

## ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗΣ ΠΡΟΤΑΣΗΣ

Αριθμός λέξεων πρότασης	4924
-------------------------	------

**Επιστημονική Περιοχή:** Μοριακή Βιολογία, Γενετική και Βιοχημεία

**Λέξεις Κλειδιά:** *C. elegans*, προσδόκιμο ζωής, αναδιπλασιαστική γήρανση, φαρμακοτρόφιμα, αντιοξειδωτικά, δραστικές ρίζες οξυγόνου, μακροφύκη, Αβ πεπτιδίο, Νόσος Alzheimer, γήρανση, ενώσεις θαλάσσιων χλωρίδας και πανίδας.

**Πανεπιστήμιο/Τμήμα/Τομέας/Εργαστήριο:** Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών, Ινστιτούτο Χημικής Βιολογίας, Πρόγραμμα Μοριακής και Κυτταρικής Γήρανσης & Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής, Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών, Τομέας Ιατρικών Εργαστηρίων, Εργαστήριο Αξιοπιστίας και Ποιοτικού Ελέγχου στην Εργαστηριακή Αιματολογία (HemQcR)  
Γλώσσα: Ελληνική

**ΤΙΤΛΟΣ ΠΡΟΤΙΝΟΜΕΝΗΣ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ:** Μελέτη φυσικών ενώσεων από μακροφύκη της ανατολικής μεσογείου με αντιγηραντική δράση και ιδιότητες εναντίον ηλικιο-εξαρτώμενων ασθενειών.

### A. Αναλυτική περιγραφή ερευνητικής πρότασης

#### ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΓΗΡΑΝΣΗ ΚΑΙ ΗΛΙΚΙΟ-ΣΥΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΕΣ ΝΟΣΟΙ

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), ενώ παράλληλα τα γηρασμένα κύτταρα εμφανίζουν συγκεκριμένο εκκριτικό φαινότυπο (SASP, Senescence-Associated Secretory Phenotype) (Sun et.al, 2018). Αυτές οι προοδευτικές αλλαγές ενέχουν αυξημένο κίνδυνο για εκδήλωση τυχαίας παθολογίας και ηλικιο-σχετιζόμενων ασθενειών, που τελικά θα οδηγήσουν στο θάνατο (López-Otin et al., 2013). 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* (Chondrogianni et. al, 2015). Η κυτταρική γήρανση είναι χαρακτηριστικό όλων των σωματικών κυττάρων με μοναδικές εξαιρέσεις συγκεκριμένα βλαστοκύτταρα αλλά και τα καρκινικά κύτταρα. Περιγράφηκε πρώτη φορά σε καλλιέργειες όταν παρατηρήθηκε ότι ανθώπινοι ινοβλάστες σταμάτησαν να διαιρούνται μετά το πέρας συγκεκριμένου αριθμού διαιρέσεων, παρουσιάζοντας μη αναστρέψιμη διακοπή του κυτταρικού κύκλου στη φάση G1. Η διακοπή αυτή έχει συσχετισθεί με βιοχημικές αλλαγές όπως είναι η αυξημένη έκφραση των p53, p21 και p16 πρωτεϊνών (Freund et.al, 2011). Τα γηρασμένα κύτταρα παρόλο που χάνουν την ικανότητα να πολλαπλασιαστούν παραμένουν ζωντανά αλλά και μεταβολικά ενεργά. Βασικό χαρακτηριστικό των γηρασμένων κυττάρων είναι το διευρυμένο και πεπλατυσμένο σχήμα τους, γεγονός που τα καθιστά αναγνωρίσιμα σε πειραματικές διαδικασίες. Ακόμα, τα κύτταρα αυτά αναγνωρίζονται από την ύπαρξη δραστικότητας της ηλικιο-εξαρτώμενης β-γαλακτοσιδάσης (Childs et al., 2017).

Στις ηλικιο-συσχετιζόμενες νόσους παρουσιάζεται αυξημένο οξειδωτικό στρες που προάγει τη γήρανση των κυττάρων και μεταβάλλει τη λειτουργία των μιτοχονδρίων (Chondrogianni et.al, 2005). Στην αναδιπλασιαστική κυτταρική γήρανση, ο αριθμός των διαιρέσεων ελέγχεται από το μήκος των τελομερών, το οποίο μειώνεται κατά τον κυτταρικό διπλασιασμό (Bernadotte et.al, 2016). Μόλις το μήκος των τελομερών φτάσει σε ένα συγκεκριμένο όριο τότε επέρχεται η αναδιπλασιαστική γήρανση και κατά συνέπεια τα κύτταρα σταματούν να διαιρούνται. Ως επιταχυντές της κυτταρικής γήρανσης μπορούν να λειτουργήσουν διάφορα ερεθίσματα όπως είναι οι βλάβες στο DNA, τα κυτταροτοξικά φάρμακα, η ενεργοποίηση ογκογονιδίων και φυσικά το οξειδωτικό στρες. Ένα ακόμα χαρακτηριστικό των γηρασμένων κυττάρων είναι ότι μπορούν να επάγουν γήρανση και στα γειτονικά κύτταρα με παρακρινή δράση μέσω των SASP (Tchkonina et.al, 2013). Το γεγονός αυτό προκαλεί με τη σειρά του στρες στο ενδοπλασματικό δίκτυο επιδεινώνοντας την παραγωγή ROS και προκαλώντας βλάβες στο DNA των γηρασμένων κυττάρων - κάτι που εξουδετερώνεται με το μηχανισμό της αυτοφαγίας - (Jurk et.al, 2014). Σε καταστάσεις στρες και αυξημένης μεταβολικής δραστηριότητας υπάρχει αυξημένη ύπαρξη ελεύθερων ριζών, οι οποίες οδηγούν σε βλάβες των κυττάρων. Επιπρόσθετα, έχοντας ως δεδομένο πως τα μιτοχόνδρια παράγουν το μεγαλύτερο ποσοστό ενέργειας για τις ανάγκες των κυττάρων αλλά και παράλληλα καταναλώνουν το μεγαλύτερο ποσοστό οξυγόνου ενός κυττάρου οδηγώντας έτσι στην παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS), το προσδόκιμο ζωής συνδέεται άμεσα με την αυξημένη ύπαρξη ελεύθερων ριζών (σε ποσότητες μεγαλύτερες από αυτές που μπορούν να εξουδετερωθούν από τον οργανισμό). Τα ROS είναι πολύ δραστικά μόρια λόγω της παρουσίας αζεωγάρωτων ηλεκτρονίων. Όταν η παραγωγή των ROS είναι μεγαλύτερη από την εξουδετέρωσή τους από τον οργανισμό, τότε αυτά μπορούν να αντιδράσουν αυθαίρετα με όλα τα κυτταρικά συστατικά, συμπεριλαμβανομένων των πρωτεϊνών, του DNA και των λιπιδίων προκαλώντας έτσι οξειδωτικό στρες και κατ'επέκταση βλάβη σε αυτά τα μακρομόρια. Το οξειδωτικό στρες εμπλέκεται στην παθογένεση πολλών ασθενειών όπως είναι η νόσος Parkinson (PD) και η νόσος Alzheimer (AD). Καθίσταται, λοιπόν, επιτακτική ανάγκη η ταυτοποίηση ασφαλών και αποτελεσματικών αντιοξειδωτικών και εν γένει δραστικών ενώσεων. Η αντιοξειδωτική δράση των φυσικών ενώσεων που έχουν απομονωθεί από τα φυτά έχει αναφερθεί ότι εξουδετερώνουν τις ελεύθερες ρίζες.

Μεταξύ αυτών των ενώσεων, τα φλαβονοειδή, μια οικογένεια γνωστών πολυφαινολών, είναι βιοδραστικές ενώσεις, οι οποίες είναι ευρέως διαδεδομένες στα φυτά και έχουν επί μακρόν λάβει προσοχή στην ανάπτυξη αντιοξειδωτικών παραγόντων (Anand et.al, 2016.)

#### **ΦΥΣΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ – ΦΑΡΜΑΚΟΤΡΟΦΙΜΑ**

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 και Κυτταρικής Γήρανσης του Εθνικού Ιδρύματος Ερευνών έχουν αναδείξει φυσικές ουσίες με αντιγηραντική δράση και μάλιστα κάποιες από αυτές έχουν ήδη χρησιμοποιηθεί στην παραγωγή αντιγηραντικών σειρών (Chondrogianni et. al, 2015). 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 δείξει 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 το οξειδωτικό στρες, συμπεριλαμβανομένης και της ασθένειας του AD (Choi & Choi, 2014). Υπάρχουν διάφορες κατηγορίες ενώσεων που θα μπορούσαν να χαρακτηριστούν εν δυνάμει φαρμακοτρόφιμα, συμπεριλαμβανομένων πολυφαινολών, τριτερπενοειδών, φαινολών και καρτενοειδών που μοιράζονται αντιοξειδωτικές, αντιγηραντικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες (Fitzenberger et. al, 2016).

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 (Ogawa et. al, 2016). Παράλληλα, διάφορα θαλάσσια συστατικά έχει δείξει 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 (Chondrogianni et. al, 2015). 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.

Τα τελευταία χρόνια, σε ορισμένες χώρες του κόσμου, καταναλώνονται φύκια σε καθημερινή βάση. Πρωτοπόροι στην κατανάλωση φυκών αλλά και ψαριών φαίνεται να είναι οι Ασιάτες οι οποίοι εμφανίζουν αυξημένο προσδόκιμο ζωής αλλά και καλύτερη ποιότητα ζωής. Εξετάζοντας το θαλάσσιο περιβάλλον, έχουν ανακαλυφθεί ουσίες με αντικαρκινικές ιδιότητες και από το 1998 έως το 2006 έχουν μελετηθεί 592 θαλάσσια προϊόντα στο πεδίο της κυτταροτοξικής φαρμακολογίας που φαίνεται να έχουν αντιοξειδωτική, αντιφλεγμονώδη, αντικρκινική ακόμα και αντιγηραντική δράση (Park & Pezzuto, 2013). Σε πρόσφατη έρευνα, δείχθηκε ότι τα θαλάσσια φύκη, παράγουν δευτερογενείς μεταβολίτες που οδηγούν στην παραγωγή ουσιών με προστατευτική δράση. Ακόμα, περιέχουν τη μεγαλύτερη ποσότητα αντιοξειδωτικών αφού μερικά μόνο από τα συστατικά που περιέχουν είναι: θειωμένοι πολυσακχαρίτες (όπως φουκοειδίνες), φλοροταννίνες, βρωμοφαινόλες, φουκοξανθίνη, ασταξανθίνη, και άλλες κατηγορίες ενώσεων, ουσίες γνωστές για την αντιοξειδωτική τους δράση (Fitzenberger et. al, 2016). Δείχθηκε, μάλιστα, πως με τη χορήγηση φουκοξανθίνης στον οργανισμό *C. elegans* αυξήθηκε το προσδόκιμο ζωής του κατά 14%, ενώ η αντίστοιχη χορήγηση σε μύγες αύξησε το προσδόκιμο ζωής κατά 33% μειώνοντας παράλληλα τα επίπεδα του οξειδωτικού στρες. Μελέτη για τις επιδράσεις χορήγησης της ασταξανθίνης, έδειξε αύξηση κατά 16% - 30% του προσδόκιμου ζωής στον *C. elegans*. μείωσε τα επίπεδα των ROS και αύξησε τον παράγοντα DAF-16 μετατοπίζοντάς τον, παράλληλα, στον πυρήνα. Επιπλέον, έρευνα για τις φουκοβιλιπρωτεΐνες, οι οποίες είναι διαλυτές πρωτεΐνες που απομονώνονται από τον *P. yezoensis* (φυτικός, θαλάσσιος ευκαρυωτικός οργανισμός), έδειξε πως παρουσιάζουν τρεις τύπους και φαίνεται να έχουν ισχυρή αντιοξειδωτική δράση, ενώ φάνηκε να αυξάνουν την πρωτεϊνική έκφραση του παράγοντα Nrf2 αλλά και αντιοξειδωτικών ενζύμων (Kalimuthu et. al, 2015). Σε μελέτη για τις φουκοειδίνες, (φυσικοί θειωμένοι πολυσακχαρίτες που υπάρχουν στη μήτρα του κυτταρικού τοιχώματος των καφέ φυκών), δείχθηκε πως η χορήγησή τους στο μοντέλο οργανισμό *C. elegans*, καθυστερεί την έναρξη της παράλυσης ενώ σε αρουραίους μειώθηκαν τα επίπεδα ROS και βελτιώθηκε η μορφολογία των νευρώνων, ενώ αυξήθηκε η επιβίωση τους. Επιπρόσθετα, σε PC12 κύτταρα παρουσιάστηκε αναστολή της απόπτωσης αλλά και ισχυρή αντιοξειδωτική δράση. Σε άλλη έρευνα που πραγματοποιήθηκε το 2001 δείχθηκε πως υπάρχουν θαλάσσιοι μύκητες (που εκτιμάται να είναι πάνω από 1.500) οι οποίοι διαθέτουν αντιοξειδωτική δράση (Fitzenberger et.al, 2016). Αντίστοιχες ενδείξεις υπάρχουν και για τα βακτήρια που ζουν στη θάλασσα και που ακόμα δεν έχουν μελετηθεί όσο αυτά της στεριάς. Όλα τα ανωτέρω στοιχεία οδηγούν στο να θεωρηθεί το ενδιαφέρον των επιστημόνων προς την έρευνα των θαλάσσιων ουσιών.

#### **ΝΟΣΟΣ ALZHEIMER (AD)**

Η AD, είναι μια σοβαρή, συσχετιζόμενη με την ηλικία νευρολογική δυσλειτουργία η οποία χαρακτηρίζεται από συσσώρευση β-αμυλοειδικών πλακών και νευροϊνιδιακών πλεγμάτων. Χωρίζεται σε δυο βασικές κατηγορίες. Τη νόσο όψιμης εκδήλωσης που εμφανίζεται σε ηλικίες μεγαλύτερες των 60 ετών και εμφανίζεται σε ποσοστό >95% και τη νόσο πρώιμης εκδήλωσης που είναι αρκετά σπάνια και εμφανίζεται σε ηλικίες 30- 40 ετών (Bazan, 2005). Η πρώτη, σχετίζεται άμεσα με την κυτταρική γήρανση και θεωρείται μια καθαρά γενετική νόσος. Λόγω της νευροπαθολογίας της, η νόσος κάποιες φορές είναι δύσκολο να διαχωριστεί από τη φυσιολογική γήρανση του ανθρώπινου εγκεφάλου και τις αλλαγές που επέρχονται σε αυτόν κατά τη διάρκεια της. Οι κυριότεροι βιολογικοί δείκτες της νόσου είναι η εναπόθεση Αβ πεπτιδίου σε γεροντικές πλάκες και η συσσώρευση υπεφωσφορυλιωμένης πρωτεΐνης tau σε νευροϊνιδιακά πλέγματα

(Butterfield & Drake , 2001). Τόσο οι νευρώνες όσο και τα κύτταρα γλοίας υφίστανται κυτταρική γήρανση ως συνάρτηση της συσσωρευμένης βλάβης του DNA, του οξειδωτικού στρες ή της φλεγμονής, που αυξάνονται κατά τη διάρκεια της γήρανσης του εγκεφάλου, καθώς και σε νευροεκφυλιστικές ασθένειες όπως η νόσος AD. Έχει παρατηρηθεί πως το Αβ πεπτιδίο προκαλεί στα μιτοχόνδρια αύξηση κάποιων ειδών ROS λόγω του ότι αλληλεπιδρά με ομάδες αίμης. Ακόμα, έχει αποδειχθεί, ότι στο πεπτιδίο αυτό προκαλεί μιτοχονδριακή συνάθροιση και κυτταροσκελετική διάσπαση. Έτσι, καθίσταται σαφές πως σε συνθήκες οξειδωτικού στρες το Αβ πεπτιδίο οδηγεί σε νευρική λιπιδική υπεροξειδωση, οξειδωση πρωτεϊνών αλλά και οξείδωση του DNA. Επιπλέον, η οξειδωτική βλάβη και ο νευροεκφυλισμός έχουν συνδεθεί, μέσω της μείωσης του μεταφορέα γλουταμινικού που προκαλείται από το Αβ πεπτιδίο, με την εμφάνιση διεγερτοτοξικότητας. Έχει ακόμα δειχθεί ότι οι μιτοχονδριακές βλάβες μπορούν να έχουν σχέση και με την υπερφωσφορυλίωση της Tau πρωτεΐνης. Μέσω αυτών των ευρημάτων, το μιτοχονδριακό οξειδωτικό στρες συνδέεται με τα παθολογικά χαρακτηριστικά της νόσου (Cambs et. al, 2006). Έρευνες αναφέρουν, πως οι διαφορές μεταξύ της νόσου και της φυσιολογικής κυτταρικής γήρανσης του εγκεφάλου είναι περισσότερο ποσοτικές παρά ποιοτικές. Η παρουσία των γηρασμένων κυττάρων στον εγκέφαλο μπορεί να συμβάλλει στην παθογένεση της ασθένειας και μπορεί να αποτελέσει μια σύνδεση μεταξύ της διαδικασίας γήρανσης και εξέλιξης της νόσου, γεγονός που μπορεί να αποδειχθεί η βάση για καινοτόμες θεραπείες (Cardoso et. al, 2004). Επί του παρόντος, δεν υπάρχει γνωστή θεραπεία για τη νόσο και τα φάρμακα που χρησιμοποιούνται σχετίζονται με την αντιμετώπιση των γνωστικών εκδηλώσεων ή άλλων συμπτωμάτων και αποδίδουν καλύτερα όταν χορηγούνται σε πρώιμο στάδιο.

### **SENOLYTICS**

Τα senolytics είναι μικρά μόρια τα οποία έχουν ως κύριο στόχο, την «καταστροφή» των γηρασμένων κυττάρων , και κατ' επέκταση την καθυστέρηση, πρόληψη, ή ακόμα και αναστροφή της γήρανσης. Μέσω των senolytics επέρχεται κυτταρικός θάνατος με μη αποπτωτικό τρόπο (Geng et. al, 2018; Hwang et. al, 2018). Σε μελέτες, που πραγματοποιήθηκαν σε ποντικούς που εμφανίζουν πρόωγη γήρανση, έχει δειχθεί ότι με την ενεργοποίηση ενός γονιδίου «αυτοκτονίας» (επαγόμενου από φαρμακευτικό σκεύασμα) αυξάνονται τα: το προσδόκιμο ζωή και η υγιής κατάσταση (healthspan) ενώ παράλληλα καθυστερούν πολλαπλοί φαινότυποι που σχετίζονται με τη γήρανση (Geng et al., 2018). Πολλοί παράγοντες που θα μπορούσαν να δράσουν ως senolytics, βρίσκονται υπό διερεύνηση (Baker et al., 2011). Έχει βρεθεί ότι ακόμα και ορισμένοι αντικαρκινικοί παράγοντες θα μπορούσαν, σε χαμηλές δόσεις, να επιβραδύνουν τη γήρανση αλλά και τις ασθένειες που σχετίζονται με την ηλικία (Baker et al., 2016). Παράλληλα, τα γηρασμένα κύτταρα, όπως και τα καρκινικά, είναι μεταβολικά ενεργά με αυξημένη γλυκόλυση (Dorr et.al, 2013). Έτσι τα γηρασμένα κύτταρα, εξαρτώνται περισσότερο από τα μονοπάτια που προστατεύουν από τη μεταβολικά επαγόμενη απόπτωση και ως εκ τούτου το ενδιαφέρον των ερευνητών στράφηκε προς αυτά τα μονοπάτια (Goldschneider & Mehlen, 2010). Οι αρχικές κλινικές μελέτες των senolytics περιλαμβάνουν ενδείξεις, σύμφωνα με τις οποίες, η βραχυχρόνια χορήγησή τους θα μπορούσε να οδηγήσει σε μετρήσιμα κλινικά οφέλη ακόμα και σε ήδη συμπτωματικά άτομα. Υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις ότι τα senolytics ίσως να μπορούν να μειώσουν το μέγεθος των γηρασμένων κυττάρων, που είναι μεγαλύτερο από αυτό των φυσιολογικών. Αυτή η μέθοδος φαίνεται να προσφέρει σαφή πλεονεκτήματα σε σύγκριση με άλλες προσεγγίσεις, συμπεριλαμβανομένου της μόνιμης απομάκρυνσης της πηγής SASP, επιτρέποντας, παράλληλα, τη διακοπτόμενη θεραπεία καθώς και την εξάλειψη των γηρασμένων κυττάρων (Zhu et al., 2015). Η ταυτοποίηση αυτών των ουσιών έχει γίνει κυρίως με τεχνικές μικρών μη παρεμβατικών μορίων RNA (siRNA) και ανοσοαποτύπωσης. Μια γνωστή και ταυτοποιημένη ουσία που δρα ως senolytic είναι η κερσετίνη, η οποία αποτελεί φλαβονοειδές με αντιοξειδωτική δράση, αφού έχει την ικανότητα να εξαλείφει τις ελεύθερες ρίζες (Zhu et al., 2015) (Anand et. al, 2016). Αφού κατά τη γήρανση παρατηρείται αυξημένο οξειδωτικό στρες και αφού η κερσετίνη δρα ενάντια των ελεύθερων ριζών, οι επιστήμονες θεώρησαν πως η κερσετίνη μπορεί να καθυστερήσει τη γήρανση, μειώνοντας τα επίπεδα του οξειδωτικού στρες. Μάλιστα η χρόνια θεραπεία με κερσετίνη, έδειξε αναστροφή της γνωστικής λειτουργίας σε ηλικιωμένους ποντικούς (Singh et. al, 2013). Το 2007, αναφέρθηκε ότι η κερσετίνη αυξάνει την αντοχή στον οξειδωτικό στρες και τη μακροζωία στο μοντέλο *Saccharomyces cerevisiae* (Belinha et. al, 2007). Μελλοντικά, ένας από τους βασικούς στόχους των ερευνητών είναι να διαπιστώσουν αν τα senolytics βελτιώνουν τους φαινότυπους μέσω της απομάκρυνσης των γηρασμένων κυττάρων , μέσω πιθανών επιδράσεών τους σε κύτταρα που δεν αποτελούν στόχους και συνεπώς δεν είναι γηρασμένα ή μέσω των αλληλεπιδράσεων των κυττάρων αυτών. Ένα μεγάλο πλεονέκτημα των senolytics που αξίζει να σημειωθεί, είναι ότι αφού με μικρές δόσεις είναι αποτελεσματικά όσον αφορά την ανακούφιση των συμπτωμάτων, θα μπορούσαν να χορηγηθούν κατά τις περιόδους καλής υγείας, κατά τις οποίες η ύπαρξη γηρασμένων κυττάρων θα ήταν ωφέλιμη (Myrianthorouliou, 2018). Συνεπώς καθίσταται επιτακτική ανάγκη περαιτέρω μελέτης των επιδράσεων αλλά και των πιθανών επιπτώσεων των senolytics. Υπάρχουν ήδη έρευνες για senolytics που προέρχονται από φυσικά προϊόντα της στεριάς πλούσια σε πολυφαινόλες που τονίζουν την αντιοξειδωτική- αντιγηραντική τους δράση, συνεπώς η έρευνα στα θαλάσσια προϊόντα είναι πολλά υποσχόμενη αν ληφθεί υπόψη η ακόμα μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες. Αν τεθούν σε κλινική εφαρμογή ίσως τελικά καταστεί εφικτή η καθυστέρηση, η πρόληψη, η ανακούφιση ή ακόμα και η αναστροφή πολλαπλών χρόνιων παθήσεων, αφού μπορούν να αναγνωρίσουν τα γηρασμένα κύτταρα λόγω της χαρακτηριστικής μορφολογίας τους και να τα καταστρέψουν.

### **ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟΥ ΕΡΓΟΥ**

Στόχος της προτεινόμενης διδακτορικής διατριβής είναι η ταυτοποίηση φυσικών ενώσεων από μακροφύκη της Ανατολικής Μεσογείου με δράση senolytics 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 οδηγούν σε θάνατο τα γηρασμένα κύτταρα (senolytics) (Kirkland & Tchkonja, 2015) και κατ' επέκταση να επεκτείνουν το οργανισμικό προσδόκιμο ζωής (*C. elegans*).

Μεταλλαγμένα στελέχη για μονοπάτια που ρυθμίζουν τη γήρανση (όπως το μονοπάτι της ινσουλίνης ή το μονοπάτι του mTOR ανάμεσα σε άλλα) 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) και 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 πεπτιδίο 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 πεπτιδίο στα μυϊκά του κύτταρα αλλά αυτό το Αβ πεπτιδίο είναι συνδεδεμένο με GFP (Green Fluorescent Protein) με αποτέλεσμα να μπορεί να γίνει οπτικοποίηση των Αβ συσσωματωμάτων *in vivo* με συνεστιακή μικροσκοπία φθορισμού. Οι ουσίες με τη βέλτιστη συγκέντρωση θα δοθούν σε μοντέλο οργανισμό *C. elegans* που υπερεκφράζεται το Αβ πεπτιδίο στα νευρικά του κύτταρα.

Στο κυτταρικό μοντέλο της αναδιπλασιαστικής γήρανσης θα γίνει ανίχνευση οξειδωμένων πρωτεϊνών, δραστικών ριζών Οξυγόνου (ROS), τεστ αντοχής σε οξειδωτικό στρες ύστερα από την επίδραση των διάφορων ουσιών ώστε να χαρακτηριστούν οι διάφοροι μοριακοί δείκτες αντιγήρανσης.

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. Χρησιμοποιώντας σαν θετικό μάρτυρα ήδη ταυτοποιημένα senolytics όπως η κερσετίνη, θα συγκριθούν και θα ταυτοποιήσουμε νέες ουσίες σε γηρασμένα κύτταρα ώστε να δούμε την επίδραση αλλά και την αποτελεσματικότητά τους στην αναστολή της κυτταρικής γήρανσης (αντι-γηραντική δράση senolytics).

#### **Η ΣΥΝΕΙΣΦΟΡΑ ΣΤΗ ΘΕΩΡΗΤΙΚΗ Η/ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΓΝΩΣΗ**

- Θα ταυτοποιηθούν ενώσεις με εν δυνάμει αντιγηραντική δράση και δράση senolytics.
- Θα αναγνωρισθούν τα μονοπάτια μέσα από τα οποία δρουν.
- Θα αναδειχθεί ο θαλάσσιός μας πλούτος.
- Δεδομένου ότι τα γηρασμένα κύτταρα μπορούν να συμμετέχουν σε διάφορες εκφυλιστικές καταστάσεις τα αποτελέσματα τις μελέτης θα μπορούσαν να έχουν εφαρμογές σε αντίστοιχες ασθένειες.
- Με την ταυτοποίηση της προστατευτικής δράσης των θαλάσσιων προϊόντων που θα μελετηθούν είναι πιθανό να προταθεί κάποια προληπτική αγωγή που να συνεισφέρει στην καθυστέρηση της γήρανσης και κατά συνέπεια στην καλύτερη ποιότητα ζωής.
- Με την ταυτοποίηση ενώσεων με αντιγηραντική δράση, μπορεί μακροπρόθεσμα να αυξηθεί το προσδόκιμο ζωής.

#### **Β. Καινοτομία της διδακτορικής διατριβής**

Μέχρι σήμερα δεν έχει βρεθεί καμία αποτελεσματική μέθοδος για την καθυστέρηση ή την αναστροφή του φαινομένου της αναδιπλασιαστικής κυτταρικής γήρανσης. Έχουν αναφερθεί συστατικά που απομονώθηκαν ή παράχθηκαν από φυτικούς οργανισμούς και έχουν εν δυνάμει φαρμακολογικές δράσεις στους θεραπευτικούς στόχους ασθενειών, στις οποίες παίζει καταλυτικό ρόλο η γήρανση (μεταξύ των οποίων είναι και νευροεκφυλιστικές νόσοι, συμπεριλαμβανομένης της AD). Τα φυσικά συστατικά που μπορούν να δράσουν ως senolytics, έχουν το βασικό πλεονέκτημα της χαμηλής τοξικότητας. Παρ' όλα αυτά, οι μηχανισμοί δράσης των περισσότερων ουσιών που δρουν ως senolytics δεν έχουν γίνει, ακόμα, πλήρως κατανοητοί και οι μοριακοί τους στόχοι δεν έχουν ταυτοποιηθεί και χαρακτηριστεί επαρκώς. Επιπροσθέτα, οι περισσότερες έρευνες έχουν πραγματοποιηθεί μόνο *in vitro*. Επιπλέον, τα θαλάσσια φυσικά προϊόντα έχουν μελετηθεί πολύ λιγότερο από τα χερσαία για την πιθανή απομόνωση συστατικών που δρουν ως senolytics και θα μπορούσαν να αποτελέσουν πιθανά φαρμακοτρόφιμα με προστατευτική δράση ενάντια στους γηρασμένους φαινότυπους των κυττάρων (αποτελώντας μια προληπτική μέθοδο για την καθυστέρηση ή αναστροφή του φαινότυπου της γήρανσης). Παράλληλα η δράση τους θα μπορούσε να παίζει καταλυτικό ρόλο στην αντιμετώπιση εκφυλιστικών- ηλικιοσυσχετιζόμενων ασθενειών, όπως είναι η νόσος Alzheimer, αφού φαίνεται να είναι αποτελεσματικά σε πειραματικά μοντέλα νευρολογικών διαταραχών βελτιώνοντας σημαντικά πολλαπλούς φαινότυπους.

#### **Γ. Χρονοδιάγραμμα και ρεαλιστικότητα του χρονοδιαγράμματος**

### Αναλυτικό χρονοδιάγραμμα

Η μελέτη αναμένεται να ολοκληρωθεί σε διάστημα **36 μηνών** ως εξής:

Σάρωση θαλάσσιων ουσιών για την εύρεση πιθανών senolytics	1-12 μήνες
Πειράματα γήρανσης στο μοντέλο αναδυπλασιαστικής γήρανσης και στο μοντέλο του νηματώδη σκώληκα <i>C. Elegans</i> .	12-36 μήνες
Πειράματα στο μοντέλο του νηματώδη σκώληκα για την AD.	12-36 μήνες
Διάχυση αποτελεσμάτων σε συνέδρια, συγγραφή άρθρων και συγγραφή διδακτορική διατριβής.	12-36 μήνες

### Δ. Ενδεικτική Βιβλιογραφία Διδακτορικής Διατριβής

Abdel-Lateff A, Fisch KM, Wright AD, and Ko"nig GM. A new antioxidant isobenzofuranone derivative from the algicolous marine fungus *Epicoccum* sp. *Planta Med* 69: 831– 834, 2003.

Anand David, A.V., Arulmoli, R., Parasuraman, S., 2016. Overviews of Biological Importance of Quercetin: A Bioactive Flavonoid. *Pharmacogn Rev* 10, 84–89.

Baker, D.J., Childs, B.G., Durik, M., Wijers, M.E., Sieben, C.J., Zhong, J., Saltness, R.A., Jeganathan, K.B., Verzosa, G.C., Pezeshki, A., Khazaie, K., Miller, J.D., van Deursen, J.M., 2016. Naturally occurring p16(Ink4a)-positive cells shorten healthy lifespan. *Nature* 530, 184–189.

Baker, D.J., Wijshake, T., Tchkonja, T., LeBrasseur, N.K., Childs, B.G., van de Sluis, B., Kirkland, J.L., van Deursen, J.M., 2011. Clearance of p16Ink4a-positive senescent cells delays ageing-associated disorders. *Nature* 479, 232–236.

Belinha, I., Amorim, M.A., Rodrigues, P., de Freitas, V., Moradas-Ferreira, P., Mateus, N., Costa, V., 2007. Quercetin increases oxidative stress resistance and longevity in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Agric. Food Chem.* 55, 2446–2451

Bernadotte A1,2, Mikhelson VM3, Spivak IM. Markers of cellular senescence. Telomere shortening as a marker of cellular senescence. *Aging (Albany NY)*. 2016 Jan;8(1):3-11.

Blagosklonny MV. Rapamycin, proliferation and geroconversion to senescence. *Cell Cycle*. 2018; 1–11. 10.1080/15384101.2018.1554781.

Butterfield, D.A.; DiDomenico, F.; Swomley, A.M.; Head, E.; Perluigi, M. Redox proteomics analysis to decipher the neurobiology of Alzheimer like neurodegeneration :over lapsin Down syndrome and Alzheimer's disease brain. *Biochem. J.* 2014; 463:177–189.

Butterfield, D.A. B amyloid- associated free radical oxidative stress and neurotoxicity: implications for Alzheimer's disease. *Chem. Res. Toxicol.* 10:495–506; 1997.

Butterfield, D.A.; Drake J.; Pocernich C.; Castegna, A. Evidence of oxidative damage in Alzheimer's disease brain :central role for amyloid  $\beta$  peptide. *Trends Mol. Med.* 2001; 7: 548–554.

Cambs B.; Voss K.; Gambin TC. Pseudohyperphosphorylation in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res.* 2006; 3: 449-463.

Cardoso, S.M.; Santana I.; Swedlow, R.H.; Oliveira C.R. Mitochondria dysfunction of Alzheimer's disease cybrids enhances A $\beta$  toxicity. *J. Neurochem.* 89:1417–1426; 2004.

Childs, B. G., Durik, M., Baker, D. J., & van Deursen, J. M. (2015). Cellular senescence in aging and age-related disease: from mechanisms to therapy. *Nature Medicine*, 21(12), 1424–1435. doi:10.1038/nm.4000

Childs, B.G., Gluscevic, M., Baker, D.J., Laberge, R.-M., Marquess, D., Dananberg, J., van Deursen, J.M., 2017. Senescent cells: an emerging target for diseases of ageing. *Nat Rev Drug Discov* 16, 718–735

Choi, D.-Y., & Choi, H. (2014). Natural products from marine organisms with neuroprotective activity in the experimental models of Alzheimer's disease, Parkinson's disease and ischemic brain stroke: their molecular targets and action mechanisms. *Archives of Pharmacol Research*, 38(2), 139–170. doi:10.1007/s12272-014-0503-5

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 BiolChem* 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 *Caenorhabditis elegans*. *FASEB J* 29: 611–622, 2015

Demaria M, Ohtani N, Youssef SA, Rodier F, Toussaint W, Mitchell JR, Laberge RM, Vijg J, Van Steeg H, Dolle ME, Hoeijmakers JH, de Bruin A, Hara E, Campisi J (2014). An Essential Role for Senescent Cells in Optimal Wound Healing through Secretion of PDGF-AA. *Dev. Cell.* 31, 722-733.

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.

Dorr JR, Yu Y, Milanovic M, Beuster G, Zasada C, Dabritz JH, Lisec J, Lenze D, Gerhardt A, Schleicher K, Kratzat S, Purfurst B, Walenta S, Mueller-Klieser W, Graler M, Hummel M, Keller U, Buck AK, Dorken B, Willmitzer L, Reimann M, Kempa S, Lee S, Schmitt CA. Synthetic lethal metabolic targeting of cellular senescence in cancer therapy. *Nature.* 2013;501:421–425.

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

Eun-Young Kim, Youn Hee Choi, and Taek-Jeong Nam, Identification and antioxidant activity of synthetic peptides from phycobiliproteins of *Pyropia yezoensis*. *Int J Mol Med.* 2018 Aug; 42(2): 789–798.

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

Freund A, Patil CK, Campisi J. p38MAPK is a novel DNA damage response-independent regulator of the senescence-associated secretory phenotype. *EMBO J.* 2011; 30:1536–48. 10.1038/emboj.2011.69.

Geng, L., Liu, Z., Zhang, W., Li, W., Wu, Z., Wang, W., Ren, R., Su, Y., Wang, P., Sun, L., Ju, Z., Chan, P., Song, M., Qu, J., Liu, G.-H., 2018. Chemical screen identifies a geroprotective role of quercetin in premature aging. *Protein Cell.*

Goldschneider D, Mehlen P. Dependence receptors: a new paradigm in cell signaling and cancer therapy. *Oncogene.* 2010;29:1865–1882.

Helman A, Klochendler A, Azazmeh N, Gabai Y, Horwitz E, Anzi S, Swisa A, Condiotti R, Granit RZ, Nevo Y, Fixler Y, Shreibman D, Zamir A, et al.. p16(Ink4a)-induced senescence of pancreatic beta cells enhances insulin secretion. *Nat Med.* 2016; 22:412–20. 10.1038/nm.4054

Hengyun Wei, Zixiang Gao, Luping Zheng, Cuili Zhang, Zundong Liu, Yazong Yang, Hongming Teng, Lin Hou, Yuling Yin, Xiangyang Zou. Protective Effects of Fucoïdan on A $\beta$ 25–35 and d-Gal-Induced Neurotoxicity in PC12 Cells and d-Gal-Induced Cognitive Dysfunction in Mice. *Mar Drugs.* 2017 Mar; 15(3): 77. Published online 2017 Mar 16. doi: 10.3390/md15030077.

Hollingsworth P.; Harold D.; Jones L. et al. Alzheimer's disease genetics: current knowledge and future challenges. *Geriatr. Psychiatry.* 2011; 26; 793-802.

Hwang, H.V., Tran, D.T., Rebuffatti, M.N., Li, C.-S., Knowlton, A.A., 2018. Investigation of quercetin and hyperoside as senolytics in adult human endothelial cells. *PLoS ONE* 13, e0190374.

Kalimuthu S., Kim S.K. Fucoïdan, A Sulfated Polysaccharides from Brown Algae as Therapeutic Target for Cancer. Springer International Publishing; Cham, Switzerland: 2015. pp. 145–164.

Kim EC1, Kim JR1., Senotherapeutics: emerging strategy for healthy aging and age-related disease. *BMB Rep.* 2019 Jan;52(1):47-55.

Kirkland JL, Tchkonja T (2014). Clinical strategies and animal models for developing senolytic agents. *Exp. Gerontol.* Tchkonja T, Zhu Y, van Deursen J, Campisi J, Kirkland JL (2013). Cellular senescence and the senescent secretory phenotype: therapeutic opportunities. *J Clin Invest.* 123, 966-972.

López-Otín, C., Blasco, M.A., Partridge, L., Serrano, M., Kroemer, G., 2013. The hallmarks of aging. *Cell* 153, 1194–1217

Manirafasha E, Ndikubwimana T, Zeng X, Lu Y, Jing K. Phycobiliprotein: Potential microalgae derived pharmaceutical and biological reagent. *Biochem Eng J.* 2016;109:282–296. doi: 10.1016/j.bej.2016.01.025.

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

Myriantopoulos V. The emerging field of senotherapeutic drugs. *Future Med Chem*. 2018 Oct;10(20):2369-2372. doi: 10.4155/fmc-2018-0234. Epub 2018 Oct 16.

Ogawa T., Kodera 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.

Papaevgeniou N., Sakellari M., Jha S., Tavernarakis N., Carina I. Holberg, Gonos ES, and Chondrogianni N. 18 $\alpha$ -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.

Park, E.-J., & Pezzuto, J. M. (2013). Antioxidant Marine Products in Cancer Chemoprevention. *Antioxidants & Redox Signaling*, 19(2), 115–138.

Reis A, Mendes A, Lobo-Fernandes H, Empis JA, Novais JM. Production, extraction and purification of phycobiliproteins from *Nostoc* sp. *Bioresour Technol*. 1998;66:181–187. doi: 10.1016/S0960-8524(98)00064-9.

Romano G, Costantini M, Sansone C, Lauritano C, Ruocco N, Ianora A. Marine microorganisms as a promising and sustainable source of bioactive molecules. *Mar Environ Res*. 2017 Jul; 128():58-69.

Short S, Fielder E, Miwa S, von Zglinicki T. Senolytics and senostatics as adjuvant tumour therapy. *EBioMedicine*. 2019 Feb 5. pii: S2352-3964(19)30062-3. doi: 10.1016/j.ebiom.2019.01.056.

Singh, A., Naidu, P.S., Kulkarni, S.K., 2003. Reversal of aging and chronic ethanol-induced cognitive dysfunction by quercetin a bioflavonoid. *Free Radic. Res*. 37, 1245–1252.

Sonani RR, Rastogi RP, Madamwar D. Antioxidant potential of phycobiliproteins: Role in anti-aging research. *Biochem Anal Biochem*. 2015;4 doi: 10.4172/2161-1009.1000172.

Yu-qin Wang, Jin-ge Wei, Meng-jue Tu, Jian-guo Gu, Wei Zhang. Fucoidan Alleviates Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity via Oxidative Stress Inhibition and Nrf2 Translocation. *Int J Mol Sci*. 2018 Dec; 19(12): 4050. Published online 2018 Dec 14. doi: 10.3390/ijms19124050.

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.

Zhu, Y. et al. The Achilles' heel of senescent cells: from transcriptome to senolytic drugs. *Aging Cell* 14, 644–658 (2015).  
Kirkland JL, Tchkonja T (2015). "Clinical strategies and animal models for developing senolytic agents". *Experimental Gerontology*. 68: 19–25. doi:10.1016/j.exger.2014.10.012. PMC 4412760. PMID 25446976. Retrieved 2015-12-28.

Zhu, Y., Tchkonja, T., Pirtskhalava, T., Gower, A.C., Ding, H., Giorgadze, N., Palmer, A.K., Ikeno, Y., Hubbard, G.B., Lenburg, M., O'Hara, S.P., LaRusso, N.F., Miller, J.D., Roos, C.M., Verzosa, G.C., LeBrasseur, N.K., Wren, J.D., Farr, J.N., Khosla, S., Stout, M.B., McGowan, S.J., Fuhrmann-Stroissnigg, H., Gurkar, A.U., Zhao, J., Colangelo, D., Dorronsoro, A., Ling, Y.Y., Barghouthy, A.S., Navarro, D.C., Sano, T., Robbins, P.D., Niedernhofer, L.J., Kirkland, J.L., 2015. The Achilles' heel of senescent cells: from transcriptome to senolytic drugs. *Aging Cell* 14, 644–658.