

Υποψήφια διδάκτορας: Μαριάννα Νάκη

Μέλη τριμελούς επιτροπής:

- 1.) Επ. Καθηγητής Κωνσταντίνος Παληκαράς (Επιβλέπων)
- 2.) Δρ. Επαμεινώνδας Δοξάκης (ΠΒΕΑΑ)
- 3.) Δρ. Λασκαρώ Ζαγοραίου (ΠΒΕΑΑ)

Τίτλος διατριβής: α-συνουκλεϊνοπάθειες: παθογενετικοί μηχανισμοί και θεραπεία

Η α-συνουκλεΐνη (SNCA, ασυν) εντοπίζεται κυρίως στα προσυναπτικά άκρα των νευρώνων και έχει αποδειχθεί ότι καταλαμβάνει έως και το 1% των συνολικών πρωτεϊνών στο νευρωνικό κυτοσόλιο. Κλινικές, γενετικές και βιοχημικές μελέτες έχουν συνδέσει την ασυν με τις ασθένειες των σωματίων Lewy, γνωστές και ως α- συνουκλεϊνοπάθειες που συμπεριλαμβάνουν τις οικογενείς και σποραδικές μορφές της νόσου του Πάρκινσον (PD), της άνοιας σχετιζόμενης με σωματία Lewy (DLB) και της ατροφίας πολλαπλών συστημάτων (MSA). Ο ρόλος της ασυν στη παθογένεια δεν είναι κατανοητός όμως φαίνεται να σχετίζεται άμεσα με την τοξική συσσώρευση των μορίων της ενδογενώς και την πρίον-τύπου διασπορά της μέσω εξωσωμάτων στα γειτνιάζοντα νευρογλοιακά κύτταρα και νευρώνες. Οι α-συνουκλεϊνοπάθειες αφορούν χρόνιες ασθένειες, καθώς δεν έχει βρεθεί ριζική θεραπεία, δηλαδή ένας φαρμακευτικός παράγοντας που να μπορεί να σταματήσει ή να αναστρέψει τον υποκείμενο νευροεκφυλισμό.

Η φυσιολογική λειτουργία της ασυν δεν είναι γνωστή αλλά είναι πιθανόν να εμπλέκεται στην συναπτική νευροδιαβίβαση. Ακόμη, η ασυν στερείται σταθερής δευτεροταγούς δομής, επομένως η λειτουργικότητά αυτής βασίζεται σε μέτα- μεταφραστικές τροποποιήσεις. Παρ' όλα αυτά, δεν υπάρχουν πολλά δεδομένα για την ρύθμιση έκφρασης της ασυν, παρά τη συμβολή της σε ένα ευρύ φάσμα νευροεκφυλιστικών ασθενειών.

Στα ευκαρυωτικά κύτταρα, η ρύθμιση των πρωτεϊνικών επιπέδων διαμεσολαβείται κυρίως από ειδικές ριβονουκλεοπρωτεΐνες που έχουν την ικανότητα πρόσδεσης σε δομές ή αλληλουχίες RNA (RNA-Binding proteins, RBPs), αλλά και από microRNAs ή μη-κωδικά μεγάλου μήκους RNAs (long non-coding RNAs, lncRNAs). Τα επίπεδα των πρωτεϊνών στο εσωτερικό του κυττάρου ελέγχονται και από το ρυθμό με τον οποίο αποικοδομούνται. Δύο από τα κύρια μονοπάτια αποικοδόμησης πρωτεϊνών είναι το μονοπάτι ουβικιτίνης-πρωτεασώματος και το μονοπάτι της αυτοφαγίας που καταλήγει στα λυσοσώματα. Βλάβη στην ενεργότητα του πρωτεασώματος και της αυτοφαγίας προκαλεί τη συσσώρευση και το σχηματισμό εγκλείστων των πρωτεϊνών που φυσιολογικά καταστρέφονται.

Σε θεραπευτικό επίπεδο, ένας σημαντικός αριθμός ερευνητικών προγραμμάτων από εταιρίες στοχεύουν πλέον στη μείωση της ασυν για να καθυστερήσουν την εμφάνιση των παθολογικών συμπτωμάτων. Πρόσφατα τα αντινοσηματικά ολιγονουκλεοτίδια έχουν έρθει στο προσκήνιο ως φαρμακολογικοί παράγοντες που στοχεύουν μόρια mRNAs που κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες. Τα αντινοσηματικά ολιγονουκλεοτίδια αποτελούν βραχείες αλληλουχίες νουκλεϊκού οξέος συνήθως μεταξύ 13 και 30 νουκλεοτίδιων, γνωστού μήκους, τα οποία είναι μοναδικά για το RNA στόχο και συμπληρωματικά της περιοχής που προορίζονται να ρυθμίσουν. Οι τρόποι με τους οποίους χρησιμοποιούνται θεραπευτικά αφορούν τη ρύθμιση έκφρασης συγκεκριμένων εξονίων ή και ολόκληρου του mRNA ενός γονιδίου, καθώς και τη ρύθμιση επιπέδων microRNAs.

Με βάση τα παραπάνω δεδομένα, στόχος της συγκεκριμένης εργασίας είναι η μελέτη της ρύθμισης της συσσώρευσης της ασυν μέσω της δράσης RBPs που έχουν συσχετιστεί με νευροεκφυλιστικές διεργασίες, καθώς και η ανάπτυξη θεραπευτικών αντινοσηματικών ολιγονουκλεοτιδίων για τη μείωση των επιπέδων της ασυν *in vitro* και *in vivo*.

PhD candidate: Marianna Naki

Members of a three-member committee:

- 1.) Ass. Professor Konstantinos Palikaras (PhD advisor)
- 2.) Dr. Epaminondas Doxakis (BRFAA)
- 3.) Dr. Laskaro Zagoraïou (BRFAA)

Thesis title:  $\alpha$ -synucleinopathies: pathogenetic mechanisms and treatment

A-synuclein (SNCA, asyn) is primarily found at neurons' presynaptic ends and has been shown to account for up to 1% of total proteins in the neuronal cytosol. Clinical, genetic, and biochemical studies have linked asyn to Lewy body diseases, which includes Parkinson's disease (PD), Lewy body dementia (DLB), and Multiple System Atrophy (MSA), collectively now referred to as  $\alpha$ -synucleinopathies. Although the pathogenic role of asyn is unknown, it appears to be directly related to the toxic accumulation of its molecules endogenously and its prion-like dispersion via secreted vesicles to adjacent glial cells and neurons. A-synucleinopathies are considered chronic diseases due to the lack of a drug agent capable of halting or reversing the underlying neurodegeneration.

Although the exact function of asyn is unknown, it is believed to function as a molecular chaperone, assisting in the folding and refolding of synaptic SNARE proteins. Additionally, because asyn does not have a stable secondary structure, its activity is dependent on post-translational modifications. However, despite its involvement in a wide variety of neurodegenerative diseases, there is a dearth of data on the regulation of asyn expression.

Regulation of protein translation in eukaryotic cells is mediated primarily by specific proteins capable of binding to untranslated regions of mRNAs (RNA-Binding proteins, RBPs), but also by microRNAs and long non-coding RNA (lncRNAs). Protein levels are also regulated by their degradation rate. The ubiquitin-proteasome and the autophagy pathways are two major protein degradation pathways. When proteasomal and autophagic activities are impaired, proteins aggregate and form inclusions.

On a therapeutic level, an increasing number of research programs are focusing on reducing asyn to delay the onset of pathological symptoms. Recently, antisense oligonucleotides have been used to target mRNA splicing or stability. Antisense oligonucleotides are short sequences of nucleic acids, typically between 13 and 30 nucleotides in length, that are specific to the target RNA and complementary to the region they are intended to regulate. They are used therapeutically to regulate the expression of specific exons or the entire messenger RNA of a gene, as well as the levels of microRNAs.

The purpose of this thesis is to investigate the regulation of asyn aggregation via the action of RBPs associated with neurodegenerative diseases and the development of therapeutic antisense oligonucleotides to decrease asyn levels in vitro and in vivo.