Streszczenie

Choroba Alzheimera (chA) jest najczęstszą postępującą chorobą otępienną u osób powyżej 60 roku życia (r.ż.). Uważa się, że patogeneza chA jest złożona i zależy zarówno od czynników środowiskowych, jak i genetycznych. Do najczęściej badanych czynników genetycznych w chA należą warianty genetyczne w klastrze APOE, m.in. w genach TOMM40, APOE, APOC1. W rozwoju chA mogą również uczestniczyć zaburzenia mechanizmów epigenetycznych wpływających na stężenie apolipoproteiny E (apoE), m.in. zmiany poziomu miR-107 i -650, a także nieprawidłowy metabolizm biotioli, takich jak homocysteina (Hcy) i glutation (GSH). Zmiany poziomu i funkcji wymienionych parametrów biochemicznych mogą prowadzić do generowania reaktywnych form tlenu i oksydacyjnego uszkodzenia DNA. Jednym z markerów oksydacyjnego uszkodzenia DNA jest 8-okso-2’-deoksygunozyna (8-oxo2dG), która występuje, m.in. w limfocytach pacjentów z chA i prowadzi do powstania niefunkcjonalnych białek. Uszkodzenia oksydacyjne w formie 8-oxo2dG są usuwane z DNA przez enzym glikozylazę 8-oksoguaniny (OGG1), którego stężenie może ulegać obniżeniu w przebiegu choroby neurozwyrodnieniowej. Pomimo wielu lat badań nad patogenezą chA, nadal pozostaje ona chorobą nieuleczalną i jest często diagnozowana w zaawansowanym stadium, co utrudnia skuteczne leczenie. Stąd głównym celem prac składających się na rozprawę doktorską było zbadanie markerów genetycznych i biochemicznych związanych z wystąpieniem i nasileniem się objawów chA. W pracach wchodzących w skład cyklu przeprowadzono genotypowanie wybranych wariantów znajdujących się w klastrze APOE, takich jak: allele APOE E2/E3/E4, polimorfizmy TOMM40: rs10524523 i rs2075650 oraz APOC1 rs4420638 u polskich pacjentów z chA, osób kontrolnych oraz u osób zdrowych spokrewnionych z chorymi na chA (KR, grupa porównawcza). U tych osób wykonano również oznaczenie poziomu parametrów biochemicznych w osoczu, w tym analizę stężenia apoE i wybranych biotioli (Hcy, GSH) oraz oksydacyjnych uszkodzeń DNA (8-oxo2dG i OGG1), a także poziomu wybranych miRNA (miR-107 i - 650). Projekt badawczy uzyskał pozytywną opinię Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, nr 1031/31 z dnia 05.12.2013, z późniejszymi suplementami: nr 306/17 z dnia 02.03.2017 oraz nr 891/18 z dnia 06.09.2018. Przeprowadzone badania wykazały, że w grupie kontrolnej i porównawczej oraz u pacjentów z chA obecność allelu APOE E4 najprawdopodobniej prowadziła do zmniejszenia stężenia apoE w osoczu. Obniżony poziom tego białka był zarazem istotnym czynnikiem ryzyka rozwoju chA (p<0,0001) i korelował z nasileniem stopnia otępienia (R=+0,295, p=0,020). Ponadto, po raz pierwszy wykazano, że obecność allelu APOE E4 wiązała się z obniżeniem poziomu miR-107 w osoczu chorych na chA (R=-0,448, p=0,009), podczas gdy u tych chorych poziom miR-650 był odwrotnie proporcjonalny do stopnia otępienia w skali MMSE (R =+0,385, p=0,033) oraz stężenia Hcy w grupie kontrolnej (R=-0,384, p=0,012). Przeprowadzone badania wykazały również, że około 2/3 pacjentów z chA wykazywało podwyższone stężenie Hcy i obniżone stężenie GSH w porównaniu z grupą kontrolną (p<0,01). Zmianom poziomu biotioli towarzyszyła najprawdopodobniej zmniejszona zdolność do usuwania 8-okso2dG z DNA, obserwowana jako obniżenie stężenia wolnej 8-oxo2dG i stosunku 8-oxo2dG/OGG1 (p<0,01). Ponadto wykazano, że KR miała podwyższony poziom ochronnego apoE i OGG1 w osoczu (p<0,01) najprawdopodobniej stanowiący mechanizm ochronny przed zachorowaniem na chA. Co więcej, rzadkie warianty: TOMM40‘523-L, ‘650-G i APOC1‘638-G występowały częściej u pacjentów z chA w porównaniu z grupą kontrolną (p<0,0001) oraz mogły mieć wpływ na wiek zachorowania na chA (p<0,05). Po raz pierwszy wykazano, że obecność wariantów TOMM40’650-G i APOC1‘638-G istotnie zwiększała ryzyko wystąpienia chA u osób nieposiadających wariantu APOE E4 (odpowiednio, p=0,0001 i p<0,05). Zaburzenie poziomu analizowanych biotioli (Hcy i GSH), a także parametrów oksydacyjnych uszkodzeń DNA (8-oxo2dG i OGG1) było bardziej wyrażone u nosicieli wariantów: TOMM40‘523-VL, ‘650-A oraz APOC1‘638-A (p<0,05).Wydaje się, że analizowane czynniki: apoE, miR-107 i miR-650, Hcy i GSH oraz 8-oxo2dG mogą być markerami procesu neurodegeneracyjnego w przebiegu chA. Ponadto wydaje się, że klaster APOE oprócz powszechnie znanych alleli APOE E2/E3/E4, zawiera również inne warianty genetyczne istotne dla patogenezy chA, takie jak APOC1’638 oraz TOMM40’650. Ich udział w rozwoju chA może być związany z zaburzeniem metabolizmu biotioli oraz nieefektywną naprawą oksydacyjnych uszkodzeń DNA. Co więcej, w przyszłości, znajomość statusu genetycznego wariantów klastra APOE, jak również poziomu biotioli i markerów stresu oksydacyjnego w osoczu mogłaby przyczynić się do identyfikacji subpopulacji o zwiększonym ryzyku zachorowania na chA, dając możliwość modyfikacji czynników środowiskowych sprzyjających wystąpieniu otępienia oraz szansę na zapobieganie ujawniania się choroby