



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: i) Ποσοτική πρωτεωμική LC–MS/MS ιππόκαμπτου αρσενικών (ii) Συμπεριφορικά δεδομένα fear conditioning (iii) Ενοποιημένη ανάλυση που συνδέει τις μοριακές τροχιές γήρανσης με το λειτουργικό αποτέλεσμα μνήμης.

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

ΥΠΕΥΘΥΝΗ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΟΜΑΔΑ (ΦΟΡΕΑΣ): ΕΥΘΥΜΙΟΣ ΣΚΟΥΛΑΚΗΣ (ΕΚΕΒΕ “Αλέξανδρος Φλέμινγκ”)

i) Ποσοτική πρωτεωμική LC–MS/MS ιππόκαμπου αρσενικών (ii) Συμπεριφορικά δεδομένα fear conditioning (iii) Ενοποιημένη ανάλυση που συνδέει τις μοριακές τροχιές γήρανσης με το λειτουργικό αποτέλεσμα μνήμης.

ΠΑΡΑΔΟΤΕΑ

(i) Ποσοτική πρωτεωμική LC–MS/MS ιππόκαμπου αρσενικών σε 4, 8, 12 και 18 μήνες, ανά γονότυπο (WT, TauKO, hTau), με DEPs σε FDR<0.01. (ii) Συμπεριφορικά δεδομένα fear conditioning στις ίδιες ηλικίες (εκπαίδευση, contextual και cued), με σαφείς γονοτυπικές τροχιές στους 18 μήνες. (iii) Ενοποιημένη ανάλυση που συνδέει τις μοριακές τροχιές γήρανσης με το λειτουργικό αποτέλεσμα μνήμης. Προετοιμασία χειρογράφου σε εξέλιξη.

ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΠΟΡΕΙΑΣ ΥΛΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΗΣ ΕΕ - ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

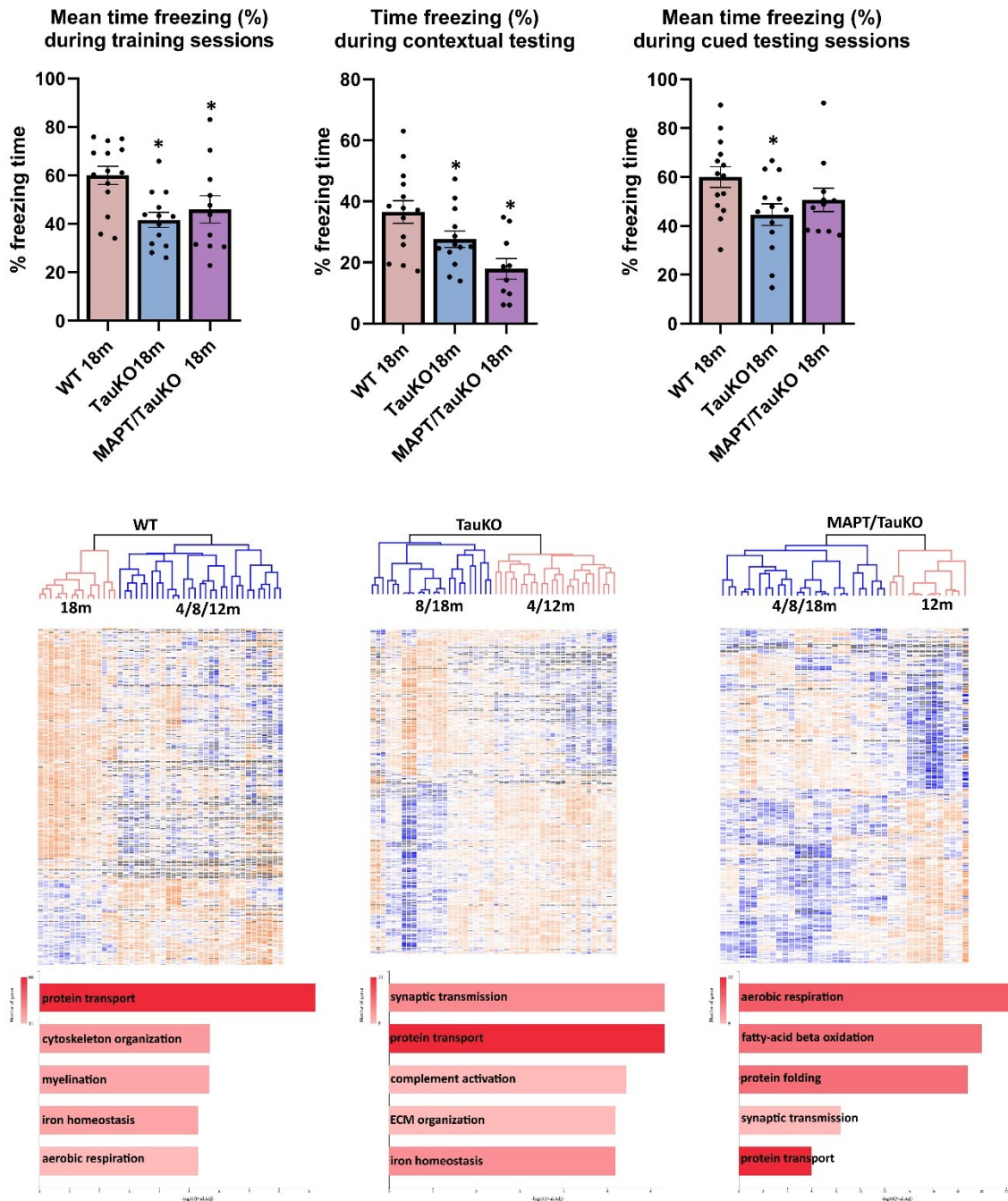
Η ενότητα υλοποιήθηκε με κοινό σχεδιασμό ηλικιών για πρωτεωμική και συμπεριφορά (4, 8, 12, 18 μήνες), ώστε η συσχέτιση πρωτεώματος–μνήμης να είναι άμεση. Στο fear conditioning, τα WT αρσενικά διατήρησαν ισχυρή απόκτηση/ανάκληση στους 18 μήνες, τα TauKO εμφάνισαν σαφές έλλειμμα, ενώ τα hTau είχαν ενδιάμεσο φαινότυπο. Η πρωτεωμική ανέδειξε τρεις διακριτές τροχιές γήρανσης στον ιππόκαμπο. Στα WT η κύρια μεταβολή είναι όψιμη, με εκτεταμένη αναδιαμόρφωση στους 18 μήνες (907 DEPs) που περιλαμβάνει άξονες ECM/PNN, μυελίνης/ολιγοδενδροκυττάρων, ανοσίας/συμπληρώματος και δεικτών σιδήρου–οξειδοαναγωγής. Στα TauKO η απόκλιση εμφανίζεται νωρίτερα και συνοδεύεται από δυσρύθμιση σιδήρου/οξειδωτικού στρες και απώλεια συναπτικών στοιχείων και μετασυναπτικής μετάφρασης, στοιχείο που ερμηνεύει το έλλειμμα μνήμης στο fear conditioning. Στα hTau παρατηρείται μη γραμμική πορεία με «κορύφωση» στους 12 μήνες και ενίσχυση μιτοχονδριακών και πρωτεοστατικών οδών (OXPHOS, μεταβολισμός λιπαρών οξέων, chaperones), συμβατή με ενδιάμεση συμπεριφορική έκβαση. Οφέλη για τον φορέα: παραγωγή ολοκληρωμένου, χρονικά δομημένου dataset για την επίδραση της Tau στη γήρανση του ιππόκαμπου αρσενικών, σύνδεση μοριακών υπογραφών με λειτουργική μνήμη, και ανάδειξη σαφών μηχανιστικών αξόνων (συναπτική λειτουργία/μετάφραση, οξειδοαναγωγή, ομοίσταση του σιδήρου, γλοιακή/ECM αναδιαμόρφωση, μιτοχόνδρια–πρωτεόσταση) ως πλαίσιο για επόμενες στοχευμένες παρεμβάσεις.

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ

Η παρούσα τελική έκθεση αφορά το παραδοτέο που εξετάζει πώς η Tau (φυσιολογική παρουσία, γενετική απουσία ή αντικατάσταση από ανθρώπινη MAPT) επηρεάζει την ηλικιακή

αναδιαμόρφωση του πρωτεώματος του υποκάμπου σε αρσενικούς ποντικούς και πώς οι μοριακές μεταβολές συνδέονται με τη μνήμη, όπως αποτιμάται με fear conditioning. Ο υποκάμπος επιλέχθηκε επειδή είναι καίριος για μάθηση/μνήμη και ιδιαίτερα ευάλωτος στη γήρανση και σε διαταραχές που σχετίζονται με την Ταυ.

Για να καταγράψουμε τη δυναμική της γήρανσης, αναλύσαμε ηλικίες 4, 8, 12 και 18 μηνών. Οι ίδιες ηλικίες χρησιμοποιήθηκαν τόσο για την ποσοτική πρωτεωμική LC-MS/MS στον υποκάμπο



όσο και για τη συμπεριφορική δοκιμή, ώστε η συσχέτιση πρωτεώματος-λειτουργίας να είναι άμεση.

Όπως φαίνεται και στην εικόνα, στο fear conditioning, τα αρσενικά έδειξαν τρεις διακριτές τροχιές στους 18 μήνες. Τα WT διατήρησαν ισχυρή απόκτηση και ανάκληση ($\approx 63\%$ freezing στην εκπαίδευση, $\approx 38\%$ στο contextual και $\approx 59\%$ στο cued), υποδεικνύοντας ότι η μνήμη παραμένει λειτουργική παρά την ηλικία. Τα TauKO είχαν σαφώς μειωμένη απόδοση ($\approx 42\%$ στην εκπαίδευση, $\approx 27\%$ contextual, $\approx 44\%$ cued), δηλαδή περίπου 50% χειρότερη επίδοση από τα WT, συμβατή με προοδευτικό έλλειμμα μνήμης όταν απουσιάζει η Tau. Τα hTau εμφάνισαν ενδιάμεσο φαινότυπο ($\approx 47\%$ στην εκπαίδευση, $\approx 18\%$ contextual και $\approx 52\%$ cued), που δεν ταυτίζεται με κανένα από τα δύο άκρα και υποδηλώνει διαφορετική πορεία.

Η πρωτεωμική ανάλυση εξηγεί ουσιαστικά αυτές τις συμπεριφορικές διαφορές, καθώς ανέδειξε τρεις διακριτές μοριακές τροχιές γήρανσης στον υπόκαμπο. Στα WT, τα δείγματα 4/8/12 μηνών ομαδοποιήθηκαν μαζί και διαχωρίστηκαν καθαρά από τα 18 μήνες, δείχνοντας ότι η κύρια μεταβολή εμφανίζεται όψιμα. Στους 18 μήνες καταγράφηκε εκτεταμένη αναδιαμόρφωση (907 σημαντικά μεταβαλλόμενες πρωτεΐνες), με αύξηση πρωτεϊνών εξωκυττάριας μήτρας (ECM) και perineuronal nets (PNN), δεικτών μυελίνης/ολιγοδενδροκυττάρων και στοιχείων ανοσίας/συμπληρώματος, μαζί με ενδείξεις άξονα σιδήρου και οξειδοαναγωγικής ρύθμισης. Το συμπέρασμα είναι σαφές: στα WT η διατήρηση της μνήμης συνοδεύεται από έντονη ιστική/γλοιακή αναδιάρθρωση και αυξημένη μεταβολική-οξειδωτική επιβάρυνση στον υπόκαμπο.

Στα TauKO, η απόκλιση του πρωτεώματος εμφανίστηκε νωρίτερα και με μεγαλύτερη ένταση. Η ομαδοποίηση υποδήλωσε πρώιμη εκτροπή ήδη από τους 8 μήνες και στους 18 μήνες η υπογραφή ECM/PNN-μυελίνη-γλοίωση ήταν εντονότερη από των WT. Το κρίσιμο εύρημα όμως ήταν η δυσρύθμιση του άξονα σιδήρου/οξειδοαναγωγής, με πρότυπο συμβατό με αυξημένη συσσώρευση σιδήρου και ενίσχυση της παραγωγής ROS. Παράλληλα, καταγράφηκε απώλεια συναπτικών στοιχείων (υποδοχείς/κανάλια και πρωτεΐνες οργάνωσης σύναψης) και ειδική μείωση της «μετάφρασης στο μετασυναπτικό άκρο», δηλαδή της τοπικής συναπτικής πρωτεϊνοσύνθεσης που απαιτείται για σταθεροποίηση της μνήμης. Αυτή η σύζευξη, οξειδωτική/σιδηρο-τοξική πίεση μαζί με αποδιοργάνωση της συναπτικής υποδομής και της μετασυναπτικής μετάφρασης, παρέχει συνεκτική εξήγηση για τη σαφή αποτυχία των TauKO στο fear conditioning.

Τα hTau ακολούθησαν μη γραμμική τροχιά. Τα δείγματα 4, 8 και 18 μηνών ομαδοποιήθηκαν μαζί, ενώ οι 12 μήνες αποτέλεσαν ξεχωριστό κλάδο, υποδεικνύοντας «κορύφωση» μεταβολών στο midlife. Σε αυτή την ηλικία αναδείχθηκαν κυρίως μιτοχονδριακές και πρωτεοστατικές οδοί (OXPHOS/αναπνοή, μεταβολισμός λιπαρών οξέων, chaperones και μηχανισμοί δίπλωσης/μεταφοράς πρωτεϊνών), μαζί με όρους σχετικούς με συναπτική κυστιδιακή κυκλοφορία/ενδοκύττωση. Η μοριακή αυτή εικόνα ταιριάζει με τον ενδιάμεσο συμπεριφορικό φαινότυπο στους 18 μήνες: ένα σύστημα που περνά περίοδο αυξημένης μιτοχονδριακής/πρωτεοστατικής καταπόνησης στη μέση ηλικία και στη συνέχεια εμφανίζει μερική προσαρμογή, χωρίς να επιστρέφει σε καθαρά WT τροχιά.

Συνολικά, το παραδοτέο δείχνει ότι η κατάσταση της Tau δεν επηρεάζει απλώς τον ρυθμό της γήρανσης του υπόκαμπου, αλλά κυρίως τον μηχανισμό της. Στα WT, η μνήμη διατηρείται παρά την όψιμη, εκτεταμένη αναδιαμόρφωση. Στα TauKO, η πρώιμη εκτροπή, η δυσρύθμιση σιδήρου/οξειδωτικού στρες και η απώλεια συναπτικής λειτουργίας συνδέονται με σαφές έλλειμμα fear conditioning. Στα hTau, η μη γραμμική πορεία με κορύφωση



μιτοχονδριακής/πρωτεοστατικής καταπόνησης στο midlife αντιστοιχεί σε ενδιάμεση συμπεριφορική έκβαση.

