



**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 οπτικών απεικονιστικών βιοδεικτών ακριβείας για την αξιολόγηση της ποσότητας/ποιότητας της μυελίνης και της οργάνωσης των μικροσωλινίσκων στους άξονες των νευρικών κυττάρων.

**ΕΝΟΤΗΤΑ ΕΡΓΑΣΙΑΣ 5:** Ανάπτυξη νέων υπολογιστικών μοντέλων και τεχνολογιών για την έγκαιρη διάγνωση των νευροεκφυλιστικών νόσων Alzheimer και Parkinson και των πρόδρομων μορφών τους..

**ΥΠΕΥΘΥΝΗ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΟΜΑΔΑ (ΦΟΡΕΑΣ):** ΕΜΜΑΝΟΥΗΛ ΣΤΡΑΤΑΚΗΣ (ΙΤΕ)

## Ανάπτυξη οπτικών απεικονιστικών βιοδεικτών ακριβείας για την αξιολόγηση της ποσότητας/ποιότητας της μυελίνης και της οργάνωσης των μικροσωλινίσκων στους άξονες των νευρικών κυττάρων. .

### ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ

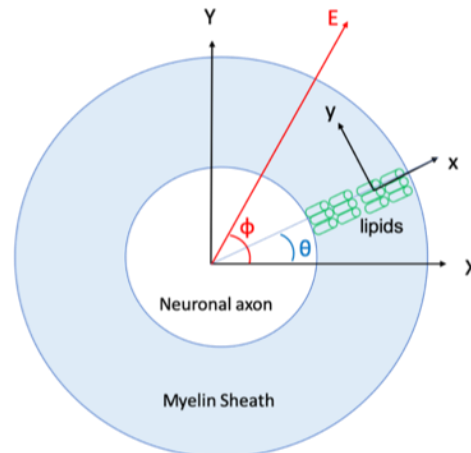
Έγινε χρήση μη-επεμβατικής οπτικής μικροσκοπίας γέννησης τρίτης αρμονικής ευαίσθητης στην πόλωση (P-THG) σε νευρικό ιστό, χωρίς τη χρήση χρωστικών. Η μικροσκοπία P-THG παρείχε για κάθε σημείο του νευρικού κυττάρου δομική πληροφορία της μυελίνης σε νανομετρικό επίπεδο, χωρίς την χρήση χρωστικών. Για την ποσοτικοποιημένη μέτρηση της δομής της μυελίνης έγινε χρήση βιοφυσικού μοντέλου που στηρίζεται στη φυσική της μη-γραμμικής οπτικής το οποίο προσαρμόστηκε στα πειραματικά δεδομένα P-THG. Αυτό δημιούργησε μία χαρτογράφηση της δομής της μυελίνης σε όρους των παραμέτρων του μοντέλου. Η παράμετρος A του μοντέλου, η οποία ανακλά την ποσότητα και οργάνωση των λιπιδίων της μυελίνης αναμένεται να έχει μικρότερες τιμές σε υπομυελινομένα νευρικά κύτταρα σε σχέση με τα κανονικά. Συνεπώς, η μη-επεμβατική μικροσκοπία P-THG μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως ποσοτικοποιημένος απεικονιστικός βιοδείκτης ακριβείας της ποσότητας/οργάνωσης των λιπιδίων της μυελίνης στους άξονες των νευρικών κυττάρων. Επιπλέον, χρησιμοποιήθηκε το εκκολαπτήριο (0.5% CO<sub>2</sub>, 37°) που τοποθετείται στην αντικειμενοφόρο του μικροσκοπίου για την παρατήρηση καλλιιεργειών ζωντανών κυττάρων, καθώς και ειδικά διαμορφωμένη βάση η οποία με χρήση αντλίας εφαρμόζει ροή οξυγονωμένου θρεπτικού υγρού στους 37°, απαραίτητου για πολύωρη παρατήρηση ζωντανών εγκεφαλικών τομών.

### ΠΑΡΑΔΟΤΕΟ

Για την ανάπτυξη βιοδεικτών ακριβείας για την αξιολόγηση της μυελίνης, γίνεται χρήση της γέννησης τρίτης αρμονικής, εξαρτώμενης από την πόλωση (P-THG). Είναι γνωστό ότι η μυελίνη στους άξονες νευρικών κυττάρων παράγει THG. Επειδή η THG είναι ένα σύμφωνο σήμα με καλά καθορισμένη πόλωση, η έντασή του εξαρτάται από την δομή και την οργάνωση των λιπιδίων της μυελίνης. Περιστρέφοντας τη διεύθυνση της γραμμικής πόλωσης του λέιζερ, και καταγράφοντας το σήμα THG, μας επιτρέπεται να υπολογίσουμε την ποσότητα και οργάνωση των λιπιδίων της μυελίνης. Για την εξαγωγή της παραπάνω ποσοτικοποιημένης πληροφορίας αναπτύξαμε το βιοφυσικό μοντέλο που περιγράφει την εξάρτηση του σήματος THG από την δομή των λιπιδίων στη μυελίνη.

- **Ανάπτυξη βιοφυσικού μοντέλου που περιγράφει την επίδραση της δομής της μυελίνης, στο σήμα THG.**

Για να ποσοτικοποιήσουμε την δομή, ποσότητα και οργάνωση των λιπιδίων, αναπτύξαμε τη θεωρία που περιγράφει πειράματα P-THG. Αναλυτικά, στο πείραμά μας ορίζουμε δύο συστήματα συντεταγμένων, αυτό του εργαστηρίου (X, Y, Z), και αυτό της μυελίνης/λιπιδίων (x,y,z) (Εικόνα 1).



**Εικόνα 1:** Συστήματα συντεταγμένων εργαστηρίου (X,Y,Z) και μυελίνης/λιπιδίων (x,y,z) και η σχετική τους γωνία  $\theta$ , όταν  $Z=z$ . Η γραμμική πόλωση του λέιζερ περιστρέφεται με γωνία  $\phi$ . Το λέιζερ διαδίδεται στον άξονα  $Z=z$ .

Τότε, η ένταση της THG ( $I_{THG}$ ) περιγράφεται από την παρακάτω σχέση:

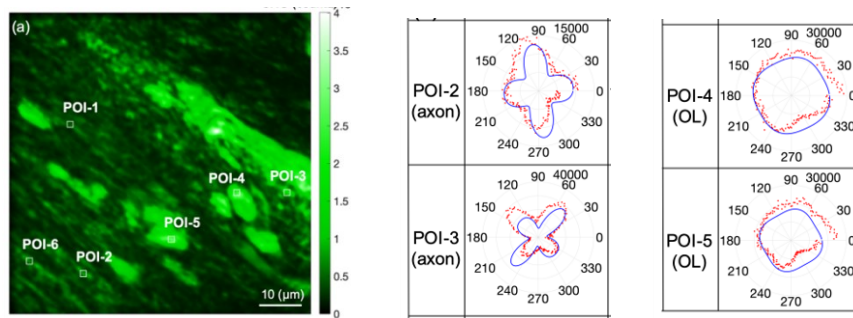
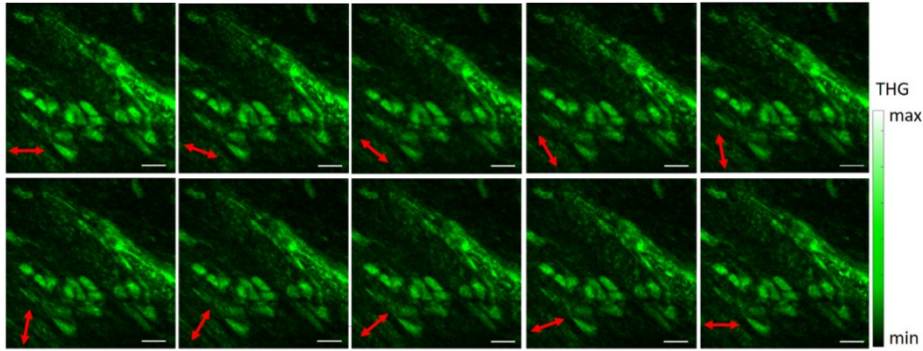
$$I_{THG} \sim A \left\{ \cos^2(\varphi - \theta) \left[ (B(\varphi - \theta) + 3C \sin^2(\varphi - \theta))^2 + \sin^2(\varphi - \theta) \left[ \sin^2(\varphi - \theta) + 3D \cos^2(\varphi - \theta) \right]^2 \right\} \quad (1)$$

όπου :  $A = (\chi_{29}^{(3)})^2$ ,  $B = \frac{\chi_{11}^{(3)}}{\chi_{29}^{(3)}}$ ,  $C = \frac{\chi_{18}^{(3)}}{\chi_{29}^{(3)}}$ ,  $D = \frac{\chi_{22}^{(3)}}{\chi_{29}^{(3)}}$ .

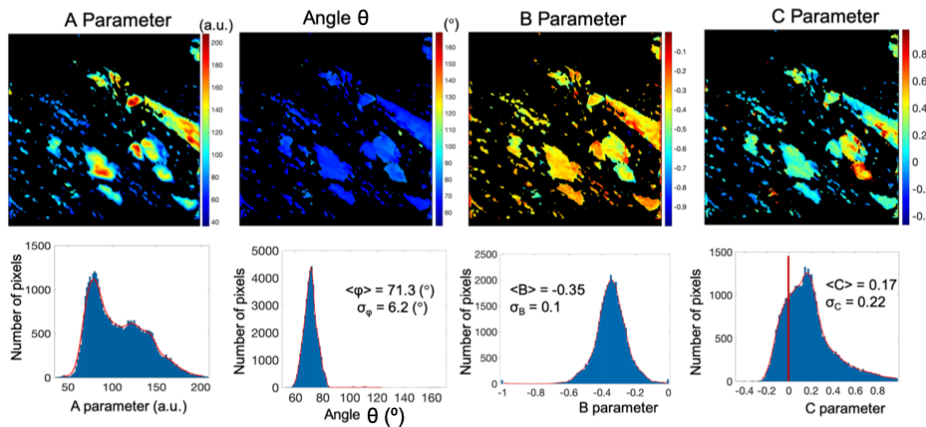
Τα A, B, C και D, αποτελούνται από τα στοιχεία του τανυστή επιδεκτικότητας  $\chi^{(3)}$ , που συνεισφέρουν στο σήμα THG από τη μυελίνη. Ουσιαστικά τα στοιχεία  $\chi_{11}^{(3)}$ ,  $\chi_{22}^{(3)}$ ,  $\chi_{18}^{(3)}$ ,  $\chi_{29}^{(3)}$  περιγράφουν τις διευθύνσεις της μυελίνης/λιπιδίων που συνεισφέρουν στο σήμα THG. Συνεπώς, μετρώντας τους λόγους της συνεισφοράς στο σήμα THG των παραπάνω διευθύνσεων, χαρακτηρίζουμε τη δομή της μυελίνης. Οπότε, οι λόγοι των παραπάνω διευθύνσεων (B, C, D), μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως βιοδείκτες ακριβείας για την αξιολόγηση της μυελίνης. Ειδικά, η παράμετρος A του μοντέλου ανακλά την ποσότητα και οργάνωση των λιπιδίων της μυελίνης.

### Πειραματική εξαγωγή των οπτικών βιοδεικτών ακριβείας για την αξιολόγηση της ποσότητας/ποιότητας της μυελίνης

Στη συνέχεια πραγματοποιήσαμε μετρήσεις P-THG σε μυελίνη από οπτικό νεύρο (Εικόνα 2) και προσαρμόσαμε τα πειραματικά δεδομένα στο βιοφυσικό μοντέλο (Εξίσωση 1), ώστε να εξαγάγουμε για κάθε σημείο του δείγματος τις δομικές παραμέτρους A, B, C και  $\theta$  (Εικόνα 2).



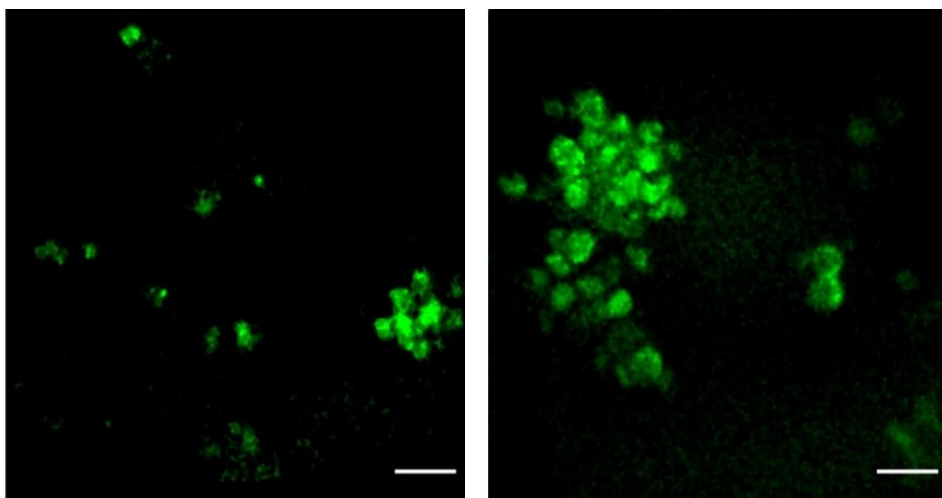
**Εικόνα 2:** Μετρήσεις P-THG της μυελίνης σε οπτικό νεύρο. Το κόκκινο βέλος δείχνει την διεύθυνση της γραμμικής πόλωσης του λέιζερ. Scale-bars 10 $\mu$ m. Παρατηρούμε ότι τα σήματα THG μεταβάλλονται με την περιστροφή της διεύθυνσης της γραμμικής πόλωσης του λέιζερ.



**Εικόνα 3:** Ανάλυση των πειραματικών δεδομένων και εξαγωγή δομικής πληροφορίας της μυελίνης/λιπιδίων, μέσω των παραμέτρων A, B, C.

Η παράμετρος A του μοντέλου, η οποία ανακλά την ποσότητα, δομή και οργάνωση των λιπιδίων της μυελίνης αναμένεται μικρότερη σε υπομυελινομένα νευρικά κύτταρα σε σχέση με τα κανονικά.

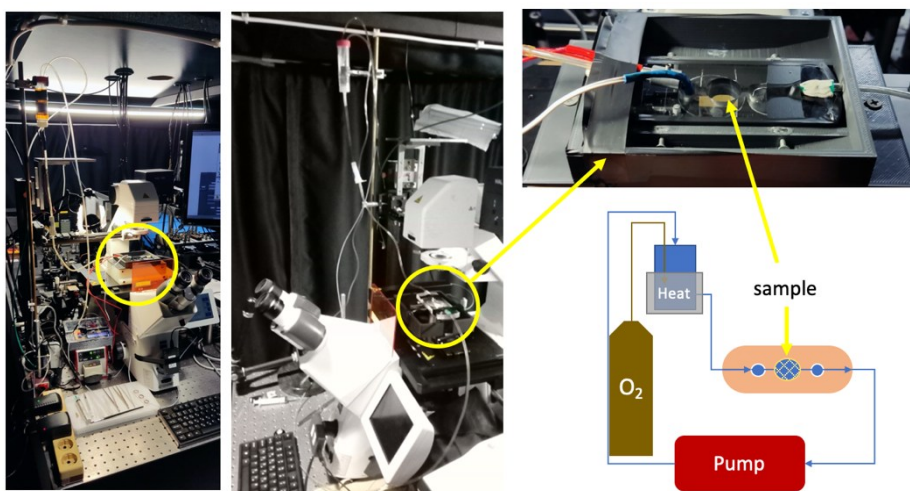
### Μη-γραμμική μικροσκοπία in-vitro καλλιέργειών ζωντανών νευρικών κυττάρων



**Εικόνα 4:** Μικροσκοπία ζωντανών κυττάρων γέννησης τρίτης αρμονικής (THG) σε in-vitro καλλιέργεια (0,5% CO<sub>2</sub>, 37°) primary cortical neurons. Scale-bars 10μm.

### Πολύ-φωτονική μικροσκοπία ζωντανών εγκεφαλικών τομών, χωρίς τη χρήση χρωστικών.

Οι ζωντανές εγκεφαλικές τομές τοποθετούνται σε ειδικά διαμορφωμένη βάση, η οποία με χρήση αντλίας εφαρμόζει ροή οξυγονωμένου θρεπτικού υγρού στους 37°, απαραίτητου για πολύωρη παρατήρηση ζωντανών εγκεφαλικών τομών. Αυτό μας επιτρέπει την πολύωρη παρατήρηση των τομών για την μελέτη της συμπεριφοράς των νευρικών κυττάρων.



**Εικόνα 5:** Μια ειδικά διαμορφωμένη βάση τοποθετημένη στην αντικειμενοφόρο του μικροσκοπίου συγκρατεί τις ζωντανές εγκεφαλικές τομές και τους παρέχει οξυγονωμένο θρεπτικό υγρό στους 37°.

## ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΠΟΡΕΙΑΣ ΥΛΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΗΣ ΕΕ – ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

1. M Kefalogianni, L Mouchliadis, E Stratakis, S. Psilodimitrakopoulos, “Shell–Core Structural Anisotropy in Starch Granules Probed by Polarization Third-Harmonic Generation Microscopy” *Photonics*, 13(1), 16, 2026.
2. A. Kaur, E. Babaliari, V. M. Bolanos-Garcia, M. Kefalogianni, S. Psilodimitrakopoulos, P. Kavatzikidou, A. Ranella, M. Ghorbani, E. Stratakis, D. G. Eskin, I. Tzanakis, “Assessment of aqueous graphene as a cancer therapeutics delivery system” *Scientific Reports* 15, 15396, 2025.
3. M. Kefalogianni, S. Psilodimitrakopoulos, L. Mouchliadis and E. Stratakis “Polarization-Resolved Third Harmonic Generation in Starch,” 18th International Joint Conference on Biomedical Engineering Systems and Technologies (BIOSTEC 2025) Porto - Portugal, February 20 to 22, 2025