



**Δράση «Εμβληματικές δράσεις σε διαθεματικές επιστημονικές περιοχές με ειδικό ενδιαφέρον για την σύνδεση με τον παραγωγικό ιστό» ID 16618**

Εθνικό δίκτυο έρευνας για την ανάδειξη της γενετικής βάσης των νευροεκφυλιστικών νόσων Alzheimer και Parkinson, την ανίχνευση αξιόπιστων βιοδεικτών και την ανάπτυξη καινοτόμων υπολογιστικών τεχνολογιών και θεραπευτικών στρατηγικών στη βάση της ιατρικής ακριβείας (BRAIN PRECISION, TAEDR-0535850)

**ΤΙΤΛΟΣ ΠΑΡΑΔΟΤΕΟΥ:** Ανάπτυξη πειραματικών μοντέλων βασισμένων σε γενετικά ευρήματα στη Νόσο Πάρκινσον / Ανάπτυξη μοντέλων Νόσου Πάρκινσον σε νηματοειδή σκώληκα, με βάση γενετικά ευρήματα

**ΕΝΟΤΗΤΑ ΕΡΓΑΣΙΑΣ 4:** Ανάπτυξη κυτταρικών και ζωικών μοντέλων, καθώς και νέων βιοδεικτών για τις νευροεκφυλιστικές ασθένειες Alzheimer και Parkinson.

**ΥΠΕΥΘΥΝΗ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΟΜΑΔΑ (ΦΟΡΕΑΣ):** ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ ΠΑΛΗΚΑΡΑΣ (ΕΚΠΑ)

## Ανάπτυξη πειραματικών μοντέλων βασισμένων σε γενετικά ευρήματα στη Νόσο Πάρκινσον / Ανάπτυξη μοντέλων Νόσου Πάρκινσον σε νηματοειδή σκώληκα, με βάση γενετικά ευρήματα

**Ενότητα Εργασίας 4:** Ανάπτυξη κυτταρικών και ζωικών μοντέλων, καθώς και νέων βιοδεικτών για τις νευροεκφυλιστικές ασθένειες Alzheimer και Parkinson.

**Τίτλος Παραδοτέου:** Ανάπτυξη πειραματικών μοντέλων βασισμένων σε γενετικά ευρήματα στη Νόσο Πάρκινσον

Ομάδα Παληκαρά: Ανάπτυξη μοντέλων Νόσου Πάρκινσον σε νηματοειδή σκώληκα, με βάση γενετικά ευρήματα

### ΣΥΝΤΟΜΗ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ / ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στο πλαίσιο του προγράμματος, αναπτύξαμε και μελετήσαμε νέα διαγονιδιακά μοντέλα του νηματώδη *Caenorhabditis elegans*, με στόχο την αναπαραγωγή βασικών μοριακών και κυτταρικών χαρακτηριστικών της νόσου Πάρκινσον και τη διερεύνηση παθογενετικών μηχανισμών που σχετίζονται με την ανθρώπινη πρωτεΐνη α-συνουκλεΐνη. Δόθηκε ιδιαίτερη έμφαση στη σύγκριση της αγρίου τύπου μορφής της α-συνουκλεΐνης ( $\alpha\text{-syn}^{\text{wt}}$ ) με τη μεταλλαγμένη μορφή A30G ( $\alpha\text{-syn}^{\text{A30G}}$ ), αξιολογώντας τη νευροτοξικότητα, τη συσσωμάτωση και τη μιτοχονδριακή λειτουργία σε διαφορετικά ερεθίσματα.

### ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΠΟΡΕΙΑΣ ΥΛΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΗΣ ΕΕ – ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Για την επίτευξη των στόχων της Ενότητας Εργασίας 4, Παραδοτέο 4.4.B., δημιουργήθηκαν διαγονιδιακά ζώα που εκφράζουν είτε την  $\alpha\text{-syn}^{\text{wt}}$  είτε την  $\alpha\text{-syn}^{\text{A30G}}$  σε ντοπαμινεργικούς νευρώνες και σε μυϊκά κύτταρα. Στους ντοπαμινεργικούς νευρώνες πραγματοποιήθηκε συν-έκφραση της α-συνουκλεΐνης με GFP, ώστε να καταστεί δυνατή η *in vivo* απεικόνιση της μορφολογίας και της επιβίωσης των συγκεκριμένων νευρώνων κατά τη γήρανση. Παράλληλα, δημιουργήθηκαν μοντέλα μυϊκής έκφρασης  $\alpha\text{-syn}^{\text{wt}}::\text{GFP}$  και  $\alpha\text{-syn}^{\text{A30G}}::\text{GFP}$ , προκειμένου να παρακολουθηθεί ο ρυθμός και ο βαθμός σχηματισμού συσσωματωμάτων κατά τη γήρανση και να αξιολογηθούν διαφορές στη συμπεριφορά των δύο μορφών της α-συνουκλεΐνης. Επιπλέον, πραγματοποιήθηκαν πειράματα συν-εντοπισμού (*co-localization*) με στόχο να διερευνηθεί η αλληλεπίδραση της μεταλλαγμένης  $\alpha\text{-syn}^{\text{A30G}}$  με μιτοχόνδρια, καθώς και λειτουργικές μετρήσεις μιτοχονδριακής κατάστασης και οξειδωτικού στρες. Οι παραπάνω λειτουργικές παράμετροι εκτιμήθηκαν σε ζωντανά ζώα με τη χρήση ειδικών φθορίζουσών χρωστικών για την ανίχνευση μιτοχονδριακού μεμβρανικού δυναμικού, παραγωγής ενεργών ριζών οξυγόνου (ROS) και ενεργειακής κατάστασης/παραγωγής ATP.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Η φαινοτυπική ανάλυση των διαγονιδιακών ζώων στους ντοπαμινεργικούς νευρώνες έδειξε ότι η έκφραση της  $\alpha$ -syn<sup>A30G</sup> προκαλεί ταχύτερη ηλικιο-εξαρτώμενη εκφύλιση σε σχέση με την  $\alpha$ -syn<sup>wt</sup>, υποδηλώνοντας αυξημένη νευροτοξικότητα της μεταλλαγμένης μορφής (**Εικόνα 1A, B**). Στα μυϊκά κύτταρα, η ποσοτικοποίηση του σχηματισμού συσσωματωμάτων δεν αποκάλυψε σημαντικές διαφορές μεταξύ  $\alpha$ -syn<sup>wt</sup>::GFP και  $\alpha$ -syn<sup>A30G</sup>::GFP, γεγονός που υποδεικνύει ότι η παθογονικότητα της μεταλλαγμένης  $\alpha$ -syn<sup>A30G</sup>::GFP ενδέχεται να μην οφείλεται πρωτίστως σε αυξημένη πρωτεϊνική συσσωμάτωση, αλλά σε εναλλακτικούς μηχανισμούς που σχετίζονται με την υποκυτταρική κατανομή της πρωτεΐνης και την αλληλεπίδρασή της με οργανίδια (**Εικόνα 2A, B**). Προς αυτή την κατεύθυνση, τα in vivo πειράματα συν-εντοπισμού κατέδειξαν ότι η  $\alpha$ -syn<sup>A30G</sup>::GFP συν-εντοπίζεται και αλληλεπιδρά με τα μιτοχόνδρια (**Εικόνα 3**). Η μιτοχονδριακή λειτουργική ανάλυση έδειξε ότι η παρουσία της  $\alpha$ -syn<sup>A30G</sup>::GFP συσχετίζεται με αρνητικές μεταβολές στη μιτοχονδριακή ομοιόσταση, συμπεριλαμβανομένης αυξημένης παραγωγής ROS, μειωμένου μιτοχονδριακού μεμβρανικού δυναμικού και μειωμένης παραγωγής ATP, υποδεικνύοντας ενεργειακή δυσλειτουργία και ενισχυμένο οξειδωτικό στρες (**Εικόνα 4A-D**).

Στο πλαίσιο του έργου πραγματοποιήσαμε πρωτεομική ανάλυση σε διαγονιδιακά ζώα που εκφράζουν είτε την αγρίου τύπου ανθρώπινη  $\alpha$ -συνουκλείνη ( $\alpha$ -syn<sup>wt</sup>::GFP) είτε τη μεταλλαγμένη μορφή ( $\alpha$ -syn<sup>A30G</sup>::GFP), με στόχο τη διερεύνηση του πρωτεϊνικού δικτύου αλληλεπιδράσεων (interactome) κάθε μορφής της πρωτεΐνης in vivo. Ακολουθήθηκε στρατηγική απομόνωσης των πρωτεϊνικών συμπλόκων της  $\alpha$ -συνουκλείνης (pull-down/ανοσοκατακρήμιση μέσω GFP) και στη συνέχεια ταυτοποίηση των αλληλεπιδρώντων πρωτεϊνών με φασματομετρία μάζας. Η συγκριτική ανάλυση ανέδειξε τόσο κοινές όσο και ειδικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ  $\alpha$ -syn<sup>wt</sup>::GFP και  $\alpha$ -syn<sup>A30G</sup>::GFP, ενώ η βιοπληροφορική εμπλουτισμού μονοπατιών (enrichment/pathway analysis) έδειξε ότι η μεταλλαγμένη  $\alpha$ -syn<sup>A30G</sup> εμφανίζει ενισχυμένη αλληλεπίδραση με μιτοχονδριακές πρωτεΐνες και μιτοχονδριακές λειτουργικές κατηγορίες, σε σχέση με την αγρίου τύπου μορφή (**Εικόνα 5**). Το εύρημα αυτό υποστηρίζει περαιτέρω ότι μετάλλαξη A30G σχετίζεται με αυξημένη μιτοχονδριακή εμπλοκή της  $\alpha$ -συνουκλείνης, πιθανόν συμβάλλοντας στη μιτοχονδριακή δυσλειτουργία και το οξειδωτικό στρες που παρατηρείται στα αντίστοιχα μοντέλα.

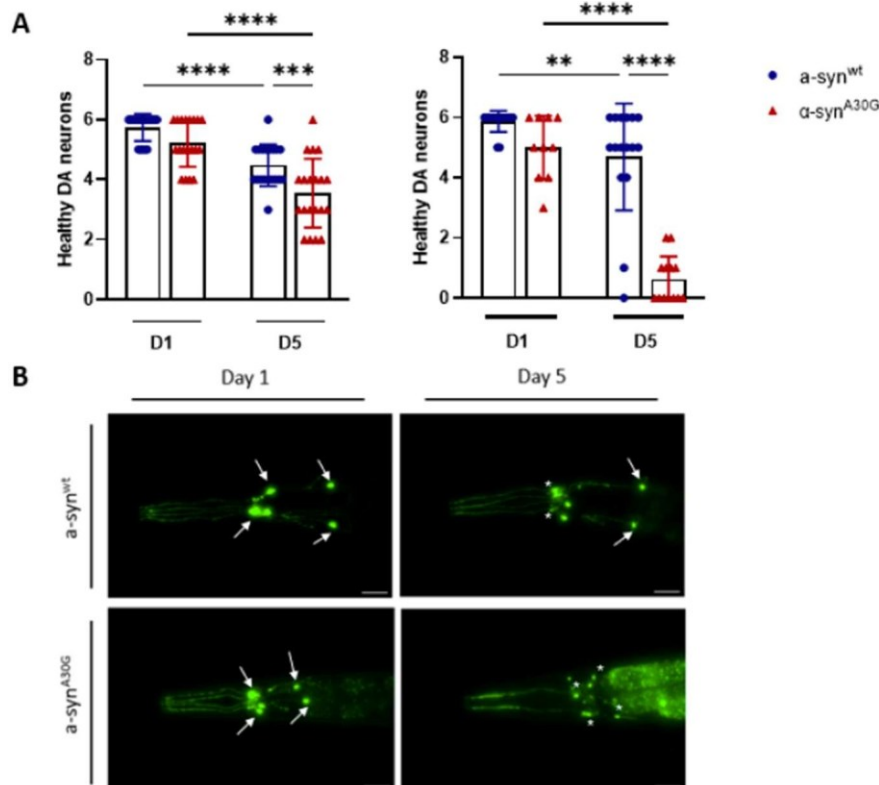
Επιπλέον, Κατά τη διάρκεια του έργου αξιολογήσαμε την επίδραση της μεταλλαγμένης ανθρώπινης  $\alpha$ -συνουκλείνης A30G στη λειτουργικότητα του ντοπαμινεργικού κυκλώματος, χρησιμοποιώντας τον νηματώδη *C. elegans* ως in vivo μοντέλο ντοπαμινεργικής δυσλειτουργίας. Συγκεκριμένα, πραγματοποιήσαμε συμπεριφορικές δοκιμές που εξαρτώνται από την ακεραιότητα της ντοπαμινεργικής σηματοδότησης, όπως η Basal Slowing Response (BSR) σε συνθήκες παρουσίας/απουσίας βακτηριακής τροφής, καθώς και η απόκριση αποφυγής αιθανόλης. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα διαγονιδιακά ζώα που εκφράζουν  $\alpha$ -syn<sup>A30G</sup> παρουσιάζουν σημαντικά ελαττωμένη ντοπαμινεξαρτώμενη προσαρμογή της κίνησης κατά την ανίχνευση τροφής (**Εικόνα 6A, B**) και μειωμένη αποφυγή της αιθανόλης (**Εικόνα 6A, C**), σε σύγκριση τόσο με τα ζώα αγρίου τύπου όσο και με τα ζώα που εκφράζουν την  $\alpha$ -syn<sup>wt</sup>. Επιπλέον, η δυσλειτουργία ήταν εντονότερη με την ηλικία, υποδεικνύοντας ότι η μετάλλαξη A30G οδηγεί σε επιταχυνόμενη, ηλικιο-εξαρτώμενη

έκπτωση της ντοπαμινεργικής λειτουργίας, ενισχύοντας τη παθολογική της σημασία ως

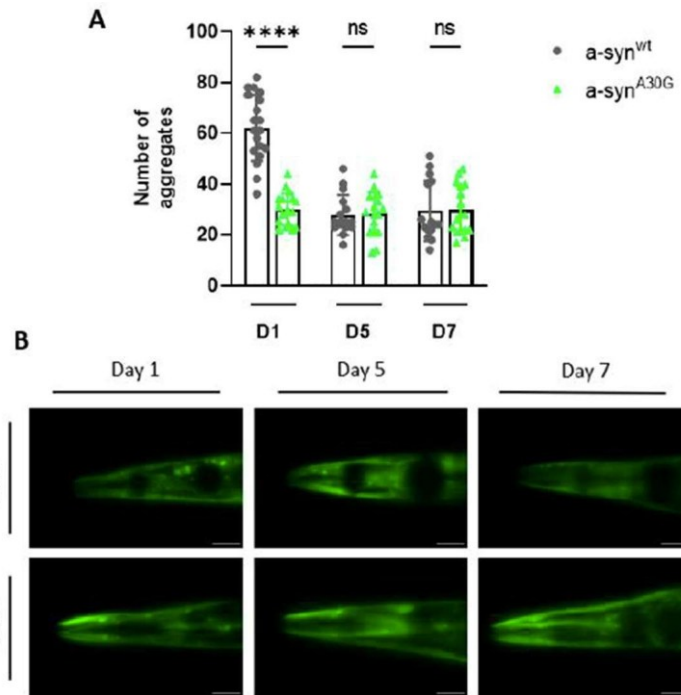
παράγοντα που επιδεινώνει την πορεία εκφύλισης στο πλαίσιο της νόσου Πάρκινσον.

Συνολικά, τα αποτελέσματα της ΕΕ4 τεκμηριώνουν ότι η  $\alpha$ -syn<sup>A30G</sup>::GFP αποτελεί ισχυρό νευροτοξικό παράγοντα, με παθογενετικές συνέπειες που σχετίζονται με μιτοχονδριακή δυσλειτουργία.

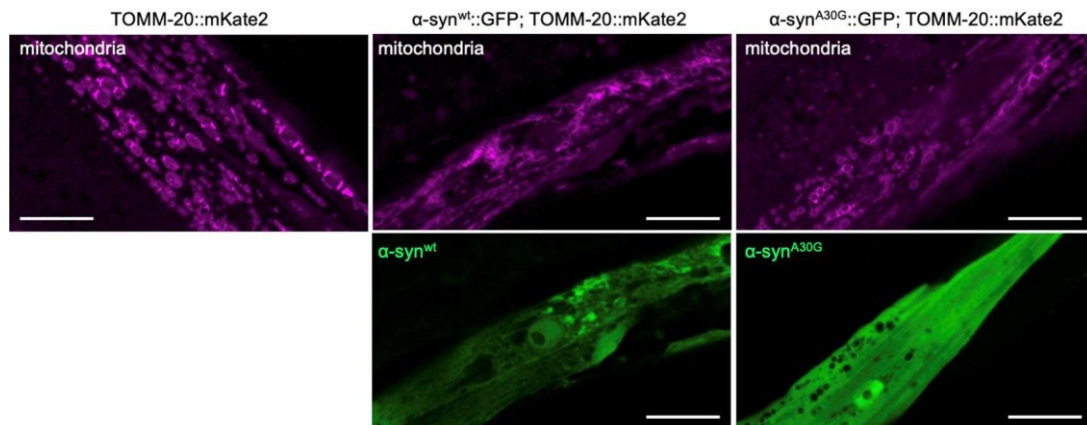
Αποτελέσματα από την δουλειά αυτή παρουσιάστηκαν ως αναρτημένη ανακοίνωση στο Synuclein 2025 Meeting, Cambridge, UK.



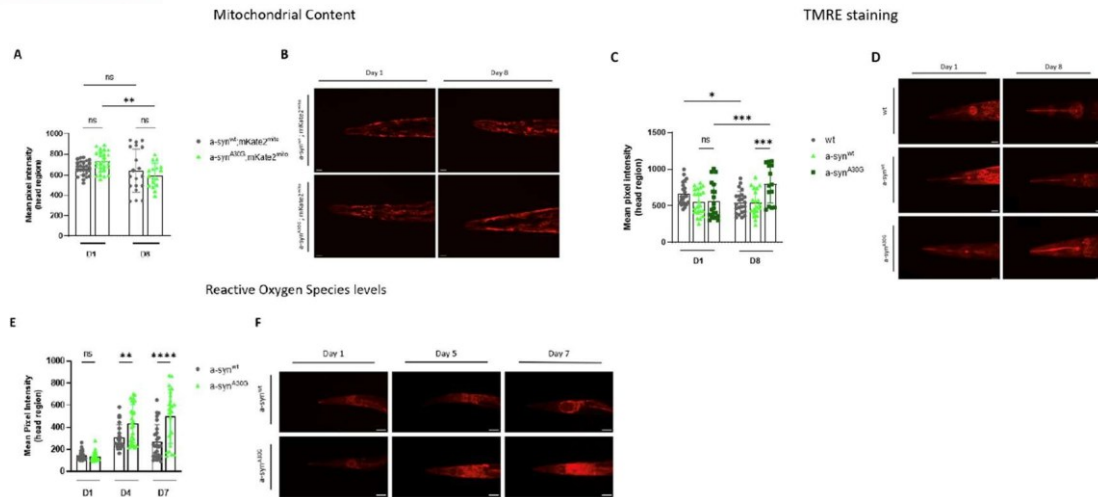
**Εικόνα 1.** Η υπερέκφραση της  $\alpha$ -syn<sup>A30G</sup> στους ντοπαμινεργικούς νευρώνες προκάλεσε πιο σοβαρή νευροεκφύλιση σε σύγκριση με την  $\alpha$ -syn<sup>wt</sup>. (A) Γραφικές αναπαραστάσεις των νευρώνων CEP και ADE σε νηματώδεις που εκφράζουν  $\alpha$ -syn<sup>wt</sup> ή  $\alpha$ -syn<sup>A30G</sup> την 1η και την 5η ημέρα (n=20 νηματώδεις ανά ομάδα, \*\*P<0.01; \*\*\*P<0.001; \*\*\*\*P<0.0001; ανάλυση διακύμανσης δύο παραγόντων (two-way ANOVA)). (B) Αντιπροσωπευτικές εικόνες της κεφαλικής περιοχής νηματωδών που εκφράζουν  $\alpha$ -syn<sup>wt</sup> ή  $\alpha$ -syn<sup>A30G</sup>. Τα υπολείμματα κυτταρικών σωμάτων σημειώνονται με αστερίσκους, ενώ τα άθικτα σώματα νευρώνων υποδεικνύονται με βέλη. Κλίμακα: 50  $\mu$ m. Οι εικόνες αποκτήθηκαν με αντικειμενικό φακό  $\times 20$ .



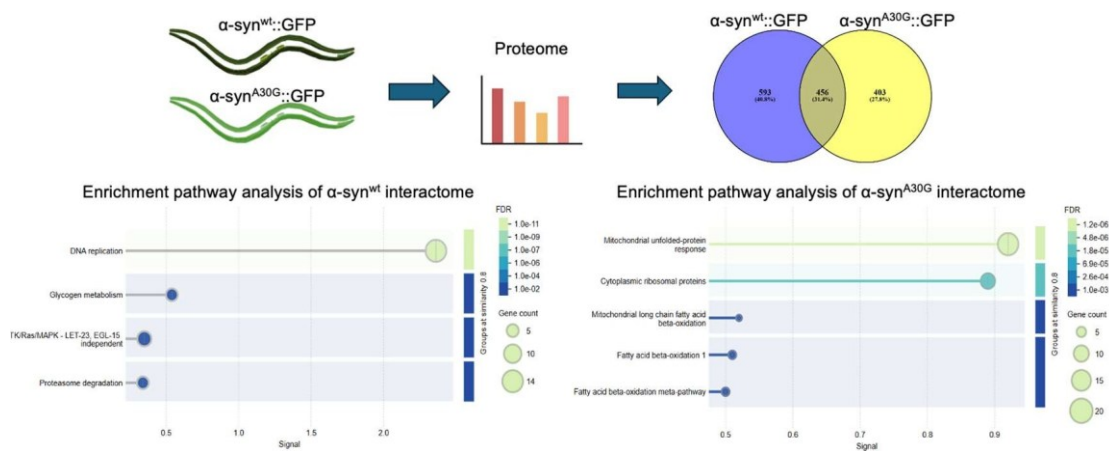
**Εικόνα 2. Ποσοτικοποίηση συσσωματωμάτων της α-συνουκλεΐνης σε μυϊκά κύτταρα του σωματικού τοιχώματος.** (Α) Γραφική απεικόνιση του αριθμού των συσσωματωμάτων στην κεφαλική περιοχή διαγονιδιακών ζώων που εκφράζουν α-syn<sup>wt</sup>::GFP και α-syn<sup>A30G</sup>::GFP σε μυϊκά κύτταρα του σωματικού τοιχώματος, μετρημένα την 1η, 5η και 7η ημέρα (n=20 νηματώδεις ανά ομάδα, ns P>0.05; \*\*\*\*P<0.0001; ανάλυση διακύμανσης δύο παραγόντων (two-way ANOVA)). (Β) Αντιπροσωπευτικές εικόνες της κεφαλικής περιοχής νηματωδών που εκφράζουν α-syn<sup>wt</sup>::GFP ή α-syn<sup>A30G</sup>::GFP. Κλίμακα: 50 μm. Οι εικόνες αποκτήθηκαν με αντικειμενικό φακό ×20.



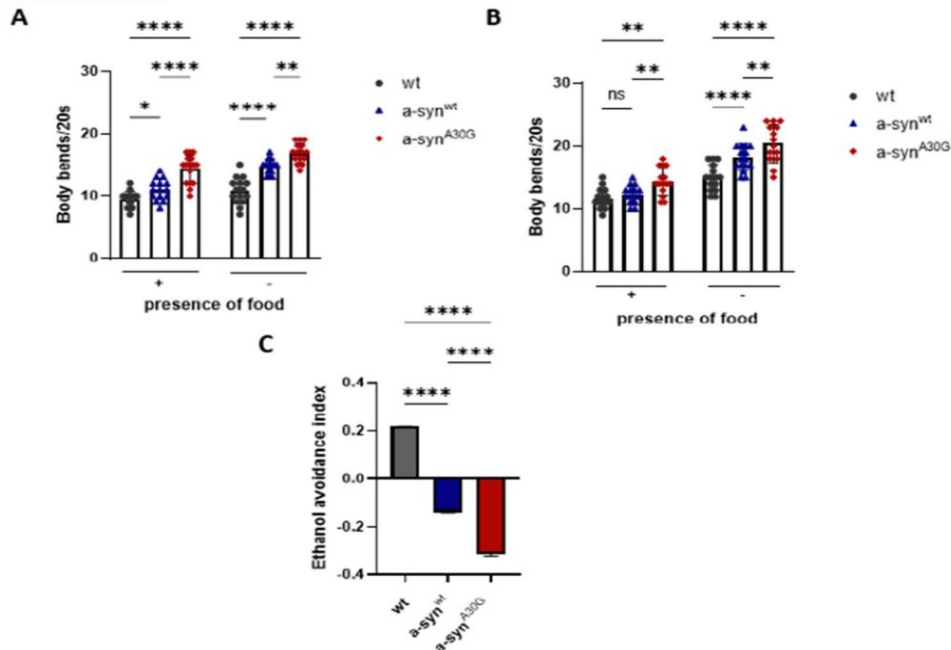
**Εικόνα 3. Συν-εντοπισμός α-συνουκλεΐνης με μιτοχόνδρια σε μυϊκά κύτταρα του *C. elegans*.** Αντιπροσωπευτικές εικόνες μυϊκών κυττάρων διαγονιδιακών νηματωδών που εκφράζουν τον μιτοχονδριακό δείκτη TOMM-20::mKate2 (μωβ) είτε μόνο του (αριστερά), είτε σε συνδυασμό με α-syn<sup>wt</sup>::GFP (κέντρο) ή α-syn<sup>A30G</sup>::GFP (δεξιά). Η α-συνουκλεΐνη απεικονίζεται σε πράσινο (κάτω σειρά), ενώ τα μιτοχόνδρια σε μωβ (πάνω σειρά), αναδεικνύοντας τη χωρική συσχέτιση/συν-εντοπισμό της α-συνουκλεΐνης με το μιτοχονδριακό δίκτυο. Κλίμακα: 20μm



**Εικόνα 4. Η  $\alpha$ -synuclein<sup>A30G</sup> προκαλεί μιτοχondριακή δυσλειτουργία και αυξημένη παραγωγή ROS.** (A) Η μετάλλαξη A30G στην  $\alpha$ -συνουκλείνη δεν διαφοροποιεί σημαντικά το μιτοχondριακό περιεχόμενο σε ζώα 1ης και 8ης ημέρας (n=20 νηματώδεις ανά ομάδα, ns P>0.05; \*\*P<0.01; ανάλυση διακύμανσης δύο παραγόντων (two-way ANOVA)). (B) Αντιπροσωπευτικές εικόνες διαγονιδιακών ζώων που εκφράζουν αγρίου τύπου ή A30G  $\alpha$ -συνουκλείνη και μιτοχondριακή mKate2 στα μυϊκά κύτταρα, την 1η και την 8η ημέρα. Ράβδοι κλίμακας: 20  $\mu$ m. Οι εικόνες αποκτήθηκαν με αντικειμενικό φακό  $\times 10$ . (C) Γραφική απεικόνιση της χρώσης TMRE σε ζώα αγρίου τύπου και ζώα που εκφράζουν  $\alpha$ -συνουκλείνη κατά τη γήρανση (n=20 νηματώδεις ανά ομάδα, ns P>0.05; \*P<0.05; \*\*\*P<0.001; two-way ANOVA). (D) Αντιπροσωπευτικές εικόνες ζώων 1ης και 8ης ημέρας που υποδεικνύουν αυξημένο μιτοχondριακό μεμβρανικό δυναμικό στα ηλικιωμένα ζώα που εκφράζουν τη μορφή A30G της πρωτεΐνης. Κλίμακα: 20  $\mu$ m. Οι εικόνες αποκτήθηκαν με αντικειμενικό φακό  $\times 10$ . (E) Η μεταλλαγμένη μορφή της πρωτεΐνης επάγει ηλικιο-εξαρτώμενη αύξηση της παραγωγής ROS σε σύγκριση με την αγρίου τύπου μορφή (n=20 νηματώδεις ανά ομάδα, ns P>0.05; \*\*P<0.01; \*\*\*\*P<0.0001; two-way ANOVA). (F) Αντιπροσωπευτικές εικόνες της κεφαλικής περιοχής ζώων 1ης, 5ης και 7ης ημέρας, χρωσμένων με MitoTracker Red CMXRos. Κλίμακα: 20  $\mu$ m. Οι εικόνες αποκτήθηκαν με αντικειμενικό φακό  $\times 10$ .



**Εικόνα 5. Πρωτεομική χαρτογράφηση του πρωτεϊνικού δικτύου αλληλεπιδράσεων της  $\alpha$ -συνουκλείνης ( $\alpha$ -syn<sup>WT</sup> και  $\alpha$ -syn<sup>A30G</sup>) σε διαγονιδιακά ζώα *C. elegans*.**



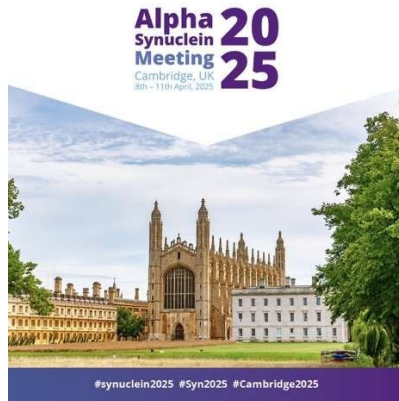
**Εικόνα 6.** Η έκφραση της α-συνουκλεΐνης A30G επηρεάζει συμπεριφορές που σχετίζονται με τη ντοπαμίνη. (A, B) Η απόκριση βασικής επιβράδυνσης (basal slowing response) σε νηματώδεις που εκφράζουν ανθρώπινη α-συνουκλεΐνη (α-syn) υπό τον προαγωγέα *dat-1*. Οι καμπές σώματος ανά 20 δευτερόλεπτα μετρήθηκαν σε πλάκες NGM με και χωρίς βακτήρια σε ζώα (A) 1ης ημέρας και (B) 5ης ημέρας (n=25). Στατιστική σημαντικότητα: ns (P>0.05), \*P<0.05, \*\*P<0.01, \*\*\*\*P<0.0001, two-way ANOVA). (C) Διαγονιδιακά ζώα που εκφράζουν την α-συνουκλεΐνη A30G παρουσιάζουν μειωμένη ευαισθησία στην αιθανόλη σε σύγκριση με ζώα που εκφράζουν την αγρίου τύπου πρωτεΐνη (n=20, \*\*P<0.0001; one-way ANOVA).

## ΠΙΘΑΝΕΣ ΛΟΙΠΕΣ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ

Η Ενότητα Εργασίας 4.4.B. οδήγησε στη δημιουργία νέων πειραματικών εργαλείων με υψηλή βιολογική συνάφεια για τη νόσο Πάρκινσον και παρείχε γνώση σχετικά με τις επιδράσεις της μεταλλαγμένης α-συνουκλεΐνης στη μιτοχονδριακή λειτουργία. Τα μοντέλα αυτά αποτελούν ισχυρή πλατφόρμα για μελλοντικές παρεμβάσεις και για αξιολόγηση υποψήφιων θεραπευτικών ουσιών.

## Συνέδρια

### Poster Abstracts



P137: Investigating the neurotoxic effects of the A30G  $\alpha$ -synuclein mutation in *C. elegans*

Ms Katerina Kitopoulou<sup>1</sup>, Ms Myrsini Kteniadaki<sup>1</sup>, Dr Marina Pantazopoulou<sup>3</sup>, Dr. Leonidas Stefanis<sup>2,3</sup>,  
**Dr Konstantinos Palikaras**<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Medical School, National And Kapodistrian University Of Athens, <sup>2</sup>First Department of Neurology, National and Kapodistrian University of Athens Medical School, <sup>3</sup>Center for Clinical, Experimental Surgery and Translational Research, Biomedical Research Foundation of the Academy of Athens

#### Objectives:

The aggregation of  $\alpha$ -synuclein is a hallmark of Parkinson's disease (PD) and various related neurological disorders. Several mutations in  $\alpha$ -synuclein, including A53T, A30P, and the newly identified A30G, are associated with familial forms of PD. Our study aims to investigate the pathogenic mechanisms of the A30G mutation, recently identified in a Greek cohort of PD patients, to understand its impact on neurodegeneration, protein aggregation, and mitochondrial function.

#### Methods:

We generated transgenic *Caenorhabditis elegans* models expressing either A30G mutant or wild-type (WT)  $\alpha$ -synuclein in dopaminergic (DA) neurons to evaluate neurodegenerative effects. Additionally, GFP-fused WT and A30G  $\alpha$ -synuclein were expressed in the nematodes' body-wall muscle cells to assess aggregation. Mitochondrial membrane potential and reactive oxygen species (ROS) generation were measured in both WT and A30G-expressing nematodes to explore mitochondrial integrity.

#### Results:

Our results indicate that *C. elegans* expressing A30G mutant  $\alpha$ -synuclein in DA neurons exhibit accelerated DA neurodegeneration compared to WT  $\alpha$ -synuclein-expressing animals, suggesting enhanced neurotoxicity. Aggregation assays in body wall muscle cells showed comparable aggregation phenotypes for A30G and WT  $\alpha$ -synuclein, indicating that the mutation does not significantly alter aggregation propensity. However, A30G-expressing nematodes displayed increased mitochondrial membrane potential and elevated mitochondrial ROS generation, suggesting that A30G interferes with mitochondrial function, potentially leading to oxidative stress and cellular damage.

#### Conclusions:

These findings suggest that the A30G mutation in  $\alpha$ -synuclein increases DA neuron vulnerability in *C. elegans* and disrupts mitochondrial homeostasis, evidenced by elevated ROS and membrane potential, without significantly altering  $\alpha$ -synuclein aggregation. This model highlights the potential of A30G *C. elegans* PD models for fundamental research and drug screening. Such models may provide

valuable insights into the molecular characterization of A30G pathogenicity and support the identification of targeted treatments for PD.

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Το έργο οδήγησε σε ανάπτυξη νέων μοντέλων, παραγωγή μηχανιστικών δεδομένων μιτοχονδριακής δυσλειτουργίας και δημοσιεύσεις σε διεθνή περιοδικά, ενισχύοντας τη μεταφραστική δυναμική του προγράμματος.

1. Borbolis F, Kteniadaki M, Palikaras K. MEC-12/alpha tubulin regulates mitochondrial distribution and mitophagy during oxidative stress in *C. elegans*. *microPublication biology* 2024; doi:10.17912/micropub.biology.001232
2. Ploumi C., Roussos A., Palikaras K. Assessing neuronal mitophagy during development in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.) 2024; doi: 10.1007/978-1-0716-4067-8\_5
3. Borbolis F, Palikaras K. Identifying therapeutic compounds for autosomal dominant optic atrophy (ADOA) through screening in the nematode *C. elegans*. *Methods in cell biology* 2024; doi: 10.1016/bs.mcb.2024.04.004
4. Tiwari V., Buvarp E., Borbolis F., Puligilla C., Croteau DL., Palikaras K.\* and Bohr VA.\* Loss of DNA glycosylases improves health and cognitive function in a *C. elegans* model of human tauopathy. *Nucleic Acid Research*, 2024 \*corresponding authors; doi: 10.1093/nar/gkae705
5. Tsakiri E, Niforos-Garcia G, Ackley BD, Palikaras K.\* Assessing mitochondrial number and morphology in a *C. elegans* model of human tauopathy. *Methods Cell Biol* 2025 \*corresponding author; doi:10.1016/bs.mcb.2025.05.002
6. Mytilinaiou E, Kitopoulou K, Palikaras K. *Caenorhabditis elegans* as a Screening Platform for Anti-aging Compounds. *Methods Mol Biol* (Clifton, N.J.) 2025 \*corresponding author; doi: 10.1007/978-1-0716-4426-3\_18
7. Roussos A., Kitopoulou K., Borbolis F., Ploumi C., Gianniou DD., Li Z., He H., Taskiri E., Borland H., Kostakis I., Samiotaki M., Trougakos IP., Bohr VA. and Palikaras K.\* Urolithin A-modulates inter-organellar communication via calcium dependent mitophagy to promote healthy ageing. *Autophagy*, 2025 \*corresponding authors; doi: 10.1080/15548627.2025.2561073
8. Borbolis F, Ploumi C, Palikaras K. Calcium-mediated regulation of mitophagy: implications in neurodegenerative diseases. *NPJ Metab Health Dis* 2025\*corresponding author; doi: 10.1038/s44324-025-00049-2
9. Li Z, Palikaras K, Li Y, Bohr VA. Editorial: Targeting the aging mitochondria: mechanisms, methods, and therapeutic strategies. *Front Aging Neurosci* 2025\*corresponding author; doi: 10.3389/fnagi.2025.1591288
10. Ploumi C. and Palikaras K., The yin and yang of neuronal mitophagy: Physiological functions and pathological implications in neurodevelopmental disorders. *Brain Organoid and Systems Neuroscience Journal* 2025; doi:10.1016/j.bosn.2025.06.001



**Ελλάδα 2.0**  
ΕΘΝΙΚΟ ΣΧΕΔΙΟ ΑΝΑΚΑΜΨΗΣ  
ΚΑΙ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ



Με τη χρηματοδότηση  
της Ευρωπαϊκής Ένωσης  
NextGenerationEU

11. Tiwari V, Borbolis F, Croteau DL, Palikaras K,\* Bohr VA.\* Novel roles of DNA glycosylases in neurodegenerative diseases and aging. Neural Regen Res 2025 \*corresponding author; doi: 10.4103/NRR.NRR-D-24-01588

12. He H, Ai R, Fang EF, Palikaras K. The Rab3 family proteins in age-related neurodegeneration: unraveling molecular pathways and potential therapeutic targets. NPJ Aging 2025 \*corresponding author; doi: 10.1038/s41514-025-00257-6



Ελλάδα 2.0 ΕΘΝΙΚΟ ΣΧΕΔΙΟ ΑΝΑΚΑΜΨΗΣ ΚΑΙ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ  
Εμβληματικές δράσεις σε διαθεματικές επιστημονικές περιοχές με ειδικό ενδιαφέρον για την σύνδεση με τον  
παραγωγικό ιστό, ID 16618  
Κωδικός πράξης: TAEDR-0535850