



**ΕΘΝΙΚΟ
ΜΕΤΣΟΒΙΟ
ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ**
ΣΧΟΛΗ ΜΗΧΑΝΟΛΟΓΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

Α.Π. :
Αθήνα,

ΚΟΣΜΗΤΟΡΑΣ

Προς τα Μέλη ΔΕΠ της
Σχολής Μηχ/γων
Μηχ/κών

ΠΡΟΣΚΛΗΣΗ

Σας προσκαλούμε στην παρουσίαση της Διδακτορικής Διατριβής της Υ.Δ. **κας ΣΚΕΑ Διονυσίας**, πτυχιούχου του Τμήματος Φαρμακευτικής του ΕΚΠΑ και κατόχου Μεταπτυχιακού Διπλώματος στην επιστημονική περιοχή της Βιολογίας του καρκίνου από το Πανεπιστήμιο του Κάρντιφ, την οποία εκπόνησε στον Τομέα Μηχανολογικών Κατασκευών & Αυτομάτου Ελέγχου. Η παρουσίαση θα πραγματοποιηθεί την Τρίτη 27 Ιουνίου 2023 ώρα 10:00π.μ. διαδικτυακά στο κάτωθι σύνδεσμο:

<https://centralntua.webex.com/join/leo>

Ο ελληνικός τίτλος της Διδακτορικής Διατριβής είναι ο εξής:

«Ανάλυση σηματοδοτικών μονοπατιών, πρωτεϊνικών εκκρίσεων και μεταγραφώματος για την ανεύρεση βιοδεικτών κατά την γήρανση»

Και ο αγγλικός ως εξής :

« Transcriptomic, signalling and secretome analysis for biomarker discovery in ageing and senescence »

Ο Κοσμήτορας της Σχολής



Ν. Μαρμαράς
Καθηγητής Ε.Μ.Π

«Ανάλυση σηματοδοτικών μονοπατιών, πρωτεϊνικών εκκρίσεων και μεταγραφώματος για την ανεύρεση βιοδεικτών κατά την γήρανση»

Όνοματεπώνυμο: Διονυσία Σκέα

Επιβλέπων: Καθ. Λεωνίδας Αλεξόπουλος

Αντικείμενο της παρούσας Διδακτορικής Διατριβής είναι η μελέτη των μηχανισμών της κυτταρικής γήρανσης και ο εντοπισμός πρωτεϊνικών δεικτών γήρανσης. Η γήρανση είναι μια φυσιολογική διαδικασία που χαρακτηρίζεται από την επιδείνωση όλων των λειτουργιών σε κυτταρικό και οργανικό επίπεδο. Στους ανθρώπους και στα θηλαστικά, συνδέεται άμεσα με την εμφάνιση ηλικιο-εξαρτώμενων νοσημάτων, όπως η χρόνια φλεγμονή, ο καρκίνος, οι νευροεκφυλιστικές και καρδιαγγειακές παθήσεις. Ένα από τα χαρακτηριστικά της γήρανσης είναι η κατάσταση, που περιγράφεται ως μη αναστρέψιμη διακοπή του κυτταρικού κύκλου (senescence). Με το μηχανισμό αυτό αποτρέπεται η κακοήθης μεταμόρφωση των κυττάρων, προστατεύεται η ομαλή εμβρυϊκή ανάπτυξη, η ανάπλαση ιστών, η επούλωση τραυμάτων και η ανοσολογική επιτήρηση. Ο μηχανισμός αυτός χαρακτηρίζεται από διάφορα μη αποκλειστικά χαρακτηριστικά ανεξάρτητα από τον τύπο γήρανσης και τον επαγωγέα, καθώς και από πολύπλοκο, ποικίλο και έντονα εκκριτικό φαινότυπο, γνωστό ως SASP (Senescence-associated secretory phenotype) που προάγει την παρατεταμένη φλεγμονή.

Αν και τα γηρασμένα κύτταρα και ο ρόλος τους στις παθολογικές εκδηλώσεις έχουν επικεντρώσει ερευνητικό ενδιαφέρον, η ετερογένεια των μηχανισμών γήρανσης, μαζί με την ποικιλομορφία και την πολυπλοκότητα του SASP έχουν εμποδίσει τον εντοπισμό καθολικών δεικτών για την ανίχνευση γηρασμένων κυττάρων, καθώς και την αξιολόγηση θεραπευτικών προσεγγίσεων που τα στοχεύουν και καθυστερούν την εμφάνιση των ηλικιο-εξαρτώμενων νοσημάτων. Στόχος της διατριβής ήταν η μελέτη της γήρανσης χρησιμοποιώντας διαφορετικούς τύπους στρες σε κύτταρα ινοβλαστών HFL1 και BJ, απομονωμένα από ανθρώπινο πνεύμονα και δέρμα, αντίστοιχα, για την ανίχνευση κοινών καθολικών δεικτών και μονοπατιών που αποτελούν πιθανούς στόχους. Η φαινοτυπική αξιολόγηση των αναπτυγμένων κυτταρικών μοντέλων γήρανσης πραγματοποιήθηκε αξιολογώντας διάφορους καθιερωμένους δείκτες γήρανσης. Η μεταγραφομική ανάλυση (RNA-seq) χρησιμοποιήθηκε για να διερευνηθούν οι μεταγραφικές αλλαγές στο κάθε μοντέλο γήρανσης, τα κοινά διαφορικά εκφρασμένα γονίδια (DEGs), καθώς και κοινά σηματοδοτικά μονοπάτια μεταξύ των διαφορετικών μοντέλων. Η μεταγραφομική ανάλυση έδειξε ποικίλες γονιδιακές μεταβολές στα τέσσερα κυτταρικά μοντέλα, με την κυτταρική σειρά να επηρεάζει περισσότερο το μεταγραφομικό προφίλ και να προκαλεί σημαντικές διαφορές στη διαφορική έκφραση γονιδίων. Παράλληλα, εντοπίστηκε ένα κοινό μεταγραφικό προφίλ μεταξύ των τεσσάρων ομάδων σύγκρισης, με 231 κοινά DEGs που συμβάλλουν κατά μεγάλο ποσοστό στην εμφάνιση του φαινοτύπου. Σημειώθηκε σημαντική μείωση σε διεργασίες όπως ο κυτταρικός κύκλος, καθώς και σε διεργασίες σχετιζόμενες με τη γήρανση, όπως η αντιγραφή του DNA, η μείωση του κυτταρικού κύκλου του ωοκυττάρου, η διεργασία ομόλογου ανασυνδυασμού, και διεργασίες πέψης και απορρόφησης πρωτεϊνών.

Για την διερεύνηση των σηματοδοτικών μονοπατιών, των ενεργοποιημένων ενδοκυττάρων ρυθμιστών και των εκκρινόμενων παραγόντων SASP που εμπλέκονται στον κάθε τύπο γήρανσης, αναπτύχθηκαν πολυπλεκτικές μέθοδοι ELISA. Ένα πολυπλεκτικό πρωτεϊνικό πάνελ με 25 πρωτεΐνες στόχους χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση των επιπέδων ενδοκυττάρων πρωτεϊνών (επίπεδα φωσφορυλίωσης ή και συνολικής πρωτεΐνης). Ακολούθως, ένα πολυπλεκτικό πρωτεϊνικό πάνελ με 75 πρωτεΐνες στόχους αναπτύχθηκε και χρησιμοποιήθηκε για την αξιολόγηση των εκκρινόμενων πρωτεϊνών σε κάθε μοντέλο γήρανσης και τον εντοπισμό κοινών SASP παραγόντων. Για την περαιτέρω επικύρωση κοινών πρωτεϊνών δεικτών που εντοπίστηκαν προηγουμένως στα μοντέλα πρόωρης γήρανσης, αναπτύχθηκαν μοντέλα αναδιπλασιαστικής γήρανσης στα κύτταρα HFL1 και BJ. Τέλος, οι συγκρίσεις όλων των μοντέλων απεικόνισαν την ετερογένεια της γήρανσης σε πρωτεϊνικό επίπεδο, παράλληλα όμως οδήγησαν στην ταυτοποίηση πρωτεϊνών με σταθερές μεταβολές στα έξι μοντέλα, οι οποίες θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως καθολικοί δείκτες.

Συνολικά, τα δεδομένα της παρούσας μελέτης περιγράφουν τα μεταγραφικά προφίλ και τους μηχανισμούς που ενεργοποιούνται για την επαγωγή της γήρανσης μετά από έκθεση σε διαφορετικούς τύπους στρες, και προσθέτουν επιπλέον μεταγραφομικά δεδομένα σε ήδη υπάρχουσες μεταγραφικές μελέτες που χρησιμοποίησαν κυρίως μοντέλα γήρανσης επαγόμενης με θεραπείες, στρες, και αναδιπλασιαστικής γήρανσης. Οι μηχανισμοί και τα εμπλουτισμένα μονοπάτια που ταυτοποιήθηκαν, καθώς και τα κοινά DEGs, αποτελούν πιθανούς στόχους σενοθεραπευτικών προσεγγίσεων που στοχεύουν τα γηρασμένα κύτταρα και καθυστερούν την εμφάνιση ηλικιο-εξαρτώμενων ασθενειών. Σε πρωτομικό επίπεδο, το προφίλ σηματοδότησης και εκκριτώματος ήταν ποικίλο, απεικονίζοντας περαιτέρω την ετερογένεια της γήρανσης η οποία προέρχεται κυρίως από τον εκάστοτε επαγωγέα καθώς και την κυτταρική σειρά. Τα σηματοδοτικά μονοπάτια απόκρισης στο στρες και τα μονοπάτια κυτταρικής επιβίωσης ενεργοποιούνται ανεξάρτητα από τον τύπο της γήρανσης, ενώ η έκκριση προ-φλεγμονωδών παραγόντων προάγει και διατηρεί τη γήρανση και τον SASP.

Συμπερασματικά, τα ευρήματά μας προτείνουν την ανάπτυξη δύο πολυπλεκτικών πρωτεϊνικών πάνελ για την αξιολόγηση του φαινοτύπου γήρανσης, ένα πάνελ που αξιολογεί ενδοκυττάρια και φωσφορυλιωμένες πρωτεΐνες και ένα πάνελ για την αξιολόγηση των SASP παραγόντων. Η χρήση των πολυπλεκτικών πάνελ θα ωφελήσει και θα διευκολύνει όχι μόνο την αναγνώριση και παρακολούθηση γηρασμένων κυττάρων, αλλά και την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των θεραπευτικών προσεγγίσεων που τα εξαλείφουν ή στοχεύουν παράγοντες SASP και καθυστερούν την εμφάνιση του φαινοτύπου και των ηλικιο-εξαρτώμενων νοσημάτων.