

## Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ ΣΤΗ ΝΟΣΟ ΑΛΤΣΧΑΙΜΕΡ: ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

Αγγελική Μαθιούδη<sup>1</sup>, Ευφροσύνη Κουτσουράκη<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Ιατρικό Τμήμα Σχολής Επιστημών Υγείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης (Α.Π.Θ.), Θεσσαλονίκη

<sup>2</sup> Α' Νευρολογική Κλινική Α.Π.Θ., Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Θεσσαλονίκης ΑΧΕΠΑ, Θεσσαλονίκη

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο εγκέφαλος είναι ιδιαίτερα ευαίσθητος στο οξειδωτικό στρες και αυτό οδηγεί, με την πρόοδο της ηλικίας, σε εκτεταμένες βλάβες από τη δημιουργία τοξικών προϊόντων όπως τοξικά επίπεδα μετάλλων, βλάβη του DNA και ελλείμματα στον μεταβολισμό των πρωτεϊνών. Στη νόσο του Αλτσχάιμερ (AD) ανιχνεύονται στον εγκέφαλο υψηλές ποσότητες ενεργών ειδών οξυγόνου και βιοδραστικών μετάλλων όπως ο χαλκός, ο σίδηρος, ο ψευδάργυρος και το μαγνήσιο, τα οποία μπορούν να οδηγήσουν στη συσσώρευση β-αμυλοειδούς στις πλάκες και πρωτεΐνης ταυ στα νευροϊνιδιακά τοιλήγια.

Ο σκοπός της εργασίας είναι να παρουσιάσουμε πρόσφατα βιβλιογραφικά δεδομένα σχετικά με το ρόλο του οξειδωτικού στρες στην εξέλιξη της γήρανσης και της νόσου Αλτσχάιμερ, ξεκινώντας με την παραγωγή των αντιδραστικών ειδών του οξυγόνου ως υποπροϊόντα της μιτοχονδριακής αναπνοής.

Το οξειδωτικό στρες παίζει βασικό ρόλο στην AD κυρίως μέσω της παραγωγής των ελευθέρων ριζών που παράγονται από τα δυσλειτουργικά μιτοχόνδρια ως υποπροϊόν της αναπνοής οδηγώντας σε βλάβη του DNA, κυρίως του μιτοχονδριακού, που υπερβαίνει κατά πολύ τη βλάβη στον ηλικιωμένο εγκέφαλο. Η δυσλειτουργική επιδιόρθωση του DNA συμβάλλει περαιτέρω στην εξέλιξη της νόσου. Το οξειδωτικό στρες μπορεί επιπλέον να προκαλέσει επιγενετικές τροποποιήσεις.

Οι συνδυασμοί αντιοξειδωτικών θεραπειών, δίνοντας προσοχή στη δοσολογία και τη διάρκεια της θεραπείας αφού κάποιες φορές περιγράφονται και αρνητικά αποτελέσματα, διατροφή πλούσια σε αντιοξειδωτικά, ο υγιεινός τρόπος ζωής, και η σωματική άσκηση πρέπει να εφαρμόζονται με προσεκτικό τρόπο ώστε να αποβούν ωφέλιμα.

**ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ:** οξειδωτικό στρες, γήρανση, νόσος Αλτσχάιμερ, μιτοχόνδρια, ελεύθερες ρίζες

## THE ROLE OF OXIDATIVE STRESS IN ALZHEIMER'S DISEASE: A REVIEW

Angeliki Mathioudi<sup>1</sup>, Effrosyni Koutsouraki<sup>2</sup>

<sup>1</sup> School of Medicine, Faculty of Health Sciences, Aristotle University, Thessaloniki, Greece

<sup>2</sup> First Department of Neurology, Aristotle University, AHEPA General University Hospital, Thessaloniki, Greece

### ABSTRACT

The brain is particularly susceptible to oxidative stress, and this leads to widespread damage from the generation of toxic products associated with aging such as toxic metal levels, DNA damage, and deficits in protein metabolism. In Alzheimer's disease (AD) high amounts of reactive oxygen species and bioactive metals such as copper, iron, zinc, and magnesium are detected in the brain, which can lead to the accumulation of β-amyloid in plaques and tau protein in neurofibrillary tangles.

The purpose of this paper is to provide a **review** of the literature on the role of oxidative stress in the progression of aging and Alzheimer's disease, starting with the production of reactive oxygen species as byproducts of mitochondrial respiration.

Oxidative stress plays a key role in Alzheimer's disease mainly through the production of free radicals produced by dysfunctional mitochondria as a by-product of respiration, leading to DNA damage, mainly mitochondrial, that far exceeds the damage in the aged brain. Dysfunctional DNA repair further contributes to disease progression. Oxidative stress can additionally induce epigenetic modifications. Antioxidant treatments affect cognition in both aging and Alzheimer's disease.

Combinations of antioxidant treatments with caution to dosage and duration of treatment since negative effects are sometimes described, a diet rich in antioxidants, a healthy lifestyle, and physical exercise must be applied carefully to be beneficial.

**KEYWORDS:** oxidative stress, aging, Alzheimer's disease, mitochondria, free radicals

**ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ (ABBREVIATIONS)**

5hmC: 5-υδροξυμεθυλοκυτοσίνη  
 5mC: 5-μεθυλοκυτοσίνη  
 AD: νόσος Αλτσχάιμερ  
 AEBP1: πρωτεΐνη δέσμησης- ενισχυτής λιποκυττάρων 1  
 AOPP: προϊόντα προηγμένης πρωτεϊνικής οξειδωσής  
 BDNF: νευροτρόφος παράγοντας που προέρχεται από τον εγκέφαλο  
 CRM: μίμηση θερμιδικού περιορισμού  
 CSF: εγκεφαλονωτιαίο υγρό  
 DRP1: σχετιζόμενη με τη δυναμίνη πρωτεΐνη 1  
 DSBs: θραύσματα διπλού κλώνου  
 GPX: υπεροξειδάση γλυταθειόνης  
 GR: αναγωγή γλυταθειόνης  
 GSSG: δισουλφίδιο γλυταθειόνης  
 IEG: άμεσο πρώιμο γονίδιο  
 MCI: ήπια γνωστική διαταραχή  
 MnSOD: υπεροξειδική δισμουτάση του Μαγγανίου  
 NACN: ακετυλο-Ι-κυστεΐνη  
 NMN: μονονουκλεοτίδιο νικοτιναμίδιου  
 NQO1NAD(P)H: κινίνη οξειδοαναγωγή 1  
 Nrf2: πυρηνικός παράγοντας ερυθροειδούς 2  
 PCSK1/2: κονβερτάση πρωτεΐνης 1 και 2  
 PKS: καταλυτικές υπομονάδες πρωτεϊνικής κινάσης  
 ROS: αντιδραστικές ρίζες οξυγόνου  
 SAMP8: επιταχυνόμενη γήρανση 8  
 SIRT: σιρτουΐνη  
 SOD: υπεροξειδική δισμουτάση  
 SSBs: θραύσματα μονού κλώνου  
 STZ: στρεπτοζοτοκίνη  
 mCAT: μιτοχονδριακή καταλάση  
 mtDNA: μιτοχονδριακό DNA  
 p-AMPK: μονοφωσφορική πρωτεϊνική κινάση φωσφο-αδενοσίνης

**ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

Η νόσος Αλτσχάιμερ (AD) αποτελεί την πιο συχνή νευροεκφυλιστική ασθένεια, είναι συχνότερη στις γυναίκες και ο επιπολασμός της αυξάνεται με την ηλικία. Στο ηλικιακό φάσμα 65-69, αφορά περίπου το 10% του πληθυσμού και σε άνω των 85 σχεδόν το 33%. Στη χώρα μας, εκτιμάται ότι υπάρχουν πάνω από 150.000 άτομα που παρουσιάζουν κάποια μορφή άνοιας και η AD αποτελεί τουλάχιστον το 60% αυτών.

Οι ελεύθερες ρίζες και το οξειδωτικό στρες εμπλέκονται σε μεγάλο βαθμό στη διαδικασία γήρανσης, καθώς και σε ασθένειες που σχετίζονται με την προχωρημένη ηλικία, όπως η νόσος Αλτσχάιμερ.<sup>[1-3]</sup> Καθώς ο πληθυσμός συνεχίζει να γηράσκει, οι ασθενείς με AD θα αυξάνονται, καθιστώντας κρίσιμη την ανακάλυψη αποτελεσματικών θεραπειών για το οξειδωτικό στρες. Οι ελεύθερες ρίζες επηρεάζουν περισσότερο το κεντρικό νευρικό σύστημα, το οποίο καταναλώνει το 20% του οξυγόνου του σώματος και του οποίου οι νευρώνες είναι μη διαιρούμενα κύτταρα, εύηλα στο

οξειδωτικά στρες.<sup>[4]</sup> Επιπλέον, τα μιτοχόνδρια στους προσυναπτικούς νευρώνες εκτίθενται σε υψηλά επίπεδα ασβεστίου, επιταχύνοντας τη συναπτική οξειδωτική βλάβη.<sup>[3]</sup> Η ευαισθησία του εγκεφάλου στο οξειδωτικό στρες οδηγεί σε αύξηση των οξειδωτικών βιοδεικτών με την ηλικία, συμπεριλαμβανομένων των τοξικών επιπέδων των μετάλλων, της βλάβης του DNA και των ελλειμμάτων στον μεταβολισμό των πρωτεϊνών.<sup>[5]</sup> Ο εγκέφαλος AD χαρακτηρίζεται από περίσσεια αντιδραστικών ειδών οξυγόνου (ROS) και βιοδραστικών μετάλλων όπως ο χαλκός, ο σίδηρος, ο ψευδάργυρος και το μαγνήσιο, τα οποία μπορούν να προωθήσουν τη συσσώρευση του β-αμυλοειδούς σε πλάκες και της πρωτεΐνης ταυ στα νευροϊνιδιακά τοιχώρια.<sup>[6-8]</sup>

**ΣΚΟΠΟΣ**

Στην παρούσα εργασία, παρουσιάζουμε πρόσφατα βιβλιογραφικά δεδομένα σε πειραματικά μοντέλα και ανθρώπους σχετικά με το ρόλο του οξειδωτικού στρες στην εξέλιξη της γήρανσης και της AD, ξεκινώντας με την παραγωγή ROS ως υποπροϊόντα της μιτοχονδριακής αναπνοής. Στη συνέχεια παρουσιάζουμε τις επιδράσεις των οξειδωτικών στρεσογόνων παραγόντων στο DNA μέσω τόσο άμεσων όσο και επιγενετικών μηχανισμών. Τέλος, εξετάζουμε τις τρέχουσες θεραπευτικές αγωγές για το οξειδωτικό στρες (αντιοξειδωτικά, μιμητικά θερμιδικού περιορισμού και σωματική δραστηριότητα) και την ικανότητά τους να μειώνουν το οξειδωτικό στρες τόσο στον ηλικιωμένο εγκέφαλο όσο και στον εγκέφαλο που παρουσιάζει νευροεκφύλιση.

**ΣΥΖΗΤΗΣΗ*****Το οξειδωτικό στρες ως υποπροϊόν της μιτοχονδριακής αναπνοής***

Τα μιτοχόνδρια είναι η κύρια πηγή του νευρωνικού οξειδωτικού στρες, καθώς οι περισσότερες ελεύθερες ρίζες παράγονται ως υποπροϊόντα της οξειδωτικής φωσφορύλιωσης. Το υπεροξείδιο του υδρογόνου είναι ένα υποπροϊόν της μιτοχονδριακής αναπνοής που παράγεται από οξυγόνο όταν υπάρχει περίσσεια τριφωσφορική αδενοσίνη (ATP) και όταν η μεταφορά ηλεκτρονίων μειώνεται.<sup>[9]</sup> Η δισμουτάση του υπεροξειδίου μπορεί στη συνέχεια να μετατρέψει το οξυγόνο σε υπεροξείδιο του υδρογόνου, το οποίο διασπάται περαιτέρω σε ρίζες υδροξυλίου και ανιόντα από την αντίδραση Fenton.<sup>[10]</sup> Οι μιτοχονδριακές ROS μπορούν να οδηγήσουν σε οξειδοαναγωγική ανισορροπία, νευροτοξικότητα, γονιδιωματική αστάθεια, προφλεγμονώδη μεταγραφή γονιδίων και απελευθέρωση κυτοκινών, όπως IL-1, IL-6 και TNFα. Σε έναν θετικό κύκλο ανάδρασης, τα είδη ROS μπορούν να βλάψουν και να αδρανοποιήσουν τμήματα της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων, οδηγώντας στην περαιτέρω μείωση των ηλεκτρονίων του οξυγόνου στο υπεροξείδιο.<sup>[11]</sup> Οι

μιτοχονδριακές ROS είναι ιδιαίτερα επιβλαβείς για το μιτοχονδριακό DNA (mtDNA), το οποίο δεν προστατεύεται από ιστόνες και μεταλλάσσεται σε υψηλότερο ρυθμό. Η συχνή βλάβη στο mtDNA βλάπτει σοβαρά τη λειτουργία των νευρώνων, καθιστώντας κρίσιμη την αφαίρεση των δυσλειτουργικών μιτοχονδρίων μέσω μιτοφαγίας.<sup>[12]</sup> Η μιτοφαγία είναι η καταστροφή των μιτοχονδρίων λόγω σημάτων όπως η πείνα ή το οξειδωτικό στρες. Το οξειδωτικό στρες μπορεί να προκαλέσει μιτοφαγία μειώνοντας το δυναμικό της μιτοχονδριακής μεμβράνης, αλλά μπορεί επίσης να ελαττώσει τη μιτοφαγία αλληλεπιδρώντας με τους ρυθμιστές της. Η παρκίνη (PARK), ένας βασικός ρυθμιστής μιτοφαγίας που εμπλέκεται στη νόσο του Parkinson, μπορεί να είναι S νιτροζυλιωμένη από ROS, αναστέλλοντάς την και εμποδίζοντας την απομάκρυνση των δυσλειτουργικών μιτοχονδρίων. Ο κεντρικός ρόλος των μιτοχονδρίων στην παραγωγή ROS έχει οδηγήσει σε μια θεωρία της γήρανσης που συνδυάζει τις ROS, τη βλάβη του DNA και τις μιτοχονδριακές βλάβες.<sup>[13]</sup> Η θεωρία αυτή υποστηρίζει ότι η βλάβη του DNA ενεργοποιεί τις κινάσες και την PARK, οι οποίες καταστρέφουν τα επίπεδα δινουκλεοτιδίου νικοτιναμίδης αδενίνης (NAD+), το οποίο αποτελεί συμπράγοντα για πολλούς μεταβολικές οδούς και δότη στην παραγωγή ATP. Η μείωση του NAD+ αυξάνει την ανάγκη για κατανάλωση οξυγόνου και παραγωγή ATP, προκαλώντας σύζευξη των μιτοχονδρίων σε μια προσπάθεια κάλυψης υψηλών ενεργειακών απαιτήσεων. Η μιτοχονδριακή σύζευξη αυξάνει το δυναμικό της μεμβράνης, μειώνει τη μιτοφαγία και αυξάνει τις ελεύθερες ρίζες, προκαλώντας περαιτέρω βλάβη στο DNA.<sup>[13]</sup> Η στενή σχέση μεταξύ επιβλαβών ROS και μιτοχονδρίων οδηγεί στο συμπέρασμα ότι τα μιτοχόνδρια διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στη γήρανση και τις σχετιζόμενες με την ηλικία νευροεκφυλιστικές ασθένειες.

#### **Μιτοχονδριακό οξειδωτικό στρες και αύξηση δυσλειτουργίας στον ηλικιωμένο εγκέφαλο**

Στην υγιή γήρανση, υπάρχουν σημαντικά ελλείμματα στον μιτοχονδριακό μεταβολισμό, συγκεκριμένα μειώνεται η παραγωγή της υπομονάδας α της μιτοχονδριακής συνθετάσης F1 ATP, η οποία συνδέει την οξειδωτική φωσφορυλίωση με τη σύνθεση ATP. Αυτό οδηγεί σε μειωμένη παραγωγή ATP, αυξημένη παραγωγή ROS και αυξημένη οξείδωση DNA, πρωτεϊνών και λιπιδίων.<sup>[14]</sup> Η μιτοχονδριακή δυσλειτουργία οδηγεί όχι μόνο σε βλάβη του mtDNA αλλά και σε βλάβη του πυρηνικού DNA, ιδιαίτερα στην περιοχή του προαγωγέα (promoter) των γονιδίων που ρυθμίζονται από την ηλικία και εμπλέκονται στην συναπτική μεταφορά, τη συναπτική πλαστικότητα και τη λειτουργία των μιτοχονδρίων. Η αντιοξειδωτική υπερέκφραση έχει δοκιμαστεί ως πιθανό μέσο μετριασμού των επιβλαβών επιπτώσεων της ηλικίας, αλλά έχει αποδειχθεί αναποτελεσματική στην παράταση της διάρκειας ζωής. Ωστόσο η υπεροξειδική δισμουτάση

(SOD) στις μύγες, η οποία εγγενώς υπερέκφράζεται, έχει τη δυνατότητα παράτασης της διάρκειας της ζωής.<sup>[15]</sup> Στο ποντίκι, η υπερέκφραση της μιτοχονδριακής καταλάσης (mCAT) επεκτείνει σημαντικά τη διάρκεια ζωής του και παρέχει πρόσθετα οφέλη, συμπεριλαμβανομένης της συνολικής μείωσης της οξείδωσης, της διατήρησης της σηματοδότησης της ινσουλίνης και της καθυστέρησης στην εμφάνιση παθολογίας στην καρδιά και καταρράκτη στον οφθαλμό.<sup>[16]</sup> Η βλάβη του DNA μειώθηκε ομοίως σε ποντίκια mCAT, τόσο στους γηράσκοντες σκελετικούς μύες όσο και στο mtDNA από πνεύμονες εκτεθειμένους στον αμianto.<sup>[17]</sup> Αυτά τα ευρήματα υποδηλώνουν ότι τα ποντίκια mCAT μπορεί να αποτρέψουν τη βλάβη του DNA σε διάφορους τύπους ιστών και στο πυρηνικό καθώς και στο μιτοχονδριακό DNA. Στοχευμένη αύξηση της μιτοχονδριακής καταλάσης μετριάζει αποτελεσματικά το οξειδωτικό στρες, υποδεικνύοντας τον κρίσιμο ρόλο των μιτοχονδρίων στη ρύθμιση των ROS με την πρόοδο της ηλικίας.

#### **Το μιτοχονδριακό οξειδωτικό στρες ως κεντρική αιτία της νόσου Alzheimer (AD)**

Τα δυσλειτουργικά μιτοχόνδρια εμπλέκονται στην παθογένεια της AD, καθώς ένας από τους πρώτους δείκτες της AD είναι η αυξημένη οξείδωση του mtDNA. Στην πραγματικότητα, η δυσλειτουργία των μιτοχονδρίων μπορεί να είναι ένα από τα πρώτα γεγονότα στην παθογένεια της σποραδικής, όψιμης έναρξης AD. Η υπόθεση του μιτοχονδριακού καταρράκτη δηλώνει ότι η απώλεια της μιτοχονδριακής λειτουργίας που σχετίζεται με την ηλικία επηρεάζει την έκφραση και την επεξεργασία της προ-αμυλοειδικής πρωτεΐνης (APP), παράγοντας ολιγομερή β-αμυλοειδούς που συσσωρεύονται σε πλάκες στη νόσο του Alzheimer.<sup>[18,19]</sup> Η υδρόφοβη περιοχή 25-35 του β-αμυλοειδούς οδηγεί σε νευρωνική τοξικότητα και παράγει αντιδραστικά είδη οξυγόνου.<sup>[20]</sup> Αργότερα διαπιστώθηκε ότι η επώαση νευρώνων με 1-42 ολιγομερή β-αμυλοειδούς οδηγεί σε υπεροξείδωση των λιπιδίων με την δέσμευση της πρωτεΐνης με την 4-υδροξυ-2-trans-εννενάλη (HNE). Η υδρόφοβη φύση του β-αμυλοειδούς του επιτρέπει να βρίσκεται στη λιπιδική διπλοστιβάδα και ο ομοιοπολικός δεσμός του HNE με νευρωνικές πρωτεΐνες οδηγεί σε κυτταρικό θάνατο.<sup>[21,22]</sup> Το επαγόμενο από β-αμυλοειδές HNE μειώνει περαιτέρω τους μεταφορείς γλυκόζης και γλυουταμινικού, το μιτοχονδριακό διαμεμβρανικό δυναμικό και τη δραστηριότητα της ATPάσης νατρίου-καλίου.<sup>[23]</sup> Το οξειδωτικό στρες που προκαλείται από το β-αμυλοειδές είναι πιθανό να οφείλεται στα σύμπλοκα που σχηματίζει με οξειδοαναγωγικά ενεργά μέταλλα. Ο χαλκός, ο ψευδάργυρος και ο σίδηρος συνδέονται με το β-αμυλοειδές, προωθώντας τη συσσώρευση του σε πλάκες. Από αυτά τα μέταλλα, ο χαλκός σχηματίζει τον πιο σταθερό δεσμό και αυτό το σύμπλοκο έχει αποδειχθεί ότι παράγει υπεροξειδίου του υδρογόνου.<sup>[24]</sup> Το οξειδωτικό στρες που προκαλεί-

ται από σύμπλοκα μετάλλου-αμυλοειδούς οδηγεί σε τοξικότητα, προάγει την αποπόλωση της μεμβράνης και μειώνει τη λειτουργία των μιτοχονδρίων.

Η μιτοχονδριακή δυσλειτουργία στον εγκέφαλο AD επιδεινώνεται περαιτέρω από τον μειωμένο μεταβολισμό της γλυκόζης, την παραγωγή ινσουλίνης και τη μιτοφαγία. Ο μεταβολισμός της γλυκόζης στον εγκέφαλο μειώνεται πριν από την εμφάνιση της AD σε ασθενείς με ήπια γνωστική εξασθένηση (MCI), που συχνά αποτελεί προκλινικό στάδιο της νόσου.<sup>[8]</sup> Ο εγκέφαλος AD επιπλέον χαρακτηρίζεται από μια θετική ρύθμιση του μεταγραφικού καταστολέα AEBP1 (πρωτεΐνη δέσμωσης ενισχυτή λιποκυττάρων 1), η οποία μειώνει τα ένζυμα παραγωγής ινσουλίνης PCSK1 και PCSK2 (Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin - προπρωτεϊνική μετατρέπαση 1 και 2). Η μείωση της ρύθμισης του υποδοχέα ινσουλίνης MET προκαλεί περαιτέρω αντίσταση στην ινσουλίνη, οδηγώντας σε μιτοχονδριακή και συναπτική δυσλειτουργία, καθώς και γνωστικές διαταραχές.<sup>[25]</sup> Η δυναμική της μιτοφαγίας είναι επίσης μειωμένη στην AD, καθώς η μιτοχονδριακή πρωτεΐνη σχάσης DRP1 (σχετιζόμενη με τη δυναμίνη πρωτεΐνη 1) είναι S-νιτροζυλιωμένη και υπερενεργοποιείται από τα υψηλά επίπεδα β-αμυλοειδούς, οδηγώντας σε υπερβολική μιτοχονδριακή διάσπαση και συναπτική βλάβη.<sup>[26]</sup> Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι οι βλαβερές συνέπειες της μιτοχονδριακής δυσλειτουργίας μπορούν να μετριαστούν, οδηγώντας σε επιβράδυνση της πορείας της AD. Η υπερέκφραση του ρυθμιστή μιτοφαγίας parkin σε ποντίκια 3xTg μείωσε τη συσσώρευση β-αμυλοειδούς και κατέστρεψε τα μιτοχόνδρια ενώ αποκατέστησε τη σύνθεση νευροδιαβιβαστών.<sup>[27]</sup> Σε ινοβλάστες τυχαίων ασθενών με AD, η υπερέκφραση του PARK2 ήταν σε θέση να αντιστρέψει τις βλάβες της μιτοφαγίας αυξάνοντας τα αυτοφαγικά κενότοπια, τη μιτοχονδριακή στόχευση και τη μιτοχονδριακή ανακύκλωση.<sup>[28]</sup> Έτσι, η στόχευση των δυσλειτουργικών μιτοχονδρίων μπορεί να είναι μια αποτελεσματική μέθοδος μείωσης του οξειδωτικού στρες σε μοντέλα AD.

### Τύποι βλάβης του DNA

Ένας βασικός δείκτης οξειδωτικού στρες είναι η βλάβη του DNA, η οποία οδηγεί σε απουρινικές και απυριμιδικές θέσεις DNA, οξειδωμένες πουρίνες και πυριμιδίνες και θραύσματα DNA. Αυτά τα θραύσματα DNA είναι είτε θραύσματα μονού κλώνου (SSB) είτε θραύσματα διπλού κλώνου (DSB), με τα DSB να είναι τα πιο τοξικά από τα δύο. Τα SSB προκαλούνται από τη διάσπαση του σκελετού των φωσφορικών σακχάρων του DNA μετά από οξείδωση ROS, ενώ τα DSB είναι μεγαλύτερης διάρκειας και μπορούν να οδηγήσουν σε αλλαγές στη μεταγραφή των γονιδιακών υποκινητών κοντά σε θέσεις θραύσης.<sup>[11]</sup> Η ικανότητα επιδιόρθωσης του DNA καθορίζεται από τα επίπεδα του NAD<sup>+</sup>. Ενώ τα υψηλότερα επίπεδα NAD<sup>+</sup> σχετίζονται με αυξημένη επιδιόρθωση του DNA, τα χα-

μηλότερα επίπεδα είναι ενδεικτικά της συσσώρευσης ROS. Το NAD<sup>+</sup> ενεργοποιεί τη σιρτουϊν 1 (SIRT1), που μειώνει το οξειδωτικό στρες και την επακόλουθη βλάβη του DNA καθώς επάγει την αυτοφαγία, τη μιτοφαγία και την προστατευτική μεθυλίωση ιστόνης.<sup>[29]</sup> Τα ενδιάμεσα NAD<sup>+</sup> όπως το μονονουκλεοτίδιο του νικοτιναμιδίου (NMN), βρέθηκαν επίσης να αυξάνουν τη δραστηριότητα του SIRT1, αυξάνοντας με τη σειρά τους τα επίπεδα NAD<sup>+</sup> και δισμουτάση του υπεροξειδίου συνδεδεμένη με μαγγάνιο (MnSOD).<sup>[30]</sup> Το πυρηνικό DNA των νευρώνων είναι γενικά πιο ευάλωτο σε βλάβες από το DNA άλλων τύπων κυττάρων αλλά το μιτοχονδριακό DNA είναι ακόμη πιο ευάλωτο λόγω της άμεσης σχέσης του με την αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων και της έλλειψης προστατευτικών ιστόνων.<sup>[5]</sup>

### Οι επιδράσεις των δίκλωνων θραυσμάτων DNA

Τα θραύσματα διπλού κλώνου είναι η πιο συχνά μετρούμενη μορφή βλάβης του DNA λόγω της τοξικότητάς τους και των μεταγραφικών αλλαγών που προκαλούν στους υποκινητές γονιδίων.<sup>[11]</sup> Η φωσφορυλίωση του H2AX (γH2AX) είναι το πρώτο βήμα στη διαδικασία επισκευής DSB και ένας ευρέως χρησιμοποιούμενος δείκτης DSB. Το H3K9me3 οδηγεί σε γνωστική εξασθένηση που σχετίζεται με την ηλικία, καταστέλλει τον νευροτρόφο παράγοντα που προέρχεται από τον εγκέφαλο (BDNF), συναρμολογεί το σύμπλεγμα επιδιόρθωσης DSB και μειώνει τη βλάβη του DNA.<sup>[31]</sup> Οι φαινομενικά αντιφατικοί ρόλοι του H3K9me3 οδήγησαν τους ερευνητές να υποθέσουν ότι η παραγωγή του H3K9me3 και η επακόλουθη γνωστική εξασθένηση μπορεί να είναι ένας αντισταθμιστικός μηχανισμός της αυξημένης βλάβης του DNA που συμβαίνει με την ηλικία. Παρά την τοξικότητα των DSBs, αυτά είναι απαραίτητα για την έκφραση άμεσων πρώιμων γονιδίων, γονιδίων που παρουσιάζουν ταχεία και παροδική έκφραση απουσία πρωτεϊνικής σύνθεσης *de novo*. Η νευρωνική διέγερση μπορεί επίσης να οδηγήσει σε DSBs, ιδιαίτερα στις περιοχές του υποκινητή των άμεσων πρώιμων γονιδίων (IEGs).<sup>[32]</sup> Ο σχηματισμός DSB σε περιοχές υποκινητών IEG επαρκεί για να προκαλέσει την έκφρασή τους ακόμη και σε απουσία εξωτερικού ερεθίσματος.<sup>[33]</sup> Η σχετιζόμενη με την επιδιόρθωση του DNA πρωτεΐνη Gadd45γ βρέθηκε ότι ρυθμίζει την έκφραση των IEGs Arc, cFOS, Npas4 και Cyr61 στον προμεταιχμιακό προμετωπιαίο φλοιό.<sup>[34]</sup> Συμπερασματικά, ερευνητικά στοιχεία δείχνουν ότι ο εξαρτώμενος από τη δραστηριότητα σχηματισμός DSBs και η επισκευή τους εμπλέκεται στην έκφραση άμεσων πρώιμων γονιδίων των νευρώνων.

### Η γνωστική δυσλειτουργία ως αποτέλεσμα βλάβης του DNA στον ηλικιωμένο εγκέφαλο

Η βλάβη του DNA είναι αυξημένη τόσο σε υγιείς ηλικιωμένους όσο και σε εγκεφάλους με νόσο Alzheimer. Ορισμένοι θεωρούν ότι η μη επιδιορθωμένη

βλάβη του DNA είναι μια βασική αιτία της διαδικασίας γήρανσης.<sup>[13]</sup> Σε μια σημαντική εργασία από τους Lu et al.<sup>[14]</sup> διαπιστώθηκε ότι οι υποκινητές πολίων γονιδίων που σχετίζονται με τη λειτουργία του εγκεφαλικού φλοιού μειώνονται με την ηλικία, ξεκινώντας μετά την ηλικία των 40 ετών και φτάνοντας στα μέγιστα επίπεδα μετά την ηλικία των 70 ετών. Αυτά τα απορρυθμισμένα γονίδια εμπλέκονται κυρίως στη συναπτική πλαστικότητα, τη μεταφορά των κυστιδίων και τη λειτουργία των μιτοχονδρίων, υποδεικνύοντας ότι η βλάβη του DNA βλάπτει άμεσα τη νευρωνική και συναπτική υγεία. Η γήρανση του εγκεφάλου οδηγεί επίσης σε αυξημένη έκφραση γονιδίων που μπορούν να αντισταθμίσουν τα ελλείμματα που σχετίζονται με την ηλικία, συμπεριλαμβανομένων των γονιδίων που εμπλέκονται στην αναδιπλοποίηση πρωτεϊνών (πρωτεΐνη θερμικού σοκ 70 και άληφα κρυσταλλίνη), στην αντιοξειδωτική άμυνα (υπεροξειδάση γλουταθειόνης μη σεληνίου, παραοξονάση και σεληνοπρωτεΐνη P) και στην ομοιοστάση ιόντων μετάλλων. Η αυξημένη έκφραση των ενζύμων επιδιόρθωσης τύπου εκτομής βάσης 8-οξογουανίνης DNA γλυκοζυλίωσης και ουρακίλης DNA γλυκοζυλίωσης είναι ενδεικτική τόσο νευροπροστατευτικών αλληλαγών στη γονιδιακή έκφραση όσο και αυξημένης βλάβης του DNA ενός κλώνου. Ο Lu εξέτασε περαιτέρω εάν οι υποκινητές των γονιδίων έχουν επηρεάσει την επιδιόρθωση του DNA. Τα πλάσμιδια αναφοράς υποκινητή υπέστησαν βλάβη *in vitro* με H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> και μεταγγίστηκαν σε κύτταρα SH-SY5Y. Μετά από βλάβη με το H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, τα κύτταρα με υποκινητές γονιδίων που είχαν κατασταλεί λόγω γήρανσης είχαν πολύ χαμηλότερα ποσοστά ενεργοποίησης από τα κύτταρα υποκινητών γονιδίων σταθερής ηλικίας. Αυτό δείχνει ότι τα γονίδια που καταστέλλονται από την ηλικία μειώνουν την επιδιόρθωση τύπου εκτομής βάσης, με αποτέλεσμα την αύξηση των θραυσμάτων DNA.<sup>[14]</sup> Αυξημένα θραύσματα DNA έχουν επίσης παρατηρηθεί σε ηλικιωμένα πυραμιδικά και κοκκιοειδή κύτταρα του ιππόκαμπου καθώς και σε παρεγκεφαλιδικά κοκκιώδη κύτταρα, αλλά όχι σε παρεγκεφαλιδικά κύτταρα Purkinje.<sup>[35]</sup> Ενώ η βλάβη του DNA είναι αυξημένη με την ηλικία στο πυρηνικό DNA, είναι 10 φορές υψηλότερη στο μιτοχονδριακό DNA από άτομα ηλικίας 42 ετών και άνω και 15 φορές υψηλότερη σε άτομα άνω των 70 ετών.<sup>[5]</sup> Η αύξηση των θραυσμάτων DNA λόγω ηλικίας βλάπτει την έκφραση των γονιδίων που εμπλέκονται στη συναπτική πλαστικότητα, τη μάθηση και τη μνήμη, αλλά κατά κύριο λόγο επηρεάζει το μιτοχονδριακό DNA που εμπλέκεται στο μεταβολισμό, την ενέργεια και την επιβίωση των νευρώνων.

### **Η επιδιόρθωση του DNA στη νόσο του Alzheimer**

Η AD οδηγεί σε αύξηση των μονόκλωνων και δι-κλώνων θραυσμάτων DNA, γεγονός που υποδηλώνει ότι η δυσλειτουργική επιδιόρθωση του DNA μπορεί να είναι η βασική αιτία της AD. Όπως και με τη φυσιολογική γήρανση, στην AD υπάρχουν ελλείμματα στην

οδό επιδιόρθωσης τύπου εκτομής βάσης.<sup>[33]</sup> Η οδός αποκατάστασης της βλάβης του DNA επηρεάζεται επιπλέον από τη μειωμένη πρόσληψη του 53BP1 από τα DSBs και τη μείωση των επιπέδων των πρωτεϊνών επιδιόρθωσης PKcs (καταλυτικές υπομονάδες πρωτεϊνικής κινάσης) και των σύνθετων πρωτεϊνών MRN. Τα επίπεδα γH2AX είναι αυξημένα στους νευρώνες και τα αστροκύτταρα των ασθενών με ήπια γνωστική διαταραχή (MCI) και AD, σε σύγκριση με τους ηλικιακά αντίστοιχους μάρτυρες.<sup>[11]</sup> Ομοίως, οι εγκέφαλοι των ποντικών hAPP εμφανίζουν περισσότερα DSBs από ό,τι τα φυσιολογικά ποντίκια που δεν έχουν εξερευνηθεί το περιβάλλον καθώς η διάρκεια της αύξησης στα DSBs είναι μεγαλύτερη μετά την εξερεύνηση. Σε αυτή τη μελέτη, τα DSBs παράγονται από τον φυσιολογικό εγκέφαλο, αλλά η παραγωγή τους αυξάνεται λόγω της συσσώρευσης β-αμυλοειδούς.<sup>[32]</sup> Οι ερευνητές έχουν προηγουμένως διαπιστώσει ότι τα υψηλά επίπεδα νιτροτυροσίνης και βλάβης του DNA προηγούνται του σχηματισμού νευροϊνιδιακών τοιπιών στον φλοιό των εγκεφάλων AD, γεγονός που υποδηλώνει ότι η βλάβη του DNA συμβαίνει νωρίς στην εξέλιξη της νόσου.<sup>[36]</sup> Μαζί με τα υψηλά επίπεδα οξειδωτικού στρες και βλάβης του DNA, η AD χαρακτηρίζεται επίσης από ελλείψεις στους μηχανισμούς επιδιόρθωσης του DNA. Το εγκεφαλονωτιαίο υγρό από ασθενείς με AD παρουσιάζει αύξηση του 8-OHdG στο DNA, ενός δείκτη οξειδωτικής βλάβης, καθώς και μείωση του ελεύθερου 8-OHdG, ενός προϊόντος επιδιόρθωσης του DNA. Ομοίως, τα ποντίκια 3xTg που διασταυρώθηκαν με ποντίκια που ήταν ανεπαρκή στην PolB (πολυμεράση επιδιόρθωσης εκτομής βάσης) είχαν περισσότερα γνωστικά ελλείμματα, απώλειες συνάψεων και νευρωνικό θάνατο.<sup>[37]</sup> Συνολικά, αυτά τα ευρήματα δείχνουν ότι οι μηχανισμοί επιδιόρθωσης του DNA είναι μειωμένοι καθώς το οξειδωτικό στρες είναι αυξημένο στην AD. Η σοβαρότητα της βλάβης του DNA στον εγκέφαλο AD ξεπερνά κατά πολύ εκείνη του υγιούς ηλικιωμένου εγκεφάλου, γεγονός που υποδηλώνει ότι η βλάβη του DNA και η εξασθένηση των μηχανισμών επιδιόρθωσης του DNA παίζουν καθοριστικό ρόλο στην εξέλιξη της νόσου.

### **Επιγενετικές τροποποιήσεις λόγω οξειδωτικού στρες**

Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι το οξειδωτικό στρες προκαλεί επιγενετικές τροποποιήσεις στην χρωματίνη. Αυτές οι τροποποιήσεις μπορεί να διευκολύνουν τη νευροεκφύλιση.<sup>[38]</sup> Το οξειδωτικό στρες μπορεί να μειώσει άμεσα τη μεθυλίωση του DNA οξειδώνοντας το, αυξάνοντας την υδροξυμεθυλίωση με μεσολάβηση TET και παρεμβαίνοντας στη δέσμευση των μεθυλοτρανσφερασών του DNA που παράγουν τον δότη μεθυλίου S-αδενοσυλμεθειονίνη.<sup>[39]</sup> Οι ROS μπορούν επίσης να προκαλέσουν αλλοιώσεις στο DNA μέσω υδροξυλίωσης των πυριμιδινών και της 5-μεθυλοκυτοσίνης (5mC) επηρεάζοντας τα επιγενε-

τικά σήματα της 5-υδροξυμεθυλοκυτοσίνης (5hmC).<sup>[40]</sup> Το οξειδωτικό στρες μεταβάλλει τις μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις, οι οποίες αλληλίζουν τη δομή της χρωματίνης, τη γονιδιακή έκφραση, τη γονιδιακή σταθερότητα και την αντιγραφή. Αυτές οι επιδράσεις είναι συχνά έμμεσες, καθώς οι ROS μειώνουν την αποτελεσματικότητα του μεταβολισμού, ελλοιώνοντας τα επίπεδα μεταβολιτών όπως το ακετυλο-CoA, το Fe, το NAD<sup>+</sup> και το κετογλυουταρικό που είναι απαραίτητα για τα ένζυμα τα υπεύθυνα για τις μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις. Το H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, το πιο κοινό μέσο επαγωγής ROS in vitro, έχει αποδειχθεί ότι αυξάνει τα H3K9me3, H3K4me3 και H3K27me3 ενώ μειώνει τα H3K9ac και H4K8ac στα βρογχικά επιθηλιακά κύτταρα. Η επώαση του με ασκορβικό εμπόδιζε αυτή την αύξηση, αποδεικνύοντας ότι τα αντιοξειδωτικά μπορούν να αποτρέψουν τις επιγενετικές αλλαγές που προκαλούνται από ROS. Οι επιδράσεις της οξειδωτικής ήταν παροδικές και δεν παρέμειναν μετά την έκπλυση του H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.<sup>[41]</sup> Στα νευρωνικά κύτταρα SH-SY5Y, το H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> αύξησε τις ακετυλοτρανσφεράσες ιστόνης και μείωσε τις αποακετυλάσες ιστόνης, καθώς και την υπομεθυλίωση των APP και BACE1. Το H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> προκάλεσε ενεργοποίηση των υποκινητών των γονιδίων APP και BACE1, οδηγώντας σε υπερπαραγωγή του β-αμυλοειδούς.<sup>[42]</sup> Αυτά τα ευρήματα υποδηλώνουν ότι το οξειδωτικό στρες δημιουργεί παροδικές επιγενετικές τροποποιήσεις οι οποίες, μεταξύ των εκτεταμένων επιπτώσεών τους, μπορούν να επιταχύνουν την συσσώρευση του β-αμυλοειδούς.

### **Η ενεργοποιημένη μεθυλίωση του H3K9 εξαιτίας του οξειδωτικού στρες**

Ερευνητές που μελέτησαν την επιγενετική της γήρανσης, βρήκαν ότι το οξειδωτικό στρες διαδραματίζει σημαντικότατο ρόλο. Έδειξαν ότι τουλάχιστον ένας συγκεκριμένος κατασταθμικός επιγενετικός δείκτης, το H3K9me3, αυξάνεται με την ηλικία στον ιππόκαμπο. Μείωσε το H3K9me3 αναστέλλοντας το κύριο καταθμωτικό ένζυμο του, το SUV39H1, με έναν ειδικό αναστολέα (ETP69) και διαπιστώσανε ότι αυτό βελτίωσε τη μνήμη εντοπισμού αντικειμένων, αύξησε τη συναπτική πυκνότητα και τα επίπεδα BDNF σε ηλικιωμένα ποντίκια. Η ερευνητική ομάδα του Vaquero έδειξε ότι το οξειδωτικό στρες μπορεί να είναι μια αιτία έμμεσης αύξησης του H3K9me3, ενεργοποιώντας το SIRT1 το οποίο κανονικά προστατεύει από το οξειδωτικό στρες αυξάνοντας τη μιτοφαγία και την αυτοφαγία.<sup>[43]</sup> Το SIRT1 σταθεροποιεί το SUV39H1 και η ρύθμιση του SIRT1 οδηγεί με τη σειρά της σε ρύθμιση του SUV39H1 και του προϊόντος του, H3K9me3. Αυτό υποδηλώνει ότι η αύξηση του H3K9me3 μπορεί στην πραγματικότητα να οφείλεται σε μια προστατευτική ρύθμιση του SIRT1 που προκαλείται από το οξειδωτικό στρες. Μια πρόσφατη εργασία διαπίστωσε ότι η αναστολή της μεθυλοτρανσφεράσης ιστόνης G9a είναι εξίσου προστατευτική σε ποντίκια AD. Ο αναστολέας G9a

UNC0642 βελτίωσε τη μνήμη αντικειμένων και τοποθεσιών, μείωσε τις πλάκες του β-αμυλοειδούς και τα επίπεδα 5-mc και αύξησε τα επίπεδα αντιοξειδωτικών σε ποντίκια 5XFAD.<sup>[44]</sup> Σε αντίθεση με το SUV39H1, το G9a δεν αποτελεί ειδικό καταθμωτικό της μεθυλιωμένης μορφής του H3K9, αλλά μπορεί να παράγει μονο-δι-ή τρι-μεθυλιωμένο H3K9. Άλλες μελέτες που χρησιμοποιούν τον αναστολέα UNC0642 έχουν οδηγήσει σε μείωση τόσο του δι- όσο και του τρι-μεθυλιωμένου H3K9, άρα η πηγή των επιδράσεων του αναστολέα δεν μπορεί να αναλυθεί.<sup>[45]</sup> Συνολητικά, υπάρχουν ερευνητικές ενδείξεις ότι η μεθυλίωση του H3K9 μπορεί να ενεργοποιηθεί από το οξειδωτικό στρες και ότι η αναστολή αυτής της μεθυλίωσης μπορεί να αποτρέψει τη γνωστική γήρανση και να μειώσει την παθολογία της νόσου Alzheimer. Ωστόσο, παραμένουν πολλή ερωτήματα σχετικά με τους διαφορετικούς ρόλους των μεθυλιωμένων ιστόνων και πώς το οξειδωτικό στρες ρυθμίζει την έκφρασή τους.

### **Θεραπείες οξειδωτικού στρες για τη γήρανση και τη νόσο Alzheimer**

#### **Αντιοξειδωτική αγωγή**

Ίσως η πιο πειστική απόδειξη ότι το οξειδωτικό στρες είναι το κλειδί για τη γήρανση του εγκεφάλου και την AD είναι η πληθώρα θεραπειών που στοχεύουν στο οξειδωτικό στρες των νευρώνων (Πίνακας 1). Το πιο συνηθισμένο μέσο μείωσης του οξειδωτικού στρες είναι η αντιοξειδωτική θεραπεία, η οποία σε ορισμένες περιπτώσεις ήταν αποτελεσματική στη μείωση των νευρωνικών βλαβών που σχετίζονται με την ηλικία και τη νευροεκφύλιση. Ο συνδυασμός βιταμινών C και E (ασκορβικό οξύ και -τοκοφερόλη) έχει αποδειχθεί ότι μειώνει την υπεροξειδωση των λιπιδίων στα νευρωνικά κύτταρα.<sup>[46]</sup> Όταν αρουραίοι Wistar ηλικίας 24 μηνών τρέφονταν με N ακετυλο-Ι-κουστεΐνη (NAC), η οποία αυξάνει τα επίπεδα γλυουταθειόνης στον εγκέφαλο, υπήρξε μείωση των ROS και των δεικτών φλεγμονής όπως ο TNFα, η IL-1β και η IL-6, καθώς και μια προστατευτική ρύθμιση προς τα πάνω στο SIRT1.<sup>[47]</sup> Ένας μήνας καθημερινών ενέσεων NAC και άλφα-λιποϊκού οξέος βελτίωσε επίσης την απόδοση των ποντικών SAMP8 (επιτάχυνση γήρανσης 8) σε εργασίες μάθησης και μνήμης. Ερευνητές έχουν αποδείξει ότι τα αντιοξειδωτικά είναι αποτελεσματικά στη βελτίωση των γνωστικών διεργασιών. Διαπιστώσανε ότι η συμπλήρωση της διατροφής με αντιοξειδωτικά και μιτοχονδριακούς συμπράγοντες (βιταμίνες E και C, L-καρνιτίνη, άλφα λιποϊκό οξύ και 1% κόκκοι φρούτων και λαχανικών) βελτίωσε την απόδοση των ηλικιωμένων μπιγκλι σε ένα έργο διάκρισης μεγέθους και ασπρόμαυρου χρώματος.<sup>[48]</sup> Στους ανθρώπους, η κατανάλωση βιταμίνης E από τρόφιμα και συμπληρώματα διατροφής συσχετίστηκε με χαμηλότερο ποσοστό γνωστικής εξασθένησης σε μια μεγάλης κλίμακας διαχρονική μελέτη, αν και η

κατανάλωση βιταμίνης C και καρνιτίνης δεν αποδείχθηκε ότι βοηθάει.<sup>[49]</sup> Αν και η αποτελεσματικότητα των διαφόρων αντιοξειδωτικών ποικίλλει μεταξύ των μοντέλων, παραμένουν ένα ισχυρό εργαλείο για τη μείωση του οξειδωτικού στρες και τη βελτίωση της γνωστικής λειτουργίας στον ηλικιωμένο εγκέφαλο.

Η επιτυχία των αντιοξειδωτικών στη μείωση της γνωστικής γήρανσης έχει κεντρίσει το ενδιαφέρον για τις δυνατότητές τους ως θεραπείες στην AD, αν και τα αποτελέσματα αυτών των μελετών είναι αντικρουόμενα. Η βιταμίνη E και τα μιτοχονδριακά στοχευμένα αντιοξειδωτικά όπως το mitoQ και το ss31 μείωσαν το οξειδωτικό στρες σε καλλιηγημένους νευρώνες και εμπόδισαν την τοξικότητα του β-αμυλοειδούς.

<sup>[50]</sup> Η συσχέτιση μεταξύ αντιοξειδωτικών και AD σε κλινικές μελέτες είναι λιγότερο σαφής. Ενώ τα υψηλά επίπεδα βιταμίνης E στο πλάσμα του αίματος συσχετίζονται γενικά με χαμηλότερο κίνδυνο AD, η μελέτη Conselice διαπίστωσε ότι ο επιπολασμός της άνοιας ήταν υψηλότερος σε εκείνους με υψηλότερες συγκεντρώσεις τοκοφερόλης.<sup>[51]</sup> Σε μια άλλη μελέτη, η συμπλήρωση της διατροφής με βιταμίνη E, βιταμίνη C και άλφα-λιποϊκό οξύ συσχετίστηκε με μείωση των βαθμολογιών στην εξέταση Mini-Mental State και δεν είχε επιδράσεις στα επίπεδα του β-αμυλοειδούς ή της tau στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό.<sup>[51]</sup> Η μελέτη PREADVICE διαπίστωσε ότι ούτε η βιταμίνη E ούτε το σελήνιο εμπόδισαν τη συχνότητα εμφάνισης AD όταν λαμβάνονται καθημερινά για 7-12 χρόνια ενώ η μελέτη TEAM AD διαπίστωσε ότι η καθημερινή άλφα τοκοφερόλη επιβράδυνε τη λειτουργική έκπτωση σε ασθενείς με AD.<sup>[52]</sup> Μια άλλη κλινική δοκιμή με 100 ασθενείς με AD διαπίστωσε ότι 8 μήνες κατανάλωσης ενός ποτού πολυφαινόλης μείωσαν τα επίπεδα ομοκυστεΐνης, αλλά δεν είχαν άλλα αποτελέσματα.<sup>[53]</sup> Τα μικτά αποτελέσματα των κλινικών μελετών με βάση τα αντιοξειδωτικά μπορεί να οφείλονται σε διακυμάνσεις στη δόση, το χρονοδιάγραμμα, τους συνδυασμούς αντιοξειδωτικών, τους στόχους και τη διατροφή. Οι περισσότερες μελέτες με βιταμίνη E, για παράδειγμα, χρησιμοποιούν πολύ περισσότερο από 400 IU / ημέρα, το οποίο μπορεί να είναι τοξικό. Η θεραπεία με αντιοξειδωτικά θα πρέπει να ξεκινήσει πολύ πριν από την έναρξη των συμπτωμάτων AD για να είναι αποτελεσματική και θα πρέπει να καταναλώνεται σε συνδυασμό με βιταμίνη C ή υδατοδιαλυτούς δέκτες ηλεκτρονίων για την αποτελεσματική απομάκρυνση των ROS.<sup>[54]</sup> Οι περισσότερες αντιοξειδωτικές θεραπείες είναι συστηματικές και έχουν κακή ειδικότητα στόχου για νευρικούς οξειδωτικούς στρεσογόνους παράγοντες. Επίσης, όταν η διατροφή δεν παρακολουθείται, η αντιοξειδωτική θεραπεία δεν επαρκεί για να εξουδετερώσει τις επιδράσεις των φλεγμονωδών και πλούσιων σε οξειδωτικά τροφών. Η κατανάλωση αντιοξειδωτικών μέσω της τροφής αυξάνει την απορρόφησή τους και τη φυσιολογική αποτελεσματικότητά τους, υποδεικνύοντας ότι μια πλούσια σε αντιοξει-

δωτικά διατροφή μπορεί να διαχειριστεί καλύτερα το οξειδωτικό στρες από ότι τα συμπληρώματα.<sup>[55]</sup> Μια πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι η πρόσληψη φλαβονολών με τη μορφή χόρτων, φρούτων, φασολιών και τσαγιού μείωσε σημαντικά τη συχνότητα εμφάνισης της νόσου του Alzheimer, υποστηρίζοντας το αυξημένο θεραπευτικό δυναμικό της διατροφής έναντι των συμπληρωμάτων.<sup>[56]</sup> Προς το παρόν, τα αντιοξειδωτικά από μόνα τους δεν αποτελούν χρήσιμη θεραπεία για την AD, αλλά μια πλούσια σε αντιοξειδωτικά διατροφή μπορεί να μετριάσει αποτελεσματικότερα τις βλάβες που προκαλούνται από τις ROS.

### Θερμιδικός περιορισμός και μιμητές

Ο θερμιδικός περιορισμός είναι ένα άλλο μέσο μείωσης του οξειδωτικού στρες που έχει επίσης αποδειχθεί ότι βελτιώνει την υγεία των νευρώνων και μπορεί να προστατεύσει από τη νευροεκφύλιση. Ο θερμιδικός περιορισμός είναι ένα αξιόπιστο μέσο αύξησης της διάρκειας ζωής, μείωσης των επιπέδων ROS και διέγερσης της όρμησης (hormesis), δηλαδή των υπο-τοξικών επιπέδων των οξειδωτικών στρεσογόνων παραγόντων που προστατεύουν από πιο σοβαρούς στρεσογόνους παράγοντες.<sup>[57]</sup> Οι καταστάσεις όρμησης είναι συνήθως παρούσες στον υγιή εγκέφαλο και οδηγούν σε αυξημένη παραγωγή αντιοξειδωτικών, ενζύμων επιδιόρθωσης DNA και αντιαποπτωτικών πρωτεϊνών.<sup>[58]</sup> Η υποθανατηφόρα δόση του υπεροξειδίου έχει ακόμη αποδειχθεί ότι ενισχύει τη νευρωνική πλαστικότητα αυξάνοντας τη μακροπρόθεσμη ενίσχυση στην περιοχή CA1 του ιπποκάμπου και διεγείροντας την ανάπτυξη των νευρώνων. Τα χαμηλά επίπεδα οξειδωτικού στρες που προκαλούνται από θερμιδικό περιορισμό ενεργοποιούν επίσης τον παράγοντα μεταγραφής nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2), ο οποίος ενεργοποιεί τα προστατευτικά ένζυμα όπως η οξυγενάση αίματος και η NAD(P)H-κινόνη οξειδοαναγωγή 1 (NQO1).<sup>[59]</sup> Αυτά τα ένζυμα επιτρέπουν στους νευρώνες να εξουδετερώνουν πιο σοβαρούς οξειδωτικούς στρεσογόνους παράγοντες μειώνοντας τις ελεύθερες ρίζες (NQO1) και σχηματίζοντας κυτταροπροστατευτική χοληρυθρίνη (οξυγενάση αίματος 1).<sup>[60]</sup> Ο θερμιδικός περιορισμός αυξάνει περαιτέρω τα επίπεδα BDNF, τα οποία έχουν συσχετιστεί στο παρελθόν με τη μείωση των ROS σε πειραματικά μοντέλα.<sup>[61-63]</sup> Ωστόσο, ο μακροχρόνιος θερμιδικός περιορισμός είναι δύσκολο να εφαρμοστεί στον άνθρωπο και οι λίγες διαθέσιμες κλινικές μελέτες είναι αναγκαστικά περιορισμένες σε διάρκεια και έκταση περιορισμού της τροφής.<sup>[64]</sup> Οι μιμητές θερμιδικού περιορισμού (CRMs), όπως η ρεσβερατρόλη, προσφέρουν παρόμοια οφέλη χωρίς να μειώνουν την πρόσληψη τροφής. Τα CRM ορίζονται ως συνθετικές ή φυσικές ενώσεις που μιμούνται τις μεταβολικές, ορμονικές και φυσιολογικές επιδράσεις του θερμιδικού περιορισμού. Για παράδειγμα, η φυσική CRM, ένα φλαβονοειδές που ενεργοποιεί το SIRT1, μείωσε τα οξειδωτικά, αύξησε τα αντιοξειδωτικά, μεί-

ωσε την εκπόλωση της μιτοχονδριακής μεμβράνης και μείωσε τον αποπτωτικό κυτταρικό θάνατο στον γηράσκοντα εγκέφαλο αρουραίων.<sup>[65]</sup> Η ρεσβερατρόλη έχει επίσης αποδειχθεί ότι μειώνει το οξειδωτικό στρες τόσο σε καλλιέργειες νευρώνων όσο και στον ιππόκαμπο ποντικού. Ένας περιορισμός της ρεσβερατρόλης είναι ότι δεν είναι άμεσα βιοδιαθέσιμη. Το ανάλογο ρεσβερατρόλης rinostillbene μεθυλιώνεται για να γίνει πιο διαλυτό και ομοίως μειώνει τις ROS σε νευρωνικά μοντέλα.<sup>[66]</sup> Αυτές οι μελέτες δείχνουν ότι ο θερμιδικός περιορισμός και τα CRM μπορούν να μειώσουν αποτελεσματικά το νευρωνικό οξειδωτικό στρες.

Αν και οι επιδράσεις του θερμιδικού περιορισμού στη γνωστική εξασθένηση που σχετίζεται με την ηλικία δεν έχουν διερευνηθεί διεξοδικά, υπάρχουν κάποιες ενδείξεις ότι ο θερμιδικός περιορισμός μπορεί να μειώσει τη νευροεκφύλιση στην AD. In vitro, 20μM ρεσβερατρόλης σε κύτταρα SH-SY5Y μείωσαν την παραγωγή ROS, PS1, SIRT1, p53 και caspase 3, καθώς και τα επίπεδα του β-αμυλοειδούς που παράγει APP και BACE.<sup>[67]</sup> Ο διατροφικός περιορισμός μείωσε επίσης την εναπόθεση β-αμυλοειδούς σε διαγονιδιακά ποντίκια APP. Ο θερμιδικός περιορισμός έχει επίσης χρησιμοποιηθεί για τη θεραπεία της AD σε αρκετές κλινικές δοκιμές. Σε μια πιο πρόσφατη δοκιμή, η σκόπιμη απώλεια βάρους σε παχύσαρκους ηλικιωμένους ασθενείς με MCI συσχετίστηκε με γνωστική βελτίωση. Αυτή η συσχέτιση ήταν ισχυρότερη στους νεότερους ηλικιωμένους και στους φορείς APOE4.<sup>[68]</sup> Σε μια μελέτη του CRM ρεσβερατρόλη, 500-1000mg ημερησίως για 52 εβδομάδες χορηγήθηκε σε ασθενείς με ήπια έως μέτρια AD. Η θεραπεία μείωσε τη γνωστική εξασθένηση σύμφωνα με την κλίμακα Alzheimer's Disease Cooperative Study-Activities of Daily Living scale (ADCS-ADL), αλλά οδήγησε σε μεγαλύτερη μείωση του όγκου του εγκεφάλου, ιδιαίτερα στους φορείς APOE4. Η θεραπεία μείωσε περαιτέρω τη νευροφλεγμονή μειώνοντας το MMP-9, το οποίο ρυθμίζει τη διαπερατότητα του αιματοεγκεφαλικού φραγμού, αλλά αύξησε άλλους φλεγμονώδεις δείκτες όπως τα μικρογλοιακά κύτταρα και τα μακροφάγα. Ενώ τα αποτελέσματα είναι αντιφατικά, η αυξημένη φλεγμονή μπορεί να είναι μια ευεργετική προσαρμοστική ανοσοαπόκριση και η μείωση του όγκου του εγκεφάλου δεν σχετίζεται με τη γνωστική λειτουργία.<sup>[69]</sup> Και στις δύο μελέτες, οι αλληλαγές στους οξειδωτικούς στρεσογόνους παράγοντες και τους μεταγενέστερους παράγοντες τους δεν ποσοτικοποιούνται, καθιστώντας ασαφή τον ρόλο της οξειδωτικής οδού στις παρατηρούμενες γνωστικές βελτιώσεις.<sup>[58]</sup> Περαιτέρω κλινικές μελέτες που περιλαμβάνουν θερμιδικό περιορισμό θα πρέπει να μετρήσουν τον τρόπο με τον οποίο οι δείκτες οξειδωτικού στρες αλληλάζουν σε ασθενείς με AD για να εξηγήσουν δυναμικά αντικρουόμενες αλληλαγές στη φλεγμονή, τη νευροεκφύλιση και τη γνωστική λειτουργία (Πίνακας 1).

### Σωματική δραστηριότητα

Η σωματική δραστηριότητα είναι ένα αποδεδειγμένο μέσο βελτίωσης της μάθησης και της μνήμης αυξάνοντας τα επίπεδα BDNF.<sup>[61,62]</sup> Παρόμοια με τον θερμιδικό περιορισμό, η άσκηση προάγει την όρμηση και την επαγωγή Nrf2, καθώς προστατεύει από οξειδωτική βλάβη μέσω μιας οδού με μεσολάβση BDNF ενώ ταυτόχρονα αυξάνει τις ελεύθερες ρίζες.<sup>[59]</sup> Το BDNF που προκαλείται από άσκηση ενεργοποιεί το CREB, το οποίο ενεργοποιεί στη συνέχεια το APE1, που εμπλέκεται στην οδό επιδιόρθωσης τύπου εκτομής βάσης. Μέσω του αυξημένου BDNF, η σωματική δραστηριότητα προστατεύει τους νευρώνες από οξειδωτική βλάβη του DNA ενισχύοντας την επιδιόρθωση του DNA.<sup>[64]</sup> Ταυτόχρονα, οι σκελετικοί μύες παράγουν ελεύθερες ρίζες για την προώθηση της απόκρισης στην άσκηση, συμπεριλαμβανομένης της ενεργοποίησης του PGC1α, που εμπλέκεται στην αύξηση του BDNF. Η άσκηση αντοχής αυξάνει επίσης την ποσότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων στους καρδιακούς και σκελετικούς μύες.<sup>[70]</sup> Η σωματική δραστηριότητα βοηθάει έτσι τον εγκέφαλο να αντισταθμίσει τις ROS που προκαλούνται από την άσκηση παράγοντας πρόσθετους νευροπροστατευτικούς παράγοντες.

Η διάρκεια ενός προγράμματος άσκησης είναι ο καθοριστικός παράγοντας για την αποτελεσματικότητά του ως θεραπεία του οξειδωτικού στρες. Ενώ η βραχυπρόθεσμη άσκηση τείνει να αυξάνει τις ROS, η μακροχρόνια άσκηση αυξάνει τα αντιοξειδωτικά ένζυμα, μειώνοντας το συνολικό οξειδωτικό στρες. Όταν θηλυκοί αρουραίοι Wistar ηλικίας 12 μηνών ασκήθηκαν για 15 εβδομάδες σε διάδρομο μέτριας έντασης, τα επίπεδα ROS στον ιππόκαμπο μειώθηκαν, ενώ τα επίπεδα PGC1α, μονοφωσφορικής φωσφοαδενοσίνης πρωτεϊνικής κινάσης (p-AMPK), SOD1, SOD2 και υπεροξειδάσης γλυουταθειόνης (GPX) αυξήθηκαν.<sup>[71]</sup> Σε μια κλινική μελέτη, η μακροχρόνια άσκηση μείωσε τα πρωτεϊνικά προϊόντα προχωρημένης οξειδωσίας (AOPP) στο αίμα ηλικιωμένων ενηλίκων που συμμετείχαν σε αερόβια άσκηση 3 φορές την εβδομάδα για 6 μήνες.<sup>[72]</sup> Η άσκηση έχει αποδειχθεί ακόμη ότι επιταχύνει την επιδιόρθωση του DNA. Μια πρόσφατη μελέτη ασκούμενων και μη ασκούμενων ανδρών διαπίστωσε ότι ενώ όλοι οι συμμετέχοντες είχαν βλάβη στο DNA που προκλήθηκε από την ακτινοβολία, τα ασκούμενα άτομα είχαν ταχύτερη επιδιόρθωση των θραυσμάτων DNA που προκαλείται από την ακτινοβολία.<sup>[73]</sup>

Η μακροχρόνια άσκηση αποδείχθηκε επίσης ότι μειώνει το οξειδωτικό στρες σε μοντέλα AD. Όταν θηλυκά ποντίκια ηλικίας 12 μηνών 3xTgAD είχαν πρόσβαση σε τροχό κίνησης για 3 μήνες, τα επίπεδα λιποϋπεροξειδίου, δισουλφιδίου γλυουταθειόνης (GSSG), GPX και αναγωγάσης γλυουταθειόνης (GR) μειώθηκαν σε επίπεδα ελέγχου, ενώ το αντιοξειδωτικό CuZn-SOD αυξήθηκε. Μια ανάλυση έδειξε ότι αυτή η μείωση του οξειδωτικού στρες ήταν κεντρικής σημασίας για άλλες συμπεριφορικές και παθολογικές αλληλαγές,



όπως η βελτιωμένη χωρική μνήμη, η μείωση του β-αμυλοειδούς και της p-tau και η μείωση του άγχους.<sup>[74]</sup> Παρόμοια ευρήματα αναφέρθηκαν σε ένα μοντέλο αρουραίων AD που ασκήθηκαν σε διάδρομο για 4 εβδομάδες. Οι αρουραίοι εμφάνισαν μείωση του οξειδωτικού στρες, της μιτοχονδριακής δυσλειτουργίας, του β-αμυλοειδούς και της p-tau. Αυτές οι μελέτες δείχνουν ότι η μείωση της νευροεκφύλισης που παρατηρείται με την άσκηση οφείλεται, τουλάχιστον εν μέρει, στη μείωση του οξειδωτικού στρες. Μια πρόσφατη μελέτη δείχνει ότι η μακροχρόνια άσκηση δεν μειώνει εγγενώς το οξειδωτικό στρες, αλλά μάλλον κάνει τον εγκέφαλο πιο ανθεκτικό σε άλλους στρεσογόνους παράγοντες. Αρουραίοι Lewis ηλικίας 8 έως 9 μηνών υποβλήθηκαν σε θεραπεία με ροτενόνη, ένα φυτικό φάρμακο που αναστέλλει το σύμπλεγμα

1 της μιτοχονδριακής αναπνευστικής αλυσίδας για να μιμηθεί τη σποραδική νευροεκφύλιση. Οι 6 εβδομάδες άσκησης αύξησαν το υπεροξειδίο του υδρογόνου στον κινητικό φλοιό αυτών των αρουραίων. Ωστόσο, παρουσία ροτενόνης, η άσκηση μείωσε το υπεροξειδίο του υδρογόνου και αύξησε τη δραστηριότητα του αντιοξειδωτικού GPX. Επιπλέον, η προηγούμενη άσκηση μείωσε τα επίπεδα υπεροξειδίου του υδρογόνου στο νωτιαίο μυελό τόσο των αρουραίων που είχαν εκτεθεί σε διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO) όσο και σε ροτενόνη.<sup>[75]</sup> Σε νευροεκφυλισμένο, ηλικιωμένο και εκτεθειμένο σε τοξίνες εγκέφαλο, η μακροχρόνια άσκηση μειώνει το οξειδωτικό στρες και βοηθά στην αποκατάσταση ομοιοστατικών καταστάσεων (Πίνακας 1).

**Πίνακας 1:** Αντι-οξειδωτικές θεραπείες και οι επιδράσεις τους στη γήρανση του εγκέφαλου και τη νόσο Alzheimer

Αντιοξειδωτικά	Επιδράσεις στην γήρανση και στην AD
Βιταμίνες C και E	-Το ασκορβικό βοηθά τα κύτταρα να διατηρήσουν τη βιταμίνη E και μειώνει την υπεροξείδωση στο νευροβλάστωμα SH SY5Y -Η βιταμίνη E αποτρέπει την τοξικότητα Αβ, την οξείδωση πρωτεϊνών και το σχηματισμό ROS σε πρωτοπαθείς νευρώνες ιπποκάμπου αρουραίων -Η βιταμίνη E συσχετίζεται με τη συχνότητα εμφάνισης άνοιας -400 IU/ημέρα βιταμίνης E για 7-12 χρόνια δεν είχαν καμία επίδραση στη συχνότητα εμφάνισης άνοιας -2000 IU/ημέρα βιταμίνης E για 5 χρόνια οδήγησε σε βραδύτερη λειτουργική έκπτωση σε ασθενείς με ήπια έως μέτρια AD -Αυξημένη βιταμίνη E στη διατροφή σχετίζεται με μειωμένη γνωστική έκπτωση σε ηλικιωμένα άτομα, αν και η βιταμίνη C και η καρνιτίνη δεν συσχετίστηκαν
NAC (N ακετυλο-L-κυστεΐνη)	-100mg/kg για 2 εβδομάδες αύξησαν TNF άλφα, IL-1β, IL-6 και SIRT1 σε αρουραίους Wistar ηλικίας 24 μηνών -100 mg/kg για 4 εβδομάδες + 100mg/kg α-λιποϊκό οξύ βελτίωσε τη μάθηση και τη μνήμη σε ποντίκια SAMP8
Αντιοξειδωτικό medley και μιτοχονδριακοί συμπαραγόντες	-Αυξημένη οξική άλφα-τοκοφερόλη, L-καρνιτίνη, α-λιποϊκό οξύ και ασκορβικό οξύ βελτίωσαν την ικανότητα διάκρισης στα ηλικιωμένα πειραματόζωα -800 IU/ημέρα βιταμίνης E, 500 mg/ημέρα βιταμίνης C και 900 mg/ημέρα α-λιποϊκού οξέος μείωσαν τις βαθμολογίες MMSE σε κλινική δοκιμή με ηλικιωμένα άτομα
Αντιοξειδωτικά που στοχεύουν τα μιτοχόνδρια (MitoQ και SS31)	25 nM εμπόδισαν την τοξικότητα Αβ στους πρωτογενείς νευρώνες στα Tg2576 ποντίκια και οι νευρώνες N2a που επώαστηκαν με Αβ εμφάνισαν μειωμένη παραγωγή H2O2
Σελήνιο	200mg / d για 7-12 χρόνια δεν είχε καμία επίδραση στη συχνότητα εμφάνισης άνοιας
Πολυφαινόλες	8 μήνες μειωμένα επίπεδα ομοκυστεΐνης σε ασθενείς με AD
Φλαβονόλες	Οι διαιτητικές φλαβονόλες μείωσαν σημαντικά τη συχνότητα εμφάνισης AD
Φισετίνη	15 mg/kg για 6 εβδομάδες ενεργοποιεί τη SIRT1 και τα αντιοξειδωτικά ενώ μειώνει τα οξειδωτικά, την εκπόλωση μιτοχονδριακής μεμβράνης και τον αποπτωτικό κυτταρικό θάνατο στον γηράσκοντα εγκέφαλο αρουραίων

Ρεσβερατρόλη	-Μειώνει το οξειδωτικό στρες σε καλλιέργειες νευρώνων και σε ιπποκάμπους ποντικών -20μM σε κύτταρα SH-SY5Y οδηγούν σε μειωμένη παραγωγή ROS, PS1, SIRT1, p53 και κασπάση 3, καθώς και του β-αμυλοειδούς που παράγει APP και BACE -500-1000mg/d για 1 έτος οδηγεί σε μειωμένη γνωστική εξασθένηση σε ασθενείς με ήπια έως μέτρια AD, μειωμένη MMP-9; Ωστόσο, η θεραπεία προκαλεί ελάττωση του όγκου του εγκεφάλου, ιδιαίτερα σε φορείς APOE4, και αυξημένο αριθμό μικρογλοιακών κυττάρων και μακροφάγων
Pinostilbene, μια πιο βιοδιαθέσιμη ρεσβερατρόλη	0.1-10uM μειώνει το οξειδωτικό στρες στα κύτταρα νευροβλαστώματος SH-SY5Y
Θερμιδικός περιορισμός	-40% CR για 2 εβδομάδες οδηγούν σε μειωμένο Αβ σε ποντίκια APP -Η σκόπιμη απώλεια βάρους συσχετίστηκε με γνωστικές βελτιώσεις σε παχύσαρκους ασθενείς με MCI
Σωματική δραστηριότητα	-15 εβδομάδες μέτριας έντασης τρέξιμο σε διάδρομο οδηγεί σε μείωση ROS και αυξημένα PGC1 άλφα, p-AMPK, SOD1, SOD2 και GPx σε 12 θηλυκούς αρουραίους Wistar ηλικίας μηνών -6 μήνες αερόβιας άσκησης οδηγεί σε μειωμένη οξείδωση των πρωτεϊνικών προϊόντων στο αίμα ηλικιωμένων ατόμων -Ταχύτερη επιδιόρθωση θραυσμάτων DNA που προκαλείται από ακτινοβολία -3 μήνες πρόσβαση στους τροχούς κίνησης οδηγεί σε μειωμένο λιποϋπεροξειδιο, GSSG, GPX και GW ενώ αυξάνεται το CuZn-SOD σε ποντίκια 3xTgAD ηλικίας 12 μηνών. Τα ασκούμενα ποντίκια είχαν βελτιωμένη χωρική μνήμη, μειωμένο άγχος, Αβ και p-tau -4 εβδομάδες τρεξίματος σε διάδρομο οδηγεί σε μείωση του οξειδωτικού στρες, της μιτοχondριακής δυσλειτουργίας, του Αβ και της p-tau σε μοντέλο αρουραίου STZ της AD -6 εβδομάδες συνεχούς άσκησης στο διάδρομο αύξησε το H2O2 στον κινητικό φλοιό, αλλά μείωσε το H2O2 και αύξησε το GPx παρουσία ροτενόνης. Τόσο στη ροτενόνη όσο και στους αρουραίους-μάρτυρες, η άσκηση μείωσε το H2O2 στο νωτιαίο μυελό

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Το οξειδωτικό στρες παίζει βασικό ρόλο στην εξέλιξη της γήρανσης του εγκεφάλου και της νόσου του Alzheimer. Τα μιτοχόνδρια παράγουν ελεύθερες ρίζες ως υποπροϊόν της αναπνοής και είναι δυσλειτουργικά τόσο στη γήρανση όσο και στην AD. Οι ελεύθερες ρίζες οδηγούν επίσης σε βλάβη του DNA, η ηλιοοψηφία των οποίων συμβαίνει στο απροστάτευτο, χωρίς ιστόνη μιτοχondριακό DNA.<sup>[76]</sup> Η σοβαρή αύξηση στα θραύσματα δίκλωνου DNA στον εγκέφαλο AD υπερβαίνει κατά πολύ τη βλάβη στον ηλικιωμένο εγκέφαλο και η δυσλειτουργική επιδιόρθωση του DNA συμβάλλει περαιτέρω στην εξέλιξη της νόσου. Το οξειδωτικό στρες μπορεί ακόμη και να προκαλέσει επιγενετικές τροποποιήσεις και να έχει ευρείες επιπτώσεις που κυμαίνονται από την καταστολή των γονιδίων που σχετίζονται με τις γνωστικές λειτουργίες έως την υπομεθυλίωση και την ενεργοποίηση του υποκινητή της προ-αμυλοειδικής πρωτεΐνης (APP).

Οι μελλθητικές θεραπείες που στοχεύουν στο οξειδωτικό στρες ποικίλλουν ως προς την ικανότητά τους να βελτιώνουν τη γνωστική λειτουργία και να μειώνουν τα επίπεδα ROS. Οι αντιοξειδωτικές θεραπείες έχουν

μικτές επιδράσεις στη γνωστική λειτουργία τόσο σε ηλικιωμένους όσο και σε ασθενείς με AD και η δυσσοηλία, ο χρόνος, οι συνδυασμοί αντιοξειδωτικών και η διατροφή πρέπει να εξεταστούν προσεκτικά για να παράγουν σταθερά οφέλη. Τα μιμητικά θερμιδικού περιορισμού όπως η ρεσβερατρόλη έχουν αποδειχθεί ότι μειώνουν το νευρωνικό οξειδωτικό στρες σε τρωκτικά και νευρωνικά μοντέλα και μειώνουν ακόμη τη γνωστική εξασθένηση σε μελέτες ασθενών με MCI και AD. Ωστόσο, οι κλινικές επιδράσεις των μιμητών στη γήρανση του εγκεφάλου δεν έχουν μελετηθεί εκτενώς. Ο μακροπρόθεσμος θερμιδικός περιορισμός είναι δύσκολος για τους περισσότερους ανθρώπους και οι επιπτώσεις του στη γνωστική γήρανση δεν έχουν διερευνηθεί επαρκώς. Οι κλινικές δοκιμές είναι αναγκαστικά περιορισμένες σε διάρκεια και έκταση και οι μελέτες που χρησιμοποιούν μίμηση θερμιδικού περιορισμού (CRM) έχουν μικτά αποτελέσματα.

Σε σύγκριση με τον θερμιδικό περιορισμό, η μακροχρόνια άσκηση είναι ένα πιο πρακτικό μέσο ενεργοποίησης του BDNF και των ορμόσεων. Είναι ελπιδοφόρο το γεγονός ότι οι κλινικές μελέτες σχετικά με τη μακροχρόνια άσκηση γίνονται όλο και πιο διαδεδο-

μένες. Ωστόσο, εξακολουθεί να υπάρχει ανάγκη για αυστηρές, μεγάλης κλίμακας δοκιμές άσκησης, που θα μετρούν επίσης τους δείκτες γνωστικής λειτουργίας.

### ΣΥΓΚΡΟΥΣΗ ΣΥΜΦΕΡΟΝΤΩΝ

Οι συγγραφείς δηλώνουν ότι δεν υπάρχει σύγκρουση συμφερόντων.

### ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

- [1] Butterfield DA, Halliwell B. Oxidative stress, dysfunctional glucose metabolism, and Alzheimer's disease. *Nat Rev Neurosci*. 2019 Mar;20(3):148-60.
- [2] Guillaumet-Adkins A, Ya ez Y, Peris-Diaz MD, et al. Epigenetics and oxidative stress in aging. *Oxid Med Cell Longev*. 2017;2017:9175806.
- [3] Grimm A, Eckert A. Brain aging and neurodegeneration: from a mitochondrial point of view. *J Neurochem*. 2017;143(4):418-31.
- [4] Wang X, Michaelis EK. Selective neuronal vulnerability to oxidative stress in the brain. *Front Aging Neurosci*. 2010;2:12.
- [5] Mecocci P, Boccardi V, Cecchetti R, et al. A long journey into aging, brain aging, and Alzheimer's disease following the oxidative stress tracks. *J Alzheimers Dis*. 2018;62(3):1319-35.
- [6] Kim AC, Lim S, Kim YK. Metal ion effects on Aβ and tau aggregation. *Int J Mol Sci*. 2018 Jan 2;19(1):128.
- [7] Wang P, Wang ZY. Metal ions influx is a double-edged sword for the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Ageing Res Rev*. 2017;35:265-90.
- [8] Tönnies E, Trushina E. Oxidative Stress, synaptic dysfunction, and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2017;57(4):1105-21.
- [9] Sinha K, Das J, Pal PB, et al. Oxidative stress: the mitochondria-dependent and mitochondria-independent pathways of apoptosis. *Arch Toxicol*. 2013;87(7):1157-80.
- [10] Singh A, Kukreti R, Saso L, et al. Oxidative stress: a key modulator in neurodegenerative diseases. *Molecules*. 2019 Apr 22;24(8):1583.
- [11] Shanbhag NM, Evans MD, Mao W, et al. Early neuronal accumulation of DNA double-strand breaks in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol Commun*. 2019 May 17;7(1):77. Sies, H., Berndt, C., Jones, D.P., 2017. Oxidative stress. *Annu Rev Biochem* 86,715-748.
- [12] Lee J, Giordano S, Zhang J. Autophagy, mitochondria, and oxidative stress: cross-talk and redox signaling. *Biochem J*. 2012;441(2):523-40.
- [13] Maynard S, Fang EF, Scheibye-Knudsen M, et al. DNA damage. DNA Repair, Aging, Neurodegeneration. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2015 Sep 18;5(10):a025130.
- [14] Lu T, Pan Y, Kao SY, et al. Gene regulation and DNA damage in the aging human brain. *Nature*. 2004 Jun 24;429(6994):883-91.
- [15] Pérez VI, Van Remmen H, Bokov A, et al. The overexpression of major antioxidant enzymes does not extend the lifespan of mice. *Aging Cell*. 2009 Feb;8(1):73-5.
- [16] Paglialunga S, Ludzki A, Root-McCaig J, et al. In adipose tissue, increased mitochondrial emission of reactive oxygen species is important for short-term high-fat diet-induced insulin resistance in mice. *Diabetologia*. 2015;58(5):1071-80.
- [17] Campisi J, Kapahi P, Lithgow GJ, et al. From discoveries in aging research to therapeutics for healthy aging. *Nature*. 2019;571(7764):183-92.
- [18] Swerdlow RH, Burns JM, Khan SM. The Alzheimer's disease mitochondrial cascade hypothesis: progress and perspectives. *Biochim Biophys Acta*. 2014;1842(8):1219-31.
- [19] Cheignon C, Tomas M, Bonnefont-Rousselot D, et al. Oxidative stress and the amyloid beta peptide in Alzheimer's disease. *Redox Biol*. 2018;14:450-64.
- [20] Hensley K, Carney JM, Mattson MP, et al. A model for beta-amyloid aggregation and neurotoxicity based on free radical generation by the peptide: relevance to Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994;91(8):3270-4.
- [21] Butterfield DA. Brain lipid peroxidation and Alzheimer disease: Synergy between the Butterfield and Mattson laboratories. *Ageing Res Rev*. 2020;64:101049.
- [22] Pike CJ, Burdick D, Walencewicz AJ, et al. Neurodegeneration induced by beta-amyloid peptides in vitro: the role of peptide assembly state. *J Neurosci*. 1993;13(4):1676-87.
- [23] Keller JN, Mark RJ, Bruce AJ, et al. 4-Hydroxynonenal, an aldehydic product of membrane lipid peroxidation, impairs glutamate transport and mitochondrial function in synaptosomes. *Neuroscience*. 1997;80(3):685-96.
- [24] Reybier K, Ayala S, Alies B, et al. Free Superoxide is an Intermediate in the Production of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> by Copper(I)-Aβ Peptide and O<sub>2</sub>. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2016;55(3):1085-9.
- [25] Abolhassani N, Leon J, Sheng Z, et al. Molecular pathophysiology of impaired glucose metabolism, mitochondrial dysfunction, and oxidative DNA damage in Alzheimer's disease brain. *Mech Ageing Dev*. 2017;161:95-104 Pt A.
- [26] Nakamura T, Cieplak P, Cho DH, et al. S-nitrosylation of Drp1 links excessive mitochondrial fission to neuronal injury in neurodegeneration. *Mitochondrion*. 2010;10(5):573-8.
- [27] Khandelwal PJ, Herman AM, Hoe HS, et al. Parkin mediates beclin-dependent autophagic

- clearance of defective mitochondria and ubiquitinated Aβeta in AD models. *Hum Mol Genet.* 2011;20(11):2091–102.
- [28] Mart n-Maestro P, Gargini R, Perry G, et al. PARK2 enhancement can compensate for mitophagy alterations found in sporadic Alzheimer's disease. *Hum Mol Genet.* 2016;25(4):792–806.
- [29] Fang EF, Lautrup S, Hou Y, et al. NAD<sup>+</sup> in aging: molecular mechanisms and translational implications. *Trends Mol Med.* 2017;23(10):899–916.
- [30] de Picciotto NE, Gano LB, Johnson LC, et al. Nicotinamide mononucleotide supplementation reverses vascular dysfunction and oxidative stress with aging in mice. *Aging Cell.* 2016;15(3):522–30.
- [31] Ji H, Zhou Y, Zhuang X, et al. HDAC3 deficiency promotes liver cancer through a defect in H3K9ac/H3K9me3 transition. *Cancer Res.* 2019;79(14):12.
- [32] Suberbielle E, Sanchez PE, Kravitz AV, et al. Physiologic brain activity causes DNA double-strand breaks in neurons, with exacerbation by amyloid-β. *Nat Neurosci.* 2013;16(5):613–21.
- [33] Madabhushi R, Gao F, Pfenning AR, et al. Activity-induced DNA breaks govern the expression of neuronal early-response genes. *Cell.* 2015;161(7):1592–605.
- [34] Li X, Marshall PR, Leighton LJ, et al. The DNA repair-associated protein Gadd45y regulates the temporal coding of immediate early gene expression within the prelimbic prefrontal cortex and is required for the consolidation of associative fear memory. *J Neurosci.* 2019;39(6):970–83.
- [35] Rutten BP, Schmitz C, Gerlach OH, et al. The aging brain: accumulation of DNA damage or neuron loss? *Neurobiol Aging.* 2007;28(1):91–8.
- [36] Su JH, Deng G, Cotman CW. Neuronal DNA damage precedes tangle formation and is associated with the up-regulation of nitrotyrosine in Alzheimer's disease brain. *Brain Res.* 1997;774(1-2):193–9.
- [37] Sykora P, Misiak M, Wang Y, et al. DNA polymerase β deficiency leads to neurodegeneration and exacerbates Alzheimer's disease phenotypes. *Nucleic Acids Res* 2015;43(2):943–59.
- [38] Kreuz S, Fischle W. Oxidative stress signaling to chromatin in health and disease. *Epigenomics.* 2016;8(6):843–62.
- [39] Chia N, Wang L, Lu X, et al. Hypothesis: environmental regulation of 5-hydroxymethylcytosine by oxidative stress. *Epigenetics.* 2011;6(7):853–6.
- [40] Lewandowska J, Bartoszek A. DNA methylation in cancer development, diagnosis, and therapy—multiple opportunities for genotoxic agents to act as methylome disruptors or remediators. *Mutagenesis.* 2011;26(4):475–87.
- [41] Niu Y, DesMarais TL, Tong Z, et al. Oxidative stress alters global histone modification and DNA methylation. *Free Radic Biol Med* 2015;82:22–8.
- [42] Gu X, Sun J, Li S, et al. Oxidative stress induces DNA demethylation and histone acetylation in SH-SY5Y cells: potential epigenetic mechanisms in gene transcription in Aβ production. *Neurobiol Aging* 2013;34(4):1069–79.
- [43] Vaquero A, Scher M, Erdjument-Bromage H, et al. SIRT1 regulates the histone methyltransferase SUV39H1 during heterochromatin formation. *Nature.* 2007;450(7168): 440–4.
- [44] Gri n-Ferré C, Marsal-Garc a L, Bellver-Sanchis A, et al. Pharmacological inhibition of G9a/GLP restores cognition and reduces oxidative stress, neuroinflammation, and β-Amyloid plaques in an early-onset Alzheimer's disease mouse model. *Aging (Albany NY).* 2019;11(23):11591–608.
- [45] Kim Y, Lee HM, Xiong Y, et al. Targeting the histone methyltransferase G9a activates imprinted genes and improves the survival of a mouse model of Prader-Willis syndrome. *Nat Med.* 2017;23(2):213–22.
- [46] Li X, Huang J, May JM. Ascorbic acid spares alpha-tocopherol and decreases lipid peroxidation in neuronal cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003;305(3):656–61.
- [47] Garg G, Singh S, Singh AK, et al. N-acetyl-l-cysteine attenuates oxidative damage and neurodegeneration in rat brains during aging. *Can J Physiol Pharmacol* 2018;96(12):1189–96.
- [48] Milgram NW, Head E, Zicker SC, et al. Learning ability in aged beagle dogs is preserved by behavioral enrichment and dietary fortification: a two-year longitudinal study. *Neurobiol Aging.* 2005;26(1):77–90.
- [49] Morris MC, Evans DA, Bienias JL, et al. Vitamin E and cognitive decline in older persons. *Arch Neurol.* 2002;59(7):1125–32.
- [50] Manczak M, Mao P, Calkins MJ, et al. Mitochondria-targeted antioxidants protect against amyloid-beta toxicity in Alzheimer's disease neurons. *J Alzheimers Dis.* 2010;20(2):S609–S631 Suppl.
- [51] Galasko DR, Peskind E, Clark CM, et al. Antioxidants for Alzheimer disease: a randomized clinical trial with cerebrospinal fluid biomarker measures. *Arch Neurol.* 2012;69(7):836–41.
- [52] Dysken MW, Sano M, Asthana S, et al. Effect of vitamin E and memantine on functional decline in Alzheimer disease: the TEAM-AD VA cooperative randomized trial. *JAMA.* 2014;311(1):33–44.
- [53] Morillas-Ruiz JM, Rubio-Perez JM, Albaladejo MD, et al. Effect of an antioxidant drink on

- homocysteine levels in Alzheimer's patients. *J Neurol Sci.* 2010;299(1-2):175–8.
- [54] Brewer GJ. Why vitamin E therapy fails for treatment of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2010;19(1):27–30.
- [55] Morris MC. Nutrition and risk of dementia: overview and methodological issues. *Ann N Y Acad Sci.* 2016;1367(1):31–7.
- [56] Holland TM, Agarwal P, Wang Y, et al. Dietary flavonols and risk of Alzheimer's dementia. *Neurology.* 2020;94(16):e1749–e1756.
- [57] Coskun PE, Busciglio J. oxidative stress and mitochondrial dysfunction in Down's syndrome: relevance to aging and dementia. *Curr Gerontol Geriatr Res.* 2012;383170.
- [58] Van Cauwenberghe C, Vandendriessche C, Libert C, et al. Caloric restriction: beneficial effects on brain aging and Alzheimer's disease. *Mamm Genome* 2016;27(7-8):300–19.
- [59] Pall ML, Levine S. Nrf2, a master regulator of detoxification and also an antioxidant, anti-inflammatory, and other cytoprotective mechanisms, is raised by health-promoting factors. *Sheng Li Xue Bao.* 2015;67(1):1–18.
- [60] Calabrese V, Cornelius C, Dinkova-Kostova AT, et al. Cellular stress responses, the hormesis paradigm, and vitagenes: novel targets for therapeutic intervention in neurodegenerative disorders. *Antioxid Redox Signal* 2010;13(11):1763–811.
- [61] Berchtold NC, Kesslak JP, Cotman CW. Hippocampal brain-derived neurotrophic factor gene regulation by exercise and the medial septum. *J Neurosci Res.* 2002;68(5):511–21.
- [62] Cotman CW, Berchtold NC. Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. *Trends Neurosci.* 2002;25(6):295–301.
- [63] Yang JL, Lin YT, Chuang PC, et al. BDNF and exercise enhance neuronal DNA repair by stimulating CREB-mediated production of apurinic/apyrimidinic endonuclease 1. *Neuromolecular Med.* 2014;16(1):161–74.
- [64] Caristia S, Vito M, Sarro A, et al. Is Caloric Restriction Associated with Better Healthy Aging Outcomes? A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Nutrients.* 2020 Jul 30;12(8):2290.
- [65] Singh S, Singh AK, Garg G, et al. Fisetin as a caloric restriction mimetic protects rat brains against aging-induced oxidative stress, apoptosis, and neurodegeneration. *Life Sci.* 2018;193:171–9.
- [66] Chao J, Li H, Cheng KW, et al. Protective effects of pinostilbene, a resveratrol methylated derivative, against 6-hydroxydopamine-induced neurotoxicity in SH-SY5Y cells. *J Nutr Biochem.* 2010;21(6):482–9.
- [67] Ko SY, Ko HA, Chu KH, et al. The possible mechanism of advanced glycation end products (AGEs) for Alzheimer's disease. *PLoS One.* 2015;10(11):e0143345.
- [68] Horie NC, Serrao VT, Simon SS, et al. Cognitive effects of intentional weight loss in elderly obese individuals with mild cognitive impairment. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016;101(3):1104–12.
- [69] Sawda C, Moussa C, Turner RS. Resveratrol for Alzheimer's disease. *Ann N Y Acad Sci.* 2017;1403(1):142–9.
- [70] Powers SK, Radak Z, Ji LL. Exercise-induced oxidative stress: past, present and future. *J Physiol.* 2016;594(18):5081–92.
- [71] Marosi K, Bori Z, Hart N, et al. Long-term exercise treatment reduces oxidative stress in the hippocampus of aging rats. *Neuroscience.* 2012;226:21–8.
- [72] Rytz CL, Pialoux V, Mura M, et al. Impact of aerobic exercise, sex, and metabolic syndrome on markers of oxidative stress: results from the. *J Appl Physiol* (1985). 2020 Apr 1;128(4):748-56.
- [73] Moreno-Villanueva M, Kramer A, Hammes T, et al. Influence of acute exercise on DNA repair and PARP activity before and after irradiation in lymphocytes from trained and untrained individuals. *Int J Mol Sci.* 2019 Jun 19;20(12):2999.
- [74] Garc a-Mesa Y, Colie S, Corpas R, et al. Oxidative stress is a central target for physical exercise neuroprotection against pathological brain aging. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2016;71(1):40–9.
- [75] Melo KP, Silva CM, Almeida MF, et al. Mild exercise differently affects proteostasis and oxidative stress on motor areas during neurodegeneration: a comparative study of three treadmill running protocols. *Neurotox Res.* 2019;35(2):410–20.
- [76] Sochocka M, Koutsouraki ES, Gsiorowski K, et al. Vascular Oxidative Stress and Mitochondrial Failure in the Pathobiology of Alzheimer's Disease: A New Approach to Therapy. *CNS Neurol Disord Drug Targets.* 2013 Sep;12(6):870-81.