



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: Αξιολόγηση δυνητικά προστατευτικών ουσιών / Έλεγχος ενώσεων που καταστέλλουν φλεγμονή

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

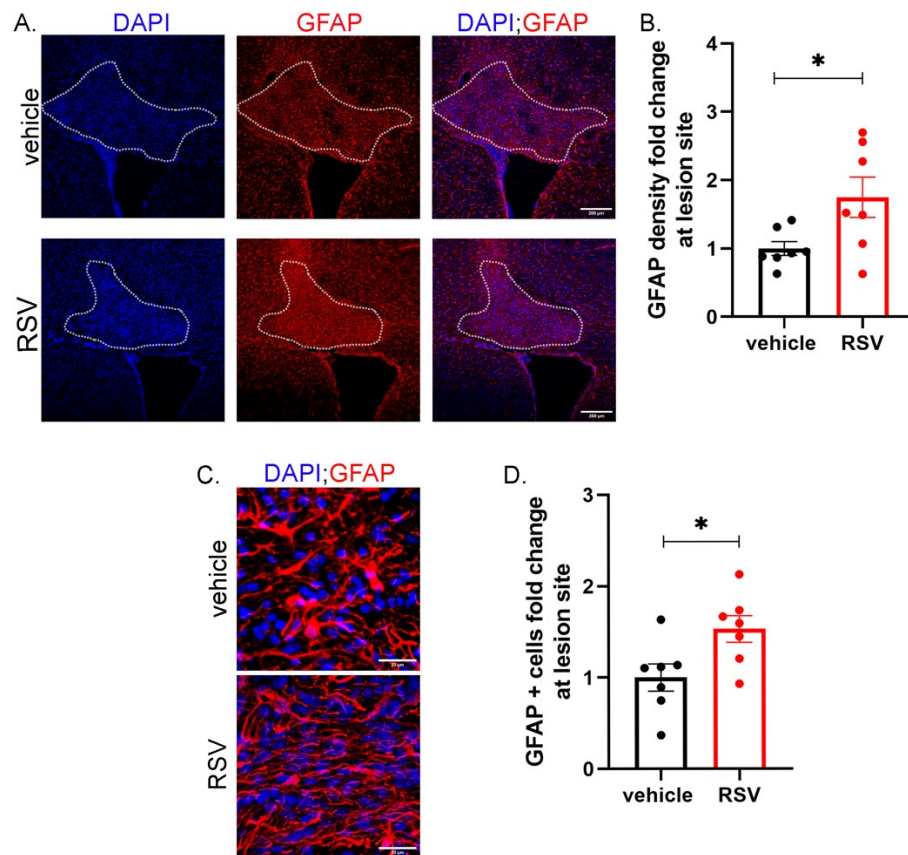
ΥΠΕΥΘΥΝΗ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΟΜΑΔΑ (ΦΟΡΕΑΣ): ΔΟΜΝΑ ΚΑΡΑΓΩΓΕΩΣ (ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ)

Αξιολόγηση δυνητικά προστατευτικών ουσιών / Έλεγχος ενώσεων που καταστέλλουν φλεγμονή

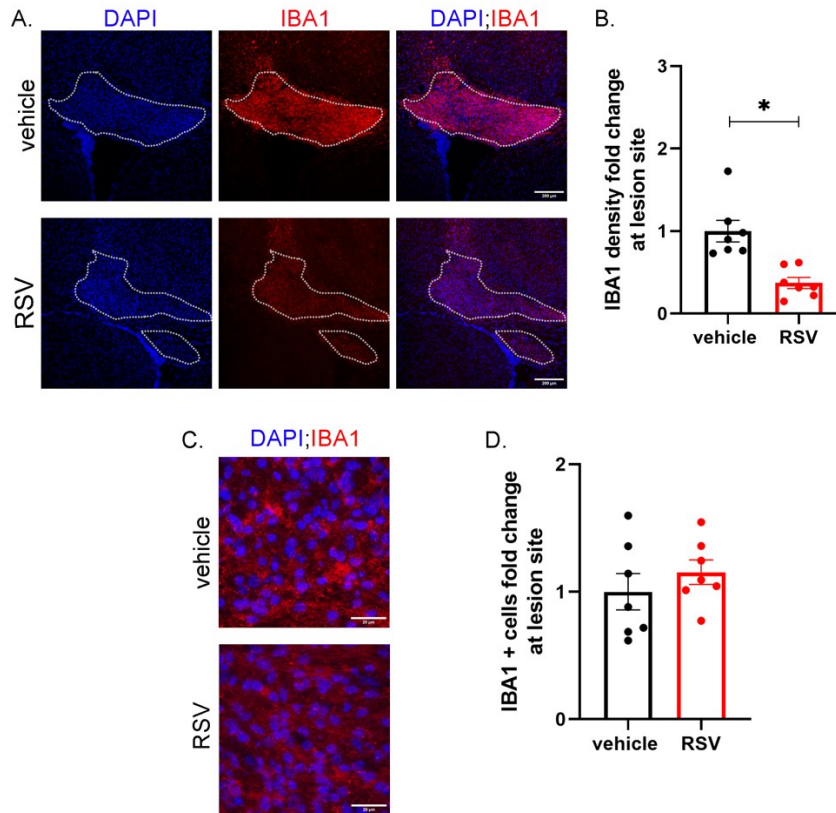
ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ

Στο πλαίσιο της ομάδας έργου της **Καθ. Δόμνας Καραγωγέως**, διερευνήθηκαν οι μηχανισμοί της μυελίνωσης και επαναμυελίνωσης σε ποντίκια σε σχέση με την σημασία που έχουν οι διαδικασίες αυτές στον νευροεκφυλισμό. Συγκεκριμένα επικεντρωθήκαμε στον ρόλο δύο καλά χαρακτηρισμένων μιμητικών του θερμιδικού περιορισμού (CRMs), του Νικοτιναμιδίου (NAM) και της Ρεσβερατρόλης (RSV). Ο θερμιδικός περιορισμός (CR) αναφέρεται στη χρόνια μείωση της συνολικής πρόσληψης θερμίδων χωρίς υποσιτισμό και έχει προσελκύσει σημαντική προσοχή, καθώς, μεταξύ άλλων επιδράσεων, χρησιμοποιείται σε κλινικές μελέτες για χρόνιες νευροεκφυλιστικές ασθένειες και τη γήρανση ενώ ουσίες που μιμούνται τον CR (CRMs) θεωρούνται senolytics.

Το NAM είναι παράγωγο του νικοτινικού οξέος (βιταμίνη B3) και πρόδρομο μόριο του Νικοτιναμιδίου Αδενίνης Δινουκλεοτιδίου (NAD⁺), ενός σημαντικού μεταβολικού συμπαραγόντα, ενώ η RSV είναι μία φυσική πολυφαινόλη η οποία απαντάται σε διάφορα τρόφιμα, όπως σταφύλια, μύρτιλλα και φιστίκια. Προηγούμενα αποτελέσματα του εργαστηρίου μας με την χρήση *ex vivo*, *in vitro* και *in vivo* προσεγγίσεων δείχνουν ότι το NAM προκαλεί επαναμυελίνωση στα *ex vivo* μοντέλα και επίσης προάγει την παραγωγή μυελίνης μετά από εστιακή απομυελίνωση με τη χορήγηση λυσολεκιθίνης (LPC) *in vivo*. Στα πλαίσια της μελέτης αυτής ο κ Δ. Σπυριδάκος, μεταδιδακτορικός ερευνητής υπό την επίβλεψη της υπεύθυνης του εργαστηρίου Νευροεπιστημών κας Καραγωγέως, μελέτησε την δράση της RSV αρχικά *ex vivo* (**Εικόνα 6**) και κατόπιν *in vivo* (**Εικόνα 8**), μετά από εστιακή απομυελίνωση με τη χορήγηση λυσολεκιθίνης (LPC). Παρατηρήθηκε αυξημένη παραγωγή μυελίνης (**Εικόνα 8**). Η **Εικόνα 7** δείχνει ότι η χορήγηση RSV *in vivo* επηρεάζει τα επίπεδα του μονοπατιού των Sirtuins που ενέχονται καθοδικά της RSV. Τέλος, η **Εικόνα 9** δείχνει ότι ο αριθμός των ολιγοδενδροκυττάρων δεν επηρεάζεται *in vivo*. Αυτή η παρατήρηση παραπέμπει στην υπόθεση ότι η αύξηση της μυελίνης δεν οφείλεται πρωτογενώς στα ολιγοδενδροκύτταρα αλλά ενδεχομένως στους άλλους δύο πληθυσμούς γλοιακών κυττάρων που συμμετέχουν στη διαδικασία της μυελίνωσης, συγκεκριμένα στα μικρογλοιακά και στα αστροκύτταρα. Στην συνέχεια του προγράμματος πειράματα με πρωτογενείς καλλιέργειες αυτών των πληθυσμών υπό την επίδραση της RSV. Τα αποτελέσματα των πειραμάτων αυτών αναφέρονται παρακάτω.



Εικόνα 6. Resveratrol effect on astrogliosis at lesion site *ex vivo* at 7. (A) Representative immunohistochemical images of the corpus callosum labeled for DAPI (blue) and GFAP (red) at 7 dpi. The outlined area represents the lesion site. (B) Quantification of the fold change difference in Iba1 density between vehicle- and resveratrol-treated mice. (C) Representative immunohistochemical images of cells at the lesion are of corpus callosum labeled for DAPI (blue) and GFAP (red) at 7 dpi. (D) Quantification of the fold change difference in GFAP1positive cells at lesion are at 7 dpi. Scale bar 200um ($p > 0.05$, vehicle 7dpi $n = 7$, resveratrol 7dpi $n = 7$, student's unpaired t-test



Εικόνα 7. Resveratrol reduces microgliosis at lesion site *in vivo* at 7. (A) Representative immunohistochemical images of the corpus callosum labeled for DAPI (blue) and IBA1 (red) at 7 dpi. The outlined area represents the lesion site. (B) Quantification of the fold change difference in Iba1 density between vehicle- and resveratrol-treated mice (C) Representative immunohistochemical images of cells at the lesion area of corpus callosum labeled for DAPI (blue) and IBA1 (red) at 7 dpi. (D) Quantification of the fold change difference in Iba1 positive cells at lesion area at 7 dpi. Scale bar 200um (p>0.05, vehicle 7dpi n=7, resveratrol 7dpi n=7, student's unpaired t-test).

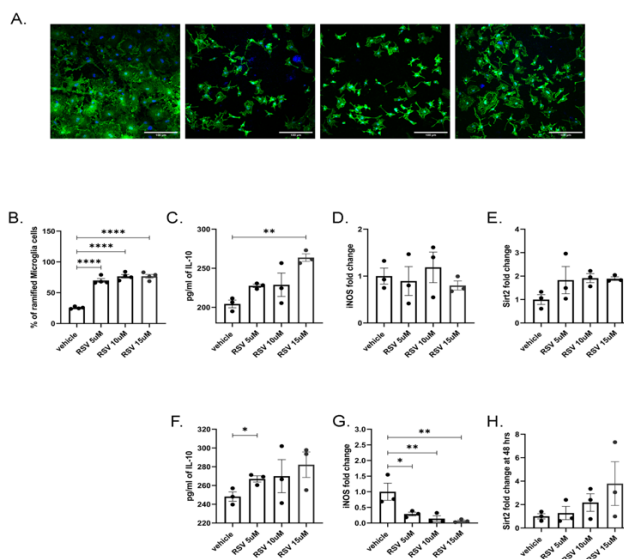


Figure 8. RSV induces the anti-inflammatory phenotype of microglia in vitro. (A) Representative immunocytochemical confocal images of primary microglia cultures 24hrs after LPS treatment. Microglia labeled with IBA1 (green) marker and nuclear DAPI (blue). Four groups were used: vehicle, RSV 5uM, RSV 10uM and RSV 15uM. (B) Quantification of percentage of ramified microglia in the seven different conditions. For all groups, $n = 4$. (C-E) Quantification of IL-10 and iNOS and Sirt2 in microglia cultures after 24h LPS treatment. (F-H) Quantification of IL-10 and iNOS and Sirt2 in microglia cultures after 48h LPS treatment. For all groups, $n = 3$. Data are shown as mean \pm SEM. Student's t -test was used to determine statistical significance. $*p \leq 0.05$, $**p \leq 0.01$, $***p \leq 0.001$. Scale bar: 50 μ m.

Τα αδημοσίευτα αυτά αποτελέσματα αφορούν τα παραδοτέα

1. Αξιολόγηση δυνητικά προστατευτικών ουσιών
2. Έλεγχος ενώσεων που καταστέλλουν φλεγμονή

Τα αποτελέσματα της πρώτης αναφοράς καθώς και της παρούσης, αυτή τη στιγμή ετοιμάζονται για να υποβληθούν για δημοσίευση σε διεθνές περιοδικό. Συνοπτικά, τα αποτελέσματα καταδεικνύουν την θετική επίδραση της RSV στην νευροφλεγμονή μέσω της δράσης της στα μικρογλοιακά κύτταρα. Τα ευρήματά μας δείχνουν ότι ο RSV προάγει έναν αντιφλεγμονώδη φαινότυπο στη μικρογλοία, που χαρακτηρίζεται από αυξημένη έκκριση IL-10 και μειωμένα επίπεδα TNF- α , ιδιαίτερα σε υψηλότερες συγκεντρώσεις. Η RSV φαίνεται να ευνοεί την πόλωση των αστροκυττάρων προς έναν αντιφλεγμονώδη φαινότυπο και δείχνει μια πιθανή δοσοεξαρτώμενη επίδραση στην αυτοφαγική δραστηριότητα, ενώ απαιτείται περαιτέρω έρευνα για να διευκρινιστεί πλήρως ο ρόλος του στη ρύθμιση της αστροκυτταρικής συμπεριφοράς.

Συμπερασματικά, η RSV προωθεί την επαναμελίνωση ex vivo, ενισχύει την παραγωγή μυελίνης στα πρώιμα στάδια της διαδικασίας επαναμελίνωσης και μειώνει τη φλεγμονή στο σημείο της βλάβης στο τελευταίο σημείο επαναμελίνωσης ενώ προωθεί τη μετάβαση στον αντιφλεγμονώδη φαινότυπο της μικρογλοίας in vitro.