



**ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΔΙΗΜΕΡΙΔΑ
ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ
ΝΕΥΡΟΕΠΙΣΤΗΜΩΝ**

**ΕΘΝΙΚΟ ΚΕΝΤΡΟ ΕΡΕΥΝΑΣ ΦΥΣΙΚΩΝ
ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ «ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ»**



ΑΘΗΝΑ, 1-2 ΟΚΤΩΒΡΙΟΥ 2010

**NEUROSCIENCE DAYS
OF THE HELLENIC SOCIETY FOR
NEUROSCIENCE**

**NATIONAL CENTRE FOR SCIENTIFIC
RESEARCH "DEMOKRITOS"**

ATHENS, OCTOBER 1-2, 2010



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

CONTENTS

Διοικητικό Συμβούλιο	Administrative board	3
Οργανωτική Επιτροπή	Organizing Committee	4
Χορηγοί	Sponsors	5
Πληροφορίες	General Information	6
Επιστημονικό Πρόγραμμα	Scientific Programm	9
Κατάταξη αναρτημένων εργασιών	List of Posters	17
Περιλήψεις	Abstracts	21
Συμμετέχοντες	Author Index	118



Διοικητικό Συμβούλιο

Governing Board

Πρόεδρος: Δ. Καραγωγέως

President: D. Karagogeos

Γραμματέας: Σ. Ευθυμιόπουλος

Secretary: S. Efthimiopoulos

Ταμίας: Κ. Παπαθεοδωρόπουλος

Treasurer: K. Papatheodoropoulos

Μέλη: Ρ. Μάτσα
Κ. Ψαρροπούλου

Members: R. Matsas
C. Psarropoulou

Αναπλ. Μέλη: Ε. Σκαλιόρα
Α. Σταματάκης
Α. Τσιγκοτζίδου

**Substitute
Members:** I. Skaliora
A. Stamatakis
A. Tsigontjidou



Οργανωτική Επιτροπή

Πρόεδρος

Η. Γεωργούση

Μέλη

Κ. Αντωνίου

Δ. Βασιλακόπουλου

Α. Γαβαλάς

Μ. Γρηγορίου

Σ. Ευθυμιόπουλος

Μ. Θωμαΐδου

Α. Μητσάκου

Γ. Παναγής

Κ. Παπαθεοδωρόπουλος

Ε. Σκαλιόρα

Α. Σταματάκης

Τ. Τσιγκοτζίδου

Organizing Comittee

Chair

I. Georgoussi

Members

K. Antoniou

D. Vassilacopoulou

A. Gavalas

M. Grigoriou

S. Efthimiopoulos

M. Thomaidou

A. Mitsakos

G. Panagis

K. Papatheodoropoulos

I. Skaliora

A. Stamatakis

A. Tsigontjidou



ΧΟΡΗΓΟΙ

SPONSORS

BIOANALYTICA

BIOANALYTICA

BIOLINE

BIOLINE

BIOSURE

BIOSURE

ΕΚΕΦΕ «ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ»

N.S.C.R "DEMOKRITOS"

ΕΚΔΟΣΕΙΣ ΠΑΣΧΑΛΙΔΗ

PASCHALIDES PUBLISHING

COMPANY

ELPEN AE

ELPEN AE

ΚΝΤ-ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ

ΚΝΤ-BIOLOGIKI

LAB SUPPLIES

LAB SUPPLIES

UCB

UCB



ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Ηρώ Γεωργούση, PhD
Tel.: +30 210 6503564, 30210 6503586
Fax: ++ 30 210 6511767
E-mail: iro@bio.demokritos.gr

ΧΩΡΟΣ ΔΙΕΞΑΓΩΓΗΣ ΔΙΗΜΕΡΙΔΑΣ ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ ΝΕΥΡΟΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

Κεντρικό Αμφιθέατρο του Εθνικού Κέντρου Έρευνας Φυσικών Επιστημών «Δημόκριτος», Τέρμα Πατριάρχου Γρηγορίου Ε', Αγ. Παρασκευή-Αττικής

ΠΩΣ ΘΑ ΕΡΘΕΤΕ ΣΤΟ ΕΚΕΦΕ «ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ»

Συγκοινωνία

1. Κατεβαίνετε στο σταθμό Νομισματοκοπείο της γραμμής 3 του Μετρό και κατευθύνεστε στην έξοδο προς Κονδυλάκη.
2. Στη στάση λεωφορείων που βρίσκεται δίπλα στην έξοδο του μετρό επιβιβάζεστε στο Β5 ή 407.
3. Αποβιβάζεστε στη στάση 4η Αγ. Παρασκευής η οποία βρίσκεται 50m από την πύλη του Δημόκριτου.

Με αυτοκίνητο

Για πληροφορίες επισκεφθείτε την ιστοσελίδα:
<http://www.demokritos.gr/Contents.aspx?CatId=28>

Parking

Υπάρχει αρκετός διαθέσιμος χώρος για ελεύθερο parking στον «Δημόκριτο»

ΕΓΓΡΑΦΗ

Εγγραφές θα γίνονταστο χώρο της Διημερίδας και τις δύο μέρες (9:00-16:00)

Το κόστος της εγγραφής της διημερίδας ανέρχεται:

Κανονικά μέλη	30 Ευρώ
Φοιτητές	ελεύθερη
Μη-μέλη	35 Ευρώ

ΒΡΑΒΕΙΑ

Ακολουθώντας την παράδοση της εταιρείας έτσι και φέτος θα βραβευτούν εργασίες και θα δοθούν επιχορηγήσεις που θα καλύψουν τη συμμετοχή στο 23ο Διεθνές Συμπόσιο Νευροχημείας στην Αθήνα τον Αύγουστο του 2011 (<http://www.isn2011.org/>).



ΠΡΟΦΟΡΙΚΕΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΕΙΣ

Οι προφορικές παρουσιάσεις πρέπει να προσκομισθούν ως αρχεία powerpoint σε CD ή USB flash τουλάχιστον 30 λεπτά πριν την έναρξη της κάθε συνεδρίας. Οι ομιλητές μπορούν επίσης να χρησιμοποιούν και τους δικούς τους υπολογιστές. Όλοι οι ομιλητές πρέπει να σεβαστούν την προκαθορισμένη διάρκεια της ομιλίας τους (15 min) και να αφήσουν χρόνο (3 λεπτά τουλάχιστον) για ερωτήσεις.

ΑΝΑΡΤΗΜΕΝΕΣ ΕΡΓΑΣΙΕΣ

Οι αναρτημένες εργασίες ταξινομούνται σε δυο ενότητες P1 (Π1-23) και P2 (Π24-44), θα αναρτηθούν όλες στην αρχή της διημερίδας και θα παραμείνουν αναρτημένες καθόλη τη διάρκεια της διημερίδας. Οι υπεύθυνοι της ενότητας P1, οφείλουν να βρίσκονται μπροστά στο ποστερ τους την πρώτη μέρα και της P2, τη δεύτερη σε όλη τη διάρκεια του χρόνου παρουσίασης. Η γλώσσα των αναρτημένων εργασιών θα είναι η αγγλική και το μέγεθός τους δεν θα πρέπει να ξεπερνάει τα 130 εκ. (πλάτος) x 100 εκ. (ύψος).

GENERAL INFORMATION

CONTACT INFORMATION

Zafiroula (Iro) Georgoussi, PhD

Tel.: +30 210 6503564, 30210 6503586

Fax: ++ 30 210 6511767

E-mail: iro@bio.demokritos.gr

VENUE OF NEUROSCIENCE DAYS OF THE HELLENIC SOCIETY FOR NEUROSCIENCE

The Neuroscience days of the Hellenic Society for Neuroscience will take place at the Central Amphitheatre of the National Centre for Scientific Research "Demokritos"

The National Centre for Scientific Research "Demokritos" is located at: Terma Patriarchou Gregorion & Neapoleos Street, 153 10 Ag. Paraskevi Attikis

HOW TO GET TO THE NATIONAL CENTRE FOR SCIENTIFIC RESEARCH "DEMOKRITOS"

Public transportation

1. Leave the station **Nomismatokopecio** of line 3 of the subway and head for the exit **Kondilaki**.



2. From the bus stop next to the exit of the subway take the bus **B5** or **407**.
3. Get off at the **4th bus-station of Ag. Paraskevi** which is located 50m from the gate of Demokritos.

By car

For information please visit:

<http://www.demokritos.gr/Contents.aspx?CatId=28>

Parking

The National Centre for Scientific Research “Demokritos” has plenty of parking spaces in designed areas

REGISTRATION

The registration fee is shown in the table below and can be paid on site:

Registration fee for regular members	30 euro
Registration fee for students	0 euro
Registration fee for non-members	35 euro

AWARDS

Following the tradition of our meetings a number of awards will be given to cover the registration expenses for the 23d Biennial Meeting of the International Society for Neurochemistry held in August 2011 (<http://www.isn2011.org/>).

ORAL PRESENTATIONS

All oral presentations (15 min) should be PowerPoint files in a CD or a USB flash to the meeting staff at least 30 minutes prior to the relevant session. Speakers may also use their own laptops especially if animation is included in the presentation. All speakers should take care not to exceed the total duration of their talk, as shown in the program. In addition, they should leave at least 3 minutes of the total duration of their presentation for discussion.

POSTER PRESENTATIONS

All posters will be set up the first day and stay for the whole duration of the meeting. Posters are divided in two sessions P1 (posters 1-23) and P2 (24-44). Poster presenters of P1 have to be in front of their posters the first day and P2 the second for oral presentations. The poster presentations will be in English and their dimensions should not exceed 130 cm (width) x 100 cm (height).

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ

ΔΙΗΜΕΡΙΔΑ ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ ΝΕΥΡΟΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ, 1 ^η ΟΚΤΩΒΡΙΟΥ, 2010	
13:00	ΕΓΓΡΑΦΕΣ
14:00	Καλωσόρισμα Διημερίδας Ηρώ Γεωργούση, Δόμνα Καραγωγέως
ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΟΥ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ: ΑΠΟ ΕΜΒΡΥΚΑ ΒΛΑΣΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΜΕΧΡΙ ΤΗ ΓΗΡΑΝΣΗ ΠΡΟΕΔΡΕΙΟ: Μ. Γρηγορίου, Μ. Θωμαΐδου, Σ. Ταραβήρας	
14:15	Directing Astroglia from the Cerebral Cortex into Subtype Specific Functional Neurons C. Heinrich, R. Blum, S. Gascón, G. Masserdotti, P. Tripathi, R. Sánchez, S. Tiedt, T. Schroeder, M. Götz, B. Berninger Department of Physiological Genomics, Institute of Physiology, LMU München, Munich, Germany
14:30	The role of Lhx6 in the development of GABAergic interneuron subtypes A. Achimastou , M. Denaxa, P. Liodis, V. Pachnis Division of Molecular Neurobiology, National Institute for Medical Research, The Ridgeway, Mill Hill, London
14:45	Ο μεταγραφικός παράγοντας Prox1 καταστέλλει την έκφραση του Notch1 και ρυθμίζει τη νευρογένεση στο νωτιαίο μυελό Μ. Οικονομάκη¹ , Β. Καλτεζιώτη ¹ , Ε. Μαντούβαλου ¹ , Η. Rohrer ² , Α. Χαρώνης ¹ , Π. Πολίτης ¹ ¹ Κέντρο Βασικής Έρευνας, Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών Ακαδημίας Αθηνών ² Dept of Neurochemistry, Max-Planck Institute for Brain Research, Frankfurt, Germany
15:00	Η έκφραση, με τη βοήθεια λεντι-ϊικού φορέα, του ινσουλινοειδούς παράγοντα Ι προάγει τον πολλαπλασιασμό των νευρικών βλαστοκυττάρων και ενισχύει το νευρογενετικό δυναμικό τους Γ. Κουρούπη¹ , Α.Α. Λάβδας ¹ , Μ. Γαϊτάνου ¹ , Δ. Θωμαΐδου ¹ , Φ. Στυλιανοπούλου ² , Ρ. Μάτσα ¹ ¹ Εργαστήριο Κυτταρικής και Μοριακής Νευροβιολογίας, Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ, Αθήνα ² Εργαστήριο Βιολογίας-Βιοχημείας, Νοσηλευτική Σχολή, Τομέας Βασικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Αθηνών
15:15	Η Geminin ρυθμίζει την αυτο-ανανέωση και διαφοροποίηση των νευρικών προγονικών κυττάρων Μ. Σπέλλα¹ , Χ. Κυρούση ¹ , Ε. Κρητικού ¹ , Ζ. Λυγερού ² , Σ. Ταραβήρας ¹ ¹ Εργαστήριο Φυσιολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα ² Εργαστήριο Γενικής Βιολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα
15:30	Αναζητώντας τα μοριακά μονοπάτια που οδηγούν στην αναγέννηση του τελεγκεφάλου του zebrafish N. Kyritsis , C. Kizil, D. Freudenreich, V. Kroehne, J. Kaslin, S. Hans, M. Brand DFG- Center for Regenerative Therapies Dresden, Cluster of Excellence/TU Dresden, Dresden

15:45	<p>Νευρογένεση στον ενήλικο εγκέφαλο. Η κοινωνική ζωή ενός νευροβλαστικού κυττάρου: εργάτης ή κηφήνας; <u>Η. Καζάνης</u>¹, T. Vadakkan², M. Dickinson², C. Constant³, M. Modo⁴ ¹Department of Pathology and Department of Veterinary Medicine, Univesrity of Cambridge, UK ²Baylor College of Medicine, Houston, Texas, USA ³MRC Centre for Regenerative Medicine, University of Edinburgh, UK ⁴Institute of Psychiatry, Kings College London, UK</p>
16:00	Συζήτηση
16:30	Διάλειμμα-Καφές
17:00	Αναρτημένες Ανακοινώσεις P1 (1-23)
<p>ΚΥΡΙΑ ΟΜΙΛΙΑ ΠΡΟΕΔΡΕΙΟ: Η. Γεωργούση, Δ. Καραγωγέως</p>	
18:30	<p>Developmental signaling pathways in neuronal connectivity and associated diseases Βάσω Επισκόπου MRC Clinical Sciences Centre, Imperial College, Faculty of Medicine, UK</p>
20:00	ΔΕΞΙΩΣΗ ΥΠΟΔΟΧΗΣ
<p>ΣΑΒΒΑΤΟ, 1^η ΟΚΤΩΒΡΙΟΥ, 2010</p>	
<p>ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΤΟΥ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΣΥΝΑΠΤΙΚΗ ΝΕΥΡΟΔΙΑΒΙΒΑΣΗ-ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗ ΠΡΟΕΔΡΕΙΟ: Δ. Βασιλακόπουλου, Σ. Ευθυμιόπουλος, Λ. Στεφανής</p>	
9:30	<p>Ταυτοποίηση ενός νέου μέλους της οικογένειας DnaJC που προκαλεί νευρομυϊκή ασθένεια στο ποντίκι <u>Φ. Ιωακειμίδης</u>, Β. Ρηνώτας, Ε. Μακρινού, Γ. Κόλλιας, Ε. Ντούνη Ερευνητικό Κέντρο Βιοϊατρικών Ερευνών «Αλέξανδρος Φλέμιγκ», Αθήνα</p>
9:45	<p>Η παθογενετικότητα της πρωτεΐνης tau εξαρτάται από τα επίπεδα συσσώρευσης των πρωτεϊνών 14-3-3 στους νευρώνες της Δροσόφιλας <u>Κ. Παπανικολοπούλου</u>, Σ. Γραμμενούδη, Ε. Σκουλάκης Ερευνητικό Κέντρο Βιοϊατρικών Επιστημών «Αλέξανδρος Φλέμιγκ», Αθήνα</p>
10:00	<p>Νευροπροστατευτική Δράση των Συστατικών του <i>Crocus sativus</i>* <u>Μ.Α. Παπανδρέου</u>¹, Μ. Τσαχάκη², Σ. Ευθυμιόπουλος², Π. Κορδοπάτης³, Φ.Ν. Λάμαρη³, Μ. Μαργαρίτη¹ ¹Εργ. Φυσιολογίας Ανθρώπου & Ζώων, Τμ. Βιολογίας, Παν. Πατρών ²Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμ. Βιολογίας, Παν. Αθηνών ³Εργ. Φαρμακογνωσίας & Χημείας Φυσικών Προϊόντων, Τμ. Φαρμακευτικής, Παν/μιο Πατρών</p>
10:15	<p>Η δεϋδροεπιανδροστερόνη και ο νευρικός αυξητικός παράγοντας προστατεύουν τον αμφιβληστροειδή από διεγερτοτοξικότητα <u>Δ. Κοκονά</u>, Ι. Χαραλαμπίδης, Α. Γραβάνης, Κ. Θεομού Εργαστήριο Φαρμακολογίας, Τομέας Βασικών Επιστημών, Ιατρικό Τμήμα Πανεπιστημίου Κρήτης, Ηράκλειο, Κρήτη</p>
10:30	<p>Επιτάχυνση της επαναμυελίνωσης σε μυς με έλλειψη της πολυσαλυλοτρανσφεράσης St8siaIV μετά από απομυελίνωση με cuprizone <u>Π.Ν. Κουτσουδάκη</u>^{1,2}, Η. Hildebrandt^{2,3}, V. Gudi^{1,2}, T. Skripuletz¹, J. Škuljec^{1,2}, M. Stangel^{1,2} ¹Τμήμα Νευρολογίας και ³ Τμήμα Κυτταρικής Χημείας, Ιατρική Σχολή Ανόβερου, Γερμανία</p>

	<p>²Κέντρο Συστημικής Νευροεπιστήμης, Ανόβερο, Γερμανία</p>
10:45	<p>Μελέτη της δράσης της ισχαιμίας, υποξίας, υπογλυκαιμία και υπεργλυκαιμίας στη διεγερτική και ανασταλτική νευροδιαβίβαση του αμφιβληστροειδούς αρουραίου <u>Ε. Παπαγεωργίου</u>, Β. Γρίβας, Β. Σούρας, Α. Βασιλάκη Εργαστήριο Φαρμακολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα</p>
11:00	<p>Διάλειμμα-Καφές</p>
<p>ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΤΟΥ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΣΥΝΑΙΠΤΙΚΗ ΝΕΥΡΟΔΙΑΒΙΒΑΣΗ-ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗ ΠΡΟΕΔΡΕΙΟ: Α. Μητσάκου, Ε. Σκαλιόρα, Α. Τσιγκοτζίδου</p>	
11:15	<p>Η Δροσοφιλική κινάση του αναπλαστικού λεμφώματος ελέγχει την εξαρτώμενη από την Νευροϊνωμίνη ανάπτυξη και συνειρμική μάθηση <u>Α. Μωρέσης</u>, J.Y. Gouzi, Α. Αποστολοπούλου, Ε. Σκουλάκης Ινστιτούτο Κυτταρικής και Αναπτυξιακής Βιολογίας, ΕΚΕΒΕ «Αλέξανδρος Φλέμιγκ», Αθήνα</p>
11:30	<p>Ο τύπος της φαρμακοθεραπείας με κορτικοστεροειδή έχει διαφορετική επίδραση στην ενεργότητα των βασοπρεσινικών νευρώνων στον υποθάλαμο του ανθρώπου <u>Ι. Μαλιδέλης</u>^{1,2}, Μ. Παναγιωτακοπούλου^{1,2}, Μ. Παγίδα¹, J. van Heerikhuizen², D. Swaab² ¹Ψυχιατρική Κλινική και Ερευνητικό Πανεπιστημιακό Ίδρυμα Ψυχικής Υγιεινής Πανεπιστημίου Αθηνών ²Ινστιτούτο Νευροεπιστημών Ολλανδίας, Άμστερνταμ</p>
11:45	<p>Μουσκαρινικές δράσεις στις αυθόρμητες NMDA-εξαρτώμενες εκφορτίσεις σε τομές διαφραγματικού και κροταφικού ιπποκάμπου, και ρύθμισή τους από μια κρίση κατά την ανάπτυξη <u>Α.Β. Μικρούλης</u>, Κ. Ψαρροπούλου Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών & Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων</p>
12:00	<p>Λειτουργική έκφραση και χαρακτηρισμός του ανθρώπινου υποδοχέα υδροξυ-τρυπταμίνης τύπου 4a σε κύτταρα εντόμων <u>Π. Τσίτουρα</u>, Α. Λιούπης, L. Swevers, Ζ. Γεωργούση¹, Κ. Ιατρού Εργαστήριο Μοριακής Γενετικής Εντόμων και Βιοτεχνολογίας και ¹Εργαστήριο Κυτταρικής Σηματοδότησης και Μοριακής Φαρμακολογίας Ινστιτούτο Βιολογίας, ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος», Αθήνα</p>
12:15	<p>Δυο εξωκυττάρια αμινοξέα του CRF₁ πολύ πιθανόν ενεργούν σαν μοριακοί διακόπτες που ρυθμίζουν διαφορετικές σηματοδοτικές οδούς μετά από αλληλεπίδραση τους με διαφορετικούς προσδέτες <u>Κ. Γκουντέλιας</u>, Μ. Γεωργιάδου, Α. Γραβάνης, Γ. Λιαπάκης Εργαστήριο Φαρμακολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Κρήτης</p>
12:30	<p>«In vitro» και «in vivo» μελέτη της αλληλεπίδρασης των D1 υποδοχέων ντοπαμίνης με τους NMDA υποδοχείς γλουταμινικού οξέος στον ιππόκαμπο και στον προμετωπιαίο φλοιό επίμοιος: Συμμετοχή του σηματοδοτικού μονοπατιού της ERK1/2 κινάσης <u>Κ. Σαράντης</u>¹, Ε. Τσιαμάκη¹, Κ. Αντωνίου², Ν. Ματσώκης³, Φ. Αγγελάτου¹ ¹Εργαστήριο Φυσιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών ²Τμήμα Φαρμακολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων ³Εργαστήριο Φυσιολογίας Ανθρώπου και Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Παν. Πατρών</p>
12:45	<p>Συζήτηση</p>

13:15	Αναρτημένες Ανακοινώσεις P2 (24-44) και ΕΛΑΦΡΥ ΓΕΥΜΑ
ΝΕΥΡΟΕΠΙΣΤΗΜΗ ΤΗΣ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑΣ: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΑΠΟ ΤΗ ΒΑΣΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ ΚΑΙ ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΠΡΟΕΚΤΑΣΕΙΣ ΠΡΟΕΔΡΕΙΟ: Κ. Αντωνίου, Χ. Δάλλα, Ν. Πιτσίκας	
15:00	Η διερεύνηση των γνωσιακών ελλειμμάτων του Συνδρόμου Εύθραστου Χ στη <i>Drosophila melanogaster</i> Α. Κ. Κανελλόπουλος , Ε. Σκουλάκης Ινστιτούτο Κυτταρικής και Αναπτυξιακής Βιολογίας, ΕΚΕΒΕ «Αλ. Φλέμινγκ», Αθήνα
15:15	Διαφορετικές επιδράσεις αναισθητικών δόσεων κεταμίνης επί της αναγνωριστική μνήμη επίμυων. Λειτουργική αλληλεπίδραση με το μονοξείδιο του αζώτου Α. Μπουλταδάκης , Ν. Πιτσίκας Εργαστήριο Φαρμακολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα
15:30	Επιδράσεις σταθεροποιητικών της διάθεσης σ' ένα ζωικό πρότυπο ευφορικής μανίας: Προεκτάσεις στη διαλεύκανση της νευροβιολογίας και στην προαγωγή της φαρμακοθεραπείας της διπολικής διαταραχής Μ. Μανρικιάκη ¹ , Γ.Γ. Νομικός ² , Γ. Παναγιής ¹ ¹ Εργαστήριο Νευροεπιστημών και Συμπεριφοράς, Τμήμα Ψυχολογίας, Παν/μιο Κρήτης, Ρέθυμνο ² Takeda Global Research & Development Center, Inc., Deerfield, Illinois, USA
15:45	Οι CB1 υποδοχείς των κανναβινοειδών εμπλέκονται στο συμπεριφορικό και νευροχημικό προφίλ της αμφεταμίνης Α. Πολυσιδή ^{1,2} , Α. Γαλανόπουλος ^{1,2} , Χ. Κωστούλα ¹ , Α. Μέμου ¹ , Ε. Καρούκα ¹ , Ζ. Παπαδοπούλου-Νταϊφώτη ² , Κ. Αντωνίου ¹ ¹ Εργαστήριο Φαρμακολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, ² Εργαστήριο Φαρμακολογίας, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών
16:00	Ο ρόλος των πρώιμων εμπειριών ματαίωσης και ανταμοιβής στο δίπολο ευπάθειας/πλαστικότητας: η εφαρμογή του yin-yang στη λειτουργία του εγκεφάλου Α. Διαμαντοπούλου ¹ , Α. Σταματάκης ¹ , Α. Ραφτογιάννη ¹ , M.S Oitzl ² , Φ. Στυλιανοπούλου ¹ ¹ Εργαστήριο Βιολογίας-Βιοχημείας, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Αθηνών ² Τομέας Ιατρικής Φαρμακολογίας, Gorlaeus Laboratoria, LACDR/LUMC, Παν. Leiden, Ολλανδία
16:15	Μεταβλητότητα του χρόνου αντίδρασης στην Σχιζοφρένεια Θ. Καραντινός ¹ , Ν. Κ. Στεφανής ^{1,3} , Ι. Χατζημανώλης ¹ , Ι. Ευδοκιμίδης ² , Ν. Σμυρνής ^{1,2} ¹ Ψυχιατρική Κλινική, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αιγινήτειο Νοσοκομείο, Αθήνα ² Μονάδα Γνωσιακής Νευροφυσιολογίας, Νευρολογική Κλινική, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αιγινήτειο Νοσοκομείο, Αθήνα ³ Ερευνητικό Πανεπιστημιακό Ινστιτούτο Ψυχικής Υγιεινής, Αθήνα
16:30	Συζήτηση
17:00	Γενική Συνέλευση
18:30	ΚΛΕΙΣΙΜΟ ΔΙΗΜΕΡΙΔΑΣ

PROGRAMM

NEUROSCIENCE DAYS OF THE HELLENIC SOCIETY FOR NEUROSCIENCE

FRIDAY, OCTOBER 1, 2010	
13:00	REGISTRATION
14:00	Welcome note Iro Georgoussi, Domna Karagogeos
NERVOUS SYSTEM DEVELOPMENT: FROM EMBRYONIC STEM CELLS TO AGEING	
CHAIRS: M. Grigoriou, S. Taraviras, M. Thomaidou	
14:15	Directing Astroglia from the Cerebral Cortex into Subtype Specific Functional Neurons C. Heinrich, R. Blum, S. Gascón, G. Masserdotti, P. Tripathi, R. Sánchez, S. Tiedt, T. Schroeder, M. Götz, B. Berninger Department of Physiological Genomics, Institute of Physiology, LMU München, Munich, Germany
14:30	The role of Lhx6 in the development of GABAergic interneuron subtypes A. Achimastou , M. Denaxa, P. Liodis, V. Pachnis Division of Molecular Neurobiology, National Institute for Medical Research, The Ridgeway, Mill Hill, London
14:45	Prox1 suppresses Notch1 gene expression to regulate neurogenesis in the spinal cord M. Oikonomaki ¹ , V. Kaltezioti ¹ , E. Mantouvalou ¹ , H. Rohrer ² , A. Charonis ¹ , P. Politis ¹ ¹ Center for Basic Research, Biomedical Research Foundation of the Academy of Athens, Athens ² Dept of Neurochemistry, Max-Planck Institute for Brain Research, Frankfurt, Germany
15:00	Lentivirus-mediated expression of insulin-like growth factor-I promotes neural stem/precursor cell proliferation and enhances their potential to generate neurons G. Kouroupi ¹ , A.A. Lavdas ¹ , M. Gaitanou ¹ , D. Thomaidou ¹ , F. Stylianopoulou ² , R. Matsas ^{1*} ¹ Laboratory of Cellular and Molecular Neurobiology, Hellenic Pasteur Institute, Athens, ² Biology-Biochemistry Laboratory, Department of Basic Sciences, Faculty of Nursing, University of Athens
15:15	Geminin represents a new regulator of cortical neural progenitor self-renewal and differentiation M. Spella ¹ , C. Kyrousi ¹ , E. Kritikou ¹ , Z. Lygerou ² , S. Taraviras ¹ ¹ Department of Physiology, Medical School, University of Patras, Patras ² Department of General Biology, Medical School, University of Patras, Patras
15:30	Exploring the molecular cues driving regeneration in adult zebrafish telencephalon N. Kyritsis , C. Kizil, D. Freudenreich, V. Kroehne, J. Kaslin, S. Hans, M. Brand DFG- Center for Regenerative Therapies Dresden, Cluster of Excellence/TU Dresden, Dresden
15:45	Neurogenesis in the adult brain. The social life of the neural stem cell: builder or sleeper? I. Kazanis ¹ , T. Vadakkan ² , M. Dickinson ² , C. Constant ³ , M. Modo ⁴ ¹ Department of Pathology and Department of Veterinary Medicine, Univesrity of Cambridge, UK

	² Baylor College of Medicine, Houston, Texas, USA ³ MRC Centre for Regenerative Medicine, University of Edinburgh, UK ⁴ Institute of Psychiatry, Kings College London, UK
16:00	Discussion
16:30	Coffee break
17:00	Poster Session P1 (1-23)
PLENARY LECTURE	
CHAIRS: I. Georgoussi, D. Karagozeos	
18:30	Developmental signaling pathways in neuronal connectivity and associated diseases Vaso Episkopou MRC Clinical Sciences Centre, Imperial College, Faculty of Medicine, UK
20:00	WELCOME RECEPTION
SATURDAY, OCTOBER 2, 2010	
DISORDERS OF THE NERVOUS SYSTEM	
NEUROTRANSMISSION-SIGNALLING	
CHAIRS: S. Efthimiopoulos, L. Stefanis, D. Vassilacopoulou	
9:30	Identification of a novel member of the DnaJC family that causes neuromuscular disease in mice F. Ioakeimidis , V. Rinotas, E. Makrinou, G. Kollias, E. Douni Biomedical Sciences Research Center "Alexander Fleming", Vari, Athens
9:45	Tau accumulation and its phenotypic consequences depend on the abundance of 14-3-3 Isoforms K. Papanikolopoulos , S. Grammenoudi, E. Skoulakis BSRC Alexander Fleming, Vari, Athens
10:00	Neuroprotective Effects of <i>Crocus sativus</i>' Constituents M.A. Papandreou ¹ , M. Tsachaki ² , S. Efthimiopoulos ² , P. Cordopatis ³ , F.N. Lamari ³ , M. Margarity ¹ ¹ Lab. Human & Animal Physiology, Dep. Biology, Univ. Patras ² Div. Animal & Human Physiology, Dep. Biology, Univ. Athens ³ Lab. Pharmacognosy & Chemistry. of Natural Products, Dep. Pharmacy, Univ. of Patras
10:15	DHEA mimics NGF neuroprotective effects against retinal AMPA excitotoxicity <i>in vivo</i> D. Kokona , I. Charalampopoulos, A. Gravanis, K. Thermos University of Crete, Faculty of Medicine, Department of Basic Sciences, Laboratory of Pharmacology, Heraklion, Crete
10:30	Remyelination after cuprizone-induced demyelination is accelerated in mice deficient in St8sialIV polysialyltransferase P.N. Koutsoudaki ^{1,2} , H. Hildebrandt ^{2,3} , V. Gudi ^{1,2} , T. Skripuletz ¹ , J. Škuljec ^{1,2} , M. Stangel ^{1,2} ¹ Department of Neurology and ³ Department of Cellular Chemistry, Hannover Medical School, Germany ² Center for Systems Neuroscience, Hannover, Germany
10:45	Differential effects of ischemia, hypoxia, hypoglycaemia and hyperglycaemia on rat retinal excitatory and inhibitory neurotransmission E. Papageorgiou , V. Grivas, V. Sourlas, A. Vasilaki Lab of Pharmacology, Faculty of Medicine, University of Thessaly, Larissa

11:00	Coffee break
DISORDERS OF THE NERVOUS SYSTEM NEUROTRANSMISSION-SIGNALLING CHAIRS: A. Mitsakos, I. Skaliora, A. Tsigontjidou	
11:15	The <i>Drosophila</i> anaplastic lymphoma kinase controls neurofibromin-dependent growth and associative learning <u>A. Moressis</u> , J.Y. Gouzi, A. Apostolopoulou, E. Skoulakis Institute of Cellular and Developmental Biology, BSRC "Alexander Fleming", Athens
11:30	The type of corticosteroid medication differentially influences the activity of vasopressinergic neurons in the human hypothalamus <u>Y. Malidelis</u> ^{1,2} , M. Panayotacopoulou ^{1,2} , M. Pagida ¹ , J. van Heerikhuizen ² , D. Swaab ² ¹ Department of Psychiatry, University Research Institute of Mental Health, Athens ² Netherlands Institute for Neurosciences, Amsterdam
11:45	Comparison of muscarinic effects on NMDA-dependent spontaneous epileptiform discharges in septal and temporal rat hippocampal slices, and its modulation following a pentylenetetrazol-induced convulsion during development <u>A.V. Mikroulis</u> , C. Psarropoulou Lab. of Animal & Human Physiology, Dept. of Biological Applications & Technologies, University of Ioannina
12:00	Functional expression and characterization of the human 5-hydroxytryptamine 4a receptor in insect cells <u>P. Tsitoura</u> , A. Lioupis, L. Swevers, Z. Georgoussi ¹ , K. Iatrou Insect Molecular Genetics and Biotechnology Group and ¹ Cellular Signaling and Molecular Pharmacology group Institute of Biology, N.C.S.R. «Demokritos», Athens
12:15	Two extracellular residues of CRF₁ most likely act as molecular switches to regulate distinct signalling pathways after their interaction with different ligands <u>K. Gkoutelias</u> , M. Georgiadou, A. Gravanis, G. Liapakis Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, University of Crete
12:30	«In vitro» and «in vivo» studies of dopamine D1/ NMDA receptor interaction in rat hippocampus and prefrontal cortex: Involvement of ERK1/2 signalling <u>K. Sarantis</u> ¹ , E. Tsiamaki ¹ , K. Antoniou ² , N. Matsokis ³ , F. Angelatou ¹ ¹ Physiology Department, Medical School, University of Patras ² Department of Pharmacology, Medical School, University of Ioannina ³ Laboratory of Animal and Human Physiology, Department of Biology, University of Patras
12:45	Discussion
13:15	Poster session P2 (24-44) and light lunch
BEHAVIORAL NEUROSCIENCE: FROM BASIC RESEARCH TO CLINICAL APPLICATIONS CHAIRS: K. Antoniou, C. Dalla, N. Pitsikas	
15:00	Modelling cognitive deficits of Fragile X Syndrome in <i>Drosophila melanogaster</i> <u>A.K. Kanellopoulos</u> , E.M.C. Skoulakis Institute of Cellular and Developmental Biology, B.S.R.C. "Al. Fleming", Vari, Athens
15:15	Differential effects of pre and post-training administration of anesthetic ketamine on rat's recognition memory. Functional interaction with the nitergic system <u>A. Bouladakis</u> , N. Pitsikas Department of Pharmacology, School of Medicine, University of Thessaly, Larissa



15:30	<p>Effects of mood stabilizers in an animal model of euphoric mania: Implications for understanding the neurobiology and advancing the pharmacotherapy of bipolar disorder</p> <p>M. Mavrikaki¹, G.G. Nomikos², G. Panagis¹</p> <p>¹Laboratory of Behavioral Neuroscience, Department of Psychology, University of Crete, Rethymno</p> <p>²Takeda Global Research & Development Center, Inc., Deerfield, Illinois, USA</p>
15:45	<p>Motor activity stimulation and dopamine and glutamate alterations induced by amphetamine are regulated by CB1 antagonism.</p> <p>A. Polissidis^{1,2}, A. Galanopoulos^{1,2}, C. Kostoula¹, A. Memou¹, E. Karyka¹, Z. Papadopoulou-Daifoti², K. Antoniou¹</p> <p>¹Dept Pharmacology, Medical School, University of Ioannina, Ioannina, Greece</p> <p>²Dept Pharmacology, Medical School, University of Athens, Athens, Greece</p>
16:00	<p>Rewarding and frustrating experience early in life: Vulnerability vs plasticity, for better or for worse?</p> <p>A. Diamantopoulou¹, A. Stamatakis¹, A. Raftogianni¹, M.S. Oitzl², F. Stylianopoulou¹</p> <p>¹Biology-Biochemistry Laboratory, School of Health Sciences, University of Athens,</p> <p>²Division of Medical Pharmacology, Gorlaeus Laboratoria, LACDR/LUMC, Division of Medical Pharmacology, Leiden University, The Netherlands</p>
16:15	<p>Reaction Time variability in Schizophrenia</p> <p>T. Karantinos¹, N.C. Stefanis^{1,3}, J. Hatzimanolis¹, I. Evdokimidis², N. Smyrnis^{1,2}</p> <p>¹1st Psychiatry Department, National and Kapodistrian University of Athens, Eginition Hospital, Athens</p> <p>²Cognition and Action Group, Neurology Department, National and Kapodistrian University of Athens, Eginition Hospital, Athens</p> <p>³University Mental Health Research Institute, Athens</p>
16:30	Discussion
17:00	GENERAL ASSEMBLY OF THE MEMBERS OF THE HSN
18:30	CLOSING REMARKS

LIST OF POSTER PRESENTATIONS

(All posters should be up the first day and removed at the end of the meeting. Authors of session P1 (1-23) will be presenting their posters on the first day while those of session P2 (24-44) on the second)

SESSION P1

ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΟΥ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ: ΑΠΟ ΕΜΒΡΥΙΚΑ ΒΛΑΣΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΜΕΧΡΙ ΤΗΝ ΓΗΡΑΝΣΗ

NERVOUS SYSTEM DEVELOPMENT: FROM EMBRYONIC STEM CELLS TO AGEING

1. **SOX1 maintains the undifferentiated state of cortical neural progenitor cells via the suppression of PROX1-mediated cell cycle exit and neurogenesis**
M. Elkouris¹, N. Balaskas, M. Poulou, P. K. Politis, E. Panayiotou, S. Malas, D. Thomaidou, V. Episkopou, E. Remboutsika
2. **External granule cell proliferation pattern underlies folia formation of embryonic chick cerebellum**
V. Kommata, C.R Dermon
3. **Effects of age on pyramidal neuron morphology in a mouse model of accelerated cognitive aging**
E.Konsolaki, I. Skaliora
4. **Neurosteroids act as positive modulators of axonal elongation/maintenance and *in vivo* myelination through the activation of Neurotrophin receptors**
I. Lazaridis, P. Efstathopoulos, I. Pediaditakis, I. Charalampopoulos, A. Gravanis
5. **Adult brain cell proliferation is down regulated by estradiol in the female zebrafish (*Danio rerio*)**
P. Makantasi, C. R Dermon
6. **The role of TAG-1 cell adhesion molecule in the development of olfactory system**
G. Bastakis, M. Savvaki, M. Xemerakis, M. Mavrikaki, D. Karagozeos
7. **Sex differences in the influence of environmental enrichment in the developing visual system**
D. P. Bessinis, C. Dalla, P. M. Pitychoutis, A. Tiligada, Z. Papadopoulou-Daifoti
8. **Region-specific and age-dependent regulation of ERK1 and ERK2 kinases: possible functional implications for cortical development and plasticity**
M. Sergaki, D. Paouneskou, M. Zeriti, E. Konsolaki, S.Landi, G. Ratto, I. Skaliora
9. **DRG explants onto biofunctionalized electrospun polymeric fibers as a first step in the direction of nerve regeneration**
C. Simitzis, K. Klinkhammer, J. Bockelmann, J. Mey, D. Klee
10. **Investigating the role of Geminin in enteric neural crest cells**



A. Stathopoulou, D. Natarajan, M. Spella, D. Karamitros, Z. Lygerou V., Pachnis S. Taraviras

11. **Role of the orphan nuclear receptor NR5A2 in central nervous system development**

A. Stergiopoulos, P. Politis

12. **Proteomics reveal that CEND1/BM88 interacts with cytoskeletal elements and calcium binding proteins.**

K. Tsioras, M. Gaitanou, K. Vougas, A. Papadopoulou, G. Tsangaris, R. Matsas

ΣΥΝΑΠΤΙΚΗ ΝΕΥΡΟΔΙΑΒΙΒΑΣΗ-ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗ

NEUROTRANSMISSION-SIGNALING

13. **Obtaining information for the structure of a region of CRF₁ that is involved in the binding of CRF analogs with antidepressant and anxiolytic properties**

K. Gkountelias, T. Hribar, M. Papadokostaki, G. Liapakis

14. **Effects of repeated administration of the CB1 receptor agonist WIN55, 212-2 on GABA-A and NMDA receptors in the rat brain**

E. Fanarioti, A. Mitsacos, G. Panagis, P. Giompres

15. **Spinophilin is a novel interacting partner of the δ -opioid receptor**

D.-D. Fourla, A. Agalou, E.-M. Georganta, M.-P. Papakonstantinou, Z. Georgoussi

16. **A signalosome formed between the δ -opioid receptor, STAT5B and G protein subunits: possible mediator of neurite outgrowth**

E.-M. Georganta, A. Agalou, Z. Georgoussi

17. **Regulators of G protein Signaling RGS4 and RGS2: novel modulators of delta and kappa opioid receptor signaling**

M.-P. Papakonstantinou, L. Leontiadis, F. Nikolos, M. Sarris, Z. Georgoussi

ΝΕΥΡΟΕΠΙΣΤΗΜΗ ΤΗΣ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑΣ: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΑΠΟ ΤΗ ΒΑΣΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ ΚΑΙ ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΠΡΟΕΚΤΑΣΕΙΣ

BEHAVIORAL NEUROSCIENCE: FROM BASIC RESEARCH TO CLINICAL APPLICATIONS

18. **Drosophila Neurofibromin is required in GABAergic neurons presynaptic to the Mushroom Bodies for ALK/NF1/ERK mediated associative olfactory learning**

Apostolopoulou, A. Moressis, E. Skoulakis

19. **Computational Modeling of the Fear Memory Trace**

G. Kastellakis, K. Sidiropoulou, P. Poirazi

20. **Effects of mobile phone radiation on the NOR performance in *Mus musculus* mice strain c57bl/6**

M. P. Ntzouni, A. Stamatakis, L. H. Margaritis

21. Neonatal and adolescent experiences interact in determining adult stress coping behavior
A. Raftogianni, A. Diamantopoulou A., P. Miltiadous, A. Stamatakis, F. Stylianopoulou
22. CB1 antagonism regulates cocaine-induced behavioral and neurochemical effects
A. Polissidis, M. Nikolaidou, E. Karyka, A. Memou, C. Kostoula, Z. Papadopoulou-Daifoti, K. Antoniou.
23. Stress induction and memory deficits in mice following exposure to wireless DECT phone radiation
A. F. Fragopoulou, M. H. Antonelou, E. Balafas, N. Kostomitsopoulos, F. Stylianopoulou, A. Stamatakis³, L. H. Margaritis

SESSION P2

ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΤΟΥ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

DISORDERS OF THE NERVOUS SYSTEM

24. Rhythmical motor unit spike doublets and triplets in parkinsonian rest and postural tremor
O. Agapaki, S. Erimaki, D. Anastasopoulos, C. N. Christakos
25. Effect of consumption of *Sideritis clandestina* subsp. *clandestina* infusion on behavioral & biochemical parameters of adult mice*
C. Vasilopoulou, Z. Linardaki, G. Iatrou, FN Lamari, M. Margarity
26. Transplanted Neural Precursors Cells' influence the distribution of inflammatory cells in the Central Nervous System of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis mice
A. Giannakopoulou, N. Grigoriadis, E. Polyzoidou, O. Touloumi, E. Michaloudi, C.G Papadopoulos
27. BRI2 protein regulates the activation of AKT signal transduction pathway
V. Zarkou, A. Liakos, E. Loizou, N. Slavi, M. Tsachaki, S. Efthimiopoulos
28. The role of the cell adhesion molecule TAG-1 in the myelinated fiber organization upon EAE onset and throughout the different stages of the disease
L. Zoupi, C. Linington, P. Verginis, D. Karageorgos
29. Identification of a novel SLC25 member that causes autosomal recessive ataxia in ENU-mutagenized mice
A. Karakostas, F. Ioakeimidis, V. Rinotas, G. Kollias, E. Douni
30. Elements of AOS in three cases of aphasic patients
D. Kasselimis, G. Milathianakis, I. Kokkonis, C. Potagas, I. Evdokimidis
31. In search of an underlying mechanism regarding short-term memory deficits in aphasia
D. Kasselimis, C. Potagas, A. Nidos, I. Evdokimidis

32. **Verbal and spatial memory deficits in aphasic patients**
D. Kasselimis, C. Potagas, G. Tsilikopoulou, I. Evdokimidis
33. **A single early life generalized seizure reduces the threshold to pilocarpine-induced seizures in adult rats**
P. Kouis, A. V. Mikroulis, C. Psarropoulou
34. **Sustained activation of PI3K/Akt pathway under hypoxic and ischemic conditions is accompanied by reduced survival in SHSY5Y cells**
M. Kourti, P. Papazafiri
35. ***In vitro*, *in vivo*, and structural studies of colivelin, the most active derivative of the humanin family of neuroprotective peptides**
D. Benaki, C. Zikos, A. Evangelou, T. Elbert, J. Slaninova, P. Bouziotis, M. Paravatou-Petsotas, M. Papadopoulos, I. Pirmettis, M. Pelecanou, E. Livaniou
36. **Spectroscopic investigation of the interaction of curcumin with β -amyloid peptide**
D. Benaki, K. Stamatakis, E. Mikros, M. Pelecanou
37. **Interaction of serotonin with insulin signalling in the central nervous system in physiological function and dysfunctions**
I. Papazoglou, N. Vicaire, F. Berthou, M. Taouis, K. Gerozissis
38. **The expression of TAG-1 in glial cells is sufficient for the formation of the juxtapanodal complex and the phenotypic rescue of *Tag-1* homozygous mutants**
M. Savvaki, K. Theodorakis, L. Zoupi, A. Stamatakis, S. Tivodar, F. Stylianopoulou, D. Karagogeos
39. ***In vitro* and *in vivo* evaluation of potential imaging agents for Alzheimer's disease**
M. Sagnou, S. Tzanopoulou, C. Raptopoulou, A. Terzis, I. Pirmettis, M. Papadopoulos, M. Pelecanou
40. **Effects of bisphenol A on neuronal plasticity**
V. Sgouros, M. Koleza, A. Poimenova, E. Kitraki
41. **Ghrelin hormone regulates body weight in a rat obesity model**
C. Fedonidis, X. Koliou, C. Stergiopoulos, O. Asimaki, N. Alexakis, D. Mangoura
42. **PKC ϵ regulates differentiation in Peripheral Nervous System tumor cells**
X. Koliou, K. Dimas, N. Sakellaridis, D. Mangoura
43. **Effect of consumption of *Hypericum perforatum* infusion on behavior and cholinergic system of adult mice after co-administration with cadmium***
E.-M. Kotsia, A. Telonis, C. Vasilopoulou, Z. Linardaki, G. Iatrou, M. Margarity
44. **Differential expression of tyrosine hydroxylase in dopaminergic systems of the human neonate under hypoxic conditions.**
M. Pagida, A. Konstantinidou, Y. Malidelis, E. Tsekoura, E. Patsouris, M. Panayotacopoulou



ΠΕΡΙΛΗΨΕΙΣ

ABSTRACTS



PLENARY LECTURE

Developmental signaling pathways in neuronal connectivity and associated diseases

Vaso Episkopou

MRC Clinical Sciences Centre, Imperial College, Faculty of Medicine, UK

Emerging molecular genetic evidence implicate signaling pathways that are essential during early embryonic development notably Wnt, Akt and GSK3, in psychiatric disorders. The molecular function of these pathways in neurophysiology is not understood but current studies point to a cross talk between these pathways with dopamine receptors, which are targets of successful antipsychotic drugs and with neural cellular functions axonal protein trafficking and structural cytoskeleton plasticity. TGFbeta/BMP pathway has also been implicated in neuromuscular plasticity in *Drosophila*, but the role of this pathway in neuronal connectivity and function in mammals remained unknown. We have been studying the role of TGFbeta/BMP signaling in early development but our recent findings which will be presented here, revealed that like in *Drosophila* the BMP pathway is involved in neuromuscular connectivity in mammal.



**ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΟΥ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ: ΑΠΟ
ΕΜΒΡΥΙΚΑ ΒΛΑΣΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΜΕΧΡΙ ΤΗΝ ΓΗΡΑΝΣΗ**

**NERVOUS SYSTEM DEVELOPMENT: FROM EMBRYONIC
STEM CELLS TO AGEING**



The role of Lhx6 in the development of GABAergic interneuron subtypes

Angeliki Achimastou, Myrto Denaxa, Petros Liodis and Vassilis Pachnis

Division of Molecular Neurobiology, National Institute for Medical Research, The
Ridgeway, Mill Hill, London NW7 1AA

Cortical GABAergic interneurons represent a small but extremely heterogeneous neuronal subpopulation in the cortex. They provide the major source of inhibition and serve as regulators of the principal projection neuron activity. The vast majority of cortical inhibitory interneurons express the LIM-homeodomain protein Lhx6 from early embryonic stages of mouse development until adulthood. Lhx6 is involved in early tangential migration of inhibitory interneurons as well as the differentiation of GABAergic interneuron subtypes. However, the temporal function of Lhx6 with regards to GABAergic interneuron subtype specification remains relatively obscure. To investigate the role of this gene during development, we analysed the Lhx6 null and hypomorphic mice mutants at early embryonic stages. To complement our loss-of-function data, we also carried out GOF experiments with Lhx6-expressing vectors using a slice culture system and *in utero* electroporation. We show that Lhx6 is directly required for the specification of SOM⁺ and NPY⁺ subpopulations of interneurons, a requirement established very early at their place of origin (MGE), as soon as these progenitors become post-mitotic. We also demonstrate that the role of this gene in the specification of the SOM and NPY subtypes precedes its role in their tangential migration or their integration into functional neuronal circuits. Finally, our findings reveal that Lhx6 ectopic expression is sufficient to induce interneuron-like properties in dorsal forebrain progenitors *in vitro*. Lhx6 is also sufficient to induce some of these properties transiently *in vivo*, albeit only in conjunction to the ventralising bHLH factor Mash1. Our findings provide novel insight into the mechanisms that control the development of the cortical inhibitory system.

This research has been funded by the Medical Research Council (MRC).

Bibliography/References:

- S.A. Anderson, D.D. Eisenstat, L. Shi and J.L. Rubenstein, Interneuron migration from basal forebrain to neocortex: Dependence on Dlx genes, *Science* **278** (1997a), pp. 474–476.
- S.A. Anderson, O. Marin, C. Horn, K. Jennings and J.L. Rubenstein, Distinct cortical migrations from the medial and lateral ganglionic eminences, *Development* **128** (2001), pp. 353–363.
- N. Flames, R. Pla, D.M. Gelman, J.L. Rubenstein, L. Puelles and O. Marin, Delineation of multiple subpallial progenitor domains by the combinatorial expression of transcriptional codes, *J. Neurosci.* **27** (2007), pp. 9682–9695.
- M. Grigoriou, A.S. Tucker, P.T. Sharpe and V. Pachnis, Expression and regulation of Lhx6 and Lhx7, a novel subfamily of LIM homeodomain encoding genes, suggests a role in mammalian head development, *Development* **125** (1998), pp. 2063–2074
- A.A. Lavdas, M. Grigoriou, V. Pachnis and J.G. Parnavelas, The medial ganglionic eminence gives rise to a population of early neurons in the developing cerebral cortex, *J. Neurosci.* **19** (1999), pp. 7881–7888.
- P. Liodis, M. Denaxa, M. Grigoriou, C. Akufo-Addo, Y. Yanagawa and V. Pachnis, Lhx6 activity is required for the normal migration and specification of cortical interneuron subtypes, *J. Neurosci.* **27** (2007), pp. 3078–3089
- H. Wichterle, D.H. Turnbull, S. Nery, G. Fishell and A. Alvarez-Buylla, In utero fate mapping reveals distinct migratory pathways and fates of neurons born in the mammalian basal forebrain, *Development* **128** (2001), pp. 3759–3771.

SOX1 maintains the undifferentiated state of cortical neural progenitor cells via the suppression of PROX1-mediated cell cycle exit and neurogenesis

Maximilianos Elkouris¹, Nikolaos Balaskas¹, Maria Poulou¹, Panagiotis K. Politis², Elena Panayiotou³, Stavros Malas³, Dimitra Thomaidou⁴, Vasso Episkopou⁵, Eumorphia Remboutsika¹

¹Stem Cell Biology Laboratory, BSRC 'Al. Fleming'. ²Biomedical Research Foundation - Academy of Athens. ³The Cyprus Institute of Neurology and Genetics. ⁴Hellenic Pasteur Institute. ⁵Neurogenesis Group, MRC- CSC, Hammersmith Hospital, UK

Neural stem/progenitor cells maintain their positional identity via continuous self-renewal and suppression of differentiation. In gain-of-function experiments in the chick, SOX1-3 transcription factors have been implicated in the maintenance of the undifferentiated neural progenitor identity. However, the mechanism(s) employed by each gene has not been resolved. We derived cortical neural/stem progenitor cells from wild type and *Sox1*-null (*Sox1^{βgeo/M1}*) embryos and found that SOX1 plays a key role in the suppression of neurogenic cell divisions. Although the original stem cell pool is the same, self-renewal is decreased over time pointing to the loss of self-renewing cells in the *Sox1*-null neurospheres. Moreover, the cell cycle of proliferating cells is elongated and the number of cells that exit the cell cycle increases significantly. In proliferating neural progenitor cells, SOX1 acts via a PROX1-mediated pathway to block cell cycle exit that leads to neuronal differentiation. Thus, our results demonstrate that SOX1 regulates the size of the cortical neural progenitor pool via suppression of PROX1-mediated neurogenic cell divisions.

Ο μεταγραφικός παράγοντας SOX1 διατηρεί τα νευρικά πρόδρομα κύτταρα του φλοιού σε αδιαφοροποίητη κατάσταση μέσω της PROX1-ελεγχόμενης καταστολής εξόδου από τον κυτταρικό κύκλο που οδηγεί στην νευρογένεση

Μαξιμιλιανός Ελκούρης¹, Νικόλαος Μπαλάσκας¹, Μαρία Πούλου¹, Παναγιώτης Κ. Πολίτης², Έλενα Παναγιώτου³, Σταύρος Μαλάς³, Δήμητρα Θωμαΐδου⁴, Βάσω Επισκόπου⁵, Ευμορφία Ρεμπούτσικα¹

¹Εργαστήριο Βλαστικών Κυττάρων, ΕΚΕΒΕ 'Αλ. Φλέμιγκ'. ²Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών Ακαδημίας Αθηνών. ³Ίνστιτούτο Νευρολογίας και Γενετικής Κύπρου. ⁴Ελληνικό Ίνστιτούτο Παστέρ. ⁵Ομάδα Νευρογένεσης MRC- CSC, Αγγλία.

Τα νευρικά βλαστικά/πρόδρομα κύτταρα διατηρούν την χωροθετική τους ταυτότητα μέσω της συνεχούς αυτοανανέωσής τους και της καταστολής της διαφοροποίησής τους. Όπως έχει δείχθει σε πειράματα υπερ-έκφρασης στο κοτόπουλο, οι μεταγραφικοί παράγοντες SOX1-3 εμπλέκονται στην διατήρηση της αδιαφοροποίητης κατάστασης των νευρικών βλαστικών/πρόδρομων κυττάρων. Παρ' όλα αυτά οι μηχανισμοί που χρησιμοποιούνται από τα γονίδια αυτά δεν έχουν πλήρως ταυτοποιηθεί. Απομονώσαμε νευρικά βλαστικά/πρόδρομα κύτταρα από τον φλοιό του εγκεφάλου αγρίου τύπου και *Sox1^{-/-}* (*Sox1^{βgeo/M1}*) εμβρύων και διαπιστώσαμε ότι ο SOX1 παίζει σημαντικό ρόλο στην καταστολή των νευρικών κυτταρικών διαιρέσεων. Αν και ο αρχικός πληθυσμός των νευρικών βλαστικών/πρόδρομων κυττάρων είναι αμετάβλητος, η ικανότητα τους να πολλαπλασιάζονται με την πάροδο του χρόνου στην καλλιέργεια ελαττώνεται σημαντικά απουσία του SOX1. Ο κυτταρικός τους κύκλος έχει επιμηκυνθεί και ο αριθμός των κυττάρων που βγαίνουν από τον κυτταρικό κύκλο έχει αυξηθεί σημαντικά. Στα πολλαπλασιαζόμενα νευρικά πρόδρομα κύτταρα, ο SOX1 δρα μέσω ενός PROX1-καθοδηγούμενου μονοπατιού για να καταστείλει την έξοδο του κυτταρικού τους κύκλου που οδηγεί στην νευρωνική διαφοροποίηση. Ως εκ' τούτου, τα αποτελέσματά μας αποδεικνύουν πως ο SOX1 ρυθμίζει το μέγεθος της δεξαμενής των νευρικών πρόδρομων κυττάρων του φλοιού μέσω της καταστολής των νευρικών κυτταρικών διαιρέσεων που καθοδηγούνται από τον παράγοντα PROX1.



Directing Astroglia from the Cerebral Cortex into Subtype Specific Functional Neurons

Christophe Heinrich, Robert Blum, Sergio Gascón, Giacomo Masserdotti, Pratibha Tripathi, Rodrigo Sánchez, Steffen Tiedt, Timm Schroeder, Magdalena Götz & Benedikt Berninger

Department of Physiological Genomics, Institute of Physiology, LMU München, 80336 Munich, Germany

Astroglia from the postnatal cerebral cortex can be reprogrammed in vitro to generate neurons following forced expression of neurogenic transcription factors, thus opening new avenues towards a potential use of endogenous astroglia for brain repair. However, in previous attempts astroglia-derived neurons failed to establish functional synapses, a severe limitation towards functional neurogenesis. It remained therefore also unknown whether neurons derived from reprogrammed astroglia could be directed towards distinct neuronal subtype identities by selective expression of distinct neurogenic fate determinants. Here we show that strong and persistent expression of neurogenic fate determinants driven by silencing-resistant retroviral vectors instructs astroglia from the postnatal cortex in vitro to mature into fully functional, synapse-forming neurons. Importantly, the neurotransmitter fate choice of astroglia-derived neurons can be controlled by selective expression of distinct neurogenic transcription factors: Forced expression of the dorsal telencephalic fate determinant neurogenin-2 (Neurog2) directs cortical astroglia to generate synapse-forming glutamatergic neurons; in contrast, the ventral telencephalic fate determinant Dlx2 induces a GABAergic identity, although the overall efficiency of Dlx2-mediated neuronal reprogramming is much lower compared to Neurog2, suggesting that cortical astroglia possess a higher competence to respond to the dorsal telencephalic fate determinant. Interestingly, however, reprogramming of astroglia towards the generation of GABAergic neurons was greatly facilitated when the astroglial cells were first expanded as neurosphere cells prior to transduction with Dlx2. Importantly, this approach of expansion under neurosphere conditions and subsequent reprogramming with distinct neurogenic transcription factors can also be extended to reactive astroglia isolated from the adult injured cerebral cortex, allowing for the selective generation of glutamatergic or GABAergic neurons. These data provide evidence that cortical astroglia can undergo a conversion across cell lineages by forced expression of a single neurogenic transcription factor, stably generating fully differentiated neurons. Moreover, neuronal reprogramming of astroglia is not restricted to postnatal stages, but can also be achieved from terminally differentiated astroglia of the adult cerebral cortex following injury-induced reactivation.

This work was supported by the DFG (SPP 1356), the BMBF and ForNeuroCell.

Neurogenesis in the adult brain. The social life of the neural stem cell: builder or sleeper?

**Ilias Kazanis¹, Tegy Vadakkan², Mary Dickinson², Charles ffrench-Constant³,
Mike Modo⁴**

1. Department of Pathology and Department of Veterinary Medicine, Univesrity of Cambridge, UK. 2. Baylor College of Medicine, Houston, Texas, USA. 3. MRC Centre for Regenerative Medicine, University of Edinburgh, UK. 4. Institute of Psychiatry, Kings College London, UK

Neurogenesis and gliogenesis persist in the adult rodent and human brain within the specialized microenvironment of the subependymal zone (SEZ) neurogenic niche. In the SEZ adult neural stem cells divide occasionally to generate highly proliferative and migratory committed precursors. How is this differential behaviour regulated within a very compact area where stem and precursor cells are positioned next to each other? Our work has showed that the level of interaction of stem and precursor cells with their cellular neighbours and the extracellular matrix, through the expression of integrins, can be an important factor. The comparative analysis of the normal SEZ and of the regenerating niche –after its experimentally-induced ablation- allows the study of neural stem cells when they leave their normal “sleeper” mode to become active builders of a new SEZ. But how do stem and precursor cells respond in cases of neurodegeneration? The study of post-stroke tissue reveals whether adult neural stem cells remain sleepers or become builders during repair.

Νευρογένεση στον ενήλικο εγκέφαλο. Η κοινωνική ζωή ενός νευροβλαστικού κυττάρου: εργάτης ή κηφήνας;

**Ηλίας Καζάνης¹, Tegy Vadakkan², Mary Dickinson², Charles ffrench-Constant³,
Mike Modo⁴**

1. Department of Pathology and Department of Veterinary Medicine, Univesrity of Cambridge, UK. 2. Baylor College of Medicine, Houston, Texas, USA. 3. MRC Centre for Regenerative Medicine, University of Edinburgh, UK. 4. Institute of Psychiatry, Kings College London, UK.

Καινούρια νευρικά και γλοιακά κύτταρα συνεχίζουν να παράγονται στον ενήλικο εγκέφαλο μέσα στο εξειδικευμένο μικροπεριβάλλον της νευρογεννητικής περιοχής που βρίσκεται στην υποεπενδυματική ζώνη (YEZ) του πλάγιου τοιχώματος των πλαγίων κοιλιών. Μέσα στην YEZ τα ενήλικα νευροβλαστικά κύτταρα διαιρούνται σπάνια παράγοντας ημιδιαφοροποιημένα προγονικά κύτταρα τα οποία πραγματοποιούν πολλαπλές κυτταρικές διαιρέσεις και έχουν έντονη μεταναστευτική δραστηριότητα. Πώς είναι δυνατόν κύτταρα τα οποία βρίσκονται στο ίδιο περιβάλλον να παρουσιάζουν τόσο διαφορετική συμπεριφορά; Τα πειράματά μας υποδεικνύουν πως η διαφορική δυνατότητα των βλαστικών και προγονικών κυττάρων να αλληλεπιδρούν με τα γειτονικά τους κύτταρα και με μόρια της εξωκυττάριας ουσίας -δυνατότητα που εξαρτάται από την έκφραση των ιντεγκρινών- είναι σημαντικός ρυθμιστικός παράγοντας. Η συγκριτική ανάλυση της YEZ σε φυσιολογικές συνθήκες και κατά την αναγέννησή της (μετά από την χημειοτοξική θανάτωση όλων των προγονικών κυττάρων) επιτρέπει τη μελέτη των νευροβλαστικών κυττάρων όταν βγαίνουν από την κατάσταση νάρκωσης και μετατρέπονται σε εργάτες. Τι συμβαίνει όμως σε περιπτώσεις νευροεκφυλισμού; Η μελέτη του εγκεφαλικού ιστού σε πειραματικά μοντέλα ισχαιμικών εγκεφαλικών επεισοδίων αποκαλύπτει εάν τα νευροβλαστικά κύτταρα είναι οι εργάτες ή οι κηφήνες του εγκεφάλου.

External granule cell proliferation pattern underlies folia formation of embryonic chick cerebellum

Kommata V., Dermon C.R

Lab Human Animal Physiology, Dept Biology, Univ. Patras, Patras, Greece

The cerebellum (Cb), is a morphologically unique laminated structure made up of a set of folia separated by fissures. The avian cerebellum consists of ten folia, (some of them are subdivided in secondary folia) which are mainly developed during mid and late embryonic stages. External granule cell proliferation is the major event that coincides with the fissure formation. The present study aimed to address the question of the mechanisms that underlie the cerebellar fissure development. For this, the proliferation pattern in the external granule cell layer of the developing embryonic chick cerebellum was mapped, by means of 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) immunohistochemistry. BrdU, an S-phase marker was injected in ovo, (100µg/gr egg weight in physiological saline) at the embryonic days E10, E13, E15 and E17 and embryos were allowed to survive for different survival times. The embryos were fixed, cryo-protected and adjacent cerebellar sections were processed for BrdU labelling to determine proliferating cells, for caspase 3 labelling to determine the pattern of apoptotic cells and for double immunofluorescence to characterize the phenotype of BrdU+ cells. Cell proliferation and apoptotic patterns were determined throughout the individual lobules, by image analysis and camera lucida mapping. At day E10, mid-sagittal sections of cerebellum showed that primitive fissure is formed, with well infolded the fissure prima. From day E13, all primary folia were present and by E17 day all subdivisions were developed. While mitotic activity characterized all external granule cell layer folia, low numbers of cells undergoing apoptosis were found mainly in the future granule cell layer, the site of the final destination of external granule cells. Estimation of the density of BrdU+ granule cell precursors revealed that differences determined in the proliferation rate between the fissure's wall and floor, but not in the apoptotic cell death, may account for the formation of fissures and folia.

Ο ρυθμός πολλαπλασιασμού στην εξωτερική κοκκώδη στιβάδα καθορίζει τον σχηματισμό των λοβών της παρεγκεφαλίδας εμβρύου όρνιθας

Κομματά Βασιλική, Δερμών Αικατερίνη

Εργ. Φυσιολογίας Ανθρώπου και Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών

Η παρεγκεφαλίδα των πτηνών, αποτελείται από 10 λοβούς οι οποίοι σχηματίζονται κατά τα ενδιάμεσα αναπτυξιακά στάδια. Ο πολλαπλασιασμός των κυττάρων της εξωτερικής κοκκώδους στιβάδας είναι το κύριο γεγονός κατά την διαδικασία ανάπτυξης των παρεγκεφαλδικών λοβών. Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η μελέτη του πολλαπλασιασμού των κοκκωδών κυττάρων στην αναπτυσσόμενη παρεγκεφαλίδα. Για τον προσδιορισμό του ρυθμού πολλαπλασιασμού των κοκκωδών κυττάρων, εφαρμόστηκε η ανοσοϊστοχημική μέθοδος της 5-βρωμο-2-δεοξουριδίνης (BrdU). Η BrdU, που ενσωματώνεται στο DNA κατά την S-φάση του κυτταρικού κύκλου, ενέθηκε in ovo (100µg/gr βάρους αυγού σε φυσιολογικό ορό) στις εμβρυϊκές μέρες E10, E13, E15 και E17. Τα έμβρυα θυσιάστηκαν 1, 2 και 3 ώρες μετά την ένεση, μονιμοποιήθηκαν με ενδοκάρδια έγχυση, αφαιρέθηκε ο εγκέφαλος, έγινε κρυοπροστασία και αποθήκευση στους -80°C. Με πειράματα ανοσοϊστοχημείας, προσδιορίστηκε ο αριθμός των μιτωτικά ενεργών κυττάρων στην S-φάση (BrdU+), ο αριθμός των αποπτωτικών κυττάρων (σήμανση κασπάσης 3) καθώς και με πειράματα ανοσοφθορισμού ο χαρακτήρας των BrdU+ κυττάρων. Έγινε χαρτογράφηση των προτύπων πολλαπλασιασμού και απόπτωσης (με χρήση camera lucida) και υπολογίστηκε ο αριθμός των προγονικών κοκκωδών κυττάρων σε διαφορετικούς χρόνους επιβίωσης. Στην εμβρυϊκή ημέρα E10, η πρωτογενής σχισμή είναι πλήρως σχηματισμένη. Την E13 ημέρα, όλοι οι λοβοί της παρεγκεφαλίδας έχουν σχηματιστεί και μέχρι την E17 ημέρα όλες οι υποδιαίρεσεις τους είναι εμφανείς. Μικρός αριθμός αποπτωτικών κυττάρων παρατηρήθηκε στη μελλοντική εσωτερική κοκκώδη στιβάδα, και συνεπώς η απόπτωση δεν παίζει καθοριστικό ρόλο στον σχηματισμό των λοβών. Συγκρίνοντας τον ρυθμό πολλαπλασιασμού μεταξύ κορυφής και βάσης των υπό ανάπτυξη λοβών, προτείνεται ότι η ανάπτυξη των παρεγκεφαλδικών λοβών σχετίζεται άμεσα με την διαφορά στο ρυθμό πολλαπλασιασμού των BrdU+ πρόδρομων κοκκωδών κυττάρων μεταξύ του επιτείχιου τμήματος και της βάσης του λοβού.

Effects of age on pyramidal neuron morphology in a mouse model of accelerated cognitive aging

Konsolaki Eleni^{1,2} and Skalióra Irini²

¹Postgraduate Program in Basic Sciences, Faculty of Nursing, University of Athens

²Neurophysiology Lab, Developmental Biology Division, BRFAA, Athens

It has been proposed that the difference between physiological and pathological aging may be a *developmental* phenomenon, in which the underlying basis of cognitive limitations is already established in the third decade of life. Considering the possible role of the cholinergic system in CNS vulnerability and focusing on the $\beta 2$ subunit of nicotinic acetylcholine receptor, we have examined the morphology of pyramidal neurons of V layer with confocal microscopy in prefrontal and primary visual cortex in 4 experimental groups: wildtype YFP+ and $\beta 2$ knockout YFP+ mice at two ages, adult (3 – 6 months) and old (18–22 months). Our working hypotheses are: (i) there would be evidence of age-dependent morphological degeneration in both mouse types; (ii) if $\beta 2$ knockout mice are indeed a model of accelerated cognitive aging as suggested in the literature, there would be increased degeneration only at older ages matching the behavioural phenotype; and (iii) since prefrontal cortex is known to be particularly vulnerable to aging and dementia, there would be greater age-related differences in prefrontal compared to visual cortex. As predicted in the first hypothesis, we found signs of morphological degeneration with aging in both wildtype and knockout mice. In contrast, the second prediction of increased degeneration in older $\beta 2$ knockout mice, was only confirmed in few isolated variables. Instead, we found significant structural differences between wildtype and $\beta 2$ knockout mice already from adulthood. This effect was significantly more pronounced in prefrontal cortex. Taken together, these findings demonstrate that (i) the process of aging is not uniform but region-specific, (ii) the increased morphological degeneration in prefrontal cortex of $\beta 2$ knockout mice does not begin in old age, as expected, but is already present in adult mice. This agrees with the hypothesis that the biological basis that leads to cognitive impairments during aging may be present much earlier, and is related to the cholinergic system.

Επίδραση της ηλικίας στην μορφολογία πυραμιδικών νευρώνων σε ζωικό μοντέλο επιταχυνόμενης γήρανσης

Κονσολάκη Ελένη^{1,2} και Σκαλιόρα Ειρήνη²

¹ Βασικές Επιστήμες, Νοσηλευτική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

²Εργαστήριο Νευροφυσιολογίας, Τομέας Αναπτυξιακής Βιολογίας, ΠΒΕΑΑ, Αθήνα

Έχει προταθεί ότι η διαφορά μεταξύ φυσιολογικής και παθολογικής γήρανσης ενδέχεται να αποτελεί *αναπτυξιακό* φαινόμενο, κατά το οποίο η βάση των γνωσιακών περιορισμών είναι ήδη παρούσα από την τρίτη δεκαετία της ζωής. Δοθέντος του πιθανού ρόλου του χολινεργικού συστήματος στον εκφυλισμό του κεντρικού νευρικού συστήματος και εστιάζοντας στη $\beta 2$ υπομονάδα του νικοτινικού υποδοχέα ακετυλοχολίνης, εξετάσαμε τη μορφολογία πυραμιδικών νευρώνων 5ης στιβάδας με συνεστιακό μικροσκόπιο σε προμετωπιαίο και πρωτοταγή οπτικό φλοιό σε 4 πειραματικές ομάδες: wildtype YFP+ και $\beta 2$ knockout YFP+ ποντίκια σε δύο ηλικίες, ενήλικα (3–6 μηνών) και γηρασμένα (18–22 μηνών). Οι υποθέσεις που εξετάζουμε είναι: (i) θα υπάρχει μορφολογική εκφύλιση με τη γήρανση, και στα δύο είδη ποντικών· (ii) εφ' όσον τα $\beta 2$ knockout ποντίκια αποτελούν πράγματι μοντέλο επιταχυνόμενης γήρανσης γνωσιακών λειτουργιών θα παρουσιάζουν αυξημένη εκφύλιση μόνο στις μεγαλύτερες ηλικίες· και (iii) τη στιγμή που ο προμετωπιαίος φλοιός είναι πιο ευπαθής στη γήρανση και στην άνοια, θα υπάρχουν



μεγαλύτερες διαφορές σχετιζόμενες με την ηλικία στον προμετωπιαίο, σε σύγκριση με τον οπτικό φλοιό.

Βρήκαμε ενδείξεις μορφολογικής εκφύλισης με την γήρανση και στα wildtype και στα knockout ποντίκια όπως προβλέφθηκε από την πρώτη υπόθεση. Σε αντίθεση, η δεύτερη πρόβλεψη της αυξημένης εκφύλισης στα γηρασμένα β2 knockout, επιβεβαιώθηκε μόνο σε λίγες μεμονωμένες μεταβλητές. Από την άλλη πλευρά βρήκαμε δομικές διαφορές μεταξύ wildtype και β2 knockout ποντικίων ήδη στην ομάδα των ενήλικων, σε αρκετές παραμέτρους και ειδικά στον προμετωπιαίο φλοιό. Τα ευρήματα αυτά δείχνουν ότι (i) η γήρανση δεν αποτελεί ενιαίο φαινόμενο αλλά επηρεάζει επιλεκτικά κάποιες εγκεφαλικές περιοχές, (ii) η μορφολογική εκφύλιση στον προμετωπιαίο φλοιό δεν ξεκινά στις μεγάλες ηλικίες όπως αναμενόταν, αλλά εντοπίζεται ακόμα και σε ενήλικα ποντίκια. Αυτό συμφωνεί με την υπόθεση ότι η βιολογική βάση που οδηγεί σε γνωστικά ελλείμματα κατά την γήρανση είναι παρούσα πολύ νωρίτερα και συνδέεται με το χολινεργικό σύστημα.

Lentivirus-mediated expression of insulin-like growth factor-I promotes neural stem/precursor cell proliferation and enhances their potential to generate neurons

Georgia Kouroupi¹, Alexandros A. Lavdas¹, Maria Gaitanou¹, Dimitra Thomaidou¹, Fotini Stylianopoulou² and Rebecca Matsas^{1*}

¹Laboratory of Cellular and Molecular Neurobiology, Hellenic Pasteur Institute, 127 Vas. Sofias Av., 11521 Athens, Greece

²Biology-Biochemistry Laboratory, Department of Basic Sciences, Faculty of Nursing, University of Athens, 123 Papadiamantopoulou street, 11527 Athens, Greece

Strategies to enhance neural stem/precursor cell (NPC) capacity to yield multipotential, proliferative and migrating pools of cells that can efficiently differentiate into neurons could be crucial for structural repair after neurodegenerative damage. Here we have generated a lentiviral vector for expression of insulin-like growth factor I (IGF-1) and investigated the impact of IGF-1 transduction on the properties of cultured NPCs (IGF-1-NPCs). Under proliferative conditions, IGF-1 transduction promoted cell cycle progression via cyclin D1 upregulation and Akt phosphorylation. Remarkably upon differentiation-inducing conditions, IGF-1-NPCs cease to proliferate and differentiate to a greater extent into neurons with significantly longer neurites, at the expense of astrocytes. Moreover, using live imaging we provide evidence that IGF-1 transduction enhances the motility and tissue penetration of grafted NPCs in cultured cortical slices. These results illustrate the important consequence of IGF-1 transduction in regulating NPC functions and offer a possible strategy to enhance the prospective repair potential of NPCs.

Η έκφραση, με τη βοήθεια λεντι-ικού φορέα, του ινσουλινοειδούς παράγοντα I προάγει τον πολλαπλασιασμό των νευρικών βλαστοκυττάρων και ενισχύει το νευρογενετικό δυναμικό τους

Γεωργία Κουρούπη¹, Αλέξανδρος Α. Λάβδας¹, Μαρία Γαϊτάνου¹, Δήμητρα Θωμαΐδου¹, Φωτεινή Στυλιανοπούλου² και Ρεβέκκα Μάτσα¹

¹Εργαστήριο Κυτταρικής και Μοριακής Νευροβιολογίας, Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ, Αθήνα

²Εργαστήριο Βιολογίας-Βιοχημείας, Νοσηλευτική Σχολή, Τομέας Βασικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Παπαδιαμαντοπούλου 123, 11527 Αθήνα

Η ανάπτυξη μεθόδων για την ενίσχυση του δυναμικού των νευρικών βλαστοκυττάρων (NBK) να παράγουν πολυδύναμα μιτωτικά κύτταρα με αυξημένη μεταναστευτική δυνατότητα και ικανότητα να διαφοροποιούνται αποτελεσματικά σε νευρώνες, είναι σημαντική για την αντιμετώπιση νευροεκφυλιστικών βλαβών. Στην παρούσα εργασία κατασκευάστηκε λεντι-ικός φορέας για την έκφραση του ινσουλινοειδούς αυξητικού παράγοντα I (insulin-like growth factor I, IGF-1) και μελετήθηκε η επίδραση του IGF-1 στις ιδιότητες των μετασηματισμένων νευρικών βλαστοκυττάρων (IGF-1-NBK) *in vitro*. Σε συνθήκες πολλαπλασιασμού, η έκφραση του IGF-1 είχε ως συνέπεια την αύξηση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού λόγω μείωσης της διάρκειας της φάσης G1 του κυτταρικού κύκλου. Παρατηρήθηκε επίσης αύξηση των επιπέδων της κυκλίνης D1 που ρυθμίζει τη μετάβαση στο σημείο G0/G1, καθώς και αύξηση της φωσφορυλίωσης της κινάσης Akt, η οποία συνδέεται επίσης με την πρόοδο του κυτταρικού κύκλου. Αντίθετα, σε συνθήκες διαφοροποίησης, παρατηρήθηκε ότι τα IGF-1-NBK παύουν να πολλαπλασιάζονται και διαφοροποιούνται σε μεγαλύτερο ποσοστό σε νευρώνες με σημαντικά πιο επιμηκυμένους νευρίτες, ενώ η διαφοροποίησή τους σε αστροκύτταρα πραγματοποιείται σε μικρότερο ποσοστό σε σύγκριση με NBK-μάρτυρες. Επιπλέον, η παρατήρηση ζωντανών καλλιέργειών τομών εγκεφαλικού φλοιού, στις οποίες έγινε έγχυση μετασηματισμένων για την έκφραση του IGF-1 ή μη NBK, έδειξε ότι τα IGF-1-NBK παρουσιάζουν ενισχυμένη κινητικότητα, καθώς και αυξημένη ικανότητα διείσδυσης στον νευρικό ιστό. Σύμφωνα με τα παραπάνω συμπεραίνουμε ότι ο IGF-1 παίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση των ιδιοτήτων των NBK και επομένως, η έκφρασή του στα NBK μέσω ιικής γονιδιακής μεταφοράς ενδέχεται να ενισχύσει το δυναμικό των κυττάρων αυτών για επιδιόρθωση του νευρικού συστήματος μετά από νευροεκφυλιστική βλάβη.



Exploring the molecular cues driving regeneration in adult zebrafish telencephalon

Nikos Kyritsis, Caghan Kizil, Dorian Freudenreich, Volker Kroehne, Jan Kaslin, Stefan Hans, Michael Brand

**DFG- Center for Regenerative Therapies Dresden, Cluster of Excellence/TU Dresden,
Tatzberg 47 – 49, 01307, Dresden**

Upon injury, zebrafish can initiate a pronounced regeneration response in central nervous system utilizing the proliferative progenitors, which are mainly radial glia cells. We are interested in analyzing the molecular events associated with initiation and maintenance of such a response in the zebrafish telencephalon. By using microarray approach for transcriptional profiling, we have identified a set of candidate genes that are expressed in the ventricular progenitor zones shortly after the stab-wound injury. In situ hybridizations and BrdU-incorporation analyses verified several genes to be expressed in proliferating glial progenitor cells. We are currently analyzing the spatiotemporal expression dynamics of candidate genes and generating cre/lox-based genetic tools to analyze the function of those genes in regeneration of the adult zebrafish telencephalon. As a complementary approach, we are utilizing the next-generation sequencing technology to characterize the expression profiles of proliferating radial glia cells more in detail. We expect the results to be significant not only in increasing our understanding of the molecular pathways required for adult regeneration response in non-mammalian vertebrate brain; but also for opening up new avenues in therapeutic applications for human neurodegenerative disorders.

Αναζητώντας τα μοριακά μονοπάτια που οδηγούν στην αναγέννηση του τελεγκεφάλου του zebrafish

Nikos Kyritsis, Caghan Kizil, Dorian Freudenreich, Volker Kroehne, Jan Kaslin, Stefan Hans, Michael Brand

**DFG- Center for Regenerative Therapies Dresden, Cluster of Excellence/TU Dresden,
Tatzberg 47 – 49, 01307, Dresden**

Το ψάρι – ζέβρα (zebrafish) χρησιμοποιώντας πολλαπλασιαζόμενα προγονικά κύτταρα (γλοιακά κύτταρα) έχει τη δυνατότητα εκκίνησης αναγεννητικής δραστηριότητας στο κεντρικό νευρικό σύστημα. Το ενδιαφέρον μας εστιάζεται στην ανάλυση των μοριακών γεγονότων που συσχετίζονται με την εκκίνηση αλλά και τη διατήρηση μιας τέτοιας αναγεννητικής δραστηριότητας στον τελεγκεφάλου του zebrafish. Με τη χρήση της τεχνολογίας των μικροσυστοιχιών, έχουμε εντοπίσει μία σειρά από υποψήφια γονίδια τα οποία εκφράζονται στα προγονικά κύτταρα του τελεγκεφάλου ύστερα από τραυματισμό. In situ ιβρυδισμοί και πειράματα ενσωμάτωσης BrdU απέδειξαν ότι αρκετά από αυτά τα γονίδια εκφράζονται σε πολλαπλασιαζόμενα γλοιακά προγονικά κύτταρα. Το ενδιαφέρον μας εστιάζεται στην χωροχρονική έκφραση των υποψηφίων γονιδίων και στη δημιουργία γενετικών εργαλείων όπως cre/lox διαγονιδιακές σειρές με σκοπό τη λειτουργική ανάλυση αυτών των γονιδίων στην αναγεννητική ικανότητα του τελεγκεφάλου του zebrafish. Σαν μια συμπληρωματική προσέγγιση θα χρησιμοποιήσουμε τη 2^{ης} γενιάς τεχνολογία αλληλούχισης με σκοπό τον ουσιαστικότερο χαρακτηρισμό του μεταγραφικού προφίλ των πολλαπλασιαζόμενων γλοιακών κυττάρων. Τα αποτελέσματά μας αναμένεται να είναι σημαντικά όχι μόνο στην καλύτερη κατανόηση των μοριακών μονοπατιών που απαιτούνται για την αναγεννητική ικανότητα του εγκεφάλου, αλλά επίσης θα ανοίξουν νέους ορίζοντες για θεραπευτικές εφαρμογές σε ανθρώπινες νευροεκφυλιστικές ανωμαλίες.

Neurosteroids act as positive modulators of axonal elongation/maintenance and *in vivo* myelination through the activation of Neurotrophin receptors.

Iakovos Lazaridis, Paschalis Efstathopoulos, Iosif Pediaditakis, Ioannis Charalampopoulos, Achille Gravanis.

Department of Pharmacology, Medical School, University of Crete, Heraklion, GR-71003

Our recent studies have shown that neurosteroid Dehydroepiandrosterone (DHEA) binds with high affinity and activates Nerve Growth Factor (NGF) receptors, exerting neuroprotective effects. We have shown that DHEA administration in *ngf*^{-/-} mice can reverse the apoptotic loss of TrkA-positive sensory neurons of Dorsal Root Ganglia (DRG), and mimicks NGF in primary cultures of sympathetic neurons of Superior Cervical Ganglia (SCG). We now provide evidence that DHEA can also replace NGF actions in axonal elongation and maintenance of neuronal integrity. More specifically, we show that DHEA induces differentiation and neurite outgrowth of the PC12 cell line, a well established model for studying the differentiating effects of NGF. Moreover, DHEA was able to prevent axonal retraction due to NGF deprivation in cultures of DRGs explants from P1 rats. In addition, DHEA administration at E14 *ngf*^{-/-} mouse embryos reverses the decrease in the innervation of myelinating axons of spinal cord. Because NGF is a well known positive modulator of myelination and the aforementioned neuronal fibers are not TrkA positive, we postulated that DHEA further contributes in preserving the neuronal network by inducing the myelination process. This hypothesis is further supported by the finding that DHEA increases proliferation and induces migration of Olig2-positive oligodendrocytes (precursors for myelination). In conclusion, DHEA's ability to induce axonal elongation and myelination suggest that it may afford nervous system network formation.

Τα Νευροστεροειδή ενισχύουν την επιμήκυνση/διατήρηση των νευρικών αξόνων και την *in vivo* μυελίνωση μέσω των υποδοχέων Νευροτροφινών.

Ιάκωβος Λαζαρίδης, Πασχάλης Ευσταθόπουλος, Ιωσήφ Πεδιαδιτάκης, Ιωάννης Χαραλαμπόπουλος, Αχιλλέας Γραβάνης.

Εργαστήριο Φαρμακολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Ηράκλειο

Πρόσφατες μελέτες μας έδειξαν ότι το νευροστεροειδές Διϋδροεπιανδροστερόνη (DHEA) προσδένεται με υψηλή συγγένεια και ενεργοποιεί τους υποδοχείς του Νευρικού Αυξητικού Παράγοντα (NGF) ασκώντας προ-επιβιωτικές δράσεις. Έχειδειχθεί ότι χορήγηση DHEA σε μύες που στερούνται του γονιδίου του NGF μπορεί να αναστρέψει την απώλεια αισθητικών νευρώνων που εκφράζουν τον υποδοχέα TrkA σε γάγγλια οπισθίων ριζών, καθώς και να μιμηθεί τις δράσεις του NGF σε πρωτογενείς καλλιέργειες συμπαθητικών νευρώνων των ανώτερων αυχενικών γαγγλίων. Στην παρούσα μελέτη παρέχουμε ενδείξεις ότι η DHEA μπορεί να υποκαταστήσει τον NGF στην επιμήκυνση των νευραξόνων. Ειδικότερα, δεικνύουμε ότι η DHEA επάγει την διαφοροποίηση και την αύξηση νευραξόνων στην κυτταρική σειρά PC12, που αποτελεί γνωστό *in vitro* σύστημα μελέτης της ικανότητας νευριτογένεσης του NGF. Επιπλέον, η DHEA αποτρέπει την απόσυρση των νευραξόνων κατόπιν στέρησης του NGF σε πρωτογενείς καλλιέργειες νευρώνων από γάγγλια οπισθίων ριζών επίμυων. Επιπροσθέτως, η χορήγηση DHEA σε έμβρυα 14 ημερών των διαγονιδιακών *ngf*^{-/-} μών αναστρέφει την μείωση της νεύρωσης από εμμέλους άξονες του νωτιαίου μυελού. Καθώς ο NGF αποτελεί γνωστό θετικό ρυθμιστή της μυελίνωσης και οι προαναφερθέντες νευρικές ίνες δεν εκφράζουν τον υποδοχέα TrkA, υποθέτουμε ότι η DHEA συνεισφέρει στην διατήρηση του νευρικού δικτύου ενισχύοντας την μυελίνωση. Η υπόθεση αυτή ενισχύεται κι από το εύρημα ότι η DHEA αυξάνει τον πολλαπλασιασμό και επάγει την μετανάστευση πρόδρομων ολιγοδενδροκυττάρων (θετικά σε χρώση με τον μάρτυρα Olig2), τα οποία αποτελούν τα υπεύθυνα κύτταρα για την διαδικασία μυελίνωσης. Συμπερασματικά, η ικανότητα της DHEA να επάγει την επιμήκυνση των νευραξόνων και την μυελίνωση θα μπορούσε να αποτελεί επιπρόσθετους μηχανισμούς επίδρασης στη δομική διατήρηση του νευρικού ιστού και στην λειτουργικότητα των νευρικών δικτύων.

**Adult brain cell proliferation is down regulated by estradiol in the female zebrafish
(*Danio rerio*)**

Makantasi P. and Dermon C. R.

**Laboratory of Human and Animal Physiology, Department of Biology, University of
Patras, Greece**

While it is shown that estrogens can play a crucial role in the proliferation pattern of the mammalian and avian brain, their role in teleost adult neurogenesis is not yet known. In contrast to the restricted adult neurogenesis observed in mammals and birds, adult teleost fish brain is characterized by extended proliferation across the antero-posterior and dorso-ventral axis. The present study aimed to question the regional and sex-specific role of estrogens in the cell proliferation pattern of the adult brain using the model organism zebrafish. For this, 17-beta estradiol was administered daily for 7 days in a 10L tank with male and female zebrafish (7-8 zebrafish per tank, 27°C), at a concentration of 2,5 microg/L, while control animals were kept under the same conditions with vehicle administration. Following the 7-days exposure time, male and female control and experimental animals were allowed to swim in a BrdU solution (5mM) for six hours. Post-BrdU, zebrafish were perfused under anesthesia and the brains were fixed and stored at -80°C. To determine the estrogen effect on neurogenesis, BrdU immunohistochemistry was applied in frozen cross sections. Detailed observation and stereological analysis of the BrdU positive cells showed region-specific decreases of cell proliferation in the estrogen-treated animals in comparison to the controls. Disector analysis revealed statistically significant decreases in the number of newborn cells in telencephalic, mesencephalic and cerebellar regions, with the most prominent effects found in the cerebellar regions of female zebrafish, e. g the corpus cerebelli. Moreover, preliminary data showed that 17-beta estradiol treatment decreased the proliferation rate in the ventral telencephalic and mesencephalic areas of female but not of the male zebrafish. These results provide important information on the 17-beta estradiol (at not toxic levels) influences on the cell proliferation pattern of the adult zebrafish brain in a sex and area specific pattern.

Part of the work was supported by Caratheodory grant C-170

Τα οιστρογόνα μειώνουν το ρυθμό πολλαπλασιασμού των κυττάρων στον ενήλικο εγκέφαλο των θηλυκών zebrafish (*Danio rerio*).

Μακανταση Π., Δερμων Κ.Ρ.

Εργαστήριο Φυσιολογίας Ανθρώπου και Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών

Είναι γνωστό ότι τα οιστρογόνα παίζουν σημαντικό ρόλο στον πολλαπλασιασμό των εγκεφαλικών κυττάρων στα θηλαστικά και τα πτηνά, όμως ο ρόλος τους στη νευρογένεση των τελεόστεων είναι άγνωστος. Σε αντίθεση με άλλα σπονδυλωτά, όπου παρατηρούνται μικρά ποσοστά νευρογένεσης στον ενήλικο εγκέφαλο, οι τελεόστεοι ιχθύες παρουσιάζουν αξιοσημείωτη ικανότητα δημιουργίας νέων νευρώνων, αποτελώντας σημαντικό μοντέλο πλαστικότητας στην ενήλικη ζωή. Η παρούσα μελέτη είχε ως σκοπό να διερευνήσει τη δράση των οιστρογόνων στον πολλαπλασιασμό των κυττάρων στις περιοχές του εγκεφάλου στα δύο φύλα στον οργανισμό μοντέλο zebrafish. Για το λόγο αυτό χορηγήθηκε 17-β οιστραδιόλη σε συγκέντρωση 2,5 μg/L, για 7 ημέρες, σε ενυδρείο 10L με zebrafish (7-8 zebrafish ανά ενυδρείο, 27°C). Μετά τη χορήγηση, τα πειραματικά και τα ζώα ελέγχου αφήθηκαν να κολυμπήσουν για 6 ώρες σε διάλυμα BrdU (5mM) και στη συνέχεια θανατώθηκαν, μονιμοποιήθηκαν με ενδοκαρδιακή έγχυση παραφορμαλδεύδης, απομονώθηκε ο εγκέφαλος και αποθηκεύθηκε στους -80°C. Ακολούθησε ανοσοϊστοχημικός εντοπισμός των νεο-γεννηθέντων κυττάρων σε διαδοχικές εγκάρσιες κρυστομές εγκεφάλου. Λεπτομέρης παρατήρηση των διατομών σε οπτικό μικροσκόπιο και στερεολογική ανάλυση των BrdU θετικών κυττάρων στον ενήλικο εγκέφαλο αποκάλυψε



τοπογραφικά οργανωμένες επιδράσεις της χορήγησης των οιστρογόνων. Στερεολογική ανάλυση με τη μέθοδο του disector έδειξε στατιστικά σημαντική πτώση του αριθμού των νεογεννηθέντων κυττάρων σε κοιλιακές τελεγκεφαλικές, μεσεγκεφαλικές και παρεγκεφαλιδικές περιοχές, με τα πιο αξιοσημείωτα αποτελέσματα να εμφανίζονται σε όλες τις παρεγκεφαλιδικές περιοχές των θηλυκών zebrafish. Προκαταρκτικά αποτελέσματα δείχνουν ότι η χορήγηση 17-β οιστραδιόλης δεν επηρεάζει με τον ίδιο τρόπο την νευρογένεση στα αρσενικά ζώα. Τα παραπάνω αποτελέσματα παρέχουν σημαντικές πληροφορίες για την επίδραση της 17-β οιστραδιόλης, σε μη τοξικά επίπεδα, στο πρότυπο πολλαπλασιασμού των κυττάρων στον εγκέφαλο ενήλικων zebrafish ανάλογα με την περιοχή και το φύλο.

Μέρος της έρευνας χρηματοδοτήθηκε από την υποτροφία Καραθεοδωρή C-170.

The role of TAG-1 cell adhesion molecule in the development of olfactory system

George Bastakis*, Maria Savvaki, Methodios Xemerakis, Maria Mavrikaki and Domna Karageos*

Department of Basic Science, University of Crete Medical School and * IMBB-FORTH, Heraklion

The immunoglobulin superfamily member TAG-1 plays an important role in neurite outgrowth, fasciculation, neuronal migration and axon guidance during development. The main projection neurons of the olfactory bulb (mitral and tufted cells) express TAG-1 during development but the exact role of this molecule in olfactory system has not yet been investigated. The aim of the present project is to study the organization and development of the olfactory system in mice deficient for TAG-1 (Tag-1^{-/-}).

Using immunohistochemistry with mitral-cell markers on cryosections of adult olfactory bulb (OB) of mutant and control mice, we observed significantly decreased numbers of mitral cells in Tag-1^{-/-} mice when compared with wild type animals. Furthermore, the percentage of mitral cells was decreased already at the postnatal stage (P0) in the OB of the Tag-1^{-/-} mice (P0). These results suggest that the defect in mitral cell number can be attributed to deficits during the development of the olfactory bulb, either by affecting apoptosis or cell proliferation. Immunohistochemical experiments in OB cryosections at various developmental stages revealed no difference in cell apoptosis. In order to study the proliferation capacity of the mitral cells population, we administrated 5'-bromodeoxyuridine (BrdU) at embryonic day 11.5 (E11.5, generation of the majority of mitral cells) and sacrificed the embryos at E18.5. In cryosections from the above animals we detected a decrease in BrdU⁺ cells found in mitral cell layer (MCL) of Tag-1^{-/-} compared to wild type. The above data suggest that lack of TAG-1 leads to defects during development of the olfactory system that could result from proliferation deficits of the mitral cells or their progenitors. We are currently investigating these possibilities.

Ο ρόλος του μορίου κυτταρικής αναγνώρισης TAG-1 στην ανάπτυξη του οσφρητικού συστήματος

Γεώργιος Μπαστάκης*, Μαρία Σαββάκη, Μεθόδιος Ξημεράκης, Μαρία Μαυρικάκη και Δόμνα Καραγωγέως*

Τμήμα Ιατρικής, Τομέας Βασικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Κρήτης
* και IMBB-ITE, Ηράκλειο

Κατά την ανάπτυξη του νευρικού συστήματος, η πρωτεΐνη κυτταρικής συνάφειας TAG-1 της υπερικογένειας των ανοσοσφαιρινών παίζει σημαντικό ρόλο στη δεσμιδοποίηση και ανάπτυξη των νευραξόνων καθώς και τη μετανάστευση και καθοδήγηση των νευρικών κυττάρων. Η TAG-1 εκφράζεται από τους βασικούς προβλητικούς νευρώνες του οσφρητικού λοβού (μητρικά και θυσανωτά κύτταρα) κατά την ανάπτυξή του, αλλά ο ρόλος της στο σύστημα αυτό δεν έχει διερευνηθεί. Στόχος της παρούσας εργασίας είναι να μελετήσουμε την ανάπτυξη και οργάνωση του οσφρητικού συστήματος σε μύες ελλειμματικούς για το γονίδιο της πρωτεΐνης TAG-1 (Tag-1^{-/-}).

Χρησιμοποιώντας μεθόδους ανοσοϊστοχημείας με ειδικούς μάρτυρες σε κρυστομές οσφρητικού βολβού (OB) ελλειμματικών ζώων και ζώων μαρτύρων, διαπιστώσαμε σημαντική μείωση του αριθμού των μητρικών κυττάρων σε Tag-1^{-/-} ενήλικες μύες σε σύγκριση με τους φυσιολογικούς. Η μείωση του ποσοστού των μητρικών κυττάρων ήταν παρόμοια και σε νεογένητα ζώα (p0) υποδηλώνοντας απώλειά τους κατά την ανάπτυξη και όχι μετά την ωρίμανση του οσφρητικού λοβού. Η υπόθεση εργασίας μας είναι ότι η μείωση αυτή οφείλεται είτε σε απόπτωση είτε σε μειωμένο πολλαπλασιασμό των μητρικών κυττάρων. Πειράματα ανοσοϊστοχημείας σε κρυστομές



ΟΒ σε διαφορετικά εμβρυϊκά στάδια δεν έδειξαν διαφορές όσον αφορά στην απόπτωση των κυττάρων. Στη συνέχεια, για να διερευνήσουμε την περίπτωση μη-φυσιολογικού πολλαπλασιασμού, χορηγήσαμε 5'-βρωμοδεοξουριδίνη (BrdU) σε μύες κατά την 11.5 ημέρα κύησης (E11.5, ηλικία εμφάνισης των περισσότερων μητρικών κυττάρων) και θανατώσαμε τα έμβρυα την ημέρα E18.5. Σε κρυτομές ΟΒ από αυτά τα ζώα, διαπιστώσαμε μείωση των BrdU⁺ κυττάρων στη στοιβάδα των μητρικών κυττάρων (MCL) στα Tag-1^{-/-} ζώα σε σύγκριση με τα φυσιολογικά. Τα μέχρι τώρα αποτελέσματά μας προτείνουν πως έλλειψη της πρωτεΐνης TAG-1 οδηγεί σε ελλείμματα κατά την ανάπτυξη του οσφρητικού συστήματος που θα μπορούσαν να οφείλονται σε διαταραχές στον πολλαπλασιασμό των μητρικών κυττάρων ή/και των προγόνων των κυττάρων αυτών.



Sex differences in the influence of environmental enrichment in the developing visual system

Dimitrios P. Bessinis, Christina Dalla, Pothitos M. Pitychoutis, Aikaterini Tiligada and Zoe Papadopoulou-Daifoti

Lab of Pharmacology, Medical School of University of Athens, Mikras Asias 75, 11527, Goudi, Athens

Environmental enrichment, in which the experimental animals are reared in bigger cages with tunnels, wheels for practice and a second floor, causes numerous changes in the central nervous system. The goal of the present study was to investigate the effect of environmental enrichment in the development of the visual system and in brain regions involved in the elaboration of the visual information, as well as to study sex differences in these findings. This goal was achieved by observing developmental clues and by taking into consideration behavioral and neurochemical parameters in male and female Wistar rats. The results of the present study indicate that environmental enrichment has a positive influence in the developing visual system by accelerating the eye opening procedure of Wistar rats. Moreover, in the retina of male and female rats living in an enriched environment, there was an increase in the serotonergic activity, a process probably connected to the maturation of this photosensitive layer. On the contrary, serotonergic activity was decreased in the visual cortex of male and female rats living in the enriched environment. Environmental enrichment also decreased the concentration of histamine in the optic chiasm of both sexes; a finding probably connected with higher light adaptation ability. Sex differences were observed in the basal levels of histamine concentration in the visual cortex, which was found increased in female control rats compared to male control rats. These results indicate that environmental enrichment affects the development of the visual system of both sexes in a positive manner. Furthermore, they show that enriched environment affect male and female rats in a different way, at least as far as the hippocampus is concerned. These findings might be connected with sex differences in the elaboration and storage of stimuli.

**Η επίδραση του εμπλουτισμένου περιβάλλοντος στο αναπτυσσόμενο οπτικό σύστημα:
διαφυλικές διαφορές**

**Δημήτριος Π. Μπεσίνης, Χριστίνα Δάλλα, Ποθητός Μ. Πιτυχούτης, Αικατερίνη Τυλιγάδα
και Ζωή Παπαδοπούλου-Νταϊφώτη**

**Εργ. Φαρμακολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Μικράς Ασίας 75, 11527,
Γουδί, Αθήνα**

Το εμπλουτισμένο περιβάλλον, το οποίο περιλαμβάνει διαβίωση πειραματοζώων σε μεγάλους κλωβούς, που περιέχουν σήραγγες, τροχούς για άσκηση και δεύτερο πάτωμα, προκαλεί πληθώρα αλλαγών στο κεντρικό νευρικό σύστημα. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η μελέτη της επίδρασης του εμπλουτισμένου περιβάλλοντος στην ανάπτυξη του οπτικού συστήματος και των περιοχών που σχετίζονται με την επεξεργασία της οπτικής πληροφορίας, καθώς επίσης και η ανεύρεση πιθανών διαφυλικών διαφορών. Ο στόχος αυτός προσεγγίστηκε με την παρατήρηση αναπτυξιακών στοιχείων και τη μελέτη συμπεριφορικών και νευροχημικών παραμέτρων σε αρσενικούς και θηλυκούς επίμυες Wistar. Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας έδειξαν ότι το εμπλουτισμένο περιβάλλον επιδρά θετικά στην ανάπτυξη του οπτικού συστήματος επιταχύνοντας τη σχάση της βλεφαρικής σχισμής των επιμύων. Επίσης, στον αμφιβληστροειδή των αρσενικών και θηλυκών επιμύων που διαβίωναν στο εμπλουτισμένο περιβάλλον παρατηρήθηκε αύξηση της σεροτονινεργικής λειτουργίας, εύρημα το οποίο πιθανόν να σχετίζεται με την ωρίμανση του φωτοευαίσθητου χιτώνα. Αντιθέτως, η σεροτονινεργική λειτουργία βρέθηκε μειωμένη στον οπτικό φλοιό τόσο των αρσενικών όσο και των θηλυκών επιμύων που διαβίωναν στο εμπλουτισμένο περιβάλλον. Το εμπλουτισμένο περιβάλλον προκάλεσε επίσης



μείωση της συγκέντρωσης της ισταμίνης του οπτικού χιάσματος και στα δύο φύλα που πιθανόν να σχετίζεται με αυξημένη ικανότητα προσαρμογής στο φως. Τέλος, στην περιοχή του υποκάμπου που σχετίζεται με τη μνήμη και τη μάθηση, παρατηρήθηκε αυξημένη σεροτονινεργική λειτουργία μόνο στα θηλυκά πειραματόζωα. Διαφυλικές διαφορές παρατηρήθηκαν και στα βασικά επίπεδα ισταμίνης στον οπτικό φλοιό, τα οποία βρέθηκαν αυξημένα στους θηλυκούς επίμυες της ομάδας μαρτύρων σε σχέση με τους αρσενικούς. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν τη θετική επίδραση της διαβίωσης σε εμπλουτισμένο περιβάλλον στην ανάπτυξη του οπτικού συστήματος και των δύο φύλων. Επίσης, διαφοροποιούν την επίδραση του εμπλουτισμένου περιβάλλοντος μεταξύ αρσενικών και θηλυκών στην περιοχή του υποκάμπου, γεγονός που πιθανώς να σχετίζεται με διαφυλικές διαφορές στην επεξεργασία και αποθήκευση των εξωτερικών ερεθισμάτων.

Prox1 suppresses Notch1 gene expression to regulate neurogenesis in the spinal cord

**Maria Oikonomaki¹, Valeria Kaltezioti¹, Evangelia Mantouvalou¹, Hermann Rohrer²,
Aristidis Charonis¹ and Panagiotis Politis¹**

¹**Center for Basic Research, Biomedical Research Foundation of the Academy of Athens, 4
Soranou Efessiou, 115 27, Athens, Greece**

²**Dept of Neurochemistry, Max-Planck Institute for Brain Research, 60528 Frankfurt,
Germany**

Activation of Notch1 signaling in neural progenitor cells (NPCs) induces self-renewal and inhibits neurogenesis. Upon neuronal differentiation, NPCs overcome this inhibition, express proneural genes to induce Notch ligands and activate Notch1 in neighbouring NPCs. The molecular mechanism that coordinates Notch1 inactivation with initiation of neurogenesis remains elusive. Here, we provide evidence that Prox1, a transcription repressor and downstream target of proneural genes, counteracts Notch1 signaling via direct suppression of *Notch1* gene expression, which is facilitated by the orphan nuclear receptor NR5A2 and histone deacetylase 3 (HDAC3). By expression studies in the developing spinal cord of chick and mouse embryo, we showed that Prox1 is limited to neuronal precursors residing between the Notch1+ NPCs and post-mitotic neurons. Physiological levels of Prox1 and NR5A2 in this tissue are sufficient to allow binding at *Notch1* promoter and they are critical for proper *Notch1* transcriptional regulation in vitro and in vivo. Gain-of-function studies in the chick neural tube suggest that Prox1-mediated suppression of *Notch1* relieves its inhibition on neurogenesis and allows NPCs to exit the cell cycle and differentiate. Moreover, loss-of-function in the chick neural tube shows that Prox1 is necessary for suppression of *Notch1* outside the ventricular zone, inhibition of active Notch signalling, down-regulation of NPC markers and completion of neuronal differentiation program. Together these data suggest that Prox1 inhibits *Notch1* gene expression to control the balance between NPC self-renewal and neuronal differentiation.

Ο μεταγραφικός παράγοντας Prox1 καταστέλλει την έκφραση του Notch1 και ρυθμίζει την νευρογένεση στον νωτιαίο μυελό

**Μαρία Οικονομάκη¹, Βαλέρια Καλτεζιώτη¹, Ευαγγελία Μαντούβαλου¹, Hermann Rohrer²,
Αριστείδης Χαρώνης¹ και Παναγιώτης Πολίτης¹**

¹**Κέντρο Βασικής Έρευνας, Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών Ακαδημίας Αθηνών, 4
Σωρανού Εφέσιου, 11527, Αθήνα, Ελλάδα**

²**Dept of Neurochemistry, Max-Planck Institute for Brain Research, 60528 Frankfurt,
Germany**

Η ενεργοποίηση της Notch1 σηματοδότησης στα νευρικά βλαστικά κύτταρα (NBK), επάγει τη διατήρηση τους στη πολυδύναμη κατάσταση και εμποδίζει την νευρογένεση. Με την έναρξη της νευρωνικής διαφοροποίησης, τα NBK ξεπερνούν αυτή την παρεμπόδιση, επάγουν την έκφραση γονιδίων που ενεργοποιούν τη νευρογένεση (προνευρικά γονίδια) και την έκφραση των συνδετών του Notch1, οι οποίοι με τη σειρά τους ενεργοποιούν το Notch1 στα γειτονικά NBK. Ο μοριακός μηχανισμός που συντονίζει την απενεργοποίηση του Notch1 με την επαγωγή της νευρογένεσης παραμένει άγνωστος. Σε αυτή τη μελέτη δείχνουμε ότι ο μεταγραφικός παράγοντας Prox1 που αποτελεί στόχο των προνευρικών γονιδίων, απενεργοποιεί την Notch1 σηματοδότηση καταστέλλοντας άμεσα την έκφραση του Notch1 γονιδίου. Σε αυτή την καταστολή εμπλέκονται ο ορφανός πυρηνικός υποδοχέας NR5A2 και η αποακετυλάση των ιστονών HDAC3. Με μελέτες έκφρασης στον αναπτυσσόμενο νωτιαίο μυελό σε έμβρυα κοτόπουλου και ποντικού, δείξαμε ότι ο Prox1 εκφράζεται σε μια ζώνη κυττάρων ανάμεσα στα Notch1+ NBK και στους διαφοροποιημένους νευρώνες. Τα φυσιολογικά επίπεδα έκφρασης του Prox1 και του NR5A2 σε αυτόν τον ιστό είναι αρκετά για να επιτρέψουν την πρόσδεση τους στον Notch1 υποκινητή και



είναι απαραίτητα για τη σωστή μεταγραφική ρύθμιση του Notch1 *in vivo* και *in vitro*. Μελέτες έκτοπης υπερέκφρασης στο νευρικό σωλήνα κοτόπουλου υποδηλώνουν ότι η καταστολή του Notch1 από το Prox1 άρει την ανασταλτική δράση του Notch1 πάνω στη νευρογένεση και οδηγεί τα NBK έξω από τον κυτταρικό κύκλο προς τη διαφοροποίηση. Επιπλέον μελέτες λειτουργικής απενεργοποίησης στο νευρικό σωλήνα κοτόπουλου δείχνουν ότι ο Prox1 είναι απαραίτητος για την καταστολή της έκφρασης του Notch1 έξω από την κοιλιακή ζώνη (VZ), την απενεργοποίηση της ενεργούς Notch1 σηματοδότησης, τη μείωση του αριθμού των NBK *in vivo* και την ολοκλήρωση του νευρωνικού προγράμματος διαφοροποίησης. Όλα τα παραπάνω αποτελέσματα υποδηλώνουν ότι ο Prox1 καταστέλλει τη γονιδιακή έκφραση του Notch1 ώστε να ελέγχει την ισορροπία ανάμεσα στον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των NBK.

Region-specific and age-dependent regulation of ERK1 and ERK2 kinases: possible functional implications for cortical development and plasticity

Sergaki M¹, Paouneskou D¹, Zeriti M¹, Konsolaki E¹, Landi S², Ratto GM², Skaliora I¹

1. Biomedical Research Foundation Academy of Athens, Greece

2. Institute of Neuroscience CNR- NEST-INFM, Scuola Normale Superiore, Pisa, Italy

The ERK pathway is a central and important signaling cascade, transducing extracellular signals to cytoplasmic and nuclear effectors. It is involved in processes like proliferation, differentiation, but also synaptic plasticity, learning and memory (1,2). The 2 ERK kinases share 85% of amino acid sequence, including the catalytic part and substrate recognition part, are both activated by MEK1/2 and share the same known substrates. Nevertheless there is growing evidence suggesting that the two ERK proteins may have distinct functions and even that they may compete for several others (3,4). The aim of this study was to assess the expression levels of ERK1/2 during brain development/aging and to examine whether they are subject to experimental manipulations. Western blot and Real-Time PCR experiments revealed a well-regulated pattern of ERK1 and ERK2 expression, both with age and across different brain regions. Surprisingly, there was also a large difference in the pattern of mRNA to protein regulation for both kinases during development, in all areas examined. An even more striking finding was that a behavioural manipulation, such as dark-rearing, resulted in a change of ERK1 and ERK2 ratio in the visual cortex, indicating that this ratio is controlled by developmentally regulated activity-dependent mechanisms.

Αναπτυξιακή & τοπική ρύθμιση των πρωτεϊνικών κινασών ERK1 και ERK2: πιθανή εμπλοκή τους στην ανάπτυξη του φλοιού και την νευρωνική πλαστικότητα

Σεργάκη Μ¹, Παουνέσκου Δ¹, Ζερίτη Μ¹, Κονσολάκη Ε¹, Landi S², Ratto GM², Σκαλιόρα Ε¹

1. Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών Ακαδημίας Αθηνών, Αθήνα, Ελλάδα

2. Institute of Neuroscience CNR- NEST-INFM, Scuola Normale Superiore, Pisa, Italy

Το κυτταρικό μονοπάτι των κινασών ERK αποτελεί ένα από τα πιο κεντρικά και σημαντικά σηματοδοτικά μονοπάτια, που συνδέουν εξωκυττάρια σήματα με κυτταροπλασματικούς και πυρηνικούς τελεστές. Εμπλέκεται σε διεργασίες όπως ο πολλαπλασιασμός, η διαφοροποίηση, αλλά και η συναπτική πλαστικότητα, η μνήμη και η μάθηση (1,2). Οι 2 κινάσες ERK παρουσιάζουν 85% ομοιότητα στην αμινοξική τους αλληλουχία, η οποία περιλαμβάνει τόσο την καταλυτική περιοχή όσο και την περιοχή αναγνώρισης του υποστρώματος, ενεργοποιούνται και οι 2 από τη MEK1/2 και πιστεύεται ότι διαθέτουν τα ίδια υποστρώματα. Παρόλα αυτά, πρόσφατα δεδομένα δείχνουν ότι οι δυο ERK έχουν διαφορετικές και ίσως ανταγωνιστικές λειτουργίες (3,4). Ο στόχος της παρούσας εργασίας ήταν η μελέτη των επιπέδων έκφρασης των ERK1/2 κατά την ανάπτυξη/γήρανση και η εξέταση της μεταβλητότητας τους με πειραματικούς χειρισμούς. Ανάλυση κατά Western και πειράματα Real-Time PCR έδειξαν ότι η έκφραση των πρωτεϊνών ERK ρυθμίζεται και χρονικά: ανάλογα με το αναπτυξιακό στάδιο, αλλά και τοπολογικά: ανάλογα με την περιοχή του εγκεφάλου. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι παρατηρήθηκε διαφορετική ρύθμιση των επιπέδων mRNA σε σύγκριση με αυτών της πρωτεΐνης και για τις δυο κινάσες σε όλες τις περιοχές που εξετάστηκαν. Ένα ακόμα πιο εντυπωσιακό εύρημα ήταν η μείωση της έκφρασης των δυο κινασών στον οπτικό φλοιό, σε ζώα που είχαν μεγαλώσει στο σκοτάδι σε σύγκριση με τα αντίστοιχα επίπεδα φυσιολογικών ζώων. Το αποτέλεσμα αυτό αναδεικνύει τον πιθανό έλεγχο των κινασών ERK από αναπτυξιακά ρυθμιζόμενες διεργασίες που εξαρτώνται από τη νευρωνική δραστηριότητα.

Βιβλιογραφία/ References

1. Schaeffer & Weber, 1999; 2. Thomas and Huganir, 2004; 3. Lloyd., 2006, J Biol; 4. Vantaggiato et al., 2006, J Biol

DRG explants onto biofunctionalized electrospun polymeric fibers as a first step in the direction of nerve regeneration

Chariklia Simitzis¹, Kristina Klinkhammer¹, Julia Bockelmann², Jörg Mey², Doris Klee¹

¹Institute of Technical and Macromolecular Chemistry and DWI e.V., RWTH Aachen University, Germany ²Institute of Biology II, RWTH Aachen University, Germany

Peripheral nerve regeneration is a serious clinical problem. The today research in this field is focusing on the development and manufacturing of artificial implants, via methods of tissue engineering, aiming to replace the autograft, which remains until today the gold standard therapeutic treatment. More specifically, emphasis has started to be given on the development of anisotropic parallel oriented structures in submicron dimensions [1]. Micro-/nanofibers produced via electrospinning technique have such characteristics and can function as nerve guidance structures for cell migration and axonal growth [2-4]. Within this work, parallel oriented biofunctional submicron fibers were produced with the aid of electrospinning technique. Different biocompatible polymer systems based on poly(ϵ -caprolactone) (PCL) and star shaped NCO-poly(ethylene glycol)-*stat*-poly(propylene glycol) (sPEG) as solutions were made and electrospun successfully into parallel oriented free-floated fibers. Additionally, one series of these polymer blends were electrospun with incorporated molecules of the extracellular matrix (ECM), rendering the final electrospun fibers biofunctional. Surface characteristics and biological properties of fibers (functionalized and non-functionalised) were investigated. XPS confirmed the successful addition of the bioactive molecules (peptides or protein). The fibers containing s-PEG showed higher resistance against unspecific protein adsorption as was demonstrated via serum albumin adsorption assay. *In vitro* experiments with dorsal root ganglia explants showed that the biofunctionalized PCL/ s-PEG fibers with fibronectin, and the peptides RGD and YIGSR enhanced the cell outgrowth, compared to the unfunctionalized PCL/sPEG ones, which are cell repellent. With this biofunctionalization, cell migration and axonal outgrowth along fibers were increased. Thus, biofunctionalized electrospun PCL/sPEG fibers, while minimizing unspecific protein adsorption, can serve as a suitable substrate for biological and medical applications.

DRG explants onto biofunctionalized electrospun polymeric fibers as a first step in the direction of nerve regeneration

Chariklia Simitzis¹, Kristina Klinkhammer¹, Julia Bockelmann², Jörg Mey², Doris Klee¹

¹Institute of Technical and Macromolecular Chemistry and DWI e.V., RWTH Aachen University, Germany ²Institute of Biology II, RWTH Aachen University, Germany

Η αναγέννηση του περιφερικού νευρικού ιστού αποτελεί ένα σοβαρό κλινικό θέμα. Η έρευνα σήμερα επικεντρώνεται στην ανάπτυξη συνθετικών εμφυτευμάτων, μέσω ιστομηχανικής, που επιδιώκεται να αντικαταστήσουν το αυτομόσχευμα, την μέχρι σήμερα θεραπευτική προσέγγιση αναφοράς. Ειδικότερα, έχει ξεκινήσει να δίνεται έμφαση στην ανάπτυξη ανισοτροπικών ευθυγραμμισμένων δομών σε υπομικρο-διαστάσεις [1]. Οι μικρο-/νανοΐνες που παρασκευάζονται μέσω ηλεκτροϊνοποίησης παρουσιάζουν τέτοια χαρακτηριστικά και μπορούν να λειτουργήσουν ως οδηγοί για τη μετανάστευση νευρικών κυττάρων και την ανάπτυξη νευριτών [2-4]. Στα πλαίσια αυτής της εργασίας, ευθύγραμμες βιολειτουργικές ίνες παρασκευάστηκαν με την τεχνική της ηλεκτροϊνοποίησης. Με συνδυασμό διαφόρων βιοσυμβατών πολυμερών με βάση την πολυκαπρολακτόνη (PCL), και το σχήματος αστέρα στατιστικό συμπολυμερές πολυαιθυλενογλυκόλης και πολυπροπυλενογλυκόλης (s-PEG), παρασκευάστηκαν πολυμερή συστήματα ως διαλύματα και έγινε ηλεκτροϊνοποίησή τους προς παραγωγή μικρο-/νανοϊνών. Επιπλέον, μια σειρά πολυμερών μειγμάτων ηλεκτροϊνοποιήθηκαν με ενσωματωμένα μόρια του εξωκυττάρου χώρου (ECM), καθιστώντας τις ίνες βιολειτουργικές. Μελετήθηκαν οι επιφανειακές και βιολογικές ιδιότητες των ινών (τροποποιημένων ή μη). Από την ανάλυση επιφάνειας μέσω XPS επιβεβαιώθηκε η επιτυχής προσθήκη των βιοενεργών μορίων (πεπτιδίων ή πρωτεΐνης) πάνω στην επιφάνεια των ινών. Με τη δοκιμασία προσρόφησης πρωτεϊνών

(αλβουμίνη) διαπιστώθηκε ότι στις ίνες που περιείχαν s-PEG περιορίστηκε η προσρόφηση πρωτεϊνών. Από τα *in vitro* πειράματα με νωτιαία γάγγλια διαπιστώθηκε ότι οι ενεργοποιημένες ίνες PCL/sPEG μέσω των πεπτιδίων RGD, YIGSR είτε μέσω της πρωτεΐνης φιβρονεκτίνης ευνόησαν την κυτταρική ανάπτυξη, σε αντίθεση με τις μη ενεργοποιημένες ίνες PCL/sPEG, οι οποίες είναι απωθητικές για τα κύτταρα. Η μετανάστευση νευρικών κυττάρων και η ανάπτυξη αξόνων αυξήθηκαν με αυτή την τροποποίηση. Συμπερασματικά, βιολειτουργικές πολυμερικές ίνες από PCL/sPEG, παραγόμενες μέσω της τεχνική της ηλεκτροϊνοποίησης, με καλή αντίσταση στην μη ειδική προσρόφηση των πρωτεϊνών αποτελούν ένα κατάλληλο υπόστρωμα για βιολογικές και ιατρικές εφαρμογές.

References

- 1.R. Bellamkonda, *Peripheral nerve regeneration: An opinion on channels, scaffolds and anisotropy*, Biomaterials 27 (2006), 3515–3518
- 2.J. Xie, M. MacEwan, A. Schwartz, Y. Xia, *Electrospun nanofibers for neural tissue engineering*, Nanoscale 2 (2010), 35 - 44, DOI: 10.1039/b9nr00243j
- 3.K. Klinkhammer, J. Bockelmann, Ch. Simitzis, G. Brook, D. Grafahrend, J. Groll, M. Möller, J. Mey, D. Klee, *Functionalization of electrospun fibers of poly(ϵ -caprolactone) with star shaped NCO-poly(ethylene glycol)-stat-poly(propylene glycol) for neuronal cell guidance*, J Mater Sci: Mater Med (2010), DOI 10.1007/s10856-010-4112-7
- 4.E. Schnell, K. Klinkhammer, S. Balzer, G. Brook, D. Klee, P. Dalton, J. Mey, *Guidance of glial cell migration and axonal growth on electrospun nanofibers of poly- ϵ -caprolactone and a collagen/poly- ϵ -caprolactone blend*, Biomaterials 28 (2007), 3012–3025



Geminin represents a new regulator of cortical neural progenitor self-renewal and differentiation

Spella Magda¹, Kyrousi Christina¹, Kritikou Eva¹, Lygerou Zoi², Taraviras Stavros¹

¹ Department of Physiology, Medical School, University of Patras, Patras

² Department of General Biology, Medical School, University of Patras, Patras

Geminin is a protein with multiple functions in different biological systems. Geminin maintains genomic integrity by binding and inhibiting the DNA replication licensing factor Cdt1, thus ensuring that DNA replication occurs only once per cell cycle. On the other hand, Geminin has been assigned with various developmental roles during embryogenesis and organogenesis of several model organisms. In *Xenopus* and chick embryos, Geminin was found to promote neural cell fate acquisition. Geminin also regulates the function of transcription, chromatin remodeling and patterning factors with essential roles during embryonic development.

Cortical neurogenesis is a highly ordered process, requiring coordination of proliferation and differentiation with chromatin remodeling and transcriptional activity. Geminin can represent a link between these processes. We have previously shown that during development of the mouse embryonic cortex Geminin expression is high in the population of the neural progenitor cells. In order to elucidate Geminin *in vivo* role in the maintenance, lineage transition and differentiation of cortical neural progenitors we specifically deleted Geminin expression in the developing cortex by Cre recombinase activity. Our analysis shows that loss of Geminin delays the transition from the early progenitor population of neuroepithelial cells to the successive population of radial glial cells. This transient expansion of the neuroepithelial cell population resulted in the overproduction of apical, ventricular zone cortical progenitors. Moreover, Geminin deletion in the cortex affected the fate specification of the basal cortical progenitors of the subventricular zone. Accordingly, the increased numbers of cortical progenitors led to the generation of increased numbers of cortical neurons. Our study assigns Geminin with a significant role during cortical development in regulating progenitor lineage transition, ultimately affecting cortical neuron production.

Η Geminin ρυθμίζει την αυτο-ανανέωση και διαφοροποίηση των νευρικών προγονικών κυττάρων

Σπέλλα Μάγδα¹, Κυρούση Χριστίνα¹, Κρητικού Εύα¹, Λυγερού Ζωή², Ταραβήρας Σταύρος¹

¹ Εργαστήριο Φυσιολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα

² Εργαστήριο Γενικής Βιολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα

Η πορεία της νευρογένεσης στο φλοιό αποτελεί μια ιδιαίτερος οργανωμένη διαδικασία, που απαιτεί το λεπτό συντονισμό των μηχανισμών πολλαπλασιασμού και διαφοροποίησης. Η Geminin ρυθμίζει αποφάσεις μεταξύ πολλαπλασιασμού και διαφοροποίησης. Αναστέλλει τον παράγοντα αδειοδότησης της αντιγραφής του DNA Cdt1 και διασφαλίζει την πραγματοποίηση της αντιγραφής του γονιδιώματος μόνο μία φορά ανά κυτταρικό κύκλο, διατηρώντας με αυτόν τον τρόπο τη γονιδιωματική σταθερότητα. Στη Geminin έχουν αποδοθεί αναπτυξιακοί ρόλοι κατά την εμβρυογένεση και οργανογένεση. Η Geminin προωθεί την οριοθέτηση της νευρικής πλάκας και προάγει την έκφραση συγκεκριμένων πρώιμων νευρικών γονιδίων. Επίσης ρυθμίζει τη δράση μεταγραφικών και επιγενετικών παραγόντων όπως και παραγόντων αναδιαμόρφωσης της χρωματίνης.

Η Geminin εκφράζεται στα νευρικά προγονικά κύτταρα του αναπτυσσόμενου εγκεφαλικού φλοιού του μυός. Προκειμένου να διερευνήσουμε τον *in vivo* ρόλο της Geminin στις διαδικασίες αυτο-ανανέωσης, διαδοχής και διαφοροποίησης των νευρικών προγονικών κυττάρων του φλοιού, αδρανοποιήσαμε το γονίδιο της Geminin ειδικά στο συγκεκριμένο ιστό χρησιμοποιώντας την τεχνολογία του Cre-LoxP συστήματος. Τα αποτελέσματά μας υποδεικνύουν ότι η απώλεια



έκφρασης της Geminin στον αναπτυσσόμενο φλοιό είχε ως αποτέλεσμα την καθυστέρηση της μετάβασης από τα νευροεπιθηλιακά κύτταρα στα κύτταρα της ακτινωτής γλοίας. Αυτός ο παροδικός εμπλουτισμός του φλοιού με νευροεπιθηλιακά κύτταρα οδήγησε στην αυξημένη παραγωγή των μεταγενέστερων προγονικών κυττάρων της κοιλιακής ζώνης του φλοιού. Επιπρόσθετα, τα αποτελέσματά μας υποδεικνύουν ότι η Geminin συμμετέχει στη ρύθμιση του καθορισμού των νευρικών προγονικών κυττάρων της υποκοιλιακής ζώνης του φλοιού. Οι αυξημένοι πληθυσμοί νευρικών προγονικών κυττάρων που παρατηρούνται στον φλοιό των μύων που δεν εκφράζουν Geminin οδήγησαν στην παραγωγή αυξημένων αριθμών διαφοροποιημένων νευρώνων. Η μελέτη μας προσδίδει στην πρωτεΐνη Geminin ένα σημαντικό ρόλο κατά την ανάπτυξη του εγκεφαλικού φλοιού στη ρύθμιση της διαδοχής των διαφόρων νευρικών προγονικών πληθυσμών και εν τέλει στην παραγωγή των διαφοροποιημένων νευρώνων.

Investigating the role of Geminin in enteric neural crest cells

Stathopoulou A.¹, Natarajan D.², Spella M.¹, Karamitros D.¹, Lygerou Z.³, Pachnis V.²,
Taraviras S.¹

¹Laboratory of Physiology, and ³Laboratory of General Biology, Department of Medicine, University of Patras, Rio, Patras, Greece, ²Division of Molecular Neurobiology, National Institute for Medical Research, The Ridgeway, London NW7 1AA, UK

The enteric nervous system (ENS) is a complex network of neurons and glia within the gastrointestinal track that controls many aspects of intestinal function. The ENS arises mainly from neural crest cells that delaminate from the vagal level of the neural tube and migrate into and along the developing gut, within the mesenchyme. In mice this process starts at approximately embryonic day 9.5 (E9.5) and the colonization of the entire gastrointestinal track has been completed by E14.5. A wide range of molecules that are expressed by the gut mesenchyme influence the survival, proliferation, migration and differentiation of neural-crest-derived cells. In order to form a fully functional ENS, neural progenitor cells are required to coordinate proliferation, migration and differentiation. Towards this direction we are investigating the role of Geminin in the maintenance, migration and differentiation of self-renewing enteric progenitor cells. It has been suggested from studies in different experimental systems that Geminin is a molecule that inhibits DNA replication and interacts with transcription factors and chromatin modifying complexes regulating the balance between proliferation and differentiation. We have generated and analysed mice that lack Geminin expression specifically in neural crest cells. Our current analysis suggests that Geminin is necessary for the survival and the maintenance of NCCs in a non differentiating state.

Διερεύνηση του ρόλου της Geminin σε κύτταρα της νευρικής ακρολοφίας που δίνουν γένεση στο έντερο

Σταθοπούλου Α.¹, Natarajan D.², Σπέλλα Μ.¹, Καραμήτρος Δ.¹, Λυγερού Ζ.³, Πάχνης Β.²,
Ταραβήρας Σ.¹

¹Εργαστήριο Φυσιολογίας και ³Εργαστήριο Γενικής Βιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών, Ρίο, Πάτρα, Ελλάδα ² Division of Molecular Neurobiology, National Institute for Medical Research, The Ridgeway, London NW7 1AA, UK

Το εντερικό νευρικό σύστημα (ENS) αποτελείται από ένα περίπλοκο πλέγμα νευρώνων και κύτταρων γλοίας που βρίσκονται στο γαστρεντερικό σωλήνα και ελέγχει πολλές λειτουργίες του γαστρεντερικού συστήματος. Το ENS δημιουργείται κυρίως από κύτταρα της νευρικής ακρολοφίας (neural crest cells, NCCs) που εξέρχονται από το νευρικό σωλήνα (vagal level) και μεταναστεύουν προς το αναπτυσσόμενο έντερο. Η διαδικασία αυτή στους μύες αρχίζει περίπου την εμβρυική ημέρα 9.5 (E9.5) και έχει ολοκληρωθεί μέχρι την ημέρα E14.5. Μια πληθώρα μορίων που εκφράζονται στο εντερικό μεσέγγυμα ρυθμίζουν την επιβίωση, τον πολλαπλασιασμό, τη μετανάστευση και τη διαφοροποίηση των παραγώγων των κυττάρων της νευρικής ακρολοφίας. Προκειμένου να δημιουργηθεί ένα πλήρως λειτουργικό ENS τα πρόδρομα νευρικά κύτταρα πρέπει να συντονίσουν τις διαδικασίες του πολλαπλασιασμού, της μετανάστευσης και της διαφοροποίησης. Στην παρούσα εργασία μελετούμε το ρόλο της Geminin στη διατήρηση, τη μετανάστευση και διαφοροποίηση των αυτο-ανανεώμενων (self-renewing) εντερικών πρόδρομων κυττάρων. Μελέτες σε διαφορετικά πειραματικά συστήματα έχουν προτείνει ότι η Geminin είναι ένα μόριο που αναστέλλει την αντιγραφή του DNA και αλληλεπιδρά με μεταγραφικούς παράγοντες και με συμπλέγματα αναδιαμόρφωσης της χρωματίνης, ρυθμίζοντας την ισορροπία μεταξύ πολλαπλασιασμού και διαφοροποίησης. Έχουμε δημιουργήσει μύες στους οποίους το γονίδιο της Geminin έχει αποσιωπηθεί ειδικά στα κύτταρα της νευρικής ακρολοφίας. Τα αποτελέσματά μας δείχνουν ότι η Geminin είναι απαραίτητη για την επιβίωση και τη διατήρηση των NCCs σε μια μη διαφοροποιημένη κατάσταση.



Role of the orphan nuclear receptor NR5A2 in central nervous system development

Athanasios Stergiopoulos and Panagiotis Politis

Center for Basic Research, Biomedical Research Foundation of the Academy of Athens, 4 Soranou Efessiou Str. 115 27, Athens, Greece

NR5A2 is an orphan nuclear receptor that has been associated with liver differentiation and function. It plays an important role in early embryogenesis as knockout mice embryos die at E6.5. In addition, recent evidence suggests that NR5A2 can replace Oct4 in the reprogramming of murine somatic cells to pluripotent cells. We have recently shown that NR5A2 is involved in the Prox1-mediated suppression of *Notch1* gene expression during neuronal differentiation. However, the physiological function of NR5A2 in the nervous system is still undefined. To this end, we examined the expression pattern of NR5A2 in the developing central nervous system (CNS) of mouse and chick embryo. NR5A2 is widely expressed in the CNS, both in the ventricular (VZ) and mantle (MZ) zones, where progenitor and differentiated cells lie, respectively. Accordingly, NR5A2 is expressed in both nestin+ neuroepithelial cells and betaIII-tubulin+ and NeuN+ neurons. Most important, it is excluded from GFAP+ astrocytes suggesting a negative effect on astrogliogenesis. NR5A2+ cells are found in the telencephalon, midbrain, hindbrain, cerebellum, eye, basal ganglia, dorsal root ganglia and sympathetic ganglia. In the spinal cord, NR5A2 is detected in the motor- and inter- neuron areas showing higher levels of expression in the MZ rather than VZ, suggesting a correlation to neuronal differentiation. To further understand the role of NR5A2 in the regulation of proliferation versus differentiation decisions of neural stem cells (NSCs) during embryonic development, we performed *in vitro* gain of function experiments. Thus, in agreement with our *in vivo* and *in vitro* expression studies, showing that NR5A2 is largely excluded from the GFAP+ astrocytes, NR5A2 overexpression is sufficient to inhibit astrogliogenesis. These observations indicate an important function of NR5A2 in nervous system development.

Μελέτη του ρόλου του ορφανού πυρηνικού υποδοχέα NR5A2 στην ανάπτυξη του κεντρικού νευρικού συστήματος

Αθανάσιος Στεργιόπουλος και Παναγιώτης Πολίτης

Κέντρο Βασικής Έρευνας, Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών της Ακαδημίας Αθηνών, Σωρανού του Εφεσίου 4, 115 27, Αθήνα, Ελλάδα

Ο NR5A2 είναι ένας ορφανός πυρηνικός υποδοχέας που σχετίζεται με τη διαφοροποίηση και τη λειτουργία του ήπατος. Παίζει σημαντικό ρόλο στην πρόωμη εμβρυογένεση, καθώς τα 'knockout' ποντίκια πεθαίνουν την E6.5. Επίσης πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι ο NR5A2 μπορεί να αντικαταστήσει τον Oct4 στον επαναπρογραμματισμό των σωματικών κυττάρων ποντικού σε πολυδύναμα κύτταρα. Στις προηγούμενες μελέτες μας δείξαμε ότι ο NR5A2 συμμετέχει στην καταστολή της έκφρασης του *Notch1* γονιδίου από τον Prox1 κατά τη νευρωνική διαφοροποίηση. Εντούτοις, η φυσιολογική λειτουργία του NR5A2 στο νευρικό σύστημα δεν έχει ακόμα διευκρινιστεί. Για το σκοπό αυτό, αρχικά μελετήσαμε το πρότυπο έκφρασης του NR5A2 στο αναπτυσσόμενο κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ) του εμβρύου του ποντικού και της όρνιθας. Ο NR5A2 εκφράζεται ευρέως στο αναπτυσσόμενο ΚΝΣ, τόσο στην κοιλιακή ζώνη (ΚΖ) όσο και στην πλευρική ζώνη (ΠΖ), όπου βρίσκονται τα προγονικά και τα διαφοροποιημένα κύτταρα, αντίστοιχα. Σε συμφωνία με τα παραπάνω, ο NR5A2 εκφράζεται στα θετικά σε νεστίνη νευροεπιθηλιακά κύτταρα καθώς επίσης και σε νευρώνες οι οποίοι είναι θετικοί στη βIII-τουμπουλίνη και στη νευρο-ειδική πρωτεΐνη NeuN. Ιδιαίτερα σημαντική είναι η παρατήρηση πως ο NR5A2 αποκλείεται από τα GFAP+ αστροκύτταρα, προτείνοντας έτσι αρνητική επίδραση στην αστρογλιογένεση. Κύτταρα θετικά στον NR5A2 εντοπίζονται στον τελεγκέφαλο, στον μεσεγκέφαλο, στον ρομβεγκέφαλο, στην παρεγκεφαλίδα, στον οφθαλμό, στα βασικά γάγγλια, στα γάγγλια της ραχιαίας ρίζας (DRGs) και στα συμπαθητικά γάγγλια. Στο νωτιαίο μυελό, ο



NR5A2 εντοπίζεται στους κινητικούς και ενδιάμεσους νευρώνες παρουσιάζοντας υψηλότερα επίπεδα έκφρασης στην ΠΖ παρά στην ΚΖ, προτείνοντας μ' αυτό τον τρόπο έναν συσχετισμό με τη νευρωνική διαφοροποίηση. Για την καλύτερη κατανόηση του ρόλου του NR5A2 στη ρύθμιση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και της διαφοροποίησης των νευρικών βλαστικών κυττάρων (NBK) κατά την εμβρυική ανάπτυξη, πραγματοποιήσαμε *in vitro* πειράματα υπερ-έκφρασης. Έτσι, σε συμφωνία με τις *in vivo* και *in vitro* μελέτες έκφρασης, οι οποίες δείχνουν ότι ο NR5A2 δεν εκφράζεται στα GFAP+ αστροκύτταρα, η υπερ-έκφραση του NR5A2 στα NBK είναι επαρκής για να οδηγήσει σε καταστολή της αστρογλιογένεσης. Αυτές οι παρατηρήσεις υποδεικνύουν μία σημαντική λειτουργία του NR5A2 στην ανάπτυξη του νευρικού συστήματος.

Proteomics reveal that CEND1/BM88 interacts with cytoskeletal elements and calcium binding proteins.

Konstantinos Tsioras¹, Maria Gaitanou¹, Konstantinos Vougas², Angeliki Papadopoulou², George Tsangaris² and Rebecca Matsas¹

¹ Laboratory of Cellular and Molecular Neurobiology, Hellenic Pasteur Institute, 127 Vas.Sofias ave., 11521 Athens; ² BRFAA, Proteomics Research Unit, 4 Soranou Efesiou Street, 11527 Athens.

CEND1/BM88 protein is a neuronal-lineage specific modulator inducing cell cycle exit and neuronal differentiation *in vitro* and *in vivo*. This dual function of CEND1/BM88 protein is accomplished by (i) activation of the p53–pRb signaling pathway, (ii) cyclin D1 down-regulation and cytoplasmic sequestration and (iii) down-regulation of Notch signaling pathway. CEND1/BM88 is an integral membrane protein composed of two 23-kDa polypeptide chains linked together by disulfide bridges. It is anchored to the membrane of intracellular organelles, including the outer membrane of mitochondria and endoplasmic reticulum via a transmembrane domain so that the bulk of the protein faces towards the cytoplasm. In order to elucidate the precise mechanism of action of CEND1/BM88 protein and to reveal its protein-protein interactions, we performed GST-pull down assays in mouse brain homogenates followed by 2D-electrophoresis and MALDI-TOF mass-spectrometry. The analysis identified as potential CEND1/BM88 interacting partners cytoskeletal proteins, calcium binding proteins and enzymes related to metabolic pathways and oxidative stress. In particular, the cytoskeletal proteins betaIII-tubulin, alpha-internexin, lamin A/C and dihydropyrimidinase-related protein-2 were identified. Calcium homeostasis proteins included calmodulin and EF-hand calcium-binding domain-containing protein-8 while, the enzymes fructose-bisphosphate aldolase A/C, flavin reductase and peroxiredoxin-2 were also identified. Confirmation of these interactions *in vitro* and *in vivo* is in progress.

Πρωτεομική ανάλυση αποκαλύπτει πως η πρωτεΐνη CEND1/BM88 αλληλεπιδρά με στοιχεία του κυτταροσκελετού και πρωτεΐνες που δεσμεύουν ασβέστιο.

Κωνσταντίνος Τσιώρας¹, Μαρία Γαϊτάνου¹, Κωνσταντίνος Βουγάζ², Αγγελική Παπαδοπούλου², Γιώργος Τσάγκαρης² και Ρεβέκκα Μάτσα¹

¹Εργαστήριο Κυτταρικής και Μοριακής Νευροβιολογίας, Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ, Αθήνα, ²Μονάδα Πρωτεομικής, Ι.Ι.Β.Ε.Α. Αθήνα.

Η CEND1/BM88 είναι μία πρωτεΐνη της νευρωνικής γενεαλογίας που επάγει την έξοδο από τον κυτταρικό κύκλο και τη νευρωνική διαφοροποίηση τόσο *in vitro* όσο και *in vivo*. Ο διπλός ρόλος της CEND1/BM88 λαμβάνει χώρα μέσω i) της ενεργοποίησης του σηματοδοτικού μονοπατιού p53-Rb, ii) της μείωσης των επιπέδων της κυκλίνης D1 και μετατόπισής της στο κυτταρόπλασμα και iii) της καταστολής του σηματοδοτικού μονοπατιού του Notch. Η CEND1/BM88 είναι μία μεμβρανική πρωτεΐνη αποτελούμενη από δύο πολυπεπτιδικές αλυσίδες μεγέθους 23 kDa που συγκρατούνται μεταξύ τους με δισουλφιδικούς δεσμούς. Είναι αγκυροβολημένη στη μεμβράνη ενδοκυτταρικών οργανιδίων, όπως τα μιτοχόνδρια και το ενδοπλασματικό δίκτυο, μέσω ενός διαμεμβρανικού τμήματος, έτσι ώστε το κύριο τμήμα της πρωτεΐνης να εντοπίζεται στην κυτταροπλασματική πλευρά. Προκειμένου ν' αποσαφηνίσουμε τον ακριβή μηχανισμό δράσης της CEND1/BM88 και ν' αποκαλύψουμε τις πρωτεϊνικές της αλληλεπιδράσεις, πραγματοποιήσαμε GST καταβυθίσεις σε ομογενοποιημένα εγκεφάλων ποντικών, συνδυασμένες με διδιάστατες ηλεκτροφορήσεις και φασματογραφία μάζας. Από την ανάλυση που ακολούθησε, ταυτοποιήθηκαν ως εν δυνάμει αλληλεπιδρώσες πρωτεΐνες με την CEND1/BM88, πρωτεΐνες του κυτταροσκελετού, πρωτεΐνες που δεσμεύουν ασβέστιο και ένζυμα που σχετίζονται με μεταβολικά μονοπάτια και οξειδωτικό στρες. Ειδικότερα, ταυτοποιήθηκαν οι κυτταροσκελετικές πρωτεΐνες βIII-τουμπουλίνη, άλφα-ιντερνεξίνη, λαμίνη A/C και διυδροπυριμιδιδάση-σχετιζόμενη πρωτεΐνη 2. Στις πρωτεΐνες που συμμετέχουν στην ομοίωση του ασβεστίου, περιλαμβάνονται η καλμοδουλίνη και η πρωτεΐνη που περιέχει την περιοχή δέσμευσης του ασβεστίου «EF-hand». Τέλος, ταυτοποιήθηκαν και τα ένζυμα αλδολάση της διφωσφορικής φρουκτόζης A/C, ρεδουκτάση της φλαβίνης και η περόξυρεδοξίνη-2. Η επιβεβαίωση των παραπάνω αλληλεπιδράσεων *in vitro* και *in vivo* βρίσκεται σε εξέλιξη.



ΣΥΝΑΠΤΙΚΗ ΝΕΥΡΟΔΙΑΒΙΒΑΣΗ-ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗ

NEUROTRANSMISSION-SIGNALLING

**A signalosome formed between the δ -opioid receptor, STAT5B and G protein subunits:
possible mediator of neurite outgrowth**

Eirini-Maria Georganta, Adamantia Agalou, Zafiroula Georgoussi

**Laboratory of Cellular Signaling and Molecular Pharmacology, Institute of Biology,
N.C.S.R. «Demokritos», Athens, Greece**

The opioid receptors (μ , δ , κ) participate in mechanisms controlling neural growth, differentiation and synaptic plasticity (Christie, 2008). It seems, therefore, plausible to speculate that opioid receptors may modulate transcriptional pathways involving members of the STAT family. Previous work from our laboratory has shown that the conserved YXXL motif within the C-terminal tail of the μ -opioid receptor (μ -OR) serves as a docking site for STAT5A binding, with the latter being phosphorylated upon μ -OR stimulation (Mazarakou and Georgoussi, 2005). Given that the δ -opioid receptor (δ -OR) contains the same structural motif within its C-terminal tail (δ -CT), we have shown that STAT5B interacts also with this tetra-peptide of the δ -CT. Gi/o members are abundantly expressed in the brain and are enriched at neuronal growth cones (Bromberg et al., 2008). Agonist exposure of HEK293 cells, stably expressing the flag- δ -OR, led to a G protein-dependent STAT5B phosphorylation mediated by c-Src kinase. Additional studies indicated that δ -OR serves as a platform for the formation of a multi-component signaling complex, consisting of STAT5B, c-Src kinase, G $\beta\gamma$ and selective Gai/o protein subunits. Collectively our results uncover a novel signaling pathway through which a δ -OR-STAT5B-G protein signalosome might be involved in molecular mechanisms related to neurite outgrowth.

This work was supported by the EU grant «Normolife» (LSHC-CT2006-037733).

**Ένα πολύ-πρωτεϊνικό σύμπλοκο μεταξύ της STAT5B, του δ -οπιουειδούς υποδοχέα και των
G πρωτεϊνών ως πιθανός ρυθμιστής της ανάπτυξης των νευρώνων**

Ειρήνη-Μαρία Γεωργαντά, Αδαμαντία Αγάλου, Ζαφειρούλα Γεωργούση

**Εργαστήριο Κυτταρικής Σηματοδότησης και Μοριακής Φαρμακολογίας, Ινστιτούτο
Βιολογίας, Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. «Δημόκριτος», 153 10 Αγ. Παρασκευή Αττικής, Αθήνα**

Οι οπιοειδείς υποδοχείς (μ , δ , κ) εμπλέκονται σε μηχανισμούς ανάπτυξης και διαφοροποίησης των νευρικών κυττάρων και στη συναπτική πλαστικότητα αυτών (Christie, 2008) και τα σηματοδοτικά μονοπάτια που επάγονται κατά την ενεργοποίηση των υποδοχέων αυτών τροποποιούν διάφορους μεταγραφικούς παράγοντες. Προηγούμενες μελέτες του εργαστηρίου μας έδειξαν ότι το συντηρημένο YXXL μοτίβο στο καρβοξυτελικό άκρο του μ -οπιουειδούς υποδοχέα (μ -OR) αποτελεί σημείο αγκυροβόλησης για τον παράγοντα STAT5A, ο οποίος φωσφορυλιώνεται μετά την ενεργοποίηση του μ -OR (Mazarakou and Georgoussi, 2005). Δεδομένου ότι και ο δ -οπιουειδής υποδοχέας (δ -OR) περιέχει το ίδιο δομικό μοτίβο στο καρβοξυτελικό του άκρο (δ -CT), αποδείξαμε ότι η STAT5B αγκυροβολεί σε αυτή την περιοχή του δ -CT. Έκθεση των HEK293 κυττάρων, που εκφράζουν τον flag- δ -OR, σε δ -οπιουειδείς αγωνιστές οδηγεί στη Gai/o-εξαρτώμενη φωσφορυλίωση της STAT5B. Επιπλέον μελέτες έδειξαν ότι ο δ -OR λειτουργεί ως πλατφόρμα για το σχηματισμό ενός πολύ-πρωτεϊνικού συμπλόκου, αποτελούμενο από τη STAT5B, τη c-Src κινάση, τις G $\beta\gamma$ και επιλεκτικές Gai/o υπομονάδες των G πρωτεϊνών. Οι Gi/o υπομονάδες εκφράζονται ευρέως στον εγκέφαλο και ιδιαίτερα στους αναπτυσσόμενους νευρώνες (Bromberg et al., 2008). Το γεγονός ότι STAT5B αλληλεπιδρά με αυτές τις υπομονάδες αποκαλύπτει ένα νέο μηχανισμό μέσω του οποίου ο δ -OR θα μπορούσε να συμμετέχει στους μοριακούς μηχανισμούς που εμπλέκονται στην ανάπτυξη των νευρικών κυττάρων.

This work was supported by the EU grant «Normolife» (LSHC-CT2006-037733).

Two extracellular residues of CRF₁ most likely act as molecular switches to regulate distinct signalling pathways after their interaction with different ligands.

Kostas Gkountelias, Maria Georgiadou, Achilleas Gravanis and George Liapakis

Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, University of Crete

Corticotropin releasing factor (CRF) is a 41 amino acid peptide that plays a central role in the adaptation of the body to stress. These actions of CRF are mediated mainly through its interaction with the type 1 receptor (CRF₁) and the subsequent activation of different G-proteins and signalling pathways in different regions of the central nervous system. Dysregulation of CRF/CRF₁-neuronal circuits from stressful stimuli is closely associated with the appearance of anxiety and depression. The CRF₁ consists of seven plasma membrane-spanning segments, connected extracellularly with three loops. In the present study we found that Trp259 and Phe260 in the second extracellular loop of CRF₁ interact with the amino-terminal residues 9-11 of CRF and the corresponding ones of its related peptide, sauvagine. Among these interactions, only those of sauvagine with Trp259 and Phe260 are important for CRF₁-mediated stimulation of cAMP accumulation. These results suggest that Trp259 and Phe260 of CRF₁ possibly act as molecular switches to regulate distinct signalling pathways, or different sets of them, after their interaction with different ligands. We are now performing experiments to fully elucidate the signalling pathways that are regulated by the interaction of different peptides of CRF family with Trp259 and Phe260. These studies will put the basis for the development of CRF₁-selective selective signalling-specific drugs that would be extremely useful for the elucidation of the role of CRF₁ in the pathophysiology of anxiety and depression, as well as for the therapeutic treatment of these diseases.

Δυο εξωκυττάρια αμινοξέα του CRF₁ πολύ πιθανόν ενεργούν σαν μοριακοί διακόπτες που ρυθμίζουν διαφορετικές σηματοδοτικές οδούς μετά από αλληλεπίδραση τους με διαφορετικούς προσδέτες.

Κώστας Γκουντέλιος, Μαρία Γεωργιάδου, Αχιλλέας Γραβάνης και Γεώργιος Λιαπάκης

Εργαστήριο Φαρμακολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Κρήτης

Ο εκλυτικός παράγοντας της κορτικοτροπίνης (CRF) είναι ένα πεπτίδιο 41 αμινοξέων που παίζει κύριο ρόλο στην προσαρμογή του οργανισμού στο στρες. Οι δράσεις αυτές του CRF επιτελούνται κυρίως μέσω αλληλεπίδρασης του με τον τύπου 1 υποδοχέα του (CRF₁) και την επακόλουθη ενεργοποίηση διαφορετικών κυτταρικών σηματοδοτικών οδών σε διαφορετικές περιοχές του κεντρικού νευρικού συστήματος. Απορύθμιση των CRF/CRF₁-νευρωνικών κυκλωμάτων από στρεσογόνα ερεθίσματα σχετίζεται με την εμφάνιση άγχους και κατάθλιψης. Ο CRF₁ αποτελείται από επτά διαμεμβρανικές περιοχές (TMs), που εξωκυττάρια ενώνονται μεταξύ τους με τρεις βρόγχους. Στην παρούσα μελέτη βρήκαμε ότι τα Trp259 και Phe260 του δεύτερου εξωκυττάριου βρόγχου του CRF₁ αλληλεπιδρούν με τα αμινοτελικά αμινοξέα 9-11 του CRF και τα αντίστοιχα του σχετιζόμενου με αυτόν πεπτιδίου, σοβαγίνη. Από τις αλληλεπιδράσεις αυτές μόνο εκείνες της σοβαγίνης με τα Trp259 και Phe260 είναι σημαντικές για την ενεργοποίηση μέσω CRF₁ παραγωγής κυκλικού AMP. Τα αποτελέσματα αυτά οδηγούν στο συμπέρασμα ότι τα Trp259 και Phe260 του CRF₁ πιθανόν ενεργούν σαν μοριακοί διακόπτες που ρυθμίζουν διαφορετικές κυτταρικές σηματοδοτικές οδούς ή διαφορετικούς συνδυασμούς αυτών μετά από αλληλεπίδραση τους με διαφορετικούς προσδέτες. Πειράματα εν εξελίξει θα προσδιορίσουν τις σηματοδοτικές οδούς που ρυθμίζονται από την αλληλεπίδραση διαφορετικών πεπτιδίων της οικογένειας του CRF με τα Trp259 και Phe260. Οι μελέτες αυτές θα θέσουν τη βάση για την ανάπτυξη CRF₁-εκλεκτικών σηματοδοτικά-ειδικών φαρμάκων που θα συνεισφέρουν σημαντικά στη διασαφήνιση του ρόλου του CRF₁ στη παθοφυσιολογία του άγχους και της κατάθλιψης, καθώς και στη θεραπευτική αντιμετώπιση τους.

Obtaining information for the structure of a region of CRF₁ that is involved in the binding of CRF analogs with antidepressant and anxiolytic properties

Kostas Gkountelias, Tega Hribar, Mary Papadokostaki and George Liapakis

Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, University of Crete

The corticotropin releasing factor (CRF) is a 41 amino acid peptide, which, along with its type 1 receptor (CRF₁), plays a key role in the adaptation of the body to stress. Dysregulation of the CRF/CRF₁-neuronal circuits from stressful stimuli is closely associated with the appearance of anxiety and depression. Recently several non-peptide CRF₁-selective antagonists with antidepressant and anxiolytic effects have been synthesized, without however any of them being commercially available. All of the above render imperative the need for the design and synthesis of new antidepressant and anxiolytic CRF₁-selective drugs. This is however hampered by the lack of considerable structural and functional information of CRF₁, which consists of seven membrane-spanning segments (TMs). Recently we have shown that the TMs of CRF₁ form a water-accessible crevice, the surface of which must contain residues that contact ligands. In the present study we mapped the TM residues that form the surface of the CRF₁ crevice, by applying SCAM and starting from the extracellular portion of the third TM (TM3), which has been shown to be involved in ligand binding. In specific we mutated eight TM3 residues to Cys and tested their ability to react with the sulfhydryl-specific reagent, MTSEA. Four of these mutants reacted with MTSEA, suggesting that the side chains of the residues at the reactive loci (Thr192, Ala193, Tyr195, and Asn196) are on the surface of the CRF₁ crevice. The pattern of accessibility is consistent with an alpha-helical conformation for this portion of TM3. Thus, Thr192, Ala193, Tyr195, and Asn196 are candidates for interaction with the non-peptide CRF₁-selective antagonists, a hypothesis that is now being tested in our laboratory.

Λήψη πληροφοριών για τη δομή της περιοχής εκείνης του CRF₁ που εμπλέκεται στη δέσμευση των αναλόγων του CRF με αντικαταθλιπτικές και αγχολυτικές

Κώστας Γκουντέλιος, Tega Hribar, Μαρία Παπαδοκωστάκη και Γεώργιος Λιαπάκης

Εργαστήριο Φαρμακολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Κρήτης

Ο εκλυτικός παράγοντας της κορτικοτροπίνης (CRF) είναι ένα πεπτίδιο 41 αμινοξέων που μαζί με τον τύπου 1 υποδοχέα του (CRF₁), παίζει κύριο ρόλο στην προσαρμογή του οργανισμού στο στρες. Απορύθμιση των CRF/CRF₁-νευρωνικών κυκλωμάτων από στρεσογόνα ερεθίσματα σχετίζεται με την εμφάνιση άγχους και κατάθλιψης. Πρόσφατα έχουν συντεθεί μη πεπτιδικό CRF₁-εκλεκτικοί ανταγωνιστές με αντικαταθλιπτικές και αγχολυτικές δράσεις που όμως κανένας τους δεν είναι εμπορικά διαθέσιμος. Όλα τα παραπάνω καθιστούν επιτακτική την ανάγκη σύνθεσης νέων αντικαταθλιπτικών και αγχολυτικών CRF₁-εκλεκτικών φαρμάκων. Αυτό όμως εμποδίζεται από την έλλειψη επαρκούς πληροφορίας για τη δομή και λειτουργία του CRF₁. Ο CRF₁ αποτελείται από επτά διαμεμβρανικές περιοχές (TMs), που, όπως πρόσφατα δείξαμε, σχηματίζουν μια υδρόφιλη κοιλότητα η επιφάνεια της οποίας πρέπει να περιέχει θέσεις δέσμευσης προσδετών. Στην παρούσα μελέτη εφαρμόσαμε τη μέθοδο SCAM για να προσδιορίσουμε τα TM αμινοξέα που σχηματίζουν την επιφάνεια της κοιλότητας του CRF₁ ξεκινώντας από το εξωκυττάριο τμήμα της τρίτης TM (TM3), η οποία έχει βρεθεί ότι εμπλέκεται στη δέσμευση των μη πεπτιδικών CRF αναλόγων. Συγκεκριμένα μεταλλάξαμε οκτώ TM3 αμινοξέα σε Cys και εξετάσαμε την ικανότητα τους να αντιδρούν με το ειδικό για σουλφυδρύλια αντιδραστήριο, MTSEA. Από τις Cys αυτές τέσσερις αντέδρασαν με το MTSEA, οδηγώντας έτσι στο συμπέρασμα ότι τα αμινοξέα που υποκατέστησαν (Thr192, Ala193, Tyr195, and Asn196) βρίσκονται στην επιφάνεια της κοιλότητας του CRF₁ και ότι το τμήμα αυτό της TM3 βρίσκεται σε άλφα-ελικοειδή διαμόρφωση. Έτσι λοιπόν τα Thr192, Ala193, Tyr195 και Asn196 είναι υποψήφιοι για αλληλεπίδραση με τους μη πεπτιδικούς CRF₁-εκλεκτικούς ανταγωνιστές, μια υπόθεση που τώρα εξετάζεται στο εργαστήριο μας.

Regulators of G protein Signaling RGS4 and RGS2: novel modulators of delta and kappa opioid receptor signaling

Maria-Pagona Papakonstantinou, Leonidas Leontiadis, Fotis Nikolos, Michalis Sarris and Zafiroula Georgoussi

Laboratory of Cellular Signaling and Molecular Pharmacology, Institute of Biology, N.C.S.R. "Demokritos", 15310 Ag. Paraskevi, Athens

Regulators of G protein Signaling (RGS) comprise a large multifunctional protein family whose members possess intrinsic GAP activity that accelerates GTP hydrolysis from $G\alpha$ subunits, thus modulating G protein coupled receptor (GPCR) signaling and also act as effector antagonists. We have previously shown that the RGS4 directly interacts with mu and delta opioid receptors to regulate their signaling (Georgoussi et al., 2006, Leontiadis et al., 2009). To deduce whether there is selectivity in coupling between RGS proteins with the opioid receptors we tested the ability of other members of B/R4 RGS subfamily to interact with kappa (κ -OR) and delta (δ -OR) opioid receptors. Co-immunoprecipitation studies indicated that RGS4 and RGS2 associate with these receptors in living cells either constitutive or upon agonist stimulation of the receptor. Expression of RGS2 or RGS4 in cells expressing δ -OR or κ -OR showed that the two RGS proteins differentially modulated opioid receptor-mediated adenylyl cyclase inhibition and MAPK phosphorylation. RGS4, but not RGS2, was found to accelerate δ -OR internalization whereas the subcellular localization of both RGS was altered upon δ -OR stimulation. Collectively, our data show that although RGS2 and RGS4 are negative modulators of δ -OR and κ -OR, they differentially regulate their signaling.

Οι ρυθμιστές της σηματοδότησης μέσω G πρωτεϊνών RGS4 και RGS2: νέοι τροποποιητές της σηματοδότησης των δ και κ -οπιοειδών υποδοχέων.

Μαρία – Παγώνα Παπακωνσταντίνου, Λεωνίδας Λεοντιάδης Φώτης Νικολός, Μιχάλης Σαρρής, Ηρώ Γεωργούση

Εργαστήριο Κυτταρικής Σηματοδότησης και Μοριακής Φαρμακολογίας, Ινστιτούτο Βιολογίας, Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. «Δημόκριτος», 15310, Αγ. Παρασκευή, Αθήνα

Οι πρωτεΐνες-ρυθμιστές της σηματοδότησης μέσω G πρωτεϊνών (RGS) συνιστούν μία μεγάλη πολυλειτουργική πρωτεϊνική οικογένεια της οποίας τα μέλη φέρουν ενδογενή ενεργότητα GAP με την οποία επιταχύνουν την υδρόλυση του GTP από τις $G\alpha$ υπομονάδες και κατά συνέπεια τροποποιούν τη σηματοδότηση των υποδοχέων που συζεύγνυνται με G πρωτεΐνες (GPCR). Επίσης, δρουν ως ανταγωνιστές των τελεστών. Παλαιότερα αποτελέσματά μας είχαν δείξει ότι η RGS4 αλληλεπιδρά απευθείας με τους μ και δ οπιοειδείς υποδοχείς και τροποποιεί τη σηματοδότησή τους (Georgoussi et al., 2006, Leontiadis et al., 2009). Προκειμένου να διερευνήσουμε την ύπαρξη εκλεκτικότητας στη σύζευξη ανάμεσα στις RGS πρωτεΐνες και τους οπιοειδείς υποδοχείς ελέγξαμε την ικανότητα και άλλων μελών της B/R4 υποοικογένειας των RGS να αλληλεπιδράσουν με τον κ και τον δ -οπιοειδή υποδοχέα (κ -OR και δ -OR αντίστοιχα). Πειράματα συνανοσοκατακρήμνισης έδειξαν ότι οι RGS4 και RGS2 αλληλεπιδρούν με τους δυο υποδοχείς σε ζωντανά κύτταρα είτε απουσία είτε παρουσία επίδρασης αγωνιστή. Η έκφραση της RGS4 ή της RGS2 σε κύτταρα που εκφράζουν τον κ -OR ή τον δ -OR έδειξαν ότι οι δυο RGS πρωτεΐνες τροποποιούν με διαφορετικό τρόπο τη διαμεσολαβούμενη από τους οπιοειδείς υποδοχείς αναστολή της αδενυλικής κυκλάσης και τη φωσφορυλίωση των MAPK. Η RGS4 και όχι η RGS2 βρέθηκε επίσης ότι επιταχύνει την εσωτερική κυκλοφορία του δ -OR, ενώ ο υποκυτταρικός εντοπισμός και των δυο RGS πρωτεϊνών μεταβάλλεται μετά από την ενεργοποίηση του δ -OR με αγωνιστή. Συμπερασματικά, τα αποτελέσματά μας δείχνουν ότι τόσο η RGS4 όσο και η RGS2 είναι αρνητικοί ρυθμιστές του δ -OR και του κ -OR, ωστόσο επιδρούν με διαφορετικό τρόπο στη ρύθμιση της σηματοδότησης τους.

This work was supported by the EU grant «Normolife» (LSHC-CT2006-037733) to Z.G.

«In vitro» and «in vivo» studies of dopamine D1/ NMDA receptor interaction in rat hippocampus and prefrontal cortex: Involvement of ERK1/2 signalling

Konstantinos Sarantis¹, Eirini Tsiamakī¹, Katerina Antoniou², Nikolaos Matsokis³, Fevronia Angelatou¹

¹Physiology Department, Medical School, University of Patras, ²Department of Pharmacology, Medical School, University of Ioannina, ³Laboratory of Animal and Human Physiology, Department of Biology, University of Patras.

Many studies have demonstrated that the interactions between dopamine and glutamate receptors are essential for the hippocampal and prefrontal cortex (PFC) cognitive functions. In order to understand the molecular basis of dopamine/glutamate interactions in rat PFC and hippocampus, we investigated the effect of “in vitro” dopamine D1 receptor stimulation on glutamate NMDA and AMPA receptor subunits’ phosphorylation, as well as on ERK1/2 (Extracellular Regulated Kinase1/2) and DARPP-32 (Dopamine-and cyclicAMP-Regulated PhosphoProtein-32) phosphorylation/activation. Our results showed that stimulation of D1 receptor by the specific agonist SKF38393 (10 μ M) in PFC and hippocampal slices significantly increased the phosphorylation state of: a) NR1ser897 and NR2Bser1303 subunits of NMDA receptor, b) of GLUR1(ser831 and ser845) subunit of AMPA receptor and c) of ERK1/2, but not of DARPP-32. Interestingly, co-stimulation of D1 and NMDA receptors with an ineffective dose of SKF38393(2 μ M) and NMDA(5 μ M) respectively, elevated further the phosphorylation level of NMDA and AMPA receptor subunits, as well as of ERK1/2, but not of DARPP-32. The D1- and D1/NMDA-induced phosphorylations were totally inhibited by SL327 (specific ERK1/2 inhibitor). In conclusion, in PFC and hippocampus: a) a strong synergistic interaction of D1 and NMDA receptors exists, which results in a significant ERK1/2 pathway activation, b) The D1 and the D1/NMDA receptor induced phosphorylation of NMDA and AMPA receptor subunits seems to rely on ERK1/2 signalling and could to some extent underlie the enhancement of NMDA and AMPA receptor currents mediated by D1 receptor activation.

In order to investigate whether this synergistic interaction occurs also “in vivo” and to further examine its functional significance, we exposed the rats to a novel environment (open field exploration), which is known to evoke dopamine release in hippocampus and PFC. Our results showed that the “spatial” novelty induced in rat hippocampus and PFC: a) a significant increase in phosphorylation of NMDA and AMPA receptor subunits, as well as a robust phosphorylation/activation of ERK1/2 signalling, which are both dependent on the concomitant stimulation of D1/NMDA receptors and are both abolished by habituation, b) chromatin remodeling events (phosphorylation-acetylation of histone H3) and c) an increase in the immediate early genes cFos and zif268 expression in the CA1 region of hippocampus, which is dependent on the coactivation of D1/NMDA and muscarinic acetylcholine receptors. Our results indicate that: a) the phosphorylation of NMDA and AMPA receptor subunits could act as a ‘novelty detector’, since it is absent after habituation, b) the robust activation of ERK1/2 signalling elicited by “spatial” novelty, demands the synergistic interaction of D1/NMDA receptors and c) the activation of ERK1/2 pathway leads to chromatin remodeling events and expression of the immediate early genes cFos and zif268, which are required for the regulation of synaptic plasticity and memory consolidation.

«In vitro» και «in vivo» μελέτη της αλληλεπίδρασης των D1 υποδοχέων ντοπαμίνης με τους NMDA υποδοχείς γλουταμινικού οξέος στον ιππόκαμπο και στον προμετωπιαίο φλοιό επίμυος: Συμμετοχή του σηματοδοτικού μονοπατιού της ERK1/2 κινάσης

**Κωνσταντίνος Σαράντης¹, Ειρήνη Τσιαμάκη¹, Κατερίνα Αντωνίου²,
Νικόλαος Ματσώκης³, Φεβρωνία Αγγελάτου¹**

**¹Εργαστήριο Φυσιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών, ²Τμήμα
Φαρμακολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, ³Εργαστήριο Φυσιολογίας
Ανθρώπου και Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών.**

Πολλές εργασίες έχουν δείξει ότι οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ ντοπαμινεργικών και γλουταμινεργικών υποδοχέων είναι ιδιαίτερα σημαντικές για τις γνωστικές λειτουργίες του ιππόκαμπου και του προμετωπιαίου φλοιού. Προκειμένου να μελετήσουμε το μοριακό υπόβαθρο των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των ντοπαμινεργικών και γλουταμινεργικών υποδοχέων στο ιππόκαμπο και τον προμετωπιαίο φλοιό του επίμυος, εξετάσαμε «in vitro» την επίδραση της ενεργοποίησης των D1 υποδοχέων ντοπαμίνης στο επίπεδο φωσφορυλίωσης των υπομονάδων των NMDA και AMPA υποδοχέων γλουταμινικού οξέος, καθώς στην φωσφορυλίωση/ ενεργοποίηση του σηματοδοτικού μονοπατιού της ERK1/2 κινάσης, καθώς και της DARPP-32. Τα αποτελέσματά μας δείχνουν ότι η συνενεργοποίηση των D1 και NMDA υποδοχέων με ανενεργές δόσεις των ειδικών αγωνιστών τους SKF38393 (2 μ M) και NMDA (5 μ M) αντίστοιχα έχει ως αποτέλεσμα μια σημαντική αύξηση των επιπέδων φωσφορυλίωσης των υπομονάδων των NMDA και AMPA υποδοχέων, καθώς και της ERK1/2 κινάσης, αλλά όχι της DARPP-32. Συμπερασματικά, τα «in vitro» πειράματα δείχνουν στον ιππόκαμπο και στον προμετωπιαίο φλοιό να υφίσταται ισχυρή συνεργιστική αλληλεπίδραση μεταξύ των D1 και των NMDA υποδοχέων, η οποία οδηγεί στην ενεργοποίηση του σηματοδοτικού μονοπατιού της ERK1/2 κινάσης.

Προκειμένου να διερευνήσουμε εάν αυτή η συνεργιστική αλληλεπίδραση των D1/ NMDA υποδοχέων υφίσταται και «in vivo» και να εξετάσουμε περαιτέρω τη λειτουργική της σημασία, επιλέξαμε ένα φυσικό συμπεριφορικό τεστ, την εισαγωγή των πειραματόζωων σε «πρωτόγνωρο» περιβάλλον (ελεύθερη εξερεύνηση του χώρου). Η δοκιμασία αυτή είναι γνωστό ότι επάγει την αύξηση των επιπέδων ντοπαμίνης στον ιππόκαμπο και τον προμετωπιαίο φλοιό. Τα αποτελέσματα μας δείχνουν ότι η εισαγωγή των επίμυων στο «καινούργιο» περιβάλλον επάγει στον ιππόκαμπο και στον προμετωπιαίο φλοιό: α) μια σημαντική αύξηση των επιπέδων φωσφορυλίωσης των υπομονάδων των NMDA και AMPA υποδοχέων, καθώς και ισχυρή φωσφορυλίωση/ ενεργοποίηση του σηματοδοτικού μονοπατιού της ERK1/2 κινάσης, φαινόμενα τα οποία εξαρτώνται από τη σύγχρονη ενεργοποίηση των D1/ NMDA υποδοχέων, β) επιγενετικές τροποποιήσεις (φωσφορυλίωση/ ακετυλίωση της ιστόνης H3) και γ) αύξηση των πρωτεϊνικών επιπέδων έκφρασης των πρώιμων γονιδίων cFos και zif268 επιλεκτικά στη CA1 περιοχή του ιπποκάμπου, φαινόμενα τα οποία εξαρτώνται από την συνενεργοποίηση των D1/ NMDA υποδοχέων, καθώς και των μουσκαρινικών υποδοχέων ακετυλοχολίνης. Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα μας δείχνουν ότι: α) η φωσφορυλίωση των υπομονάδων των NMDA και AMPA υποδοχέων πιθανώς δρα ως «δείκτης του πρωτόγνωρου ερεθίσματος», δεδομένου ότι δεν εμφανίζεται μετά την «εξοικείωση» των επίμυων στο «καινούργιο» περιβάλλον, β) η ισχυρή ενεργοποίηση του σηματοδοτικού μονοπατιού της ERK1/2 κινάσης που επάγεται από το «νέο» ερέθισμα, απαιτεί τη συνεργιστική αλληλεπίδραση των D1/ NMDA υποδοχέων και γ) η ενεργοποίηση του μονοπατιού μεταγωγής σήματος της ERK1/2 κινάσης οδηγεί σε επιγενετικές αλλαγές και αύξηση της έκφρασης των πρώιμων γονιδίων cFos και zif268, φαινόμενα τα οποία απαιτούνται στη ρύθμιση της συναπτικής πλαστικότητας, καθώς και στις διαδικασίες της μνήμης και της μάθησης.

Functional expression and characterization of the human 5-hydroxytryptamine 4a receptor in insect cells

Panagiota Tsitoura, Alexandros Lioupis, Luc Swevers, Zafiroula Georgoussi¹ and Kostas Iatrou

Insect Molecular Genetics and Biotechnology Group, ¹Cellular Signaling and Molecular Pharmacology group, Institute of Biology, National Centre for Scientific Research 'Demokritos', 15310 Aghia Paraskevi Attikis

5-HT (serotonin) and its receptors are found both in the central and peripheral nervous system, as well as in non-neuronal tissues, e.g. in the heart and the gut. Among the many members of this complex family of neurotransmitter receptors, the 5-HT₄ receptors have received increasing attention due to their possible involvement in various pathophysiological conditions related to memory, cognition, gastrointestinal motility and cardiac arrhythmia. Here we describe the development of a reliable and efficient *in vitro* screening system for monitoring the activity of the human 5-HT_{4a} receptor. For this purpose, we have used an expression system based on lepidopteran cells and on genetic elements derived from the silkworm *Bombyx mori* and the *B.mori* nuclear polyhedrosis virus (BmNPV). The expression of the receptor in insect cells was initially confirmed by ligand-binding assays. More importantly, specific and real-time changes in cAMP and Ca²⁺ could be followed in 5-HT_{4a}-expressing cells, upon addition of serotonin and/or specific 5-HT₄ partial agonists or antagonists. This assay system could be used for high-throughput screening and evaluation of putative 5-HT₄ receptor agonists and antagonists.

Λειτουργική έκφραση και χαρακτηρισμός του ανθρώπινου υποδοχέα υδρόξυ-τρυπταμίνης τύπου 4a σε κύτταρα εντόμων

Παναγιώτα Τσίτουρα, Αλέξανδρος Λιούπης, Luc Swevers, Ζαφειρούλα Γεωργούση¹, Κώστας Ιατρού

Εργαστήριο Μοριακής Γενετικής Εντόμων και Βιοτεχνολογίας, ¹Εργαστήριο Κυτταρικής Σηματοδότησης και Μοριακής Φαρμακολογίας, Ινστιτούτο Βιολογίας, Εθνικό Κέντρο Έρευνας Φυσικών Επιστημών 'Δημόκριτος', 15310 Αγία Παρασκευή Αττικής

Η 5-υδρόξυ-τρυπταμίνη (σεροτονίνη) καθώς και οι υποδοχείς της απαντούν τόσο στο κεντρικό και το περιφερικό νευρικό σύστημα, όσο και σε άλλους, μη νευρικούς, ιστούς, π.χ. στην καρδιά και το έντερο. Πρόκειται για μία πολύπλοκη ομάδα υποδοχέων νευροδιαβιβαστών με πολλά μέλη, μεταξύ των οποίων η ομάδα των υποδοχέων τύπου 4 εμφανίζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον, λόγω πιθανής συσχέτισής τους με παθοφυσιολογικές καταστάσεις που σχετίζονται με την μνήμη, τις γνωσιακές λειτουργίες, την κινητικότητα του γαστρεντερικού σωλήνα, καθώς και την καρδιακή αρρυθμία. Ο σκοπός της παρούσης εργασίας ήταν η ανάπτυξη ενός αξιόπιστου και αποτελεσματικού ετερόλογου συστήματος μελέτης του ανθρώπινου υποδοχέα 5-HT_{4a}. Για τον σκοπό αυτό χρησιμοποιήσαμε το σύστημα έκφρασης που βασίζεται σε κύτταρα λεπιδοπτερών εντόμων, καθώς και σε γενετικά στοιχεία από τον μεταξοσκώληκα *Bombyx mori* και τον ιό πυρηνικής πολυέδρωσης BmNPV. Η έκφραση του υποδοχέα στο σύστημα αυτό αρχικά επιβεβαιώθηκε με δοκιμασίες πρόσδεσης ραδιοενεργά σημασμένης σεροτονίνης. Στη συνέχεια, αναπτύχθηκαν δοκιμασίες για την παρακολούθηση στα κύτταρα που εκφράζουν τον υποδοχέα, σε πραγματικό χρόνο, των αλλαγών στα επίπεδα των cAMP και Ca²⁺, μετά την προσθήκη σεροτονίνης ή/και των ειδικών, για τον τύπο 5-HT₄, μερικών αγωνιστών και ανταγωνιστών. Το ετερόλογο αυτό σύστημα έκφρασης του υποδοχέα 5-HT₄ θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για την ταχεία ανίχνευση και αξιολόγηση πιθανών αγωνιστών και ανταγωνιστών.

Effects of repeated administration of the CB1 receptor agonist WIN55, 212-2 on GABA-A and NMDA receptors in the rat brain

Fanarioti Eleni¹, Mitsacos Ada², Panagis George³ and Giompres Panagiotis¹

¹University of Patras, Dept Biology, Lab of Human and Animal Physiology, Patras, Greece;

²University of Patras, Faculty Medicine, Dept Physiology, Patras, Greece; ³University of Crete, Dept Psychology, Lab Behavioral Neuroscience, Rethymno, Greece.

The endogenous cannabinoid system interacts effectually with other neurotransmitter systems at the presynaptic and postsynaptic levels regulating in this way brain function. CB1 receptors are highly expressed in several brain areas, including the basal ganglia, exerting a modulatory control on glutamate release, GABAergic activity and synaptic plasticity. In the present study we examined whether repeated administration of the CB1 receptor agonist WIN55, 212-2 affected GABA and glutamate receptor binding in rat basal ganglia and the hippocampus. For this purpose, rats received daily injections of WIN55, 212-2 (0.1, 0.3 and 1 mg/kg, ip) for 20 days. Following the last injection, rats were euthanized, brains removed, frozen, sectioned in a cryostat and stored until they were processed for autoradiographic binding studies for GABA-A and NMDA receptors. Repeated administration of WIN55, 212-2, decreased GABA-A receptor binding in the dorsal striatum, and substantia nigra, while it was increased in the CA1, the CA2 and the dentate gyrus of the hippocampus at the dose of 0.3 mg/kg. Decreases were also observed in NMDA receptor binding in the hippocampus, in nucleus accumbens and in striatum. Our results provide insight into the possible neuroadaptive changes induced in the GABAergic and glutamatergic systems after repeated administration of the CB1 receptor agonist WIN55, 212-2. Supported by a grant from the University of Patras, Grant number: C902 (Caratheodory) and by Polembros Shipping Limited

Φαναριώτη Ελένη¹, Μητσάκου Άντα², Παναγής Γεώργιος³ και Γιομπρές Παναγιώτης¹

¹Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Βιολογίας, Εργαστήριο Φυσιολογίας Ανθρώπου και Ζώων,

²Πανεπιστήμιο Πατρών, Ιατρική Σχολή, Τμήμα Φυσιολογίας, ³Πανεπιστήμιο Κρήτης, Τμήμα Ψυχολογίας, Εργαστήριο Νευροεπιστημών και Συμπεριφοράς, Ρέθυμνο, Κρήτη

Το ενδογενές σύστημα κανναβινειδών αλληλεπιδρά αποτελεσματικά με τα υπόλοιπα νευροδιαβιβαστικά συστήματα τόσο στο προσυναπτικό όσο και στο μετασυναπτικό επίπεδο, ρυθμίζοντας με αυτόν τον τρόπο τη λειτουργία του εγκεφάλου. Οι CB1 υποδοχείς ασκούν ρυθμιστικό έλεγχο στην απελευθέρωση του γλουταμικού, τη GABAεργική δραστηριότητα και τη συναπτική πλαστικότητα. Στη παρούσα μελέτη εξετάσαμε κατά πόσο η συστηματική χορήγηση του αγωνιστή του CB1 υποδοχέα, WIN55,212-2 επηρεάζει τη δέσμευση των υποδοχέων του GABA και του γλουταμικού στα βασικά γάγγλια και τον ιππόκαμπο επίμυων. Για το σκοπό αυτό, οι επίμυες δέχονταν καθημερινά ένεση με WIN55,212-2 (0.1, 0.3 and 1 mg/kg) ενδοπεριτοναϊκά για 20 ημέρες. Μετά την τελευταία ένεση, οι επίμυες θανατώθηκαν, οι εγκεφαλοι απομονώθηκαν, πάγωσαν, κόπηκαν σε λεπτές κρυστομές και αποθηκεύθηκαν μέχρι να πραγματοποιηθούν πειράματα *in vitro* αυτοραδιογραφίας για τους υποδοχείς GABA-A και NMDA. Η συστηματική χορήγηση του WIN55,212-2, προκάλεσε μείωση της δέσμευσης για τους GABA-A υποδοχείς στο ραχιαίο ραβδωτό, και στη μέλανα ουσία, ενώ προκάλεσε αύξηση στις CA1, CA2 και στην οδοντωτή έλικα του ιπποκάμπου, στη δόση 0.3mg/kg. Μείωση παρατηρήθηκε επίσης, στη δέσμευση του NMDA υποδοχέα στον ιππόκαμπο, στον επικλινή πυρήνα και στο ραβδωτό. Τα αποτελέσματα μας υποδεικνύουν νευροπροσαρμοστικές αλλαγές που προκαλούνται στο GABAεργικό και γλουταμινεργικό σύστημα μετά τη συστηματική χορήγηση του αγωνιστή του CB1 υποδοχέα, WIN55,212-2.

Το έργο υποστηρίζεται από επιχορήγηση του Πανεπιστημίου Πατρών, Πρόγραμμα Καραθεοδωρή (C902) και από τη Polembros Shipping Limited.



Spinophilin is a novel interacting partner of the δ -opioid receptor

Danai-Dionysia Fourla, Adamantia Agalou, Eirini-Maria Georganta, Maria-Pagona Papakonstantinou, Zafiroula Georgoussi

Laboratory of Cellular Signaling and Molecular Pharmacology, Institute of Biology, N.C.S.R. «Demokritos», Athens, Greece

Ample experimental evidence has demonstrated that opioid receptors can physically interact with a variety of accessory proteins, confirming that signal transduction of these receptors is not restricted to heterotrimeric G protein activation. Spinophilin is a ubiquitous multidomain-scaffold protein that modulates synaptic transmission. Using GST fusion peptides encompassing the C-terminal (δ -CT) and the third intercellular ($i3$ -L) of the δ -opioid receptor (δ -OR) we demonstrate that spinophilin interacts directly with the δ -CT and the $i3$ -L. Spinophilin associates constitutively with the δ -OR in living cells and agonist stimulation of the receptor does not alter this interaction. Expression of spinophilin in HEK293 cells enhanced DSLET-mediated adenylyl cyclase inhibition. Mapping the sites of interaction within the δ -CT revealed that spinophilin interacts within the predicted fourth intercellular loop of δ -OR as part of a signaling complex consisting of the δ -OR, RGS4 and spinophilin. Additional studies have shown that the receptor binding domain of spinophilin is responsible for δ -OR association. Collectively our data demonstrate that spinophilin is a new pharmacological target that modulates δ -OR signalling.

Σπινοφιλίνη μια νέα ρυθμιστική πρωτεΐνη του δ -οπιοειδούς υποδοχέα

Δανάη-Διονυσία Φούρλα, Αδαμαντία Αγάλου, Ειρήνη-Μαρία Γεωργαντά, Μαρία – Παγόνα Παπακωνσταντίνου και Ζαφειρούλα Γεωργούση

Εργαστήριο Κυτταρικής Σηματοδότησης και Μοριακής Φαρμακολογίας, Ινστιτούτου Βιολογίας, Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. «Δημόκριτος», 153 10 Αγ. Παρασκευή Αττικής, Αθήνα

Οι οπιοειδείς υποδοχείς αλληλεπιδρούν με πολλές συνοδές πρωτεΐνες, ενισχύοντας την υπόθεση ότι η κυτταρική σηματοδότηση αυτών των υποδοχέων δεν περιορίζεται μονό στο επίπεδο των G πρωτεϊνών. Η σπινοφιλίνη είναι μια πρωτεΐνη ικρίωματος που εμπλέκεται στη συναπτική νευροδιαβίβαση και πλαστικότητα των νευρώνων. Με τη χρήση χιμαιρικών πεπτιδίων από επιλεγμένες περιοχές του δ -οπιοειδούς υποδοχέα (δ -OR) όπως το καρβοξυτελικό άκρο (μ -CT) και τη τρίτη ενδοκυτταρική θηλιά ($i3$ -L) βρήκαμε ότι η σπινοφιλίνη προσδένεται σε αυτά τις περιοχές του δ -OR. Πειράματα συν-ανοσοκατακρήμνησης σε κύτταρα HEK293 έδειξαν επίσης ότι η σπινοφιλίνη αλληλεπιδρά ιδιόσυστατα στον δ -OR και η ενεργοποίηση του υποδοχέα δεν επηρεάζει τα επίπεδα πρόσδεσης της. Έκφραση της σπινοφιλίνης σε HEK293 κύτταρα ενδυναμώνουν την παρεμποδιστική δράση του δ -οπιοειδούς αγωνιστή DSLET στην αδενυλική κυκλάση. Χαρτογράφηση των περιοχών αλληλεπίδρασης του δ -CT έδειξαν ότι η σπινοφιλίνη αλληλεπιδρά στην έλικα VIII του δ -OR σχηματίζοντας ένα τριμερές σύμπλοκο με την RGS4 και τον δ -OR. Η σπινοφιλίνη από την άλλη πλευρά, προσδένεται μέσω της ειδικής περιοχής πρόσδεσης για υποδοχείς που διαθέτει. Συμπερασματικά τα αποτελέσματά μας δηλώνουν ότι η σπινοφιλίνη είναι ένας νέος φαρμακολογικός στόχος που τροποποιεί την κυτταρική σηματοδότηση του δ -οπιοειδούς υποδοχέα.



**ΝΕΥΡΟΕΠΙΣΤΗΜΗ ΤΗΣ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑΣ: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ
ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΑΠΟ ΤΗ ΒΑΣΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ ΚΑΙ ΚΛΙΝΙΚΕΣ
ΠΡΟΕΚΤΑΣΕΙΣ**

**BEHAVIORAL NEUROSCIENCE: FROM BASIC RESEARCH TO
CLINICAL APPLICATIONS**

Drosophila Neurofibromin is required in GABAergic neurons presynaptic to the Mushroom Bodies for ALK/NF1/ERK mediated associative olfactory learning.

Anthi Apostolopoulou, Anastasios Moresis and Efthimios Skoulakis

Institute of Cellular and Developmental Biology, BSRC "Alexander Fleming" 16672, Vari, Greece

Drosophila Neurofibromin (dNF1) is required for associative olfactory learning. Neurofibromatosis type 1 (*dNf1*) mutants exhibit learning deficits, which can be rescued by targeted re-expression of NF1 in the central nervous system. We have previously shown that the receptor tyrosine kinase Anaplastic Lymphoma Kinase (ALK) and NF1 control the ERK signaling pathway and interact genetically to regulate associative learning. In this study we conducted a screen to identify the specific neuronal subsets where NF1 is required for associative olfactory learning. We targeted the re-expression of dNf1 within different neuronal subsets of *dNf1* null mutants and used our classical olfactory conditioning assay to test whether we can rescue their impaired learning phenotype. We show that NF1 is required in GABAergic neurons that project to the Mushroom Bodies (MBs), the main olfactory learning and memory center in insects, but is dispensable in the MBs for learning. To further confirm our results, we rescued NF1 learning deficits by genetically limiting ERK signaling in these neurons. Additionally, we are investigating the role of NF1 in cAMP/PKA mediated associative olfactory learning in neurons downstream of the MBs by manipulating this pathway activation in the *Nf1* mutants.

Η Δροσοφιλική Νευροϊνωμίνη είναι απαραίτητη στους GABAεργικούς νευρώνες προσυναπτικά των Μανιταροειδών Σωματίων για την συνειρμική οσφρητική μάθηση που διέπεται από το μονοπάτι της ALK/NF1/ERK.

Ανθή Αποστολοπούλου, Αναστάσιος Μωρέσης και Ευθύμιος Σκουλάκης

Ινστιτούτο Κυτταρικής και Αναπτυξιακής Βιολογίας, ΕΚΕΒΕ «Αλέξανδρος Φλέμιγκ», 16672, Βάρη

Η Δροσοφιλική Νευροϊνωμίνη (dNF1) είναι απαραίτητη για τη συνειρμική οσφρητική μάθηση. Τα μεταλλάγματα της Νευροϊνωμάτωσης τύπου 1 (*dNf1*) εμφανίζουν μαθησιακές διαταραχές, οι οποίες μπορούν να αναστραφούν με στοχευμένη έκφραση της NF1 στο κεντρικό νευρικό σύστημα. Έχουμε δείξει προηγουμένως ότι ο υποδοχέας κίνησης τυροσίνης, κίνηση του Αναπλαστικού Λεμφώματος (ALK) και η NF1 ελέγχουν το σηματοδοτικό μονοπάτι της ERK και αλληλεπιδρούν γενετικά για να ρυθμίσουν τη συνειρμική μάθηση. Σ' αυτή τη μελέτη διεξήγαμε μία γενετική σάρωση για να ταυτοποιήσουμε συγκεκριμένα υποσύνολα νευρώνων στα οποία η NF1 παίζει ρόλο στην οσφρητική συνειρμική μάθηση. Στοχεύσαμε την έκφραση της NF1 σε διαφορετικά υποσύνολα νευρώνων σε *dNf1* μεταλλάγματα και χρησιμοποιήσαμε την κλασική οσφρητική εξαρτημένη δοκιμασία για να ελέγξουμε αν μπορούμε να αναστρέψουμε το φαινότυπο της μαθησιακής διαταραχής που εμφανίζουν. Δείχνουμε ότι η NF1 χρειάζεται στους GABAεργικούς νευρώνες που προβάλλουν στα Μανιταροειδή Σωματία (ΜΣ), το βασικό κέντρο οσφρητικής μάθησης και μνήμης στα έντομα, αλλά δεν είναι απαραίτητη στα ΜΣ για τη μάθηση. Για να επιβεβαιώσουμε τα αποτελέσματά μας, αναστρέψαμε τις μαθησιακές διαταραχές της NF1 περιορίζοντας γενετικά τη σηματοδότηση της ERK σε αυτούς τους νευρώνες. Επιπρόσθετα, διερευνούμε το ρόλο της NF1 στη συνειρμική οσφρητική μάθηση που διέπεται από το μονοπάτι του cAMP/PKA σε νευρώνες καθοδικά των ΜΣ, μεταβάλλοντας την ενεργότητα αυτού του μονοπατιού στα *Nf1* μεταλλάγματα.



Rewarding and frustrating experience early in life: Vulnerability vs plasticity, for better or for worse?

Diamantopoulou Anastasia 1, Stamatakis Antonios 1, Raftogianni Androniki.1, Oitzl Melly.S.2, Stylianopoulou Fotini.1

1. Biology-Biochemistry Laboratory, School of Health Sciences, University of Athens, Papadiamantopoulou 123, 11527, Athens, Greece

2. Division of Medical Pharmacology, Gorlaeus Laboratoria, LACDR/LUMC, Division of Medical Pharmacology, Einsteinweg 55, 2300 RA Leiden, Leiden University, The Netherlands

Being the focus of research in psychobiology for a long time, early life experience is shown to shape behaviour and brain development to match the demands of the environment to be faced in adulthood, with the exact biological mechanisms remaining elusive. In an attempt to reproduce experimentally the effects of neutral, positive or negative neonatal experience on adult behaviour and brain function we have developed a paradigm that uses the variation in reinforcement of the neonate's behavior, in which mother contact is used as either a positive (rewarding) or negative (frustrative) reinforcer in a T-maze, during postnatal days 10-13. These early life variations in reinforcement have been hypothesized to lead to differential HPA axis (re)activity early in life and altered maturational processes in related brain areas, affecting behaviour in adulthood. In the neonatal period, during the days of training, the frustrative experience led initially to a stress response but the system was to habituate progressively over training days. On the contrary, continuous reward sustained stress hormone levels low. Animals frustrated or rewarded as neonates were tested in several cognitive and emotionally loaded challenges in the adulthood, on the notion that different levels of adversity in the neonatal life would lead to different behavioural patterns and coping strategies according to the match-mismatch concept. Interestingly, animals frustrated as neonates are more engaged in active play in adolescence and showed enhanced spatial memory and increased flexibility in the Morris water maze, reduced freezing in the Fear Conditioning paradigm, increased immobility time in the Forced Swim test, and increased aggression in the social defeat test, in adulthood, when compared to animals rewarded as neonates. The HPA-axis response of frustrated animals varies according to the severity of the stressor, an indication of increased flexibility and adaptability. In conclusion, there seems to be an interplay between the type of experience acquired early in life and the challenging demands of the later life, in a way that a stressful early life can prepare infants for a stressful adult life, but it can also increase the probability of maladaptation depending on the accumulated adversity load. In other words, challenging the brain in critical points during its maturation process makes individuals more susceptible to environmental influences—for better and for worse.

This work has been supported by the Special Account for Research Grants-University of Athens.

**Ο ρόλος των πρώιμων εμπειριών ματαίωσης και ανταμοιβής στο δίπολο
ευπάθειας/πλαστικότητας: η εφαρμογή του yin-yang στη λειτουργία του εγκεφάλου**

**Διαμαντοπούλου Αναστασία (1), Σταματάκης Αντώνης (1), Ραφτογιάννη Ανδρονίκη (1)
Oitzl Melly.S.(2), Στυλιανοπούλου Φωτεινή (1)**

- 1. Εργαστήριο Βιολογίας-Βιοχημείας, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Παπαδιαμαντοπούλου 123, 11527, Αθήνα**
- 2. Τομέας Ιατρικής Φαρμακολογίας, Gorlaeus Laboratoria, LACDR/LUMC, Einsteinweg
55, 2300 RA Leiden, Πανεπιστήμιο Leiden, Ολλανδία**

Οι πρώιμες εμπειρίες βρίσκονται εδώ και πολλά χρόνια στο επίκεντρο του ενδιαφέροντος στην επιστήμη της ψυχο-βιολογίας, καθώς έχει διαπιστωθεί ότι διαμορφώνουν τόσο την ανάπτυξη του εγκεφάλου όσο τη συμπεριφορά με τέτοιο τρόπο ώστε να πληρούνται οι απαιτήσεις του περιβάλλοντος στο οποίο πρόκειται να εκτεθεί το άτομο κατά την ενήλικη ζωή. Σε μια προσπάθεια να αναπαραχθούν πειραματικά οι επιδράσεις μιας ουδέτερης, θετικής ή αρνητικής πρώιμης εμπειρίας στη συμπεριφορά και τη λειτουργία του εγκεφάλου στην ενήλικη ζωή αναπτύξαμε ένα μοντέλο το οποίο βασίζεται στην ενίσχυση ή μη της συμπεριφοράς του νεογνού ανάλογα με την ποιότητα της επαφής του με τη μητέρα, σε ένα λαβύρινθο σχήματος T, κατά τις μεταγεννητικές μέρες 10-13. Θετική εμπειρία χαρακτηρίστηκε η απρόσκοπτη επαφή με τη μητέρα, ως ανταμοιβή για την επιτυχημένη επίδοση στο λαβύρινθο, ενώ αρνητική ο αποκλεισμός της επαφής με τη μητέρα, ως ματαιωτική μη ανταμοιβή σε όλη τη διάρκεια της εκπαίδευσης στο λαβύρινθο. Η μελέτη βασίστηκε στην υπόθεση ότι αυτές οι διαφορές στην ενίσχυση οδηγούν σε αλλαγές στην ωρίμανση του εγκεφάλου και στην απαντητικότητα του άξονα του στρες, τόσο στη νεογνική περίοδο όσο και στην ενήλικη ζωή. Πράγματι, διαπιστώσαμε ότι η ματαιωτική εμπειρία κατά τη νεογνική ζωή σχετίζεται με ενεργοποίηση του άξονα Υποθάλαμος-Υπόφυση-Επινεφρίδια, ενώ η εμπειρία ανταμοιβής διατηρεί τα επίπεδα των ορμονών του στρες χαμηλά. Κατά την εφηβεία παρατηρήθηκε αυξημένο ενδιαφέρον των πειραματόζωων που είχαν εκτεθεί σε συνεχόμενη ματαίωση στη νεογνική ζωή για ενεργό κοινωνικό παιχνίδι, σε σχέση με πειραματόζωα που είχαν εκτεθεί σε ανταμοιβή ως νεογνά. Στην ενήλικη ζωή, η πρώιμη εμπειρία της ματαίωσης συνδέθηκε με βελτιωμένη χωρική μνήμη και συμπεριφορική ευελιξία στη δοκιμασία του υδάτινου λαβυρίνθου κατά Morris, μειωμένο χρόνο ακινησίας στη δοκιμασία μαθημένου φόβου, αυξημένο χρόνο επίπλευσης στη δοκιμασία εξαναγκασμένης κολύμβησης και σε αυξημένη επιθετικότητα κατά τη δοκιμασία κοινωνικής ήττας. Επιπλέον, παρατηρήθηκε ότι η απόκριση του άξονα ΥΥΕ των ζώων που είχαν υποβληθεί στην εμπειρία της ματαίωσης ως νεογνά ποικίλει ανάλογα με την ένταση της πρόκλησης, γεγονός που υποδηλώνει δυνατότητα ευελιξίας και προσαρμοστικότητας. Συμπερασματικά, φαίνεται ότι υπάρχει αλληλεπίδραση μεταξύ του είδους της πρώιμης εμπειρίας και των προκλήσεων που καλείται να αντιμετωπίσει το άτομο στη μετέπειτα ζωή, με τέτοιο τρόπο ώστε συχνά η προηγούμενη εμπειρία να προετοιμάζει τα νεαρά άτομα για τις μετέπειτα δυσκολίες. Ταυτόχρονα, ένα ιστορικό αρνητικών εμπειριών μπορεί να αυξήσει τις πιθανότητες ευπάθειας και μειωμένης προσαρμοστικότητας ως αποτέλεσμα του συσσωρευμένου φορτίου στρες λόγω απρόβλεπτης αλλαγής συνθηκών.



Modelling cognitive deficits of Fragile X Syndrome in *Drosophila melanogaster*

Alexandros K. Kanellopoulos, Efthimios M. C. Skoulakis

Institute of Cellular and Developmental Biology, B.S.R.C. "Al. Fleming", Vari 16672-Greece

Fragile X syndrome (FXS), the most common inherited mental retardation, is caused by alterations of the *FMR1* gene. The protein (FMRP), is involved in mRNA export, localization and translational regulation, especially at particular synapses and also mediates neurite extension, guidance and branching. Individuals with FXS display a range of behavioural deficits with mild to severe mental retardation, attention deficit disorder, memory deficits, autism, sleep disorders, and anxiety among others.

We focus on modelling the range of learning disabilities of FXS patients in *Drosophila* based on loss-of function mutants of *dfmr1*, the single homolog of the *FMR1* gene in the fly genome. To increase sensitivity such that the model might be sensitive to pharmacological amelioration we use heterozygous mutants and tissue and temporally controlled RNA-interference.

We report that surprisingly *dfmr1 heterozygous* mutants exhibit robust deficits in non-associative learning (habituation) and olfactory associative learning and memory. The habituation deficits may reflect the attention deficits, autism and schizophrenia experienced by human FXS patients. These deficits can be rescued by transgenes carrying the full length genomic fragment that harbours the wild type *dfmr1* gene. Significantly, associative learning and non-associative defects can be restored in *dfmr1* mutants by feeding adult flies with mGluR antagonists and cAMP agonists, clearly indicating at least some of the biochemical causes for the deficits and suggesting combinatorial pharmaceutical methods to ameliorate the symptoms in patients. These data complement genetic interaction evidence and high resolution behavioural analyses suggesting altered processing and salience of stimuli requisite for associative learning and memory. Furthermore, we will report on our attempt to address the question of whether these effects of partial *dfmr1* loss can be localized to particular neurons within the adult CNS using RNAi.

Η διερεύνηση των γνωσιακών ελλειμμάτων του Συνδρόμου Εύθραστου X στην *Drosophila melanogaster*

Αλέξανδρος Κ. Κανελλόπουλος, Ευθύμιος Σκουλάκης

Ινστιτούτο κυτταρικής και Αναπτυξιακής Βιολογίας, Ε.ΚΕ.Β.Ε «Αλ. Φλέμινγκ», Βάρη, Αθήνα

Το Σύνδρομο του Εύθραστου X (Fragile X Syndrome, FXS) είναι η δεύτερη πιο κοινή αιτία κληρονομήσιμης πνευματικής καθυστέρησης μετά το σύνδρομο Down, και η πιο συχνή περίπτωση μονογονιδιακού νοσήματος. Το FXS οφείλεται σε μεταλλάξεις στο γονίδιο *Fmr1* στο X χρωμόσωμα ενώ η πρωτεΐνη FMRP σχετίζεται με την έξοδο του mRNA από τον πυρήνα, τη ρύθμιση της μετάφρασης, ειδικότερα στις συνάψεις, ενώ παράλληλα συμμετέχει στην επιμήκυνση και την μετανάστευση των νευρώνων. Άτομα με FXS εκδηλώνουν διάφορες διαταραχές συμπεριφοράς, από μέτρια μέχρι και σοβαρή πνευματική καθυστέρηση, ελλειμματική προσοχή, διαταραχές μνήμης, αυτισμό, διαταραχές στον ύπνο, καθώς επίσης και αγχώδεις εκδηλώσεις.

Στην παρούσα εργασία διερευνάμε το εύρος των διαταραχών μάθησης των ασθενών με FXS, χρησιμοποιώντας το μοντέλο της δροσόφιλας, που βασίζεται σε μεταλλαγμένα στελέχη του γονιδίου *dfmr1*, το μοναδικό ομόλογο του γονιδίου FMR1 στο γένωμα της μύγας.

Παρατηρούμε ότι τα ετερόζυγα μεταλλαγμένα στελέχη για το γονίδιο *dfmr1* παρουσιάζουν ανωμαλίες στη μη συνειρμική (εξοικείωση) και οσφρητική συνειρμική μάθηση και μνήμη. Οι διαταραχές στην εξοικείωση μπορεί να αντανακλούν την ελλειμματική προσοχή, τον αυτισμό και τη σχιζοφρένεια, όπως συμβαίνει και στους ανθρώπους με FXS. Αυτές οι ανωμαλίες των



μεταλλαγμένων στελεχών μπορούν να διασωθούν, ταΐζοντας τα ενήλικα ζώα με ανταγωνιστές των mGluRs και αγωνιστές του cAMP, υποδεικνύοντας έτσι μερικές από τις βιοχημικές αιτίες των διαταραχών και προτείνοντας συνδυαστικές φαρμακευτικές μεθόδους για τη βελτίωση των συμπτωμάτων των ασθενών. Τα αποτελέσματα αυτά συμπληρώνουν τα δεδομένα από γενετικές αλληλεπιδράσεις και συμπεριφορικές αναλύσεις υψηλής ευκρίνειας, υποδηλώνοντας διαταραχές στην επεξεργασία και στην κρίση των ερεθισμάτων, τα οποία απαιτούνται για την συνδυαστική μάθηση και μνήμη. Επιπλέον, γίνεται προσπάθεια να απαντήσουμε στην ερώτηση του κατά πόσο αυτές οι επιδράσεις της μερικής έλλειψης του γονιδίου *dfmr1* μπορεί να εντοπίζονται σε συγκεκριμένους νευρώνες μέσα στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα των ενήλικων ατόμων, χρησιμοποιώντας την τεχνολογία του RNAi.

Reaction Time variability in Schizophrenia

Thomas Karantinos^a, Nicholas C. Stefanis^{a,c}, John Hatzimanolis^a, Ioannis Evdokimidis^b,
Nikolaos Smyrnis^{a,b}

^a 1st Psychiatry Department, National and Kapodistrian University of Athens, Eginition Hospital, Athens, ^b Cognition and Action Group, Neurology Department, National and Kapodistrian University of Athens, Eginition Hospital, Athens, ^c University Mental Health Research Institute, Athens

Slower mean Reaction Time (RT), known as Psychomotor Slowing (PS) is well documented in patients suffering from schizophrenia in a wide array of tasks. However, the phenomenon of increased RT variability that patients show and its relation to specific characteristics of the disease has attracted very little attention. In order to study the RT distribution in patients we administered two different oculomotor tasks: the saccade and the anti-saccade task. In the saccade task a group of 53 patients was compared with a group of 1089 control subjects. Results showed that despite the fact the two groups did not differ significantly in median RT, the patients group had significantly increased RT variability suggesting basic differences in the shape of the RT distribution. In the anti-saccade task 45 patients were compared with a group of 2006 control subjects. In this task there is clear PS with the median RT of patients being significantly greater than the one for the control group. Furthermore, the patient group showed increased RT variability when compared to the control group. A similar increase in RT variability was also observed for the error pro-saccadic movements despite the fact that median RTs did not differ significantly between the two groups. The patient group also showed an increased error rate when compared to controls and that was the single only performance index that was positively correlated with increased RT variability. The above results lead us to the conclusion that PS cannot account for the increase in RT variability seen in patients and this increase is a dissociated phenomenon, occurring always despite the presence or not of PS. RT variability can be a good candidate endophenotype in schizophrenia and it is possible to be related with information processing deficits and altered prefrontal function. Lastly, RT variability has been correlated with certain allele variations on genes that are implicated with the pathogenesis of the disease like COMT and RGS4.

Μεταβλητότητα του χρόνου αντίδρασης στην Σχιζοφρένεια

Θωμάς Καραντίνος^α, Νικόλαος Κ. Στεφανής^{α,γ}, Ιωάννης Χατζημανώλης^α, Ιωάννης
Ευδοκιμίδης^β, Νικόλαος Σμυρνής^{α,β}

^α 1^η Ψυχιατρική Κλινική, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αιγινήτειο Νοσοκομείο, Αθήνα, ^β Μονάδα Γνωσιακής Νευροφυσιολογίας, Νευρολογική κλινική, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αιγινήτειο Νοσοκομείο, Αθήνα, ^γ Ερευνητικό Πανεπιστημιακό Ινστιτούτο Ψυχικής Υγιεινής, Αθήνα

Οι ασθενείς με σχιζοφρένεια εμφανίζουν παρατεταμένους χρόνους αντίδρασης (Χ.Α.) σε μια μεγάλη ομάδα δοκιμασιών, ένα φαινόμενο που είναι γνωστό σαν ψυχοκινητική καθυστέρηση (Ψ.Κ.) και είναι επαρκώς μελετημένο. Παρ' όλα αυτά πολύ λίγες μελέτες έχουν γίνει πάνω στην αυξημένη μεταβλητότητα που εμφανίζουν οι Χ.Α. των ασθενών καθώς και την σχέση που μπορεί να έχει αυτή η αύξηση με χαρακτηριστικά της νόσου. Με σκοπό να μελετήσουμε τα χαρακτηριστικά της κατανομής του Χ.Α. υποβάλαμε ασθενείς με σχιζοφρένεια σε 2 διαφορετικές οφθαλμοκινητικές δοκιμασίες Χ.Α.: την σακκαδική και αντι-σακκαδική δοκιμασία. Στην σακκαδική δοκιμασία 53 ασθενείς συγκρίθηκαν με μια ομάδα 1089 φυσιολογικών ατόμων. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι ενώ ο μέσος Χ.Α. της ομάδας των ασθενών δεν διαφέρει σημαντικά από αυτόν των φυσιολογικών η κατανομή των Χ.Α. στους ασθενείς παρουσιάζει αυξημένη μεταβλητότητα και είναι διαφορετική από αυτή των φυσιολογικών ατόμων, υπονοώντας



Βασικές αλλαγές στο σχήμα της κατανομής. Στην αντι-σακκαδική δοκιμασία 45 ασθενείς συγκρίθηκαν με ομάδα 2006 φυσιολογικών ατόμων. Σε αυτήν την δοκιμασία υπάρχει σαφής Ψ.Κ. με τον μέσο Χ.Α των ασθενών στις σωστές αντι-σακκαδικές κινήσεις να διαφέρει σημαντικά από αυτόν των φυσιολογικών. Επίσης η κατανομή του Χ.Α. στην ομάδα των ασθενών παρουσιάζει αυξημένη μεταβλητότητα σε σύγκριση με την ομάδα των φυσιολογικών. Παρόμοια αύξηση στην μεταβλητότητα παρουσιάζεται και στην κατανομή του Χ.Α για τις λάθος προ-σακκαδικές κινήσεις ενώ οι μέσοι Χ.Α. δεν διαφέρουν σημαντικά ανάμεσα στις 2 ομάδες. Επίσης ο αριθμός των λαθών είναι αυξημένος στην ομάδα των ασθενών και είναι ο μόνος δείκτης επίδοσης που δείχνει θετική συσχέτιση με την αυξημένη μεταβλητότητα του Χ.Α. των σωστών αντι-σακκαδικών. Τα παραπάνω αποτελέσματα μας οδηγούν στο συμπέρασμα ότι το φαινόμενο της αυξημένης μεταβλητότητας του Χ.Α. δεν εξηγείται από την ύπαρξη της Ψ.Κ και φαίνεται να υπάρχει ανεξάρτητα από την ύπαρξη ή όχι αυτής σε μια δοκιμασία. Η μεταβλητότητα του Χ.Α. ανεξαρτήτως δοκιμασίας μπορεί να αποτελέσει πιθανό ενδοφαινότυπο για την νόσο και μπορεί να σχετίζεται με γνωσιακές διαταραχές επεξεργασίας πληροφορίας και διαταραγμένη προμετωπιαία λειτουργία. Τέλος, η μεταβλητότητα του Χ.Α. έχει συσχετισθεί με πολυμορφισμούς σε γονίδια εμπλεκόμενα στην παθογένεια της σχιζοφρένειας όπως η COMT και το RGS4.



Computational Modeling of the Fear Memory Trace

George Kastellakis^{1,2}, Kyriaki Sidiropoulou^{1,2} and Panayiota Poirazi²

¹Dept. of Biology, University of Crete, ²Computational Biology Lab, I.M.B.B., F.O.R.T.H.,
Vassilika Vouton, PO Box 1385, 71110 Heraklion

The amygdala is a subcortical area with a well-known role in emotional memories, such as fear memory. A number of recent studies have used advanced molecular techniques to investigate the formation of fear memory during Pavlovian fear conditioning. Using a replication-defective herpes viral vector, the expression of the transcription factor CREB was artificially increased in a subset of neurons of the lateral nucleus of the amygdala (LA). Neurons with increased CREB levels were preferentially recruited in the fear memory trace, and ablation or reversible inactivation of these neurons disrupted the fear memory. CREB neurons are activated more easily and fire more action potentials, and this increased excitability may facilitate their recruitment in the memory trace. In order to investigate the formation of the fear memory trace, we created a computational model of lateral amygdala neurons using integrate-and-fire neurons with plastic, hebbian synapses. By modeling the time course of CREB expression, we aim to study the encoding of distinct time-related memories by overlapping neuronal populations. This project is funded by a Marie Curie International Outgoing Fellowship (2010-2012).

Υπολογιστική μελέτη του μνημονικού αποτυπώματος της κλασικής εξάρτησης φόβου

Καστελλάκης Γιώργος^{1,2}, Κυριακή Σιδηροπούλου^{1,2}, και Παναγιώτα Ποϊράζη²

¹Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Κρήτης, ²Εργαστήριο Υπολογιστικής Βιολογίας,
I.M.B.B., I.T.E., Βασιλικά Βουτών, Τ.Θ. 1385, 71110 Ηράκλειο

Η αμυγδαλή είναι μια υποφλοιϊκή περιοχή που ενέχεται στην συναισθηματική μνήμη, όπως είναι η μνήμη φόβου. Ο μηχανισμός με τον οποίο δημιουργείται το μνημονικό αποτύπωμα στην κλασική εξάρτηση φόβου έχει διερευνηθεί σε ένα αριθμό πρόσφατων πειραμάτων με πρωτοποριακές μοριακές μεθόδους. Με τεχνικές μεταφοράς γονιδίων μέσω ιϊκού φορέα σε νευρώνες του πυρήνα της πλάγιας αμυγδαλής (LA) έχει δείχθει ότι οι νευρώνες που εκφράζουν υψηλότερα επίπεδα του μεταγραφικού παράγοντα CREB επιλέγονται κατά προτεραιότητα να κωδικοποιήσουν τη μνήμη φόβου, καθώς και ότι καταστροφή ή αναστρέψιμη απενεργοποίηση των νευρώνων αυτών αναστέλει τη μνήμη φόβου. Οι νευρώνες που εκφράζουν αυξημένα επίπεδα CREB εμφανίζουν μεγαλύτερη διεγερσιμότητα, που μπορεί να είναι ο υποκείμενος μηχανισμός για την επιλογή των νευρώνων αυτών στο μνημονικό αποτύπωμα. Για να εξεταστεί η διαδικασία κωδικοποίησης του αποτυπώματος της εξάρτησης φόβου δημιουργήθηκε ένα υπολογιστικό μοντέλο της πλάγιας αμυγδαλής με σημειακούς νευρώνες ολοκλήρωσης και τις ανάλογες συναπτικές συνδέσεις. Ο μηχανισμός επιλογής νευρώνων βασίζεται στην πλαστικότητα κατά Hebb κατά την διαδικασία εκμάθησης του δικτύου. Με μοντελοποίηση της δυναμικής της εκφρασης του CREB στο χρόνο, σκοπός είναι να μελετηθεί η δυνατότητα πληθυσμών νευρώνων να εκφράζουν χρονικά σχετιζόμενες μνήμες καθώς και η αλληλεπίδραση τους.

Η έρευνα αυτή χρηματοδοτείται από μια υποτροφία Marie Curie (IOF).

Ref: Silva, A., Zhou, Y., Rogerson, T., Shobe, J., Balaji, J. (2009) Molecular and cellular approaches to memory allocation in neural circuits. Science 326, 391

Effects of mood stabilizers in an animal model of euphoric mania: Implications for understanding the neurobiology and advancing the pharmacotherapy of bipolar disorder

Maria Mavrikaki¹, George G. Nomikos² and George Panagis¹

¹Laboratory of Behavioral Neuroscience, Department of Psychology, University of Crete, Rethymno, Greece. ²Takeda Global Research & Development Center, Inc., Deerfield, Illinois 60015, U.S.A.

Bipolar disorder is a severe neuropsychiatric disorder characterized by alternating episodes of depression and mania. The precise aetiology and pathophysiology of the disease have not been clearly defined, which might be partially due to the absence of relevant animal models. An animal model which may be particularly useful in the study of mood states is the intracranial self-stimulation (ICSS) paradigm. Besides, psychostimulant administration can produce a wide range of mania-like behaviors, including euphoria-increased reward. In the present study, we utilized the ICSS paradigm combined with amphetamine administration to study euphoria and increased hedonistic drive, both of which are often observed in bipolar patients. First, we examined the effects of acute and chronic administration of lithium chloride (LiCl), valproic acid (VPA), combined administration of subthreshold doses of LiCl and VPA and aripiprazole (Ari) on brain stimulation reward (BSR) and on amphetamine-induced facilitation of BSR. Acute administration of LiCl, VPA, combination of subthreshold doses of LiCl and VPA or Ari increased ICSS threshold in a dose-dependent manner, indicating an anhedonic effect. LiCl, the combination of LiCl and VPA, and Ari attenuated amphetamine-induced facilitation of BSR. In contrast, VPA failed to attenuate amphetamine-induced facilitation of BSR. Chronic administration of LiCl and the combination of LiCl and VPA induced tolerance to the anhedonic effect of the drugs, whereas VPA and Ari demonstrated a sustained anhedonic effect. Interestingly, after chronic administration, only Ari attenuated amphetamine-induced facilitation of BSR. In contrast to the acute effects, chronic LiCl and the combination of LiCl and VPA failed to alter the reward-facilitating effect of amphetamine. The inability of LiCl and the combination of LiCl and VPA to attenuate the reward-facilitating effect of amphetamine after chronic administration might imply drug-induced neuroadaptations and treatment resistance in the clinic. Studies are in progress to elucidate the neurobiological substrate of these effects that might be useful in the development of more selective substances with promising therapeutic value in bipolar disorder.

This research was funded by a grant (KA 2761) from the Research Committee of the University of Crete.

**Επιδράσεις σταθεροποιητικών της διάθεσης σ' ένα ζωικό πρότυπο ευφορικής μανίας:
Προεκτάσεις στη διαλεύκανση της νευροβιολογίας και στην προαγωγή της
φαρμακοθεραπείας της διπολικής διαταραχής**

Μαρία Μαυρικάκη¹, Γιώργος Γ. Νομικός² και Γιώργος Παναγής¹

¹Εργαστήριο Νευροεπιστημών και Συμπεριφοράς, Τμήμα Ψυχολογίας, Παν/μιο Κρήτης, Ρέθυμνο, Ελλάδα. ²Takeda Global Research & Development Center, Inc., Deerfield, Illinois, U.S.A.

Η διπολική διαταραχή είναι μια σοβαρή νευροψυχιατρική διαταραχή που χαρακτηρίζεται από εναλλασσόμενα επεισόδια κατάθλιψης και μανίας. Η ακριβής αιτιολογία και παθοφυσιολογία της διαταραχής δεν είναι γνωστές, γεγονός που εν μέρει μπορεί να σχετίζεται με την ανυπαρξία σχετικών ζωικών προτύπων. Ένα ζωικό πρότυπο που μπορεί να αποδειχτεί χρήσιμο στη μελέτη της διάθεσης είναι ο ενδοκρανιακός αυτοερεθισμός (EA). Επιπλέον, η χορήγηση ψυχοδιεγερτικών προκαλεί ποικίλες συμπεριφορικές εκδηλώσεις που ομοιάζουν με τη μανία, όπως η ευφορία και η αυξημένη ανταμοιβή. Στην παρούσα μελέτη αξιοποιήσαμε το πρότυπο του EA παράλληλα με τη χορήγηση αμφεταμίνης για να μελετήσουμε την ευφορία και αυξημένη ηδονή που εμφανίζουν συχνά οι διπολικοί ασθενείς. Αρχικά μελετήσαμε τις επιδράσεις της οξείας και χρόνιας χορήγησης χλωριούχου λιθίου (ΧΛ), βαλπροϊκού οξέος (ΒΟ), συγχορήγησης



μη δραστικών δόσεων ΧΛ και ΒΟ και αριπιπραζόλης (Α) στην ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού και στην ενισχυτική δράση της αμφεταμίνης στον ΕΑ. Η οξεία χορήγηση σταθεροποιητικών της διάθεσης αύξησε κατά ένα δοσο-εξαρτώμενο τρόπο τον ουδό ΕΑ, υποδεικνύοντας ανηδονική δράση. Το ΧΛ, η συγχορήγηση ΧΛ και ΒΟ και η Α, σε αντίθεση με το ΒΟ, μείωσαν την ενισχυτική δράση της αμφεταμίνης στον ΕΑ. Η χρόνια χορήγηση ΧΛ και η συγχορήγηση ΧΛ και ΒΟ προκάλεσαν αντοχή στην ανηδονική δράση των φαρμάκων, ενώ το ΒΟ και η Α εμφάνισαν σταθερή ανηδονική δράση. Αξιοσημείωτο είναι ότι μετά από χρόνια χορήγηση μόνο η Α μείωσε την ενισχυτική δράση της αμφεταμίνης στον ΕΑ. Σε αντίθεση με την οξεία χορήγηση, η χρόνια χορήγηση ΧΛ και η χρόνια συγχορήγηση ΧΛ και ΒΟ δεν επηρέασαν την ενισχυτική δράση της αμφεταμίνης στον ΕΑ, γεγονός που πιθανότατα σχετίζεται με φαρμακοεπαγόμενες νευροπροσαρμογές και μη απόκριση στη θεραπεία σε κλινικό επίπεδο. Σε εξέλιξη βρίσκονται μελέτες με σκοπό τη διαλεύκανση του νευροβιολογικού υποστρώματος των επιδράσεων αυτών και απώτερο στόχο την ανάπτυξη νέων, πιο εκλεκτικών ουσιών με θεραπευτική δράση στη διπολική διαταραχή.

Αυτή η μελέτη χρηματοδοτήθηκε από την Επιτροπή Ερευνών του Πανεπιστημίου Κρήτης (ΚΑ 2761).



Differential effects of pre and post-training administration of anesthetic ketamine on rat's recognition memory. Functional interaction with the nitrengic system.

Antonios Boultradakis and Nikolaos Pitsikas

Department of Pharmacology, School of Medicine, University of Thessaly, Larissa, Greece

There is poor experimental evidence concerning the effects of anesthetic doses of the non-competitive NMDA receptor antagonist ketamine on rodent's memory abilities. The present study was designed to investigate a) the long-term consequences of pre-and post-training administration of anesthetic ketamine on rats' recognition memory; b) to evaluate whether or not these effects are related to the hypothermic properties of ketamine; and c) to evaluate whether or not the nitric oxide synthase inhibitor L-NAME (1, 3, 10 mg/kg, i.p.) was able to counteract the expected behavioural deficits produced by anesthetic ketamine. For this aim, the novel object recognition and the object location paradigm were selected. Pre and post-training administration of ketamine (100 mg/kg; i.p.) disrupted animals' performance, although to a different extent, in both these recognition memory paradigms. These findings indicate that anesthetic ketamine impaired both spatial and non-spatial recognition memory. Hypothermia-induced by this NMDA receptor antagonist and the type (spatial vs. non-spatial) of the behavioural paradigm utilized seem to affect rats' recognition memory abilities. Finally, L-NAME (1-3, but not 10 mg/kg) antagonized this deficit on cognition produced by anesthetic ketamine indicating that an NO component modulates these effects.

Διαφορετικές επιδράσεις αναισθητικών δόσεων κεταμίνης επί της αναγνωριστική μνήμη επίμυων. Λειτουργική αλληλεπίδραση με το μονοξειδίο του αζώτου.

Αντώνιος Μπουλταδάκης και Νικόλαος Πιτσίκας

Εργαστήριο Φαρμακολογίας, τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα

Υπάρχουν περιορισμένα πειραματικά δεδομένα σχετικά με την επίδραση αναισθητικών δόσεων της κεταμίνης, ενός μη συναγωνιστικού ανταγωνιστή του υποδοχέα NMDA, επί της μνήμης. Στην παρούσα μελέτη διερευνήθηκαν α) οι μακροχρόνιες επιδράσεις της χορήγησης αναισθητικής κεταμίνης στα διαφορετικά συστατικά της αναγνωριστικής μνήμης (καταγραφή, αποθήκευση και ανάκληση), β) το ενδεχόμενο οι παρατηρηθείσες επιδράσεις της αναισθητικής κεταμίνης να σχετίζονται με τις υποθερμικές ιδιότητες του φαρμάκου, γ) το ενδεχόμενο αναστροφής της προκαλούμενης από την αναισθητική κεταμίνη αμνησίας, μετά από χορήγηση του αναστολέα της συνθέσεως του μονοξειδίου του αζώτου L-NAME (1, 3, 10 mg/kg, i.p.). Για το σκοπό αυτό επιλέχθηκαν η δοκιμασία αναγνώρισης νέου αντικειμένου και η δοκιμασία αναγνώρισης χώρων. Χορήγηση αναισθητικής κεταμίνης (100 mg/kg; i.p.) πριν και μετά το πρώτο στάδιο της πειραματικής δοκιμασίας αναγνώρισης αντικειμένων προκάλεσε διαταραχές, αν και σε διαφορετική έκταση, τόσο στη μη χωρική όσο και στη χωρική αναγνωριστική μνήμη των επίμυων. Η υποθερμία που προκάλεσε η αναισθητική κεταμίνη, αλλά και ο τύπος της συμπεριφορικής διαδικασίας (χωρική-μη χωρική) που χρησιμοποιήθηκε είχαν διαφορετική επίδραση στην αναγνωριστική μνήμη των επίμυων. Τέλος το L-NAME (1-3, αλλά όχι 10 mg/kg) αντέστρεψε τις γνωσιακές διαταραχές που προκάλεσε η αναισθητική κεταμίνη υποδεικνύοντας ότι το μονοξειδίο του αζώτου εμπλέκεται στη διαδικασία αυτή.

Effects of mobile phone radiation on the NOR performance in *Mus musculus* mice strain c57bl/6

Maria P. Ntzouni¹, Antony Stamatakis² and Lukas H. Margaritis¹

¹Electromagnetic Biology Lab, Dept of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, &
²Biology – Biochemistry Lab, Faculty of Nursing, School of Health Sciences, University of Athens

The effects of mobile phone electromagnetic field (EMF) was studied at 3 different time points by the “novel object recognition” task (NOR) following daily 90 min mobile phone (MP) irradiation of *Mus musculus*, c57bl/6 mice. In the first time point exposure was present only during the habituation, the training and the testing sessions but not during the 10 min intertrial interval (ITI). In the second time point, after 17 days of daily exposure, NOR was performed in the presence of EMF only during the ITI phase. Finally at the third time point NOR was performed one day after 37 days of exposure without any MP radiation during all the trials. Discrimination index was largely reduced in the second ORT protocol ($p < 0, 05$), whereas a decrease was also seen in the two other ORT protocols suggesting intermediate memory deficits induced by EMF. Thus, discrimination ability was lower in the case of irradiation during both memory acquisition and retrieval phase, and becomes worst when irradiation takes place even only during the consolidation phase, suggesting that the primary EMF target may be ion channels, synapses, etc in the information transfer pathway connecting the entorhinal - parahippocampal - hippocampal regions.

M.P.Ntzouni is a doctoral fellowship recipient of the Special Account for Research Grants, Athens University

Διαταραχή της επίδοσης μύων *Mus musculus* στελέχους c57bl/6 σε δοκιμασία NOR υπό την επήρεια κινητού τηλεφώνου σε λειτουργία

Μαρία Π. Ντζούνη¹, Αντώνης Σταματάκης² και Λουκάς Χ. Μαργαρίτης¹

¹Εργ. Ηλεκτρομαγνητικής Βιολογίας, Τομέας Βιολογίας Κυττάρου & Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας & ²Εργ. Βιολογίας-Βιοχημείας, Τμήμα Νοσηλευτικής, Σχολή Επιστημών Υγείας ΕΚΠΑ

Στην έρευνα αυτή πραγματοποιήσαμε έκθεση μύων *Mus musculus* στελέχους C57Bl/6 στην ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία συμβατικού κινητού τηλεφώνου για 1 ½ ώρες ημερησίως επί 37 συνολικά ημέρες, με στόχο να διερευνηθούν οι τυχόν επιπτώσεις στις φάσεις της πρόσκτησης, παγίωσης και ανάκλησης πληροφοριών κατά τη λειτουργία της μνήμης. Πραγματοποιήθηκε έλεγχος της «μνήμης αναγνώρισης αντικειμένων» (Novel Object Recognition, NOR) σε τρία χρονικά σημεία μετά την έναρξη της ακτινοβολίας (μηδέν, 17 και 37 ημέρες). Διαπιστώθηκε πως η μεγαλύτερη διαταραχή (δραστική μείωση του Δείκτη Διάκρισης) προκαλείται με παράλληλη ακτινοβολία κατά τη διάρκεια της δοκιμασίας NOR με στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0, 05$). Ενδιάμεση επήρεια διαπιστώθηκε κατά τις δύο άλλες δοκιμασίες όπου δεν υπήρχε ταυτόχρονη ακτινοβολία. Συμπεραίνεται πως η συγκεκριμένη ακτινοβολία μπορεί και επηρεάζει τη βραχυπρόθεσμη μνήμη, πιθανόν παραβιάζοντας τη λειτουργία των κυττάρων κατά μήκος της διατράνουσας οδού από τον ενδορινικό φλοιό προς τον ιππόκαμπο, ενδεχομένως μέσω διαταραχής στη λειτουργία των διαύλων ιόντων. Διερευνώνται σε υπερμικροσκοπικό επίπεδο οι μορφολογικές αλλοιώσεις του ιππόκαμπου καθώς και η επαγωγή απόπτωσης στον ίδιο ιστό, μετά την επίδραση της ακτινοβολίας.

Η Μ.Π. Ντζούνη είναι Διδακτορική υπότροφος του «Ειδικού Λογαριασμού Κονδυλίων Έρευνας» του ΕΚΠΑ

Motor activity stimulation and dopamine and glutamate alterations induced by amphetamine are regulated by CB1 antagonism.

Alexia Polissidis^{1,2}, Andreas Galanopoulos^{1,2}, Chrysavgi Kostoula¹, Anna Memou¹, Evangelia Karyka¹, Zeta Papadopoulou-Daifoti² and Katerina Antoniou¹.

¹Dept Pharmacology, Medical School, University of Ioannina, 451 10 Ioannina, Greece

²Dept Pharmacology, Medical School, University of Athens, 115 27 Athens, Greece

The endocannabinoid system (ECS) modulates many neurotransmitter systems and is implicated in reward, addiction and the effects of psychostimulants. The psychostimulant d-amphetamine (d-amp) is well known to modulate locomotor activity as well as dopamine (DA) and glutamate (GLU) function; however, it is yet unclear how the ECS is able to intervene in these effects of d-amp. Thus, the aim of the present study was to investigate the effects of CB1 antagonism on d-amp-induced behavioural and neurochemical effects. Sprague-Dawley rats were either observed for locomotor activity after administration of vehicle, d-amp, SR141716A (CB1 antagonist) or SR141716A and d-amp or underwent surgery for probe implantation and administered the same treatments in microdialysis experiments measuring DA and GLU in the nucleus accumbens. Our results showed that d-amp on its own induced hyperlocomotion and increased DA and GLU. When coadministered with SR141716A, these effects on locomotor activity and neurotransmitter levels were modulated. This study provides further evidence for the role of the ECS in d-amp-induced behavioral and neurochemical effects in vivo, and furthermore, emphasizes the importance of this modulatory neurotransmitter system in psychostimulant addiction.

Οι CB1 υποδοχείς των κανναβινοειδών εμπλέκονται στο συμπεριφορικό και νευροχημικό προφίλ της αμφεταμίνης.

Αλεξία Πολυσιδή^{1,2}, Ανδρέας Γαλανόπουλος^{1,2}, Χρυσανγή Κωστούλα¹, Άννα Μέμου¹, Ευαγγελία Καρύκα¹, Ζωή Παπαδοπούλου-Νταϊφώτη² και Κατερίνα Αντωνίου¹

¹Εργαστήριο Φαρμακολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 451 10 Ιωάννινα, Ελλάδα

²Εργαστήριο Φαρμακολογίας, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, 115 27 Αθήνα, Ελλάδα

Το ενδοκανναβινοειδές σύστημα (ECS) ρυθμίζει πολλά νευροδιαβιβαστικά συστήματα και εμπλέκεται στην ανταμοιβή, την εξάρτηση και τη δράση των ψυχοδιεγερτικών ουσιών. Η d-αμφεταμίνη (d-amp) επηρεάζει την κινητικότητα και τη λειτουργία της ντοπαμίνης (DA) και του γλουταμικού οξέος (GLU) όμως, ο ρόλος του ECS σε αυτές τις επιδράσεις δεν είναι ακόμη πλήρως διευκρινισμένος. Ο στόχος της παρούσας εργασίας ήταν να διερευνήσουμε την επίδραση του ανταγωνισμού του CB1 υποδοχέα των κανναβινοειδών στις συμπεριφορικές και νευροχημικές επιδράσεις της d-amp. Χρησιμοποιήθηκαν επίμυες Sprague-Dawley, στους οποίους πραγματοποιήθηκε καταγραφή κινητικότητας μετά από τη χορήγηση εκδόχου, d-amp, SR141716A (CB1 ανταγωνιστής) ή SR141716A με d-amp. Επίσης με τη μέθοδο της in vivo μικροδιαπίδσης εκτιμήθηκαν τα επίπεδα DA και GLU στον επικλινή πυρήνα του διαφράγματος μετά από τη χορήγηση των ίδιων δοσολογικών σχημάτων. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η d-amp προκάλεσε υπερκινητικότητα και αύξηση των επιπέδων DA και του GLU. Η προ-χορήγηση SR141716A τροποποίησε τις επιδράσεις της d-amp. Συμπερασματικά η μελέτη υποδεικνύει το ρόλο του ECS στις επιδράσεις της d-amp όσον αφορά συμπεριφορικούς και νευροχημικούς παράγοντες και υπογραμμίζει τη σπουδαιότητα αυτού του νευροδιαβιβαστικού συστήματος στα φαινόμενα εξάρτησης και χρήσης ψυχοδιεγερτικών ουσιών.

CB1 antagonism regulates cocaine-induced behavioral and neurochemical effects.

Alexia Polissidis^{1,2}, Martha Nikolaidou¹, Evangelia Karyka¹, Anna Memou¹, Chrysavgi Kostoula¹, Zeta Papadopoulou-Daifoti² and Katerina Antoniou¹.

¹Dept Pharmacology, Medical School, University of Ioannina, 45110 Ioannina, Greece

²Dept Pharmacology, Medical School, University of Athens, 11527 Athens, Greece

Ample evidence has shown the stimulating, rewarding and euphorigenic properties of cocaine. In particular, cocaine stimulates motor activity and induces place preference and self administration in experimental animals. The endocannabinoid system (ECS) is implicated in reward, addiction and the effects of psychostimulants. However, the modulatory role of the ECS on cocaine-induced effects is far from clear. Thus, the aim of the present study was to investigate the effects of CB1 antagonism on cocaine-induced behavioural and neurochemical effects. Sprague-Dawley rats were observed for locomotor activity and place preference procedure and subsequently, neurochemical analysis was carried out after administration of vehicle, cocaine, SR141716A (a CB1 antagonist), or SR141716A and cocaine. Dopaminergic activity was estimated in rat brain regions implicated in the reward system with High Performance Liquid Chromatography. Our results showed that cocaine induced hyperlocomotion and place preference. When coadministered with SR, these effects were modified. Additionally, cocaine induced an increase in dopaminergic activity which was partially modified by CB1 antagonism. This study provides further evidence for the role of the ECS in cocaine-induced behavioral and neurochemical effects and emphasizes the involvement of the ECS in psychostimulant addiction.

Οι συμπεριφορικές και νευροχημικές δράσεις της κοκαΐνης ρυθμίζονται από τους CB1 υποδοχείς των κανναβινοειδών.

Αλεξία Πολυσιδίη^{1,2}, Μάρθα Νικολαΐδου¹, Ευαγγελία Καρύκα¹, Άννα Μέμου¹, Χρυσσαυγή Κωστούλα¹, Ζωή Παπαδοπούλου-Νταϊφότη² και Κατερίνα Αντωνίου¹

¹Εργαστήριο Φαρμακολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 45110 Ιωάννινα, Ελλάδα

²Εργαστήριο Φαρμακολογίας, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, 11527 Αθήνα, Ελλάδα

Είναι ευρέως γνωστό ότι η κοκαΐνη χαρακτηρίζεται από διεγερτικές, ενισχυτικές και ευφοριογόνες ιδιότητες. Σε πειραματικές μελέτες η χορήγηση κοκαΐνης προκαλεί υπερκινητικότητα, εξαρτημένη προτίμηση θέσης και αυτοχορήγηση. Το ενδοκανναβινοειδές σύστημα (ECS) εμπλέκεται στην ανταμοιβή, την εξάρτηση και τη δράση των ψυχοδιεγερτικών ουσιών όμως ο ρυθμιστικός του ρόλος στις επιδράσεις της κοκαΐνης απαιτεί περαιτέρω διευκρίνιση. Ο στόχος της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση της επίδρασης του ανταγωνισμού του CB1 υποδοχέα των κανναβινοειδών στις συμπεριφορικές και νευροχημικές επιδράσεις της κοκαΐνης. Χρησιμοποιήθηκαν επίμυες Sprague-Dawley, στους οποίους πραγματοποιήθηκαν πειράματα καταγραφής κινητικότητας και εξαρτημένης προτίμησης θέσης μετά από χορήγηση εκδόχου, κοκαΐνης, SR141716A (CB1 ανταγωνιστής) ή SR141716A με κοκαΐνη. Στη συνέχεια εκτιμήθηκε η ντοπαμινεργική λειτουργία σε πολλές εγκεφαλικές περιοχές που εμπλέκονται στο νευροχημικό υπόστρωμα της ανταμοιβής με τη μέθοδο της Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Απόδοσης. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η κοκαΐνη προκάλεσε υπερκινητικότητα και εξαρτημένη προτίμηση θέσης σε συνδυασμό με αυξημένη ντοπαμινεργική λειτουργία. Η προχορήγηση SR τροποποίησε αυτές τις επιδράσεις της κοκαΐνης. Τα αποτελέσματά μας υποδεικνύουν το ρόλο του ECS στις επιδράσεις της κοκαΐνης όσον αφορά συμπεριφορικούς παράγοντες που σχετίζονται με την ντοπαμινεργική λειτουργία και δίνει έμφαση στην εμπλοκή αυτού του νευροδιαβιβαστικού συστήματος στη διαδικασία εξάρτησης ψυχοδιεγερτικών ουσιών.



Neonatal and adolescent experiences interact in determining adult stress coping behavior.

Raftogianni A., Diamantopoulou A., Miltiadous P., Stamatakis A. & Stylianopoulou F.

Laboratory of Biology-Biochemistry, Department of Basic Sciences, University of Athens.

Experiences during critical periods throughout the lifespan play an important role in determining adult stress coping behavior. Two such periods are the neonatal, and adolescence. During the neonatal period the mother is an extremely salient stimulus, and seeking for her a powerful inherent drive. On the other hand adolescence, a phase of substantial brain remodeling, provides a second opportunity for experiences to shape brain development positively or negatively. Based on the above we developed an experimental model of a neonatal experience, in which during postnatal days 10-13 rat pups are exposed to a T-maze an arm of which leads to the mother. One group of animals is allowed contact with the mother (rewarded), while the other is denied (frustrated). For the adolescent experience we used a rat model of social stress: At the age of 30-38 days female rats were subjected daily to 1h of isolation and change of cage partner. In adulthood rats were exposed to 2 days of forced swimming (15min during the first and 5min the second), with immobility a measure of adaptive coping. In the absence of stress during adolescence, rats exposed to the neonatal experience, either under reward or frustration, had longer immobility times than the controls, during the first day of forced swimming. On the second day, neonatally rewarded rats had longer immobility times than the neonatally frustrated or the controls. When rats were exposed to the adolescent stress, the neonatally frustrated had longer immobility times than either the rewarded or controls, only on the first day of the test. Exposure to adolescent stress did not seem to affect the neonatally rewarded rats, while those frustrated had longer immobility times if exposed to the stress than if not. Our results support the “match-mismatch” hypothesis, which proposes an increased coping ability if early and later life experiences match.

Support: Hellenic State Scholarships Foundation and Univ. of Athens Special Research Account

Οι εμπειρίες κατά την νεογνική και εφηβική ηλικία αλληλεπιδρούν, καθορίζοντας τη μετέπειτα συμπεριφορά του ενήλικου οργανισμού σε στρεσογόνα ερεθίσματα

Ραυτογιάννη Α., Διαμαντοπούλου Α., Μιλτιάδου Π., Σταματάκης Α., & Στυλιανοπούλου Φ.

Εργαστήριο Βιολογίας-Βιοχημείας, Τομέας Βασικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Οι εμπειρίες κατά τη διάρκεια των «κρίσιμων περιόδων» της ζωής διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στον καθορισμό της συμπεριφοράς του ενήλικου οργανισμού σε καταστάσεις στρες. Δύο τέτοιες σημαντικές περιόδους της ζωής είναι η νεογνική και η εφηβική. Κατά τη διάρκεια της νεογνικής ηλικίας η μητέρα αποτελεί για τα νεογνά ένα εξαιρετικά σημαντικό ερέθισμα και η αναζήτησή της μια έμφυτη ισχυρή τάση. Από την άλλη πλευρά, κατά την εφηβεία παρέχεται μια δεύτερη ευκαιρία για τη διαμόρφωση της δομής και της λειτουργίας του εγκεφάλου ως απάντηση στις περιβαλλοντικές προκλήσεις. Στο εργαστήριο Βιολογίας-Βιοχημείας αναπτύξαμε ένα πειραματικό μοντέλο νεογνικής εμπειρίας κατά το οποίο νεογνά επίμυων από την 10^η έως την 13^η μεταγεννητική ημέρα, εκτέθηκαν σε λαβύρινθο σχήματος T, το ένα άκρο του οποίου οδηγούσε στη μητέρα. Στη μια ομάδα των πειραματόζωων επιτρεπόταν η επαφή με τη μητέρα (rewarded), ενώ στην άλλη παρεμποδιζόταν (frustrated). Στην εφηβικής ηλικίας χρησιμοποιήσαμε ένα μοντέλο «κοινωνικού» στρες: Από την 30^η-38^η ηλικία θηλυκοί επίμυς υποβάλλονταν σε καθημερινή απομόνωση διάρκειας 1 ώρας καθώς και σε αλλαγή παρτενέρ στο κλουβί διαβίωσης, μετά το τέλος της διαδικασίας. Κατά την ενήλικη ζωή υποβάλαμε τα πειραματόζωα στη δοκιμασία της εξαναγκασμένης κολύμβησης για 2 συνεχόμενες ημέρες και καταμετρήθηκε ο συνολικός χρόνος που τα πειραματόζωα παρέμεναν ακίνητα στην επιφάνεια του νερού (η μέτρηση του χρόνου ακινησίας, θεωρήθηκε ως μια στρατηγική αντιμετώπισης σε συνθήκες στρες). Απουσία στρες κατά τη διάρκεια της εφηβικής ηλικίας, οι επίμυς που ως νεογνά είχαν



εκτεθεί στην νεογνική εμπειρία (εκπαίδευση είτε υπό συνεχόμενη ματαίωση είτε υπό συνεχόμενη ανταμοιβή), παρουσίασαν μεγαλύτερους χρόνους ακινησίας από την ομάδα ελέγχου, την 1^η μέρα της δοκιμασίας της εξαναγκασμένης κολύμβησης. Τη 2^η μέρα της δοκιμασίας, οι ενήλικες επίμυς που ως νεογνά είχαν εκπαιδευτεί υπό συνεχόμενη ενίσχυση, είχαν μεγαλύτερους χρόνους ακινησίας από την ομάδα ελέγχου αλλά και από τους επίμυς που ως νεογνά είχαν εκπαιδευτεί υπό συνεχόμενη ματαίωση. Όταν τα πειραματόζωα εκτέθηκαν σε στρες στην εφηβική ηλικία, οι ενήλικες επίμυς που ως νεογνά είχαν εκπαιδευτεί υπό συνεχόμενη ματαίωση, εμφάνισαν μεγαλύτερους χρόνους ακινησίας τόσο από την ομάδα ελέγχου όσο και από τους επίμυς που ως νεογνά είχαν εκπαιδευτεί υπό συνεχόμενη ενίσχυση, μόνο κατά την 1^η μέρα. Η έκθεση σε στρες κατά τη εφηβεία δεν φάνηκε να επηρεάζει τους επίμυς που ως νεογνά είχαν εκπαιδευτεί υπό συνεχόμενη ανταμοιβή, ενώ οι επίμυς που είχαν ως νεογνά εκπαιδευτεί υπό συνεχόμενη ματαίωση είχαν μεγαλύτερους χρόνους ακινησίας σε σχέση με αυτούς που δεν είχαν υποστεί στρες κατά την εφηβεία. Τα αποτελέσματα αυτά υποστηρίζουν την υπόθεση "match-mismatch", η οποία αναφέρει ότι υπάρχει μια αυξημένη ικανότητα προσαρμογής-αντιμετώπισης των στρεσογόνων ερεθισμάτων όταν οι πρώιμες εμπειρίες ταιριάζουν με τις μετέπειτα εμπειρίες στην ενήλικη ζωή.

Υποστήριξη: Από το Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών (ΙΚΥ) και τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας.

Stress induction and memory deficits in mice following exposure to wireless DECT phone radiation

Adamantia F. Fragopoulou¹, Marianna H. Antonelou¹, Evangelos Balafas², Nikolaos Kostomitsopoulos², Fotini Stylianopoulou³, Antonios Stamatakis³ and Lukas H. Margaritis¹

¹Electromagnetic Biology Lab, Dept of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens ²Laboratory Animal Facilities, Centre of Experimental Surgery, Biomedical Research Foundation, Academy of Athens ³Biology – Biochemistry Lab, Faculty of Nursing, School of Health Sciences, University of Athens

Many studies so far implicate electromagnetic fields (EMFs) for several health symptoms, such as headaches, fatigue, aggressiveness, insomnia, memory deficits and brain tumours. In this study a total of 32 C57Bl/6 adult male mice were divided in 4 equal groups; GROUP A: exposed to DECT phone radiation for 8 hrs/day, GROUP B: exposed to DECT phone radiation for 14 hrs/day, GROUP C: sham-exposed and GROUP D: control. We determined: a) plasma corticosterone levels using ELISA, b) the behaviour in the Elevated Plus Maze (EPM), the open field task and the Novel Object Recognition (NOR) task. Corticosterone levels' analysis revealed a statistically significant ($p < 0.05$) raise on day 1, but not on day 13 and 83 of consecutive exposure. This transient increase probably indicates a rapid response to the EMFs followed by an accommodation profile, a conclusion that is supported by the EPM data on day 35, where no EMF effect was found. Concerning the NOR task a mild decline in recognition memory was detected in the exposed animals. The open field data are under analysis.

AFF is a scholarship recipient by the Hellenic State Scholarship Foundation – "N.D. Xrysovergis" Bequest.

Επαγωγή στρες και διαταραχή μνήμης αναγνώρισης σε μύς C57Bl/6 έπειτα από έκθεση σε ακτινοβολία βάσης ασύρματου τηλεφώνου

Αδαμαντία Φ. Φραγκοπούλου¹, Μαριάννα Χ. Αντωνέλου¹, Ευάγγελος Μπαλάφας², Νικόλαος Κωστομητσόπουλος², Φωτεινή Στυλιανοπούλου³, Αντώνιος Σταματάκης³ και Λουκάς Χ. Μαργαρίτης¹

¹Εργ. Ηλεκτρομαγνητικής Βιολογίας, Τομέας Βιολογίας Κυττάρου & Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας ΕΚΠΑ ²Μονάδα Ζωικών Προτύπων, Κέντρο Πειραματικής Χειρουργικής, ΠΒΕΑΑ ³Εργ. Βιολογίας-Βιοχημείας, Τμήμα Νοσηλευτικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, ΕΚΠΑ

Μελέτες διεθνώς ενοχοποιούν τη μη ιονίζουσα ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία (ΗΜΑ) για διάφορα συμπτώματα στην ανθρώπινη υγεία, όπως πονοκέφαλοι, κόπωση, επιθετικότητα, αϋπνίες, διαταραχή μνήμης και εμφάνιση εγκεφαλικών όγκων. Στην εργασία αυτή 32 αρσενικοί ενήλικοι μύες C57Bl/6 χωρίστηκαν σε 4 ισομεγέθεις ομάδες. ΟΜΑΔΑ Α: έκθεση σε βάση ασύρματου τηλεφώνου DECT για 8 ώρες ημερησίως, ΟΜΑΔΑ Β: έκθεση σε βάση ασύρματου τηλεφώνου DECT για 14 ώρες ημερησίως, ΟΜΑΔΑ Γ: προσομοίωσης και ΟΜΑΔΑ Δ: μάρτυρες. Προσδιορίστηκαν: α) τα επίπεδα κορτικοστερόνης στο πλάσμα με ELISA, και β) η συμπεριφορά στις δοκιμασίες του Υπερψωμένου Λαβύρινθου Σχήματος Σταυρού (EPM), στη διάταξη ανοιχτού πεδίου και στη δοκιμασία αναγνώρισης αντικειμένων (NOR). Τα επίπεδα κορτικοστερόνης έδειξαν στατιστικά σημαντική αύξηση ($p < 0.05$) κατά την 1^η και όχι κατά την 13^η και 83^η ημέρα συνεχούς ακτινοβολίας, γεγονός που υποδηλώνει οξεία απόκριση και πιθανή ακολούθως προσαρμογή των ζώων στο στρεσογόνο παράγοντα ΗΜΑ. Στη δοκιμασία EPM που πραγματοποιήθηκε την 35^η ημέρα δεν παρατηρήθηκε καμία συμπεριφορά δηλωτική άγχους, εύρημα πιθανά συμβατό με τα επίπεδα κορτικοστερόνης της 13^{ης} και 83^{ης} ημέρας. Από τη δοκιμασία NOR διαφαίνεται μια αρνητική επίδραση της ακτινοβολίας στη μνήμη 4 μήνες μετά. Σε εξέλιξη βρίσκεται η ανάλυση των δεδομένων ανοιχτού πεδίου.

Η ΑΦΦ είναι υπότροφος του ΙΚΥ – «Κληροδότημα Νικ. Δ. Χρυσοβέργη», υποτροφία για εκπόνηση διδακτορικής διατριβής.



ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΤΟΥ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

DISORDERS OF THE NERVOUS SYSTEM

Rhythmical motor unit spike doublets and triplets in parkinsonian rest and postural tremor

Orsalia Agapaki^{1,2}, Sophia Erimaki^{1,2}, Dimitri Anastasopoulos³ and Costas N. Christakos^{1,2}

¹Medical School, University of Crete, ²Institute of Applied and Computational Mathematics, FORTH, Crete, ³School of Nursing, University of Athens

Rest and postural tremor are common signs of Parkinson's disease (PD), yet their neural substrate is far from being understood. We examined the discharge patterns and rhythmical synchrony of motor units (MUs) during parkinsonian rest and postural tremor, as these features determine the tremor properties and also carry information on the neural input provided by the tremor generator to the MUs. Four PD patients with prominent tremor and four age-matched control subjects participated. Tremor was recorded using an accelerometer tapped on the dorsal aspect of the hand. MU activities of various upper limb muscles were recorded using needle electrodes. MU firing patterns were studied using high-order interspike interval analyses, whereas the synchrony was studied using unit-to- aggregate (MU/acceleration) coherence and cross-correlation computations. Our results show that both rest and postural tremor are accompanied by in-phase rhythms in all MU activities. In analogy with parkinsonian force tremor (Christakos et al., 2009) the synchronous MU components partly consist of rhythmical sequences of spike doublets and triplets with fairly fixed interspike intervals around 50 ms. These behaviors likely reflect distinct properties of the neural input to the MUs, and thus provide a basis for understanding the function of the tremor generator(s) in PD.

Christakos et al. (2009) Tremor-related motor unit firing in Parkinson's disease: implications for tremor genesis. *J. Physiol.* 587: 4811-4827.

Ρυθμικές δυάδες και τριάδες ώσεων κινητικών μονάδων χαρακτηρίζουν τον τρόμο ηρεμίας και θέσης στη νόσο του Parkinson

Ορσαλία Αγαπάκη^{1,2}, Σοφία Ερημάκη^{1,2}, Δημήτρης Αναστασόπουλος³ και Κώστας Ν. Χρηστάκος^{1,2}

¹Τμήμα Ιατρικής Πανεπιστημίου Κρήτης, ²Ινστιτούτο Υπολογιστικών Μαθηματικών ΙΤΕ Κρήτης, ³Τμήμα Νοσηλευτικής Πανεπιστημίου Αθηνών

Το νευρικό υπόβαθρο του τρόμου ηρεμίας και θέσης της νόσου του Parkinson είναι σε μεγάλο βαθμό αδιευκρίνιστο. Στην προσπάθεια κατανόησής του, η εξέταση των προτύπων εκφόρτισης και του ρυθμικού συγχρονισμού των κινητικών μονάδων (ΚΜ) έχει μεγάλη σημασία, μιας και αυτά αφενός καθορίζουν τις ιδιότητες του τρόμου και αφετέρου μεταφέρουν πληροφορία για την είσοδο που παρέχει στις ΚΜ η γεννήτρια του τρόμου. Στη παρούσα μελέτη εξετάσαμε τις παραμέτρους αυτές σε 4 ασθενείς με νόσο του Parkinson και 4 υγιείς ανάλογης ηλικίας. Ο τρόμος καταγράφηκε με ένα επιταχυνσιόμετρο στερεωμένο στη ραχιαία επιφάνεια της άκρας χειρός. Η δραστηριότητα των ΚΜ από διάφορους μυς του άνω άκρου καταγράφηκε με βελονοειδή ηλεκτρόδια. Τα πρότυπα εκφόρτισης των ΚΜ μελετήθηκαν με αναλύσεις μεσοδιαστημάτων ώσεων ανώτερης τάξης ενώ ο συγχρονισμός εξετάστηκε με την τεχνική της αλληλουχίας και ετεροσυσχέτισης μονάδας-πληθυσμού (ΚΜ/επιτάχυνση). Τα αποτελέσματά μας έδειξαν ότι ο τρόμος ηρεμίας και θέσης συνοδεύονται από συγχρονισμένους ρυθμούς στις δραστηριότητες όλων των ΚΜ. Σε αναλογία με τον παρκινσονικό τρόμο δύναμης (Christakos et al., 2009), αυτοί οι ρυθμοί εν μέρει αντιπροσωπεύουν ακολουθίες δυάδων και τριάδων ώσεων, με σχετικά σταθερά μεσοδιαστήματα της τάξης των 50 ms. Τέτοιες συμπεριφορές πιθανώς αντανακλούν διακριτές ιδιότητες της νευρικής εισόδου προς τις ΚΜ, και έτσι παρέχουν μια βάση για την κατανόηση της λειτουργίας της γεννήτριας των παρκινσονικών τρόμων.

Effect of consumption of *Sideritis clandestina* subsp. *clandestina* infusion on behavioral & biochemical parameters of adult mice*

Vasilopoulou C.¹, Linardaki Z.¹, Iatrou G.², Lamari FN.³, Margarity M.¹

¹Lab. Human & Animal Physiol. & ²Div. Plant Biol., Dept. Biology, ³Lab. Pharmacognocny & Chemistry of Natural Products, Dept. Pharmacy, Univ. Patras

The aim of the present study was to examine the possible neuroprotective role of the infusion of *Sideritis clandestina* subsp. *clandestina* (40 days, 4 g/100 mL) in adult male *Balb-c* mice, in relation to (a) behavioral parameters of anxiety and learning/memory and (b) biochemical parameters [reduced glutathione (GSH), lipid peroxidation and the activity of acetylcholinesterase (AChE)] of various brain regions (cortex, cerebellum, midbrain, hippocampus and striatum). The results showed that tea drinking caused anxiolytic-like effect (elevated plus maze test) while learning/memory (step-through passive avoidance task) showed no significant difference between the two animal groups. Tea-drinking displayed increased reduced glutathione content (23-36%) and decreased lipid peroxidation levels (28-79%) in cerebellum and midbrain compared to controls. In relation to the activity of the two isoforms of AChE [salt soluble (SS) and detergent soluble (DS) fractions], tea intake caused a 12-65% inhibition in AChE activity of cerebral cortex, striatum and hippocampus in comparison to the control group. The infusion of *Sideritis clandestina* subsp. *clandestina* exhibited only a 10 % anti-cholinesterase activity *in vitro*. Our results confirm the traditional use of this herbal tea as anxiolytic/calmativ.

*Partially Supported by BIOFLORA network, University of Patras.

Επίδραση της κατανάλωσης αφεψήματος του φυτού *Sideritis clandestina* subsp. *clandestina* στη συμπεριφορά & σε βιοχημικές παραμέτρους ενηλίκων μύων*

Βασιλοπούλου Αικ.¹, Λιναρδάκη Ζ.¹, Ιατρού Γ.², Λάμαρη Φ.Ν.³, Μαργαρίτη Μ.¹

¹Εργ. Φυσιολογίας Ανθρ. και Ζώων & ²Τομέας Βιολογίας Φυτών, Τμ. Βιολογίας, ³Εργ. Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυτικών Προϊόντων, Τμ. Φαρμακευτικής, Παν. Πατρών

Η παρούσα μελέτη διερευνά την πιθανή νευροπροστατευτική δράση της πόσης του αφεψήματος του *Sideritis clandestina* subsp. *clandestina* (40 ημέρες, 4 g/100mL) σε αρσενικούς ενήλικες *Balb-c* μύες σε σχέση α) με συμπεριφερικές καταστάσεις (άγχος, μνήμη/μάθηση) και β) βιοχημικές παραμέτρους (ανηγμένη γλουταθειόνη, υπεροξειδωση λιπιδίων και ενεργότητα ακετυλοχολινεστεράσης (AChE)) εγκεφαλικών περιοχών (φλοιός, παρεγκεφαλίδα, μεσεγκέφαλος, ιππόκαμπος, ραβδωτό). Τα αποτελέσματα έδειξαν τάση για αγχώλυση για την ομάδα των πειραματοζώων που κατανάλωσαν το φυτικό αφέψημα σε σύγκριση με τους μάρτυρες (δοκιμασία Υπερυψωμένου Λαβύρινθου) ενώ οι διαδικασίες της μνήμης-μάθησης (δοκιμασία Παθητικής Αποφυγής) έδειξαν να μην επηρεάζονται. Στις βιοχημικές παραμέτρους, παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων της ανηγμένης γλουταθειόνης (23-36 %) και μείωση της υπεροξειδωσης λιπιδίων (28-79 %) στην παρεγκεφαλίδα και το μεσεγκέφαλο ενώ σε σχέση με την ενεργότητα των δυο ισομορφών της AChE (διαλυτή σε άλας/SS και αδιάλυτη/DS) παρατηρήθηκε αναστολή στον εγκεφαλικό φλοιό, το ραβδωτό και τον ιππόκαμπο (12-65%). Το υδατικό εκχύλισμα του φυτού παρουσίασε μόνο 10 % αντιχολινεστερασική δράση *in vitro*. Τα αποτελέσματα επιβεβαιώνουν την παραδοσιακή χρήση του φυτού ως αγχολυτικό/καταπραυντικό.

* Υποστηρίχθηκε εν μέρει από το Ενδοπανεπιστημιακό Δίκτυο του Παν. Πατρών BIOFLORA

Transplanted Neural Precursors Cells' influence the distribution of inflammatory cells in the Central Nervous System of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis mice

Giannakopoulou Angeliki^{1,2}, Grigoriadis Nikolaos^{1*}, Polyzoidou Eleni¹, Touloumi Olga¹, Michaloudi Eleni², Papadopoulos Georgios C.²

1. Second Department of Neurology, AHEPA University Hospital, Aristotle University of Thessaloniki, Greece. 2. Laboratory of Anatomy, Histology and Embryology, Veterinary School, Aristotle University of Thessaloniki, Greece

The major goal of transplantation experiments in Multiple Sclerosis (MS) was, so far, the restoration of a damaged Central Nervous System (CNS) by cell replacement treatments, and Neural Precursor Cells (NPCs) have been broadly recognized as the most appropriate cell source. New research on their therapeutic abilities has proven that their therapeutic effect is mainly due to their immunomodulatory properties and to lesser extent to cell replacement. In the present study, a set of transplantation experiments was applied in order to investigate the NPCs' impact on distribution and apoptosis of inflammatory cells into the CNS of chronic Experimental Autoimmune Encephalomyelitis (EAE) mice, the animal model of MS. Our study validate that intraventricularly NPCs transplanted EAE mice displayed lower disability and amelioration of inflammatory features compared to controls, even in the early stages of the disease. NPCs were capable of suppressing CNS inflammation, especially in the brain, by enhancing the apoptosis of inflammatory cells entering the CNS. Brain immunosuppression was attributed either to NPCs' cell-to-cell contact with inflammatory cells or/and to release of diffusible neuroprotective factors in the cerebrospinal fluid (CSF), as at the onset of the disease NPCs were found at inflammatory infiltrates and as aggregates of neurospheres attached to the ventricles' wall. However, the central role of the spinal cord (SC) neuropathology in clinical manifestation of the disease is well established, thus the amelioration of neurological deficits could only partly be attributed to brain immunosuppression, as only a mild reduction of inflammatory cells was detected in SC. Possible immunodown-regulation of SC inflammatory cells by NPCs transplantation is under investigation. It is speculated that apart from brain immunosuppression additional mechanisms of action should be accountable for the clinical amelioration observed in NPCs transplanted mice.

Επίδραση της μεταμόσχευσης των Νευρικών Προγονικών Κυττάρων στην κατανομή των φλεγμονωδών κυττάρων στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα, μύων πασχόντων από Πειραματική Αυτοάνοση Εγκεφαλομυελίτιδα

Κύριος στόχος των πειραματικών μεταμοσχεύσεων μέχρι τώρα σε νευρολογικές νόσους όπως η Πολλαπλή Σκλήρυνση (ΠΣ) ήταν η λειτουργική αποκατάσταση του προσβεβλημένου κυτταρικού πληθυσμού του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος (ΚΝΣ) και τα Νευρικά Προγονικά Κύτταρα (ΝΠΚ) θεωρούνται ως τα καταλληλότερα για αυτόν τον σκοπό. Πρόσφατες έρευνες αποδεικνύουν ωστόσο ότι η θεραπευτική τους δράση οφείλεται πρωτίστως στις ανοσοτροποποιητικές τους ιδιότητες παρά στην κυτταρική αντικατάσταση. Στην παρούσα μελέτη ερευνήσαμε την επίδραση ενδοκοιλιακά χορηγούμενων ΝΠΚ στην κλινική εικόνα και στην φλεγμονή του ΚΝΣ ενήλικων μύων που έπασχαν από Πειραματική Αυτοάνοση Εγκεφαλομυελίτιδα (ΠΑΕ), το πειραματικό μοντέλο της ΠΣ. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της έρευνάς μας, η μεταμόσχευση των ΝΠΚ βελτίωσε την κλινική εικόνα και περιόρισε την φλεγμονή, ακόμα και κατά τα πρώτα στάδια της νόσου. Τα ΝΠΚ κατέστειλαν την φλεγμονή ιδιαίτερα στον εγκέφαλο, επάγοντας την απόπτωση των εγκεφαλιτιδογόνων T λεμφοκυττάρων. Η καταστολή αποδόθηκε είτε σε αλληλεπιδράσεις κυτταρικής επαφής μεταξύ των ΝΠΚ και των λεμφοκυττάρων ή στην έκκριση νευροτροφικών παραγόντων από τα ΝΠΚ, δεδομένου ότι στην οξεία φάση της νόσου τα ΝΠΚ βρέθηκαν είτε στις φλεγμονώδεις διηθήσεις ή ως συσσωματώματα νευροσφαιριδίων προσκολλημένα στις πλάγιες κοιλίες. Πάντως, με δεδομένο ότι η κλινική εικόνα αντανάκλα πρωτίστως ιστοπαθολογία του νωτιαίου μυελού (ΝΜ), όπου παρατηρήθηκε μικρή φλεγμονώδη καταστολή στους μεταμοσχευμένους με ΝΠΚ μύες, η βελτίωση της κλινικής συμπτωματολογίας πιθανότατα δεν οφείλεται αποκλειστικά στην καταστολή της φλεγμονής στον εγκέφαλο. Το ενδεχόμενο να μεταβάλλεται η ποιότητα της φλεγμονής στο ΝΜ από διαχεόμενους παράγοντες των ΝΠΚ είναι υπό εξέταση. Εικάζεται ότι επιπρόσθετοι μηχανισμοί δράσης, οι οποίοι χρήζουν περαιτέρω έρευνας, ευθύνονται για την βελτίωση της κλινικής εικόνας των μεταμοσχευμένων με ΝΠΚ μύων με ΠΑΕ.

BRI2 protein regulates the activation of Akt signal transduction pathway

Vasiliki Zarkou, Anastasios Liakos, Evangelia Loizou, Nefeli Slavi, Maria Tsachaki, Spiros Efthimiopoulos

**Department of Biology, Division of Animal and Human Physiology, University of Athens,
157 84 Panepistimiopolis, Ilisia**

Familial British and Danish dementias are two rare neurodegenerative diseases, which are genetically linked with two mutated forms of the BRI2 protein. Processing of mutated BRI2 proteins releases proteolytic fragments which are amyloidogenic and accumulate forming plaques in the patients' brains. The physiological function of BRI2 remains unknown. Co-immunoprecipitation experiments showed that BRI2 homodimerizes and is expressed at the cell surface as a homodimer. Moreover, its structure resembles that of a receptor and there is data showing that it may be involved in cell survival / death. Therefore, we hypothesized that BRI2 may regulate signaling pathways involved in cell survival such as the signaling pathway of Akt. Initially we investigated the activation of this signaling pathway by oxidative stress since it is believed that, in chronic neurodegenerative disorders, is involved in nerve cell death. We obtained results indicating that incubation of SY5Y neuroblastoma cells with H₂O₂ results in a dose-dependent increase in levels of phosphorylated Akt. Furthermore, we found that overexpression BRI2 in SY5Y cells resulted in a significant reduction in the levels of phosphorylation of Akt after incubation with H₂O₂. These results argue that BRI2 regulates the survival mechanisms of neurons and the loss of this function may be responsible for the neurodegeneration observed in British and Danish dementias.

This research was funded by a grant from Embeirikion Foundation

Η πρωτεΐνη BRI2 ελέγχει την ενεργοποίηση του σηματοδοτικού μονοπατιού της Akt

**Βασιλική Ζάρκου, Αναστάσιος Λιάκος, Ευαγγελία Λοΐζου, Νεφέλη Σλάβη, Μαρία Τσαχάκη
Μ, Σπυρίδων Ευθυμίουπουλος**

**Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Πανεπιστήμιο Αθηνών, 157 84,
Πανεπιστημιούπολη, Ιλίσια**

Οι οικογενείς άνοιες Βρετανικού και Δανέζικου τύπου είναι δύο σπάνιες νευροεκφυλιστικές νόσοι, η εμφάνιση των οποίων σχετίζεται με δύο μεταλλαγμένες μορφές της πρωτεΐνης BRI2. Ο μεταβολισμός των μεταλλαγμένων μορφών της BRI2 οδηγεί στην απελευθέρωση πρωτεολυτικών θραυσμάτων, τα οποία είναι αμυλοειδογενή και συσσωρεύονται ως πλάκες στους εγκεφάλους των ασθενών. Η φυσιολογική λειτουργία της BRI2 παραμένει άγνωστη. Πειράματα συνανοσοκατακρήμνισης έδειξαν ότι η BRI2 ομοδιμερίζεται και εμφανίζεται στην κυτταρική επιφάνεια ως ομοδιμερές. Επιπλέον, η δομή της ομοιάζει πολύ με αυτή ενός υποδοχέα και υπάρχουν δεδομένα που δείχνουν ότι μπορεί να συμμετέχει στην κυτταρική επιβίωση/θάνατο. Κατά συνέπεια θεωρήσαμε ότι η BRI2 μπορεί να ελέγχει σηματοδοτικά μονοπάτια που εμπλέκονται στην επιβίωση των κυττάρων όπως για παράδειγμα το σηματοδοτικό μονοπάτι της Akt. Αρχικά μελετήσαμε την ενεργοποίηση αυτού του σηματοδοτικού μονοπατιού από το οξειδωτικό στρες που θεωρείται βέβαιο ότι εμπλέκεται στο θάνατο των νευρικών κυττάρων σε χρόνιες νευροεκφυλιστικές διαταραχές. Αποκτήσαμε αποτελέσματα τα οποία δείχνουν ότι επώαση νευροβλαστικών κυττάρων SY5Y με H₂O₂ προκαλεί μια δόσο-εξαρτώμενη αύξηση στα επίπεδα την φωσφορυλιωμένης Akt. Επιπλέον, βρέθηκε ότι η υπερέκφραση της BRI2 στα κύτταρα SY5Y είχε σαν αποτέλεσμα την σημαντική μείωση των επιπέδων της φωσφορυλίωσης της Akt μετά από επώαση με H₂O₂. Τα αποτελέσματα αυτά υποστηρίζουν ότι η BRI2 ρυθμίζει τους μηχανισμούς επιβίωσης των νευρώνων και ότι η απώλεια αυτής της λειτουργίας της μπορεί να είναι υπεύθυνη για τον νευροεκφυλισμό που παρατηρείται στις άνοιες τύπου Δανίας και τύπου Βρετανίας. *Αυτή η έρευνα χρηματοδοτήθηκε από το Εμπειρικό Ίδρυμα.*

The role of the cell adhesion molecule TAG-1 in the myelinated fiber organization upon EAE onset and throughout the different stages of the disease

Lida Zoupi,¹ Chris Linington,² Panayiotis Verginis³ and Domna Karagogeos¹

¹Department of Basic Science, Faculty of medicine, University of Crete and IMBB-FORTH, Heraklion, ²Department of Medicine and Therapeutics, Institute of Medical Sciences, University of Aberdeen, Aberdeen AB252ZD, Scotland, UK, ³Department of pathology, laboratory of autoimmunity and inflammation, Faculty of Medicine, University of Crete

Multiple Sclerosis (MS) is an autoimmune demyelinating disease of the CNS affecting mostly young adults. The myelin sheath of the myelinated fibers, responsible for the rapid propagation of action potentials is severely impaired during the course of disease. The pathology and the mechanisms implicated in MS are mostly studied in the animal model of experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE). TAG-1 is a cell adhesion molecule expressed both by axons and glial cells. In the adult nervous system, TAG-1 is responsible for the molecular organization of the juxtaparanodal domain of the myelinated fiber, where it interacts with Caspr2 and the potassium channels. Recently TAG-1 was identified as an autoantigen in MS patients and subsequent experiments in EAE animals have revealed its implication in white and grey matter pathology. The above and other data suggest that the molecular organization of the myelinated fiber is crucial during the onset and the progression of MS. In this study RNA samples and spinal cord cryosections from EAE rats (generated with the adoptive transfer of TAG-1 specific T-lymphocytes) were analyzed via quantitative real time PCR and immunohistochemistry. The expression levels and the topology of the myelinated fiber proteins differ between the different stages of the disease. Moreover the susceptibility of the genetic background of the TAG-1 deficient and control animals was tested in its ability for EAE induction. These mice would be a useful tool for the extensive analysis of the role of the TAG-1 protein in the onset and in the different stages of the disease.

Ο ρόλος του νευρικού μορίου κυτταρικής συνάφειας TAG-1 στην οργάνωση των εμυέλων ινών κατά την έναρξη και εξέλιξη της αυτοάνοσης πειραματικής εγκεφαλομυελίτιδας (EAE)

Λήδα Ζούπη,¹ Chris Linington,² Παναγιώτης Βεργίνης³ και Δόμνα Καραγωγέως¹

¹Τμήμα Ιατρικής, Τομέας Βασικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Κρήτης και IMBB-ITE, Ηράκλειο, ²Department of Medicine and Therapeutics, Institute of Medical Sciences, University of Aberdeen, Aberdeen AB252ZD, Scotland, UK, ³Τμήμα Ιατρικής, Τομέας Παθολογίας, Εργαστήριο αυτοανοσίας και φλεγμονής, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Ηράκλειο

Η σκλήρυνση κατά πλάκας (MS) είναι μια αυτοάνοση νόσος που προσβάλλει το κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ) και ιδιαίτερα τη μυελίνη που περιβάλλει τους νευράξονες. Η τελευταία είναι σημαντική για τη σωστή μετάδοση των ηλεκτρικών σημάτων. Η νόσος συνήθως εμφανίζεται σε νεαρά ενήλικα άτομα. Η μελέτη των χαρακτηριστικών της καθώς και οι μηχανισμοί της βλάβης του ΚΝΣ πραγματοποιείται σε ζωικά μοντέλα της πειραματικής αυτοάνοσης εγκεφαλομυελίτιδας (EAE). Η πρωτεΐνη TAG-1 εκφράζεται από αναπτυσσόμενους άξονες και γλοιακά κύτταρα που παράγουν μυελίνη. Στο ενήλικο νευρικό σύστημα, είναι απαραίτητη για τη μοριακή οργάνωση των εγγύς των παρακομβικών περιοχών των εμυέλων ινών. Εκεί αλληλεπιδρά άμεσα με την πρωτεΐνη Caspr2 και τους διαύλους καλίου. Πρόσφατα, ταυτοποιήθηκε ως αυτοαντιγόνο σε ένα ποσοστό ασθενών με MS ενώ ακόλουθη ανάλυση σε EAE επίμυες επιβεβαίωσε την εμπλοκή της στην παθολογία τόσο της λευκής όσο και της φαιάς ουσίας. Η διατήρηση της μοριακής αρχιτεκτονικής των εμυέλων ινών είναι αρκετά σημαντική στην εξέλιξη της νόσου. Κατά τη διάρκεια της επαναμυελίνωσης οι πρωτεΐνες της κομβικής, παρακομβικής και εγγύς της παρακομβικής περιοχής αναδιοργανώνονται ιεραρχικά και



διαδοχικά. Στη συγκεκριμένη εργασία μελετάται η μοριακή οργάνωση των εμμέλων ινών μέσω πειραμάτων ποσοτικής real-time PCR και ανοσοϊστοχημείας δειγμάτων RNA και κρυοτομών νωτιαίου μυελού επίμυων όπου η νόσος έχει προκληθεί με τη μεταφορά ενεργοποιημένων T-λεμφοκυττάρων ειδικών για την TAG-1 πρωτεΐνη. Τόσο τα επίπεδα έκφρασης όσο και η τοπολογία των πρωτεϊνών των διαφόρων περιοχών γύρω από τον κόμβο διαφοροποιούνται ανάλογα με το στάδιο της ασθένειας και την έκταση του αξονικού εκφυλισμού. Επιπρόσθετα μελετήθηκε το γενετικό υπόβαθρο των φυσιολογικών και ελλειμματικών για την TAG-1 ποντικών όσον αφορά την ικανότητα επαγωγής της νόσου. Η ανάλυσή τους βρίσκεται υπό εξέλιξη.



Identification of a novel member of the DnaJC family that causes neuromuscular disease in mice

Fotis Ioakeimidis, Vagelis Rinotas, Eleni Makrinou, George Kollias and Eleni Douni

Biomedical Sciences Research Center “Alexander Fleming”, 16672, Vari, Greece

Neuromuscular diseases encompass a wide range of clinical conditions remaining incurable while the genetic and molecular basis of most of these conditions remains unknown. Using mouse ENU mutagenesis we have identified a novel autosomal recessive neuromuscular phenotype. This phenotype manifests with hind limb weakness, progressing with muscle atrophy, reduced body weight, generalized paralysis and death within 30 days after birth. Genetic linkage analysis mapped the causal mutation within a 2Mbp interval. Sequencing revealed an intronic T>A transversion within a member of the DnaJ homolog, subfamily C (DnaJC) of heat shock proteins (Hsp40s). This is a novel gene with completely unknown function, whose protein is suggested to be located in the mitochondrion. The intronic mutation generates a novel splicing acceptor site resulting in the insertion of 109 bp in the mature transcript, causing a frameshift of the last 50 aminoacids of the protein. Our expression analysis data show constitutive and high expression of the normal gene in all tissues studied, neuronal and non neuronal. To genetically prove the causality of this mutation in our phenotype, we have generated BAC transgenic mice for the human DnaJC gene in order to rescue the neuromuscular phenotype. The identification of a novel DnaJC protein involved in neuromuscular disease and future functional characterization of this protein can shed light into new pathogenetic pathways involved in neuromuscular diseases.

Ταυτοποίηση ενός νέου μέλους της οικογένειας DnaJC που προκαλεί νευρομυϊκή ασθένεια στο ποντίκι

Φώτης Ιωακειμίδης, Βαγγέλης Ρηνώτας, Ελένη Μακρινού, Γιώργος Κόλλιας και Ελένη Ντούνη

Ερευνητικό Κέντρο Βιοϊατρικών Ερευνών «Αλέξανδρος Φλέμιγκ», 16672, Βάρη

Οι νευρομυϊκές ασθένειες περιλαμβάνουν ένα ευρύ φάσμα κλινικών παθήσεων που παραμένουν ανίατες ενώ η γενετική και μοριακή τους βάση παραμένει στις περισσότερες των περιπτώσεων άγνωστη. Με χρήση μεταλλαξογένεσης με N-αιθύλ-N-νιτροζουρία (ENU) στο ποντίκι ταυτοποιήσαμε έναν νέο αυτοσωμικό υπολειπόμενο νευρομυϊκό φαινότυπο. Ο φαινότυπος εκδηλώνεται με αδυναμία των πίσω άκρων και επιδεινώνεται με μυϊκή ατροφία, μειωμένο σωματικό βάρος, γενικευμένη παράλυση και θάνατο εντός 30 ημερών από τη γέννηση. Με ανάλυση γενετικής σύνδεσης χαρτογραφήσαμε την υπεύθυνη μετάλλαξη εντός γενετικής περιοχής μήκους 2Mbp. Η αλληλούχιση αποκάλυψε μία ιντρονική T>A μεταστροφή σε ένα μέλος της DnaJC υποοικογένειας πρωτεϊνών θερμικού σοκ (Hsp40s). Πρόκειται για ένα νέο γονίδιο εντελώς άγνωστης λειτουργίας, του οποίου η πρωτεΐνη πιθανόν να εντοπίζεται στο μιτοχόνδριο. Η ιντρονική μετάλλαξη δημιουργεί μία νέα αλληλουχία υποδοχής ματίσματος με αποτέλεσμα την ένθεση μιας αλληλουχίας 109 βάσεων στο ώριμο μετάγραφο, προκαλώντας μετατόπιση αναγνωστικού πλαισίου των τελευταίων 50 αμινοξέων της πρωτεΐνης. Δεδομένα ανάλυσης έκφρασης δείχνουν συστατικά υψηλή έκφραση του γονιδίου σε όλους τους ιστούς που μελετήθηκαν, εντός και εκτός νευρικού συστήματος. Για να αποδείξουμε γενετικά τη σχέση αιτιότητας μεταξύ της μετάλλαξης και του φαινοτύπου δημιουργήσαμε διαγονιδιακά ποντίκια για το ανθρώπινο γονίδιο με σκοπό τη διάσωση του φαινοτύπου. Η ταυτοποίηση μίας DnaJC πρωτεΐνης που εμπλέκεται σε νευρομυϊκή ασθένεια και ο μελλοντικός λειτουργικός χαρακτηρισμός της μπορούν να ρίξουν φως σε νέα παθογενετικά μονοπάτια των νευρομυϊκών ασθενειών.



Identification of a novel SLC25 member that causes autosomal recessive ataxia in ENU-mutagenized mice

Alexandros Karakostas, Fotis Ioakeimidis, Vagelis Rinotas, George Kollias, and Eleni Douni

Institute of Immunology, Biomedical Sciences Research Center “Alexander Fleming”, 16672 Vari

Members of the Solute Carrier Family 25 (SLC25) are nuclear-coded proteins that are imported into the inner mitochondrial membrane where they shuttle a variety of metabolites across it. Mutations in SLC25 genes impair mitochondria functions and result in at least 10 various human diseases, by affecting either the synthesis of ATP through oxidative phosphorylation, or the selective transport of solutes in and out of the mitochondrial matrix. We have recently generated by random mouse mutagenesis, a novel mouse model of severe autosomal recessive neurological disease characterized by ataxia, growth retardation and premature lethality. Using genome-wide linkage analysis and sequencing of the candidate genes we identified a nonsense point mutation (C>T) in the coding region of a novel gene member of the (SLC25) that introduces a premature stop codon and results in a loss-of-function protein. This novel SLC25 member is highly conserved among various species, but its function remains completely unknown. Our ongoing studies are focused on a) the identification of the primary site of lesion, b) the identification of mitochondrial dysfunctions, and c) the analysis of the expression profile and the function of this novel SLC25 protein which constitutes a novel pathogenic target in neurological diseases such as ataxia.

Εύρεση ενός νέου SLC25 γονιδίου που προκαλεί αυτοσωμική υπολειπόμενη αταξία σε ENU μεταλλαγμένα ποντίκια

Αλέξανδρος Καρακώστας, Φώτης Ιωακειμίδης, Βαγγέλης Ρηνώτας, Γιώργος Κόλλιας και Ελένη Ντούνη

Ινστιτούτο Ανοσολογίας, Ερευνητικό Κέντρο Βιοϊατρικών Επιστημών «Αλέξανδρος Φλέμιγκ», 16672 Βάρη

Τα μέλη της SLC25 οικογένειας κωδικοποιούνται από πυρηνικά γονίδια και εισάγονται στην εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη όπου μεταφέρουν μια ποικιλία μεταβολιτών διαμέσου αυτής. Μεταλλάξεις στα SLC25 γονίδια είναι επιβλαβείς για τις μιτοχονδριακές λειτουργίες και οδηγούν σε τουλάχιστον 10 διαφορετικές ασθένειες στον άνθρωπο, είτε επηρεάζοντας την σύνθεση του ATP μέσω της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης, είτε παρεμποδίζοντας την επιλεκτική μεταφορά των μεταβολιτών μέσα και έξω από το μιτοχόνδριο. Στο εργαστήριό μας έχουμε πρόσφατα δημιουργήσει με τυχαία μεταλλαξογένεση στο ποντίκι μέσω του μεταλλαξογόνου Ν-αιθυλ-Ν-νιτροζουρία (ENU), ένα νέο μοντέλο σοβαρής αυτοσωμικής υπολειπόμενης νευρολογικής νόσου που χαρακτηρίζεται από αταξία, μειωμένο σωματικό βάρος και πρόωρη θνησιμότητα. Χρησιμοποιώντας γενετική ανάλυση σύνδεσης και ανάγνωση της αλληλουχίας των γονιδίων της χρωμοσωμικής περιοχής εντοπίσαμε μία μη νοηματική σημειακή μετάλλαξη (C>T) στην κωδική περιοχή ενός νέου γονιδίου μέλους της SLC25 οικογένειας. Η μετάλλαξη οδήγησε στην εισαγωγή ενός πρόωρου κωδικονίου λήξης στην αρχή της πρωτεΐνης που υποδηλώνει απώλεια της λειτουργίας της. Αν και το γονίδιο αυτό είναι πολύ συντηρημένο μεταξύ διαφόρων ειδών, η λειτουργία του παραμένει παντελώς άγνωστη. Οι τρέχουσες μελέτες μας στοχεύουν σε α) εντοπισμό της ιστικής βλάβης στο νευρικό σύστημα, β) έλεγχο της μιτοχονδριακής λειτουργίας, και γ) διαλεύκανση του προτύπου έκφρασης και της λειτουργίας του νέου SLC25 γονιδίου που αποτελεί ένα νέο παθογενετικό στόχο σε νευρολογικές ασθένειες όπως η αταξία.

Elements of AOS in three cases of aphasic patients

Dimitrios Kasselimis, Gerasimos Milathianakis, Ioannis Kokkonis, Constantin Potagas, & Ioannis Evdokimidis

Neurology Department, Athens National and Kapodistrian University, Aeginition Hospital

Presence of Apraxia of speech (AOS) as a distinctive disorder, especially in the case of comorbidity with aphasia, remains a debated issue in the current literature (Duffy, 1995; Goodglass and Kaplan, 1983). We present here three clinical cases of chronic patients with aphasia resulting from stroke in the left perisylvian cortex. The aim of this study is to investigate AOS deficits in three classical aphasic syndromes. Boston Diagnostic Aphasia Examination-Short Form adapted in Greek was used for language assessment and patient classification. AA is 45 years old, right-handed, with 15 years of formal schooling, and classified as a Broca's aphasic. His lesion includes frontal, temporal, and parietal cortical areas, as well as parts of the underlying white matter and basal ganglia. TS is 80 years old, right-handed, with 6 years of formal schooling and classified as a Wernicke's aphasic. His lesion includes parts of the premotor cortex, the insula and the underlying white matter, extending to temporal and parietal cortical areas. ET is 58 years old, right-handed, with 17 years of formal schooling and classified as a conduction aphasic. His lesion includes inferior parietal cortical areas. All three patients demonstrated difficulty initiating utterances, elongation of vocalization, groping articulatory movements and self-corrections, producing non-systematic speech errors. On the one hand, these deficits could be attributed to an impairment of motor speech control (Duffy, 1995). On the other hand, there are researchers who argue that these are pure aphasic symptoms related to phonological disturbance (Goodglass and Kaplan, 1983). In conclusion, clinical cases such as the patients presented here, clearly show that the underlying mechanism of specific speech deficits in aphasia needs to be elucidated. Thorough study of such errors in aphasic speech will contribute to the development of more efficient intervention programs for patients with acquired speech disorders.

Duffy, J. R. (1995). *Motor speech disorders: Substrates, differential diagnosis, and management*. New York: Mosby.

Goodglass, H., & Kaplan, E. (1983). *The assessment of aphasia and related disorders (2nd ed)*. Philadelphia: Lea & Febiger.

Στοιχεία απραξίας λόγου σε τρεις περιπτώσεις αφασίας

Δημήτριος Κασελίμης, Γεράσιμος Μηλαθιανάκης, Ιωάννης Κοκκόνης, Κωνσταντίνος Πόταγας, & Ιωάννης Ευδοκιμίδης

Νευρολογική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών, Αιγινήτειο Νοσοκομείο

Η εμφάνιση της απραξίας λόγου ως διακριτής διαταραχής, ειδικά στην περίπτωση συννοσηρότητας με την αφασία, είναι ένα ζήτημα που παραμένει καίριο στη σύγχρονη βιβλιογραφία (Duffy, 1995; Goodglass and Kaplan, 1983). Η παρούσα μελέτη αναφέρεται σε τρεις κλινικές περιπτώσεις χρόνιων ασθενών, που εμφάνισαν αφασικές διαταραχές μετά από ΑΕΕ στο πεδίο άρδευσης της αριστερής μέσης εγκεφαλικής αρτηρίας. Στόχος είναι η διερεύνηση απραξικών ελλειμμάτων σε τρία κλασικά αφασικά σύνδρομα. Η εξέταση των γλωσσικών λειτουργιών και η ταξινόμηση των ασθενών σε αντίστοιχα αφασικά σύνδρομα έγινε με το Boston Diagnostic Aphasia Examination-Short Form. Ο ΑΑ είναι 45 ετών, δεξιόχειρ, με 15 έτη τυπικής εκπαίδευσης και ταξινομείται ως αφασικός τύπου Broca. Η βλάβη του περιλαμβάνει μετωπιαίες, κροταφικές και βρεγματικές περιοχές του φλοιού, καθώς και τμήματα της υποκείμενης λευκής ουσίας και των βασικών γαγγλίων. Ο ΤΣ είναι 80 ετών, δεξιόχειρ, με 6 έτη τυπικής εκπαίδευσης και ταξινομείται ως αφασικός τύπου Wernicke. Η βλάβη του περιλαμβάνει τμήματα του προκινητικού φλοιού, της νήσου και της υποκείμενης λευκής ουσίας, του βρεγματικού και του κροταφικού φλοιού. Ο ΕΤ είναι 58 ετών, δεξιόχειρ, με 17 έτη τυπικής εκπαίδευσης και



ταξινομείται ως αφασικός τύπου αγωγής. Η βλάβη του περιλαμβάνει τμήματα του κάτω βρεγματικού λοβού. Και οι τρεις ασθενείς παρουσίασαν δυσκολία στην έναρξη εκφοράς, επιμήκυνση εκφώνησης, αναζήτηση θέσης άρθρωσης και αυτοδιορθώσεις, κάνοντας μη συστηματικά λάθη κατά την ομιλία τους. Τα ελλείμματα αυτά θα μπορούσαν να χαρακτηριστούν ως συμπτώματα απραξίας λόγου, οφειλόμενα σε διαταραχή κινητικού προγραμματισμού (Duffy, 1995). Εντούτοις, υποστηρίζεται ότι τέτοιου τύπου ελλείμματα είναι αμιγώς γλωσσικά, σχετίζονται με φωνολογικές διαταραχές και εντάσσονται στα αφασικά σύνδρομα (Goodglass and Kaplan, 1983). Συμπερασματικά, κλινικά περιστατικά σαν αυτά που περιγράφονται εδώ καταδεικνύουν την ανάγκη διασαφήνισης του υποκείμενου μηχανισμού περιγεγραμμένων ελλειμμάτων που παρατηρούνται κατά την ομιλία των αφασικών ασθενών. Η συστηματική μελέτη τέτοιου τύπου λαθών στον αφασικό λόγο θα διευκολύνει την ανάπτυξη αποτελεσματικότερων προγραμμάτων παρέμβασης για τους ασθενείς με επίκτητες γλωσσικές διαταραχές.

Duffy, J. R. (1995). *Motor speech disorders: Substrates, differential diagnosis, and management*. New York: Mosby.

Goodglass, H., & Kaplan, E. (1983). *The assessment of aphasia and related disorders (2nd ed)*. Philadelphia: Lea & Febiger.

In search of an underlying mechanism regarding short-term memory deficits in aphasia

Dimitrios Kasselimis^{1,2}, Constantin Potagas², Andreas Nidos², Ioannis Evdokimidis²

¹Neurology Department, Athens National and Kapodistrian University, Aeginition Hospital

²Psychology Department, University of Crete

Memory deficits are often reported in aphasics. The main question of our study is whether memory deficits observed in aphasia are due to a generalized memory disorder or to disturbance of a specific memory subsystem. Our sample consisted of 38 men and 12 women with aphasia resulting from stroke in left middle cerebral artery, 35 to 84 years old (mean: 62.90; SD: 11.22). Patients' mean scores were far beneath expected in four memory tasks: forward digit span, backward digit span, forward spatial span, and backward spatial span. Partial correlations (controlled for age and years of formal schooling) between severity of aphasia and memory scores were significant for both modalities, verbal and spatial. This finding implies a general-modality memory deficit. Thus, a common underlying mechanism for processing or storing of successive stimuli, independent of modality, could be inferred (Chein et al 2003; Baldo & Dronkers 2006). However, effect sizes were much greater for verbal, than spatial modality. Therefore, the engagement of masked verbal strategies for recall of spatial stimuli could be a plausible explanation (Baldo & Dronkers 2006). Moreover, severity of aphasia was significantly correlated with both immediate and working memory. But in this case, effect sizes were of similar magnitude within each modality. This implies that the primary deficit concerns storing information, rather than working memory per se. Overall, our results indicate the existence of a primary deficit in immediate memory, regarding both verbal and spatial modality. Impaired processing could of course occur secondarily, due to the presumed immediate memory disorder. Chein, J.M., Ravizza, S.M., & Fiez, J.A. (2003). Using neuroimaging to evaluate models of working memory and their implications for language processing. *Journal of Neurolinguistics*, 16(4-5), 315-339. Baldo, J.V., & Dronkers, N.F. (2006). The role of inferior parietal and inferior frontal cortex in working memory. *Neuropsychology*, 20(5), 529-538

Διερεύνηση του υποκείμενου μηχανισμού της διαταραχής της βραχύχρονης μνήμης στην αφασία

Δημήτριος Κασελίμης^{1,2}, Κωνσταντίνος Πόταγας¹, Ανδρέας Νίντος¹, Ιωάννης Ευδοκίμης¹

¹Νευρολογική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών, Αιγινήτειο Νοσοκομείο

²Τμήμα Ψυχολογίας Πανεπιστημίου Κρήτης

Σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία η αφασία συχνά συνοδεύεται από μνημονικά ελλείμματα. Στην παρούσα μελέτη διερευνάται κατά πόσον τα μνημονικά ελλείμματα που απαντώνται στην αφασία οφείλονται σε διαταραχή ενός συγκεκριμένου υποσυστήματος μνήμης. Το δείγμα της μελέτης αποτέλεσαν 38 άνδρες και 12 γυναίκες, 35-84 ετών (ΜΟ: 62.90, ΤΑ: 11.22), που εμφάνισαν αφασικές διαταραχές μετά από αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο (ΑΕΕ) στο πεδίο άρδευσης της αριστερής μέσης εγκεφαλικής αρτηρίας. Οι μέσες επιδόσεις των ασθενών σε μνημονικές δοκιμασίες αποκάλυψαν ελλείμματα σε τέσσερις συνιστώσες: άμεση λεκτική, ενεργό λεκτική, άμεση χωρική και ενεργό χωρική μνήμη. Οι αναλύσεις μερικής συσχέτισης (μεταβλητές ελέγχου: ηλικία και έτη τυπικής εκπαίδευσης) έδειξαν ότι η βαρύτητα της αφασίας συσχετίζεται με τις επιδόσεις στις δοκιμασίες λεκτικής, αλλά και χωρικής μνήμης. Με βάση αυτό το εύρημα, μπορούμε να υποθέσουμε την ύπαρξη ενός κοινού μηχανισμού που αφορά γενικά την ικανότητα αποθήκευσης και επεξεργασίας πληροφοριών, ο οποίος εδράζεται στο αριστερό ημισφαίριο (Chein et al 2003; Baldo & Dronkers 2006). Το μέγεθος επίδρασης, όμως, ήταν κατά πολύ μεγαλύτερο για τη λεκτική απ' ό,τι για τη χωρική συνιστώσα. Είναι επομένως πιθανή η εμπλοκή γλωσσικών στρατηγικών κατά τη δοκιμασία ανάκλησης θέσεων στον χώρο (Baldo & Dronkers 2006). Το δεύτερο εύρημα της παρούσας μελέτης ήταν η σημαντική συσχέτιση της βαρύτητας της αφασίας με την άμεση αλλά και την ενεργό μνήμη για κάθε συνιστώσα. Σε αυτήν την περίπτωση, όμως, το μέγεθος επίδρασης ήταν περίπου ίδιο. Το αποτέλεσμα αυτό ενδεχομένως υποδεικνύει ότι ο μηχανισμός που έχει διαταραχθεί στην περίπτωση των συγκεκριμένων αφασικών ασθενών αφορά στην άμεση και όχι στην ενεργό μνήμη. Συνολικά, τα αποτελέσματά μας προτείνουν την ύπαρξη ενός πρωταρχικού ελλείμματος στη συγκράτηση πληροφοριών, λεκτικών, αλλά και οπτικοχωρικών, το οποίο προκαλεί δευτερογενείς διαταραχές στην επεξεργασία τους.

Verbal and spatial memory deficits in aphasic patients

Dimitrios Kasselimis^{1,2}, Constantin Potagas¹, Georgia Tsilikopoulou¹, Ioannis Evdokimidis¹

¹Neurology Department, Athens National and Kapodistrian University, Aeginition Hospital

²Psychology Department, University of Crete

Several studies have shown that aphasic patients often demonstrate memory deficits regarding verbal but, also, spatial modalities. Given that spatial memory is considered to be related mainly to the right hemisphere, such findings put classical views under question. The present study aims to investigate the presence of memory deficits in aphasia, in the two modalities: spatial and verbal. 50 patients (12 women) with aphasia resulting from stroke in left middle cerebral artery, 35 to 84 years old (mean: 62.90; SD: 11.22), participated in this study. Language was assessed with the Boston Diagnostic Aphasia Examination–Short Form (BDAE-SF). Based on the BDAE-SF scores for comprehension, fluency and repetition, an aphasia score (AS) was calculated for each patient. Memory was tested with the WAIS-III digit span subtest and the Corsi block-tapping task. One sample T test revealed that mean scores for all memory tasks were far beneath expected. Three additional analyses were performed with a) patients with severe fluency deficits excluded, b) patients with severe repetition deficits excluded, and c) patients with severe comprehension deficits excluded. Results did confirm our original finding. Partial correlations (controlled for age and years of formal education) revealed that AS was positively correlated with all four memory tasks. Overall, this study supports the existence of a modality-general memory deficit in aphasia, which probably shares a common mechanism with language disturbance.

Ελλείμματα λεκτικής και χωρικής μνήμης σε αφασικούς ασθενείς

Δημήτριος Κασερίμης^{1,2}, Κωνσταντίνος Πόταγας¹, Γεωργία Τσιλικοπούλου¹, Ιωάννης Ευδοκιμίδης¹

¹Νευρολογική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών, Αιγινήτειο Νοσοκομείο

²Τμήμα Ψυχολογίας Πανεπιστημίου Κρήτης

Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι οι αφασικοί ασθενείς παρουσιάζουν μνημονικά ελλείμματα. Τα ελλείμματα αυτά εντοπίζονται στη λεκτική μνήμη, κατά περιπτώσεις όμως και στη χωρική μνήμη, γεγονός καταρχήν παράδοξο εφόσον η αφασία προκύπτει κυρίως μετά από αριστερές βλάβες, ενώ για τη χωρική μνήμη κυρίαρχο θεωρείται το δεξιό ημισφαίριο. Στόχος της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση των μνημονικών ελλειμμάτων στην αφασία, στις δύο συνιστώσες, τη λεκτική και τη χωρική. Στη μελέτη συμμετείχαν 50 αφασικοί ασθενείς (12 γυναίκες), 35-84 ετών (ΜΟ: 62.90, ΤΑ: 11.22). Η αιτία της αφασίας ήταν αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο (ΑΕΕ) στο πεδίο άρδευσης της αριστερής μέσης εγκεφαλικής αρτηρίας. Η εξέταση των γλωσσικών λειτουργιών έγινε με το Boston Diagnostic Aphasia Examination-Short Form (BDAE-SF), και των μνημονικών λειτουργιών με δοκιμασίες χωρικού και λεκτικού εύρους (Corsi και υποκλίμακα της μνήμης αριθμών του WAIS-III αντίστοιχα). Από τις επιδόσεις των ασθενών στο BDAE-SF υπολογίστηκε ένας συνολικός βαθμός αφασίας, ο οποίος αντανάκλα τη βαρύτητα των γλωσσικών ελλειμμάτων του κάθε ασθενούς. Οι αναλύσεις με T-test για ένα δείγμα, έδειξαν ότι οι αφασικοί ασθενείς παρουσιάζουν ελλείμματα και στις δύο μνημονικές συνιστώσες, λεκτική αλλά και χωρική. Πραγματοποιήθηκαν τρεις επιπρόσθετες αναλύσεις με μικρότερες ομάδες, από τις οποίες αποκλείστηκαν ασθενείς: α) με σοβαρή δυσχέρεια λόγου, β) με σοβαρά ελλείμματα κατανόησης εντολών και γ) με σοβαρά ελλείμματα επανάληψης. Οι αναλύσεις αυτές επιβεβαίωσαν το αρχικό εύρημα. Οι μερικές συσχετίσεις (μεταβλητές ελέγχου: ηλικία και έτη τυπικής εκπαίδευσης) έδειξαν σημαντική συμμεταβολή των επιδόσεων στις δοκιμασίες μνήμης και του συνολικού βαθμού αφασίας. Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης υποδεικνύουν την ύπαρξη ενός γενικότερου μνημονικού ελλείμματος στους αφασικούς ασθενείς, το οποίο ενδεχομένως έχει κοινό υπόστρωμα με τις γλωσσικές διαταραχές.

DHEA mimics NGF neuroprotective effects against retinal AMPA excitotoxicity *in vivo*

Despina Kokona, Ioannis Charalampopoulos, Achilleas Gravanis, Kyriaki Thermos

University of Crete, Faculty of Medicine, Department of Basic Sciences, Laboratory of Pharmacology, Heraklion, Crete 71110 GR

Degenerative retinal diseases involve retinal ischemia and excitotoxicity which lead to visual impairment and blindness. Neurosteroids such as DHEA have recently been shown to have antiapoptotic actions via a mechanism involving the NGF receptor, TrkA [Charalampopoulos et al., *FEBS Journal*, 275, Suppl. 1, 2008]. The aim of the present study was to investigate whether DHEA and NGF could protect retinal cells from cell death in an *in vivo* model of AMPA excitotoxicity. Sprague-Dawley rats were administered intravitreally: AMPA (42 nmol per eye) or AMPA and DHEA (10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} M) or NGF (60pg/eye) or a TrkA receptor inhibitor (10^{-6} , 10^{-5} M) and AMPA and DHEA (10^{-6} M) or vehicle. Twenty four hours after treatment, eye cups were removed and prepared for immunohistochemistry. Antibodies raised against retinal markers such as ChAT and calbindin were employed to label cholinergic amacrine cells, and horizontal, cone bipolar and calbindin amacrine cells, respectively. AMPA injections led to retinal cell loss, as previously reported [Kiagiadaki & Thermos, IOVS, 49:3080-3089, 2008], 24 hours after administration. Co-administration of AMPA and DHEA protected the retina in a dose dependent manner. In addition, NGF mimicked the DHEA neuroprotective effects. The TrkA inhibitor reversed the neuroprotection afforded to the retina by DHEA. These results support that the endogenous neurosteroid DHEA protects the retina from AMPA excitotoxicity via a mechanism involving the TrkA receptor.

[This work was partially funded by the Graduate Program of Neuroscience, University of Crete]

Η δεϋδροεπιανδροστερόνη και ο νευρικός αυξητικός παράγοντας προστατεύουν τον αμφιβληστροειδή από διεγερτοτοξικότητα

Δέσποινα Κοκονά, Ιωάννης Χαραλαμπίδης, Αχιλλέας Γραβάνης, Κυριακή Θερμού

Εργαστήριο Φαρμακολογίας, Τομέας Βασικών Επιστημών, Ιατρικό Τμήμα Πανεπιστημίου Κρήτης, Ηράκλειο, Κρήτη 71110

Οι νευροεκφυλιστικές αμφιβληστροειδοπάθειες χαρακτηρίζονται από ισχαιμία και διεγερτοτοξικότητα και οδηγούν ακόμη και σε απώλεια της όρασης. Πρόσφατες έρευνες έχουν δείξει ότι τα νευροστεροειδή, όπως η DHEA, ασκούν αντιαποπτωτικές δράσεις, μέσω μηχανισμού που εμπλέκει τον υποδοχέα του NGF TrkA [Charalampopoulos et al., *FEBS Journal*, 275, Suppl. 1, 2008]. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η διερεύνηση του εάν η DHEA και ο NGF μπορούν να προστατεύσουν τα κύτταρα του αμφιβληστροειδούς από κυτταρικό θάνατο, σε ένα *in vivo* μοντέλο AMPA διεγερτοτοξικότητας. Χρησιμοποιήθηκαν Sprague-Dawley αρουραίοι, στους οποίους χορηγήθηκαν ενδοβολβικά: AMPA (42 nmol/οφθαλμός) ή AMPA και DHEA (10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} M) ή NGF (60pg/οφθαλμός) ή ένας αναστολέας του υποδοχέα TrkA (10^{-6} , 10^{-5} M) και AMPA και DHEA (10^{-6} M) ή έκδοχο. Εικοσιτέσσερις ώρες μετά τη χορήγηση αφαιρέθηκαν οι οφθαλμικοί κάλυκες και προετοιμάστηκαν για ανοσοϊστοχημικές μελέτες. Χρησιμοποιήθηκαν αντισώματα για αμφιβληστροειδικούς δείκτες, όπως η ChAT και η calbindin, για τη σήμανση χολινεργικών αμακρινικών κυττάρων, και οριζόντιων, δίπολων συνδεδεμένων με κωνία και τα αμακρινικά κύτταρα που εκφράζουν calbindin, αντίστοιχα. Η χορήγηση AMPA οδήγησε σε απώλεια των κυττάρων του αμφιβληστροειδούς, όπως έχει δείχθει και σε προηγούμενη έρευνα [Kiagiadaki & Thermos, IOVS, 49:3080-3089, 2008], 24 ώρες μετά τη χορήγηση. Η συνχορήγηση AMPA και DHEA προστατεύει τον αμφιβληστροειδή από την AMPA διεγερτοτοξικότητα κατά δόσο-εξαρτώμενο τρόπο. Επιπλέον, ο NGF μιμήθηκε τις νευροπροστατευτικές δράσεις της DHEA, ενώ ο αναστολέας του TrkA υποδοχέα τις ανέστρεψε. Αυτά τα δεδομένα υποστηρίζουν ότι η DHEA προστατεύει τον αμφιβληστροειδή από την AMPA διεγερτοτοξικότητα, μέσω μηχανισμού που εμπλέκει τον TrkA υποδοχέα του NGF. [Η έρευνα αυτή χρηματοδοτήθηκε μερικώς από το Μεταπτυχιακό πρόγραμμα των Νευροεπιστημών, Πανεπιστήμιο Κρήτης]

PKCε regulates differentiation in Peripheral Nervous System tumor cells

Xenia Koliou¹, Konstantinos Dimas¹, Nikos Sakellaridis² and Dimitra Mangoura¹

1. Biomedical Research Foundation of the Academy of Athens, Athens

2. Medical School, University of Thessaly, Larissa

We and others have shown that PKCε, a member of serine/threonine Protein Kinase C family, may serve as signaling and transcriptional “hub” particularly in development, where it plays important roles in neural differentiation in the CNS, as for example to switch EGF receptor signaling from proliferation to differentiation. To elucidate the role of PKCε in the growth and differentiation of PNS cells, we used the human 90-8 MPNST cell line, of Schwann cell origin, and tested the long term effects of PKCε activation with the PKCε-selective activator peptide, ψεRACK, (TAT-tagged; 1μg/ml for 72 hours). ψεRACK-treated, but not TAT- or vehicle treated cells, presented with highly morphological differentiated features, characterized by multiple branching processes and an elongated cell body, a stark contrast from their previous spherical cell body and occasional stubby processes. Changes in the transcription program, predicted from the morphological differentiation were confirmed in the message levels of several Schwann cell-specific gene markers, such as S-100b and myelin protein zero. Moreover, drastic changes in the invasive properties of ψεRACK-treated cells were revealed with matrigel assays, where generation of cellular protrusions and thus of cellular networks was abolished. Taken together these data strongly indicate that activation of PKCε may regulate cell differentiation in PNS, at least in transformed Schwann cells (support PENED 03ED778).

Η PKCε ρυθμίζει τη διαφοροποίηση των καρκινικών κυττάρων του Περιφερικού Νευρικού Συστήματος

Ξένια Κολιού¹, Κωνσταντίνος Δήμας¹, Νίκος Σακελλαρίδης² και Δήμητρα Μάγκουρα¹

1. Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών της Ακαδημίας Αθηνών, Αθήνα

2. Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα

Πειραματικές εργασίες από εμάς, και άλλους, έχουν αποδείξει ότι η PKCε, μέλος της οικογένειας των πρωτεϊνικών κινάσεων σερίνης/θρεονίνης C (PKC), μπορεί να αποτελέσει «κόμβο» σε μονοπάτια μεταγωγής σήματος και τη μεταγραφή γονιδίων ειδικά στην ανάπτυξη, όπου και παίζει σημαντικό ρόλο στη νευρική διαφοροποίηση στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα, όπως για παράδειγμα στην αλλαγή του μονοπατιού μεταγωγής σήματος, του EGF υποδοχέα, από πολλαπλασιασμό σε διαφοροποίηση. Για να εξετάσουμε το ρόλο της PKCε στην ανάπτυξη και τη διαφοροποίηση των κυττάρων του Περιφερικού Νευρικού Συστήματος (ΠΝΣ) επιλέξαμε την ανθρώπινη, καρκινική κυτταρική σειρά MPNST 90-8 που προέρχεται από κύτταρα Schwann και μελετήσαμε τα μακροπρόθεσμα αποτελέσματα της ενεργοποίησης της PKCε από το ειδικό για PKCε πεπτίδιο ενεργοποίησης, το ψεRACK, (σημασμένο με TAT· 1μg/ml για 72 ώρες). Τα κύτταρα που επώαστηκαν με ψεRACK, αντίθετα με αυτά που επώαστηκαν μόνο με TAT ή μόνο με το φορέα, εμφάνισαν έντονα μορφολογικά χαρακτηριστικά διαφοροποίησης που χαρακτηρίζονται από πολλαπλές διακλαδούμενες αποφύσεις και ένα επιμηκυμένο κυτταρικό σώμα, σε αντίθεση με το προηγούμενο σφαιρικό σώμα και τις περιστασιακές στελεχώδεις αποφύσεις. Οι αλλαγές στο μεταγραφικό πρόγραμμα, που προβλέφθηκαν από τη μορφολογική διαφοροποίηση, επιβεβαιώθηκαν με την ανίχνευση του μηνύματος αρκετών ειδικών, για κύτταρα Schwann, δεικτών όπως οι πρωτεΐνες S-100b και myelin protein zero. Επιπλέον, με τη χρήση δοκιμών matrigel, αποκαλύφθηκαν δραστικές αλλαγές στη διεισδυτική ικανότητα των επωασμένων με ψεRACK κυττάρων στα οποία και παρατηρήθηκε η απώλεια δημιουργίας κυτταρικών προεκβολών, άρα και κυτταρικών δικτύων. Όλα μαζί τα παραπάνω δεδομένα υποδεικνύουν ότι η ενεργοποίηση της PKCε πιθανώς ρυθμίζει την κυτταρική διαφοροποίηση στο ΠΝΣ, τουλάχιστον στα μετασχηματισμένα Schwann κύτταρα (υποστήριξη ΠΕΝΕΔ 03ΕΔ778).

A single early life generalized seizure reduces the threshold to pilocarpine-induced seizures in adult rats.

Panayiotis Kouis, Apostolos V. Mikroulis and Caterina Psarropoulou

**Lab. of Animal & Human Physiology, Dept. Biological Applications and Technologies,
Faculty of Science and Technology, University of Ioannina, 45110 Ioannina, Greece.**

Previous work in our lab has shown that a single pentylenetetrazol (PTZ)-induced generalized, sustained seizure at postnatal day 20 (P20) leads to a long term enhancement of cholinergic-dependent excitability in the rat brain, assessed *in vitro*. We therefore examined the dose of the cholinergic agonist pilocarpine required to provoke a generalized seizure in adult conditioned rats.

Conditioning: P20 Sprague-Dawley rat pups were injected with the GABA_A antagonist PTZ (70-90mg/kg, i.p.), monitored for 4 hours, and the provoked seizure was classified according to the Racine scale over time; their untreated littermates were kept as controls. Test: At >P60 or older, all rats were injected with subconvulsive doses of the cholinergic agonist pilocarpine (150-100-150 mg/kg) until seizure manifestations were recorded.

At 250 mg/kg pilocarpine, 18/29 PTZ-conditioned and only 1/19 non-conditioned rats manifested convulsive behavior (Fisher's exact test $p < 0.0001$), which reached stage 5 often in the former group (10/18) and never in the latter (0/1). Also, rats with a conditioning seizure of >20 min at stage 5 (PTZ group) exhibited a trend towards stronger pilocarpine seizures compared to rats with a less severe conditioning seizure of <stage 5/<20 min at stage 5 (PTZ(-) group), suggesting that the adult threshold reduction was proportionate to the severity/duration of the conditioning (immature) seizure. Both groups (PTZ, PTZ(-)) however exhibited reduced threshold compared to controls (chi-square $p = 0.0002$).

We also compared conditioned (PTZ group only) and control rats of either sex and confirmed in both instances (males $p = 0.03$, females $p = 0.004$) the reduced seizure threshold shown for the total of this cohort. A comparison of control (i) and PTZ (ii) male and female rats indicated no differences ($p > 0.05$).

In conclusion, our results show that an early life generalized brief or sustained PTZ-seizure reduces the threshold of adult seizures in response to a cholinergic agent-pilocarpine. They thus lend support to our earlier *in vitro* findings of a long term enhancement of cholinergic-muscarinic excitability, following a generalized early life seizure.

Μια γενικευμένη κρίση κατά την ανάπτυξη μειώνει τον ουδό πρόκλησης κρίσεων με πιλοκαρπίνη στους ενήλικους επίμυες.

Παναγιώτης Κούης, Απόστολος Β. Μικρούλης και Κατερίνα Ψαρροπούλου

**Εργ. Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμ. Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών,
Σχολή Επιστήμης και Τεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 45110 Ιωάννινα, Ελλάδα**

Προηγούμενες έρευνες στο εργαστήριό μας έδειξαν ότι μια γενικευμένη, παρατεταμένη κρίση με χορήγηση πεντυλενετετραζόλης (PTZ) την 20η μέρα μετά την γέννηση (P20) οδηγεί σε μακροπρόθεσμη ενίσχυση της ACh-εξαρτώμενης διεγερσιμότητας στον εγκέφαλο επιμύων *in vitro*. Στην παρούσα εργασία εξετάσαμε την δόση του μουσκαρινικού αγωνιστή πιλοκαρπίνη που είναι απαραίτητη για να προκληθεί μια γενικευμένη κρίση στους ενήλικους PTZ (“επιληπτικούς”) επίμυες.

Αρουραίοι Sprague-Dawley ηλικίας 20 ημερών ενέθηκαν με τον GABA_A ανταγωνιστή PTZ (70-90mg/kg, i.p.), παρακολούθηθηκαν για 4 ώρες και η προκληθείσα κρίση κατηγοριοποιήθηκε κατά την κλίμακα Racine (1972) καθ’ όλη την διάρκεια της.

Σε ηλικία τουλάχιστον 60 ημερών, σε όλους τους επίμυς χορηγήθηκαν διαδοχικές υπο-σπασμογόνες δόσεις του χολινεργικού αγωνιστή πιλοκαρπίνη (150-100-150 mg/kg) μέχρι να παρουσιαστούν σπασμοί.

Μετά την δεύτερη δόση πιλοκαρπίνης (250 mg/kg, συνολικά) 18/29 PTZ-πειραματόζωα και μόνο 1/19 μάρτυρες (control) παρουσίασαν σπασμούς ($p < 0.0001$, Fisher's exact test), οι οποίοι έφθαναν συχνά στο 5ο στάδιο της κλίμακας Racine στην πρώτη ομάδα (10/18) και ποτέ στην δεύτερη (0/1). Επίσης, επίμυες που είχαν εμφανίσει παρατεταμένη ($> 20\text{min}$ –ομάδα PTZ) γενικευμένη κρίση με PTZ έτειναν προς ισχυρότερες κρίσεις με την χορήγηση πιλοκαρπίνης, σε σύγκριση με αρουραίους που εμφάνισαν μικρότερες κρίσεις από την πεντυλενετετραζόλη (στάδια < 5 / $< 20\text{min}$ – ομάδα PTZ(-)), γεγονός που υποδεικνύει θετική συσχέτιση της μείωσης του ουδού πρόκλησης κρίσης με την βαρύτητα /διάρκεια της πρώτης κρίσης (στο ανώριμο άτομο). Παρ' όλα αυτά, και οι δύο ομάδες (PTZ και PTZ(-)) εμφάνισαν μειωμένους ουδούς σε σχέση με τα πειραματόζωα-μάρτυρες ($p = 0.0002$, χ^2 -test).

Επίσης συγκρίναμε τα PTZ-πειραματόζωα (PTZ ομάδα μόνο) και πειραματόζωα-μάρτυρες ανά φύλο και επιβεβαιώσαμε και στις δυο περιπτώσεις (αρσενικά $p = 0.03$, θηλυκά $p = 0.004$) τον μειωμένο ουδό πρόκλησης επιληπτοειδών κρίσεων που δείχθηκε για όλα συνολικά τα ζώα. Η σύγκριση αρσενικών και θηλυκών επιμύων στις ομάδες μαρτύρων (i) και PTZ (ii) δεν έδειξε διαφορές ($p > 0.05$).

Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα μας δείχνουν ότι μια γενικευμένη κρίση κατά την ανάπτυξη - βραχεία ή παρατεταμένη- με χορήγηση PTZ, μειώνει τον ουδό πρόκλησης επιληπτικής κρίσης στο ενήλικο άτομο με χορήγηση ενός χολινεργικού παράγοντα. Το εύρημα αυτό υποστηρίζει προηγούμενα *in vitro* ευρήματα μακροπρόθεσμης ενίσχυσης της χολινεργικής-μουσκαρινικής διεγερσιμότητας έπειτα από μια γενικευμένη κρίση κατά την ανάπτυξη.

Sustained activation of PI3K/Akt pathway under hypoxic and ischemic conditions is accompanied by reduced survival in SHSY5Y cells

Maria Kourti, Panagiota Papazafiri

Department of Animal and Human Physiology, School of Biology, National and Kapodistrian University of Athens

Cell response during hypoxic conditions plays a crucial role in the central nervous system, as it is connected to a variety of dysfunctions, due to imbalanced stimulatory and inhibitory transmission mechanisms, leading to excitotoxicity. The present study focused on the activation of PI3K/Akt survival signalling pathway as well as hypoxia-inducible factor HIF-1 α pathway, during hypoxic (in the presence of CoCl₂) and ischemic conditions (glucose deprivation), in human neuroblastoma cell line (SHSY5Y). Our results showed that the lack of O₂ and nutrients was accompanied by a decrease of cell survival. As expected, treatment with CoCl₂ (50-400 μ M) caused a significant increase on HIF-1 α protein levels which was detectable after 2 h treatment. Also, HIF-1 α protein levels were remarkably induced by CoCl₂ in the absence of glucose. On the contrary, HIF-1 α protein levels were significantly suppressed when glucose deprivation conditions, alone, were applied to the cell cultures. Interestingly, in both conditions, a significant increase in activation of Akt was detected which was accompanied by GSK3 phosphorylation, the direct target of p-Akt. Using wortmannin, the specific PI3K/Akt inhibitor, a crosstalk between these two pathways (PI3K/Akt and HIF-1 α) was observed, in the presence of CoCl₂ as well as in the absence of glucose. As the decreased cell survival could not be explained by PI3K/Akt activation, we explored the possible involvement of free cytoplasmic calcium (Ca²⁺). Ca²⁺ concentration measurements did not reveal any massive accumulation of free calcium in the cytoplasm, a fact that could explain the reduced cell survival. In contrast, we detected decreased Ca²⁺ concentrations in the endoplasmic reticulum and increased calcium ion influx during glucose deprivation. The increase in calcium influx probably could explain the enhancement of PI3K/Akt, which, however, can not overmaster the apoptotic signals that lead to cell death. These signals, downstream of calcium influx, could even include HIF-1 α and PI3K/Akt, for which a proapoptotic role may be revealed in sustained hypoxic and ischemic conditions.

This work was funded by the "Kapodistrias" program of the University of Athens

Παρατεταμένη ενεργοποίηση του μονοπατιού PI3K/Akt σε συνθήκες υποξίας και ισχαιμίας συνοδεύεται από μειωμένη επιβίωση στα κύτταρα SHSY5Y

Μαρία Κούρτη, Παναγιώτα Παπαζαφείρη

Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Η απόκριση των κυττάρων σε συνθήκες υποξίας παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον, κυρίως στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα, καθώς έχει συνδεθεί με ποικίλες δυσλειτουργίες, οι οποίες οφείλονται σε ανισορροπία των διεγερτικών και ανασταλτικών μηχανισμών διαβίβασης, οδηγώντας σε διεγερσιμοτοξικότητα. Στη παρούσα εργασία διερευνήθηκε η ενεργότητα του μονοπατιού επιβίωσης PI3K/Akt και το μονοπάτι του επαγόμενου από την υποξία μεταγραφικού παράγοντα HIF-1 α , σε συνθήκες προσομοίωσης της υποξίας (παρουσία CoCl₂) και της ισχαιμίας (στέρση γλυκόζης), σε ανθρώπινα κύτταρα νευροβλαστώματος (SHSY5Y). Τα αποτελέσματα έδειξαν μείωση της κυτταρικής επιβίωσης σε συνθήκες στέρσης O₂ και θρεπτικών παραγόντων. Τα πρωτεϊνικά επίπεδα του HIF-1 α , όπως ήταν αναμενόμενο, αυξήθηκαν σημαντικά παρουσία CoCl₂ (50-400 μ M), ήδη μετά από 2 ώρες επώασης, ενώ απουσία γλυκόζης σχεδόν εκμηδενίστηκαν. Σε συνθήκες ταυτόχρονης στέρσης γλυκόζης και παρουσίας CoCl₂, παρατηρήθηκε σημαντική επαγωγή της πρωτεΐνης HIF-1 α . Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η έντονη ενεργοποίηση της Akt, και στις δύο συνθήκες, που συνοδεύεται από φωσφορυλίωση της



GSK3, η οποία αποτελεί άμεσο στόχο της. Χρησιμοποιώντας τον ειδικό αναστολέα του σηματοδοτικού μονοπατιού PI3K/Akt, wortmannin, παρατηρήθηκε σύνδεση των υπό μελέτη μονοπατιών τόσο παρουσία CoCl_2 όσο και απουσία γλυκόζης, καθώς αναστολή της p-Akt οδήγησε σε σημαντική μείωση του HIF-1 α . Εφόσον, η παρατηρούμενη μείωση της βιωσιμότητας δε μπορεί να συνδεθεί με την αυξημένη ενεργότητα της PI3K/Akt, διερευνήθηκε η πιθανή εμπλοκή των ιόντων ασβεστίου. Η καταγραφή της συγκέντρωσης Ca^{2+} δεν έδειξε μαζική συσσώρευσή τους στο κυτταρόπλασμα, γεγονός που θα μπορούσε να δικαιολογήσει το κυτταρικό θάνατο. Αντίθετα, παρατηρήθηκε μειωμένη συγκέντρωση Ca^{2+} στο ενδοπλασματικό δίκτυο και αυξημένη εισροή ιόντων σε συνθήκες στέρησης γλυκόζης. Η έντονη αυτή εισροή ιόντων Ca^{2+} πιθανόν να δικαιολογεί την αυξημένη ενεργοποίηση της PI3K/Akt, η οποία όμως τελικά φαίνεται να μην υπερσχύει των αποπτωτικών σημάτων που τελικά οδηγούν τα κύτταρα σε θάνατο. Στα σήματα αυτά, που ενεργοποιούνται καταρροϊκά της εισόδου ασβεστίου, μπορεί να περιλαμβάνεται τόσο ο HIF-1 α όσο και η ίδια η Akt, αναλαμβάνοντας έναν προαποπτωτικό ρόλο σε συνθήκες παρατεταμένης υποξίας και ισχαιμίας.

Η εργασία αυτή χρηματοδοτήθηκε από το πρόγραμμα <<Καποδίστριας>> του Πανεπιστημίου Αθηνών

Remyelination after cuprizone-induced demyelination is accelerated in mice deficient in St8siaIV polysialyltransferase

Paraskevi N. Koutsoudaki^{1,2}, Herbert Hildebrandt^{2,3}, Viktoria Gudi^{1,2}, Thomas Skripuletz¹, Jelena Škuljec^{1,2}, Martin Stangel^{1,2}

¹Department of Neurology and ³Department of Cellular Chemistry, Hannover Medical School, Germany and ²Center for Systems Neuroscience, Hannover, Germany

Multiple sclerosis is an autoimmune demyelinating disease affecting 2.5 million people worldwide. Remyelination is observed in 50% of the demyelinated multiple sclerosis plaques, but it ultimately fails. Elucidation of the remyelination mechanism could assist in developing regenerating treatment strategies for multiple sclerosis. The neural cell adhesion molecule (NCAM) is posttranslationally modified through polysialylation, which regulates its function through disruption of its adhesive properties. Polysialic acid (PSA) is added on NCAM by two polysialyltransferases, St8siaII and St8siaIV, the latter of which is the predominantly active enzyme in adult mice. PSA is a myelination inhibitor during development, while it has been suggested to act as an inhibitor of remyelination as well. Here the commonly used cuprizone model for de- and remyelination and an St8siaIV deficient mouse strain were used in order to elucidate the role of PSA in experimentally-induced remyelination. After developmental myelination of the St8siaIV^{-/-} C57BL/6J mouse was investigated, 8-10 week old animals were submitted to cuprizone treatment for 5 weeks. They were also studied for 1 week after withdrawal from cuprizone. Developmental myelination of the St8siaIV knock-out mice was not disturbed. No difference was found in demyelination, but reduced PSA synthesis was associated with faster onset of myelin expression in the corpus callosum and the cortex after withdrawal from cuprizone. This was mainly due to enhanced oligodendrocyte precursor cell (OPC) differentiation and to a lesser extent to OPC recruitment. This data show that PSA modulates remyelination *in vivo* and could serve as a target for new regenerative treatments for multiple sclerosis. This study was supported by Marie Curie Actions; Grant number: MST-CT-2005 021014 and by the Georg-Christoph-Lichtenberg Fellowship by the State of Lower Saxony.

Επιτάχυνση της επαναμυελίνωσης σε μύς με έλλειψη της πολυσιαλλοτρανσφεράσης St8siaIV μετά από απομυελίνωση με cuprizone

Παρασκευή Ν. Κουτσουδάκη^{1,2}, Herbert Hildebrandt^{2,3}, Viktoria Gudi^{1,2}, Thomas Skripuletz¹, Jelena Škuljec^{1,2}, Martin Stangel^{1,2}

¹Τμήμα Νευρολογίας και ³Τμήμα Κυτταρικής Χημείας, Ιατρική Σχολή Ανόβερου, Γερμανία και ²Κέντρο Συστημικής Νευροεπιστήμης, Ανόβερο, Γερμανία

Η σκλήρυνση κατά πλάκας είναι μία αυτοάνοση απομυελινωτική ασθένεια που προσβάλλει παγκοσμίως 2,5 εκατομμύρια ανθρώπους. Στο 50% των απομυελινωμένων πλακών παρατηρείται αυτόματη επαναμυελίνωση, η οποία όμως τελικά αποτυγχάνει. Η αποσαφήνιση του επαναμυελινωτικού μηχανισμού θα συνέβαλλε στην ανάπτυξη αναγεννητικών θεραπευτικών στρατηγικών. Το μόριο προσκόλλησης του νευρικού κυττάρου (NCAM) τροποποιείται μεταμεταφραστικά με την προσθήκη πολυσιαλικού οξέος (PSA), το οποίο ρυθμίζει τη λειτουργικότητα του NCAM διαταράσσοντας τις προσκολλητικές του ιδιότητες. Το PSA προστίθεται στο NCAM από δύο πολυσιαλλοτρανσφεράσες, τις St8siaII και St8siaIV, εκ των οποίων η δεύτερη είναι το κυρίως ενεργό ένζυμο στα ενήλικα ποντίκια. Το PSA είναι αναστολέας της μυελίνωσης κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης, ενώ έχει επίσης προταθεί ότι δρα ανασταλτικά στην επαναμυελίνωση. Στη μελέτη αυτή χρησιμοποιήσαμε το μοντέλο του cuprizone για απομυελίνωση και επαναμυελίνωση, καθώς και ποντίκια με έλλειψη St8siaIV για να διαλευκάνουμε το ρόλο του PSA στην πειραματική επαναμυελίνωση. Αφού μελετήθηκε η αναπτυξιακή μυελίνωση St8siaIV^{-/-} C57BL/6J ποντικών, ζώα ηλικίας 8-10 εβδομάδων



υποβλήθηκαν σε δίαιτα με cuprizone για 5 εβδομάδες. Τα ζώα μελετήθηκαν επίσης για 1 εβδομάδα μετά την απόσυρση από την αγωγή. Η αναπτυξιακή μυελίνωση των διαγονιδιακών ζώων δεν επηρεάστηκε. Δεν παρατηρήθηκε διαφορά στην απομυελίνωση, όμως η μειωμένη σύνθεση PSA συσχετίστηκε με επιταχυμένη εκκίνηση έκφρασης μυελινικών πρωτεϊνών στο μεσολόβιο και το φλοιό μετά την απόσυρση του cuprizone. Αυτή οφειλόταν κυρίως σε ενισχυμένη διαφοροποίηση και σε μικρότερο βαθμό σε ενισχυμένη στρατολόγηση των πρόδρομων ολιγοδενδροκυττάρων (OPC). Τα αποτελέσματα της έρευνας δείχνουν ότι το PSA επιδρά στη ρύθμιση της επαναμυελίνωσης *in vivo* και επομένως θα μπορούσε να αποτελέσει μόνιο στόχο για νέες αναγεννητικές θεραπείες για τη σκλήρυνση κατά πλάκας.

Αυτή η έρευνα χρηματοδοτήθηκε από τις δράσεις «Μαρία Κιουρί», αριθμός συμβολαίου: MST-CT-2005 021014, και από την υποτροφία Georg-Christoph-Lichtenberg του κρατιδίου της Κάτω Σαξονίας.

Effect of consumption of *Hypericum perforatum* infusion on behavior and cholinergic system of adult mice after co-administration with cadmium*

Kotsia E- M.¹, Telonis A.¹, Vasilopoulou C,¹ Linardaki Z.¹, Iatrou G.², Margarity M.¹

¹Lab. of Human & Animal physiology, ²Division of Plant Biology, Department of Biology, University of Patras

Aim of this project was to study the possible positive effects of *Hypericum perforatum* infusion (2 % w/v) on adult mice after simultaneous administration with cadmium (50 ppm/day, 3 weeks), by determining **a**) anxiety/fear behavior (thigmotaxis and elevated plus maze test); and **b**) the activity of two acetylcholinesterase (AChE) isoforms on mice brain regions (cerebral hemispheres, midbrain, cerebellum) and liver. The results indicated that: **A**) cadmium provide increased anxiety/fear behavior which was reversed in the animal group co-administered with the infusion (\downarrow 7.71 % of thigmotaxis indicator and \uparrow 42.92 % of time remaining at open arms of the elevated plus maze device); and **B**) the activity of the two AChE isoforms (salt-soluble /SS and insoluble/DS) varied among the brain regions examined, after cadmium admisistretion. Co-administration with *Hypericum perforatum*, showing also tissue-specificity.

*Partially Supported by BIOFLORA network, University of Patras.

Επίδραση της κατανάλωσης αφεψήματος του φυτού *Hypericum perforatum* στη συμπεριφορά και στο χολινεργικό σύστημα ενηλίκων μυών μετά απο συγχορήγησή του με κάδμιο*

**Κώτσια Ε- Μ.¹, Τελώνης Α.¹, Βασιλοπούλου Αικ.¹, Λιναρδάκη Ζ.¹, Ιατρού Γ.²,
Μαργαρίτη Μ.¹**

¹Εργαστήριο Φυσιολογίας Ανθρώπου και Ζώων & ²Τομέας Βιολογίας Φυτών, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών

Στόχος της παρούσας εργασίας ήταν η μελέτη της πιθανής θετικής επίδραση του αφεψήματος του *Hypericum perforatum* (2 % w/v) σε ενήλικες αρσενικούς μύες ύστερα από συγχορήγηση του με κάδμιο (50 ppm/ημέρα, 3 εβδομάδες) σε σχέση **α**) με τη συμπεριφορά του άγχους/φόβου (δοκιμασία του θιγμοτακτισμού και υπερυψωμένου λαβυρίνθου) και **β**) την ενεργότητα δύο ισομορφών της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) σε εγκεφαλικές περιοχές (κεντρικά ημισφαίρια, μεσεγκέφαλος, παρεγκεφαλίδα) και το ήπαρ. Τα αποτελέσματα έδειξαν: **A**) Στους μυς στους οποίους χορηγήθηκε κάδμιο καταγράφηκε αυξημένη συμπεριφορά άγχους/φόβου η οποία αντιστράφηκε στην ομάδα των πειραματόζωων στα οποία χορηγήθηκε ταυτόχρονα και το αφέψημα (\downarrow 7.71 % του θιγμοτακτικού δείκτη και \uparrow 42.92 % του χρόνου παραμονής στους ανοιχτούς βραχίονες της συσκευής του υπερυψωμένου λαβυρίνθου). **B**) Η χορήγηση του καδμίου σε σχέση με την ενεργότητα των δύο ισομορφών της AChE (διαλυτή σε άλας/SS και αδιάλυτη/DS) δεν ακολούθησε το ίδιο πρότυπο στις υπό μελέτη περιοχές και η συγχορήγηση του αφεψήματος του *Hypericum perforatum* ακολούθησε ιστοειδική δράση.

*Η εργασία υποστηρίχθηκε εν μέρει από το Ενδοπανεπιστημιακό Δίκτυο του Παν. Πατρών BIOFLORA

The type of corticosteroid medication differentially influences the activity of vasopressinergic neurons in the human hypothalamus

Yiannis Malidelis^{1,2}, Maria Panayotacopoulou^{1,2}, Marianna Pagida¹, Joop van Heerikhuizen² and Dick Swaab²

¹Department of Psychiatry, University Research Institute of Mental Health, Soranou Efessiou 2, Papagou, ²Netherlands Institute for Neurosciences, Amsterdam

Our previous studies showed that the expression of tyrosine hydroxylase (TH – the first and rate-limiting enzyme for catecholamine synthesis) in the vasopressinergic neurons of the human hypothalamus depends on their state of osmotic and/or nonosmotic activation. Glucocorticoids (GCs) affect the transcriptional activity of both vasopressin (VP) and TH gene in various manners. In the present study we investigated the expression of TH and VP in the supraoptic nucleus (SON) of 18 patients treated with different types of corticosteroids (prednisone, dexamethasone, cortisol) and 6 controls. Consecutive paraffin sections in 3 central levels of the SON were immunohistochemically stained for VP and TH, followed by morphometrical study and statistical analysis. Our results show that the VP content in the SON of GCs-treated patients is lower compared to controls, with the exception of dexamethasone treated patients who showed increased VP content. VP neurons of the SON in GCs-treated cases appear to have reduced cell area, with the exception of prednisone treated patients. The cell size of TH/VP vasopressinergic neurons is generally increased in GCs-treated patients, especially among cases of prednisone-treated group. In this group of patients, an increase in the intensity of TH staining was also observed. Our results show a differential response of human VP neurosecretory cells to the different types of GCs medication. Prednisone (possibly due to its sodium retaining potency) is implicated in osmotic homeostasis, leading to increased activation of the TH/VP neurons.

Ο τύπος της φαρμακοθεραπείας με κορτικοστεροειδή έχει διαφορετική επίδραση στην ενεργότητα των βασοπρεσινικών νευρώνων στον υποθάλαμο του ανθρώπου

Ιωάννης Μαλιδέλης^{1,2}, Μαρία Παναγιωτακοπούλου^{1,2}, Μαριάννα Παγίδα¹, Joop van Heerikhuizen² και Dick Swaab²

¹Ψυχιατρική Κλινική και Ερευνητικό Πανεπιστημιακό Ίδρυμα Ψυχικής Υγιεινής Παν. Αθηνών, Παπάγου, ²Ινστιτούτο Νευροεπιστημών Ολλανδίας, Άμστερνταμ

Προηγούμενες μελέτες μας έδειξαν ότι στους βασοπρεσινικούς νευρώνες του ανθρώπινου υποθαλάμου η έκφραση της υδροξυλάσης της τυροσίνης (TH - το πρώτο και καθοριστικό για τη σύνθεση των κατεχολαμινών ένζυμο) εξαρτάται από το βαθμό οσμωτικής ή/και μη οσμωτικής ενεργοποίησης. Τα γλυκοκορτικοειδή (GCs) επηρεάζουν με ποικίλους τρόπους τη μεταγραφική δραστηριότητα των γονιδίων της βασοπρεσίνης (VP) και της TH. Στην παρούσα εργασία μελετήσαμε την έκφραση της TH και της VP στον υπεροπτικό πυρήνα (SON) 18 ασθενών υπό θεραπεία με διάφορους τύπους GCs (πρεδνισόνη, δεξαμεθαζόνη, κορτιζόλη) καθώς και 6 μαρτύρων. Συνεχόμενες τομές παραφίνης σε 3 κεντρικά επίπεδα του SON χρώσθηκαν ανοσοϊστοχημικά για VP και TH. Ακολούθησε μορφομετρική μελέτη και στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων. Τα αποτελέσματά μας δείχνουν ότι στον SON ασθενών υπό θεραπεία με GCs τα επίπεδα VP είναι χαμηλότερα σε σχέση με τους μάρτυρες, με εξαίρεση τους ασθενείς που λάμβαναν δεξαμεθαζόνη, όπου αυτά εμφανίζονται αυξημένα. Το μέγεθος των VP νευρώνων είναι γενικά μειωμένο, με εξαίρεση τους ασθενείς υπό θεραπεία με πρεδνισόνη. Το μέγεθος των θετικών για TH/VP νευρώνων είναι γενικά αυξημένο στους ασθενείς υπό θεραπεία με GCs, ιδιαίτερα στους ασθενείς που έλαβαν πρεδνισόνη. Στην ομάδα αυτή παρατηρήθηκε και εντονότερη ενδοκυτταρική χρώση για TH. Τα αποτελέσματά μας δείχνουν διαφορετική απόκριση των VP νευροεκκριτικών κυττάρων του ανθρώπου στους διαφορετικούς τύπους φαρμακοθεραπείας με GCs. Η πρεδνισόνη (πιθανά λόγω της κατακράτησης ιόντων νατρίου που προκαλεί) εμπλέκεται στην οσμωτική ομοιόσταση, προκαλώντας αυξημένη ενεργοποίηση των TH/VP νευρώνων.

Comparison of muscarinic effects on NMDA-dependent spontaneous epileptiform discharges in septal and temporal rat hippocampal slices, and its modulation following a pentylenetetrazol-induced convulsion during development

Apostolos V. Mikroulis and Caterina Psarropoulou

**Lab. of Animal & Human Physiology, Dept. of Biological Applications & Technologies,
University of Ioannina**

We have shown previously that a single pentylenetetrazol (PTZ) -induced early-life generalized seizure affects cholinergic-muscarinic excitatory drive in adult rats. On the other hand, interactions between NMDA and mAChRs have been reported. Also excitability differences along the septotemporal hippocampal axis are known. We therefore investigated the effects of endogenous ACh on the frequency (Hz) of the spontaneous synchronous interictal-like epileptiform discharges recorded from the CA3 area of hippocampal slices from naïve and PTZ-treated* (*that had had a sustained generalized, PTZ-induced seizure at 20 days postnatally) adult Sprague-Dawley rats during perfusion with no added Mg^{2+} ACSF.

Temporal slices exhibited a higher basal frequency than septal slices in no Mg^{2+} ACSF, as expected (0.460 ± 0.028 Hz, $n=85$ vs 0.200 ± 0.023 Hz, $n=47$). Perfusion with the anticholinesterase eserine (10 μ M) increased significantly frequencies in all slices, however, the percent increase was consistently greater in septal vs temporal slices ($143 \pm 29\%$, $n=27$ vs $77 \pm 13\%$, $n=45$, $p = 0.02$). Furthermore, this septal to temporal increase gradient was more pronounced in PTZ than naïve slices (108%, $p = 0.024$ vs 7%). Eserine's effect was fully reversed by atropine (1 μ M, $n=38$) indicating that endogenous ACh's effect was mediated by the activation of muscarinic receptors.

Within a subset of slices (43%) perfused with eserine, where discharge frequency varied over time, we observed a longer lasting excitatory effect in PTZ vs Naïve slices ($p < 0.05$, 2-way ANOVA, Fisher l.s.d. post-hoc test).

Atropine, perfused alone, decreased the frequency of NMDA-dependent spontaneous discharges (by 17%, $n = 36$).

These results demonstrate (i) an intrinsic positive mAChR contribution to NMDAR-dependent discharges, more pronounced in the septal end of hippocampus, (ii) which becomes more evident following an elevation of endogenous ACh (i. e with eserine), and (iii) which is also strengthened following a PTZ-induced generalized sustained convulsion in early life. This decrease in the gap between septal to temporal excitability following cholinergic stimuli may conceivably influence hippocampal performance, from memory acquisition to subsequent seizure threshold.

Μουσκαρινικές δράσεις στις αυθόρμητες NMDA-εξαρτώμενες εκφορτίσεις σε τομές διαφραγματικού και κροταφικού ιπποκάμπου, και ρύθμισή τους από μια κρίση κατά την ανάπτυξη

Απόστολος Β. Μικρούλης και Κατερίνα Ψαρροπούλου

Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών & Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Έχουμε δείξει προηγουμένως ότι μία γενικευμένη κρίση προκληθείσα με πεντυλενετετραζόλη (PTZ) σε νεαρή ηλικία επηρεάζει την χολινεργική-μουςκαρινική διέγερση στους ενήλικους αρουραίους. Επιπλέον, έχουν αναφερθεί αλληλεπιδράσεις μεταξύ NMDA και μουςκαρινικών υποδοχέων, καθώς και διαφορές της διεγερσιμότητας κατά μήκος του κροταφικού-διαφραγματικού άξονα του ιπποκάμπου. Εξετάσαμε, λοιπόν, τα αποτελέσματα της ενδογενούς ACh στην συχνότητα (Hz) αυθόρμητων συγχρονισμένων μεσοκριτικού τύπου εκφορτίσεων που καταγράφηκαν από την περιοχή CA3 τομών ιπποκάμπου φυσιολογικών (μαρτύρων/control) και

PTZ (που εμφάνισαν μια παρατεταμένη γενικευμένη κρίση με την χορήγηση PTZ την 20^η ημέρα ζωής) ενηλίκων Sprague-Dawley αρουραίων κατά την διαβροχή με tENY άνευ Mg²⁺.

Οι κροταφικές τομές επέδειξαν υψηλότερη βασική συχνότητα από τις διαφραγματικές σε tENY άνευ Mg²⁺ ($0.460 \pm 0.028 \text{ Hz}$, n=85 vs $0.200 \pm 0.023 \text{ Hz}$, n=47). Διαβροχή με την αντιχολινεστεράση εσερίνη (10μM) αύξησε σημαντικά τις συχνότητες των εκφορτίσεων σε όλες τις τομές, αλλά η σχετική αύξηση ήταν μεγαλύτερη στις διαφραγματικές έναντι των κροταφικών ($143 \pm 29\%$, n=27 vs $77 \pm 13\%$, n=45, $p = 0.02$). Επιπλέον, η διαφορά της αύξησης μεταξύ διαφραγματικών και κροταφικών τομών ήταν μεγαλύτερη στις τομές των PTZ πειραματοζώων (108% , $p = 0.024$ vs 7%). Η δράση της εσερίνης αντιστράφηκε πλήρως από την ατροπίνη (1μM, n=38) δείχνοντας ότι η αύξηση της συχνότητας από την ενδογενή ACh μεσολαβήθηκε από μουσκαρινικούς υποδοχείς. Σε ένα υποσύνολο (43%) των τομών που προστέθηκε η εσερίνη, και όπου η συχνότητα εκφορτίσεων μεταβαλλόταν με τον χρόνο διαβροχής, παρατηρήσαμε πιο παρατεταμένη διέγερση στις PTZ τομές έναντι των φυσιολογικών ($p < 0.05$, 2-way ANOVA, Fisher l.s.d. post-hoc test).

Επίσης, διαβροχή με ατροπίνη (μόνο) μείωσε την συχνότητα των NMDA-εξαρτώμενων αυθορμήτων εκφορτίσεων (κατά 17% n=36), δείχνοντας ότι η ενδογενής ACh ρυθμίζει σε ένα μικρό βαθμό την συχνότητα των NMDA-εκφορτίσεων.

Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν (α) θετική ρύθμιση των NMDAR-εξαρτώμενων εκφορτίσεων από την ενδογενή ACh μέσω μουσκαρινικών υποδοχέων, περισσότερο έντονη στο διαφραγματικό άκρο του ιπποκάμπου, (β) η οποία καθίσταται εμφανέστερη μετά από μια αύξηση της ενδογενούς ACh (με εσερίνη), (γ) και η οποία, επίσης, ενισχύεται μετά από μια παρατεταμένη γενικευμένη κρίση προκληθείσα με PTZ σε νεαρή ηλικία. Η μείωση αυτή στην διαφορά διεγερσιμότητας μεταξύ των δύο άκρων του ιπποκάμπου θα μπορούσε να επηρεάσει την λειτουργία του τελευταίου από την δημιουργία μνήμης ως τον ουδό επομένων επιληπτικών κρίσεων.

In vitro, in vivo, and structural studies of colivelin, the most active derivative of the humanin family of neuroprotective peptides

Dimitra Benaki¹, Christos Zikos², Alexandra Evangelou², Tomas Elbert³, Jirina Slaninova³, Penelope Bouziotis², Maria Paravatou-Petsotas², Minas Papadopoulos², Ioannis Pirmettis², Maria Pelecanou¹, and Evangelia Livaniou²

Institutes of ¹Biology and ²Radioisotopes/Radiodiagnostic Products, NCSR "Demokritos" Athens, Greece; ³Czech Academy of Sciences, Prague, Czech Republic

The humanin (HN) family of peptides, with *in vivo* and *in vitro* neuroprotective action against Alzheimer's disease insults, offers a new perspective for the development of pharmaceutical agents against Alzheimer disease. Colivelin (CL, SALLRSIPAPAGASRLLLLLTGEIDL), a hybrid derivative produced by the combination of the activity-dependent neurotrophic factor - 9 (ADNF-9, SALLRSIPA) and the properly modified active core of HN (PAGASRLLLLLTGEIDL) is the most potent derivative showing 10⁸ times the parent HN activity. The CD and NMR studies demonstrate that the presence of ADNF-9 renders colivelin flexible and much less responsive to solution conditions (pH, ionic strength, etc.) compared to other HN derivatives. This finding is in accordance to existing literature evidence that correlates flexibility with activity in the HN family of peptides. *In vivo* biodistribution studies in mice, conducted with radioiodinated (¹²⁵I) CL derivatives (Y⁰-CLs), showed a brain uptake of 0.2%, which is judged sufficient for the continuation of the investigations. *In vitro* binding studies in various neuronal cell lines and in brain and stomach membranes from rats and mice did not result in the detection of specific binding/localization sites, they provided, however, valuable information on the behaviour and metabolic stability of the radioiodinated peptides. Currently, new CL derivatives are being synthesized that will be radiolabelled with technetium-99m in a further effort to detect localization/binding sites of the HN family.

In vitro, in vivo και δομικές μελέτες του πεπτιδίου κολιβελίνη, του πλέον δραστικού παραγώγου της νευροπροστατευτικής οικογένειας της ουμανίνης

Δήμητρα Μπενάκη¹, Χρήστος Ζήκος², Αλεξάνδρα Ευαγγέλου³, Tomas Elbert³, Jirina Slaninova³, Πηνελόπη Μπουζιώτη², Μαρία Παραβατού-Πετσωτά², Μηνάς Παπαδόπουλος², Ιωάννης Πιρμεττής², Μαρία Πελεκάνου¹ και Ευαγγελία Λιβανίου²

Ινστιτούτα ¹Βιολογίας και ²Ραδιοϊσοτόπων/Ραδιοδιαγνωστικών Προϊόντων, ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος», 15310 Αθήνα; ³Czech Academy of Sciences, Prague, Czech Republic

Η ουμανίνη (humanin, HN) και τα παράγωγά της αποτελούν οικογένεια πεπτιδίων με αποδεδειγμένη νευροπροστατευτική δράση *in vitro* και *in vivo* έναντι εκδηλώσεων της νόσου Alzheimer, τα οποία διερευνώνται στο πλαίσιο της αναζήτησης φαρμακευτικής αγωγής κατά της νόσου. Η κολιβελίνη (colivelin, CL, SALLRSIPAPAGASRLLLLLTGEIDL) είναι το πλέον δραστικό πεπτίδιο της οικογένειας αποτελούμενο από τον νευροτροφικό παράγοντα ADNF-9 (SALLRSIPA) ενωμένο με τον δραστικό πυρήνα (PAGASRLLLLLTGEIDL) της HN. Οι δομικές μελέτες με NMR και CD δείχνουν ότι η παρουσία του ADNF-9 καθιστά την κολιβελίνη περισσότερο ευκίνητη και λιγότερο ευαίσθητη στις πειραματικές συνθήκες (pH, ιονική ισχύς, κ.λπ.) σε σχέση με άλλα παράγωγα της HN. Το γεγονός αυτό είναι σε συμφωνία με δεδομένα της βιβλιογραφίας τα οποία συναρτούν ευκίνησια με δραστικότητα στην οικογένεια της HN. *In vivo* μελέτες βιοκατανομής της CL σε ποντικούς, με ¹²⁵I-ραδιοιωδιωμένα παράγωγα (Y⁰-CLs), έδειξαν 0.2% πρόσληψη στον εγκέφαλο, τιμή η οποία επιτρέπει την περαιτέρω βιολογική αξιολόγηση. *In vitro* μελέτες πρόσδεσης των ¹²⁵I-παραγώγων σε νευρικές κυτταρικές σειρές και σε μεμβράνες εγκεφάλου και στομάχου ποντικών και αρουραίων έδωσαν χρήσιμες πληροφορίες σχετικά με την σταθερότητα των ιδιωμένων πεπτιδίων, δεν ανέδειξαν όμως κάποιο συγκεκριμένο σημείο εντοπισμού/πρόσδεσης. Για την συνέχιση της βιολογικής μελέτης της CL συντίθενται νέα παράγωγα κατάλληλα για ραδιοεπισημάνση με τεχνήτιο-99m.

Spectroscopic investigation of the interaction of curcumin with β -amyloid peptide

Dimitra Benaki¹, Kostas Stamatakis¹, Emmanuel Mikros², and Maria Pelecanou¹

¹Institute of Biology, NCSR "Demokritos", 15310 Athens, Greece; ²Div. of Pharmaceutical Chemistry, University of Athens, Panepistimiopolis, Zografou, 15771 Athens, Greece

The inhibition of aggregation of the β -amyloid peptide (β -AP) of Alzheimer's disease (AD) into toxic non-fibrillar oligomeric forms is one of the therapeutic strategies against AD and a number of small molecules have been identified as inhibitors of β -AP aggregation and neurotoxicity. Among these, curcumin, the phenolic yellow pigment and active ingredient of the turmeric herb, is receiving special attention because of its rich pharmacology that includes *in vitro* and *in vivo* inhibitory action against AD insults. In the current work we report our findings on the interaction of curcumin with β -AP(1-40) in aqueous solutions using CD spectropolarimetry, fluorescence and NMR spectroscopies. The CD studies clearly show significant retardation of the aggregation process of β -AP(1-40) in the presence of curcumin with concomitant stabilization of a β -sheet formation in solution, suggesting that curcumin intervenes in the aggregation pathway of β -AP(1-40). Furthermore, at the near-UV region, the induced CD spectrum of curcumin in the presence of β -AP(1-40) denotes interaction as well. The fluorescence spectrum of curcumin in the presence of β -AP(1-40) is characterized by an increase in intensity and an approx. 20 nm blue shift compared to solutions of plain curcumin, providing further evidence of interaction. Finally, the NMR spectra of the curcumin/ β -AP (1-40) mixtures confirm the interaction through the broadening of the curcumin peaks and provide structural information on the mode of association of the two molecules, establishing curcumin as a potential aggregation inhibitor of β -AP(1-40). This is the first time that spectroscopic evidence on the interaction of curcumin with β -AP is reported in the literature.

Φασματοσκοπική διερεύνηση της αλληλεπίδρασης της κουρκουμίνης με το β -αμυλοειδές πεπτίδιο

Δήμητρα Μπενάκη¹, Κώστας Σταματάκης¹, Εμμανουήλ Μικρός² και Μαρία Πελεκάνου¹

¹Ινστιτούτο Βιολογίας, ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος», 15310 Αθήνα, ²Τομέας Φαρμακευτικής Χημείας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη Ζωγράφου, 15771 Αθήνα

Η παρεμπόδιση της συσσωμάτωσης του β -αμυλοειδούς πεπτιδίου (β -amyloid peptide, β -AP) σε τοξικές ολιγομερείς μορφές είναι μία από τις θεραπευτικές στρατηγικές για την αντιμετώπιση της νόσου Alzheimer, και ένας αριθμός από μικρά οργανικά μόρια έχουν προταθεί ως αναστολείς της συσσωμάτωσης και νευροτοξικότητας του β -AP. Ανάμεσα σε αυτά η χρωστική κουρκουμίνη, συστατικό του μπαχαρικού κάρυ, συγκεντρώνει ιδιαίτερη προσοχή λόγω της ευρείας φαρμακολογικής της δράσης που περιλαμβάνει *in vitro* και *in vivo* ανασταλτική δράση έναντι εκδηλώσεων της νόσου Alzheimer. Η παρούσα εργασία αναφέρεται στην φασματοσκοπική μελέτη της αλληλεπίδρασης της κουρκουμίνης με το β -AP(1-40) σε υδατικά διαλύματα με φασματοπολιμετρία CD, και φασματοσκοπίες φθορισμού και NMR. Οι μελέτες CD δείχνουν αναστολή της πορείας συσσωμάτωσης του β -AP(1-40) παρουσία της κουρκουμίνης με ταυτόχρονη σταθεροποίηση ενός σχηματισμού β -φύλλου, υποδεικνύοντας την ενεργό παρεμβολή της κουρκουμίνης στην συσσωμάτωση του β -AP(1-40). Στην περιοχή >300 nm, η εμφάνιση επαγόμενου CD φάσματος της κουρκουμίνης παρουσία του β -AP(1-40), είναι χαρακτηριστική αλληλεπίδρασης. Το φάσμα φθορισμού της κουρκουμίνης παρουσία του β -AP(1-40) εμφανίζει αύξηση της έντασης και μετατόπιση του μεγίστου κατά περ. 20 nm χαμηλότερα, σε σχέση με το διάλυμα της κουρκουμίνης μόνης και παρέχει επίσης ισχυρή ένδειξη για αλληλεπίδραση. Τέλος, η φασματοσκοπία NMR επιβεβαιώνει την ύπαρξη αλληλεπίδρασης μέσω της πλάτυνσης των κορυφών της κουρκουμίνης, δίνει πολύτιμες πληροφορίες για τον τρόπο της προσέγγισης των δύο μορίων στο διάλυμα και βάσιμα καθιερώνει την κουρκουμίνη ως έναν πιθανό παρεμποδιστή της συσσωμάτωσης του β -AP.



The Drosophila anaplastic lymphoma kinase controls neurofibromin-dependent growth and associative learning

Anastasios Moressis, Jean Y. Gouzi, Anthi Apostolopoulou and Efthimios Skoulakis

Institute of Cellular and Developmental Biology, BSRC "Alexander Fleming" 16672, Vari, Greece

Receptor Tyrosine kinases (RTKs) play fundamental roles in a wide range of physiological and pathological processes in the central nervous system (CNS). The RTK Anaplastic Lymphoma Kinase (ALK) has been implicated in several tumors of neural origin, but its physiological roles in normal processes are still largely unknown. The highly conserved Drosophila ortholog dAlk plays a crucial role in the development and function of the CNS. Here we report two novel central roles for dAlk in the control of body size and associative olfactory learning. Remarkably, limiting Alk activation in neurons results in enhanced body size and associative learning. Consistently, restricted over-activation of the receptor or over-expression of its ligand Jelly belly (Jeb) yields body size reduction and learning deficits highly reminiscent of those reported for existing dNf1 (Neurofibromatosis-type 1) null mutant flies. Accordingly, we describe here that dALK and dNF1 display highly overlapping immunoreactivity in the developing and adult CNS in which they control a common signaling pathway. Moreover, using a genetic approach to limit dAlk signaling in a restricted neuronal subset we successfully reversed body size, learning and signaling defects in dNf1 mutants. Finally, we ameliorated pharmacologically these deficits by feeding mutants with a highly selective Alk inhibitor.

Η Δροσοφιλική κινάση του αναπλαστικού λεμφώματος ελέγχει την εξαρτώμενη από την Νευροϊνωμίνη ανάπτυξη και συνειρμική μάθηση

Αναστάσιος Μωρέσης, Jean Y. Gouzi, Ανθή Αποστολοπούλου και Ευθύμιος Σκουλάκης

Ινστιτούτο Κυτταρικής και Αναπτυξιακής Βιολογίας, ΕΚΕΒΕ «Αλέξανδρος Φλέμιγκ», 16672, Βάρη

Οι υποδοχείς κινάσης τυροσίνης (YKT) κατέχουν κυρίαρχους ρόλους σε μία πληθώρα φυσιολογικών και παθολογικών διεργασιών του κεντρικού νευρικού συστήματος (ΚΝΣ). Ο YKT Κινάση του Αναπλαστικού Λεμφώματος (ALK) έχει εμπλακεί σε διάφορους όγκους νευρικής προέλευσης, αλλά οι φυσιολογικές λειτουργίες του είναι ακόμη εν πολλοίς άγνωστες. Το συντηρημένο ορθόλογο γονίδιο dAlk έχει κίριο ρόλο στην ανάπτυξη και την λειτουργία του ΚΝΣ. Παρουσιάζουμε δύο νέους ρόλους για τον υποδοχέα dAlk στον έλεγχο του σωματικού μεγέθους και της οσφρητικής μάθησης. Αξιοσημείωτα, ο περιορισμός της ενεργότητας του υποδοχέα Alk στο ΚΝΣ έχει ως αποτέλεσμα αύξηση του σωματικού μεγέθους και ενίσχυση της οσφρητικής μάθησης. Αντίστοιχα, η ιστοειδικά περιορισμένη υπερ-ενεργοποίηση του υποδοχέα, έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση του σωματικού μεγέθους και την εμφάνιση μαθησιακών ελλειμμάτων, δύο κύρια παθολογικά χαρακτηριστικά που έχουν αναφερθεί για το υπάρχον μοντέλο της Νευροϊνωμάτωσης στη Δροσόφιλα. Σε συμφωνία με τα προηγούμενα, περιγράφουμε ότι οι πρωτεΐνες dALK και dNF1 παρουσιάζουν υψηλά αλληλοεπικαλυπτόμενο ανοσοεντοπισμό στο αναπτυσσόμενο και στο ενήλικο ΚΝΣ, στο οποίο ελέγχουν ένα κοινό σηματοδοτικό μονοπάτι. Επιπλέον, χρησιμοποιώντας τεχνικές μοριακής γενετικής για τον περιορισμό της σηματοδότησης μέσω dAlk σε ένα περιορισμένο νευρωνικό υποσύνολο, επιτύχαμε να αναστρέψουμε τα ελλείματα στο μέγεθος αλλά και στην μάθηση που παρουσιάζουν τα dNf1 μεταλλαγμένα άτομα. Τέλος, αναστρέψαμε μερικώς τα προαναφερθέντα ελλείματα χορηγώντας σε μεταλλαγμένα άτομα έναν ειδικό αναστολέα του υποδοχέα dAlk.

Differential expression of tyrosine hydroxylase in dopaminergic systems of the human neonate under hypoxic conditions.

Marianna Pagida^{1,2}, Anastasia Konstantinidou³, Yiannis Malidelis^{1,2}, Efi Tsekoura⁴,
Efstratios Patsouris³ and Maria Panayotacopoulou^{1,2}

¹Department of Psychiatry; ²University of Mental Health Research Institute; ³1st Department of Pathology; ⁴3rd Department of Paediatrics, National Kapodistrian University of Athens

Hypoxia during the perinatal period could cause long-term damage to the central nervous system leading to behavioral and/or neurological deficits later in development. We previously showed that tyrosine hydroxylase (TH) –the first and rate limiting enzyme in catecholamine synthesis- is selectively increased in hypothalamic neurosecretory neurons of human neonates that suffered prolonged perinatal hypoxia. Purpose of the present study was to investigate the response of human substantia nigra (SN) and ventral tegmental area (VTA) to perinatal hypoxia. We studied immuno-histochemically TH expression in the mesencephalon of 16 full term neonates, in relation to the age and severity/duration of the hypoxic insult, estimated on the basis of neuropathological injury. Autopsy was performed following parental written consent for diagnostic and research purposes. Our results showed that prolonged perinatal hypoxia causes a dramatic reduction or absence of TH-immunoreactivity (-IR) in SN and VTA. Given that, according to Verney (1999), the development of catecholamine systems is completed after the 22nd week of gestation, the reduction or absence of TH-IR in SN and VTA of the full term neonate indicates that the mesencephalic dopaminergic neurons of the human neonate are especially vulnerable to prolonged perinatal hypoxia. Since SN and VTA innervate basal ganglia and prefrontal cortex respectively, our results provide the anatomical basis for both the extrapyramidal and/or cognitive disturbances in children survived after prolonged perinatal hypoxia.

Διαφορική έκφραση της υδροξυλάσης της τυροσίνης στα ντοπαμινεργικά συστήματα του ανθρώπινου νεογνού υπό υποξικές συνθήκες.

**Μαριάννα Παγίδα^{1,2}, Αναστασία Κωνσταντινίδου³, Γιάννης Μαλιδέλης^{1,2}, Εφη Τσεκούρα⁴,
Ευστράτιος Πατσούρης³ και Μαρία Παναγιωτακοπούλου^{1,2}**

**¹Α΄ Ψυχιατρική Κλινική; ²Ερευνητικό Πανεπιστημιακό Ινστιτούτο Ψυχικής Υγιεινής,
³Α΄ Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής; ⁴3^η Παιδιατρική Κλινική,
Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών**

Η υποξία κατά τη περιγεννητική περίοδο μπορεί να προκαλέσει μακροχρόνιες βλάβες στο κεντρικό νευρικό σύστημα που οδηγούν σε συμπεριφορικά ή/και νευρολογικά προβλήματα αργότερα στην ανάπτυξη. Προηγούμενες μελέτες μας έδειξαν ότι η υδροξυλάση της τυροσίνης (TH) –το πρώτο και καθοριστικό ένζυμο της σύνθεσης των κατεχολαμινών– αυξάνεται εκλεκτικά στους υποθαλαμικούς νευροεκκριτικούς νευρώνες ανθρώπινων νεογνών που υπέστησαν μακράς διάρκειας περιγεννητική υποξία. Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η επίδραση της περιγεννητικής υποξίας στη μέλαινα ουσία (SN) και στη κοιλιακή καλυπτική περιοχή (VTA) του ανθρώπου. Μελετήσαμε ανοσοϊστοχημικά την έκφραση της TH στον μεσεγκέφαλο 16 τελειόμηνων νεογνών, σε σχέση με την ηλικία και την ένταση/διάρκεια του υποξικού γεγονότος, που εκτιμήθηκε με βάση τις υποξικές νευροπαθολογικές βλάβες. Το νεκροτομικό υλικό συλλέχθηκε κατόπιν έγγραφης συγκατάθεσης των γονέων για χρήση του για διαγνωστικούς και ερευνητικούς σκοπούς. Τα αποτελέσματά μας δείχνουν ότι η μακράς διάρκειας περιγεννητική υποξία προκαλεί δραματική μείωση ή απουσία της TH στη SN και VTA. Δεδομένου ότι, σύμφωνα με τη Verney (1999), η ανάπτυξη των κατεχολαμινικών συστημάτων έχει ολοκληρωθεί πριν τη 22^η εβδομάδα της κύησης, η μείωση ή έλλειψη της TH στη SN και VTA του τελειόμηνου νεογνού υποδεικνύει ότι οι μεσεγκεφαλικοί ντοπαμινεργικοί νευρώνες του ανθρώπινου νεογνού είναι ιδιαίτερα εύαλωτοι στη μακράς διάρκειας περιγεννητική υποξία. Εφόσον οι SN και VTA εννευρώνουν τα βασικά γάγγλια και το προμετωπιαίο φλοιό αντίστοιχα, τα αποτελέσματά μας παρέχουν την ανατομική βάση για τις εξωπυραμίδικές ή/και γνωσιακές διαταραχές που παρατηρούνται στα παιδιά που επιβιώνουν μετά από μακράς διάρκειας περιγεννητική υποξία.

Differential effects of ischemia, hypoxia, hypoglycaemia and hyperglycaemia on rat retinal excitatory and inhibitory neurotransmission

Eleni Papageorgiou, Vasilios Grivas, Vasilios Sourlas, Anna Vasilaki

Lab of Pharmacology, Faculty of Medicine, University of Thessaly, Larissa, Greece

The effects of ischemia, hypoxia, hypoglycaemia and hyperglycaemia on the release of retinal neurotransmitters over time and the importance of excitatory and inhibitory neurotransmitter release versus uptake under these conditions remain unresolved. The aim of this study was to investigate the influence of these metabolic insults on retinal glutamate and GABA release and uptake. For this purpose, *ex vivo* [³H]D-Aspartate and [³H]GABA release and uptake experiments were performed under control, ischemic, hypoxic, hypoglycaemic and hyperglycaemic conditions using rat retinal explants. In order to assess retinal damage, choline acetyltransferase immunoreactivity (ChAT-IR) was studied. Our results suggest that, hypoxia and to a lesser degree hyperglycaemia decreases retinal neurotransmission by both decreasing the release and increasing the uptake of glutamate and GABA. The effects of the hypoxic and hypoglycaemic components of ischemia on glutamate release are clearly distinct over time and include a decrease (hypoxia) which is followed by an increase (hypoglycaemia) of neurotransmitter release. Release and ChAT-IR experiments indicated that, excitotoxic glutamate release is highly induced by ischemia and to a lesser degree by hypoglycaemia but not by hypoxia or hyperglycaemia. Finally, a neuroprotective GABA-release compensatory mechanism is active during both ischemia and hypoglycaemia but it is inefficient in reversing the glutamate excitotoxicity observed in ischemia most probably due to the observed down-regulation of glutamate uptake.

Μελέτη της δράσης της ισχαιμίας, υποξίας, υπογλυκαιμίας και υπεργλυκαιμίας στην διεγερτική και ανασταλτική νευροδιαβίβαση του αμφιβληστροειδούς αρουραίου

Ελένη Παπαγεωργίου, Βασίλειος Γρίβας, Βασίλειος Σούρλας, Άννα Βασιλάκη

Εργαστήριο Φαρμακολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα

Οι δράσεις της ισχαιμίας, υποξίας, υπογλυκαιμίας και υπεργλυκαιμίας στην απελευθέρωση και την επαναπρόσληψη του γλουταμινικού οξέος και του GABA στον αμφιβληστροειδή δεν έχουν πλήρως διευκρινιστεί. Για το λόγο αυτό πραγματοποιήθηκαν *ex vivo* μελέτες απελευθέρωσης και επαναπρόσληψης [³H]D-Ασπαρτικού οξέος και [³H]GABA υπό φυσιολογικές, ισχαιμικές, υποξικές, υπογλυκαιμικές και υπεργλυκαιμικές συνθήκες σε παρασκευάσματα αμφιβληστροειδή αρουραίου. Η αμφιβληστροειδή βλάβη μελετήθηκε με ανοσοϊστοχικό προσδιορισμό της ακετυλο-τρανσφεράσης της χολίνης (ChAT-IR). Σύμφωνα με τα αποτελέσματά μας, η υποξία και σε μικρότερο βαθμό η υπεργλυκαιμία μειώνουν την αμφιβληστροειδική νευροδιαβίβαση τόσο μέσω μείωσης της απελευθέρωσης όσο και μέσω αύξησης της επαναπρόσληψης του γλουταμινικού οξέος και του GABA. Οι δράσεις των δύο παραμέτρων της ισχαιμίας (υποξία και υπογλυκαιμία) στην απελευθέρωση του γλουταμινικού οξέος διαχωρίζονται χρονικά και αντιστοιχούν σε μείωση (υποξία) και η οποία ακολουθείται από αύξηση (υπογλυκαιμία) της απελευθέρωσης του νευροδιαβιβαστή. Οι μελέτες απελευθέρωσης και η ChAT-IR υποδηλώνουν ότι σε αντίθεση με την υποξία και την υπογλυκαιμία, η ισχαιμία και σε μικρότερο βαθμό η υπογλυκαιμία προάγουν τη διεγερτοτοξική βλάβη του ιστού. Τέλος, η νευροπροστατευτική δράση της απελευθέρωσης του GABA στο ιστό λειτουργεί τόσο κατά την ισχαιμία όσο και κατά την υπογλυκαιμία αλλά στην περίπτωση της ισχαιμίας δεν είναι ικανή να αναστείλλει τη διεγερτοτοξική βλάβη του ιστού πιθανά λόγω της μειωμένης επαναπρόσληψης του γλουταμινικού που παρατηρείται κατά την ισχαιμία.

Interaction of serotonin with insulin signalling in the central nervous system in physiological function and dysfunctions

Papazoglou I*, Vicaire N*, Berthou F, Taouis M, Gerozissis K.

NMPA, University of Paris-Sud, UMR 9185, Orsay, 91405
NMPA, CNRS, CNPS, UMR 9185, Orsay, 91405, France

Depression occurs in a high percentage of patients suffering from diabetes. In both dysfunctions, insulin and serotonin (5-HT) sensitivity in the brain is impaired, suggesting a possible interaction between insulin signaling pathways and the serotonergic system. Previous own studies have demonstrated bidirectional interactions of insulin and serotonin (5-HT) in the medial hypothalamus (Gerozissis, 2008). However, the molecular mechanisms underlying this cross-talk are still unknown.

To study the impact of serotonin on insulin signaling, we performed an *in vitro* treatment with insulin and/or serotonin on a human neuroblastoma cell line (SH-SY5Y) and *in vivo* experiments in wild type, male adult, (Wistar) and diabetic (Goto Kakizaki) rats. The animals were injected ip with saline, insulin or dexfenfluramine, a reuptake inhibitor and enhancer of serotonin release in synapses. Hypothalamus, liver and lysates from the cells were analyzed with Western Blot. Modifications in the activation of the IRS/PI3K/Akt pathway were observed in both experiments. Serotonin or dexfenfluramin induced basal or insulin-induced Akt phosphorylation in the SH-SY5Y cells and the hypothalamus. In particular, in the hypothalamus and the liver of diabetic rats, and in cells pretreated for 16 hours with insulin, treatment that simulates hyperinsulinemia occurring in metabolic dysfunctions, insulin- and serotonin- induced Akt phosphorylation was inhibited. A significant decrease of central and peripheral insulin receptor (IR) protein expression observed in the diabetic rats could explain, at least in part, these results.

Αλληλεπίδραση της σεροτονίνης με τη σηματοδότηση της ινσουλίνης στο κεντρικό νευρικό σύστημα, σε φυσιολογική λειτουργία και δυσλειτουργίες

Παπάζογλου Ι*, Vicaire N*, Berthou F, Taouis M, Γεροζήση Κ.

Μεγάλο ποσοστό ασθενών με διαβήτη τύπου 2 πάσχουν από κατάθλιψη. Και στις δύο περιπτώσεις, η ευαισθησία στην ινσουλίνη και τη σεροτονίνη στον εγκέφαλο εξασθενεί, υποδεικνύοντας μία πιθανή αλληλεπίδραση ανάμεσα στα σηματοδοτικά μονοπάτια της ινσουλίνης και το σεροτονεργικό σύστημα. Σε προηγούμενες μελέτες μας έχει αποδειχθεί η ύπαρξη αμφίδρομων αλληλεπιδράσεων μεταξύ ινσουλίνης και σεροτονίνης στον μέσο υποθάλαμο (Gerozissis, 2008). Ωστόσο, οι μοριακοί αυτοί του διαλόγου είναι ακόμη άγνωστοι.

Στην παρούσα εργασία, για να μελετήσουμε τις επιπτώσεις της σεροτονίνης στη σηματοδότηση της ινσουλίνης, πραγματοποιήσαμε; *in vitro* αγωγή με ινσουλίνη και σεροτονίνη σε μία κυτταρική σειρά ανθρώπινου νευροβλαστώματος (SH-SY5Y) και *in vivo* πειράματα σε wild type, αρσενικούς ενήλικους, (Wistar) και διαβητικούς, τύπου 2, (Goto Kakizaki) αρουραίους. Τα ζώα ενέθηκαν ενδοπεριτοναϊκά με φυσιολογικό ορό, ινσουλίνη ή δεξφενφλουραμίνη, έναν αναστολέα της επαναπρόσληψης και ενισχυτή της απελευθέρωσης της σεροτονίνης στις συνάψεις. Ο υποθάλαμος, το ήπαρ και τα κυτταρικά δείγματα αναλύθηκαν με την τεχνική του Western Blot. Και στα δύο πειράματα παρατηρήθηκαν τροποποιήσεις στην ενεργοποίηση του σηματοδοτικού μονοπατιού IRS/PI3K/Akt. Η σεροτονίνη ή η δεξφενφλουραμίνη προκάλεσαν βασική ή ινσουλινοεπαγόμενη φωσφορυλίωση της Akt στα κύτταρα SH-SY5Y και στον υποθάλαμο. Συγκεκριμένα, στον υποθάλαμο και το ήπαρ των διαβητικών αρουραίων, και σε κύτταρα που καλλιεργήθηκαν για 16 ώρες με ινσουλίνη, αγωγή η οποία προσομοιάζει την υπερινσουλιναιμία που απαντάται σε μεταβολικές δυσλειτουργίες, η ινσουλινο- και σεροτονινο- επαγόμενη φωσφορυλίωση της Akt αναστάληκε. Η σημαντική μείωση της έκφρασης του υποδοχέα της ινσουλίνης (IR) σε κεντρικό και περιφερειακό επίπεδο που παρατηρήθηκε στους αρουραίους με διαβήτη μπορεί, τουλάχιστον εν μέρει, να εξηγήσει τα αποτελέσματα αυτά.

References: Gerozissis K (2008) Brain insulin, energy and glucose homeostasis; genes, environment and metabolic pathologies. Eur J Pharmacol 585:38-49. *IP and NV, participated equally

Neuroprotective Effects of *Crocus sativus*' Constituents

¹Papandreou MA, ²Tsachaki M, ²Efthimiopoulos S, ³Cordopatis P, ³Lamari FN & ¹Margarity M.

¹Lab. Human & Animal Physiology, Dep. Biology, Univ. Patras; ²Div. Animal & Human Physiology., Dep. Biology, Univ. Athens, ³Lab. Pharmacognosy & Chemistry. of Natural Products, Dep. Pharmacy, Univ. of Patras.

In the present study, we examined: (a) the antioxidant, anti-amyloid and anti-cholinesterase properties of *C. sativus* styles extract (saffron) *in vitro* and the effects of its constituents on the oxidative status and A β -fibrillogenesis in various cell culture systems (SH-SY5Y, CHO^{APP770}); and (b) the effect of saffron on learning & memory, brain oxidative status (ascorbic acid, glutathione, malondialdehyde) and acetylcholinesterase activity (AChE) in aged, male *Balb-c* mice after intraperitoneal administration (7 days, 60 mg/Kg B.W.). Results *in vitro* showed that saffron possesses good antioxidant properties and the thioflavine T-fluorescence based assay showed a concentration and time-dependent inhibition of A β -fibrillogenesis. Kinetic analysis of acetylcholinesterase activity in the presence of the tested phytochemicals, showed a dose-dependent, non-competitive type of inhibition for CRT and safranal. In cell culture systems, both saffron and crocetin provided strong protection in rescuing cell viability, repressing ROS production and decreasing caspase-3 activation against H₂O₂-induced toxicity in SH-SY5Y cells, while only moderate effects were observed on A β -fibrillogenesis in CHO^{APP770} cells. Saffron-treated mice exhibited significant improvement in learning & memory, accompanied by significantly lower brain lipid peroxidation and higher antioxidant parameters. AChE activity remained unchanged.

*Co-financed by PENED 2003/ED 665 and by GlaxoSmithKline S.A.

Νευροπροστατευτική Δράση των Συστατικών του *Crocus sativus**

¹Παπανδρέου ΜΑ, ²Τσαχάκη Μ, ²Ευθυμίου Σ, ³Κορδοπάτης Π, ³Λάμαρη ΦΝ, ¹Μαργαρίτη Μ.

¹Εργ. Φυσιολογίας Ανθρώπου & Ζώων, Τμ. Βιολογίας, Παν. Πατρών, ²Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμ. Βιολογίας, Παν. Αθηνών, ³Εργ. Φαρμακογνωσίας & Χημείας Φυσικών Προϊόντων, Τμ. Φαρμακευτικής, Παν/μιο Πατρών.

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν: (α) οι αντιοξειδωτικές και αντι-χολινεστερασικές ιδιότητες του κρόκου και των κύριων συστατικών του, η επίδραση τους στη συσσωμάτωση της Αβ (*in vitro* & σε μετασχηματισμένες CHO^{APP770} και μη-κυτταρικές σειρές SH-SY5Y) και (β) οι μνημονικές διεργασίες, η οξειδωτική κατάσταση του εγκεφάλου και η ενεργότητα της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) γηραιών αρσενικών *Balb-c* μυών μετά από ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση κρόκου. *In vitro*, το εκχύλισμα του κρόκου παρουσίασε υψηλή αντιοξειδωτική δράση καθώς και σημαντική δοσο/χρονο-εξαρτώμενη ανασταλτική επίδραση στη δημιουργία ινιδίων της Αβ. Επιπροσθέτως, δοσο-εξαρτώμενη αναστολή παρατηρήθηκε και στην ενεργότητα της AChE, παρουσία της κροκετίνης και σαφρανάλης. Στην κυτταρική SH-SY5Y σειρά, ο κρόκος, και η σαφρανάλη, επέδειξαν αύξηση της κυτταρικής ζωτικότητας, η οποία συνοδεύτηκε από μείωση των επιπέδων των ROS και ενεργοποίηση της κασπάσης-3, έναντι της κυτταροτοξικότητας του H₂O₂. Μετρίου βαθμού αλλαγές παρατηρήθηκαν στην ινοϊδογένεση της Αβ στην CHO^{APP770} κυτταρική σειρά. Η χορήγηση του κρόκου στους μύς έδειξε στατιστικώς σημαντική βελτίωση στη μνήμη/μάθηση των γηραιών μυών και αλλαγές στην οξειδωτική/αντιοξειδωτική κατάσταση του εγκεφάλου τους. Αμετάβλητη παρέμεινε η ενεργότητα των δυο ισομορφών της AChE.

*Χρηματοδοτήθηκε από πρόγραμμα ΠΕΝΕΔ (03ΕΔ/665) και την GlaxoSmithKline A.E.



Tau accumulation and its phenotypic consequences depend on the abundance of 14-3-3 Isoforms

Katerina Papanikolopoulou, Sofia Grammenoudi, Efthimios Skoulakis

BSRC Alexander Fleming, 34 Fleming street, 16672, Vari, Greece

Many neurological disorders, including AD and the frontotemporal dementias, are characterized by the presence of intraneuronal inclusions made of abnormally phosphorylated forms of the microtubule-binding protein, tau. Moreover, it has been reported that the abundance of 14-3-3 proteins in particular brain regions and the cerebrospinal fluid of patients with AD is significantly increased. 14-3-3 proteins are signalling molecules, abundant in the nervous system, crucial for various physiological cellular processes such as cell growth, division, adhesion, differentiation, apoptosis and regulation of ion channels. The multitude of their binding partners and their key roles in different cellular pathways make them an interesting target to investigate their role in pathological processes. In this study, we use the simplicity and genetic facility of the *Drosophila* system with only two 14-3-3 genes to investigate in vivo whether 14-3-3s are causal or synergistic with tau accumulation to precipitate pathology. We present data demonstrating that elevation of either of the two *Drosophila* 14-3-3s, zeta or epsilon, throughout the CNS significantly increases the levels of wild-type tau. In contrast, similar co-expression with FTDP-17 linked mutant taus yields differential effects depending on the mutation. That implies that wild-type and mutant tau isoforms interact with the same proteins in different ways, potentially with distinct consequences. Although elevation of zeta or epsilon increases the levels of wild-type tau in the brain, elevation of epsilon decreases the levels of R406W tau, while zeta increase has no effect. Importantly, the nature of mutation plays a significant role in its interaction with the 14-3-3s. This is illustrated by the reverse effect of 14-3-3 levels on the accumulation of the triple mutant R406WS2A. These results indicate that the two members of the *Drosophila* 14-3-3 protein family, exhibit distinct types of interactions with particular wild-type and mutant tau proteins.

Η παθογενετικότητα της πρωτεΐνης tau εξαρτάται από τα επίπεδα συσσώρευσης των πρωτεϊνών 14-3-3 στους νευρώνες της Δροσόφιλας

Κατερίνα Παπανικολοπούλου, Σοφία Γραμμενούδη και Ευθύμιος Σκουλάκης

Ερευνητικό Κέντρο Βιοϊατρικών Επιστημών «Αλέξανδρος Φλέμινγκ», Φλέμινγκ 34, Βάρη 16672, Ελλάδα

Η συσσώρευση υπερφωσφορυλιωμένης πρωτεΐνης tau έχει συσχετιστεί με μία ομάδα νευροεκφυλιστικών ανοιών, γνωστών ως ασθένειες TAU, με τη νόσο Alzheimer να αποτελεί τη συχνότερη μορφή τους. Επιπρόσθετα, έχει αναφερθεί ότι σε ασθενείς με τη νόσο Alzheimer παρουσιάζεται αύξηση των επιπέδων των πρωτεϊνών 14-3-3 σε πάσχουσες εγκεφαλικές περιοχές καθώς και στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό. Η οικογένεια των 14-3-3 αποτελείται από μία ομάδα μικρών σε μοριακό βάρος, όξινων πρωτεϊνών που εκφράζονται σε υψηλά επίπεδα στον εγκέφαλο. Οι 14-3-3 συμμετέχουν σε πολλαπλές κυτταρικές λειτουργίες όπως η απόπτωση, η κυτταρική σηματοδότηση και η ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου. Ως αναμενόμενο, αν αναλογιστεί κανείς την πληθώρα των κυτταρικών παρτενέρ τους, οι 14-3-3 φαίνεται να εμπλέκονται στην παθογένεια πολλών ασθενειών, κυρίως του νευρικού συστήματος. Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιούμε μία γενετική και βιοχημική προσέγγιση για να μελετήσουμε τις επιπτώσεις της αλλαγής των επιπέδων των πρωτεϊνών 14-3-3 στην παθογενετικότητα της ανθρώπινης διαγονιδιακής πρωτεΐνης tau κατά τη συσσώρευση της στο νευρικό σύστημα της Δροσόφιλας. Η χρήση της Δροσόφιλας προσφέρει ένα μεγάλο πλεονέκτημα σε αυτήν τη μελέτη διότι σε αντίθεση με τα σπονδυλωτά, περιέχει μόνο δύο γονίδια 14-3-3, το γονίδιο *leonardo* (*leo*) και το γονίδιο *D14-3-3ε*. Η ανάλυση αυτή έδειξε ότι η αύξηση των επιπέδων των πρωτεϊνών 14-3-3 οδηγεί στην αύξηση των επιπέδων παθολογικής πρωτεΐνης tau και στην ενίσχυση του



εκφυλισμού των νευρικών κυττάρων των φωτοϋποδοχέων. Επίσης, μελετήσαμε ζώα που υπερσυσσωρεύουν μεταλλαγμένες διαγονιδιακές πρωτεΐνες tau που χαρακτηρίζουν την ασθένεια FTDP-17 και βρήκαμε σημαντικές διαφορές ως προς τα επίπεδα έκφρασης τους, τη φωσφορυλίωσή τους και την έκταση του επαγόμενου φαινοτύπου. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι οι φυσιολογικές και μεταλλαγμένες tau αλληλεπιδρούν η κάθε μια με διαφορετικό τρόπο με τις 14-3-3 γεγονός που υποδεικνύει την εμπλοκή διαφορετικών μοριακών μηχανισμών στην ανάπτυξη της παθολογίας. Συγκεκριμένα, το επίπεδο ολικής αλλά και φωσφορυλιωμένης πρωτεΐνης *htauR406W* παραμένει το ίδιο όταν συνεκφράζεται με LEO ενώ μειώνεται όταν συνεκφράζεται με EPS. Το είδος της μετάλλαξης φαίνεται να παίζει εξίσου σημαντικό ρόλο αφού στην περίπτωση της τριπλά μεταλλαγμένης *R406WS2A* παρατηρείται το αντίθετο. Η διερεύνηση των μηχανισμών που διαφοροποιούν τα αποτελέσματα της συσσώρευσης των πρωτεϊνών tau στο ΚΝΣ μπορεί να συμβάλλει σημαντικά στην κατανόηση της ιστοειδικής, ή κυτταροειδικής ευπάθειας που χαρακτηρίζει την παθολογία των διαφορετικών ΤΑΥπαθειών.

The expression of TAG-1 in glial cells is sufficient for the formation of the juxtaparanodal complex and the phenotypic rescue of *Tag-1* homozygous mutants

Maria Savvaki¹, Kostas Theodorakis¹, Lida Zoupi¹, Antonis Stamatakis², Simona Tivodar¹, Fotini Stylianopoulou², Domna Karagogeos¹

¹IMBB and Department of Basic Science, Faculty of Medicine, University of Crete, Heraklion

²Laboratory of Biology, School of Nursing, University of Athens, Athens

Myelinated fibers are organized into specialized domains that ensure the rapid propagation of action potentials and are characterized by protein complexes underlying axoglial interactions. TAG-1 (Transient Axonal Glycoprotein-1), a cell adhesion molecule of the immunoglobulin superfamily (IgSF), is expressed by neurons as well as by myelinating glia. It is essential for the molecular organization of myelinated fibers as it maintains the integrity of the juxtaparanodal region, through its interactions with Caspr2 and the voltage-gated potassium channels (VGKCs) on the axolemma. The *Tag-1*^{-/-} animals show important deficits such as impaired learning and memory as well as sensorimotor gating and gait coordination defects. Since TAG-1 is the only known component of the juxtaparanodal complex expressed by the glial cell, it is important to clarify its role in the molecular organization of juxtaparanodes. For this purpose, we generated transgenic mice that exclusively express TAG-1 in oligodendrocytes and lack endogenous gene expression (*Tag-1*^{-/-}; *plp*^{Tg(Tag-1)}). Phenotypic analysis clearly demonstrates that glial TAG-1 is sufficient for the proper organization and maintenance of the juxtaparanodal domain in the central nervous system. Biochemical analysis shows that glial TAG-1 physically interacts with Caspr2 and VGKCs. Ultrastructural and behavioral analysis of *Tag-1*^{-/-}; *plp*^{Tg(Tag-1)} mice shows that the expression of glial TAG-1 is sufficient to restore the axonal and myelin deficits as well as the behavioral defects observed in *Tag-1*^{-/-} animals. Taken together, these data highlight the pivotal role of myelinating glia on axonal domain differentiation and organization.

Funding by: ELA 2007-02512, Graduate programs in Molecular Biology-Biomedicine and The Molecular Basis of Human Disease, University of Crete and IMBB

Η γλοιακή έκφραση της πρωτεΐνης TAG-1 είναι επαρκής για τη δημιουργία της εγγύς της παρακομβικής περιοχής των εμύελων ινών

Μαρία Σαββάκη¹, Κώστας Θεοδωράκης¹, Λήδα Ζούπη¹, Αντώνης Σταματάκης², Simona Tivodar¹, Φωτεινή Στυλιανοπούλου² και Δόμνα Καραγωγέως¹

Ινστιτούτο Μοριακής Βιολογίας και Βιοτεχνολογίας και Τομέας Βασικών Επιστημών, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Ηράκλειο, ²Εργαστήριο Βιολογίας, Τμήμα Νοσηλευτικής, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

Οι εμύελες ίνες διαχωρίζονται σε καλά οργανωμένες και διακριτές περιοχές που διασφαλίζουν την ταχεία μετάδοση του δυναμικού ενεργείας και χαρακτηρίζονται από πρωτεϊνικά σύμπλοκα ανάμεσα σε μόρια του άξονα και της μεμβράνης του γλοιακού κυττάρου αντίστοιχα. Η πρωτεΐνη TAG-1 αποτελεί ένα μόριο κυτταρικής συνάφειας της υπεροικογένειας των ανοσοσφαιρινών που εκφράζεται από νευρικά καθώς και κύτταρα γλοίας του κεντρικού και περιφερικού νευρικού συστήματος. Το μόριο αυτό είναι απαραίτητο για τη μοριακή οργάνωση και διατήρηση της εγγύς της παρακομβικής περιοχής των εμύελων ινών, μέσω αλληλεπιδράσεων της με τις υπομονάδες των καναλιών καλίου (VGKCs) και την πρωτεΐνη Caspr2. Τα *Tag-1*^{-/-} ζώα παρουσιάζουν σημαντικά ελλείμματα στις διαδικασίες μνήμης-μάθησης καθώς και οργάνωσης και συντονισμού των κινήσεών τους. Η πρωτεΐνη TAG-1 είναι το μόνο γνωστό μόριο που εντοπίζεται στη μεμβράνη του γλοιακού κυττάρου στην περιοχή αυτή. Για το λόγο αυτό είναι σημαντικό να



διερευνήσουμε περαιτέρω το ρόλο της TAG-1 στην οργάνωση της περιοχής γύρω από τον κόμβο του Ranvier.

Για τον παραπάνω σκοπό, δημιουργήσαμε διαγονιδιακούς μύες, οι οποίοι εκφράζουν την πρωτεΐνη TAG-1 αποκλειστικά από τα κύτταρα γλοίας, ενώ απουσιάζει η ενδογενής έκφραση (από νευρικά και κύτταρα γλοίας). Φαινοτυπική ανάλυση των διαγονιδιακών ζώων σε σύγκριση με φυσιολογικά και *Tag-1^{-/-}* έδειξε πως η έκφραση του μορίου TAG-1 μόνο από τα κύτταρα γλοίας είναι ικανή για τη δημιουργία και διατήρηση του συμπλόκου της εγγύς της παρακομβικής περιοχής στο κεντρικό νευρικό σύστημα. Βιοχημική ανάλυση αποκάλυψε την άμεση αλληλεπίδραση της γλοιακής TAG-1 με τα μόρια Caspr2 και VGKCs που εντοπίζονται στη μεριά του άξονα. Επιπλέον μελέτη της μορφολογίας του οπτικού νεύρου αλλά και της συμπεριφοράς των διαγονιδιακών μυών έδειξε πως οι μύες αυτοί δεν παρουσιάζουν κανένα έλλειμμα σε αντίθεση με τα *Tag-1^{-/-}* ζώα. Συνεπώς, όλα τα παραπάνω δεδομένα συνηγορούν υπέρ του κρίσιμου ρόλου της γλοιακής TAG-1 όσον αφορά στην οργάνωση των εμμέλων ινών και τις αξονο-γλοιακές αλληλεπιδράσεις στο κεντρικό νευρικό σύστημα.

Αυτή η έρευνα χρηματοδοτήθηκε από: ELA 2007-025I2, Μεταπτυχιακά προγράμματα σπουδών στη Μοριακή Βιολογία-Βιοιατρική και Μοριακή Βάση των Ασθενειών του Ανθρώπου, Πανεπιστήμιο Κρήτης και I.M.B.B.

***In vitro* and *in vivo* evaluation of potential imaging agents for Alzheimer's disease**

Marina Sagnou¹, Stamatia Tzanopoulou¹, Catherine Raptopoulou², Aris Terzis², Ioannis Pirmettis³, Minas Papadopoulos³, and Maria Pelecanou¹

Institutes of ¹Biology, ²Materials Science, ³Radioisotopes & Radiodiagnostic Products, NCSR "Demokritos", 153 10 Athens, Greece

Alzheimer's disease (AD) is a widespread neurodegenerative disease affecting millions of elderly people, however, no specific diagnostic examination for AD has yet been introduced to the clinic. We report herein the synthesis and preliminary evaluation of two classes of ^{185/187}Re and ^{99m}Tc complexes with affinity for the amyloid plaques that characterize the AD brain, in the process of developing radiodiagnostic agents for *in vivo* imaging of amyloid plaques with γ -camera SPECT. In the first class of complexes, 4-aminophenylbenzothiazole, a derivative of thioflavin T clinically used for staining *post mortem* amyloid plaques, served as the pharmacophore moiety, which was linked to the chelating unit via a carbon chain. Both the ligands and the non-radioactive ^{185/187}Re complexes were evaluated with fluorescence microscopy for their *in vitro* affinity and specificity for amyloid plaques on human AD brain tissue preparations. The radioactive ^{99m}Tc complex of the best ligand was further evaluated *in vivo* in healthy (biodistribution) and APP transgenic mice (imaging studies). A second class of complexes was synthesized employing curcumin as the pharmacophoric moiety based on literature evidence on the affinity of curcumin for amyloid plaques. A different complexation strategy was employed in this case in which curcumin attaches itself directly to the metal core. The complexes synthesized were evaluated *in vitro* as before, giving equally encouraging results.

***In vitro* και *in vivo* αξιολόγηση απεικονιστικών παραγόντων της νόσου Alzheimer**

Μαρίνα Σαγνού¹, Σταματία Τζανοπούλου¹, Κατερίνα Ραπτοπούλου², Άρης Τερζής², Ιωάννης Πιρμεττής³, Μηνάς Παπαδόπουλος³ και Μαρία Πελεκάνου¹

Ινστιτούτα ¹Βιολογίας, ²Επιστήμης Υλικών, ³Ραδιοϊσοτόπων & Ραδιοδιαγνωστικών Προϊόντων, ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος», 153 10 Αθήνα

Η νόσος του Alzheimer (NA) είναι μια νευροεκφυλιστική ασθένεια που προσβάλλει εκατομμύρια ηλικιωμένων ανθρώπων παγκοσμίως, και για την οποία δεν υφίσταται ειδική, εργαστηριακή εξέταση. Στην παρούσα εργασία παρουσιάζεται η σύνθεση και βιολογική αξιολόγηση συμπλόκων του ^{185/187}Re και ^{99m}Tc με μόρια που εμφανίζουν εκλεκτική πρόσδεση στις αμυλοειδείς πλάκες που χαρακτηρίζουν τον εγκέφαλο των ασθενών με NA, στην προσπάθεια ανάπτυξης ραδιοδιαγνωστικών παραγόντων για την *in vivo* απεικόνιση των πλακών με τη χρήση SPECT γ -κάμερας. Στην πρώτη κατηγορία το 4-αμινοφαινυλοβενζοθειαζόλιο, ένα ανάλογο της ιστολογικής χρωστικής θειοβλαβίνης T, συνδέθηκε ομοιοπολικά με τον χηλικό παράγοντα μέσω ανθρακικής αλυσίδας. Τα «ψυχρά» ^{185/187}Re σύμπλοκα αξιολογήθηκαν *in vitro* για την ικανότητα πρόσδεσης στις πλάκες σε τομές εγκεφάλου ασθενούς με NA με την χρήση μικροσκοπίας φθορισμού, και το ραδιενεργό ^{99m}Tc ανάλογο με τις καλύτερες ιδιότητες χρησιμοποιήθηκε σε μελέτες βιοκατανομής σε υγιή ποντίκια και μελέτες δυναμικής απεικόνισης σε APP διαγονιδιακά ποντίκια με ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Στην δεύτερη κατηγορία, το μόριο της κουρκουμίνης, η οποία διαθέτει χημική συγγένεια για τις αμυλοειδείς πλάκες, χρησιμοποιήθηκε ως φαρμακοφόρο μόριο, με απευθείας σύνδεση στο μέταλλο. Τα πρώτα αποτελέσματα της *in vitro* αξιολόγησης των συμπλόκων της κουρκουμίνης σε τομές εγκεφάλου ασθενούς με NA δείχνουν εκλεκτική πρόσδεση στις αμυλοειδείς πλάκες.

Effects of bisphenol A on neuronal plasticity

Vasileios Sgouros+, Maria Koleza+, Anna Poimenova and Efthymia Kitraki
(+equally contributing authors)

Lab. of Basic and Biomedical Sciences, School of Dentistry, University of Athens, Greece

Bisphenol A (BPA) is an endocrine disrupter widely used for production of polycarbonate plastics, epoxy resins, dental composite resins and many other everyday life products. The compound acts as a selective estrogen receptor modulator (SERM). Exposure to doses even lower than the daily safe limit (50 µg/kg/day) during critical periods of brain development can affect sexual differentiation of the brain and behavior in rodents. The aim of the present study was to investigate possible effects of low BPA exposure on molecules related to hippocampal plasticity. Male and female offspring of dams exposed to 40 µg/kg bw BPA daily throughout pregnancy and lactation were tested at puberty onset. Immunohistochemical detection showed that perinatal BPA exposure led to increased immunoreactivity for brain derived neurotrophic factor (BDNF) in the hippocampal fissure and the mossy fibers of female offspring. In the same animals, neurofilament (NF) and estrogen receptor β (ERβ) staining was increased in mossy fibers and the CA3 area, respectively. In male BPA offspring, an increase in the phosphorylated high molecular weight isoform of NFs was detected in hippocampal tissue extract analyzed by Western blot. Nissl staining showed a normal development and cytoarchitecture in the hippocampus of BPA exposed animals, compared to the controls. These data show that a 'safe dose' of perinatal BPA exposure can increase the levels or the stability of plasticity mediators in the juvenile rat hippocampus, acting like a weak estrogenic agonist. The detected alterations appear sexually dimorphic.

Επίδραση της διφαινόλης Α στη νευρωνική πλαστικότητα

Βασίλειος Σγούρος+, Μαρία Κολέζα+, Άννα Ποιμένοβα και Ευθυμία Κιτράκη

Εργ. Βασικών Ιατροβιολογικών Επιστημών, Τμήμα Οδοντιατρικής Παν. Αθηνών

Η διφαινόλη Α (BPA) είναι ένας ενδοκρινικός διαταράκτης που χρησιμοποιείται ευρέως για την παραγωγή πολυκαρβονικών πλαστικών, εποξειδικών και οδοντιατρικών ρητινών, καθώς και πολλών άλλων καθημερινά χρησιμοποιούμενων προϊόντων. Η ένωση αυτή δρά ως εκλεκτικός τροποποιητής υποδοχέων των οιστρογόνων (SERM). Έκθεση σε δόσεις χαμηλότερες ακόμα και από το ημερήσιο ασφαλές όριο (50 µg/kg/day) κατά τη διάρκεια κρίσιμων περιόδων της ανάπτυξης του εγκεφάλου μπορεί να επηρεάσει τη φυλετική διαφοροποίηση του εγκεφάλου και τη συμπεριφορά στα τρωκτικά. Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση πιθανών επιδράσεων χαμηλών δόσεων έκθεσης σε BPA σε μόρια που σχετίζονται με την πλαστικότητα του ιππόκαμπου. Αρσενικοί και θηλυκοί απόγονοι γεννητόρων που είχαν εκτεθεί σε 40 mg/kg bw BPA καθημερινά κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης και του θηλασμού ελέγχθηκαν στην έναρξη της εφηβείας. Ανοσοϊστοχημική ανίχνευση έδειξε πως η περιγεννητική έκθεση σε BPA οδήγησε σε αυξημένη ανοσοαντίδραση για τον εγκεφαλικά προερχόμενο νευροτροφικό παράγοντα (BDNF) στην ιπποκάμπεια αύλακα και τις βρυώδεις ίνες του ιπποκάμπου των θηλυκών απογόνων. Στα ίδια ζώα, η χρώση για τα νευροϊνίδια (NF) και τον οιστρογονικό υποδοχέα β (ERβ) ήταν αυξημένη στις βρυώδεις ίνες και τη CA3 περιοχή, αντίστοιχα. Στους αρσενικούς απογόνους της BPA ομάδας παρατηρήθηκε αύξηση στη φωσφορυλιωμένη υψηλού μοριακού βάρους ισομορφή των νευροϊνιδίων (pNF-H) σε ομογενοποίημα ιπποκάμπου με εφαρμογή ανοσοσύτωσης κατά Western. Χρώση Nissl έδειξε φυσιολογική ανάπτυξη κυτταροαρχιτεκτονική στους ιπποκάμπους των πειραματοζώων που είχαν εκτεθεί σε BPA, συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου. Τα παραπάνω στοιχεία δείχνουν πως μια 'ασφαλής δόση' περιγεννητικής έκθεσης σε BPA μπορεί να αυξήσει τα επίπεδα ή τη σταθερότητα διαμεσολαβητών της πλαστικότητας στον ιππόκαμπο των νεαρών επιμύων, δρώντας σαν ένας ασθενής οιστρογονικός αγωνιστής. Οι μεταβολές που ανιχνεύθηκαν παρουσιάζουν φυλετικό διμορφισμό.

Ghrelin hormone regulates body weight in a rat obesity model

Constantinos Fedonidis^{1,2}, Xenia Koliou¹, Costas Stergiopoulos¹, Olga Asimaki¹, Nicholas Alexakis² and Dimitra Mangoura¹

- 1. Biomedical Research Foundation of the Academy of Athens, Athens**
- 2. 1st Department of Surgery, Athens Medical School, Athens**

Sleeve gastrectomy, the surgical procedure of choice for morbid obesity, both reduces stomach size and removes ghrelin-producing cells of the stomach fundus. Postoperatively, patients experience decreased appetite, attributed to reduced ghrelin levels. Ghrelin, a peptide hormone, stimulates the gut-brain orexigenic axis to increase food intake and reduces metabolism and use of fat, all resulting in weight gain. These actions are elicited through its specific receptor GHSR, a GPCR widely expressed in the arcuate nucleus of the hypothalamus; yet the regulation of the molecules that constitute this axis are not known. Thus, we undertook these studies to investigate ghrelin expression in the dynamic settings of post-gastrectomy. We first developed a rat obesity model, where animals were fed a high fat diet for 12 weeks till gaining 50% of their original weight, and then we performed sleeve gastrectomy or sham operation. All the animals were then fed normal diet, and, when sacrificed one or three months later, ghrelin mRNA levels in the stomach and hypothalamus were examined by semi-quantitative RT-PCR. We found that all animals with sleeve gastrectomy exhibited, in addition to weight loss, significantly lower ghrelin message in the stomach, whereas obese animals (sham-operated, non operated) even after 3-months of normal diet exhibited increased ghrelin expression. Moreover, in the hypothalamus, ghrelin expression was increased one month post-gastrectomy and decreased afterwards, while the expression of GHSR initially remained unchanged but decreased three months post-gastrectomy. Therefore, ghrelin may regulate expression of its own receptor, and on going studies address the signaling mechanism of this gene regulation.

Η ορμόνη γκρελίνη ρυθμίζει το σωματικό βάρος σε ένα μοντέλο παχυσαρκίας επίμυος
**Κωνσταντίνος Φαιδωνίδης^{1,2}, Ξένια Κολιού¹, Κώστας Στεργιόπουλος¹, Όλγα Ασημάκη¹,
Νικόλας Αλεξιάκης² και Δήμητρα Μάγκουρα¹**

- 1. Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών Ακαδημίας Αθηνών**
- 2. 1^η Χειρουργική Κλινική, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών**

Η επιμήκης γαστρεκτομή είναι η χειρουργική επέμβαση που προτιμάται σε περιπτώσεις σοβαρής παχυσαρκίας μειώνοντας το μέγεθος του στομάχου, αφαιρώντας ταυτόχρονα τα κύτταρα του θόλου. Οι εγχειρισμένοι ασθενείς έχουν μειωμένη όρεξη που οφείλεται στη μείωση των επιπέδων της γκρελίνης. Η γκρελίνη είναι μια ορμόνη, η οποία διεγείρει τον ορεξιογόνο άξονα στομάχου-εγκεφάλου αυξάνοντας την πρόσληψη τροφής, μειώνοντας τον μεταβολισμό και τη χρήση του λίπους, προκαλώντας έτσι αύξηση βάρους. Οι δράσεις αυτές της γκρελίνης πραγματοποιούνται μέσω του ειδικού υποδοχέα της GHSR που εκφράζεται στον τοξοειδή πυρήνα του υποθαλάμου· ωστόσο τα μόρια που αποτελούν αυτό τον άξονα παραμένουν άγνωστα. Πραγματοποιήσαμε αυτή τη μελέτη για να διερευνήσουμε την έκφραση της γκρελίνης στο δυναμικό στερέωμα που δημιουργείται μετά από επιμήκη γαστρεκτομή. Δημιουργήσαμε ένα μοντέλο παχυσαρκίας επίμυος, όπου τα ζώα ακολούθησαν για 12 εβδομάδες διαίτα υψηλή σε λιπαρά μέχρι να αυξηθεί το βάρος τους κατά 50% και στη συνέχεια τα ζώα υποβλήθηκαν σε επιμήκη γαστρεκτομή ή εικονική επέμβαση. Όλα τα ζώα ακολούθησαν κανονική διαίτα και θυσιάστηκαν ένα ή τρεις μήνες μετά την επέμβαση, οπότε και μελετήθηκαν τα επίπεδα mRNA της γκρελίνης με τη χρήση ημιποσοτικής RT-PCR. Στα ζώα που υποβλήθηκαν σε γαστρεκτομή, εκτός από την απώλεια βάρους, ανιχνεύθηκε σημαντικά λιγότερο μετάγραφο της γκρελίνης στο στομάχι, σε αντίθεση με τα παχύσαρκα ζώα (εικονικά εγχειρισμένα και μη). Επιπλέον, στον υποθάλαμο, η έκφραση της γκρελίνης αυξήθηκε ένα μήνα μετά τη γαστρεκτομή και μειώθηκε στη συνέχεια, ενώ η έκφραση του GHSR αρχικά παρέμεινε σταθερή ενώ μειώθηκε τρεις μήνες μετά τη γαστρεκτομή. Συνεπώς, η γκρελίνη πιθανώς να ρυθμίζει την έκφραση του δικού της υποδοχέα και με τρέχουσες μελέτες θα εξακριβωθεί ο μηχανισμός σηματοδότησης αυτής της γονιδιακής ρύθμισης.



ΣΥΜΜΕΤΕΧΟΝΤΕΣ

AUTHOR INDEX



A.

Achimastou A., 24
Agalou A., 52, 60
Agapaki O., 80
Alexakis N., 117
Anastasopoulos D., 80
Angelatou F., 56
Antonelou M.H., 78
Antoniou K., 56, 74, 75
Apostolopoulou A., 62, 106
Asimaki O., 117

B.

Balafas E., 78
Balaskas N., 25
Bastakis G., 36
Benaki D., 104, 105
Berninger B., 26
Berthou F., 109
Bessinis D.P., 38
Blum R., 26
Bockelmann J., 43
Boultadakis A., 72
Bouziotis P., 104
Brand M., 32

C.

Charalampopoulos I., 33, 92
Charonis A., 40
Christakos C.N., 80
Constant C., 27
Cordopatis P., 110

D.

Dalla C., 38
Denaxa M., 24
Dermon C.R., 28, 34
Diamantopoulou A., 63, 76
Dickinson M., 27



Dimas K., 93
Douni E., 86, 87

E.

Efstathopoulos P., 33
Efthimiopoulos S., 83, 110
Elbert T., 104
Elkouris M., 25
Episkopou V., 22, 25
Erimaki S., 80
Evangelou A., 104
Evdokimidis I., 67, 88, 90, 91

F.

Fanarioti E., 59
Fedonidis C., 117
Foula D-D., 60
Fragopoulou A.F., 78
Freudenreich D., 32

G.

Gaitanou M., 31, 50
Galanopoulos A., 74
Gascón S., 26
Georganta E-M., 52, 60
Georgiadou M., 53
Georgoussi Z., 52, 55, 58, 60
Gerozissis K., 109
Giannakopoulou A., 82
Giompres P., 59
Gkountelias K., 53, 54
Götz M., 26
Gouzi J.Y., 106
Grammenoudi S., 111
Gravanis A., 33, 53, 92
Grigoriadis N., 82
Grivas V., 108
Gudi V., 98



H-I.

Hans S., 32
Hatzimanolis J., 67
Heerikhuize J., 101
Heinrich C., 26
Hildebrandt H., 98
Hribar T., 54
Iatrou G., 81, 100
Iatrou K., 58
Ioakeimidis F., 86, 87

K.

Kaltezioti V., 40
Kanellopoulos A., 65
Karagogeos D., 36, 84, 113
Karakostas A., 87
Karamitros D., 47
Karantinos T., 67
Karyka E., 74, 75
Kaslin J., 32
Kasselimis D., 88, 90, 91
Kastellakis G., 69
Kazanis I., 27
Kitraki E., 116
Kizil C., 32
Klee D., 43
Klinkhammer K., 43
Kokkonis I., 88
Kokona D., 92
Koleza M., 116
Koliou X., 93, 117
Kollias G., 86, 87
Kommata V., 28
Konsolaki E., 29, 42
Konstantinidou A., 107
Kostomitsopoulos N., 78
Kostoula C., 74, 75
Kotsia E-M., 100
Kouis P., 94
Kouroupi G., 31
Kourti M., 96
Koutsoudaki P.N., 98
Kritikou E., 45



Kroehne V., 32
Kyritsis N., 32
Kyrousi C., 45

L.

Lamari F.N., 81, 110
Landi S., 42
Lavdas A.A., 31
Lazaridis I., 33
Leontiadis L., 55
Liakos A., 83
Liapakis G., 53, 54
Linardaki Z., 81, 100
Linington C., 84
Liodis P., 24
Lioupis A., 58
Livaniou E., 104
Loizou E., 83
Lygerou Z., 45, 47

M.

Makantasi P., 34
Makrinou E., 86
Malas S., 25
Malidelis Y., 101, 107
Mangoura D., 93, 117
Mantouvalou E., 40
Margaritis L.H., 73, 78
Margarity M., 81, 100, 110
Masserdotti G., 26
Matsas R., 31, 50
Matsokis N., 56
Mavrikaki M., 36, 70
Memou A., 74, 75
Mey J., 43
Michaloudi E., 82
Mikros E., 105
Mikroulis A.V., 94, 102
Milathianakis G., 88
Miltiadous P., 76
Mitsacos A., 59
Modo M., 27



Moressis A., 62, 106

N.

Natarajan D., 47

Nidos A., 90

Nikolaidou M., 75

Nikolos F., 55

Nomikos G.G., 70

Ntzouni M.P., 73

O.

Oikonomaki M., 40

Oitzl M.S., 63

P.

Pachnis V., 24, 47

Pagida M., 101, 107

Panagis G., 59, 70

Panayiotou E., 25

Panayotacopoulou M., 101, 107

Paouneskou D., 42

Papadokostaki M., 54

Papadopoulos G.C., 82

Papadopoulos M., 104, 115

Papadopoulou A., 50

Papadopoulou-Daifoti Z., 38, 74, 75

Papageorgiou E., 108

Papakonstantinou M-P., 55, 60

Papandreou M.A., 110

Papanikolopoulou K., 111

Papazafiri P., 96

Papazoglou I., 109

Paravatou-Petsotas M., 104

Patsouris E., 107

Pediaditakis I., 33

Pelecanou M., 104, 105, 115

Pirmettis I., 104, 115

Pitsikas N., 72

Pitychoutis P.M., 38

Poimenova A., 116

Poirazi P., 69



Polissidis A., 74, 75
Politis P., 25, 40, 48
Polyzoidou E., 82
Potagas C., 88, 90, 91
Poulou M., 25
Psarropoulou C., 94, 102

R.

Raftogianni A., 63, 76
Raptopoulou C., 115
Ratto G.M., 42
Remboutsika E., 25
Rinotas V., 86, 87
Rohrer H., 40

S.

Sagnou M., 115
Sakellaridis N., 93
Sánchez R., 26
Sarantis K., 56
Sarris M., 55
Savvaki M., 36, 113
Schroeder T., 26
Sergaki M., 42
Sgouros V., 116
Sidiropoulou K., 69
Simitzis C., 43
Skaliora I., 29, 42
Skoulakis E., 62, 65, 106, 111
Skripuletz T., 98
Škuljec J., 98
Slaninova J., 104
Slavi N., 83
Smyrnis N., 67
Sourlas V., 108
Spella M., 45, 47
Stamatakis A., 63, 73, 76, 78, 113
Stamatakis K., 105
Stangel M., 98
Stathopoulou A., 47
Stefanis N.C., 67
Stergiopoulos A., 48



Stergiopoulos C., 117
Stylianopoulou F., 31, 63, 76, 78, 113
Swaab D., 101
Swevers L., 58

T.

Taouis M., 109
Taraviras S., 45, 47
Telonis A., 100
Terzis A., 115
Theodorakis K., 113
Thermos K., 92
Thomaidou D., 25, 31
Tiedt S., 26
Tiligada A., 38
Tivodar S., 113
Touloumi O., 82
Tripathi P., 26
Tsachaki M., 83, 110
Tsangaris G., 50
Tsekoura E., 107
Tsiamaki E., 56
Tsilikopoulou G., 91
Tsioras K., 50
Tsitoura P., 58
Tzanopoulou S., 115

V.

Vadakkan T., 27
Vasilaki A., 108
Vasilopoulou C., 81, 100
Verginis P., 84
Vicaire N., 109
Vougas K., 50

X-Z.

Xemerakis M., 36
Zarkou V., 83
Zeriti M., 42
Zikos C., 104
Zoupi L., 84, 113