



**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: Εφαρμογή πρωτοπόρων φαρμακευτικών ουσιών σε μοντέλα νευροεκφυλιστικών νόσων**

**ΕΝΟΤΗΤΑ ΕΡΓΑΣΙΑΣ 6: Ανάπτυξη καινοτόμων προκλινικών θεραπευτικών παρεμβάσεων κατά της πρόωρης εμφάνισης νευροεκφυλιστικών νοσημάτων Alzheimer και Parkinson.**

**ΥΠΕΥΘΥΝΗ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΟΜΑΔΑ (ΦΟΡΕΑΣ): ΓΙΩΡΓΟΣ ΚΟΚΟΤΟΣ (ΕΚΠΑ)**

## Εφαρμογή πρωτοπόρων φαρμακευτικών ουσιών σε μοντέλα νευροεκφυλιστικών νόσων

ΕΕ6: Ανάπτυξη καινοτόμων προκλινικών θεραπευτικών παρεμβάσεων κατά της πρόωρης εμφάνισης νευροεκφυλιστικών νοσημάτων Alzheimer και Parkinson.

ΠΑΡΑΔΟΤΕΟ 6.2. Εφαρμογή πρωτοπόρων φαρμακευτικών ουσιών σε μοντέλα νευροεκφυλιστικών νόσων

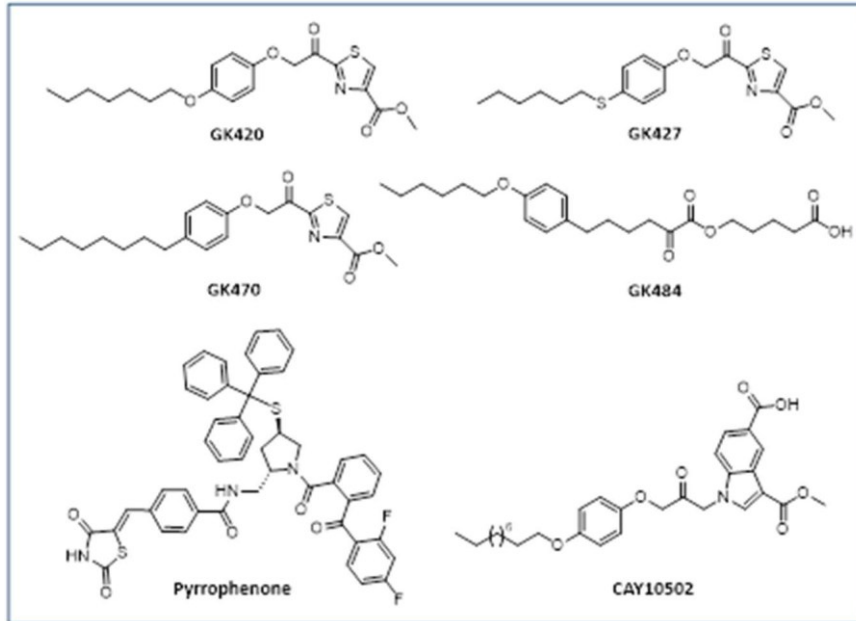
ΠΑΡΑΔΟΤΕΟ 6.2.Γ. Ομάδα Γ. Κόκοτου

Η ερευνητική δραστηριότητα της ομάδας του Καθ. Γ. Κόκοτου (Τμήμα Χημείας ΕΚΠΑ) κινήθηκε προς τρεις κατευθύνσεις: (α) Αναστολείς κυτοσολικής φωσφολιπάσης  $A_2$  και επίδρασή τους σε ενδοκυτταρικά επίπεδα λιπαρών οξέων που επηρεάζουν τη συσσωμάτωση της  $\alpha$ -συνουκλείνης. (β) Αποακετυλάσες ιστονών και αναστολείς τους ως καινοτόμα μέσα για την αντιμετώπιση νευροεκφυλιστικών νόσων. (γ) Χορήγηση ενώσεων μικρού μοριακού βάρους στις συνεργαζόμενες ομάδες για *in vitro* και *in vivo* δοκιμασίες σε μοντέλα νευροεκφυλιστικών νόσων.

### **Αναστολείς κυτοσολικής φωσφολιπάσης $A_2$ και επίδρασή τους σε επίπεδα λιπαρών οξέων**

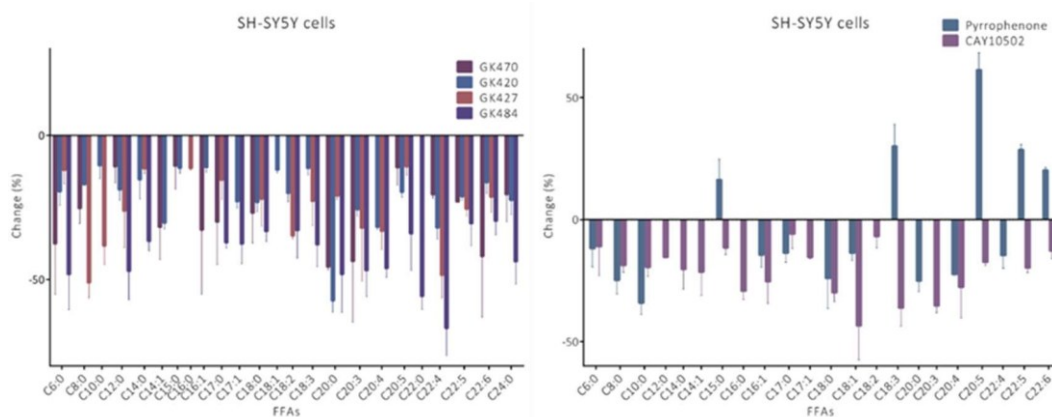
Η κυτοσολική φωσφολιπάση  $A_2$  (GIVA cPLA<sub>2</sub>) είναι ένα ένζυμο που υδρολύει εστερικούς δεσμούς στη θέση *sn*-2 γλυκεροφωσφολιπιδίων των κυτταρικών μεμβρανών προς απελευθέρωση ελεύθερων λιπαρών οξέων, συμπεριλαμβανομένου του αραχιδονικού οξέος. Διάφορα λιπίδια, και συγκεκριμένα, πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFAs), όπως το αραχιδονικό οξύ ή το εικοσιδιεξαενοϊκό οξύ (DHA), έχει αποδειχθεί ότι αλληλεπιδρούν με την  $\alpha$ -συνουκλείνη, με αποτέλεσμα τον ολιγομερισμό της και την επακόλουθη κυτταροτοξικότητά της. Σε παλαιότερη εργασία μας, η ερευνητική μας ομάδα έδειξε ότι η επώαση κυττάρων νευροβλαστώματος SH-SY5Y με ισχυρό συνθετικό αναστολέα της GIVA cPLA<sub>2</sub> (GK200) μείωσε τα επίπεδα του αραχιδονικού οξέος καθώς και τα επίπεδα τόσο της ολιγομερούς όσο και της μονομερούς  $\alpha$ -συνουκλείνης, προάγοντας έτσι την επιβίωση των κυττάρων.

Στα πλαίσια αυτού του παραδοτέου πραγματοποιήθηκε λιπιδομική μελέτη συνθετικών αναστολέων μικρού μοριακού βάρους της GIVA cPLA<sub>2</sub> σε κυτταρικό μοντέλο νευροβλαστώματος SH-SY5Y, σε συνεργασία με την ομάδα Ε. Εμμανουηλίδου (Τμήμα Χημείας ΕΚΠΑ). Η μελέτη αφορούσε σε τέσσερις (4) αναστολείς (GK420, GK427, GK470 και GK484) που ανήκουν στις ομάδες των θειαζολύλο κετονών και των οξοεστέρων που έχουν αναπτυχθεί από την ομάδα Γ. Κόκοτου. Ακόμη, πραγματοποιήθηκε μελέτη δύο (2) εμπορικά διαθέσιμων αναστολέων (ryrrophenone και CAY10502). Συγκεκριμένα, εφαρμόστηκε μια μέθοδος LC-HRMS (Υγρή Χρωματογραφία Συζευγμένη με Φασματομετρία Μάζας Υψηλής Διακριτικής Ικανότητας) για την ανάλυση 24 ελεύθερων λιπαρών οξέων (μεσαίας και μακράς ανθρακικής αλυσίδας, κορεσμένων και ακόρεστων) έπειτα από την δράση του εκάστοτε αναστολέα σε κύτταρα νευροβλαστώματος SH-SY5Y.



Δομές των αναστολέων της GIVA cPLA<sub>2</sub> που μελετήθηκαν.

Ακολουθώντας αυτήν την λιπιδιομική προσέγγιση, ήμασταν σε θέση να παρατηρήσουμε αρχικά ότι οι πιο ισχυροί αναστολείς της GIVA cPLA<sub>2</sub> (GK420, GK427, GK484, pyrrophenone και CAY10502) οδήγησαν σε μείωση των ενδοκυτταρικών επιπέδων αραχιδονικού οξέος κατά 22,39% έως και 46,09%. Επιπλέον, οι αναστολείς θειαζολύλο κετόνης GK420 και GK427 προκάλεσαν μείωση στα επίπεδα αδρενικού οξέος κατά 32,01% και 48,52% αντίστοιχα, ενώ στην περίπτωση του 2-οξοεστερικού αναστολέα GK484, παρατηρήθηκε αξιοσημείωτη μείωση του αδρενικού οξέος (66,85%). Οι θειαζολύλο κετόνες μείωσαν επίσης τα επίπεδα και άλλων λιπαρών οξέων μακράς αλυσίδας, όπως το λινελαϊκό οξύ (34,79%), το διομο-γ-λινολενικό οξύ (32,13%), το μυριστελαϊκό οξύ (30,28%) και το αραχιδικό οξύ (57,30%). Τέλος, ο εμπορικά διαθέσιμος αναστολέας CAY10502 μείωσε σημαντικά τα επίπεδα του ελαϊκού οξέος (43,49%), του λινολενικού οξέος (36,16%) και του διομο-γ-λινολενικού οξέος (35,30%), ενώ στην περίπτωση της pyrrophenone παρατηρήθηκε ασυνήθιστη αύξηση στα επίπεδα του λινολενικού οξέος (30,12%), του εικοσαπενταενοϊκού οξέος (61,42%), του εικοσιδιαπενταενοϊκού οξέος (28,69%) και του εικοσιδιεξαενοϊκού οξέος (20,29%).



Μεταβολές στα επίπεδα των ενδοκυτταρικών ελεύθερων λιπαρών οξέων (FFAs) μετά την επώαση κυττάρων SH-SY5Y με τους αναστολείς GK470, GK420, GK427, GK484 (αριστερά) και pyrrorphenone, CAY10502 (δεξιά).

Συμπερασματικά, η λιπιδομική ανάλυση που έλαβε χώρα, έπειτα από την δράση του εκάστοτε αναστολέα στις κυτταρικές καλλιέργειες, ανέδειξε την ικανότητα των ενώσεων αυτών να επηρεάζουν ενδοκυτταρικά τα επίπεδα ελεύθερων λιπαρών οξέων όπως το αραχιδονικό οξύ, αλλά και άλλων ακόρεστων λιπαρών οξέων μακράς αλυσίδας, όπως το αδρενικό οξύ και το λινολεϊκό οξύ, που μπορούν να χρησιμεύσουν ως σηματοδοτικά λιπίδια. Η ικανότητα των αναστολέων της GIVA cPLA2 να ρυθμίζουν τα επίπεδα των ελεύθερων λιπαρών οξέων θα μπορούσε μελλοντικά να συμβάλει στην κατανόηση των μηχανισμών των νευροεκφυλιστικών ασθενειών και στην εύρεση νέων πιθανών θεραπειών.

Δημοσίευση: Bourboula A., Mantzourani C., Chalatsa I., Machalia C., Emmanouilidou E., Kokotou M.G., Kokotos G. A lipidomic approach to studying the downregulation of free fatty acids by cytosolic phospholipase A<sub>2</sub> inhibitors **Biomolecules** 2025; 15(5):626. doi: 10.3390/biom15050626

Αναρτημένη ανακοίνωση σε συνέδριο: Bourboula A., Mantzourani C., Chalatsa I., Emmanouilidou E., Kokotou M.G., Kokotos G. "Inhibitors of Cytosolic Phospholipase A<sub>2</sub> Downregulate Intracellular Free Fatty Acids in Neuroblastoma Cells (SH-SY5Y)", 20th Hellenic Symposium on Medicinal Chemistry (HSMC-2025), April 3-5, 2025, Ioannina, Greece.

### **Αποακετυλάσες ιστονών (Histone Deacetylases, HDACs) και αναστολείς τους ως καινοτόμα μέσα για την αντιμετώπιση νευροεκφυλιστικών νόσων**

Τα τελευταία χρόνια υπάρχουν συνεχώς αυξανόμενα δεδομένα ότι οι αποακετυλάσες ιστονών (Histone Deacetylases, HDACs) εμπλέκονται στα νευροεκφυλιστικά νοσήματα όπως ΝΑ και ΝΠ. Προς αυτή την κατεύθυνση διερευνήθηκε η βιβλιογραφία και συγγράφηκε άρθρο ανασκόπησης με τίτλο «Histone Deacetylase (HDAC) Inhibitors as a Novel Therapeutic Option Against Fibrotic and Inflammatory Diseases» που δημοσιεύτηκε στο περιοδικό Biomolecules. Στο άρθρο αυτό συνοψίζονται πρόσφατα ερευνητικά δεδομένα (περίοδος 2020-2024) που αφορούν στην ανάπτυξη και τη διερεύνηση εκλεκτικών και μη εκλεκτικών αναστολέων HDAC ως θεραπευτικών παραγόντων για διάφορες παθοφυσιολογικές καταστάσεις, συμπεριλαμβανομένων ινωτικών, αυτοάνοσων, φλεγμονωδών και νευροφλεγμονωδών νοσημάτων.

Επιπλέον, υπό συγγραφή βρίσκεται άρθρο ανασκόπησης που συνοψίζει τα ευρήματα που προκύπτουν από τη διεθνή βιβλιογραφία αναφορικά με μελέτες δράσης αναστολέων HDAC σε μοντέλα νευροεκφυλιστικών νοσημάτων. Συγκεκριμένα, παρουσιάζονται αναλυτικά ερευνητικά δεδομένα που αφορούν σε νέους αλλά και ήδη εγκεκριμένους αναστολείς HDAC που έχουν δοκιμαστεί σε in vitro και in vivo μοντέλα για ΝΑ και ΝΠ ή βρίσκονται σε κλινικές δοκιμές ως θεραπευτική αγωγή για τις εν λόγω νόσους.

Υπό συγγραφή δημοσίευση: «Histone Deacetylase Inhibitors (HDACIs) in Neurodegenerative Diseases» C. Mantzourani, M. A. Theodoropoulou, M. Pantazopoulou, L. Stefanis, G. Kokotos.

**Δημοσίευση:** Theodoropoulou M.A., Mantzourani C., Kokotos G. «Histone Deacetylase (HDAC) Inhibitors as a Novel Therapeutic Option against Fibrotic and Inflammatory Diseases.» **Biomolecules** 2024; 14(12):1605. doi: 10.3390/biom14121605.

**Χορήγηση ενώσεων μικρού μοριακού βάρους στις συνεργαζόμενες ομάδες για in vitro και in vivo δοκιμασίες σε μοντέλα νευροεκφυλιστικών νόσων**

Συντέθηκαν και χορηγήθηκαν ενώσεις μικρού μοριακού βάρους στην ομάδα της Ε. Εμμανουηλίδου (Τμήμα Χημείας ΕΚΠΑ) για in vitro μελέτη σε κυτταρικό επίπεδο σχετικά με την επίδρασή τους στα επίπεδα α-συνουκλεΐνης και στην ομάδα Κ. Παληκαρά (Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ) για in vivo μελέτη σε μοντέλα νόσου Πάρκινσον στον *Caenorhabditis elegans*. Τα αποτελέσματα αυτών των μελετών περιγράφονται σε άλλο σημείο αυτής της έκθεσης.