αν χρησιμοποιηθούν σε συνδυασμό με άλλους δείκτες. Η ανάλυση ατελών/συντετμημένων μορφών (truncated) της πρωτεΐνης του σε σχέση με την ολοκληρωμένη μορφή από τους Borroni και συν έδειξε ελάττωση του λόγου αυτού στην PSP σε σχέση με την PD και την ομάδα ελέγχου (31).

Νευροϊνίδια

Τα νευροϊνίδια αποτελούν βασικά δομικά στοιχεία των νευρώνων, στους οποίους διατηρούν το σχήμα των νευραξόνων. Αποτελούνται από τρεις υπομονάδες με διαφορετικό μοριακό βάρος (χαμηλού, μεσαίου και υψηλού βάρους αλυσίδες). Υψηλότερα επίπεδα των νευροϊνιδίων υψηλού μοριακού βάρους (NF-H) βρέθηκαν στο PSP και την MSA σε σύγκριση με την PD, την φλοιοβασική εκφύλιση και την ομάδα ελέγχου (32).

Τα νευροϊνίδια χαμηλού μοριακού βάρους (NF-L) αποτελούν τη ραχοκοκαλιά του κυτταροσκελετού.

Τα αυξημένα επίπεδά τους στο ENY αντανakλούν την αξονική εκφύλιση μεγάλων εμυελίων νευραξόνων. Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει αξιόπιστα αποτελέσματα ως προς τη χρήση τους για τη διαφοροδιάγνωση μεταξύ PD και άτυπων παρκινσονικών συνδρόμων αλληλά όχι ως προς τη διάκριση μεταξύ των άτυπων παρκινσονικών συνδρόμων (29,33). Προοπτικές μετρήσεις στο ENY δεν έδειξαν επίδραση της προόδου της νόσου στα επίπεδα των νευροϊνιδίων χαμηλού μοριακού βάρους στο ENY (34).

Οξίνη ινιδιακή γλαιοακή πρωτεΐνη

Η οξίνη ινιδιακή γλαιοακή πρωτεΐνη (GFAP) είναι μια πρωτεΐνη που εκφράζεται κυρίως στα αστροκύτταρα. Ο Süßmuth και συν έδειξε αυξημένη έκφραση στα παρκινσονικά σύνδρομα σε σχέση με την ομάδα ελέγχου αλληλά δεν υπήρχαν διαφορές μεταξύ της PD και των άλλων παρκινσονικών νοσημάτων (25). Παρόλα αυτά μια άλλη ομάδα βρήκε παραπλήσια επίπεδα της GFAP σε ασθενείς με παρκινσονισμό και άτομα της ομάδας ελέγχου (34).

Οξειδωτικά/αντιοξειδωτικά ένζυμα DJ-1

Η DJ-1 είναι μια πρωτεΐνη με πολλαπλές λειτουργίες. Θεωρείται ότι έχει μια προστατευτική δράση έναντι του οξειδωτικού stress που συμβαίνει στη νευροεκφύλιση. Συσχετίζεται με μια αυτοσωματικά υπολειπόμενη μορφή της νόσου Parkinson (35). Τα αποτελέσματα σχετικά με τη DJ-1 είναι αντιφατικά. Μια μελέτη έδειξε μείωση στα επίπεδα της DJ-1 σε παρκινσονικούς σε σχέση με την ομάδα ελέγχου με ευαισθησία 90% και ειδικότητα 70% (35). Άλλη μελέτη δεν έδειξε διαφορές ανάμεσα στα παρκινσονικά σύνδρομα, ενώ η πιο πρόσφατη ανέδειξε σημαντική αύξηση στην MSA σε σχέση με την PD και την ομάδα ελέγχου (36,37). Η διαγνωστική αξία της DJ-1 αυξήθηκε όταν αυτή συνδυάστηκε με τα επίπεδα της πρωτεΐνης του (35).

8-Hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG)

Η 8-OHdG είναι ένας δείκτης οξείδωσης και μιτοχονδριακής δυσλειτουργίας. Βρέθηκε αυξημένη σε μη ανοϊκούς ασθενείς με PD σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου και υπήρχε μια αρνητική συσχέτιση με τη βαθμολογία στο MMSE (38).

Ουρικό Οξύ

Το ουρικό οξύ αποτελεί ένα ισχυρό ενδογενές αντιοξειδωτικό. Υπάρχουν δεδομένα που συνδέουν χαμηλά επίπεδα ουρικού οξέος στον ορό με την PD (39). Οι Maetzler και συν βρήκαν υψηλά επίπεδα ουρικού οξέος στο ENY στην PD σε σχέση με την DLB (40). Αντίθετα, οι Constantinescu και συν δεν βρήκαν διαφορές ανάμεσα στους παρκινσονικούς και την ομάδα ελέγχου (41).

Δείκτες φλεγμονής

Η Fractalkine είναι μια φλεγμονώδης κυτταροκίνη που δρα σαν νευροτροφικός και αντιαποπτωτικός παράγοντας. Σύμφωνα με μία μελέτη, μπορεί να διαφοροποιήσει την PD από την MSA με ευαισθησία 99% και ειδικότητα 95%. Επίσης ο λόγος fractalkine/Αβ42 συσχετίστηκε με τη βαρύτητα της ασθένειας και την πρόοδο της PD (20). Η Neurosin αποτελεί μια πρωτεΐνη που σχετίζεται με την εξωκυττάρια αποικοδόμηση της α-συνουκλιδίνης. Μια μελέτη που συνέκρινε τα επίπεδα neurosin σε διάφορες συνουκλιδινοπάθειες έδειξε χαμηλότερα επίπεδα στην άνοια με DLB αλληλά όχι διαφοροποίηση με PD (42). Πάντως σαν σύνολο οι συνουκλιδινοπάθειες είχαν σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα neurosin σε σχέση με τη νόσο Alzheimer και την ομάδα ελέγχου.

Η Neprilysin είναι μια μεμβρανική πρωτεΐνη που σχετίζεται με την αποικοδόμηση του αμυλοειδούς. Τα επίπεδά της αναφέρονται ως σημαντικά χαμηλότερα στο ENY στους ασθενείς με DLB σε σχέση με την PD όσο και την ομάδα ελέγχου (43).

Μεταβολίτες κατεχολαμινών

Το ομοβανιλικό οξύ αποτελεί τον κύριο καταβολίτη της ντοπαμίνης ενώ η ξανθίνη αποτελεί τον άμεσο πρόδρομο του ουρικού. Σύμφωνα με μία μελέτη, ο λόγος ομοβανιλικό/ξανθίνη ήταν αυξημένος στους ασθενείς με PD σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου, και υπήρχε συσχέτιση με τη βαρύτητα της νόσου (44). Το δυδροξυφαινυλικό οξύ αποτελεί νευρωνικό μεταβολίτη των κατεχολαμινών και βρέθηκε να είναι μειωμένο στην PD και την MSA σε σχέση με άτομα ελέγχου αλληλά δεν υπήρχαν διαφορές ανάμεσα στις συνουκλιδινοπάθειες (45).

Λυσοσωμική λειτουργία

Δεδομένης της πιθανής σύνδεσης λυσοσωμικής δυσλειτουργίας με την παθογένεια της PD (46), παρουσιάζουν ενδιαφέρον μελέτες όπου μετρώνται λυσοσωμικοί δείκτες σε ασθενείς με τη νόσο. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν αναλύσεις της δραστηριότητας του ενζύμου της β-γλυκοσερεβροσιδάσης, καθώς ασθενείς με ετερόζυγες μεταλλάξεις στο γονίδιο **GBA1**, που κωδικοποιεί την έκφραση της πρωτεΐνης, εμφανίζουν αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης PD, σε μεγάλες διεθνείς μελέτες, αλληλά και στον Ελληνικό πληθυσμό (47-49). Υπάρχουν αντικρουόμενα δεδομένα από δύο μελέτες, όπου αναλύθηκε η ενζυμική δραστηριότητα της β-γλυκοσερεβροσιδάσης στο ENY. Σε μία μελέτη δεν ανευρέθησαν διαφορές (17), ενώ σε μία άλλη η δραστηριότητα της β-γλυκοσερεβροσιδάσης ήταν μειωμένη σε ασθενείς με PD σε σχέση με πληθυσμό ελέγχου (50). Η δεύτερη αυτή μελέτη έδειξε ότι ο συνδυασμός της δραστηριότητας της β-γλυκοσερεβροσιδάσης, του λόγου ολιγομερών/ολικής α συνουκλιδίνης και της

ηλικίας διαχωρίζει καλύτερα την PD από την ομάδα ελέγχου.

Μελέτες δραστηριότητας της β-γλυκοσερεβροσιδάσης σε περιφερικό αίμα ασθενών με PD και μεταλλάξεις στο γονίδιο **GBA1** έδειξαν σημαντική μείωση της δραστηριότητας, της τάξεως του 50%, στους φορείς αυτούς σε σχέση με ομάδα ελέγχου (51,52). Αυτό σημαίνει ότι πιθανώς αυτή η μέτρηση, εάν τυποποιηθεί, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση ασθενών με νόσο Parkinson που φέρουν **GBA1** μεταλλάξεις. Επιπλέον, θα μπορούσε να χρησιμεύσει ως δείκτης απαντητικότητας σε θεραπείες που είναι υπό ανάπτυξη, και βασίζονται στην ευόδωση της δραστηριότητας της γλυκοσερεβροσιδάσης. Όσον αφορά την δραστηριότητα του ενζύμου σε ασθενείς με PD χωρίς μεταλλάξεις στο **GBA1**, τα δεδομένα είναι αντικρουόμενα, καθώς μόνο σε μία από τις δύο προαναφερθείσες μελέτες ανευρέθηκαν σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα δραστηριότητας της γλυκοσερεβροσιδάσης (51,52). Μια πιο συνεκτική εικόνα εμφανίζεται όσον αφορά τα επίπεδα της πρωτεΐνης Hsc70, που αποτελεί ρυθμιστή του λυσοσωμικού μονοπατιού της Αυτοφαγίας Διαμεσολαβούμενης από Σαπερόνες (CMA). Σε δύο ξεχωριστές μελέτες έχουν ανευρεθεί σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα Hsc70 σε περιφερικά μονοκύτταρα ασθενών σε σχέση με ομάδα ελέγχου, κάτι που μπορεί να σχετίζεται με την δυσλειτουργία αυτού του μονοπατιού στην PD (52,53).

Omics

Η πρωτεομική (proteomics) περιλαμβάνει τόσο την ταυτοποίηση όσο και τον ποσοτικό προσδιορισμό του συνολικού περιεχομένου των πρωτεϊνών που υπάρχουν σε ένα βιολογικό δείγμα σε μια δεδομένη στιγμή. Πρόκειται για μια προσέγγιση η οποία παράγει μεγάλες ποσότητες δεδομένων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη σύγκριση διαφόρων νοσημάτων. Η πρωτεομική απαιτεί τον πλήρη διαχωρισμό των πρωτεϊνών, μετέπειτα ανάλυση μέσω φασματομετρίας μάζας και ποσοτικοποίηση των πρωτεϊνών μέσω μιας διαδικασίας προηγμένης επεξεργασίας δεδομένων.

Το περιφερικό αίμα δεν φαίνεται κατάλληλο βιολογικό υγρό για πρωτεομικές μελέτες, δεδομένου ότι χαρακτηρίζεται από μεγάλο εύρος τιμών των διαφόρων πρωτεϊνών, κάτι που εμποδίζει μια ακριβή και αναπαραγώγιμη ανίχνευση των υποψήφιων πρωτεϊνών. Ωστόσο, σε μία μελέτη όπου εφαρμόστηκε η πρωτεομική προσέγγιση σε κύτταρα του περιφερικού αίματος, ένα πάνελ πέντε πρωτεϊνών (κοφιλίνη 1, τροπομυοσίνη, γάμμα-ινωδογόνο, ATP συνθετάση βήτα υπομονάδας και ένα βασικό ακτίνη παραλληλ-γής) βοήθησε τη διάκριση ασθενών με PD από άτομα ελέγχου (54).

Σε μια πρόσφατη μελέτη, μια ομάδα πρωτεϊνών του ENY (συμπεριλαμβανομένης της chromogranin, της προδρόμου πρωτεΐνης του αμυλοειδούς -πρωτεΐνης 1 και της πρωτεΐνης prion) προτάθηκε ως κατάλληλη

μέθοδος για τη διάγνωση και την παρακολούθηση της εξέλιξης της PD (55). Ομοίως, σε μια άλλη μελέτη ένα πιο περιορισμένο σύνολο πρωτεϊνών του ENY (BDNF, Apolipoprotein A, απολιποπρωτεΐνη E, ιντερλευκίνη 8, Αβ 42 αμυλοειδές, β2-μικροσφαιρίνη, πρωτεΐνη δέσμευσης της βιταμίνης D) παρείχε καλή διακριτική ικανότητα για τη διάγνωση της νόσου (56).

Δεν έχουν υπάρξει μέχρι στιγμής μελέτες που να υποστηρίζουν ότι τέτοιες μέθοδοι μπορεί να χρησιμοποιηθούν για την διάγνωση της νόσου σε πρόδρομο στάδιο ή για την παρακολούθηση της εξέλιξής της.

Αντίστοιχα με την πρωτεωμική άλλες μέθοδοι «-omics» (transcriptomics) δεν έχουν δώσει ως τώρα αξιόπιστα αποτελέσματα για τη διαφοροδιάγνωση ασθενών με PD.

Απεικόνιση

Οι τεχνικές νευρο-απεικόνισης, όπως η τομογραφία εκπομπής μονήρους φωτονίου (SPECT), η τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων (PET), η απεικόνιση μαγνητικού συντονισμού (MRI) και η διακρανιακή υπερηχογραφία (TCS) μπορούν να παρέχουν σημαντικές πληροφορίες σχετικά με τη δομή και λειτουργία του εγκεφάλου σε ασθενείς με PD και να χρησιμεύσουν ως συμπλήρωμα στην κλινική εκτίμηση. Δεδομένου ότι αυτές οι προσεγγίσεις είναι μη επεμβατικές μπορούν να εκτιμήσουν επανειλημμένα την ακεραιότητα του ντοπαμινεργικού συστήματος. Σε ορισμένες περιπτώσεις αυτή συσχετίζεται με τη βαρύτητα της νόσου. Όλες οι μέθοδοι, με την εξαίρεση του TCS, είναι ακριβείς, κάτι που περιορίζει την χρησιμότητά τους. Η MRI, η λειτουργική MRI, το SPECT, το PET, καθώς και η διακρανιακή υπερηχογραφία, έχουν χρησιμοποιηθεί σε προσπάθειες να διαφοροποιηθεί η PD από άλλες κινητικές διαταραχές και μπορεί να αυξήσουν τη διαγνωστική ακρίβεια (57,58). Ο διακρανιακός υπερηχος μπορεί να ανιχνεύσει νχογένεια μεγαλύτερης πυκνότητας στο μεσεγκέφαλο με ικανοποιητική ακρίβεια σε ασθενείς με PD. Η υπερηχογένεια στον μεσεγκέφαλο είναι πιθανό να αντανάκλα την αυξημένη περιεκτικότητα σιδήρου στην μέλαινα ουσία των ασθενών με PD, ακόμη και στις αρχές της νόσου, αν και το 10% των υγιών μαρτύρων εμφανίζουν επίσης αυξημένο σήμα (59). Παρά το γεγονός ότι, ο TCS είναι οικονομικά αποδοτικός και ελπιδοφόρος ως πιθανός βιοδείκτης απεικόνισης στην PD, εξαρτάται από την εμπειρία του εξεταστή και απαιτεί επαρκή νχογένεια του οστικού παράθυρου για να επιτευχθεί καλή απεικόνιση. Επίσης, το επίπεδο του νχογόνου σήματος δεν έχει σχέση με τη διάρκεια της νόσου, ούτε μακροχρόνιες μελέτες δείχνουν αυξημένο σήμα με την εξέλιξη της νόσου. Έτσι, η χρησιμότητα του TCS μπορεί να περιορίζεται σε διαφορική διάγνωση στο αρχικό στάδιο της νόσου, ειδικά όταν συνδυάζεται με άλλα πρόδρομα συμπτώματα, όπως η ανοσμία (1,2).

Λειτουργικοί δείκτες / δείκτες συμπεριφοράς

Τα μη κινητικά συμπτώματα της PD πιστεύεται ότι αντικατοπτρίζουν εκφυλισμό σε εγκεφαλικές περιοχές πέραν (και σε πολλές περιπτώσεις πριν) από την απώλεια της ντοπαμινεργικών νευρώνων στη μέλαινα ουσία και περιλαμβάνουν διαταραχές της όσφρησης, του ύπνου, των οπτικο-χωρικών ικανοτήτων, των γνωστικών λειτουργιών, συμπεριλαμβανομένων των μειωμένων εκτελεστικών λειτουργιών, καθώς και της συμπεριφοράς. Δοκιμασίες που στοχεύουν σε αυτά τα συμπτώματα μπορεί να υποδεικνύουν κίνδυνο νόσησης από PD, είναι μη επεμβατικές, μπορεί να είναι οικονομικά αποδοτικές, και να περιλαμβάνουν ορισμένες αξιολογήσεις που μπορεί να γίνουν είτε στο σπίτι ή/και on-line από τους ίδιους τους συμμετέχοντες. Αυτές περιλαμβάνουν τεστ οξύτητας όσφρησης (π.χ., Δοκιμασία Όσφρησης του Πανεπιστημίου της Πενσυλβάνια – UPSIT), το ερωτηματολόγιο διαλογής διαταραχής συμπεριφοράς του ύπνου REM, και εξετάσεις που βασίζονται σε χρήση επιταχυνσιόμετρου. Αυτές οι δοκιμές έχουν χρησιμοποιηθεί σε διάφορες μελέτες και πιθανά είναι αποτελεσματικές για την ανάπτυξη προγραμμάτων προσυμπτωματικού ελέγχου για τον κίνδυνο Πάρκινσον που μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην κοινότητα. Οι βαθμολογίες στα τεστ μπορεί να χρησιμοποιηθούν αυτοτελώς ή μαζί με άλλους παράγοντες κινδύνου (π.χ. ηλικία) με χρήση αλγόριθμων κινδύνου (60, 61). Ωστόσο πολλά από αυτά τα χαρακτηριστικά δεν είναι ειδικά για την PD. Υπάρχουν επίσης ηθικά ζητήματα που σχετίζονται τόσο με ψευδώς θετικά και όσο και ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα.

Η μελέτη PPMI Γενικά στοιχεία

Η μελέτη PPMI (Parkinson's Progression Markers Initiative) αποτελεί μια κλινική μελέτη παρατήρησης - ορόσημο η οποία έχει ως στόχο να εντοπίσει βιοδείκτες της εξέλιξης της νόσου του Parkinson και να αναπτύξει τη μεγαλύτερη συλλογή κλινικών, απεικονιστικών και βιολογικών δεδομένων που δημιουργήθηκε ποτέ από μια ομάδα ασθενών με νόσο Parkinson (62). Τα δεδομένα της μελέτης PPMI και τα ληφθέντα δείγματα είναι δυνατό να καταστούν προσβάσιμα μέσω του ιστοτόπου της μελέτης σε ερευνητές από την ακαδημαϊκή κοινότητα και τη βιομηχανία για περαιτέρω ερευνητικά πρωτόκολλα. Η υποδομή του PPMI αποτελεί με τον τρόπο αυτό ένα νέο μοντέλο στο πεδίο της έρευνας των βιοδεικτών της νόσου Parkinson. Η μελέτη PPMI διεξάγεται σε μεγάλο αριθμό κέντρων (33) στις Ηνωμένες Πολιτείες, την Ευρώπη, το Ισραήλ και την Αυστραλία. Χρηματοδοτείται από το Ίδρυμα Michael J. Fox για την Έρευνα του Parkinson (MJFF) και γίνεται δυνατή με δωρεές στο Ίδρυμα από μια κοινοπραξία φαρμακευτικών εταιριών που στοχεύουν στην ανάπτυξη φαρμάκων για τη νόσο Parkinson.

Δεδομένου ότι η έλλειψη έγκυρων βιοδεικτών για τη νόσο Parkinson και τις πρόδρομες μορφές της έχει καθυστερήσει την ανάπτυξη θεραπειών, υπάρχει αυξανόμενη συναίνεση ότι μια πρωτοβουλία για την ανάπτυξη βιολογικών δεικτών για την εξέλιξη της νόσου και την έγκαιρη διάγνωση είναι αναγκαία και εφικτή. Οι πρόσφατες εξελίξεις στη γενετική, στη νευροβιολογία, στην τεχνολογία μοριακής απεικόνισης και στην ραδιοχημεία έχουν παράσχει νέα εργαλεία που μπορεί να είναι χρήσιμη στην ταυτοποίηση αυτών των βιοδεικτών, που στο μέλλον μπορεί να χρησιμοποιηθούν για περαιτέρω μελέτες των θεραπειών για την τροποποίηση της νόσου. Ο στόχος αυτής της πρωτοβουλίας ανεύρεσης βιοδεικτών είναι να δημιουργηθεί μια κοινοπραξία από ακαδημαϊκά κέντρα, κυβερνητικούς οργανισμούς, ιδρύματα σχετιζόμενα με την PD και φαρμακευτικές και βιοτεχνολογικές εταιρίες που θα εφαρμόσει ένα ολοκληρωμένο πρόγραμμα για τη δημιουργία δεικτών της προόδου PD. Αυτή η στρατηγική έχει χρησιμοποιηθεί με επιτυχία από μια κοινοπραξία των ερευνητών νόσου Alzheimer για την δημιουργία της ADNI, που αποτελεί μία οργανωμένη υποδομή για την ανεύρεση βιοδεικτών εξέλιξης στη νόσο Alzheimer.

Η αποστολή της μελέτης PPMI είναι να ταυτοποιηθούν ένας ή περισσότεροι βιοδείκτες της PD, γεγονός που αποτελεί ένα κρίσιμο βήμα στην ανάπτυξη νέων και καλύτερων θεραπειών για τη νόσο Πάρκινσον. Επιπλέον θα προκύψουν τυποποιημένα δεδομένα της PD και ένα εκτεταμένο βιολογικό αποθετήριο δειγμάτων που θα διατίθενται στην ερευνητική κοινότητα. Επιμέρους ειδικοί στόχοι για την επίτευξη του στόχου αυτού αποτελούν τα εξής: α) Η ανάπτυξη ενός ολοκληρωμένου συνόλου κλινικών δεδομένων, δεδομένων απεικόνισης σε συνδυασμό με τα αντίστοιχα βιολογικά δείγματα που μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε μελέτες επαλήθευσης βιοδεικτών, και β) Η καθιέρωση τυποποιημένων πρωτοκόλλων για την απόκτηση, μεταφορά και ανάλυση των κλινικών/απεικονιστικών και βιολογικών δεδομένων που μπορεί να χρησιμοποιηθούν από την ερευνητική κοινότητα.

Σχεδιασμός μελέτης PPMI

Η πολυκεντρική μελέτη PPMI για την αξιολόγηση της εξέλιξης των κλινικών χαρακτηριστικών, της απεικόνισης και βιολογικών βιοδεικτών στην PD συμπεριλαμβάνει ασθενείς σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες (HC), καθώς και γενετικούς υποτύπους της PD. Έχει σχεδιαστεί να είναι μια οκτάχρονη μελέτη φυσικής ιστορίας (ελάχιστη συμμετοχή 5 ετών) των ασθενών με de novo ιδιοπαθή PD και υγιών μαρτύρων. Περίπου 400 ασθενείς και 200 υγιείς μάρτυρες και άλλες ομάδες που περιγράφονται παρακάτω θα συμμετάσχουν από περίπου 33 κλινικούς χώρους. Όλα τα άτομα θα πρέπει να αξιολογηθούν πλήρως κατά την έναρξη σε δυο επισκέψεις (screening και baseline επίσκεψη) και

κάθε τρεις έως έξι μήνες μετά. Θα υποβληθούν σε κλινικές εκτιμήσεις (κινητικότητα, νευροψυχολογικό έλεγχο) και σε απεικονίσεις και λήψη αίματος, ούρων, και εγκεφαλονωτιαίου υγρού (ENY). Τα δεδομένα θα συλλέγονται από κάθε κέντρο κάτω από ομοιόμορφα καθιερωμένα πρωτόκολλα και τα δεδομένα θα αποθηκεύονται και αναλύονται στις κεντρικές εγκαταστάσεις της μελέτης. Επιπλέον, οι βιοδείκτες θα αξιολογηθούν σε περίπου 60-100 άτομα SWEDD (άτομα με κλινική εικόνα PD αλλά με φυσιολογική λειτουργική απεικόνιση). Μια πρόσθετη ομάδα θα περιλαμβάνει ασθενείς με πρόδρομες εκδηλώσεις της PD (RBD, και/ή υποσμία). Περίπου 100 άτομα θα παρακολουθηθούν σε μια περίοδο 5 ετών.

Όσον αφορά το γενετικό σκέλος της μελέτης, περίπου 1200 άτομα με κάποια από τις μεταλλάξεις σε γονίδια που σχετίζονται με την PD (συμπτωματικοί και ασυμπτωματικοί) θα παρακολουθηθούν σε μια περίοδο 5 ετών. Περίπου 600 από αυτά τα 1200 άτομα θα αξιολογηθούν ως μέρος της ομάδας Genetic Cohort και περίπου 600 θα αξιολογηθούν ως μέρος του ομάδας Genetic Registry. Οι συμμετέχοντες στο Genetic Cohort παρακολουθούνται με τη συχνότητα των ανωτέρω ομάδων της μελέτης (ανά εξάμηνο) ενώ του Genetic Registry θα αξιολογηθούν σε λιγότερο συχνά διαστήματα, με σκοπό να αυξηθεί κατά το δυνατό η στρατολόγηση ασθενών και ασυμπτωματικών φορέων των γονιδίων και με άτομα που δεν επιθυμούν να συμμετέχουν στο εντατικό πρόγραμμα της μελέτης.

Σχετικά με τους ασυμπτωματικούς φορείς των γονιδίων, είναι σημαντικό να τονιστεί ότι έχουν τη δυνατότητα να μη γνωρίζουν το αποτέλεσμα του γονιδιακού ελέγχου εάν δεν το επιθυμούν. Οι τελευταίοι τυχαιοποιούνται και συνεχίζουν τη συμμετοχή τους σε όποιο σκέλος της μελέτης (Genetic Cohort ή Genetic Registry) καταταγούν.

Συνοπτικά οι ομάδες παρακολούθησης έχουν ως εξής:

- Ομάδα De Novo Ασθενών με νόσο Parkinson
- Ομάδα Control
- Ομάδα ασθενών SWEDD
- Ομάδα ατόμων με πρόδρομα συμπτώματα (Υποσμία ή Διαταραχές Ύπνου REM)
- Ομάδα Genetic Cohort (ασθενείς με νόσο Parkinson που φέρουν μεταλλάξεις στα γονίδια SNCA, GBA ή LRRK2 ή ασυμπτωματικοί φορείς)
- Ομάδα Genetic Registry (ασθενείς με νόσο Parkinson που φέρουν μεταλλάξεις στα γονίδια SNCA, GBA ή LRRK2 ή ασυμπτωματικοί φορείς).

Το ακριβές χρονοδιάγραμμα της μελέτης περιγράφεται στους πίνακες 1 και 2.

Γενετικές μορφές νόσου Parkinson στην μελέτη PPMI

Η γενετική βάση της νόσου είναι πλέον αδιαμ-

φισβήτητα για έναν μεγάλο αριθμό ασθενών, που συνήθως έχουν θετικό οικογενειακό ιστορικό, και φέρουν μεταλλάξεις σε γονίδια με αιτιολογική σχέση με την ανάπτυξη της νόσου. Είναι ιδιαίτερα σημαντικό να ανευρεθούν και κοινά και διαφορετικά βιοχημικά μονοπάτια ή άλλοι βιολογικοί δείκτες που μπορεί να αλληλιώνονται στα πλαίσια συγκεκριμένων μεταλλάξεων. Ανεύρεση τέτοιων βιολογικών δεικτών μπορεί να οδηγήσει σε στοχευμένες θεραπείες ανάλογες με το γενετικό υπόβαθρο (φαρμακογενετική). Ακόμη μεγαλύτερη σημασία ενέχουν οι βιοδείκτες για τους ασυμπτωματικούς φορείς, όπου υπάρχει η ελπίδα πρόβλεψης της έναρξης της νόσου σε πρόδρομο στάδιο, κάτι που μπορεί να εφαρμοστεί πιθανώς και στην ιδιοπαθή νόσο.

Στην μελέτη PPMI εξετάζονται κατά κύριο λόγο ασθενείς με μεταλλάξεις στο γονίδιο LRRK2 που προκαλεί αυτοσωματικής κυρίαρχης μεταβίβασης PD, που παρουσιάζεται κατά μέσο όρο σε ηλικία περίπου 60 ετών, όπως και η σποραδική νόσος. Ωστόσο, έχει δείχθει ότι η διεισδυτικότητα δεν είναι πλήρης. Οι εκτιμήσεις της διεισδυτικότητας της μετάλλαξης είναι αμφιλεγόμενες και έτσι η μελέτη PPMI παρέχει μια ευκαιρία να εκτιμήσουμε αυτό το θέμα καλύτερα. Υπάρχει μία κυρίαρχη μετάλλαξη του LRRK2, η G2019S, που έχει βρεθεί σε σημαντικά μεγαλύτερη συχνότητα μεταξύ των ασθενών με Εβραϊκή καταγωγή ή καταγωγή από την Βόρεια Αφρική (63,64). Άλλες παθολογικές μεταλλάξεις περιλαμβάνουν την R1441C και R1441G (πιο διαδεδομένη στη Βόρεια Ισπανία) (65).

Μεταλλάξεις στο γονίδιο *GBA1*, όπως προαναφέρθηκε, οδηγούν σε PD, που παρουσιάζεται κατά μέσο όρο 5-10 έτη πιο πρώιμα σε σχέση με την ιδιοπαθή νόσο. Η διεισδυτικότητα των μεταλλάξεων είναι χαμηλή, κάτι που διαφαίνεται από το γεγονός ότι κατά κανόνα οι ασθενείς φορείς *GBA1* μεταλλάξεων δεν έχουν οικογενειακό ιστορικό (47,66,67). Τα άτομα που είναι ομόζυγα ή σύμπλοκα ετερόζυγα για μεταλλάξεις στο *GBA1* αναπτύσσουν νόσο Gaucher και επιπρόσθετα διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο να αναπτύξουν PD σε σχέση με τους ετεροζυγώτες *GBA1* μεταλλάξεων (68). Αν και υπάρχουν πολλές μεταλλάξεις στο *GBA1* που σχετίζονται με την PD, η μελέτη PPMI, τουλάχιστον κατ' αρχήν, θα επικεντρωθεί σε άτομα με την μετάλλαξη N370S. Αυτή η μετάλλαξη έχει βρεθεί σε σημαντικά μεγαλύτερη συχνότητα μεταξύ των ασθενών Εβραϊκής Ασκένάζι καταγωγής.

Μεταλλάξεις στο γονίδιο της α-συνουκλείνης SNCA, την πρώτη ανευρεθείσα γενετική βάση της PD, οδηγούν στη νόσο με αυτοσωματική κυρίαρχη κληρονομικότητα (69). Η μέση ηλικία έναρξης είναι τα 45 έτη και η διεισδυτικότητα υψηλή, αλλά όχι απόλυτη (70-74). Στην μελέτη PPMI συμμετέχουν ασθενείς ή φορείς κατά κύριο λόγο με την μετάλλαξη p.A53T, που ανευρίσκεται σε άτομα Ελληνικής ή Ιταλικής καταγωγής.

Πίνακας 1. Διαγνωστικός έλεγχος κατά τις αρχικές επισκέψεις

SCREENING VISIT	BASELINE VISIT
ΔΗΜΟΓΡΑΦΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ	ΔΗΜΟΓΡΑΦΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ
ΙΣΤΟΡΙΚΟ (ΓΕΝΙΚΟ ΚΑΙ ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΚΟ)	MDS-UPDRS
ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ	TEST ΟΣΦΡΗΣΗΣ UPSIT
MDS-UPDRS	ΠΛΗΡΗΣ ΝΕΥΡΟΨΥΧΟΛΟΓΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ
TEST MOCA	ΚΛΙΜΑΚΕΣ ΥΠΝΟΥ REM, ΓΙΑ ΚΑΤΑΘΛΙΨΗ-ΑΓΧΟΣ
ΑΙΜΟΛΗΨΙΑ ΓΙΑ ΓΕΝΙΚΗ ΑΙΜΑΤΟΣ-ΒΙΟΧΗΜΙΚΑ-ΠΗΚΤΙΚΟΤΗΤΑ	ΑΙΜΟΛΗΨΙΑ ΓΙΑ ΔΕΙΓΜΑ RNA, ΟΡΟ, ΠΛΑΣΜΑ, ΟΛΙΚΟ ΑΙΜΑ
ΑΙΜΟΛΗΨΙΑ ΓΙΑ ΔΕΙΓΜΑ DNA	ΛΗΨΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΟΥΡΩΝ
ΣΠΙΝΘΕΡΟΓΡΑΦΗΜΑ ΒΑΣΙΚΩΝ ΓΑΓΓΛΙΩΝ DAT SCAN	ΟΣΦΥΟΝΩΤΙΑΙΑ ΠΑΡΑΚΕΝΤΗΣΗ ΚΑΙ ΛΗΨΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ENY

Πίνακας 2. Χρονοδιάγραμμα μελέτης

GENETIC COHORT	GENETIC REGISTRY
Επανάλεγχος ανά 6 μήνες (κλινική εξέταση, κλίμακες, MDS-UPDRS, αιμοληψία, δείγμα ούρων)	Ανά 24 μήνες (κλινική εξέταση, κλίμακες, MDS-UPDRS, αιμοληψία, δείγμα ούρων)
Ανά 12 μήνες επιπλέον οσφυονωτιαία παρακέντηση και πλήρης ΝΨ έλεγχος	Ανά 6 μήνες τηλεφωνική επικοινωνία
Ανά 24 μήνες DAT SCAN	
Τηλεφωνική επικοινωνία μια εβδομάδα μετά το σπινθηρογράφημα και την ΟΝΠ	

Τρέχοντα αποτελέσματα ελληνικής συμμετοχής στη μελέτη PPMI

Ένας ικανός αριθμός συμμετεχόντων έχει στρατολογηθεί στο ελληνικό σκέλος της μελέτης PPMI. Στην υποομάδα των ασθενών με πρόδρομα συμπτώματα της PD (διαταραχή του ύπνου REM), έχουν υποβληθεί σε μελέτη ύπνου και σπινθηρογράφημα βασικών γαγγλίων 4 ασθενείς από τους οποίους ο ένας πληρούσε τα κριτήρια συμμετοχής στη μελέτη και συνεχίζει με ανά τρίμηνο εκτιμήσεις.

Στην ομάδα των γενετικών μορφών με μετάλλαξη p.A53T στο γονίδιο της SNCA έχουν στρατολογηθεί στην υποομάδα Genetic Registry 3 συμπτωματικοί φορείς (1 άνδρας/2 γυναίκες). Στην υποομάδα Genetic Cohort συμμετέχουν 14 συμπτωματικοί φορείς (6 άνδρες/8 γυναίκες) και 3 ασυμπτωματικοί φορείς (1 άνδρας/2 γυναίκες). Η μέση ηλικία των συμπτωματικών φορέων στην αρχική επίσκεψη ήταν 50,4 έτη, η μέση ηλικία έναρξης της νόσου τα 45 έτη και η μέση διάρκεια νόσου τα 5,4 έτη. Η μέση ηλικία των ασυμπτωματικών φορέων ήταν τα 44,7 έτη. Επίσης συμμετέχουν 2 συμπτωματικοί φορείς (1 άνδρας/ 1 γυναίκα) στην υποομάδα των γενετικών μορφών με μετάλλαξη N370S στο γονίδιο της GBA1.

Αναμένεται ότι η ανάλυση βιολογικών δεικτών σε

αυτά τα περιστατικά θα συμβάλει σημαντικά στους ευρύτερους στόχους της μελέτης PPMI. Αποτελεί ιδιαίτερα σημαντική συμβολή η συμμετοχή φορέων της p. A53T SNCA μετάλλαξης, δεδομένης της σπανιότητας μεταλλάξεων στο γονίδιο της α-συνουκλεΐνης διεθνώς.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Miller DB, O'Callaghan JP. Biomarkers of Parkinson's disease: present and future. *Metabolism*. 2015;64(3 Suppl 1):S40-6.
2. Saracchi E, Fermi S, Brighina L. Emerging candidate biomarkers for Parkinson's disease: a review. *Aging Dis*. 2013;5(1):27-34.
3. DeKosky ST, Marek K. Looking backward to move forward: early detection of neurodegenerative disorders. *Science*. 2003; 302:830-4.
4. Scherzer C. Searching for biomarkers of Parkinson's disease. *Biomark Med*. 2009; 3:113-4.
5. Sharma S, Moon CS, Khogali A, Haidous A, Chabenne A, Ojo C, et al. Biomarkers in Parkinson's disease (recent update). *Neurochem Int*. 2013; 63:201-29.
6. Parnetti L, Castrioto A, Chiasserini D, Persichetti E, Tambasco N, El-Agnaf O, et al. Cerebrospinal fluid

- biomarkers in Parkinson disease. *Nat Rev Neurol*. 2013; 9:131–40.
7. Magdalinou N, Lees AJ, Zetterberg H. Cerebrospinal fluid biomarkers in parkinsonian conditions: an update and future directions. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2014;85(10):1065–75.
 8. Mielke MM, Maetzler W. A 'bird's eye' view on the current status and potential benefits of blood biomarkers for Parkinson's disease. *Biomark Med*. 2014; 8:225–7.
 9. Nyhlen J, Constantinescu R, Zetterberg H. Problems associated with fluid biomarkers for Parkinson's disease. *Biomark Med*. 2010; 4:671–81.
 10. Vekrellis K, Xilouri M, Emmanouilidou E, Rideout HJ, Stefanis L. Pathological roles of α -synuclein in neurological disorders. *Lancet Neurol*. 2011;10(11):1015–25.
 11. Eller M, Williams DR. α -Synuclein in Parkinson disease and other neurodegenerative disorders. *Clin Chem Lab Med*. 2011; 49:403–8.
 12. Gelpi E, Navarro-Otano J, Tolosa E, Gaig C, Compta Y, Rey MJ, et al. Multiple organ involvement by alpha-synuclein pathology in Lewy Body disorders. *Mov Disord*. 2013; 00:1–9.
 13. Visanji NP, Marras C, Hazrati LN, Liu LN, Liu LW, Lang AE. Alimentary, my dear Watson? The challenges of enteric α -synuclein as a Parkinson's disease biomarker. *Mov Disord*. 2014; 29:444–50.
 14. Conway KA, Lee S-J, Rochet J-C, et al. Acceleration of oligomerization, not fibrillization, is a shared property of both alpha-synuclein mutations linked to early-onset Parkinson's disease: implications for pathogenesis and therapy. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:571–6.
 15. Tateno F, Sakakibara R, Kawai T, et al. Alpha-synuclein in the cerebrospinal fluid differentiates synucleinopathies (Parkinson Disease, dementia with Lewy bodies, multiple system atrophy) from Alzheimer disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 2012;26:213–16.
 16. Mollenhauer B, Locascio JJ, Schulz-Schaeffer W, et al. α -Synuclein and tau concentrations in cerebrospinal fluid of patients presenting with parkinsonism: a cohort study. *Lancet Neurol* 2011;10:230–40.
 17. van Dijk KB, Weiss M, Raijmakers A, et al. Reduced α -synuclein levels in cerebrospinal fluid in Parkinson's disease are unrelated to clinical and imaging measures of disease severity. *Eur J Neurol* 2013;3:388–94.
 18. Kapaki E, Paraskevas GP, Emmanouilidou E, Vekrellis K. The diagnostic value of CSF α -synuclein in the differential diagnosis of dementia with Lewy bodies vs. normal subjects and patients with Alzheimer's disease. *PLoS One*. 2013;8(11):e81654.
 19. Parnetti L, Chiasserini D, Bellomo G, et al. Cerebrospinal fluid Tau/ α -synuclein ratio in Parkinson's disease and degenerative dementias. *Mov Disord* 2011;26:1428–35.
 20. Shi M, Bradner J, Hancock AM, et al. Cerebrospinal fluid biomarkers for Parkinson's disease diagnosis and progression. *Ann Neurol* 2011;69:570–80.
 21. Kang JH, Irwin DJ, Chen-Plotkin AS, et al. Association of cerebrospinal fluid β -Amyloid 1–42, T-tau, P-tau 181, and α -synuclein levels with clinical features of drug-naive patients with early Parkinson's disease. *JAMA Neurol* 2013;10:1277–87.
 22. Tokuda T, Qureshi MM, Ardah MT, et al. Detection of elevated levels of α -synuclein oligomers in CSF from patients with Parkinson's disease. *Neurology* 2010;75:1766–70.
 23. Alves G, Bronnick K, Aarsland D, et al. CSF amyloid- β and tau proteins, and cognitive performance, in early and untreated Parkinson's Disease: the Norwegian ParkWest study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2010;81:1080–6.
 24. Montine TJ, Shi M, Quinn JF, et al. CSF A β (42) and tau in Parkinson's disease with cognitive impairment. *Mov Disord* 2010;25:2682–5.
 25. Sussmuth SD, Uttner I, Landwehrmeyer B, et al. Differential pattern of brain-specific CSF proteins tau and amyloid-beta in Parkinsonian syndromes. *Mov Disord* 2010;25:1284–8.
 26. Ohrfelt A, Grognet P, Andreasen N, et al. Cerebrospinal fluid alpha-synuclein in neurodegenerative disorders-a marker of synapse loss? *Neurosci Lett* 2009;450:332–5.
 27. Compta Y, Pereira JB, Rios J, et al. Combined dementia-risk biomarkers in Parkinson's disease: A prospective longitudinal study. *Parkinsonism Relat Disord* 2013;19:717–24.
 28. Schoonenboom NS, Reesink FE, Verwey NA, et al. Cerebrospinal fluid markers for differential dementia diagnosis in a large memory clinic cohort. *Neurology* 2012;78:47–54.
 29. Hall S, Ohrfelt A, Constantinescu R, et al. Accuracy of a panel of 5 cerebrospinal fluid biomarkers in the differential diagnosis of patients with dementia and/or Parkinsonian disorders. *Arch Neurol* 2012;69:1445.
 30. Andersson M, Zetterberg H, Minthon L, et al. The cognitive profile and CSF biomarkers in dementia with Lewy bodies and Parkinson's disease dementia. *Int J Geriatr Psychiatry* 2011;26:100–5.
 31. Borroni B, Malinverno M, Gardoni F, et al. Tau forms in CSF as a reliable biomarker for progressive supranuclear palsy. *Neurology* 2008;71:1796–803.
 32. Brettschneider J, Petzold A, Sussmuth SD, et al. Neurofilament heavy-chain NfH (SMI35) in

- cerebrospinal fluid supports the differential diagnosis of Parkinsonian syndromes. *Mov Disord* 2006;21:2224–7.
33. Bech S, Hjermind LE, Salvesen L, et al. Amyloid-related biomarkers and axonal damage proteins in parkinsonian syndromes. *Parkinsonism Related Disord* 2012;18:69–72.
 34. Constantinescu R, Rosengren L, Johnels B, et al. Consecutive analyses of cerebrospinal fluid axonal and glial markers in Parkinson's disease and atypical parkinsonian disorders. *Parkinsonism Relat Disord* 2010;16:142–5.
 35. Hong Z, Chung KA, Quinn JF, et al. DJ-1 and α -synuclein in human cerebrospinal fluid as biomarkers of Parkinson's disease. *Brain* 2010;133:713–26.
 36. Salvesen L, Bech S, Lokkegaard A, et al. The DJ-1 concentration in cerebrospinal fluid does not differentiate among parkinsonian syndromes. *Parkinsonism Relat Disord* 2012;18:899–901.
 37. Herbert MK, Eeftens JM, Aerts MB, et al. CSF levels of DJ-1 and tau distinguish MSA patients from PD patients and controls. *Parkinsonism Relat Disord* 2013;1:1–4.
 38. Gmitterová K, Heinemann U, Gawinecka J, Varges D, Ciesielczyk B, Valkovic P, et al. 8-OHdG in cerebrospinal fluid as a marker of oxidative stress in various neurodegenerative diseases. *Neurodegener Dis*. 2009;6(5-6):263-9.
 39. Annanmaki T, Muuronen A, Murros K. Low plasma uric acid level in Parkinson's disease. *Mov Disord* 2007;22:1133–7.
 40. Maetzler W, Stapf AK, Schulte C, et al. Serum and cerebrospinal fluid uric acid levels in lewy body disorders: associations with disease occurrence and amyloid-beta pathway. *J Alzheimers Dis* 2011;27:119–26.
 41. Constantinescu R, Andreasson U, Holmberg B, et al. Serum and cerebrospinal fluid urate levels in synucleinopathies versus tauopathies. *Acta Neurol Scand* 2013;127: e8–12.
 42. Wennström M, Surova Y, Hall S, et al. Low CSF Levels of both α -synuclein and the α -synuclein cleaving enzyme neurosin in patients with synucleinopathy. *PLoS ONE* 2013;8:e53250.
 43. Maetzler W, Stoycheva V, Schmid B, et al. Neprilysin activity in cerebrospinal fluid is associated with dementia and amyloid-beta42 levels in Lewy body disease. *J Alzheimers Dis* 2010;22:933–8.
 44. LeWitt P, Schultz L, Auinger P, et al. CSF xanthine, homovanillic acid, and their ratio as biomarkers of Parkinson's disease. *Brain Res* 2011;1408:88–97.
 45. Goldstein DS, Holmes C, Sharabi Y. Cerebrospinal fluid biomarkers of central catecholamine deficiency in Parkinson's disease and other synucleinopathies. *Brain* 2012;135:1900–13.
 46. Xilouri M, Brekk OR, Stefanis L. Autophagy and Alpha-Synuclein: Relevance to Parkinson's Disease and Related Synucleopathies. *Mov Disord*. 2016;31(2):178-92.
 47. Sidransky E, Samaddar T, Tayebi N. Mutations in GBA are associated with familial Parkinson disease susceptibility and age at onset. *Neurology*. 2009;73(17):1424-5
 48. Moraitou M, Hadjigeorgiou G, Monopolis I, Dardiotis E, Bozi M, Vassilatis D, et al. β -Glucocerebrosidase gene mutations in two cohorts of Greek patients with sporadic Parkinson's disease. *Mol Genet Metab*. 2011;104(1-2):149-52
 49. Bozi M, Papadimitriou D, Antonellou R, Moraitou M, Maniati M, Vassilatis DK, et al. Genetic assessment of familial and early-onset Parkinson's disease in a Greek population. *Eur J Neurol*. 2014;21(7):963-8.
 50. Parnetti L, Chiasserini D, Persichetti E, et al. Cerebrospinal fluid lysosomal enzymes and alpha-synuclein in Parkinson's disease. *Mov Disord* 2014. Jul;29(8):1019-27.
 51. Alcalay RN, Levy OA, Waters CC, Fahn S, Ford B, Kuo SH et al. Glucocerebrosidase activity in Parkinson's disease with and without GBA mutations. *Brain*. 2015;138(Pt 9):2648-58.
 52. Papagiannakis N, Xilouri M, Koros C, Stamelou M, Antonellou R, Maniati M, et al. Lysosomal alterations in peripheral blood mononuclear cells of Parkinson's disease patients. *Mov Disord*. 2015;30(13):1830-4.
 53. Sala G, Stefanoni G, Arosio A, Riva C, Melchionda L, Saracchi E, et al. Reduced expression of the chaperone-mediated autophagy carrier hsc70 protein in lymphomonocytes of patients with Parkinson's disease. *Brain Res*. 2014;1546:46-52.
 54. Mila S, Albo AG, Corpillo D, Giraudo S, Zibetti M, Bucci EM, et al. Lymphocyte proteomics of Parkinson's disease patients reveals cytoskeletal protein dysregulation and oxidative stress. *Biomark Med*, 2009. 3: 117-128.
 55. Abdi F, Quinn JF, Jankovic J, McIntosh M, Leverenz JB, Peskind E, Nixon R, Nutt J, Chung K, Zabetian C, Samii A, Lin M, Hattar S, Pan C, Wang Y, Jin J, Zhu D, Li GJ, Liu Y, Waichunas D, Montine TJ and Zhang J Detection of biomarkers with a multiplex quantitative proteomic platform in cerebrospinal fluid of patients with neurodegenerative disorders. *J Alzheimers Dis*. 2006; 9: 293-348.
 56. Zhang J, Sokal I, Peskind ER, Quinn JF, Jankovic J, Kenney C, Chung KA, Millard SP, Nutt JG and Montine TJ CSF multianalyte profile distinguishes Alzheimer and Parkinson diseases. *Am J Clin Pathol*, 2008;129: 526-529.
 57. Berg D, Godau J, Walter U. Transcranial

- sonography in movement disorders. *Lancet Neurol.* 2008; 7:1044–55.
58. Tuite PJ, Mangia S, Michaeli S. Magnetic resonance imaging (MRI) in Parkinson's disease. *J Alzheimers Dis Res.* 2013; S1:001.
 59. Sanzaro E, Iemolo F. Transcranial sonography in movement disorders: an interesting tool for diagnostic perspectives. *Neurol Sci.* 2016;37(3):373–82.
 60. Liepelt-Scarfone I, Gauss K, Maetzler W, Muller K, Fruhmann Berger W, et al. Evaluation of progression markers in the premotor phase of Parkinson's disease: the progression markers in the premotor phase study. *Neuroepidemiology.* 2013; 41:174–82.
 61. Noyce AJ, Bestwick JP, Silveira-Moriyama L, Hawkes CH, Hardy J, et al. PREDICT-PD: identifying risk of Parkinson's disease in the community: methods and baseline results. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2013;1–7.
 62. Parkinson Progression Marker Initiative. The Parkinson Progression Marker Initiative (PPMI). *Prog Neurobiol.* 2011;95(4):629–35.
 63. Inzelberg R, Hassin-Baer S, Jankovic J. Genetic movement disorders in patients of Jewish ancestry. *JAMA Neurol.* 2014;71(12):1567–72.
 64. Benamer HT, de Silva R. LRRK2 G2019S in the North African population: a review. *Eur Neurol.* 2010;63(6):321–5.
 65. Mata IF, Hutter CM, González-Fernández MC, de Pancorbo MM, Lezcano E, Huerta C, et al. Lrrk2 R1441G-related Parkinson's disease: evidence of a common founding event in the seventh century in Northern Spain. *Neurogenetics.* 2009;10(4):347–53.
 66. Kumar KR, Ramirez A, Göbel A, Kresojević N, Svetel M, Lohmann K, M Sue C, Rolfs A, Mazzulli JR, Alcalay RN, Krainc D, Klein C, Kostic V, Grünewald A. Glucocerebrosidase mutations in a Serbian Parkinson's disease population. *Eur J Neurol.* 2013;20(2):402–5.
 67. Lesage S, Anheim M, Condroyer C, Pollak P, Durif F, Dupuits C, Viallet F, Lohmann E, Corvol JC, Honoré A, Rivaud S, Vidailhet M, Dürr A, Brice A; French Parkinson's Disease Genetics Study Group. Large-scale screening of the Gaucher's disease-related glucocerebrosidase gene in Europeans with Parkinson's disease. *Hum Mol Genet.* 2011;20(1):202–10.
 68. Neudorfer O, Giladi N, Elstein D, Abrahamov A, Turezkite T, Aghai E, Reches A, Bembi B, Zimran A. Occurrence of Parkinson's syndrome in type I Gaucher disease. *QJM.* 1996;89(9):691–4.
 69. Polymeropoulos MH, Lavedan C, Leroy E, Ide SE, Dehejia A, Dutra A, Pike B, et al. Mutation in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science* 1997; 276:2045–2047.
 70. Bostantjopoulou S, Katsarou Z, Papadimitriou A, et al. Clinical features of parkinsonian patients with the alpha-synuclein (G209A) mutation. *Mov Disord* 2001; 16:1007–1013.
 71. Papapetropoulos S, Ellul J, Paschalis C, Athanassiadou A, Papadimitriou A, Papapetropoulos T. Clinical characteristics of the alpha-synuclein mutation (G209A)-associated Parkinson's disease in comparison with other forms of familial Parkinson's disease in Greece. *European journal of neurology: the official journal of the European Federation of Neurological Societies.* 2003;10(3):281–6.
 72. Papapetropoulos S, Paschalis C, Athanassiadou A, Papadimitriou A, Ellul J, Polymeropoulos MH, et al. Clinical phenotype in patients with alpha-synuclein Parkinson's disease living in Greece in comparison with patients with sporadic Parkinson's disease. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry.* 2001;70(5):662–5.
 73. Kasten M, Klein C. The many faces of alpha-synuclein mutations. *Mov Disord.* 2013;28(6):697–701.
 74. Papadimitriou D, Antonelou R, Miligkos M, Maniati M, Papagiannakis N, Bostantjopoulou S, et al. Motor and Nonmotor Features of Carriers of the p.A53T Alpha-Synuclein Mutation: A Longitudinal Study. *Mov Disord.* 2016 Mar 29. doi: 10.1002/mds.26615.