

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

ΜΕΛΕΤΗ ΦΥΣΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΑΠΟ ΜΑΚΡΟΦΥΚΗ ΤΗΣ ΑΝΑΤΟΛΙΚΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΟΥ ΜΕ ΑΝΤΙΓΗΡΑΝΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΚΑΙ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΕΝΑΝΤΙΟΝ ΗΛΙΚΙΟ-ΕΞΑΡΤΩΜΕΝΩΝ ΑΣΘΕΝΕΙΩΝ

Η γήρανση είναι μια φυσιολογική, δυναμική, πολυδιάστατη και μη αναστρέψιμη διαδικασία κατά την οποία συμβαίνουν πολλές τροποποιήσεις σε όλα τα επίπεδα όλων των μορφών ζωής (μοριακό, κυτταρικό και οργανισμικό). Αυτές οι προοδευτικές αλλαγές ενέχουν αυξημένο κίνδυνο για εκδήλωση τυχαίας παθολογίας και ηλικιο-σχετιζόμενων ασθενειών, που τελικά θα οδηγήσουν στο θάνατο. Η μελέτη του φαινομένου της ανθρώπινης γήρανσης και των ηλικιο-εξαρτώμενων ασθενειών διευκολύνεται με τη χρήση κυτταρικών μοντέλων γήρανσης όπως το μοντέλο της αναδιπλασιαστικής γήρανσης καθώς και ζωικών μοντέλων όπως αυτό του νηματώδη σκώληκα *Caenorhabditis elegans*.

Τα τελευταία χρόνια όλο και περισσότερες μελέτες εστιάζουν σε φυσικά προϊόντα και στα ενεργά συστατικά αυτών που μπορούν να οδηγήσουν σε καθυστέρηση της εξέλιξης της γήρανσης και των ηλικιο-εξαρτώμενων ασθενειών. Προηγούμενες μελέτες του εργαστηρίου Μοριακής Γήρανσης του Εθνικού Ιδρύματος Ερευνών έχουν αναδείξει φυσικές ουσίες με αντιγηραντική δράση και μάλιστα κάποιες από αυτές έχουν ήδη χρησιμοποιηθεί στην παραγωγή αντιγηραντικών σειρών. Ο όρος «φαρμακοτρόφιμα» (ή αλλιώς φαρμακευτικά προϊόντα διατροφής) έχει αναδειχθεί τα τελευταία χρόνια και αναφέρεται σε θρεπτικά συστατικά, συμπληρώματα διατροφής και φυτικά προϊόντα που παρουσιάζουν επιπλέον οφέλη για την υγεία πέρα από τη βασική διατροφική τους αξία ως απλά τρόφιμα. Ένα ευρύ φάσμα φαρμακοτροφίμων έχει δειχθεί να επηρεάζει την κατάσταση του ανοσοποιητικού συστήματος καθώς και την ευαισθησία/επιδεκτικότητα σε ορισμένες ασθένειες, ενώ υπάρχουν ενδείξεις θετικών αποτελεσμάτων σε ασθένειες που σχετίζονται με οξειδωτικό στρες, συμπεριλαμβανομένης και της ασθένειας του Alzheimer (AD). Υπάρχουν διάφορες κατηγορίες ενώσεων που θα μπορούσαν να χαρακτηριστούν εν δυνάμει φαρμακοτρόφιμα, συμπεριλαμβανομένων πολυφαινολών, τριτερπενοειδών, φαινολών και καροτενοειδών που μοιράζονται αντιοξειδωτικές, αντιγηραντικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες.

Αν και η χλωρίδα της ξηράς έχει γίνει αντικείμενο χρόνιων ερευνών, η χλωρίδα και πανίδα της θάλασσας είναι λιγότερο μελετημένες και το ενδιαφέρον πλέον στρέφεται προς τα εκεί. Έχουν ήδη αναφερθεί κάποια συστατικά θαλάσσιων οργανισμών με αντιοξειδωτικές, αντιφλεγμονώδεις και αντιγηραντικές δράσεις ενώ ακόμα μεγαλύτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι εμφανίζουν ασυνήθιστες χημικές δομές που τους προσδίδουν νέες ιδιότητες. Παράλληλα, διάφορα θαλάσσια συστατικά έχει δειχθεί να έχουν πολύ πιο έντονες αντιοξειδωτικές ιδιότητες σε σχέση με συστατικά από τον φυτικό πλούτο της ξηράς. Τέλος, οι θαλάσσιοι οργανισμοί παράγουν και μόρια με εν δυνάμει φωτοπροστατευτική δράση και δράση ενάντια της φωτογήρανσης. Ο συνδυασμός όλων των παραπάνω προστατευτικών δράσεων που μπορούν να αποδοθούν μέσω παραγόντων και συστατικών της θαλάσσιας χλωρίδας και πανίδας αναδεικνύει τη σημασία διερεύνησης και εκμετάλλευσης αυτών των οργανισμών στον τομέα της αντιγήρανσης και της κοσμετολογίας αλλά και στον τομέα των φαρμάκων.

Στόχος της προτεινόμενης διδακτορικής διατριβής είναι η ταυτοποίηση φυσικών ενώσεων από μακροφύκη της Ανατολικής Μεσογείου με αντιγηραντική δράση και ιδιότητες εναντίον της πρωτεϊνικής συσσωμάτωσης του Αβ πεπτιδίου και της εμπλεκόμενης ηλικιο-εξαρτώμενης ασθένειας AD. Οι επιπτώσεις της δράσης των ουσιών αυτών θα μελετηθούν 1) στην τροποποίηση

του κυτταρικού προσδόκιμου ζωής (μοντέλο αναδιπλασιαστικής γήρανσης), 2) στην τροποποίηση του οργανισμικού (*C. elegans*) προσδόκιμου ζωής και, 3) στην επαγωγή και εξέλιξη της AD.

Πιο συγκεκριμένα, μεταβολίτες διαφόρων χημικών ομάδων από βιβλιοθήκη πλήρως χαρακτηρισμένων ουσιών απομονωμένων από βενθικούς οργανισμούς της Μεσογείου θα σαρωθούν ως προς την ικανότητά τους να επεκτείνουν το οργανισμικό προσδόκιμο ζωής (*C. elegans*). Μεταλλαγμένα στελέχη για μονοπάτια που ρυθμίζουν τη γήρανση θα αποκαλύψουν τους εμπλεκόμενους μηχανισμούς δράσης του κάθε μεταβολίτη. Η βέλτιστη συγκέντρωση αυτών θα χορηγηθεί: 1) σε πρωτογενείς ανθρώπινους ινοβλάστες και θα μετρηθεί το κυτταρικό προσδόκιμο ζωής τους (μοντέλο αναδιπλασιαστικής γήρανσης), 2) σε στελέχη του νηματώδη σκώληκα που αποτελούν μοντέλα για την AD. Πιο συγκεκριμένα, θα χρησιμοποιηθεί το στέλεχος CL4176, το οποίο εκφράζει το ανθρώπινο Αβ πεπτίδιο στα μυϊκά του κύτταρα και το οποίο παραλύει κατά τη συσσώρευση του ανθρώπινου Αβ πεπτιδίου. Επίσης θα χρησιμοποιηθεί το στέλεχος CL2331, το οποίο επίσης εκφράζει το ανθρώπινο Αβ πεπτίδιο στα μυϊκά του κύτταρα αλλά αυτό το Αβ πεπτίδιο είναι συνδεδεμένο με GFP (Green Fluorescent Protein) με αποτέλεσμα να μπορεί να γίνει οπτικοποίηση των Αβ συσσωματωμάτων *in vivo* με συνεστιακή μικροσκοπία φθορισμού.

Συνολικά, στα πλαίσια της παρούσας διατριβής θα ταυτοποιηθούν φυσικές ουσίες με αντιγηραντική δράση και ιδιότητες ενάντια της πρωτεϊνικής συσσωμάτωσης με στόχο την αποκάλυψη ουσιών που εν δυνάμει μπορεί να αποτελέσουν φαρμακοτρόφιμα. Δεδομένου ότι τόσο η γήρανση όσο και ο σχηματισμός συσσωματωμάτων κατά την εξέλιξη της AD είναι το τελικό (μη αναστρέψιμο) σημείο, τα φαρμακοτρόφιμα έχουν το πλεονέκτημα ότι αφού λαμβάνονται μέσω κανονικής διατροφής από νεαρές ηλικίες, μπορεί να μπλοκάρουν/καθυστερήσουν τα αρχικά στάδια των δύο φαινομένων πριν καν εμφανιστεί ο γηρασμένος φαινότυπος και πριν καν γίνει εμφανής η ασθένεια. Κατά συνέπεια, αυτές οι ενώσεις μπορούν να δράσουν προληπτικά και εν δυνάμει να καθυστερήσουν την εδραίωση και/ή την εξέλιξη της ασθένειας.

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ: Δρ. ΝΙΚΗ ΧΟΝΔΡΟΓΙΑΝΝΗ, ΕΡΕΥΝΗΤΡΙΑ Β΄

ΦΟΡΕΑΣ ΕΚΠΟΝΗΣΗΣ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ: ΕΘΝΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΕΡΕΥΝΩΝ, ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ, ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΟΥ ΘΑ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΟΥΝ: Κυτταρικές καλλιέργειες, καλλιέργειες *C. elegans*, ανίχνευση οξειδωμένων πρωτεϊνών, ανίχνευση δραστικών ριζών οξυγόνου (ROS), τεστ αντοχής σε οξειδωτικό στρες, απομόνωση RNA και πρωτεϊνών, PCR πραγματικού χρόνου, ανοσοαποτύπωση, μεταξύ άλλων.

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: *C. elegans*, προσδόκιμο ζωής, αναδιπλασιαστική γήρανση, φαρμακοτρόφιμα, αντιοξειδωτικά, δραστικές ρίζες οξυγόνου, μακροφύκη, Αβ πεπτίδιο, Νόσος Αλτσχάιμερ, γήρανση, ενώσεις θαλάσσιας χλωρίδας και πανίδας.

ΕΝΔΕΙΚΤΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ:

Chondrogianni N, Tzavelas C, Pemberton AJ, Nezis IP, Rivett AJ, and Gonos ES. Overexpression of proteasome beta5 assembled subunit increases the amount of proteasome and confers ameliorated response to oxidative stress and higher survival rates. *J Biol Chem* 280: 11840–11850, 2005

Chondrogianni N, Voutetakis K, Kapetanou M, Delitsikou V, Papaevgeniou N, Sakellari M, Lefaki M, Filippopoulou K, and Gonos ES. Proteasome activation: an innovative promising approach for delaying aging and retarding age-related diseases. *Ageing Res Rev* 23 (Pt A): 37–55, 2015

Chondrogianni N, Georgila K, Kourtis N, Tavernarakis N, and Gonos ES. 20S proteasome activation promotes life span extension and resistance to proteotoxicity in *Caenorhabditiselegans*. *FASEB J* 29: 611–622, 2015

Drake J, Link CD, and Butterfield DA. Oxidative stress precedes fibrillar deposition of Alzheimer's disease amyloid beta-peptide (1–42) in a transgenic *Caenorhabditiselegans* model. *Neurobiol Aging* 24: 415–420, 2003

Fitzenberger E, Deusing DJ, Wittkop A, Kler A, Kriesl E, Bonnlander B, and Wenzel U. Effects of plant extracts on the reversal of glucose-induced impairment of stress-resistance in *Caenorhabditiselegans*. *Plant Foods Hum Nutr* 69: 78–84, 2014

Papaevgeniou N, Sakellari M, Jha S, Tavernarakis N, Carina I, Holberg, Gonos ES, and Chondrogianni N. 18 α -Glycyrrhetic Acid Proteasome Activator Decelerates Aging and Alzheimer's Disease Progression in *Caenorhabditiselegans* and Neuronal Cultures. *Antioxid Redox Signal*. 2016 Dec 1; 25(16): 855–869.

Ogawa T., Koder Y., Hirata D., Blackwell T. K., Mizunuma M. Natural thioallyl compounds increase oxidative stress resistance and lifespan in *Caenorhabditiselegans* by modulating SKN-1/Nrf. *Scientific Reports*. 2016;6(1, article 21611) doi: 10.1038/srep21611.

Meng F., Li J., Wang W., Fu Y. Gengnianchun, a traditional Chinese medicine, enhances oxidative stress resistance and lifespan in *Caenorhabditiselegans* by modulating daf-16/FOXO. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. 2017;2017:10. doi: 10.1155/2017/8432306.8432306

Ding A. J., Zheng S. Q., Huang X. B., et al. Current perspective in the discovery of anti-aging agents from natural products. *Natural Products and Bioprospecting*. 2017;7(5):335–404. doi: 10.1007/s13659-017-0135-9.

Zhou JB, Zheng YL, Zeng YX, Wang JW, Pei Z, Pang JY. Marine derived xyloketal derivatives exhibit anti-stress and anti-ageing effects through HSF pathway in *Caenorhabditiselegans*. *Eur J Med Chem*. 2018 Mar 25;148:63-72. doi: 10.1016/j.ejmech.2018.02.028. Epub 2018 Feb 10.