



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΟΥ ΠΟΝΟΥ»
Επιστημονικά Υπεύθυνος: Δημήτρης Δαμίγος,
Επίκουρος Καθηγητής Ιατρικής Ψυχολογίας
ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

«ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ
ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΣΕ ΤΜΗΜΑΤΑ
ΕΓΚΕΦΑΛΟΥ ΕΠΙΜΥΩΝ»

Φοιτήτρια:

Νάκη Ελένη

Επιβλέπων Καθηγητής

Παππάς Περικλής

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2016



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	2
ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ	3
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	4
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	5
1.1 ΦΛΕΓΜΟΝΗ	5
1.2 ΝΕΥΡΟΦΛΕΓΜΟΝΗ	7
1.3 ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΕΣ ΚΑΙ ΚΕΝΤΡΙΚΕΣ ΚΥΤΟΚΙΝΕΣ ΚΑΙ ΝΕΥΡΟΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΑ ΚΥΚΛΩΜΑΤΑ	11
1.3.1 ΟΙ ΚΥΤΟΚΙΝΕΣ ΣΤΗΝ ΚΑΤΑΘΛΙΨΗ	14
1.3.2 ΚΥΤΟΚΙΝΕΣ, ΜΙΚΡΟΓΛΟΙΑ, ΚΑΙ ΝΕΥΡΟΓΕΝΕΣΗ	16
1.4 Ο ΕΝΤΟΠΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΚΥΚΛΟΞΥΓΕΝΑΣΗΣ-2 ΣΤΟ Κ.Ν.Σ.	18
1.5 ΟΙ ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ PPAR	20
1.6 ΠΑΘΟΓΕΝΕΣΗ ΝΕΥΡΟΕΚΦΥΛΙΣΤΙΚΩΝ ΠΑΘΗΣΕΩΝ	23
1.7 ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ PPAR ΚΑΙ PARKINSON (PD)	25
1.8 ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ PPAR ΚΑΙ ΑΛΣΧΑΪΜΕΡ (AD)	29
1.9 ΡΟΣΙΓΛΙΤΑΖΟΝΗ	31
2. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	33
3. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	34
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	40
5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	57
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	63
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	81
ABSTRACT	81
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ	83

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

AA: Αραχιδονικό οξύ

Ach: Ακετυλοχολίνη

ACTH: Φλοιοεπινεφριδιοτρόπος ορμόνη

AD: Νόσος Alzheimer

ALDH: Αλδεϋδική αφυδρογονάση

BBB: Αιματεγκεφαλικός φραγμός

COX: Κυκλοξυγενάση

COX-1: Κυκλοξυγενάση – 1

COX-2: Κυκλοξυγενάση – 2

HPA: Φλοιοεπινεφριδιακός άξονας υποθαλάμου – υπόφυσης

5-HT: Σεροτονίνη

IL-1: Ιντερλευκίνη – 1

IL-1b: Ιντερλευκίνη – 1β

IL-6: Ιντερλευκίνη – 6

i-NOS: Συνθάση νιτρικού οξειδίου

LPS: Λιποσακχαρίτης

mRNA: Αγγελιοφόρο ριβονουκλειικό οξύ

NA: Νοραδρεναλίνη

PGE₂: Προσταγλανδίνη E2

PPAR: Ενεργοποιημένος πυρηνικός παράγοντας

PD: Νόσος Parkinson

ROS: Δραστικές μορφές οξυγόνου

TNFα: Ογκοκεντρικός παράγοντας – α

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ολοκληρώνοντας την παρούσα έρευνα, αισθάνομαι την ανάγκη να ευχαριστήσω ορισμένους ανθρώπους που με στήριξαν προκειμένου την επίτευξη αυτού του δύσκολου και εποικοδομητικού στόχου. Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Αναπληρωτή Καθηγητή Φαρμακολογίας Π. Παππά, επιβλέπων καθηγητή, για την ανάθεση σε μένα του θέματος της μεταπτυχιακής εργασίας και να του εκφράσω την εκτίμηση και την ευγνωμοσύνη μου που ήταν πάντα πρόθυμος για βοήθεια και συζήτηση καθώς η συμβολή και η καθοδήγησή του ήταν καθοριστική για τη διεξαγωγή της συγκεκριμένης έρευνας.

Η παρούσα μεταπτυχιακή εργασία δεν θα είχε πραγματοποιηθεί χωρίς την ουσιαστική συμμετοχή, βοήθεια και υποστήριξη των καθηγητών, της οικογένειας και των φίλων μου.

Ευχαριστώ τον καθηγητή Δ. Δαμίγο, για την καθοδήγηση, τη βοήθεια και την υποστήριξη που μου παρείχε σε όλα τα στάδια του μεταπτυχιακού προγράμματος.

Ευχαριστώ επίσης τον Καθηγητή κ. Μάριο – Αθανάσιο Μαρσέλο και την Καθηγήτρια κα. Μαρία Κωνσταντή, Διευθυντές του Εργαστηρίου Φαρμακολογίας που με δέχτηκαν στο Εργαστήριο Φαρμακολογίας, θέτοντας στη διάθεσή μου την υλικοτεχνική υποδομή του Εργαστηρίου Φαρμακολογίας.

Θα ήθελα να εκφράσω τις ιδιαίτερες ευχαριστίες μου στην Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Φαρμακολογίας κα Κατερίνα Αντωνίου και την μεταδιδακτορική υπότροφο Φωτεινή Δελή, που με τη βοήθειά τους συνέβαλαν ουσιαστικά στη διεξαγωγή της παρούσας μεταπτυχιακής εργασίας.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 ΦΛΕΓΜΟΝΗ

Ο όρος «φλεγμονή» προέρχεται από τη λατινική λέξη «inflammatio» που σημαίνει αναφλέγω. Η φλεγμονή επ' ουδενί δεν πρέπει να συγχέεται με την λέξη λοίμωξη ακόμη και στην περίπτωση όπου η φλεγμονή προέρχεται από μία λοίμωξη. Οι δύο έννοιες δεν είναι ταυτόσημες, η λοίμωξη προκαλείται από το παθογόνο αίτιο ενώ η φλεγμονή είναι η απάντηση του οργανισμού στο παθογόνο αίτιο. Η φλεγμονή αντιπροσωπεύει την πολύπλοκη εκείνη βιολογική διεργασία με την οποία ο οργανισμός αμύνεται στην εισβολή ενός φλεγμονώδους ερεθίσματος είτε αυτό είναι ένας λοιμογόνος παράγοντας, είτε διάφορα αντιγόνα ή ακόμα και μία απλή φυσική βλάβη [1]. Μετά το πέρας της φλεγμονώδους αντίδρασης επέρχεται η ανατομική και λειτουργική αποκατάσταση των ιστικών βλαβών. Απουσία φλεγμονής, τραύματα και λοιμώξεις δεν θα μπορούσαν ποτέ να επουλωθούν και η σταδιακή καταστροφή των ιστών θα έθετε σε κίνδυνο την επιβίωση του οργανισμού. Ωστόσο, μία φλεγμονή που λειτουργεί «ανεξέλεγκτα» μπορεί επίσης να οδηγήσει σε μία σειρά παθήσεων όπως η αλλεργική ρινίτιδα, η αρτηριοσκλήρωση και η ρευματοειδής αρθρίτιδα. Αυτός είναι και ο λόγος που η φλεγμονή είναι μια διεργασία που συνήθως ρυθμίζεται από τον ίδιο τον οργανισμό. Εγκαύματα, κρουπαγήματα, τοξίνες και άλλες χημικές ουσίες, παθογόνοι ιοί, ιστικές βλάβες, ανοσολογικές αντιδράσεις λόγω υπερευαισθησίας, καθώς και η ιονίζουσα ακτινοβολία, είναι μερικές από τις σημαντικότερες αιτίες ανάπτυξης φλεγμονής.

Ο μηχανισμός της φλεγμονής. Η καταστροφή του ξένου εισβολέα επιτυγχάνεται με τη «μη ειδική» και την «ειδική ανοσία» [1]. Η πρώτη επιτελείται με το μηχανισμό της φαγοκυττάρωσης με τη συμμετοχή των ουδετερόφιλων πολυμορφοπύρηνων και των μακροφάγων καθώς και με το μηχανισμό της κυτταροτοξικότητας διαμέσου των μακροφάγων, των NK- λεμφοκυττάρων (natural killers) και των CD+8 κυτταροτοξικών T-λεμφοκυττάρων. Η ειδική ανοσία επιτυγχάνεται διαμέσου των T- και B- λεμφοκυττάρων, τα οποία έχουν μνήμη και εξειδίκευση. Οι μηχανισμοί εξουδετέρωσης του αντιγόνου συντελούνται με τη βοήθεια των κυτταροτοξικών T-λεμφοκυττάρων. Αδρανοποίηση των ιών και των τοξινών, οψωνοποίηση, φαγοκυττάρωση, ενεργοποίηση του συστήματος του συμπληρώματος και ενεργοποίηση των ιστικών παραγόντων της φλεγμονής είναι

μερικοί ακόμη μηχανισμοί της φλεγμονώδους απάντησης. Αξίζει να σημειωθεί ότι πρωταρχικός σκοπός της φλεγμονής είναι η αποκατάσταση της βλάβης, η επούλωση και η επάνοδος στην προηγούμενη κατάσταση. Τρία κυρίως γεγονότα λαμβάνουν χώρα κατά τη διάρκεια της φλεγμονώδους απάντησης: αυξημένη αιματική ροή στην περιοχή της βλάβης, αυξημένη διαβατότητα των τριχοειδών και τέλος, διαπίδυση και μετανάστευση λευκών αιμοσφαιρίων στην φλεγμαίνουσα περιοχή.

Η διαπίδυση και μετανάστευση των λευκοκυττάρων γίνεται με τη βοήθεια μεμβρανικών πρωτεϊνών των κυττάρων, που επιτρέπουν την προσκόλληση και επικοινωνία μεταξύ των κυττάρων και ονομάζονται προσκολλητικά μόρια (σελεκτίνες, ιντεγκρίνες και η υπεροικογένεια των ανοσοσφαιρινών Ig) [2]. Η ανάπτυξη της φλεγμονώδους αντίδρασης ελέγχεται από κυτταροκίνες όπως ο α-ογκονεκρωτικός παράγοντας (TNF α), η ιντερλευκίνη-1 (IL-1) και η ιντερλευκίνη-6 (IL-6), από προϊόντα ενζυμικών συστημάτων του πλάσματος και από αγγειοδραστικούς μεσολαβητές που απελευθερώνονται από τα σιτευτικά κύτταρα, τα βασεόφιλα και τα αιμοπετάλια στο σημείο της φλεγμονής. Έτσι λοιπόν, στη φλεγμονή κινητοποιείται μία πλειάδα μηχανισμών που περιλαμβάνει ενεργοποίηση ενζύμων, απελευθέρωση μεσολαβητικών ουσιών, εξαγγείωση υγρών, μετανάστευση κυττάρων, καταστροφή και αναγέννηση ιστών.

1.2 ΝΕΥΡΟΦΛΕΓΜΟΝΗ

Σύμφωνα με τα Κέντρα Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων των Ηνωμένων Πολιτειών, στο μέσο Αμερικανό έχει αυξηθεί η διάρκεια ζωής από 73,7 έτη (1980) έως 77,9 έτη (2007) [3]. Η γήρανση συνδέεται με αυξημένο κίνδυνο για νευρολογική ασθένεια ή διαταραχή, συμπεριλαμβανομένης της νόσου του Alzheimer (AD) και τη νόσο Πάρκινσον (PD). Συλλογικά, αυτές οι νευροεκφυλιστικές ασθένειες εκτιμούνται σε πάνω από το 10% του πληθυσμού των ΗΠΑ άνω των 60 ετών, με ετήσιο κόστος πέρα από 30 δισεκατομμύρια δολάρια που σχετίζονται με την ιατρική περίθαλψη, τα χαμένα κέρδη και αποζημίωση για διαφυγόντα κέρδη [4,5]. Φυσικά, δεν υπάρχουν καθόλου δεδομένα ή συγκεκριμένες τιμές για το χρόνο, τη προσπάθεια, και το συναίσθημα που παρέχονται από τα μέλη της οικογένειας και τους φροντιστές. Ως εκ τούτου, ο εντοπισμός προληπτικών στρατηγικών θεραπείας έχουν μεγάλο ενδιαφέρον για την αντιμετώπιση της νόσου που σχετίζεται με την ιατρική και ψυχική ανάγκη υγείας, διατηρώντας παράλληλα την ποιότητα.

Αν και η αιτιολογία και τα συμπτώματα συμπεριφοράς διαφέρουν μεταξύ των νευροεκφυλιστικών νόσων, η φλεγμονή των νεύρων είναι ένα χαρακτηριστικό και των δύο AD και PD. Η νευρο-φλεγμονή όπως χαρακτηρίζεται από την ενεργοποίηση της γλοίας (γλοίωση) και αυξημένη παρουσία φλεγμονωδών μορίων, είναι ένα κοινό συστατικό της φυσιολογικής γήρανσης του εγκεφάλου, αλλά επιδεινώνεται στην AD και PD. Από αυτή την άποψη, δεν είναι περίεργο να τηρούν δείκτες φλεγμονής σε συνδυασμό με την παθολογία της νόσου και μικρογλοία που περιέχουν θραύσματα κυτταρικών υπολειμμάτων στις περιοχές του νευροεκφυλισμού. Αν και θεωρείται ότι είναι μια τοπική αντίδραση των ιστών για την καταπολέμηση της κατάστασης-ειδικής παθολογίας, η φλεγμονή των νεύρων εμφανίζεται ανεξάρτητα συμβάλλοντας ενεργά στην παθοφυσιολογία του ΚΝΣ.

Αν και δεν παρουσιάζουν τα ίδια βασικά συμπτώματα η περιφερική φλεγμονή, και η φλεγμονή των νεύρων είναι αναπόσπαστη αντίδραση του εγκεφάλου σε κυτταρικό στρες, τραυματισμού, και παθολογία. Ένα σήμα κατατεθέν της φλεγμονή των νεύρων είναι η ενεργοποίηση των αστροκυττάρων και μικρογλοίας, που συνολικά ονομάζεται αντιδραστική γλοίωση. Τα αστροκύτταρα, τα πιο άφθονα κύτταρα στο ΚΝΣ, εξυπηρετούν πολλαπλές συστατικές λειτουργίες συμβάλλοντας

ομοιοστασίας του εξωκυτταρικού περιβάλλοντος και συμβάλλοντας στην συναπτική σταθερότητα. Ωστόσο, υπό την παρουσία ενός φλεγμονώδους ερεθίσματος, αστροκύτταρα και μικρογλοία επιδεικνύουν ένα αντιδραστικό φαινότυπο που χαρακτηρίζεται από υπερτροφία των πυρήνων και επιμήκυνση / επέκταση των διεργασιών (για επισκόπηση, βλέπε [6]).

Εκτός από τις μορφολογικές αλλαγές, η αντιδραστική νευρογλοία παράγει μια ποικιλία μορίων που ενεργοποιούν και συμβάλλουν στην χρόνια φλεγμονή. Ονομάζεται «ο κύκλος κυτοκίνης» [7], που προέρχεται από προφλεγμονώδεις κυτοκίνες της γλοίας, όπως οι ιντερλευκίνες (IL)-1b και IL-6, του παράγοντα νέκρωσης όγκων (TNF) -άλφα, και μετασχηματισμό αυξητικού παράγοντα (TGF) -β, θέτει σε κίνηση ένα φάσμα γεγονότων σηματοδότησης που συνεχώς ανατροφοδοτείται και επηρεάζουν το ένα το άλλο σε νευρολογική ασθένεια και διαταραχή (για επισκοπήσεις, βλέπε [8,9]). Μια τέτοια οδός είναι η επαγωγή του COX-2 σε νευρωνικά και μη-νευρωνικά κύτταρα με επακόλουθη αύξηση των προφλεγμονωδών PGE2 [10]. Οι υποδοχείς για PGE2 (EP1-4) βρέθηκαν σε αστροκύτταρα μικρογλοίας αλλά και σε αριθμό νευρωνικών κυττάρων [10]. Υπό κανονικές συνθήκες, η PGE2 σηματοδότηση τροποποιεί τη συναπτική πλαστικότητα σε πληθυσμούς νευρώνων [11-14] που εμπλέκονται στη μάθηση και τη μνήμη (για ανασκόπηση, δείτε [15]).

Ωστόσο, ακολουθώντας ένα φλεγμονώδες ερέθισμα, η ενεργοποίηση του υποδοχέα EP στα δύο μικρογλοία και νευρώνες φαίνεται να συμβάλει στην προφλεγμονώδη εξέλιξη και νευροτοξικότητα [16,17].

Είναι κρίσιμο να σημειωθεί ότι η αντιδραστική γλοία μπορεί επίσης να δημιουργήσει κυτταρικές βλάβες, συμβάλλοντας στην σχηματισμό δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) (Σχήμα 1). Προ-φλεγμονώδεις κυτοκίνες επάγουν συνθάσης νιτρικού οξειδίου (iNOS) και τη δραστηριότητα της COX-2 σε αστροκύτταρα, οδηγώντας σε αύξηση σχηματισμού των ελεύθερων ριζών και το οξειδωτικό στρες σε διάφορες νευροεγκεφαλίστικες καταστάσεις [18-20]. Εκτός από τις άμεσες βλάβες, οι ROS μπορούν να επηρεάσουν δραματικά την κυτταρική σηματοδότηση, ιδιαίτερα εκείνων που συμμετέχουν στην παραγωγή κυτοκινών και άλλων φλεγμονωδών διαμορφωτών (δηλαδή, PGE2), και να επιταχύνει το θάνατο των νευρώνων.

ομοιοστασίας του εξωκυτταρικού περιβάλλοντος και συμβάλλοντας στην συναπτική σταθερότητα. Ωστόσο, υπό την παρουσία ενός φλεγμονώδους ερεθίσματος, αστροκύτταρα και μικρογλοία επιδεικνύουν ένα αντιδραστικό φαινότυπο που χαρακτηρίζεται από υπερτροφία των πυρήνων και επιμήκυνση / επέκταση των διεργασιών (για επισκόπηση, βλέπε [6]).

Εκτός από τις μορφολογικές αλλαγές, η αντιδραστική νευρογλοία παράγει μια ποικιλία μορίων που ενεργοποιούν και συμβάλλουν στην χρόνια φλεγμονή. Ονομάζεται «ο κύκλος κυτοκίνης» [7], που προέρχεται από προφλεγμονώδεις κυτοκίνες της γλοίας, όπως οι ιντερλευκίνες (IL)-1b και IL-6, του παράγοντα νέκρωσης όγκων (TNF) -άλφα, και μετασχηματισμό αυξητικού παράγοντα (TGF) -β, θέτει σε κίνηση ένα φάσμα γεγονότων σηματοδότησης που συνεχώς ανατροφοδοτείται και επηρεάζουν το ένα το άλλο σε νευρολογική ασθένεια και διαταραχή (για επισκοπήσεις, βλέπε [8,9]. Μια τέτοια οδός είναι η επαγωγή του COX-2 σε νευρωνικά και μη-νευρωνικά κύτταρα με επακόλουθη αύξηση των προφλεγμονωδών PGE2 [10]. Οι υποδοχείς για PGE2 (EP1-4) βρέθηκαν σε αστροκύτταρα μικρογλοίας αλλά και σε αριθμό νευρωνικών κυττάρων [10]. Υπό κανονικές συνθήκες, η PGE2 σηματοδότηση τροποποιεί τη συναπτική πλαστικότητα σε πληθυσμούς νευρώνων [11-14] που εμπλέκονται στη μάθηση και τη μνήμη (για ανασκόπηση, δείτε [15]).

Ωστόσο, ακολουθώντας ένα φλεγμονώδες ερέθισμα, η ενεργοποίηση του υποδοχέα EP στα δύο μικρογλοία και νευρώνες φαίνεται να συμβάλει στην προφλεγμονώδη εξέλιξη και νευροτοξικότητα [16,17].

Είναι κρίσιμο να σημειωθεί ότι η αντιδραστική γλοία μπορεί επίσης να δημιουργήσει κυτταρικές βλάβες, συμβάλλοντας στην σχηματισμό δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) (Σχήμα 1). Προ-φλεγμονώδεις κυτοκίνες επάγουν συνθάσης νιτρικού οξειδίου (iNOS) και τη δραστηριότητα της COX-2 σε αστροκύτταρα, οδηγώντας σε αύξηση σχηματισμού των ελεύθερων ριζών και το οξειδωτικό στρες σε διάφορες νευροεκφυλιστικές καταστάσεις [18-20]. Εκτός από τις άμεσες βλάβες, οι ROS μπορούν να επηρεάσουν δραματικά την κυτταρική σηματοδότηση, ιδιαίτερα εκείνων που συμμετέχουν στην παραγωγή κυτοκινών και άλλων φλεγμονωδών διαμορφωτών (δηλαδή, PGE2), και να επιταχύνει το θάνατο των νευρώνων.

Μελέτες σε τρωκτικά αναφέρουν πως η χορήγηση ενός φλεγμονώδους παράγοντα όπως, ο λιποπολυσακχαρίτης (LPS, ενδοτοξίνη των Gram (-) βακτηρίων) και η IL-1, διεγείρει την παραγωγή κυτταροκινών και ενεργοποιεί τον φλοιοεπινεφριδιακό άξονα υποθαλάμου - υπόφυσης (HPA), όπως προκύπτει και από τα αυξημένα επίπεδα της φλοιοεπινεφριδιοτρόπου ορμόνης (ACTH) και της κορτικοστερόνης στο πλάσμα [21-23]. Επιπλέον, η χορήγηση του LPS ή της IL-1 προκαλεί αξιοσημείωτες αλλαγές στη συμπεριφορά των τρωκτικών που θυμίζουν τη λεγόμενη «sickness behaviour» όπως η ανύψωση του τριχώματος, η μαζεμένη στάση του σώματος, η μειωμένη λήψη τροφής και η άνοδος της θερμοκρασίας του σώματος [24].

Σε επίπεδο Κ.Ν.Σ., παραμένουν ακόμη ανεξερεύνητα τα νευρικά κυκλώματα που εμπλέκονται στην επεξεργασία των νευρικών σημάτων από το ανοσοποιητικό σύστημα. Μέχρι τώρα η πλειονότητα των μελετών εστιάζονταν στον υποθάλαμο προκειμένου να αναγνωρισθούν τα νευρικά κυκλώματα που ενεργοποιούνται μετά από τη χορήγηση του LPS ή της IL-1 και τα οποία συμμετέχουν στη νευροενδοκρινή και αυτόνομη ρύθμιση. Το βέβαιο είναι ότι το αποτέλεσμα όλων σχεδόν των μελετών έδειξε πως η χορήγηση του LPS ή της IL-1 ανεξάρτητα από την οδό χορήγησης και την πειραματική διαδικασία που ακολουθήθηκε, προκαλεί αυξημένο ρυθμό ανακύκλισης της νοραδρεναλίνης (NA) στον υποθάλαμο [25-30]. Ωστόσο, πολλοί ερευνητές υποστηρίζουν την άποψη ότι οι νευροενδοκρινικές, οι αυτόνομες (π.χ. οι εμπύρετες καταστάσεις) και οι συμπεριφερικές μεταβολές που προκαλεί η διέγερση του ανοσοποιητικού συστήματος μπορούν να θεωρηθούν ως μία προσαρμοστική απάντηση του οργανισμού προκειμένου να ανακτήσει την ομοιοστασία του [23,31-33].

Στο ερευνητικό πεδίο υπάρχουν διάφορες πειραματικές δοκιμασίες που χρησιμοποιούνται ως μοντέλα πρόκλησης οξείας φλεγμονής σε επίμυες εκ των οποίων τα πιο συνηθισμένα είναι:

1) Η πρόκληση πυρετού με τη χορήγηση ενδοτοξίνης. Συνήθως, χρησιμοποιείται ένας λιποπολυσακχαρίτης (LPS) που παράγεται από Gram (-) βακτήρια. Η ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση του LPS (0.35 μg/kg, b.w. i.p.) σε επίμυες προκαλεί αύξηση της θερμοκρασίας του σώματος κατά 2.3 ± 0.11 °C και παρατηρείται μετά το πέρας των τριών ωρών από τη χορήγηση [34]. Η άνοδος της

θερμοκρασίας του σώματος μετρείται με τη βοήθεια ψηφιακού κωλοορθικού θερμομέτρου. Το συγκεκριμένο μοντέλο φλεγμονής χαρακτηρίζεται από δραματική αύξηση των μεταβολικών προϊόντων του αραχιδονικού οξέος (AA) και χρησιμοποιείται στον έλεγχο της αντιπυρετικής δράσης των υποψήφιων ΜΣΑΦ [35]. Το ίδιο μοντέλο χρησιμοποιήθηκε και στην παρούσα εργασία προκειμένου να εγκατασταθεί μια περιφερική φλεγμονή στον οργανισμό των πειραματόζων.

2) Η πρόκληση οιδήματος στο πόδι του επίμου μετά από χορήγηση караγεννάνης [34,36]. Είναι ένα κλασικό μοντέλο για τον σχηματισμό οιδήματος κατά το οποίο παρατηρείται ενεργοποίηση του μεταβολισμού του AA και επακόλουθη αύξηση των ενδιάμεσων προϊόντων όπως οι προσταγλανδίνες και οι θρομβοξάνες. Η χορήγηση του διαλύματος της караγεννάνης γίνεται απ' ευθείας στο πέλμα του οπίσθιου αριστερού ποδιού του πειραματόζωου και το αποτέλεσμα της είναι η αύξηση του όγκου του ποδιού. Ο όγκος του ποδιού του επίμου μετράται πριν και τρεις ώρες μετά τη χορήγηση της караγεννάνης και από τη διαφορά των μετρήσεων υπολογίζεται η αύξηση του όγκου που προκάλεσε η караγεννάνη. Ακριβέστερα όμως αποτελέσματα λαμβάνονται με την τεχνική της ραδιογραφίας με την οποία επιτυγχάνεται η ανάλυση με ακτίνες-X των αλλαγών που προκάλεσε η караγεννάνη στο πόδι του επίμου. Οι μεταβολές αυτές στη συνέχεια βαθμολογούνται ανάλογα με το είδος και την ένταση τους και λαμβάνουν τιμές από 0 έως 4, ενώ η μέγιστη τιμή της βλάβης που προκάλεσε η караγεννάνη δεν ξεπερνά την τιμή 26. Η δοκιμασία αυτή χρησιμοποιείται στον έλεγχο των φαρμάκων ως προς την αντιφλεγμονώδη δράση τους [35].

1.3 ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΕΣ ΚΑΙ ΚΕΝΤΡΙΚΕΣ ΚΥΤΟΚΙΝΕΣ ΚΑΙ ΝΕΥΡΟΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΑ ΚΥΚΛΩΜΑΤΑ

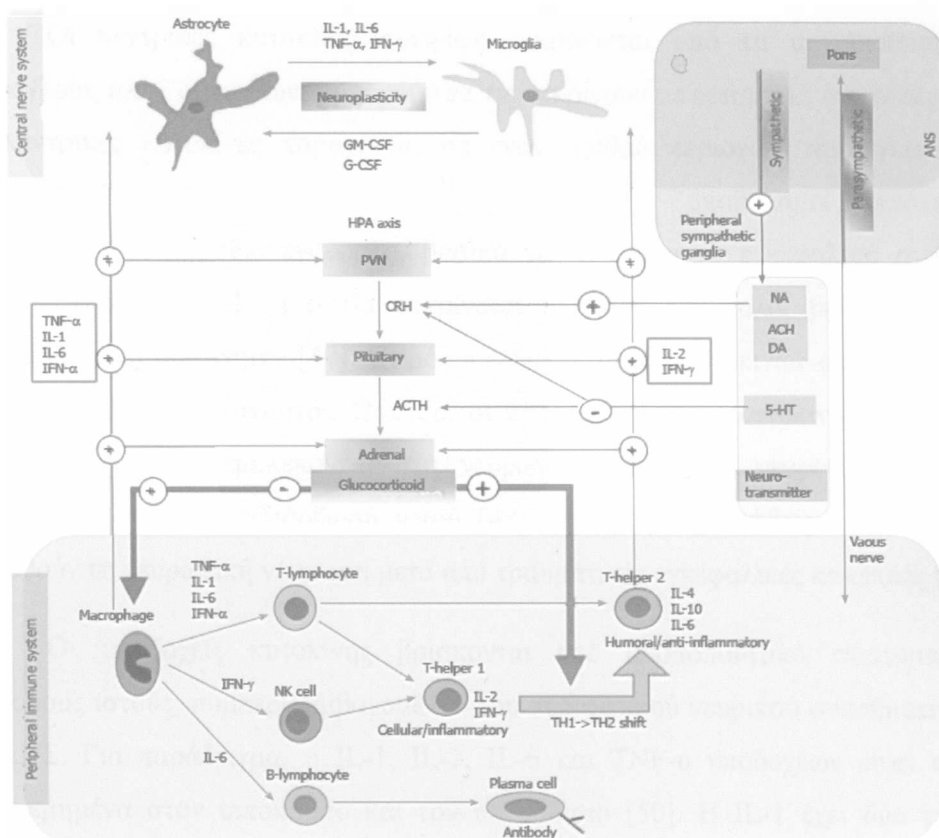
Οι κυτοκίνες μεσολαβούν στη σηματοδότηση μεταξύ των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος. Αυτές ενεργοποιούν ή αναστέλλουν άλλα κύτταρα του ανοσοποιητικού, τα οποία οδηγούν σε ένα πολύπλοκο κύκλωμα. Οι κυτοκίνες δρουν στην κυτταρική μεμβράνη υποδοχέων όπως νευροδιαβιβαστές ή ενδοκυττάρους υποδοχείς όπως οι ορμόνες για τη μετάδοση πληροφοριών σε κύτταρα. Εκκρίνονται κυρίως από μονοκύτταρα (ή μακροφάγα) ή λεμφοκύτταρα, καθώς και από εγκεφαλικά κύτταρα, όπως νευρώνες, ενδοθηλιακά κύτταρα, αστροκύτταρα και μικρογλοία. Οι κυτοκίνες χωρίζονται σε διάφορους τύπους, συμπεριλαμβανομένων ιντερλευκίνες (ILs), χημειοκίνες, παράγοντες νέκρωσης όγκου (TNFs), ιντερφερόνες (IFNs), και μετασχηματισμό αυξητικών παραγόντων (TGFs).

Οι προφλεγμονώδεις κυταροκίνες περιλαμβάνουν IL-1, IL-2, IL-6, IFN - γ , και TNF- α . Οι αντι-φλεγμονώδεις κυτοκίνες περιλαμβάνουν IL-4, IL-10, IL-11, IL-13, και TGF- β [37]. Οι προφλεγμονώδεις κυτοκίνες ενεργοποιούν την κυκλοοξυγενάση-2 (COX-2), αυξάνουν τα επίπεδα της προσταγλανδίνης E2 (PGE2), ενεργοποιούν φλεγμονώδη κύτταρα και επάγουν (προκαλούν) φλεγμονώδεις αντιδράσεις. Αυτές αλληλεπιδρούν μεταξύ τους για τη διατήρηση ισορροπίας. Για παράδειγμα, η IL-10 μειώνει την παραγωγή TNF και ο ανταγωνιστής υποδοχέα IL-1 (IL-1 ra) ανταγωνίζεται την IL-1 υποδοχέα.

Στη χρόνια φλεγμονή, οι προφλεγμονώδεις κυτοκίνες αυξάνονται και οι αντι-φλεγμονώδεις κυτοκίνες μειώνονται, με αποτέλεσμα την έναρξη διάφορων ασθενειών [38]. Η παραγωγή περιφερικών κυτοκινών που εκκρίνονται από μονοκύτταρα ή μακροφάγα προσδιορίζονται από το επίπεδο της ανοσολογικής δραστηριότητας. Σε παθολογικές καταστάσεις, όπως οξεία ή χρόνια φλεγμονή ή βλάβη των ιστών, η λειτουργία του ανοσοποιητικού και τα μακροφάγα ενεργοποιούνται για να αυξήσουν τα επίπεδα προφλεγμονωδών κυτοκινών. Η κορτιζόλη εκκρίνεται από το φλοιό των επινεφριδίων, ως αποτέλεσμα της ενεργοποίησης του άξονα ΥΥΕ που είναι το πιο σημαντικό στην παραγωγή περιφερειακών κυτοκινών. Όταν τα επίπεδα της κορτιζόλης είναι χαμηλά, η παραγωγή των προφλεγμονωδών κυτοκινών αυξάνεται, ενώ η παραγωγή τους αναστέλλεται όταν τα επίπεδα κορτιζόλης είναι υψηλά [39].

Οι νευροδιαβιβαστές ρυθμίζουν τις περιφερικές κυτταροκίνες μέσω των επιπέδων κορτιζόλης. Για παράδειγμα, ακετυλοχολίνη (ACh), ντοπαμίνη (DA), και νοραδρεναλίνη (NA) προάγουν την έκκριση της ορμόνης CRH στον υποθάλαμο, και η σεροτονίνη (5-HT) αναστέλλει την έκκριση της CRH στον υποθάλαμο και η φλοιοεπινεφριδιοτρόπος ορμόνης (ACTH) στην υπόφυση [40].

Επιπλέον, το αυτόνομο νευρικό σύστημα ρυθμίζει τη παραγωγή περιφερειακών κυτοκινών, τα παρασυμπαθητικά νεύρα επηρεάζουν άμεσα το ανοσοποιητικό σύστημα, ενώ τα νεύρα του συμπαθητικού επηρεάζουν το ανοσοποιητικό σύστημα μέσω της έκκρισης NA από τα περιφερειακά συμπαθητικά γάγγλια. Ο πνευμονογαστρικός πυρήνας, ο οποίος βρίσκεται στη γέφυρα του εγκεφάλου, αναστέλλει τις λειτουργίες του ανοσοποιητικού και τη παραγωγή κυτοκινών μέσω της έκκρισης της ACh από το πνευμονογαστρικό νεύρο [41](Σχήμα 1)



Σχήμα 1.

Επειδή οι περιφερικές κυτοκίνες είναι υδρόφιλες και έχουν μεγάλη μοριακή βάρη, είναι σε θέση να περάσουν μέσα από τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό (BBB) στην κανονική τους κατάσταση. Ωστόσο, μπορούν να περάσουν μέσα από το BBB σε παθολογικές καταστάσεις που περιλαμβάνουν αυξημένη BBB διαπερατότητα. Επιπλέον, οι κυτοκίνες είναι επίσης σε θέση να επηρεάσουν το ΚΝΣ μέσω διαμεσολαβητών, όπως το οξείδιο του αζώτου ή προσταγλανδίνες [42,43]. Οι IL-1 υποδοχείς είναι πυκνά κατανομημένοι σε νευρογλοιακά κύτταρα κοντά αρτηριδίων ή το χοριοειδές πλέγμα [44]. Αυτό υποδηλώνει ότι οι υποδοχείς IL-1 στο ΚΝΣ και IL-1 στο περιφερικό αίμα επικοινωνούν ενεργά με το άλλο.

Πρόσθετες οδοί μέσω των οποίων περιφερικές κυτοκίνες μεταδίδουν ανοσοποιητικά σήματα στο ΚΝΣ περιλαμβάνουν παθητική διάχυση μέσω των περικολιακών οργάνων (εγκέφαλος περιοχές που δεν έχουν BBB), ενεργό μεταφορά στο ΚΝΣ, και οδούς νευρικής αγωγιμότητας μέσω του πνευμονογαστρικού νεύρου [39].

Οι κεντρικές κυτοκίνες συνήθως εκκρίνονται από τα αστροκύτταρα ή μικρογλοία, αλλά οι νευρώνες μπορούν να τις εκκρίνουν σε ορισμένες συνθήκες [45]. Οι κεντρικές κυτοκίνες παράγονται σε έναν αριθμό περιοχών του εγκεφάλου, συμπεριλαμβανομένης της περικολιακής περιοχής, υποθάλαμο, ιππόκαμπο, παρεγκεφαλίδα, πρόσθιο εγκέφαλο, βασικά γάγγλια, και το εγκεφαλικό στέλεχος πυρήνες [46]. Η IL-1, η οποία εκκρίνεται από τον εγκέφαλο, βρίσκεται στον υποθάλαμο και ιππόκαμπο [47]. Οι ρόλοι των κεντρικών κυτοκινών στον εγκέφαλο δεν είναι πλήρως κατανοητοί. Ωστόσο, οι προφλεγμονώδεις κυτοκίνες IL-1, IL-6, TNF- α , και IPN- γ εμπλέκονται στη νευρωνική ανάπτυξη, νευροπλαστικότητα, συναπτογένεση, και επιδιόρθωση ιστού [48]. Οι προφλεγμονώδεις κυτοκίνες την προωθούν τη νευρωνική νέκρωση μετά από τραυματικές εγκεφαλικές κακώσεις [49].

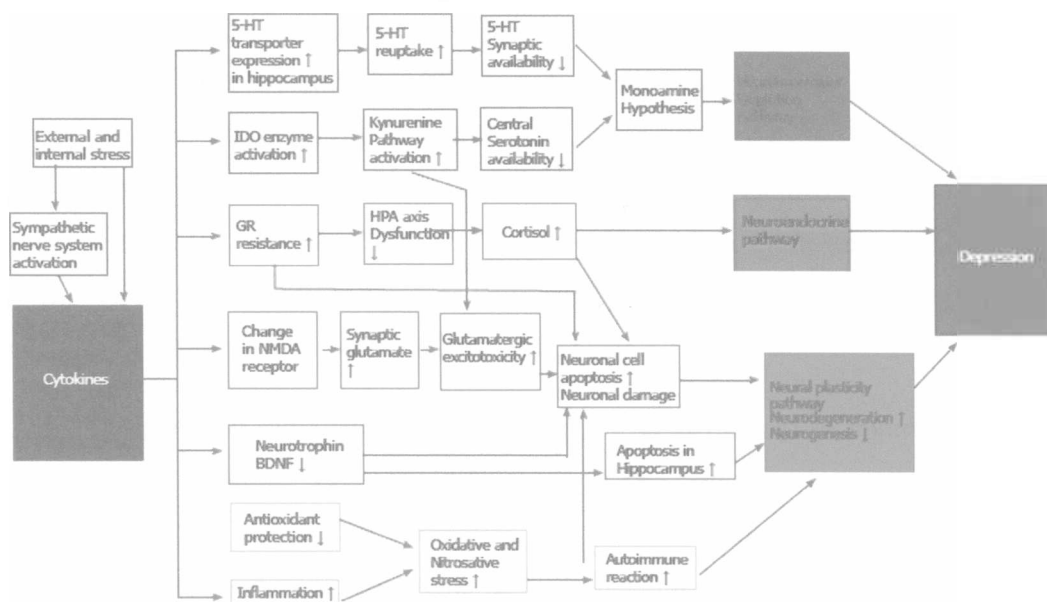
Οι υποδοχείς κυτοκίνης βρίσκονται στο ανοσοποιητικό σύστημα και διάφορους ιστούς, συμπεριλαμβανομένου του περιφερικού νευρικού συστήματος και το ΚΝΣ. Για παράδειγμα, η IL-1, IL-2, IL-6 και TNF- α υποδοχέων είναι πυκνά κατανομημένα στον ιππόκαμπο και τον υποθάλαμο [50]. Η IL-1 έχει δύο τύπους υποδοχέων: Τύπο I και τύπο II. Ο πυρηνικός μεταγραφικός παράγοντας NF- κ B ενεργοποιείται και ενδοκυτταρικά σήματα μπορούν να μεταδίδονται μέσω του υποδοχέα τύπου I. Ένας ρόλος των κυτοκινών σε ειδικές νοητικές λειτουργίες ή / και

ψυχικές παθήσεις έχει προταθεί λόγω των θέσεων των υποδοχέων τους στο ΚΝΣ και όχι λόγω των ειδικών λειτουργιών των κυτοκινών. Οι σημαντικές δομές του ΚΝΣ που επηρεάζονται από τις κεντρικές κυτοκίνες περιλαμβάνουν ιππόκαμπο, προμετωπιαίο φλοιό και υποθάλαμο. Αυτές οι δομές του ΚΝΣ σχετίζονται με τη βιολογικές διεργασίες που υπόκεινται ψυχολογικές αλλαγές [51].

1.3.1 Οι κυταροκίνες στην κατάθλιψη

Σύμφωνα με την υπόθεση κυτοκίνης (Σχήμα 2), το εσωτερικό ή εξωτερικό στρες προκαλεί ανισορροπίες στη κυτοκίνη που παίζουν σημαντικό ρόλο στην έκφραση και τη συνέχεια των καταθλιπτικών συμπτωμάτων σε ευάλωτα άτομα [52]. Ένας αριθμός σημαντικών ευρημάτων της έρευνας υποστηρίζουν την κυτοκίνη υπόθεση.

Πρώτον, η έγχυση κυτοκινών στα ζώα και ανθρώπους προκαλεί συμπτώματα όπως κατάθλιψη. Κατάθλιψη συμβαίνει συχνά σε ασθενείς με ηπατίτιδα C που υποβάλλεται σε INF θεραπεία. Αξίζει να σημειωθεί ότι σε μια μελέτη, το 23% των ασθενών κατά τη διάρκεια της θεραπείας INF πληρούσαν τα διαγνωστικά κριτήρια για μείζονες καταθλιπτικές διαταραχές, σε 74% από αυτά της κατάθλιψης εμφανίστηκαν εντός 2 μηνών μετά την έναρξη της θεραπείας INF [53].



Σχήμα 2.

Τα επίπεδα της IL-6 και TNF- α , τα οποία αυξάνουν μετά τη χορήγηση IFN- α , συνδέονται σημαντικά με τη σοβαρότητα της κατάθλιψης [54]. Πολυμορφισμοί στον μεταφορέα της 5-υδροξυτρυπταμίνης (5-HT) και της IL-6 συμβάλλουν στη κόπωση και τα καταθλιπτικά συμπτώματα που παρατηρούνται μετά τη χορήγηση της IFN- α [55]. Δεύτερον, αυξάνει στα επίπεδα προφλεγμονωδών κυτοκινών, όπως IL-1, IL-6, IL-12, TNF- α , προσταγλανδίνη E2 (PGE2), και αρνητικές ανοσορυθμιστικές κυτοκίνες έχουν παρατηρηθεί σε ασθενείς με κατάθλιψη [56,57]. Τρίτον, κυτοκίνες ενεργοποιούν τη δραστηριότητα στον άξονα HPA και κατεχολαμινών / συμπαθητικού νευρικού συστήματος, δύο βιολογικά συστήματα που συνδέονται στενά με τη παθοφυσιολογία της κατάθλιψης [58]. Οι κυτοκίνες διεγείρουν την απελευθέρωση κορτικοτροπίνης ορμόνης (CRH) και φλοιοεπινεφριδιοτρόπου ορμόνης (ACTH), και ενεργοποιούν τον άξονα HPA [59]. Επιπλέον, οι κυτοκίνες ενεργοποιούν ινδολοαμίνης-2,3-διοξυγενάση (IDO), η οποία καταλύει τον μεταβολισμό του 5-HT πρόδρομο τρυπτοφάνη και κινουρενίνης και αναστέλλει τη σύνθεση 5-HT στον εγκέφαλο [60]. Η προφλεγμονώδης κυτοκίνη, NA, και DA προωθεί την έκκριση CRF, ενεργοποιεί το συμπαθητικό νευρικό σύστημα, και να προωθεί ανοσοποιητικές αντιδράσεις. Κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας, αυξάνει η θερμοκρασία του ΚΝΣ και συμπεριφορές ασθένειας μπορεί να επαχθεί [61].

Συμπεριφορές ασθένειας αναφέρονται σε αλλαγές στη συμπεριφορά που παρατηρήθηκαν κατά τη διάρκεια μιας περιόδου μόλυνσης. Αυτά περιλαμβάνουν τα συναισθήματα της αδυναμίας, καταθλιπτική διάθεση, άγχος, υπερυπνία, απώλεια της όρεξης, και απροσεξία. Με βάση τις διαπιστώσεις ότι οι ασθενείς με κατάθλιψη εμφανίζουν αυξημένα επίπεδα προφλεγμονωδών κυτταροκινών στο πλάσμα [56,57], μειωμένα επίπεδα αντι-φλεγμονωδών κυτοκινών [62], και αύξηση των επιπέδων της PGE2 στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό [63], η κατάθλιψη θεωρείται μια συμπεριφορά ασθένειας.

Τέταρτον, τα αντικαταθλιπτικά βελτιώνουν τα καταθλιπτικά συμπτώματα με αναστολή της έκκρισης κυτοκίνης από κύτταρα του ανοσοποιητικού ή δρουν ως ανταγωνιστές των υποδοχέων κυτοκίνης. Τα αντικαταθλιπτικά αναστέλλουν την έκκριση προφλεγμονώδης κυτοκίνης από μονοκύτταρα ή μακροφάγα, δρουν ως χημειοταξικοί αναστολείς, και αυξάνουν την παραγωγή αντι-φλεγμονωδών κυτταροκινών[64]. Μια μελέτη *in vitro* αναφέρει αντιφλεγμονώδεις αντιδράσεις με θεραπευτικές δόσεις αντικαταθλιπτικών που αφορούν την αναστολή της IFN-g και

αυξημένη παραγωγή IL-10 [65]. Επιπλέον, τα αντικαταθλιπτικά αναστέλλουν σημαντικά την προκαλούμενη από λιποπολυσακχαρίτη παραγωγή της IL-1b, IL-6 και TNF- α , καθώς και η έκκριση της IL-2 και IFN-g σε T κύτταρα [66].

Συνοπτικά, νευροφλεγμονή και κυτοκίνες, επηρεάζουν τα πρότυπα της μετάδοσης του σήματος του εγκεφάλου, είναι σημαντικά στην ψυχοπαθολογία της κατάθλιψης και του μηχανισμού των αντικαταθλιπτικών. Επιπλέον, συνδέονται με την νευρογένεση και νευρική πλαστικότητα στον εγκέφαλο. Έτσι, φλεγμονή των νευρών και κυτοκίνες εμφανίζονται για να προκαλέσουν ή να συνεχίσουν την κατάθλιψη και μπορεί να είναι χρήσιμη για τον καθορισμό της διάγνωσης και την πρόγνωση της κατάθλιψης.

Επιδημιολογικές μελέτες υποστηρίζουν την άποψη ότι αυξημένα επίπεδα της IL-6, IL-1 ra, και η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP) μπορεί να αξιοποιηθούν για την πρόβλεψη της εμφάνισης της κατάθλιψης [67]. Μια πρόσφατη μετα-ανάλυση έδειξε ότι οι δείκτες της φλεγμονής με σχετικά συνεπής αυξήσεις σε ασθενείς με κατάθλιψη είναι IL-6, TNF- α , TNF-b1, IFN, και CRP [34].

1.3.2 Κυταροκίνες, μικρογλοία και νευρογένεση

Οι κυτοκίνες έχουν αναφερθεί για την προώθηση της νευρωνικής διαφοροποίησης και αναδιαμόρφωση στον εγκέφαλο. Αναλόγως, τους ρόλους τους σε νευροεγκευλιστικές ασθένειες παρουσιάζουν ενδιαφέρον.

Οι εγκέφαλοι των ασθενών με χρόνια κατάθλιψη δείχνουν αυξημένη κυτταρική απόπτωση με μειωμένους όγκους του ιππόκαμπου, προμετωπιαίου φλοιού και την αμυγδαλή και αύξηση του όγκου κοιλίας. Οι πιθανότητες για την ανάπτυξη άνοιας αυξάνει ανάλογα σε αυτούς τους ασθενείς, και χρόνιες φλεγμονώδεις αντιδράσεις πιστεύεται ότι εμπλέκονται σε αυτή τη διαδικασία [68]. Προφλεγμονώδεις κυταροκίνες μειώνουν τη νευροπλαστικότητα αυξάνοντας τα επίπεδα του κινολινικού οξέος, το οποίο είναι ένα ισχυρό αγωνιστής του N-μεθυλ-D-ασπαρτικού (NMDA) υποδοχέα [69] (Σχήμα 2).

Το στρες προκαλεί φλεγμονώδεις αντιδράσεις μέσω έκκρισης κυταροκινών. Οι κυτοκίνες εκκρίνονται από τα περιφερικά ανοσοκύτταρα και κεντρικά ανοσοκύτταρα. Το χρόνια στρες ενεργοποιεί τα μικρογλοία του εγκεφάλου, τα οποία εκκρίνουν κυτοκίνες και με τη σειρά τους επηρεάζουν νευρογένεση. Η νευρογένεση

είτε αναστέλεται ή διεγείρεται ανάλογα με το επίπεδο της ενεργοποίησης μικρογλοίας [70]. Αυτό σημαίνει ότι διάφορα μικρογλοία εκτελούν διάφορες λειτουργίες, όπως διέγερση ή αναστολή νευρώνων [70]. Φλεγμονή και κυτοκίνες συνήθως άμεσα αναστέλλουν τη νευρογένεση. Προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες, όπως η TNF-α και INF-α, αναστέλλουν νευρογένεση μέσω IL-1 [71]. Η μείωση της νευρογένεσης εμποδίζεται με αναστολή της δραστηριότητας της IL-1β [72], επιβεβαιώνοντας το σημαντικό ρόλο των κυτοκινών στην αναστολή νευρογένεσης στον εγκέφαλο.

Σε αντίθεση, η χορήγηση των φαρμάκων που αναστέλλουν τη φλεγμονή θα βοηθήσουν να ανακτηθεί ή και να αυξηθεί η νευρογένεση [73]. Συνοπτικά, το χρόνια στρες προάγει την έκκριση κυτοκινών στο περιφερικό αίμα και τα μικρογλοία εγκεφάλου, και κυτοκίνες επηρεάζουν τη νευρογένεση.

1.4 Ο ΕΝΤΟΠΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΚΥΚΛΟΞΥΓΕΝΑΣΗΣ-2 ΣΤΟ Κ.Ν.Σ.

Δεν έχουν περάσει πολλά χρόνια από τότε που το ενδιαφέρον των επιστημών στράφηκε προς τον εντοπισμό της COX-2 στον εγκέφαλο [74-76]. Η κλωνοποίηση της κυκλοξυγενάσης-2 από τον Yamagata και τους συνεργάτες του πραγματοποιήθηκε το 1993 και αποτέλεσε ένα μέρος μιας ευρύτερης στρατηγικής προκειμένου να αναγνωριστούν τα γονίδια εκείνα των οποίων η έκφραση επάγεται μετά από ένα διεγερτικό συναπτικό ερέθισμα. Τεχνικές “in situ” υβριδισμού, αυτοραδιογραφίας, ανοσοαποτύπωσης και διπλής σήμανσης χρησιμοποιήθηκαν για το σκοπό αυτό. Έτσι, στους επίμυες η ανοσοαποτύπωση της COX-2 συνέπεσε με τις περιοχές εκείνες του εγκεφάλου στις οποίες υπάρχει έντονη έκφραση COX-2 mRNA όπως οι νευρώνες του πρόσθιου εγκεφάλου [74,76] και ειδικότερα στο νεοφλοιό, στον ιππόκαμπο, την αμυγδαλή και το μεταιχμιακό φλοιό δηλαδή περιοχές με έντονη ντοπαμινεργική νευρώση. Επιπλέον, η ανοσοδραστικότητα COX-2-ir υπάρχει στον πυρήνα της τρίτης κοιλίας και σε διακριτά κέντρα του εγκεφαλικού στελέχους [75]. COX-2-ir εμφανίζεται στα άκρα των προσεκβολών των δενδριτικών κυττάρων και τις δενδριτικές άκανθες, κυτταρικά τμήματα που μετέχουν στη συναπτική διαβίβαση. Τέλος, COX-2-ir εντοπίζεται κατ’ αποκλειστικότητα σε διεγερτικούς νευρώνες όπως οι γλουταματεργικοί [76]. Το πιο σημαντικό εύρημα όμως είναι η ετερογένεια που εμφανίζεται στην ένταση της χρώσης της COX-2 κατά την ανοσοαποτύπωση ενός πληθυσμού νευρώνων.

Ο τρόπος έκφρασης του αυτού του ενζύμου είναι ίδιος με άλλων νευρικών «πρώιμων άμεσων γονιδίων» (IEGs) [77-79] και σύμφωνα με αυτόν, η έκφραση της COX-2 σε μία δέσμη νευρώνων επάγεται κατά τη φυσιολογική διεγερτική συναπτική δραστηριότητα. Η άποψη αυτή υποστηρίζεται και από το γεγονός ότι η επαγωγή στην έκφραση της COX-2 παύει μετά από επεμβάσεις που έχουν ως αποτέλεσμα τον εκφυλισμό του νεοφλοιού. Αντιστρόφως, η COX-2-ir εκφράζεται ομοιόμορφα στους περισσότερους νευρώνες του φλοιού και του ιπποκάμπου κατά την εφαρμογή ενός διεγερτικού ερεθίσματος όπως του εγκεφαλικού επεισοδίου, ενισχύοντας περισσότερο την άποψη ότι υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της νευρωνικής δραστηριότητας και της έκφρασης της COX-2 [74,76].

Τα δεδομένα που προέκυψαν από την έκφραση του COX-2 mRNA στον εγκέφαλο του επίμου [74] αλλά και του ανθρώπου [80] έδειξαν την COX-2 ως το

Τα δεδομένα που προέκυψαν από την έκφραση του COX-2 mRNA στον εγκέφαλο του επίμου [74] αλλά και του ανθρώπου [80] έδειξαν την COX-2 ως το κυρίαρχο ισοένζυμο. Παρόλο που είναι λίγες οι αναφορές που υπάρχουν σχετικά με την ποσοτική σύγκριση της COX-1 και COX-2 στο ίδιο είδος πειραματόζωου [81] εντούτοις και οι δύο ισομορφές απαντώνται πρωτίστως στους νευρώνες. Αξίζει να σημειωθεί ότι παρατηρήθηκε έκφραση και δραστικότητα της COX-2 και σε άλλα κύτταρα του εγκεφάλου κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες. Για παράδειγμα, η COX-2 επάγεται στα αστροκύτταρα των ποντικών μετά από διέγερση με IL-1β [82] και αυξάνεται η παραγωγή εικοσανοειδών από μικρογλοία επίμυων σε καλλιέργεια γλοίας [83]. Επιπλέον, έκφραση και δραστικότητα COX εντοπίζεται και στα ολιγοδενδροκύτταρα του εγκεφάλου των χοίρων αν και μέχρι σήμερα δεν έχει αναγνωρισθεί αν πρόκειται για την COX-1 ή την COX-2 ισομορφή [84]. Έχει βρεθεί επίσης ότι η έκφραση της COX-2 και η ενζυμική δραστικότητα επάγονται σε κύτταρα μικρογλοίας επίμυων όταν χορηγηθούν αγωνιστές των A2a υποδοχέων της αδενοσίνης [85]. Τέλος, η COX-2 επάγεται στα ενδοθηλιακά κύτταρα του εγκεφάλου κατά την εφαρμογή μοντέλων πρόκλησης πυρετού [86-88].

Σε σχέση με τον εντοπισμό της COX εντός του νευρικού κυττάρου λίγα πράγματα είναι μέχρι σήμερα γνωστά. Και οι δύο ισομορφές της COX σχετίζονται με την εσωτερική επιφάνεια της μεμβράνης του ενδοπλασματικού δικτύου, όπως φαίνεται και από τον εντοπισμό του ενζύμου σε κύτταρα άλλων ιστών [89]. Επιπλέον, η διευθέτηση των COX-2-ir στους δενδρίτες και τις δενδριτικές άκανθες δηλώνει μία μη διάχυτη και στοχευμένη κατανομή της COX-2 όπου τις περισσότερες φορές σχετίζεται με συγκεκριμένα τμήματα της μεμβράνης. Ο επακριβής εντοπισμός της COX-2 μέσα στο νευρικό κύτταρο θα είχε μεγάλο ενδιαφέρον για την κατανόηση των σηματοδοτικών οδών που πυροδοτεί η δράση αυτού του ενζύμου.

Είναι γνωστό ότι οι προσταγλανδίνες και οι θρομβοξάνες που παράγονται από τη δράση της COX-2 συμμετέχουν σ' ένα καταρράκτη σηματοδοτικών οδών αλληλεπιδρώντας με συγκεκριμένους υποδοχείς προσταγλανδινών ορισμένοι από τους οποίους έχουν ήδη κλωνοποιηθεί και έχει καταγραφεί η έκφρασή τους στον εγκέφαλο [90-95]. Οι υποδοχείς των PGs ενδέχεται να κωδικοποιούν μία διαμεμβρανική περιοχή των G πρωτεϊνών [96, 97]. Η γνώση του μηχανισμού και της επίδρασης των PGs στα μονοπάτια σηματοδότησης θα ήταν καθοριστική στην κατανόηση του ρόλου των PGs στη φυσιολογία του νευρικού συστήματος.

1.5 ΟΙ ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ PPAR

Οι υποδοχείς ενεργοποιημένου πολλαπλασιαστικού παράγοντα υπεροξυσωμάτων (Peroxisome Proliferator – Activated Receptor, PPARs) είναι πυρηνικοί υποδοχείς και αποτελούν έναν πολλά υποσχόμενο θεραπευτικό στόχο για πολλές νευροεκφυλιστικές διαταραχές, στις οποίες περιλαμβάνονται η νόσος Parkinson, η νόσος Alzheimer, η νόσος Huntington και η Αμυοτροφική Πλευρική Σκλήρυνση.

Οι PPARs παίζουν ένα σημαντικό ρόλο στην αρνητική ρύθμιση της μιτοχονδριακής δυσλειτουργίας, δυσλειτουργίας του πρωτεασώματος, οξειδωτικό στρες, και νευροφλεγμονή, που είναι οι κύριες αιτίες της παθογένεσης των νευροεκφυλιστικών διαταραχών. Στο κεφάλαιο αυτό, θα παρουσιαστούν στοιχεία για το ρόλο των PPARs ως θεραπευτικοί στόχοι σε νευροεκφυλιστικές διαταραχές. Αρκετές πειραματικές προσεγγίσεις υποδεικνύουν πιθανή εφαρμογή των αγωνιστών των PPAR στην θεραπεία των νευροεκφυλιστικών διαταραχών. Αρκετές επιδημιολογικές μελέτες βρήκαν ότι η συχνή χρήση αγωνιστών των PPAR είναι αποτελεσματική στη μείωση της εξέλιξης νευροεκφυλιστικών ασθενειών, συμπεριλαμβανομένων PD και AD.

Τα λιπαρά οξέα, τα εικοσανοειδή είναι φυσικές ουσίες σύνδεσης με PPAR, αλλά ορισμένα άλλα συνθετικά μόρια όπως θειαζολιδινεδιόνες και φιμπράτες μπορούν επίσης να ενεργοποιήσουν αυτούς τους υποδοχείς [98,99]. Έχει επίσης αναφερθεί ότι διάφορα αντιφλεγμονώδη φάρμακα όπως η ινδομεθακίνη, φενοπροφένη, η ιβουπροφένη ενεργοποιούν επίσης PPAR- α και PPAR- γ [100]. Το συμπέρασμα πολλών εργασιών είναι ότι η αντιφλεγμονώδης δράση αυτών των φαρμάκων προκύπτει από την ικανότητά τους να συνδέονται με τους PPAR, με επακόλουθη ενεργοποίηση αυτών των υποδοχέων [101,102]. Διαφορετικές ισομορφές της PPAR που παράγονται από ένα κοινό γονίδιο PPAR, και η έκφρασή τους εξαρτάται από το είδος των ιστών στους οποίους εκφράζονται. Έτσι, κάθε ισομορφή εκφράζεται σε διαφορετικούς ιστούς όπως και ο PPAR- α που εκφράζεται στο ήπαρ, τους νεφρούς και την καρδιά [99].

Κατά τον ίδιο τρόπο, ο PPAR δ/β εκφράζεται κυρίως στον εγκέφαλο, τον λιπώδη ιστό και την επιδερμίδα, ενώ και ο PPAR γ εκφράζεται σε διάφορους ιστούς

Κατά τον ίδιο τρόπο, ο PPAR δ / β εκφράζεται κυρίως στον εγκέφαλο, τον λιπώδη ιστό και την επιδερμίδα, ενώ και ο PPAR γ εκφράζεται σε διάφορους ιστούς [103]. Βάσει του εντοπισμού τους αυτά τα γονίδια είναι υπεύθυνα για την εκτέλεση των λειτουργιών τους σε αντίστοιχες θέσεις [104]. Ο PPAR- α προάγει την χρησιμοποίηση και τον καταβολισμό των λιπαρών οξέων με ενεργοποίηση των γονιδίων, που εμπλέκονται στην μεταφορά λιπαρών οξέων και υπερόξυ σωματίων και της μιτοχονδριακής β -οξειδωσης λιπαρών οξέων [105]. Ο PPAR- α ενεργοποιείται από τα φυσικά λιπαρά οξέα και συνθετικά προσδέματα (μόρια) περιλαμβανομένων των φιβρατών, τα οποία χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία της υπερλιπιδαιμίας αλλά και τη ρύθμιση του μεταβολισμού λιπιδίων και απολιποπρωτεϊνών [106]. Ο PPAR γ εμπλέκεται στο μεταβολισμό της γλυκόζης και τη ρύθμιση της αποθήκευσης των λιπαρών οξέων και των λιποκυττάρων, της διαφοροποίησης (λιπογένεση), την ευαισθησία στην ινσουλίνη και την ανάπτυξη των κυττάρων [107]. Ο PPAR γ ενεργοποιείται από διάφορους φυσικούς συνδέτες, καθώς και τα συνθετικά προσδέματα τύπου γλιταζόνης. Ο PPAR β / δ είναι υπεύθυνος για τη ρύθμιση του μεταβολισμού λιπιδίων και γλυκόζης [108]. Οι φλεγμονώδεις οδοί είναι κοινές για όλες τις τρεις PPAR ισομορφές [109].

Οι PPARs με άλλους πυρηνικούς υποδοχείς ρυθμίζουν τις μεταγραφικές δραστηριότητες αρκετών παραγόντων μεταγραφής, συμπεριλαμβανομένων πυρηνικών παραγόντων (NF-kB), οι οποίοι εμπλέκονται σε φλεγμονώδεις αποκρίσεις. Αυτό συνεπάγεται ρύθμιση των παραγόντων μεταγραφής, όπως οι μετατροπείς σήματος και ενεργοποιητές μεταγραφής, όπως STAT, ATF-4, ATF-1, και τις μεταβολές των εκφράσεων των φλεγμονωδών μορίων όπως της κυκλοοξυγενάσης-2 (COX-2) και της συνθάσης του νιτρικού οξειδίου [110,111]. Οι PPARs ρυθμίζουν τη φλεγμονώδη πορεία από αρκετούς μηχανισμούς. Αλληλεπιδρούν επίσης με διάφορους άλλους παράγοντες μεταγραφής αναστέλλοντας έτσι την δραστικότητα δέσμευσης DNA του NF-kB [112,113]. Μέχρι σήμερα, πολύ δουλειά έχει γίνει σχετικά με τη δράση των PPARs στη λειτουργία των μιτοχονδρίων. Ο αγωνιστής του PPAR γ πιογλιταζόνη αυξάνει την κατανάλωση οξυγόνου, το μιτοχονδριακό DNA περιεχόμενα και επάγει την έκφραση των διαφόρων παραγόντων που εμπλέκονται στην βιογένεση των μιτοχονδρίων, όπως παράγοντες μεταγραφής A (Tfam) σε διάφορους ιστούς [114].

Ένας άλλος αγωνιστής, όπως η ροσιγλιταζόνη (θειαζολιδινεδιόνη) ενεργοποιεί τη μιτοχονδριακή βιογένεση και την πρόσληψη γλυκόζης στον εγκέφαλο [115]. Αυτά τα φάρμακα αυξάνουν επίσης το δυναμικό μιτοχονδριακής μεμβράνης και την πρόληψη του κυτταρικού θανάτου. Οι PPAR ισομορφές είναι υπεύθυνες για τη διατήρηση της ομοιοστατικής ενέργειας από πρόσληψη λιπιδίων, τη διατήρηση του μεταβολισμού στα κύτταρα μέσω ρύθμισης μιτοχονδριακών λειτουργιών, την επούλωση των πληγών, του μεταβολισμού των λιπιδίων, του μεταβολισμού της γλυκόζης και της φλεγμονής [116,117]. Οι PPARs ασκούν επίσης αξιοσημείωτα προστατευτική επίδραση επί του διαβήτη τύπου II [118], καρκίνο, όγκους, εγκεφαλικό επεισόδιο, σύνδρομο λιπώδους ήπατος [119,120], και καρδιαγγειακών παθήσεων [121]. Αρκετές μελέτες πρότειναν την έκφραση PPAR στα κύτταρα του εγκεφάλου, όπως νευρώνες και γλοία, σαν τον μηχανισμό νευροπροστασίας σε νευροεκφυλιστικές διαταραχές [101,122,123].

Οι αγωνιστές των PPAR όπως ροσιγλιταζόνη και πιογλιταζόνη εμπλέκονται στην πρόληψη από νευρωνική βλάβη, φλεγμονή, απώλεια μυελίνης και νευροπαθητικό πόνο [124]. Χρησιμοποιούν ως θεραπευτικά μέσα για την πρόληψη των νευροεκφυλιστικών διαταραχών [125,126]. Πρόσφατες μελέτες έχουν παράσχει επίσης αποδεικτικά στοιχεία ότι PPAR αγωνιστές είναι νευροπροστατευτικοί και αυξάνουν τη λειτουργία των μιτοχονδρίων. Περαιτέρω, είναι γνωστός ο ρόλος των παραγόντων που ρυθμίζουν τη μιτοχονδριακή συντήρηση, και θεραπευτικές στρατηγικές που μπορεί να ενισχύσουν την μιτοχονδριακή βιογενή απόκριση και μπορεί να έχουν δυνητικές θεραπευτικές εφαρμογές στην αντιμετώπιση νευροεκφυλιστικών διαταραχών.

Στα επόμενα κεφάλαια παρουσιάζονται μελέτες που σχετίζονται με τις νευροπροστατευτικές επιδράσεις των αγωνιστών των PPAR σε διάφορες νευροεκφυλιστικές διαταραχές όπως η νόσος του Πάρκινσον (PD), αμυοτροφική πλευρική σκλήρυνση (ALS), νόσος του Alzheimer (AD), και η νόσος του Huntington (HD).

1.6 ΠΑΘΟΓΕΝΕΣΗ ΝΕΥΡΟΕΚΦΥΛΙΣΤΙΚΩΝ ΠΑΘΗΣΕΩΝ

Οι νευροεκφυλιστικές διαταραχές είναι ανίατες, προοδευτικές και πολυσυστηματικές ασθένειες που χαρακτηρίζονται από μεταγραφική απορύθμιση, μιτοχονδριακή δυσλειτουργία και μεταβολές στο μεταβολισμό της ενέργειας [127,128]. Καθίσταται ολοένα και πιο προφανές ότι μιτοχονδριακές ανωμαλίες οδηγούν στην παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) οι οποίες δρουν ως σημαντικοί παράγοντες για την εμφάνιση, την εξέλιξη και τον επιλεκτικό νευρωνικό κυτταρικό θάνατο που σχετίζονται με νευροεκφυλιστικές διαταραχές (AD, PD, HD, και ALS). Οξειδωτικό στρες, φλεγμονή των νεύρων [129], δυσλειτουργίες του πρωτεασώματος [130,131] και μιτοχονδριακές δυσλειτουργίες [132] είναι μερικοί από τους βασικούς παράγοντες που εμπλέκονται σε κυτταρικό θάνατο στις νευροεκφυλιστικές παθήσεις.

Η νευρο-φλεγμονή παίζει έναν πολύ σημαντικό ρόλο στην παθογένεση νευροεκφυλιστικών διαταραχών [133]. Αρκετές πρόσφατες μελέτες έδειξαν το ρόλο της φλεγμονής στην έναρξη όσο και την εξέλιξη των νευροεκφυλιστικών διαταραχών [134]. Στην PD, η ενεργοποιημένη μικρογλοία επηρεάζει τη δραστηριότητα των ντοπαμινεργικών νευρώνων στη μέλαινα ουσία [135]. Με την εξέλιξη της νόσου, γειτονικά κύτταρα επίσης διαταράσσονται και προκαλούν το θάνατο διαφόρων άλλων κυττάρων του εγκεφάλου. Ο ακριβής μηχανισμός πίσω από την νευροφλεγμονή δεν είναι ακόμη πολύ σαφές, ωστόσο, αρκετές μελέτες προτείνουν το ρόλο των φλεγμονωδών μεσολαβητών στην εξέλιξη της νόσου [136]. Σε AD, η φλεγμονή των νεύρων έχει θεωρηθεί ως η πιο κοινή αιτία άνοιας [137]. Εκτός αυτού, η νευροφλεγμονή επηρεάζει επίσης τη δημιουργία νέων νευρώνων στον εγκέφαλο [138]. Αρκετά φλεγμονώδη μόρια βρέθηκαν στις γεροντικές πλάκες στον εγκέφαλο των ασθενών με AD. [139].

Έχει αναφερθεί ότι υπάρχει σημαντική αύξηση των επιπέδων της νευροφλεγμονής που οδηγεί σε παραγωγή μεσολαβητών σε διάφορες περιοχές του εγκεφάλου [140]. Σε μελέτη μεταανάλυσης δειγμάτων ασθενών HD, υπήρξε μια αύξηση στα επίπεδα της IL-6, IL-8, και MMP9 σε διάφορες περιοχές του εγκεφάλου [141]. Ομοίως, σε ALS υπάρχει μια επιλεκτική απώλεια των άνω και κάτω κινητικών νευρώνων, η οποία αποδίδεται σε ενεργοποίηση μικρογλοίας, αστρογλοιομάτωση και

δραστηριοποίηση μονοκυττάρων και T-κυττάρων [142]. Διάφορες ανοσολογικές αποκρίσεις συμμετέχουν στην εξέλιξη της νόσου [143]. Αρκετές θεραπευτικές προσεγγίσεις μπορούν να σχεδιαστούν προκειμένου να αμβλύνουν τις επιβλαβείς επιδράσεις της φλεγμονής των νεύρων σε διάφορες νευροεκφυλιστικές παθήσεις.

1.7 ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ PPAR ΚΑΙ PARKINSON (PD)

Είναι γνωστό ότι ο εκφυλισμός των ντοπαμινεργικών νευρώνων οφείλεται στο σχηματισμό ROS που οδηγεί σε οξειδωτική βλάβη, ενεργοποίηση μικρογλοίας, εκδήλωση νευροφλεγμονής και μιτοχονδριακή δυσλειτουργία, η οποία οδηγεί τελικά στην ενεργοποίηση των οδών κυτταρικού θανάτου, δηλαδή απόπτωση και νέκρωση. Έτσι, ο έλεγχος του οξειδωτικού στρες και της μιτοχονδριακής δυσλειτουργίας μπορεί να βοηθήσει στον έλεγχο νευροεκφυλισμού σε PD [144]. Αρκετές μελέτες υποδεικνύουν δυνητικές νευροπροστατευτικές επιδράσεις των αγωνιστών PPAR *in vitro* και *in vivo* [145-153].

Η πιογλιταζόνη, αγωνιστής των PPAR γ , προστατεύει κυτταρικά σώματα των ντοπαμινεργικών νευρώνων στη μέλαινα ουσία και τους τερματικούς σταθμούς στις περιοχές του ραβδωτού σώματος [154]. Χορήγηση της πιογλιταζόνης από του στόματος, πριν από την αγωγή με MPTP (15 mg / kg *i.p.*), σταματά τον εγκεφαλικό νευροεκφυλισμό και αποτρέπει την απώλεια ντοπαμινεργικών κυττάρων στην περιοχή μέλαινα ουσίας [155]. Παρατηρήθηκε επίσης σε μια άλλη μελέτη ότι η προστατευτική επίδραση πιογλιταζόνης έναντι MPTP προκαλεί νευροτοξικότητα [156]. Η πιογλιταζόνη δρα κατά MPTP προκαλώντας νευροτοξικότητα, αναστέλλοντας τη μετατροπή της MPTP προς MPP β μέσω της αναστολής της δραστηριότητας της μονοάμινο οξειδάσης-B [157]. Η πιογλιταζόνη επιβραδύνει επίσης την ενεργοποίηση των μικρογλοϊακών κυττάρων, μειώνει τα επίπεδα φλεγμονωδών μεσολαβητών, την έκφραση νιτροτυροσίνης στους ντοπαμινεργικούς νευρώνες και μειώνει σημαντικά τον αριθμό των ενεργοποιημένων αστροκυττάρων στο ραβδωτό σώμα και της μέλαινας ουσίας σε περιοχές του εγκεφάλου [158]. Πολλές άλλες μελέτες υποστηρίζουν επίσης τις αντιφλεγμονώδεις και αντι-αποπτωτικών δράσεις της πιογλιταζόνης [159,160]. Η πιογλιταζόνη βρέθηκε να είναι νευροπροστατευτική έναντι ενδοραβδωτή έγχυση λιποπολυσακχαρίτη (LPS) που προκαλεί φλεγμονή και ντοπαμινεργικό νευροεκφυλισμό, στον εγκέφαλο του αρουραίου.

Σε άλλη μελέτη, η πιογλιταζόνη αναστέλλει την ενεργοποίησης μικρογλοίας και τη φλεγμονή των νεύρων που προκαλεί το LPS [161]. Η πιογλιταζόνη προκαλεί μείωση της οξειδωτικής βλάβης και επαναφέρει το μιτοχονδριακό δυναμικό και τη δραστηριότητα ντοπαμινεργικών νευρώνων στον εγκέφαλο [161]. Η πιογλιταζόνη προστατεύει ντοπαμινεργικούς νευρώνες από την ενεργοποιημένη από το LPS, COX-2 και προσταγλανδίνη E2, διακόπτοντας άλλες οδούς σηματοδότησης, όπως το μονοπάτι της Jun N-τερματικής κινάσης, η οποία εμπλέκεται στην αναστολή της COX-2 έκφρασης [162]. Η ροσιγλιταζόνη, ένας άλλος αγωνιστής του PPAR γ , είναι νευροπροστατευτικός έναντι MPTP επάγοντας την έκφραση του PPAR γ στα κύτταρα του εγκεφάλου [157]. Η ενεργοποίηση του υποδοχέα PPAR γ με τη χρήση της ροσιγλιταζόνης αντιστρέφει τη μιτοχονδριακή δυσλειτουργία [163]. Η MPTP μειώνει τα επίπεδα της ντοπαμίνης στο ραβδωτό σώμα και στη περιοχή μέλαινα ουσία, οι οποίες προστατεύονται από τη ροσιγλιταζόνη σε μοντέλο PD [164]. Η ροσιγλιταζόνη βρέθηκε επίσης να προστατεύει τα κύτταρα νευροβλαστώματος έναντι ακεταλδεϋδης, η οποία είναι ένας αναστολέας των μιτοχονδριακών λειτουργιών [165,166]. Η ροσιγλιταζόνη επάγει την έκφραση των αντιοξειδωτικών ενζύμων και ακόμη ρυθμίζει την έκφραση των αποπτωτικών παραγόντων, έτσι αντιστρέφει την δράση της ακεταλδεϋδης επί νευρωνικών κυττάρων [167].

Η ροσιγλιταζόνη αναφέρεται επίσης στην προστασία των ανθρώπινων κυττάρων νευροβλαστώματος έναντι MPP β , η οποία προκαλεί μιτοχονδριακή δυσλειτουργία και οξειδωτικό στρες [168]. Αυτές οι μελέτες υποστηρίζουν σθεναρά την υπόθεση ότι εκτός από αντιφλεγμονώδη δράση των αγωνιστών PPAR βοηθούν επίσης στη νευροπροστασία με τη ρύθμιση της έκφρασης των αντιοξειδωτικών ενζύμων και με τη διατήρηση της ισορροπίας μεταξύ της έκφρασης προ-αποπτωτικών και αντι-αποπτωτικών γονιδίων [167]. Η PPAR δ ισομορφή βρίσκεται πιο άφθονα στην περιοχή υποθάλαμο και εμπλέκεται στην διατήρηση της ομοιόστασης του εγκεφάλου. Ο PPAR δ προστατεύει από την ανάπτυξη παχυσαρκίας λόγω δίαιτας με τη μείωση της φλεγμονής [169]. Ο PPAR δ αναφέρεται επίσης ως ισχυρός ρυθμιστής των αντι-φλεγμονωδών αποκρίσεων. Ρυθμίζει τις φλεγμονώδεις αποκρίσεις που προκαλείται από ακτινοβολία στα μικρογλοιακά κύτταρα, τα οποία εμπλέκονται στις φλεγμονώδεις αποκρίσεις [170].

Ο αγωνιστής του PPAR δ , L-165041, διασώζει μικρογλοιακά κύτταρα ποντικού από βλάβες που προκαλούνται λόγω ακτινοβολίας, όπως αύξηση του

οξειδωτικού στρες, COX-2 και MCP-1, και αύξηση στα επίπεδα των διαφόρων κυτοκινών και φλεγμονωδών μεσολαβητών [171]. Ο PPARδ αναστέλλει την NF-kB αλληλεπιδρώντας με την υπομονάδα p65 και αποφεύγοντας την ενεργοποίηση της οδού PKAο / MEK1 / 2 / ERK1 / 2 / AP-1. Οι ανωτέρω μελέτες υποστηρίζουν ότι η ενεργοποίηση του PPARδ μπορεί να τροποποιήσει οξειδωτικές βλάβες και φλεγμονώδεις αποκρίσεις σε μικρογλοιακά κύτταρα [172]. Οι αγωνιστές του PPAR L-165041 και GW-501516 προστατεύουν τα κύτταρα SH-SY5Y νευροβλαστώματος από MPPβ απόπτωση που διαμεσολαβείται από την αναστολή της ενεργοποίησης της κασπάσης-3 [173]. Αυτές οι αγωνιστές προστατεύουν επίσης από MPTP-προκαλούμενη μείωση των επιπέδων της ντοπαμίνης και των μεταβολιτών της στην περιοχή ραβδωτό σώμα του εγκεφάλου [173]. Ένας άλλος PPARδ αγωνιστής (GW0742) χρησιμεύει για να είναι προστατευτικός στην κάκωση νωτιαίου μυελού [174,175]. Ο αγωνιστής PPARδ αποτρέπει βλάβη του νωτιαίου μυελού με τη μείωση p38 MAP κινάση, η ενεργοποίηση του NF-kB και έκφραση COX-2 οδηγεί σε μειωμένο κυτταρικό θάνατο [176]. Ο PPAR-g ανταγωνιστής GW-9662 και η ροσιγλιταζόνη αγωνιστής ασκούν νευροπροστατευτική συν-θεραπεία δράση με αναστολή του σχηματισμού MPPβ και επίσης με αναστολή της παραγωγής ROS [177]. Επιπτώσεις πολλών άλλων αγωνιστών του PPAR-ένα, όπως φαινοφιβράτη και βεζαφιβράτη εξετάστηκαν σε μοντέλα MPTP ποντίκι του ΠΔ [178]. Διαπιστώθηκε ότι η φenoφιβράτη προστατεύει τους ντοπαμινεργικούς νευρώνες στη μέλαινα ουσία, και σταματά την απώλεια του υδροξυλάσης της τυροσίνης ανοσοαντιδραστικότητας στο ραβδωτό σώμα του εγκεφάλου [178]. Από την άλλη πλευρά, η βεζαφιβράτη δεν έδειξε καμία σημαντική νευροπροστατευτική δράση, η οποία οφείλεται στη διαφορά της δόσης της βεζαφιβράτης η οποία ήταν 10 φορές χαμηλότερη από τη φenoφιβράτη [178].

Πολλά φάρμακα, όπως η ινδομεθακίνη, η ναπροξένη, η φenoπροφένη είναι μερικά από τα πιο συχνά συνταγογραφούμενα μη-στεροειδή αντι-φλεγμονώδη (NSAID), τα οποία δεσμεύονται και ενεργοποιούν PPARα και PPARg [100,101]. Η ιβουπροφαίνη και η ινδομεθακίνη παρέχουν νευροπροστασία έναντι νευροεκφυλιστικών διαταραχών όπως PD [101]. Ήταν πειραματικά δοκιμασμένα ότι η ιβουπροφαίνη σε 0,1 mM και η ακεταμινοφαίνη σε συγκέντρωση 1 mM στις μεσεγκεφαλικές καλλιέργειες μειώνουν τη ντοπαμινεργική νευροτοξικότητα που προκαλείται από MPPβ [179]. Ομοίως, η ινδομεθακίνη προστατεύει επίσης έναντι

MPTP μεσολάβηση νευροτοξικότητα με μείωση ενεργοποίησης μικρογλοίας και λεμφοκύτταρα διήθησης σε ένα μοντέλο ποντικού PD [180]. Υπάρχουν πολλά άλλα φάρμακα NSAID που δεν εμπλέκονται στην ενεργοποίηση PPAR αλλά παρόλα αυτά παρέχουν νευροπροστασία σε μοντέλα PD MPTP-προκαλούμενη μέσω PPAR ανεξάρτητους μηχανισμούς μειώνουν τις οξειδωτικές βλάβες και NF-κB έκφραση [181]. Έχει παρατηρηθεί ότι είναι πιθανό να υπάρχει μικρότερη πιθανότητα εμφάνισης PD σε άτομα που κάνουν τακτική πρόσληψη αυτών των ΜΣΑΦ σε σύγκριση με εκείνους που δεν είναι χρήστες αυτών των φαρμάκων [181].

1.8 ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ PPAR ΚΑΙ ΑΛΣΧΑΪΜΕΡ (AD)

Αρκετές πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι οι PPARs είναι σε θέση να μειώσουν την επαγόμενη νευροτοξικότητα Ab [182]. Οι PPARs ρυθμίζουν την φυσιολογική λειτουργία του αιματοεγκεφαλικού φραγμού (BBB) και κάτω από παθολογικές καταστάσεις στην AD, οι PPARs αποκαθιστούν την εξασθενημένη λειτουργία BBB σε τέτοιους ασθενείς [183]. Ο PPAR γ εξισορροπεί την ενεργειακή κατάσταση στον εγκέφαλο των ασθενών με AD με την διατήρηση των λιπιδίων, των υδατανθράκων και ATP περιεκτικότητα [184]. Ο PPAR γ εκτελεί επίσης την αντι-φλεγμονώδη δράση στον εγκέφαλο των ασθενών με AD [185]. ΜΣΑΦ μπορούν να δεσμευθούν με PPAR γ δικαιολογώντας έτσι τον ρόλο των ΜΣΑΦ στη θεραπεία της AD. Η ενεργοποίηση των PPAR γ οδηγεί στην αναστολή ενεργοποίησης μικρογλοίας και μειωμένη έκφραση ενός ευρέος φάσματος προ-φλεγμονωδών μορίων [186,187]. Ο αγωνιστής των PPAR γ πιογλιταζόνη και ένας νέος εκλεκτικός PPAR α/γ διαμορφωτής, DSP-8658, χρησιμοποιούνται σήμερα σε πολλές κλινικές πρακτικές για τη θεραπεία του διαβήτη τύπου 2 [188]. Οι PPAR γ επάγουν Ab φαγοκυττάρωση που διαμεσολαβείται από την προς τα πάνω ρύθμιση της έκφρασης CD36 υποδοχέα καθαριστή [189].

Η συνδυασμένη θεραπεία με αμφότερα τους αγωνιστές του PPAR γ και τους ρετινοειδείς υποδοχείς X (RXRs) έδειξε πρόσθετη ενίσχυση της μικρογλοιακής πρόσληψης Ab [190]. Αύξηση προκάλεσε η DSP-8658 της μικρογλοιακής φαγοκύττωσης της Ab και μειωμένα επίπεδα Ab στο φλοιό και τον ιππόκαμπο σε πειραματικό μοντέλο ποντικού με AD [191]. Ο αγωνιστής του PPAR γ , ροσιγλιταζόνη, βελτιώνει τη μνήμη και τις γνωστικές λειτουργίες σε ασθενείς με AD [192]. Έτσι, οι PPAR θα μπορούσαν να είναι ένας θεραπευτικός στόχος εναντίον των νευροεκφυλιστικών διαταραχών συμπεριλαμβανομένης της AD [101]. Η απόθεση Ab, ο σχηματισμός νευροϊνδιακών συμπλεγμάτων, και μικρογλοιακά φλεγμονώδεις αποκρίσεις είναι τα χαρακτηριστικά γνωρίσματα της AD [101,188]. Πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι PPAR αγωνιστές είναι σε θέση να αποτρέψουν ενάντια σε Ab νευροτοξικότητα σε νευρώνες του ιππόκαμπου, τη μείωση των ελαττωμάτων μάθησης και μνήμης, σε διάφορο διαγονιδιακά μοντέλο ποντικού της AD [188,193].

Έχει επίσης παρατηρηθεί ότι PPAR-γ αγωνιστές διαδραματίζουν αποτελεσματικό ρόλο στην καταστολή της φλεγμονώδους έκφρασης γονιδίων και προκαλούν αυξημένη μικρογλοίας μεσολάβηση Ab φαγοκυττάρωση [194]. Η αγωγή ποντικών με DSP-8658 έδειξαν εντυπωσιακά αυξημένη χωρική μάθηση και απόδοση της μνήμης [188]. Παρόμοιες παρατηρήσεις έγιναν επίσης, όπου η θεραπεία με ροσιγλιταζόνη σε Tg2576 μοντέλο AD ποντίκι προκάλεσε βελτίωση στον ιππόκαμπο που εξαρτώνται από τη μάθηση και τη μνήμη των επιδόσεων [195]. Ομοίως, 9 ημερών σύντομη θεραπεία από του στόματος της πιογλιταζόνης σε ποντικούς APP^{swe} / PS1^{De9} οδήγησε επίσης σε σημαντική μείωση των επιπέδων του εγκεφάλου του διαλυτού και αδιάλυτου Ab εντός της περιοχής φλοιού [196]. Η αγωγή πιογλιταζόνης οδήγησε σε αλλοιώσεις της φαινοτυπικής έκφρασης μικρογλοίας κυττάρων από μία προ-φλεγμονώδη κατάσταση M1. Σε μια αντιφλεγμονώδη κατάσταση M2 η οποία συνδέεται με αυξημένη φαγοκυττάρωση των αποθέσεων αμυλοειδούς μορφής. Πρόσφατα, ένας εκλεκτικός PPAR γ astragaloside φυσικός αγωνιστής βρέθηκε να μειώσει την παραγωγή του Ab σε AD από την αναστολή της BACE1 [197]. Αυτά τα δεδομένα παρέχουν μια μηχανιστική εξήγηση για το πώς η ενεργοποίηση του PPAR γ διευκολύνει την κάθαρση του αμυλοειδούς και υποστηρίζει την θεραπευτική χρησιμότητα των αγωνιστών των PPAR γ για τη θεραπεία της AD [126,194,198-201].

1.9 ΡΟΣΙΓΛΙΤΑΖΟΝΗ

Η Ροσιγλιταζόνη, ένας ισχυρός αγωνιστής (ενεργοποιητής) του υποδοχέα PPAR γ , έχει αποδειχθεί ότι προσδίδει νευροπροστατευτικές επιδράσεις σε αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο και κάκωση του νωτιαίου μυελού, αλλά ο ρόλος του στην τραυματική εγκεφαλική βλάβη (traumatic brain injury:TBI) εξακολουθεί να είναι αμφιλεγόμενη.

Ένας αριθμός ειδικών συνθετικών αγωνιστών του PPAR γ που έχουν αναπτυχθεί έχουν ισχυρά αποτελέσματα επί του μεταβολισμού των λιπιδίων στα λιποκύτταρα που τα καθιστά χρήσιμα ως αντιδιαβητικά φάρμακα. Η ροσιγλιταζόνη είναι ένα κλινικά χρήσιμο φάρμακο με λίγες επιπτώσεις. Έχει αποδειχθεί ότι έχει ισχυρή προστατευτική δράση σε μοντέλα εγκεφαλικού [202-204], νευροεκφυλιστικές ασθένειες [205,206] και βλάβη του νωτιαίου μυελού [207,208], αλλά είναι λιγότερα γνωστό για την επίδραση στην TBI. Προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει ότι η ροσιγλιταζόνη μειώνει τη νευροφλεγμονή, βλαπτικό όγκο και οξειδωτικό στρες.

Ο υποδοχέας PPAR γ μπορεί να ενεργοποιηθεί από υψηλής συγγένειας αγωνιστές, τις θειαζολιδινοδιόνες, μια κατηγορία φαρμάκων που χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία του διαβήτη τύπου 2, των οποίων η ροσιγλιταζόνη είναι ένα μέλος [209]. Στο κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ), η ενεργοποίηση PPAR γ παίζει ρόλο στην νευροπροστασία έναντι νευροεκφυλιστικών νόσων [210] και, πιο πρόσφατα, στην κεντρική ρύθμιση του ενεργειακού ισοζυγίου και υπερφαγίας, με αποτέλεσμα την παχυσαρκία [211, 212]. Πολυάριθμες μελέτες έχουν δείξει θετικά αποτελέσματα της ενεργοποίησης PPAR γ από τον αγωνιστή ροσιγλιταζόνη σε τραυματικές βλάβες του εγκεφάλου [213,214] εγκεφαλική ισχαιμία [211, 215] και νευροεκφυλιστικών διαταραχών όπως η νόσος του Alzheimer και του Parkinson [216].

Η ενεργοποίηση PPAR γ έχει αποδειχθεί επίσης ότι εμποδίζει τον θάνατο νευρονικών κυττάρων, σαν αποτέλεσμα της ενεργοποιημένης από το NMDA τοξικότητας σε πρωτογενείς καλλιέργειες νευρώνων φλοιού [217]. Επίσης, έδρασε προστατευτικά σε μια αθανατοποιημένη κυτταρική σειρά ιπποκάμπου απέναντι στο οξειδωτικό στρες από υπεροξείδιο του υδρογόνου ή από γλουταμικό [218]. Επιπλέον, σε μια πιλοτική μελέτη, η ροσιγλιταζόνη έχει αποδειχθεί ως αποτελεσματική αγωγή για την διπολική διαταραχή ασθενών με αντίσταση ινσουλίνης [219] αλλά και για τη

μείωση της καταθλιπτικής συμπεριφοράς ποντικών και αρουραίων [220, 221], αν και ο μηχανισμός δράσης σε αυτές τις περιπτώσεις είναι άγνωστος. Οι εκθέσεις αυτές, ωστόσο, δείχνουν ότι η PPAR γ ενεργοποίηση παίζει σημαντικό ευεργετικό ρόλο στο ΚΝΣ.

Μια εκτεταμένη σειρά από μελέτες έχουν διερευνήσει τους μηχανισμούς με τους οποίους λειτουργεί η ενεργοποίηση PPAR γ για την προστασία νευρώνων [για ανασκόπηση βλέπε 222]. Κυριότερος από τους μηχανισμούς που προτείνονται είναι το μπλοκάρισμα μιας φλεγμονώδους διεργασίας που θα εκδηλωθεί σαν απάντηση σε κάποιο στρεσογόνο παράγοντα. Αυτό θα γίνει με τη μείωση προ-φλεγμονωδών κυτοκινών και μεταγραφικών παραγόντων, και την ενεργοποίηση αντι-φλεγμονωδών παραγόντων, συμπεριλαμβανομένων των συστατικών της αντιοξειδωτικής οδού.

2. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η μελέτη αυτή πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Φαρμακολογίας του Ιατρικού Τμήματος της Σχολής Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, κατά το χρονικό διάστημα 2014-2016, στα πλαίσια του Μεταπτυχιακού Προγράμματος «Αντιμετώπιση του Πόνου».

Η παρούσα εργασία πραγματεύεται την επίδραση του αγωνιστή του υποδοχέα PPAR γ στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα (Κ.Ν.Σ.) επίμυων χρησιμοποιώντας πειραματικό μοντέλο φλεγμονής από λιποπολυσακχαρίτη LPS.

Ειδικότερα γίνεται μια προσπάθεια σύνδεσης της φλεγμονής και του Κ.Ν.Σ., με την πιθανή αντιφλεγμονώδη δράση του αγωνιστή των υποδοχέων PPAR γ , ροσιγλιταζόνη, γνωστού αντιδιαβητικού φαρμάκου.

Σκοπός της μελέτης είναι:

1. Να προσδιοριστούν οι γονιδιακές αλλαγές παραγόντων φλεγμονής, σε τμήματα εγκεφάλου επίμυων, ύστερα από χορήγηση LPS.
2. Να μελετηθεί ο πιθανός προστατευτικός (αντιφλεγμονώδης) ρόλος της ροσιγλιταζόνης σε σχέση με την φλεγμονή που εγκαθιστά το LPS
3. Με βάση τις αλλαγές στο γονιδιακό προφίλ της νευροφλεγμονής τμημάτων του εγκεφάλου επίμυων, να διατυπωθεί ένας νευροπροστατευτικός μηχανισμός για την ροσιγλιταζόνη.

3. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Πειραματόζωα

Στην παρούσα πειραματική μελέτη χρησιμοποιήθηκαν λευκοί επίμυες Wistar (rat), οι οποίοι έχει αναπτυχθεί από τον άγριο καφέ ποντικό. Πιο συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκε ο λευκός επίμυ του στελέχους Wistar/Mol/Af/Han/Kuo/Jo.

Τα ζώα αυτά προέρχονται από την αποικία Han: WIST (Αννόβερο, Γερμανία) και διαχωρίστηκαν σε δύο στελέχη (RR και rr), στο Πανεπιστήμιο του Κιουρίο της Φιλανδίας, με βάση τον βαθμό επαγωγής της αλδεϋδικής αφυδρογονάσης (ALDH) μετά τη χορήγηση φαινοβαρβιτάλης (Marselos M, 1976). Από το σύνολο των 310 επίμυων (αρσενικοί και θηλυκοί) που έλαβαν φαινοβαρβιτάλη, περίπου το 67% δεν εμφάνισαν επαγωγή της ALDH και χαρακτηρίστηκαν ως στέλεχος rr ενώ το 8% εμφάνισαν ιδιαίτερα υψηλά επίπεδα επαγωγής της ALDH και ονομάστηκαν στέλεχος RR. Τα δύο αυτά στελέχη αναπαράγονται από το 1985 στο Εκτροφείο Πειραματόζωων της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων με τη μέθοδο ενδογαμικής αναπαραγωγής (εσωτερική διασταύρωση) με την οποία επιτυγχάνεται η κληροδότηση των γενετικών χαρακτηριστικών των προγόνων στην επόμενη γενεά. Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή ζευγαρώνουμε αδέρφια μεταξύ τους ή γονείς με τους απογόνους τους για πάνω από είκοσι γενεές έτσι ώστε να προκύπτουν απόγονοι ομοζυγώτες, ζώα δηλαδή των οποίων τα γενετικά χαρακτηριστικά κληρονομούνται μέσω των αντίστοιχων γονιδίων. Η αναπαραγωγή των επίμυων δεν παρουσιάζει ιδιαίτερα προβλήματα. Και τα δύο φύλα είναι ώριμα για αναπαραγωγή στην ηλικία των 50-60 ημερών. Για ζευγάριμα πρέπει να χρησιμοποιούνται ζώα με βάρος τουλάχιστον 250 g που τοποθετούνται στον ίδιο κλωβό σε αναλογία δύο ή τρία θηλυκά με ένα αρσενικό. Η εγκυμοσύνη διαρκεί κατά μέσο όρο 21 ημέρες και μία τουλάχιστον εβδομάδα πριν τη γέννα, τα έγκυα θηλυκά διαχωρίζονται από τα αρσενικά σε ατομικούς κλωβούς μέχρι τον απογαλακτισμό (25 περίπου ημέρες μετά τη γέννηση). Τα νεογνά βάρους συνήθως 5-7 g αποχωρίζονται τη μάννα τους μετά το πέρας των τριών εβδομάδων από τη γέννησή τους και τοποθετούνται σε δικά τους ομαδικά κλουβιά ανάλογα με το φύλο τους. Ο επίμυς ζει μέχρι τρία χρόνια αλλά συνήθως η μέση ηλικία τους δεν ξεπερνά τα δύο χρόνια. Μόλις συμπληρώσει δύο μήνες ζωής ο επίμυς μπορεί να χρησιμοποιηθεί στα πλαίσια πειραματικών μελετών.

Ο επίμυς είναι ζώο νυκτόβιο (εμφανίζει έντονη κινητική δραστηριότητα τις βραδινές ώρες, ενώ τη μέρα συνήθως κοιμάται). Ο χώρος διαβίωσης και εκτροφής των επίμυων πρέπει να έχει σταθερή θερμοκρασία περίπου 22 °C και σχετική υγρασία 50-60%. Απαραίτητο είναι επίσης ένα καλό σύστημα εξαερισμού. Η ρυθμικότητα του φωτισμού καθορίζεται στις 12 ώρες φως και 12 ώρες σκοτάδι. Οι κλωβοί που χρησιμοποιούνται για τους επίμυες είναι κατασκευασμένοι από πολυπροπυλένιο (Markolon) με μεταλλικό διχτυωτό σκέπασμα στο δάπεδο των οποίων τοποθετείται επεξεργασμένο ροκανίδι (Populus) για την απορρόφηση της υγρασίας των περιττωμάτων και των ούρων και την αποφυγή ταχείας ανάπτυξης μικροοργανισμών. Παρ' όλα αυτά οι επίμυες είναι απαραίτητο να μεταφέρονται σε καθαρούς κλωβούς τουλάχιστον δύο έως τρεις φορές την εβδομάδα. Το μεταλλικό σκέπαστρο διαθέτει κατάλληλους υποδοχείς για την τοποθέτηση της ζωοτροφής και του υδροδοχείου έτσι ώστε να εξασφαλίζεται η ελεύθερη πρόσβαση (ad libitum) του ζώου σε τροφή και νερό. Η τροφή των επίμυων είναι τυποποιημένη (Biozoe, Ελλάς) με τη μορφή μικρών συμπακνωμένων κυλίνδρων και περιέχει όλες τις βιταμίνες, τα άλατα, τα μέταλλα και τα θρεπτικά συστατικά που χρειάζονται τα πειραματόζωα για την φυσιολογική τους ανάπτυξη. Τα υδροδοχεία, τα οποία επίσης πρέπει να καθαρίζονται σε τακτά διαστήματα είναι πλαστικά μπουκάλια με μεταλλικό πώμα που καταλήγει σε ρύγχος τα οποία τοποθετούνται ανάποδα στους κλωβούς με το ρύγχος να βρίσκεται μέσα στον κλωβό.

Σε όλα τα πειραματικά πρωτόκολλα της παρούσας μελέτης χρησιμοποιήθηκαν αρσενικοί επίμυες (Wistar rats) του στελέχους rr, ηλικίας από 2,5 έως 3,5 μηνών και σωματικού βάρους κατά μέσο όρο περίπου 250 g. Μία μέρα πριν την διεξαγωγή του πειράματος τα ζώα μεταφέρονται από το εκτροφείο στο χώρο εκτέλεσης του πειράματος προκειμένου και εξοικειωθούν στο νέο περιβάλλον και εν συνεχεία ζυγίζονται και καταγράφεται το βάρος του κάθε επίμυ. Επιπλέον, σε όλα τα πειράματα προτιμήθηκε η ενδοπεριτοναϊκή οδός χορήγησης (i.p.) για όλες τις ουσίες που χορηγήθηκαν στους επίμυες καθώς, η απ' ευθείας είσοδος του φαρμάκου στην περιτοναϊκή κοιλότητα, εξασφαλίζει την ταχεία απορρόφηση του φαρμάκου λόγω της μεγάλης αγγείωσης της περιοχής.

Τέλος, πρέπει να τονιστεί ότι όλες οι πειραματικές εργασίες διεξήχθησαν σύμφωνα με την Ελληνική και Ευρωπαϊκή Νομοθεσία (Προεδρικό Διάταγμα 160/3-5-1991, άρθρα 13 και 19, Οδηγία 86/609/EOK του Ευρωπαϊκού Συμβουλίου).

Πειραματικά πρωτόκολλα

Πείραμα 1. *Επίδραση του LPS σε γονίδια φλεγμονής εγκεφάλου αρσενικών επίμυων.*

Εφαρμόζοντας το πρώτο πειραματικό πρωτόκολλο, έγινε έγχυση LPS (100mg/kg σε ελαιόλαδο) και διερευνήθηκε η επίδραση του λιποπολυσακχαρίτη LPS στα επίπεδα mRNA γονιδίων της φλεγμονής στον υποθάλαμο, τον ιππόκαμπο και το ραβδωτό σώμα εγκεφάλων επίμυων Wistar.

Στο πρώτο πείραμα περιελήφθησαν 10 επίμυες που χωρίστηκαν σε 2 ομάδες. Στα ζώα της πρώτης ομάδας έγινε έγχυση LPS τρεις ώρες πριν θανατωθούν και απομονωθούν οι ιστοί του εγκεφάλου, ενώ η δεύτερη ομάδα έγινε έγχυση μόνο φυσιολογικού ορού και αποτέλεσε την ομάδα ελέγχου (control).

Πείραμα 2. *Επίδραση της ροσιγλιταζόνης σε ενεργοποιημένα από LPS γονίδια φλεγμονής εγκεφάλου επίμυων.*

Μελετήθηκαν οι αλλαγές στην γονιδιακή έκφραση παραγόντων φλεγμονής ανάμεσα στην ομάδα ζώων που εκτέθηκαν στους δύο παράγοντες ροσιγλιταζόνη (7mg/kg σε φυσιολογικό ορό) και LPS (100mg/kg σε ελαιόλαδο) και την ομάδα που έλαβε μόνο LPS.

Στο δεύτερο πείραμα περιελήφθησαν 20 επίμυες στους οποίους πριν θανατωθούν δια απαγχονισμού και γίνει η απομόνωση των ιστών, χωρίστηκαν στις εξής ομάδες (4 μέλη ανά ομάδα):

- α. έγχυση ροσιγλιταζόνης (7mg/kg) 30 λεπτά πριν την έγχυση LPS ((100mg/kg) (ομάδα Ro+LPS),
- β. έγχυση LPS (100mg/kg) (ομάδα LPS),
- γ. έγχυση ροσιγλιταζόνης (7mg/kg) 3ώρες και 30 λεπτά πριν την θανάτωση (ομάδα Ro30min),
- δ. έγχυση ροσιγλιταζόνης (7mg/kg) 15 ώρες πριν τη θανάτωση (ομάδα Ro12h),
- ε. έγχυση φυσιολογικού ορού 3 ώρες και 30 λεπτά πριν τη θανάτωση (ομάδα control).

Θανάτωση ζώων

Όλα τα ζώα θυσιάστηκαν με αποκεφαλισμό και στη συνέχεια έγινε απομόνωση των ακόλουθων εγκεφαλικών ιστών: ιππόκαμπος, υποθάλαμος και ραβδωτό σώμα.

Αφαίρεση ιστών

Ο ιστός μετά την αφαίρεσή του από το πειραματόζωο τοποθετήθηκε σε βιδωτό σωληνάριο των 3 mL και ψύχθηκε απευθείας σε υγρό άζωτο. Στη συνέχεια αποθηκεύτηκε στους -80°C μέχρι να επεξεργαστεί περαιτέρω.

Επεξεργασία

α. Απομόνωση mRNA

Η επεξεργασία των δειγμάτων με σκοπό την απομόνωση RNA και πρωτεϊνών γίνεται χρησιμοποιώντας το NucLeoSpin® RNA/protein Kit της εταιρείας Macherey – Nagel. Ο ιστός που είναι αποθηκευμένος στους -80°C , αφήνεται να ξεπαγώσει σταδιακά σε παγόλουτρο. Ένα τμήμα του ιστού, όχι βαρύτερο από 0,3mg μεταφέρεται σε νέο σωληνάριο των 2ml. Στο ίδιο σωληνάριο προστίθενται 750μL RP I, 3,5μL β-μερκαπτοαιθανόλη και ακολουθεί ομογενοποίηση του ιστού μηχανικά 3 φορές από 40 δευτερόλεπτα και με υπερήχους 2 φορές από 50 δευτερόλεπτα. Ο ομογενοποιητής, ανάμεσα από τα δείγματα ξεπλένεται με διάλυμα 10% SDS και με απεσταγμένο νερό επεξεργασμένο με DEPC. Ακολουθεί φυγοκέντριση των δειγμάτων σε 12000rpm για 5 λεπτά στους 4°C . Το υπερκείμενο μεταφέρεται σε ένα NucLeoSpin® Filter Unit που είναι προσαρμοσμένο σε ένα σωληνάριο συλλογής (collecting tube). Με μια σύντομη φυγοκέντριση ενός λεπτού το δείγμα περνάει από το φίλτρο που είναι προσαρμοσμένο στη στήλη και καθαρίζει από τις όποιες προσμίξεις. Στο έκλουσμα της στήλης προστίθενται 350μL 70% αιθανόλη και ακολουθεί ανάδευση (vortex). Αυτό το μείγμα μεταφέρεται με προσοχή σε μια στήλη NucleoSpin® RNA/Protein column που είναι προσαρμοσμένη σε ένα φυγοκεντρικό σωληνάριο των 2 mL. Ακολουθεί φυγοκέντριση του δείγματος για 30 δευτερόλεπτα. Το έκλουσμα που περιέχει το πρωτεϊνικό κλάσμα, αποθηκεύεται στους 4°C , ενώ η στήλη στην οποία έχουν προσδεθεί τα νουκλεϊκά οξέα μεταφέρεται σε νέο collecting tube. Στη στήλη προστίθενται 350μL MLB. Το διάλυμα αυτό βοηθάει στην αφαλάτωση των προσδεδμένων νουκλεϊνικών οξέων.

Ακολουθεί η προσθήκη 95μL διαλύματος rDNάσης και επώαση σε θερμοκρασία δωματίου για 15 λεπτά. Η δράση του ενζύμου σταματάει με προσθήκη 200μL ρυθμιστικού διαλύματος RA2 και φυγοκέντριση για την απομάκρυνση των υπολειμμάτων. Η μεμβράνη πάνω στην οποία υπάρχει προσδεμένο το RNA ξεπλένεται δύο φορές με 600μL και 250μL ρυθμιστικού διαλύματος RA3. Η έκλυση του RNA από τη μεμβράνη σε ένα αποστειρωμένο μικροφυγοκεντρικό σωληνάριο του 1,5mL γίνεται με προσθήκη 60μL υπερκαθαρού αποστειρωμένου νερού τύπου I. Το RNA διαμοιράζεται σε δύο ίσες ποσότητες σε φυγοκεντρικά σωληνάρια και αποθηκεύεται στους -80°C.

β. Προσδιορισμός της ποσότητας του RNA- NanoDrop

Η ποσότητα και η καθαρότητα του RNA προσδιορίζεται με φωτομέτρηση στα 260 και 280nm, σε μικρών όγκων φασματοφωτόμετρο ορατού – υπεριώδους (NanoDrop 2000, Thermo Scientific).

Ο λόγος της απορρόφησης στα 260nm προς την απορρόφηση στα 280nm παρέχει μια εκτίμηση της καθαρότητας των νουκλεϊκών οξέων. Μονόκλωνο DNA ή RNA καθαρό από πρωτεΐνες έχει τιμή 2.

Η τιμή της απορρόφησης στα 260nm επιτρέπει τον υπολογισμό της συγκέντρωσης των νουκλεϊκών οξέων στο δείγμα. Απορρόφηση ίση με 1 αντιστοιχεί σε 40μg μονόκλωνο RNA σε 1 mL διαλύματος.

γ. Σύνθεση CDNA (αντίδραση αντίστροφης μεταγραφής)

Η αντίστροφη αντιγραφή έγινε χρησιμοποιώντας το kit TAKARA. Πιο συγκεκριμένα, στο πρώτο στάδιο γίνεται απομάκρυνση τυχών υπολειμμάτων γενομικού DNA. 2 μL gDNA Wipeout Buffer 7X και 1μg από το RNA του προς ανάλυση δείγματος αραιώνονται στα 14μL με υπερκαθαρό νερό. Ακολουθεί επώαση στους 42°C για 10 λεπτά και αμέσως μετά σε πάγο (για να τερματιστεί η αντίδραση).

Στο δεύτερο στάδιο γίνεται η αντίστροφη μεταγραφή. Ετοιμάζουμε πρώτα το γενικό μίγμα που περιλαμβάνει την αντίστροφη μεταγραφάση, το ρυθμιστικό διάλυμα του ενζύμου και τους εκκινητές. Για κάθε δείγμα χρησιμοποιούνται 1μL Quantiscript Reverse Transcriptase, 4μL Quantiscript RT Buffer 5X και 1μL RT Primer Mix. Σε αυτό προσθέτουμε τα 14μL από το πρώτο στάδιο και επωάζουμε για 15 λεπτά στους

37°C (πραγματοποίηση της αντίδρασης) και 5 λεπτά στου 85°C. Τα δείγματα αποθηκεύονται στους -20°C.

δ. qReal – Time PCR

Στο επίπεδο της μεταγραφής, η έκφραση των rCOX-1, rCOX-2, rIL-1b, IL-6, PPARα και PPARγ προσδιορίστηκε εις διπλούν με το σύστημα ποσοτικού προσδιορισμού mRNA CFX-96 RT-PCR σύστημα της BioRad (BioRad Lab), χρησιμοποιώντας το μίγμα Taqman® Universal PCR master mix και το αντίστοιχο, για κάθε γονίδιο, σετ εκκινιτή/probe (Rn00566881_m1, Rn01483828_m1, Rn00580432_m1, Rn01410330_m1, Rn00566193_m1 και Rn00440940_m1, από AB, NI, USA).

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

A. Πείραμα 1. Επίδραση του LPS σε γονίδια φλεγμονής εγκεφάλου αρσενικών επίμυων (LPS και γονίδια φλεγμονής σε τμήματα εγκεφάλου επίμυων)

Για τους σκοπούς της μελέτης, επιλέχθηκαν τρεις περιοχές εγκεφάλου επίμυων στις οποίες μελετήθηκαν γονίδια φλεγμονής. Επίσης, με βάση τους σκοπούς της μελέτης αλλά και τη σχετική γνώση του Εργαστηρίου Φαρμακολογίας, επιλέχθηκαν συγκεκριμένα γονίδια από τον μακρύ κατάλογο παραγόντων φλεγμονής σε εγκεφαλο ζώων εργαστηρίου.

Παρακάτω ακολουθούν τα αποτελέσματα του πειραματικού πρωτοκόλλου ανά τμήμα εγκεφάλου ζώων εργαστηρίου.

Τα αποτελέσματα αφορούν αλλαγές σε επίπεδο μεταγραφής, δηλαδή αλλαγών στο mRNA των γονιδίων και οι εκφράσεις τους παρουσιάζονται σε σχέση με την ομάδα που πήρε φυσιολογικό ορό (ομάδα ελέγχου, control). Στο πρώτο αυτό πειραματικό πρωτόκολλο, όλες οι στατιστικές συγκρίσεις έγιναν με την ομάδα control.

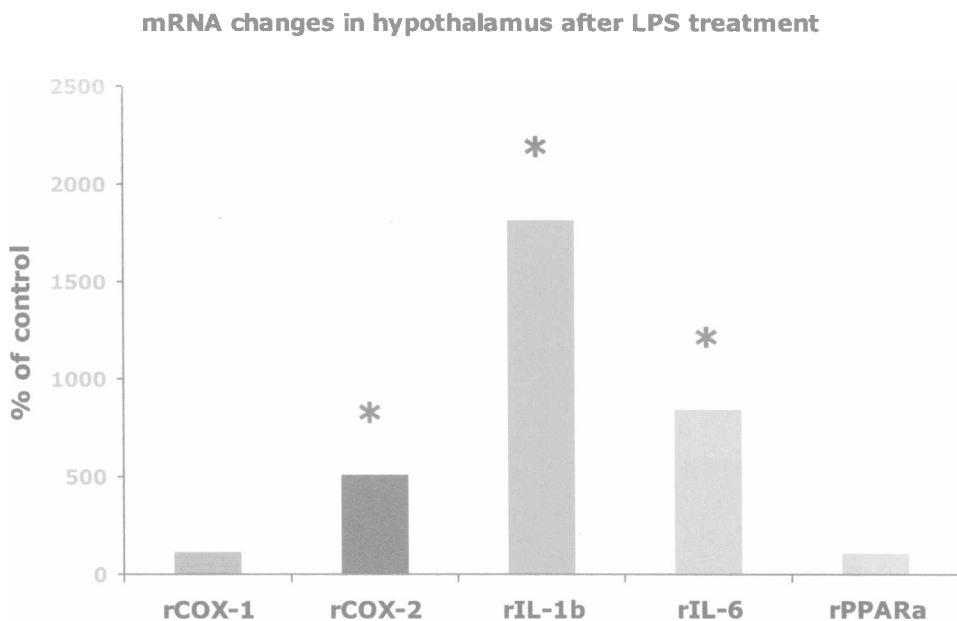
Τα αποτελέσματα είναι κανονικοποιημένα με βάση την έκφραση του γονιδίου αναφοράς β-ακτίνη (β-actin mRNA).

A1. Γονίδια φλεγμονής στον υποθάλαμο

Εφαρμόζοντας το πρώτο πειραματικό πρωτόκολλο, διερευνήθηκε η επίδραση του λιποπολυσακχαρίτη LPS στα επίπεδα mRNA γονιδίων της φλεγμονής στον υποθάλαμο, τον ιππόκαμπο και το ραβδωτό σώμα εγκεφάλων επίμυων Wistar.

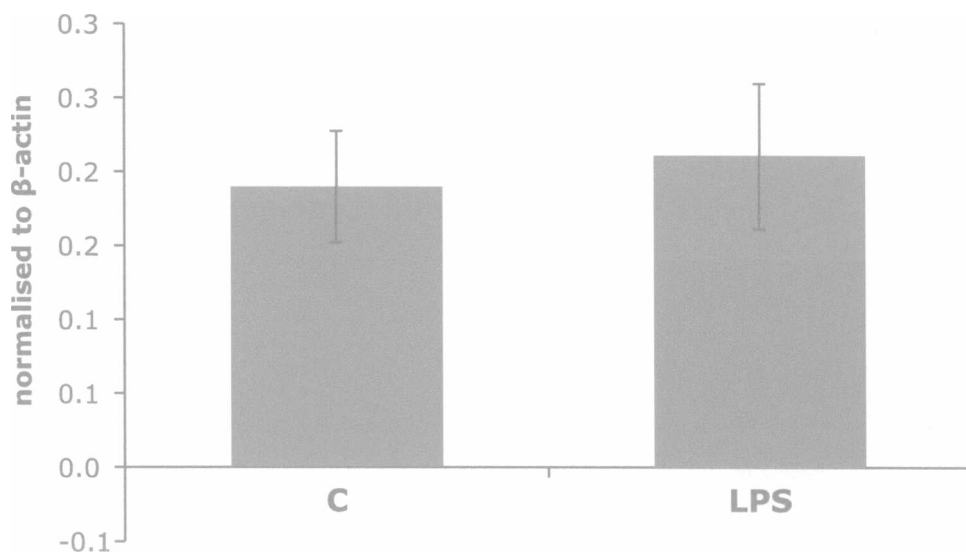
Στο Σχήμα 3 παρουσιάζονται συγκεντρωτικά τα αποτελέσματα της επίδρασης του LPS στα γονίδια rCOX-1, rCOX-2, rIL-1b, rIL-6 και rPPARa σαν % ποσοστό του control. Η χορήγηση LPS προκάλεσε στατιστικά σημαντική αύξηση του mRNA της rCOX-2 και των ιντερλευκινών IL-1b και IL-6 (5-, 17- και 8-φορές, αντίστοιχα), ενώ δεν επηρέασε καθόλου τις γονιδιακές εκφράσεις των rCOX-1 και rPPARa.

Στα σχήματα που ακολουθούν (Σχήμα 4 έως και Σχήμα 7) τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ανά γονίδιο για τον υποθάλαμο.



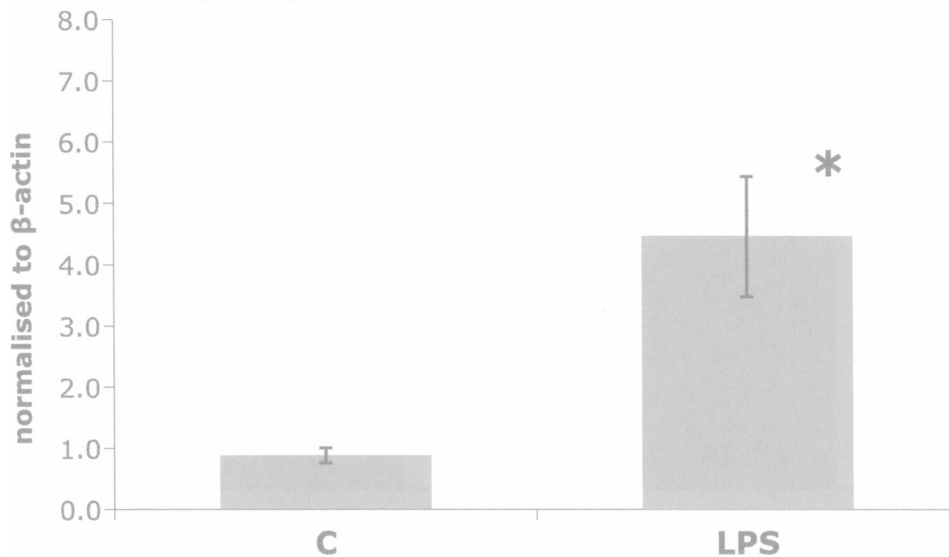
Σχήμα 3. Συνολικά αποτελέσματα της δράσης του LPS στα γονίδια φλεγμονής rCOX-1, rCOX-2, rIL-1b, rIL-6 και rPPARa, στον υποθάλαμο. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται σε σχέση με το 100% (επίπεδα ομάδας ελέγχου). Ο αστερίσκος δηλώνει στατιστικά σημαντική αλλαγή σε σχέση με την ομάδα ελέγχου (επίπεδο του 100, για $P < 0.05$).

rCOX-1 mRNA levels of rat hypothalamus after LPS treatment



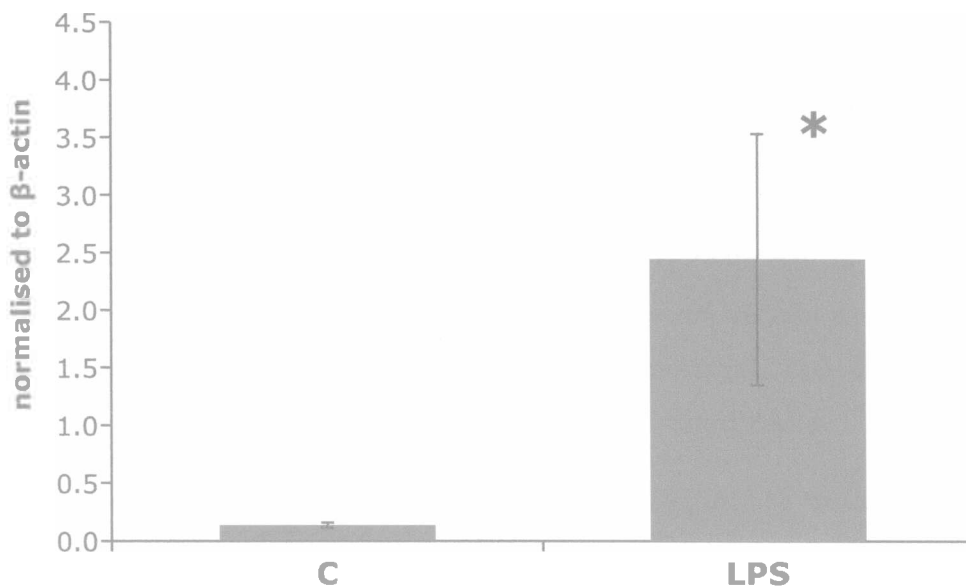
Σχήμα 4. Επίδραση του LPS στα επίπεδα του mRNA της rCOX-1 στον υποθάλαμο. Τα αποτελέσματα έχουν κανονικοποιηθεί με βάση την β -ακτίνη.

COX-2 mRNA levels of rat hypothalamus after LPS treatment



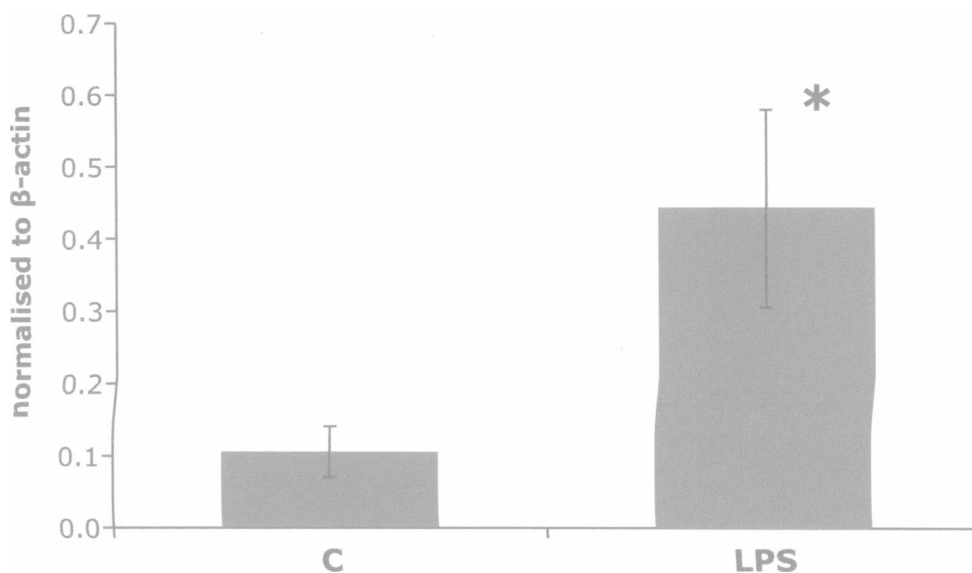
Σχήμα 5. Επίδραση του LPS στα επίπεδα του mRNA της rCOX-2 στον υποθάλαμο. Τα αποτελέσματα έχουν κανονικοποιηθεί με βάση την β -ακτίνη. Ο αστερίσκος δηλώνει στατιστικά σημαντική αλλαγή σε σχέση με την ομάδα ελέγχου ($P < 0.05$).

rIL-1b mRNA levels of rat hypothalamus after LPS treatment



Σχήμα 6. Επίδραση του LPS στα επίπεδα του mRNA της rIL-1b στον υποθάλαμο. Τα αποτελέσματα έχουν κανονικοποιηθεί με βάση την β-ακτίνη. Ο αστερίσκος δηλώνει στατιστικά σημαντική αλλαγή σε σχέση με την ομάδα ελέγχου ($P < 0.05$).

rIL-6 mRNA levels of rat hypothalamus after LPS treatment



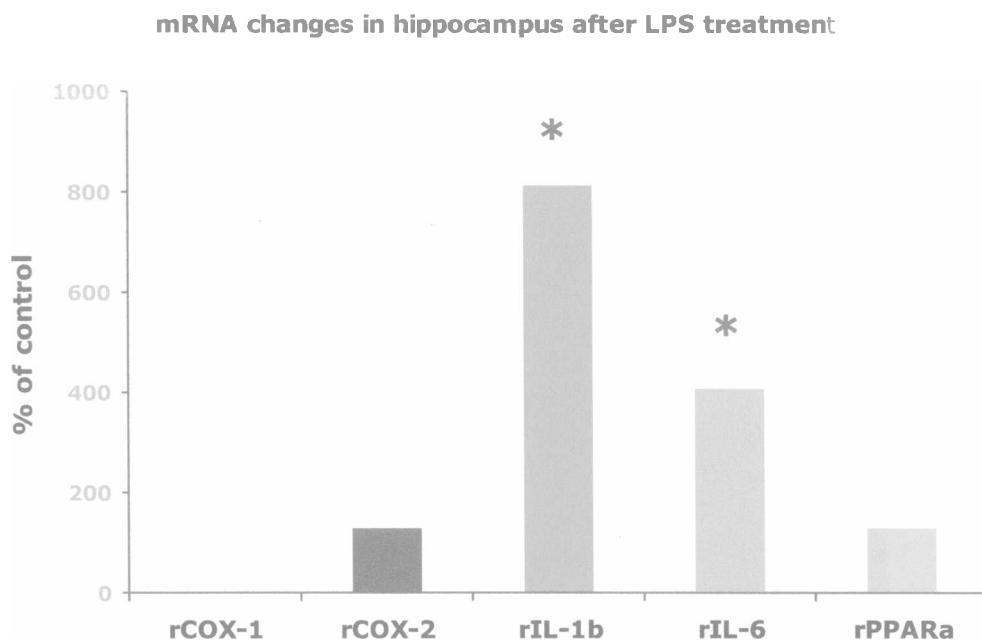
Σχήμα 7. Επίδραση του LPS στα επίπεδα του mRNA της rIL-6 στον υποθάλαμο. Τα αποτελέσματα έχουν κανονικοποιηθεί με βάση την β-ακτίνη. Ο αστερίσκος δηλώνει στατιστικά σημαντική αλλαγή σε σχέση με την ομάδα ελέγχου ($P < 0.05$).

A2. Γονίδια φλεγμονής στον ιππόκαμπο

Με το ίδιο πειραματικό πρωτόκολλο διερευνήθηκε η επίδραση του λιποπολυσακχαρίτη LPS στα επίπεδα mRNA γονιδίων της φλεγμονής στον ιππόκαμπο εγκεφάλων επίμυων Wistar.

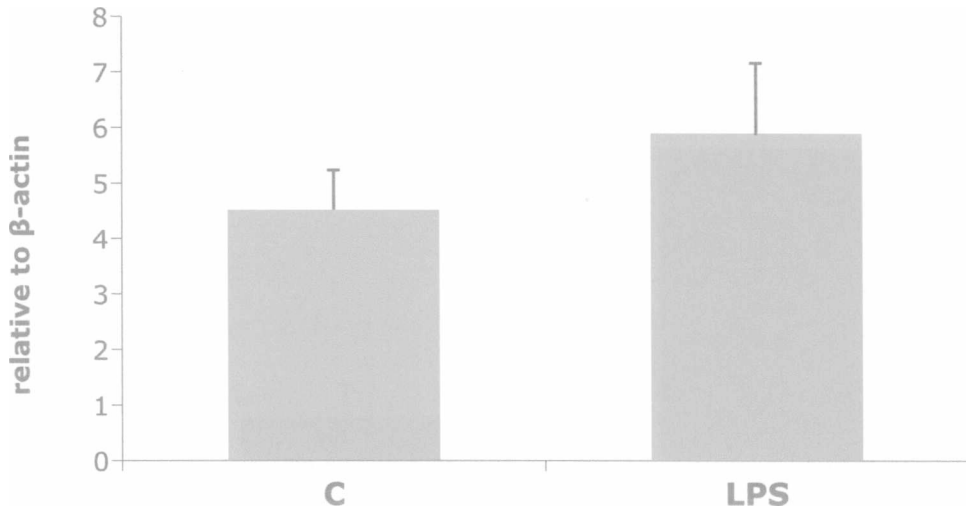
Στο Σχήμα 8 παρουσιάζονται συγκεντρωτικά τα αποτελέσματα της επίδρασης του LPS στα γονίδια rCOX-1, rCOX-2, rIL-1b, rIL-6 και rPPARa σαν % ποσοστό του control. Η χορήγηση LPS προκάλεσε στατιστικά σημαντική αύξηση του mRNA των ιντερλευκινών IL-1b και IL-6 (8- και 4-φορές, αντίστοιχα), ενώ δεν επηρέασε καθόλου τις γονιδιακές εκφράσεις των rCOX-1, rCOX-2 και rPPARa.

Στα σχήματα που ακολουθούν (Σχήμα 9 έως και Σχήμα 11) τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ανά γονίδιο για τον ιππόκαμπο.



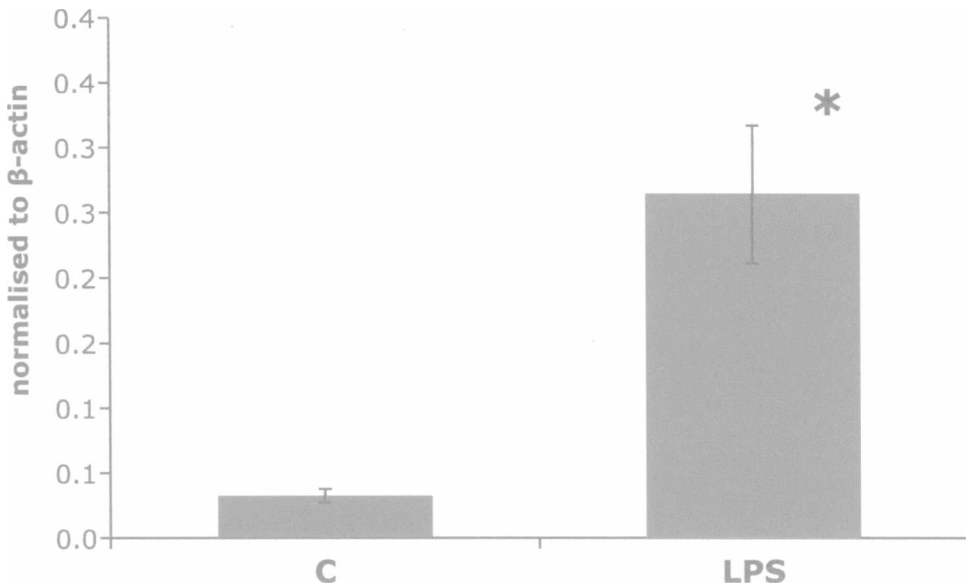
Σχήμα 8. Συνολικά αποτελέσματα της δράσης του LPS στα γονίδια φλεγμονής rCOX-1, rCOX-2, rIL-1b, rIL-6 και rPPARa, στον ιππόκαμπο. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται σε σχέση με το 100% (επίπεδα ομάδας ελέγχου). Ο αστερίσκος δηλώνει στατιστικά σημαντική αλλαγή σε σχέση με την ομάδα ελέγχου (επίπεδο του 100, για $P < 0.05$).

rCOX-2 mRNA levels of rat hippocampus after LPS treatment



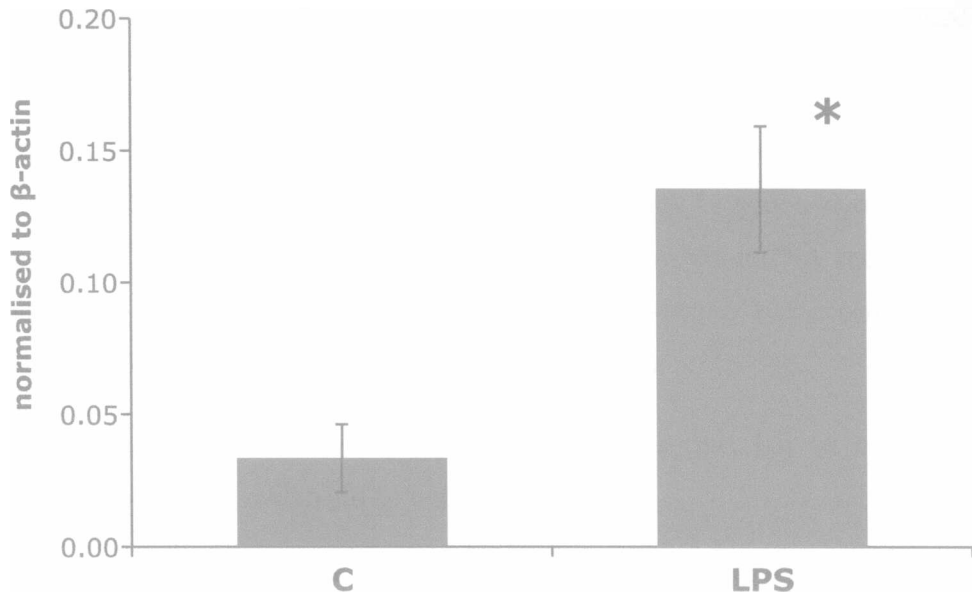
Σχήμα 9. Επίδραση του LPS στα επίπεδα του mRNA της rCOX-2 στον ιππόκαμπο. Τα αποτελέσματα έχουν κανονικοποιηθεί με βάση την β-ακτίνη.

rIL-1b mRNA levels of rat hippocampus after LPS treatment



Σχήμα 10. Επίδραση του LPS στα επίπεδα του mRNA της rIL-1b στον ιππόκαμπο. Τα αποτελέσματα έχουν κανονικοποιηθεί με βάση την β-ακτίνη. Ο αστερίσκος δηλώνει στατιστικά σημαντική αλλαγή σε σχέση με την ομάδα ελέγχου ($P < 0.05$).

rIL-6 mRNA levels of rat hippocampus after LPS treatment



Σχήμα 11. Επίδραση του LPS στα επίπεδα του mRNA της rIL-6 στον υπόκαμφο. Τα αποτελέσματα έχουν κανονικοποιηθεί με βάση την β-ακτίνη. Ο αστερίσκος δηλώνει στατιστικά σημαντική αλλαγή σε σχέση με την ομάδα ελέγχου ($P < 0.05$).

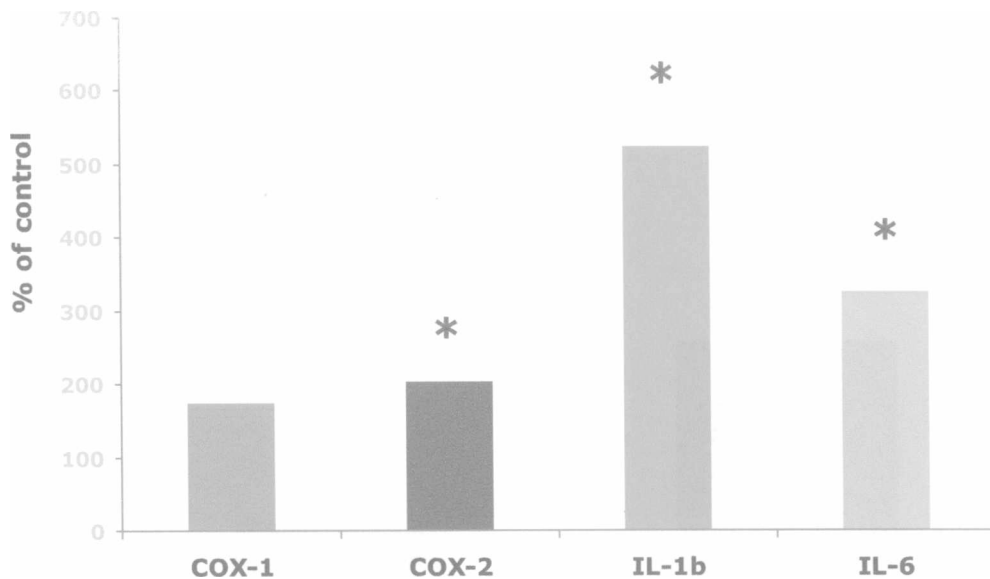
Α3. Γονίδια φλεγμονής στο ραβδωτό

Η επίδραση του λιποπολυσακχαρίτη LPS στα επίπεδα mRNA γονιδίων της φλεγμονής μελετήθηκε και στο ραβδωτό σώμα εγκεφάλων επίμυων Wistar.

Στο Σχήμα 12 παρουσιάζονται συγκεντρωτικά τα αποτελέσματα της επίδρασης του LPS στα γονίδια rCOX-1, rCOX-2, rIL-1b και rIL-6 σαν % ποσοστό του control. Η χορήγηση LPS προκάλεσε στατιστικά σημαντική αύξηση του mRNA της rCOX-2 και των ιντερλευκινών IL-1b και IL-6 (5-, 17- και 8-φορές, αντίστοιχα), ενώ δεν επηρέασε καθόλου την γονιδιακή έκφραση της rCOX-1.

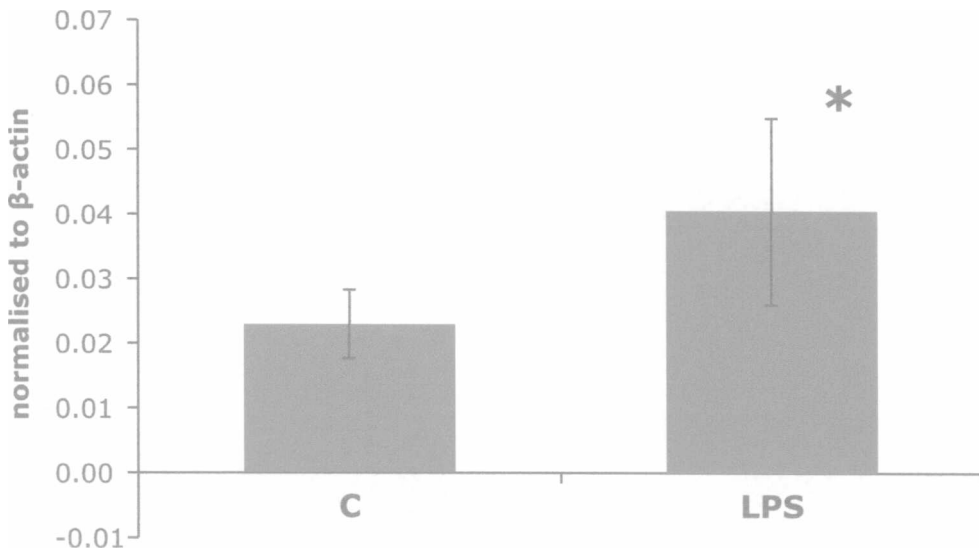
Στα σχήματα που ακολουθούν (Σχήμα 13 έως και Σχήμα 16) τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ανά γονίδιο για το ραβδωτό σώμα.

mRNA changes in striatum after LPS treatment



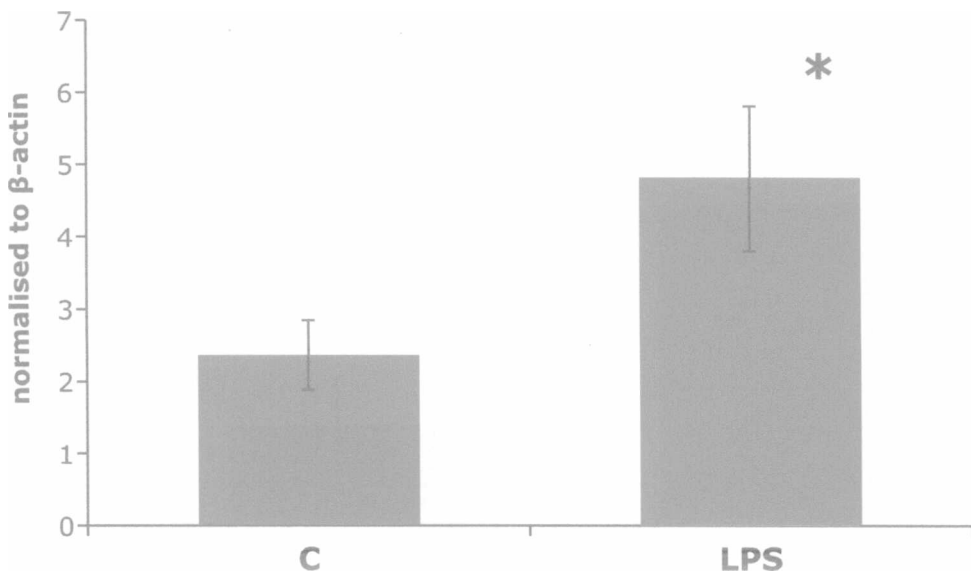
Σχήμα 12. Συνολικά αποτελέσματα της δράσης του LPS στα γονίδια φλεγμονής rCOX-1, rCOX-2, rIL-1b και rIL-6, στο ραβδωτό. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται σε σχέση με το 100% (επίπεδα ομάδας ελέγχου). Ο αστερίσκος δηλώνει στατιστικά σημαντική αλλαγή σε σχέση με την ομάδα ελέγχου (επίπεδο του 100, για $P < 0.05$).

rCOX-1 mRNA levels of rat striatum after LPS treatment



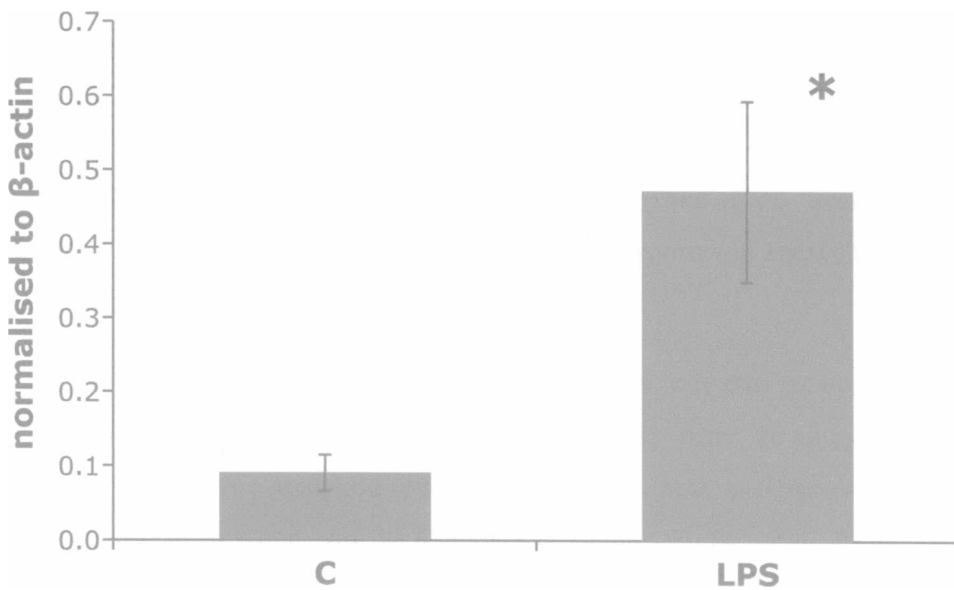
Σχήμα 13. Επίδραση του LPS στα επίπεδα του mRNA της rCOX-1 στο ραβδωτό. Τα αποτελέσματα έχουν κανονικοποιηθεί με βάση την β-ακτίνη. Ο αστερίσκος δηλώνει στατιστικά σημαντική αλλαγή σε σχέση με την ομάδα ελέγχου ($P < 0.05$).

rCOX-2 mRNA levels of rat striatum after LPS treatment



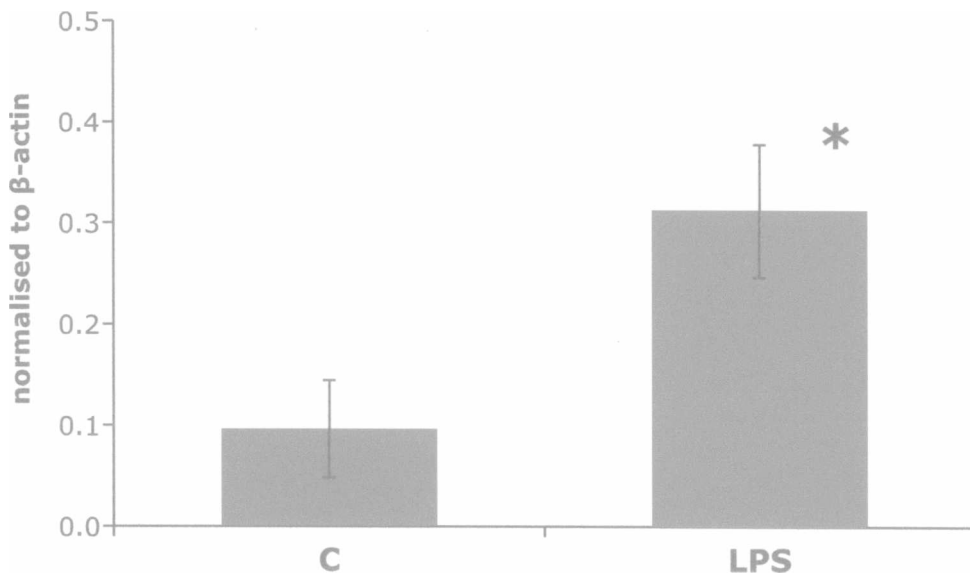
Σχήμα 14. Επίδραση του LPS στα επίπεδα του mRNA της rCOX-2 στο ραβδωτό. Τα αποτελέσματα έχουν κανονικοποιηθεί με βάση την β-ακτίνη. Ο αστερίσκος δηλώνει στατιστικά σημαντική αλλαγή σε σχέση με την ομάδα ελέγχου ($P < 0.05$).

rIL-1b mRNA levels of rat striatum after LPS treatment



Σχήμα 15. Επίδραση του LPS στα επίπεδα του mRNA της rIL-1b στο ραβδωτό. Τα αποτελέσματα έχουν κανονικοποιηθεί με βάση την β-ακτίνη. Ο αστερίσκος δηλώνει στατιστικά σημαντική αλλαγή σε σχέση με την ομάδα ελέγχου ($P < 0.05$).

rIL-6 mRNA levels of rat striatum after LPS treatment



Σχήμα 16. Επίδραση του LPS στα επίπεδα του mRNA της rIL-6 στο ραβδωτό. Τα αποτελέσματα έχουν κανονικοποιηθεί με βάση την β-ακτίνη. Ο αστερίσκος δηλώνει στατιστικά σημαντική αλλαγή σε σχέση με την ομάδα ελέγχου ($P < 0.05$).

B. Πείραμα 2. Επίδραση της ροσιγλιταζόνης σε ενεργοποιημένα από LPS γονίδια φλεγμονής εγκεφάλου επίμυων (Ροσιγλιταζόνη και ενεργοποιημένα γονίδια φλεγμονής τμημάτων εγκεφάλου επίμυων)

Στο δεύτερο μέρος της παρούσας μελέτης, επιλέχτηκε ένας αγωνιστής των υποδοχέων PPAR γ και χορηγήθηκε 30min πριν τη χορήγηση του λιποπολυσακχαρίτη σε αρσενικού επίμυες Wistar.

Η μελέτη αφορά τις τρεις περιοχές που μελετήθηκαν και στο πρώτο μέρος της μελέτης. Τα αποτελέσματα περιγράφουν τις αλλαγές στην γονιδιακή έκφραση παραγόντων φλεγμονής ανάμεσα στην ομάδα ζώων που εκτέθηκαν στους δύο παράγοντες (ροσιγλιταζόνη και LPS) και την ομάδα έλαβε μόνο LPS. Επίσης, μελετώνται οι αλλαγές και σε σχέση με την ομάδα ελέγχου control, για να επαναβεβαιωθεί η ενεργοποίηση των γονιδίων φλεγμονής από τον LPS.

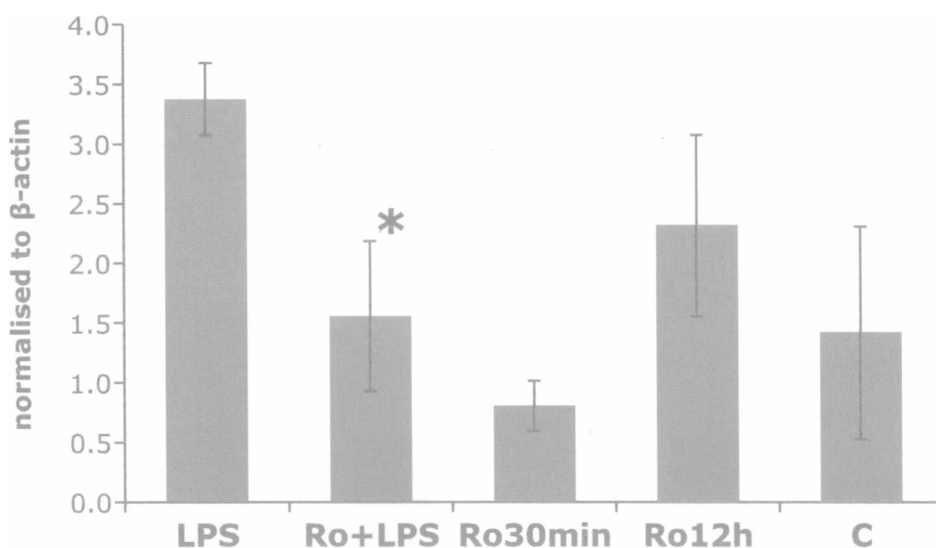
Παρακάτω ακολουθούν τα αποτελέσματα ανά τμήμα εγκεφάλου ζώων εργαστηρίου, και είναι κανονικοποιημένα με βάση την έκφραση του γονιδίου αναφοράς β-ακτίνη (β -actin mRNA).

B1. Γονίδια φλεγμονής στον υποθάλαμο

Στον υποθάλαμο, η προ-χορήγηση της ροσιγλιταζόνης προκάλεσε μείωση των αυξημένων από τον LPS επιπέδων mRNA της *rCOX-2* και της *rIL-6* (Σχήμα 17 και Σχήμα 19) αλλά όχι της *IL-1b* (Σχήμα 18). Οι μειώσεις αυτές είναι στατιστικά σημαντικές (*, $P < 0.05$), οι δε αυξήσεις που προκάλεσε το LPS (#, σε σχέση με την ομάδα control) είναι στατιστικά σημαντικές επιβεβαιώνοντας τα αντίστοιχα αποτελέσματα του πρώτου μέρους της μελέτης (Σχήματα 5, 6, 7). Η αύξηση που προκάλεσε στο mRNA της *rCOX-2* αν και έντονη, δεν είναι στατιστικά σημαντική, κυρίως εξαιτίας της μεγάλης διακύμανσης της ομάδας control.

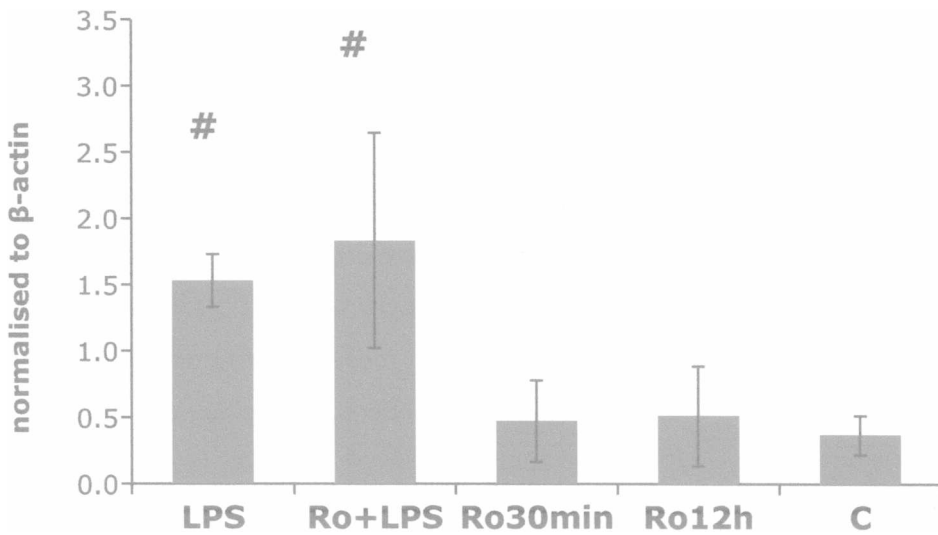
Οι ομάδες της ροσιγλιταζόνης (χορήγηση 30min και 12h πλέον των 3 ωρών πριν τη θανάτωση) δεν προκάλεσαν σημαντικές αλλαγές.

Hyp/*rCOX-2* mRNA levels after rosiglitazone and LPS co-treatment



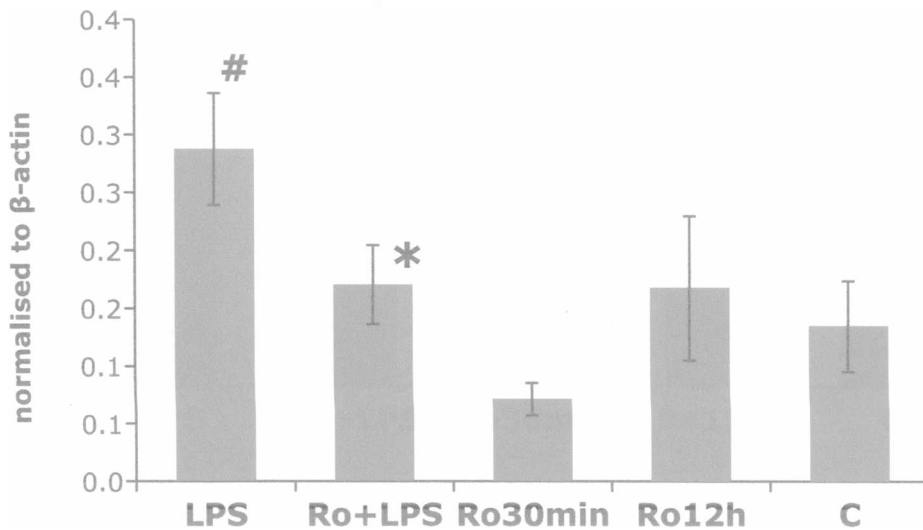
Σχήμα 17. Επίδραση της ροσιγλιταζόνης στην επαγωγή του mRNA της *rCOX-2* από το LPS, στον υποθάλαμο. Τα αποτελέσματα έχουν κανονικοποιηθεί με βάση την β -ακτίνη. Ο αστερίσκος δηλώνει στατιστικά σημαντική αλλαγή σε σχέση με την ομάδα αναφοράς (ομάδα LPS, για $P < 0.05$).

Hyp/rIL1b mRNA levels after rosiglitazone and LPS co-treatment



Σχήμα 18. Επίδραση της ροσιγλιταζόνης στην επαγωγή του mRNA της rIL-1b από το LPS, στον υποθάλαμο. Τα αποτελέσματα έχουν κανονικοποιηθεί με βάση την β-ακτίνη. Η δίσωση δηλώνει στατιστικά σημαντική αλλαγή σε σχέση με την ομάδα ελέγχου (ομάδα control, για $P < 0.05$).

Hyp/rIL-6 mRNA levels after rosiglitazone and LPS co-treatment



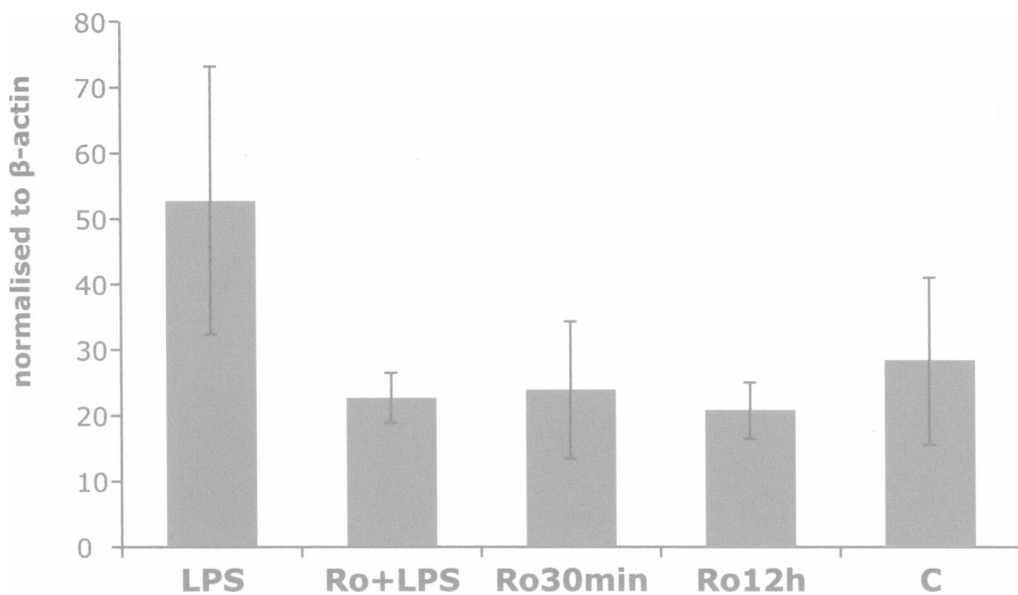
Σχήμα 19. Επίδραση της ροσιγλιταζόνης στην επαγωγή του mRNA της rIL-6 από το LPS, στον υποθάλαμο. Τα αποτελέσματα έχουν κανονικοποιηθεί με βάση την β-ακτίνη. Ο αστερίσκος δηλώνει στατιστικά σημαντική αλλαγή σε σχέση με την ομάδα αναφοράς (ομάδα LPS, για $P < 0.05$), ενώ η δίσωση σε σχέση με την ομάδα αναφοράς (ομάδα LPS, για $P < 0.05$).

B2. Γονίδια φλεγμονής στον ιππόκαμπο

Στον ιππόκαμπο, η προ-χορήγηση της ροσιγλιταζόνης προκάλεσε μείωση των αυξημένων από τον LPS επιπέδων mRNA της rCOX-2, της rIL-1b και της rIL-6 (Σχήμα 20 έως 22). Οι μειώσεις αυτές είναι στατιστικά σημαντικές (*, $P < 0.05$) για τις ιντερλευκίνες rIL-1b και rIL-6, οι δε αυξήσεις των ιντερλευκινών αυτών που προκάλεσε το LPS (#, σε σχέση με την ομάδα control) είναι στατιστικά σημαντικές επιβεβαιώνοντας τα αντίστοιχα αποτελέσματα του πρώτου μέρους της μελέτης (Σχήματα 10 και 11). Τα αντίστοιχα αποτελέσματα για την rCOX-2 (Σχήμα 20) αν και δεν είναι στατιστικά σημαντικά (μεγάλη διακύμανση της ομάδας LPS) εντούτοις έχουν την ίδια τάση με τις ιντερλευκίνες.

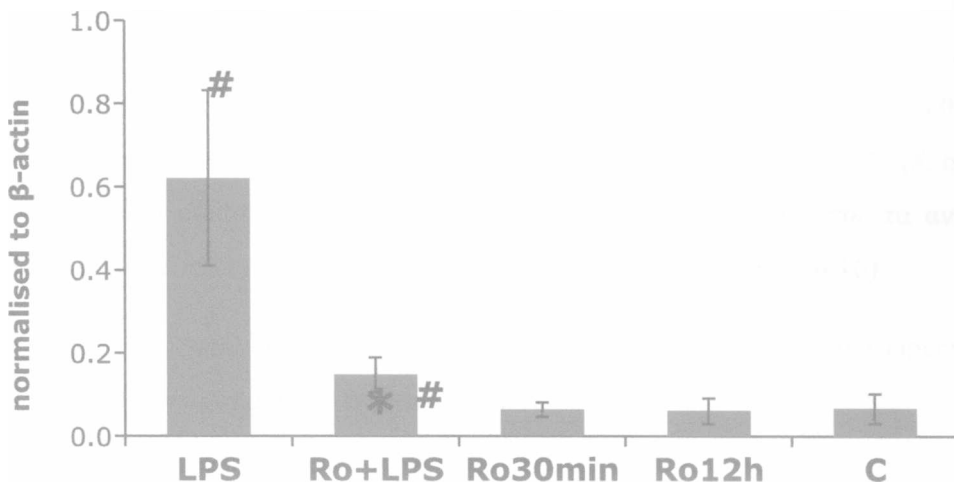
Οι ομάδες της ροσιγλιταζόνης (χορήγηση 30min και 12h πλέον των 3 ωρών πριν τη θανάτωση) δεν προκάλεσαν σημαντικές αλλαγές.

Hipp/rCOX-2 mRNA levels after rosiglitazone and LPS co-treatment



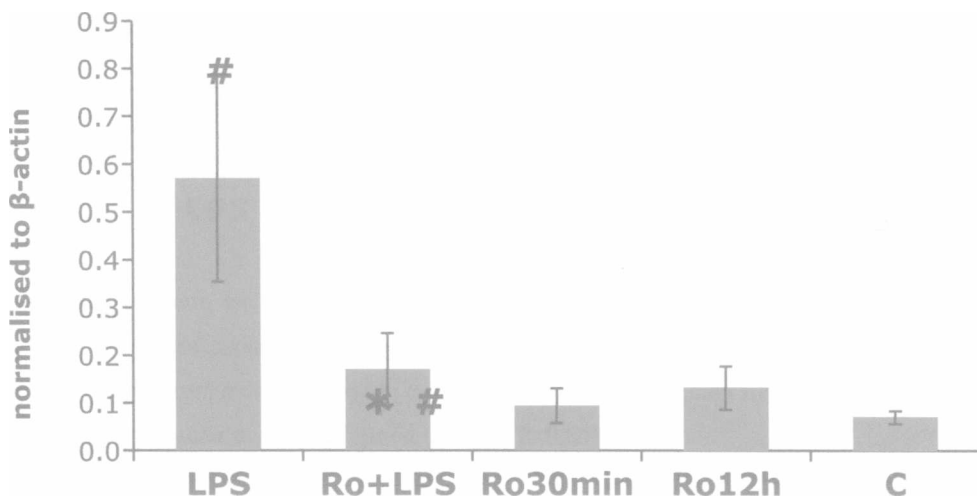
Σχήμα 20. Επίδραση της ροσιγλιταζόνης στην επαγωγή του mRNA της rCOX-2 από το LPS, στον ιππόκαμπο. Τα αποτελέσματα έχουν κανονικοποιηθεί με βάση την β -ακτίνη.

Hipp/rIL-1b mRNA levels after rosiglitazone and LPS co-treatment



Σχήμα 21. Επίδραση της ροσιγλιταζόνης στην επαγωγή του mRNA της rIL-1b από το LPS, στον ιππόκαμπο. Τα αποτελέσματα έχουν κανονικοποιηθεί με βάση την β-ακτίνη. Ο αστερίσκος δηλώνει στατιστικά σημαντική αλλαγή σε σχέση με την ομάδα αναφοράς (ομάδα LPS, για $P < 0.05$), ενώ η δίεση σε σχέση με την ομάδα αναφοράς (ομάδα LPS, για $P < 0.05$).

Hipp/rIL-6 mRNA levels after rosiglitazone and LPS co-treatment

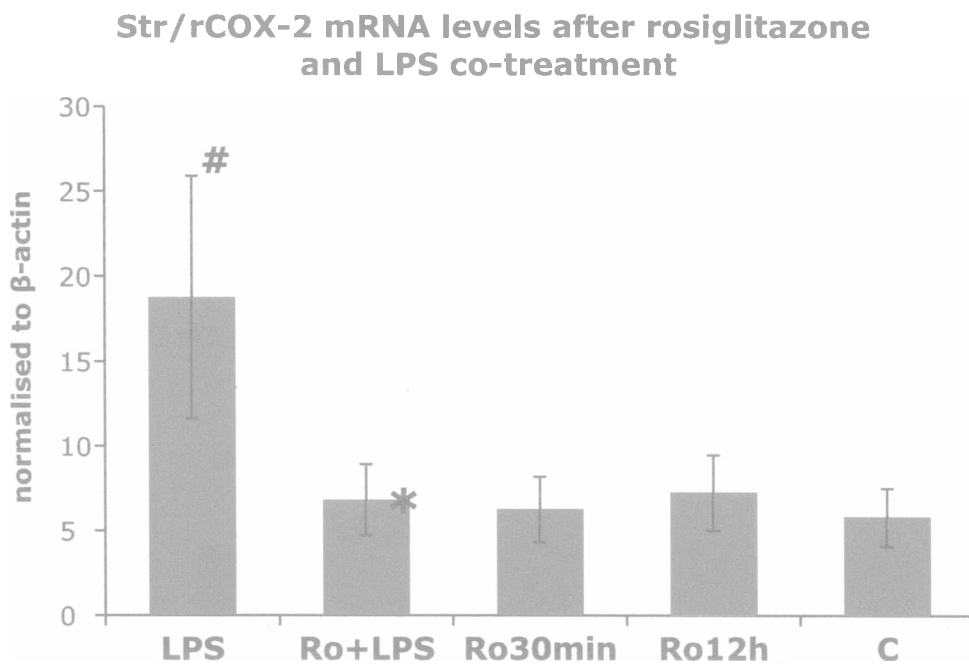


Σχήμα 22. Επίδραση της ροσιγλιταζόνης στην επαγωγή του mRNA της rIL-6 από το LPS, στον ιππόκαμπο. Τα αποτελέσματα έχουν κανονικοποιηθεί με βάση την β-ακτίνη. Ο αστερίσκος δηλώνει στατιστικά σημαντική αλλαγή σε σχέση με την ομάδα αναφοράς (ομάδα LPS, για $P < 0.05$), ενώ η δίεση σε σχέση με την ομάδα αναφοράς (ομάδα LPS, για $P < 0.05$).

B3. Γονίδια φλεγμονής στο ραβδωτό

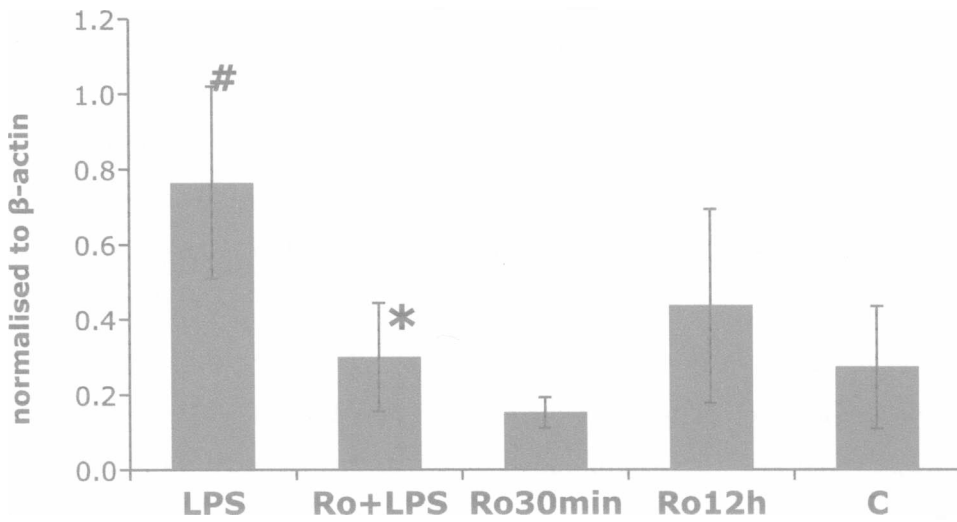
Στο ραβδωτό, η προ-χορήγηση της ροσιγλιταζόνης προκάλεσε μείωση των αυξημένων από τον LPS επιπέδων mRNA της rCOX-2, της rIL-1b και της rIL-6 (Σχήμα 23 έως 25). Οι μειώσεις αυτές είναι στατιστικά σημαντικές (*, $P < 0.05$), οι δε αυξήσεις του mRNA των τριών αυτών γονιδίων που προκάλεσε το LPS (#, σε σχέση με την ομάδα control) είναι στατιστικά σημαντικές επιβεβαιώνοντας τα αντίστοιχα αποτελέσματα του πρώτου μέρους της μελέτης (Σχήματα 14, 15 και 16).

Οι ομάδες της ροσιγλιταζόνης (χορήγηση 30min και 12h πλέον των 3 ωρών πριν τη θανάτωση) δεν προκάλεσαν σημαντικές αλλαγές.



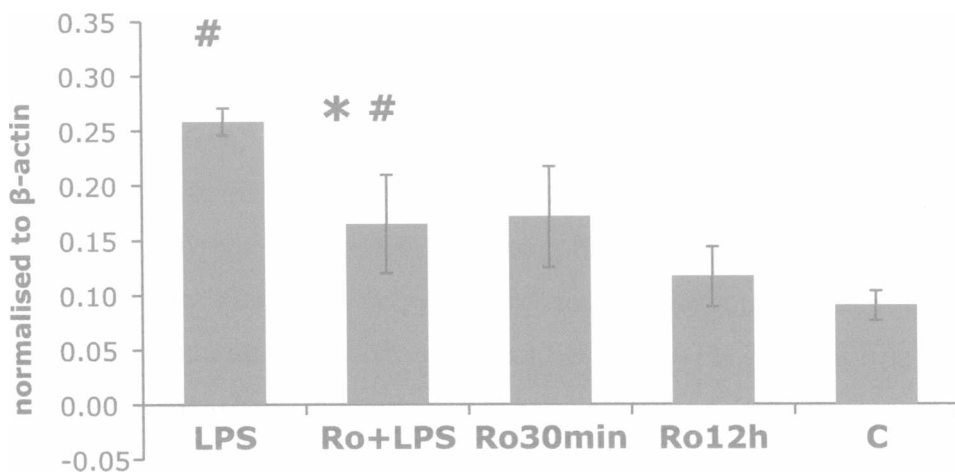
Σχήμα 23. Επίδραση της ροσιγλιταζόνης στην επαγωγή του mRNA της rCOX-2 από το LPS, στο ραβδωτό. Τα αποτελέσματα έχουν κανονικοποιηθεί με βάση την β -ακτίνη. Ο αστερίσκος δηλώνει στατιστικά σημαντική αλλαγή σε σχέση με την ομάδα αναφοράς (ομάδα LPS, για $P < 0.05$), ενώ η δίεση σε σχέση με την ομάδα αναφοράς (ομάδα LPS, για $P < 0.05$).

Str/rIL-1b mRNA levels after rosiglitazone and LPS co-treatment



Σχήμα 24. Επίδραση της ροσιγλιταζόνης στην επαγωγή του mRNA της rIL-1b από το LPS, στο ραβδωτό. Τα αποτελέσματα έχουν κανονικοποιηθεί με βάση την β -ακτίνη. Ο αστερίσκος δηλώνει στατιστικά σημαντική αλλαγή σε σχέση με την ομάδα αναφοράς (ομάδα LPS, για $P < 0.05$), ενώ η δίεση σε σχέση με την ομάδα αναφοράς (ομάδα LPS, για $P < 0.05$).

Str/rIL-6 mRNA levels after rosiglitazone and LPS co-treatment



Σχήμα 25. Επίδραση της ροσιγλιταζόνης στην επαγωγή του mRNA της rIL-6 από το LPS, στο ραβδωτό. Τα αποτελέσματα έχουν κανονικοποιηθεί με βάση την β -ακτίνη. Ο αστερίσκος δηλώνει στατιστικά σημαντική αλλαγή σε σχέση με την ομάδα αναφοράς (ομάδα LPS, για $P < 0.05$), ενώ η δίεση σε σχέση με την ομάδα αναφοράς (ομάδα LPS, για $P < 0.05$).

5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τις δύο τελευταίες δεκαετίες έχει υποστηριχτεί με ιδιαίτερη θέρμη η άποψη ότι μεταξύ ανοσοποιητικού συστήματος και Κ.Ν.Σ. υπάρχει αλληλεπίδραση σε πολλαπλά επίπεδα. Ο εγκέφαλος δεν θεωρείται πλέον το κυρίαρχο όργανο στην άμυνα του οργανισμού. Επιπρόσθετα, το ανοσοποιητικό σύστημα δεν δρα ως μία αυτόνομη μονάδα, αλλά η λειτουργία του σχετίζεται με επιδράσεις από το Κ.Ν.Σ. [223]. Όταν ο οργανισμός βρεθεί αντιμέτωπος με ένα λοιμογόνο παράγοντα ή με ένα φλεγμονώδες ερέθισμα τότε αυτός απαντά με μία πληθώρα διαφορετικών αμυντικών μηχανισμών που καταδεικνύουν μία αμφίδρομη επικοινωνία μεταξύ Κ.Ν.Σ. και ανοσοποιητικού. Έτσι, ο εγκέφαλος ρυθμίζει τις διαδικασίες που λαμβάνουν χώρα στο ανοσοποιητικό σύστημα μέσω των νευρομεταβιβαστών και των ενδοκρινών ορμονών [223], ενώ οι κυτταροκίνες IL-1, IL-2 και IL-6 και ο ογκονεκρωτικός παράγοντας-α (TNFα) που παράγονται από συγκεκριμένους κυτταρικούς πληθυσμούς του ανοσοποιητικού συστήματος προκαλούν μεταβολές σε επίπεδο Κ.Ν.Σ., δηλαδή αλλαγές οι οποίες σχετίζονται με τις νευροενδοκρινείς, αυτόνομες και συμπεριφορικές διαδικασίες [23].

Σε ένα πρώτο στάδιο, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, ενεργοποιείται το ανοσοποιητικό σύστημα προκαλώντας μεταξύ άλλων και την έκκριση κυτταροκινών στην κυκλοφορία του αίματος. Αυτή η διέγερση του ανοσοποιητικού έχει ως επακόλουθο και την αύξηση των κυκλοφορούντων γλυκοκορτικοειδών, τα οποία με τη σειρά τους ενισχύουν ακόμα περισσότερο την απάντηση του οργανισμού [224-225]. Κάθε φλεγμονή, από την απλή μέχρι την σοβαρή, συνοδεύεται από φυσιολογικές αλλαγές στη συμπεριφορά όπως είναι ο πυρετός, η απώλεια της όρεξης, η κόπωση και η κοινωνική αδιαφορία. Για όλες αυτές τις αλλαγές της συμπεριφοράς που παρατηρούνται κατά την ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος, καθιερώθηκε η ονομασία με τον όρο «sickness behaviour» [24,226] και στις μέρες μας θεωρούνται ιδιαίτερος σημαντικοί μηχανισμοί τους οποίους χρησιμοποιεί ο οργανισμός για να αντιμετωπίσει μία λοίμωξη ή μία φλεγμονώδη δράση.

Στην παρούσα μελέτη, για πρώτη φορά αναδεικνύεται ο ρυθμιστικός ρόλος του αγωνιστή των υποδοχέων PPAR γ ροσιγλιταζόνη στον περιορισμό της ενεργοποίησης του γονιδίου της *cCOX-2* σε συγκεκριμένα τμήματα του εγκεφάλου επίμυων Wistar. Η ροσιγλιταζόνη είναι αγωνιστής των PPAR γ και κατά συνέπεια, οι

υποδοχείς αυτοί ρυθμίζουν το φλεγμονώδες γονιδιακό προφίλ τμημάτων εγκεφάλου επίμυων.

Η πλειοψηφία των εργασιών που πραγματεύονται τη λειτουργία της κυκλοξυγενάσης στον εγκέφαλο αναφέρεται στην COX-2 ύστερα και από την διαπίστωση του Yamagata ότι το ένζυμο αυτό ρυθμίζεται κατά τη συναπτική δραστηριότητα [74]. Είναι γνωστό ότι η συναπτική δραστηριότητα προκαλεί μακροχρόνιες μεταβολές στην συνδετικότητα και τον φαινότυπο των νευρώνων [227,228] επιδρώντας στο σχηματισμό των νευρικών συνδέσεων κατά την ανάπτυξη του Κ.Ν.Σ., στη μάθηση και τη μνήμη και στους μηχανισμούς επιδιόρθωσης και αναγέννησης των νευρικών συνδέσεων. Κατά τη συναπτική δραστηριότητα η πρώτη απάντηση του νευρικού συστήματος επέρχεται με την ενεργοποίηση των IEGs [229, 77] που αποτελεί τον αρχικό καταρράκτη έκφρασης γονιδίων μετά από τη συναπτική διέγερση. Με τη χρήση των τεχνικών κλωνοποίησης η COX-2 αναγνωρίστηκε ως ένα IEG του οποίου η έκφραση στον εγκέφαλο επάγεται ακαριαία με τη συναπτική δραστηριότητα [74].

Παράλληλα με τον περιορισμό των επιπέδων mRNA της rCOX-2, η ροσιγλιταζόνη περιορίσε και την μεταφραστική ικανότητα των ιντερλευκινών rIL-1b και rIL-6 σε μεγαλύτερο βαθμό από ότι στην κυκλοξυγενάση. Η δράση αυτή της ροσιγλιταζόνης στις ιντερλευκίνες ήταν όχι μόνο ποσοτική (ισχυρότερη αναστολή) αλλά και ποιοτική, με την έννοια ότι εκφράστηκε και στις τρεις δομές του εγκεφάλου των επίμυων (υποθάλαμος, ιπόκαμπος και ραβδωτό σώμα). Δεν μπορεί να αποκλιστεί η περίπτωση η επίδραση της ροσιγλιταζόνης στον rCOX-2 να είναι συνέπεια της επίδρασης στην IL-1b αφού είναι γνωστό ότι σε κατάσταση φλεγμονής, η ενεργοποίηση της COX-2 είναι συνέπεια της προηγούμενης ενεργοποίησης της IL-1b.

Η επαγωγική δράση του λιποπολυσακχαρίτη LPS στα γονίδια της φλεγμονής, αν και έχει αναφερθεί πολλές φορές από πολλές ερευνητικές ομάδες (βλέπε Εισαγωγή), αποδείχθηκε ιδιαίτερος ισχυρή όπως δηλώνουν τα αποτελέσματα του πρώτου πειραματικού πρωτοκόλλου (Σχήμα 3 έως και Σχήμα 16). Η δόση και η οδός χορήγησης του LPS έχουν χρησιμοποιηθεί και άλλες ομάδες. Η χορήγηση όμως της ροσιγλιταζόνης 30min πριν την ενεργοποίηση φλεγμονωδών αντιδράσεων στο Κ.Ν.Σ.

από τον LPS, και ο περιορισμός του φαινομένου εξαιτίας του αγωνιστή του PPAR γ αναφέρεται για πρώτη φορά στη βιβλιογραφία.

Βέβαια, η παρούσα μελέτη απέτυχε να προσδιορίσει τα επίπεδα mRNA του υποδοχέα PPAR γ τον οποίο ενεργοποιεί η ροσιγλιταζόνη, ενώ υπάρχουν αναφορές στη βιβλιογραφία για τα επίπεδα PPAR γ σε τμήματα εγκεφάλου σαν κι αυτά που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη. Ο πιθανότερος λόγος για τον μη προσδιορισμό του PPAR γ είναι το ζευγάρι των προαγωγών (primers) που χρησιμοποιήθηκαν για την ανάλυση των δειγμάτων με qRT-PCR. Σε επόμενη φάση της μελέτης, θα παραγγελθούν και θα χρησιμοποιηθούν άλλο ζευγάρι primers που κωδικοποιούν σε διαφορετική θέση στο γονίδιο της *cCOX-2* του επίμυου.

Ένα άλλο ενδιαφέρον σημείο της μελέτης είναι η μη-φλεγμονώδης μορφή της *cCOX-1*. Πιθανώς εξαιτίας του γεγονότος ότι αποτελεί τον μηχανισμό παραγωγής και απελευθέρωσης προσταγλανδινών με ρόλο φυσιολογικό, ο λιποπολυσακχαρίτης LPS απέτυχε να αλλάξει τα επίπεδα της *cCOX-1* σε οποιονδήποτε από τους 3 ιστούς-τμήματα του εγκεφάλου των επίμυων.

Τόσο η πρωτεΐνη, όσο και το *COX-2* mRNA βρίσκονται σε υψηλά επίπεδα στους νευρώνες του εγκεφαλικού φλοιού [74, 75]. Αυτή η σταθερή έκφραση του ενζύμου αντανakλά τη νευρωνική απάντηση στη φυσιολογική συναπτική δραστηριότητα, όπως αυτό συμβαίνει και στα άλλα IEGs [77]. Η νευρωνική πλαστικότητα εξάλλου, ρυθμίζεται από τη διεγερτική γλουταμεργική συναπτική διαβίβαση μέσω των N-μεθυλ-D-ασπαρτικο- γλουταμεργικών (NMDA) υποδοχέων. Τα βασικά επίπεδα έκφρασης της *COX-2* θεωρείται ότι εξαρτώνται από την ενεργοποίηση των NMDA υποδοχέων, όπως αποδεικνύεται και από τη μείωση των βασικών επιπέδων του ενζύμου στο φλοιό και τον ιππόκαμπο μετά από τη χορήγηση ενός ανταγωνιστή των NMDA υποδοχέων, του MK-801 [74]. Αντίστοιχα, η NMDA-εξαρτώμενη έκφραση της *COX-2* αυξάνεται κατά την εφαρμογή δυναμικού ενεργείας υψηλής συχνότητας σε νευρώνες της ιπποκάμειας περιοχής με αποτέλεσμα την μακροπρόθεσμη ενίσχυση και την ενδυνάμωση των συνάψεων. Λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω, καθώς και τον εντοπισμό της *COX-2* στις δενδριτικές άκανθες πιθανολογείται ότι η *COX-2* διαδραματίζει ένα ρόλο στη νευρωνική πλαστικότητα. Πράγματι, εδώ και αρκετά χρόνια το AA και οι μεταβολίτες του είχαν εμπλακεί στη συναπτική πλαστικότητα [230- 233].

Το AA παράγεται στον εγκέφαλο ως απάντηση στην ενεργοποίηση των γλουταμεργικών υποδοχέων [234-236] και ως απάντηση στη συναπτική διέγερση κατά την εφαρμογή μακροπρόθεσμου δυναμικού σε μοντέλα μελέτης της νευρωνικής πλαστικότητας [237]. Επιπλέον, μετά από μία αιφνίδια προσβολή παρατηρείται δραματική αύξηση των PGs στον εγκέφαλο εντός λίγων λεπτών, συσχετίζοντας έτσι, την νευρωνική ενεργοποίηση με τη σύνθεση των PGs [238-243]. Οι PGs φαίνεται ότι ρυθμίζουν με κάποιο μηχανισμό την απελευθέρωση των νευρομεταβιβαστών [244, 245] και συνεπώς και τη νευροδιαβίβαση στο Κ.Ν.Σ.

Σχετικά πρόσφατα, αναφέρθηκε ότι η αναστολή της COX-2 έχει ως αποτέλεσμα την αναίρεση των εκδηλώσεων της παθητικής αποφυγής που χρησιμοποιείται ως πειραματικό μοντέλο μάθησης [246]. Ένας πιθανός όμως ρόλος της COX-2 στη νευροπλαστικότητα αντιτίθεται στο γεγονός ότι η χορήγηση αναστολέων της COX σε δόσεις που είναι ικανοποιητικές για την αναστολή των COX-1 και COX-2 δεν προκαλούν διαταραχές στην αντίληψη και τη μνήμη. Ακολούθως, κατά την εφαρμογή μοντέλων μακροπρόθεσμης ενίσχυσης στον ιππόκαμπο, η χορήγηση ινδομεθακίνης σε δόση που να περιορίζει τα αυξημένα -εξ αιτίας ενός εγκεφαλικού επεισοδίου - επίπεδα των PGs στον ιππόκαμπο, δεν φαίνεται να επηρεάζει ούτε την επαγωγή, αλλά ούτε και τη διάρκεια της συναπτικής πλαστικότητας [74]. Αν και η χρήση ποντικών στα οποία γενετικά δεν εκφράζεται η COX-2 θα αποτελούσε ένα χρήσιμο εργαλείο για την μελέτη της νευροπλαστικότητας εντούτοις, η εμφάνιση πρόωρης και προχωρημένης νεφρικής ανεπάρκειας στα πειραματόζωα αυτά, δυσκολεύει μια τέτοια μελέτη.

Ένας μηχανισμός που ενδεχομένως να εξηγεί τον τρόπο με τον οποίο τα παράγωγα του AA σχετίζονται με την νευροπλαστικότητα είναι η σύζευξή τους με τους ενεργοποιημένους NMDA υποδοχείς στη μεμβράνη του νευρώνα που οδηγεί στην επαγωγή των IEGs μέσα στον πυρήνα του κυττάρου. Οι Lerea και McNamara (1993) αναφέρουν ότι τόσο η φωσφολιπάση A2 (PLA2) όσο και η COX-2 είναι απαραίτητες για την εξαρτώμενη από τους NMDA υποδοχείς, επαγωγή του c-fos - ενός IEG - στους νευρώνες της οδοντωτής έλικας υποδεικνύοντας ένα ρόλο για την COX-2 στη σηματοδότηση από την κυτταρική μεμβράνη στον πυρήνα του κυττάρου. Εξάλλου, οι ίδιοι ερευνητές σε μία επόμενη μελέτη υποστηρίζουν ότι η PGF2α καθίσταται απαραίτητη αλλά όχι αρκετή για την εξαρτώμενη από τους NMDA υποδοχείς, επαγωγή του c-fos [247]. Σύμφωνα με την θεωρία τους η διέγερση των

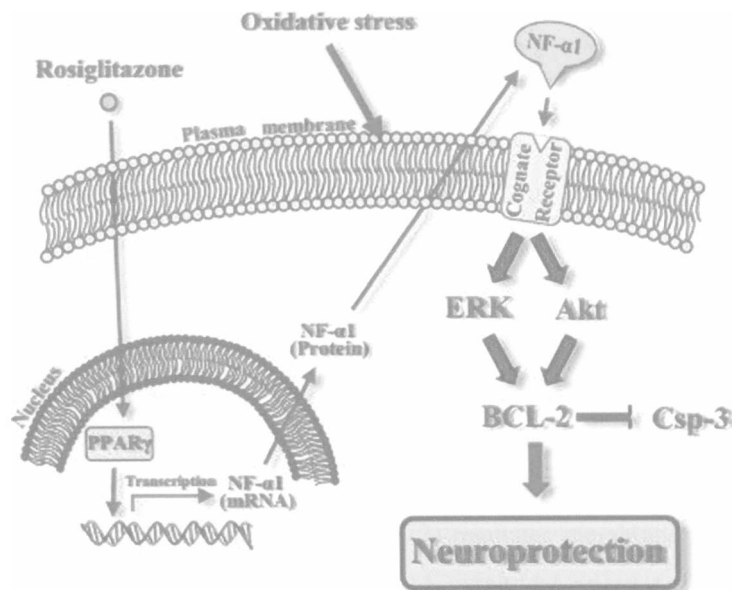
NMDA υποδοχέων αυξάνει την ενδοκυττάρια συγκέντρωση των ιόντων ασβεστίου (Ca^{2+}) η οποία προκαλεί ενεργοποίηση της PLA2 και συνεπώς απελευθέρωση του AA [248]. Η σύνθεση της PGF2α πιθανολογείται ότι λαμβάνει χώρα τοπικά, μέσα στις δενδριτικές άκανθες του νευρώνα όπου εντοπίζονται τόσο οι NMDA υποδοχείς όσο και η COX-2 [76]. Παρ' όλο που ο μηχανισμός με τον οποίο η PGF2α ρυθμίζει την έκφραση των IEGs δεν έχει γίνει μέχρι σήμερα γνωστός εντούτοις, στο σηματοδοτικό μονοπάτι που πυροδοτούν οι PGs, συμμετέχουν συγκεκριμένοι υποδοχείς των PGs. Ειδικότερα, ο PGF2α υποδοχέας αποτελεί μέλος της διαμεμβρανικής G πρωτεΐνης και βρίσκεται αν αφθονία στον εγκέφαλο [96, 97]. Ένας ακόμη πιθανός μηχανισμός που εμπλέκεται στους περιφερικούς ιστούς είναι η απ' ευθείας σύνδεση των PGs με μεταγραφικούς παράγοντες [249].

Όλα αυτά εξηγούν το έντονο ενδιαφέρον των ερευνητών για τη μελέτη των γεγονότων εκείνων που σηματοδοτεί η ενεργοποίηση των PGF2α υποδοχέων [247]. Η COX-2 επάγεται εντόνως στις εγκεφαλικές περιοχές του φλοιού κάτω από ορισμένες συμπεριφορικές και φυσικές στρεσογόνες καταστάσεις όπως η εξαναγκασμένη κολύμβηση [74], τα μοντέλα πρόκλησης πυρετού [86,87,88] τα εγκεφαλικά επεισόδια [250, 251], η 'spreading depression' [252] και οι επιληπτικές κρίσεις [74, 241, 253]. Αντίστοιχα, η έκφραση της COX-2 στον εγκέφαλο ρυθμίζεται από μια σειρά διαφορετικών σημάτων παραδείγματα των οποίων αναφέρονται στη συνέχεια και τα οποία συσχετίζονται με διάφορες παθήσεις.

Είναι ευρύτερα γνωστό ότι η COX-2 στο περιφερικό σύστημα αναστέλλεται από τα γλυκοκορτικοειδή [254]. Στο Κ.Ν.Σ. τα γλυκοκορτικοειδή μειώνουν τη βασική έκφραση της COX-2 στις περιοχές του φλοιού [74]. Επιπλέον, η χορήγηση γλυκοκορτικοειδών ελλατώνει τα επίπεδα του COX-2 mRNA στο φλοιό όχι όμως και στον ιπόκαμπο. Ο Adams και οι συνεργάτες του σε μία εργασία τους [255] αναφέρουν την επαγωγή της COX-2 στο νεοφλοιό μετά από ενδοκρανική έγχυση μιας τοξίνης, του καϊνικού οξέος στον πρόσθιο φλοιό. Η επαγωγή αυτή περιορίζεται είτε μπλοκάροντας τους NMDA υποδοχείς είτε με τη χορήγηση λαμοτριγίνης, ενός αναστολέα απελευθέρωσης γλουταμικού οξέος ή ακόμη και με τη χορήγηση γλυκοκορτικοειδών. Στα ίδια συμπεράσματα από τη δράση του καϊνικού οξέος καταλήγουν και άλλοι ερευνητές [86]. Οι Marcheselli και Bazan (1996) υποστήριξαν ότι η έγχυση του καϊνικού οξέος στον ιπόκαμπο προκαλεί μία μακρόχρονη και έντονη επαγωγή της COX-2 η οποία περιορίζεται σε μεγάλο βαθμό από ανταγωνιστές

του παράγοντα ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (PAF). Όλες οι παραπάνω μελέτες υποδηλώνουν ότι η έκφραση της COX-2 στον εγκέφαλο μεταβάλλεται από μία πληθώρα διαφορετικών φυσιολογικών και παθοφυσιολογικών ερεθισμάτων.

Συμπερασματικά, σε συνδυασμό με τον προτεινόμενο μηχανισμό συσχέτισης των αυξημένων επιπέδων κυτοκινών, ενεργοποίησης του ανοσοποιητικού, μείωσης της νευρογένεσης και την τελική σύνδεση με την κατάθλιψη (δες Εισαγωγή, Σχήμα 2), ένας υποθετικός μηχανισμός που εξηγεί τη συμμετοχή της ροσιγλιταζόνης σε διαδικασίες νευροπροστασίας παρουσιάζεται στο Σχήμα 26 [256] σύμφωνα με το οποίο η ενεργοποίηση του PPAR γ από αγωνιστές τύπου ροσιγλιταζόνης θα μπορούσε να βοηθήσει στην αντιμετώπιση και περιορισμό παθολογικών καταστάσεων με υπόβαθρο νευροφλεγμονής όχι μόνο ενεργοποιώντας πορείες τύπου NF- α 1 (παρακάτω Σχήμα 26) αλλά και περιορίζοντας την ενεργοποίηση γονιδίων φλεγμονής (rCOX-2) μειώνοντας έτσι την παραγωγή της αντίστοιχης πρωτεΐνης της φλεγμονής (πρωτεΐνη rCOX-2).



Σχήμα 26. [256].

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Goodman C.S., Shatz C.J. Developmental mechanisms that generate precise patterns of neuronal connectivity. *Cell/Neuron* 1993, 72/10: 77-98.
2. Cronstein B.N., Weissmann G. The adhesion of inflammation. *Arthritis Rheum.* 1993, 36:147-157.
3. Centers for Disease Control and Prevention. Health, United States; National Center for Health Statistics: Hyattsville, MD, USA, 2010.
4. Alzheimer's Association. Alzheimer's disease Facts and Figures, 2010. *Alzheimer's Dementia*, 2010, 6, 158-194.
5. Levine, D.B.; Fahrbach, K.R.; Siderowf, A.D.; Estok, R.P.; Ludensky, V.M.; Ross, S.D. *Diagnosis and Treatment of Parkinson's Disease: A Systematic Review of the Literature*; Agency for Healthcare Research and Quality: Rockville, MD, USA, 2003.
6. Graeber, M.B.; Streit, W.J. Microglia: Biology and pathology. *Acta Neuropathol.* 2010, 119, 89-105.
7. . Griffin, W.S.T.; Sheng, J.G.; Royston, M.C.; Gentleman, S.M.; McKenzie, J.E.; Graham, D.I.; Roberts, G.W.; Mrak, R.E. Glial-neuronal interactions in Alzheimer's disease: The potential role of a "cytokine cycle" in disease progression. *Brain Pathol.* 1998, 8, 65-72.
8. Cacquevel, M.; Lebeurrier, N.; Cheenne, S.; Vivien, D. Cytokines in neuroinflammation and Alzheimer's disease. *Curr. Drug Targets* 2004, 5, 529-534.
9. Shaftel, S.S.; Griffin, W.S.T.; O'Banion, M.K. The role of interleukin-1 in neuroinflammation and Alzheimer disease: An evolving perspective. *J. Neuroinflamm.* 2008, 5, 12.
10. Cimino, P.J.; Keene, C.D.; Breyer, R.M.; Montine, K.S.; Montine, T.J. Therapeutic targets in prostaglandin E-2 signaling for neurologic disease. *Curr. Med. Chem.* 2008, 15, 1863-1869.
11. Chen, C.; Bazan, N.G. Endogenous PGE(2) regulates membrane excitability and synaptic transmission in hippocampal CA1 pyramidal neurons. *J. Neurophysiol.* 2005, 93, 929-941.
12. . Chen, C.; Magee, J.C.; Bazan, N.G. Cyclooxygenase-2 regulates prostaglandin E-2 signaling in hippocampal long-term synaptic plasticity. *J. Neurophysiol.* 2002, 87, 2851-2857.
13. Le, T.D.; Shirai, Y.; Okamoto, T.; Tatsukawa, T.; Nagao, S.; Shimizu, T.; Ito, M. Lipid signaling in cytosolic phospholipase A(2)alpha-cyclooxygenase-2 cascade

- mediates cerebellar long-term depression and motor learning. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 2010, 107, 3198–3203.
14. Savonenko, A.; Munoz, P.; Melnikova, T.; Wang, Q.; Liang, X.; Breyer, R.M.; Montine, T.J.; Kirkwood, A.; Andreasson, K. Impaired cognition, sensorimotor gating, and hippocampal long-term depression in mice lacking the prostaglandin E2 EP2 receptor. *Exp. Neurol.* 2009, 217, 63–73.
 15. Hein, A.M.; O'Banion, M.K. Neuroinflammation and memory: The role of prostaglandins. *Mol. Neurobio.* 2009, 40, 15–32.
 16. Shie, F.S.; Montine, K.S.; Breyer, R.M.; Montine, T.J. Microglial EP2 is critical to neurotoxicity from activated cerebral innate immunity. *Glia* 2005, 52, 70–77.
 17. Takemiya, T.; Maehara, M.; Matsumura, K.; Yasuda, S.; Sugiura, H.; Yamagata, K. Prostaglandin E-2 produced by late induced COX-2 stimulates hippocampal neuron loss after seizure in the CA3 region. *Neurosci. Res.* 2006, 56, 103–110.
 18. Brown, G.C.; Bal-Price, A. Inflammatory neurodegeneration mediated by nitric oxide, glutamate, and mitochondria. *Mol. Neurobiol.* 2003, 27, 325–355.
 19. Calabrese, V.; Bates, T.E.; Stella, A.M.G. NO synthase and NO-dependent signal pathways in brain aging and neurodegenerative disorders: The role of oxidant/antioxidant balance. *Neurochem. Res.* 2000, 25, 1315–1341.
 20. Dawson, V.L.; Dawson, T.M. Nitric oxide in neurodegeneration. *Prog. Brain Res.* 1998, 118, 215–229.
 21. Bateman A., Singh A., Kral T., Solomon S. The immune-hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Endocr. Rev.* 1989, 10:92-112.
 22. Dunn A.J. Interleukin-1 as stimulator of hormone secretion. *Prog. Neuroendocrinimmunol.* 1990, 3: 26-34.
 23. Besedovsky H.O., Del Rey A. Immune neuroendocrine circuits: integrative role of cytokines. *Front. Neuroendocr.* 1992, 13: 61-94.
 24. Hart B.L. Biological basis of the behavior of sick animals. *Neurosc. Biobehav. Rev.* 1988, 12: 123-137.
 25. Kabiersh A., Del Rey A., Honegger C.G., Besedovsky H.O. Interleukin-1 induces changes in norepinephrine metabolism in the rat brain. *Brain Behav. Immunol.* 1988, 2: 267-274.
 26. Dunn A.J. Systemic interleukin-1 administration stimulates hypothalamic norepinephrine metabolism paralleling the increased plasma corticosterone. *Life Science* 1988, 43: 429-435.
 27. Mefford I.N., Masters C.F., Heyes M.P., Eskay R.L. Cytokine-induced activation of the neuroendocrine stress axis persists in endotoxin-tolerant mice. *Brain Res.* 1991, 557: 327-330.

28. Mohankumar P.S., Quadri S.K. Systemic administration of interleukin-1 stimulates norepinephrine release in the paraventricular nucleus. *Life Science* 1993, 52: 1961-1967.
29. Shintani F., Kanba S., Nakaki T., Nibuya M., Kinoshita N., Suzuki E., Yagi G., Kato R., Asai M. Interleukin-1 β augments release of norepinephrine, dopamine, and serotonin in the rat anterior hypothalamus. *J. Neuroscience* 1993, 13: 3574-3581.
30. Linthorst A.C.E., Reul J.M.H.M. Inflammation and brain function under basal conditions and during long-term elevation of brain corticotropin-releasing hormone levels. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1999, 62: 129-152.
31. Rothwell N.J. Functions and mechanisms of interleukin-1 in the brain. *Trends Pharmacol. Sciences* 1991, 12: 430-436.
32. Kent S., Bluthé R.M., Kelly K.W., Dantzer R. Sickness behavior as a new target for drug development. *Trends Pharmacol. Science* 1992, 13: 24-28.
33. Kushner I. The phenomenon of the acute phase response. *Ann. N.Y. Acad. Science* 1982, 389: 39-48.
34. Chan C.C., Boyce S., Brideau C., Charleson S., Cromlish W., Ethier D., Evans J., Ford-Hutchinson A.W., Forrest M.J., Gauthier J.Y., Gordon R., Gresser M., Guay J., Kargman S., Kennedy B., Leblanc Y., Leger S., Mancini J., O'Neill G.P., Ouellet M., Patrick D., Percival M.D., Perrier H., Prasit P., Rodger I., et al. Rofecoxib [Vioxx, MK-0966; 4-(4'-methylsulfonylphenyl)-3-phenyl-2-(5H)-furanone]: a potent and orally active cyclooxygenase-2 inhibitor. Pharmacological and biochemical profiles. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1999 290: 551-560.
35. Otterness I.G., Bliven M.L. Laboratory models for testing nonsteroidal antiinflammatory drugs. In *Nonsteroidal antiinflammatory drugs*. Edited by: Lombardino J., Groton G. 1985, 112-251.
36. Fletcher D.S., Widmer W.R., Luell S., Christen A., Orevillo C., Shah S., Visco D. Therapeutic administration of a selective inhibitor of nitric oxide synthase does not ameliorate the chronic inflammation and tissue damage associated with adjuvant-induced arthritis in rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1998, 284: 714-721.
37. Kronfol Z, Remick DG. Cytokines and the brain: implications for clinical psychiatry. *Am J Psychiatry* 2000; 157: 683-694 [PMID: 10784457 DOI: 10.1176/appi.ajp.157.5.683]
38. Felger JC, Miller AH. Neurotherapeutic implications of brain-immune interactions. *Neuropsychopharmacology* 2014; 39: 242-243 [PMID: 24317319 DOI: 10.1038/npp.2013.213]

39. Watkins LR, Nguyen KT, Lee JE, Maier SF. Dynamic regulation of proinflammatory cytokines. *Adv Exp Med Biol* 1999; 461: 153-178 [PMID: 10442173 DOI: 10.1007/978-0-585-37970-8_10]
40. Calogero AE, Gallucci WT, Chrousos GP, Gold PW. Catecholamine effects upon rat hypothalamic corticotropin-releasing hormone secretion in vitro. *J Clin Invest* 1988; 82: 839-846 [PMID: 2901433 DOI: 10.1172/jci113687]
41. Tracey KJ. The inflammatory reflex. *Nature* 2002; 420: 853-859 [PMID: 12490958 DOI: 10.1038/nature01321]
42. Dantzer R, O'Connor JC, Freund GG, Johnson RW, Kelley KW. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nat Rev Neurosci* 2008; 9: 46-56 [PMID: 18073775 DOI: 10.1038/nrn2297]
43. Gądek-Michalska A, Tadeusz J, Rachwalska P, Bugajski J. Cytokines, prostaglandins and nitric oxide in the regulation of stressresponse systems. *Pharmacol Rep* 2013; 65: 1655-1662 [PMID: 24553014 DOI: 10.1016/S1734-1140(13)71527-5]
44. Wong ML, Bongiorno PB, Gold PW, Licinio J. Localization of interleukin-1 beta converting enzyme mRNA in rat brain vasculature: evidence that the genes encoding the interleukin-1 system are constitutively expressed in brain blood vessels. *Pathophysiological implications. Neuroimmunomodulation* 1995; 2: 141-148 [PMID: 8646563 DOI: 10.1159/000096884]
45. Freidin M, Bennett MV, Kessler JA. Cultured sympathetic neurons synthesize and release the cytokine interleukin 1 beta. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 10440-10443 [PMID: 1279679 DOI: 10.1073/pnas.89.21.10440]
46. Maier SF, Watkins LR. Cytokines for psychologists: implications of bidirectional immune-to-brain communication for understanding behavior, mood, and cognition. *Psychol Rev* 1998; 105: 83-107 [PMID: 9450372 DOI: 10.1037/0033-295X.105.1.83]
47. Goshen I, Yirmiya R. Interleukin-1 (IL-1): a central regulator of stress responses. *Front Neuroendocrinol* 2009; 30: 30-45 [PMID: 19017533 DOI: 10.1016/j.yfrne.2008.10.001]
48. Khairova RA, Machado-Vieira R, Du J, Manji HK. A potential role for pro-inflammatory cytokines in regulating synaptic plasticity in major depressive disorder. *Int J Neuropsychopharmacol* 2009; 12: 561-578 [PMID: 19224657 DOI: 10.1017/s1461145709009924]
49. Ziebell JM, Morganti-Kossmann MC. Involvement of pro- and antiinflammatory cytokines and chemokines in the pathophysiology of traumatic brain injury.

- Neurotherapeutics 2010; 7: 22-30 [PMID: 20129494 DOI: 10.1016/j.nurt.2009.10.016]
50. Rothwell NJ, Luheshi G, Toulmond S. Cytokines and their receptors in the central nervous system: physiology, pharmacology, and pathology. *Pharmacol Ther* 1996; 69: 85-95 [PMID: 8984509 DOI: 10.1016/0163-7258(95)02033-0]
 51. Anisman H, Merali Z. Cytokines, stress and depressive illness: brain-immune interactions. *Ann Med* 2003; 35: 2-11 [PMID: 12693607 DOI: 10.1080/07853890310004075]
 52. Schiepers OJ, Wichers MC, Maes M. Cytokines and major depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2005; 29: 201-217 [PMID: 15694227 DOI: 10.1016/j.pnpbp.2004.11.003]
 53. Horikawa N, Yamazaki T, Izumi N, Uchihara M. Incidence and clinical course of major depression in patients with chronic hepatitis type C undergoing interferon-alpha therapy: a prospective study. *Gen Hosp Psychiatry* 2003; 25: 34-38 [PMID: 12583926 DOI: 10.1016/S0163-8343(02)00239-6]
 54. Capuron L, Gummnick JF, Musselman DL, Lawson DH, Reemsnyder A, Nemeroff CB, Miller AH. Neurobehavioral effects of interferon-alpha in cancer patients: phenomenology and paroxetine responsiveness of symptom dimensions. *Neuropsychopharmacology* 2002; 26: 643-652 [PMID: 11927189 DOI: 10.1016/S0893-133X(01)00407-9] WJP|www.wjgnet.com 291 September 22, 2016|Volume 6|Issue 3| Jeon SW et al. Neuroinflammation in depression
 55. Bull SJ, Huezio-Diaz P, Binder EB, Cubells JF, Ranjith G, Maddock C, Miyazaki C, Alexander N, Hotopf M, Cleare AJ, Norris S, Cassidy E, Aitchison KJ, Miller AH, Pariante CM. Functional polymorphisms in the interleukin-6 and serotonin transporter genes, and depression and fatigue induced by interferon-alpha and ribavirin treatment. *Mol Psychiatry* 2009; 14: 1095-1104 [PMID: 18458677 DOI: 10.1038/mp.2008.48]
 56. Myint AM, Leonard BE, Steinbusch HW, Kim YK. Th1, Th2, and Th3 cytokine alterations in major depression. *J Affect Disord* 2005; 88: 167-173 [PMID: 16126278 DOI: 10.1016/j.jad.2005.07.008]
 57. Lee KM, Kim YK. The role of IL-12 and TGF-beta1 in the pathophysiology of major depressive disorder. *Int Immunopharmacol* 2006; 6: 1298-1304 [PMID: 16782542 DOI: 10.1016/j.intimp.2006.03.015]
 58. Leonard BE. HPA and immune axes in stress: involvement of the serotonergic system. *Neuroimmunomodulation* 2006; 13: 268-276 [PMID: 17709948 DOI: 10.1159/000104854]

59. Besedovsky HO, del Rey A. The cytokine-HPA axis feed-back circuit. *Z Rheumatol* 2000; 59 Suppl 2: II/26-II/30 [PMID: 11155800 DOI: 10.1007/s003930070014]
60. Raison CL, Borisov AS, Majer M, Drake DF, Pagnoni G, Woolwine BJ, Vogt GJ, Massung B, Miller AH. Activation of central nervous system inflammatory pathways by interferon-alpha: relationship to monoamines and depression. *Biol Psychiatry* 2009; 65: 296-303 [PMID: 18801471 DOI: 10.1016/j.biopsych.2008.08.010]
61. Silverman MN, Pearce BD, Biron CA, Miller AH. Immune modulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis during viral infection. *Viral Immunol* 2005; 18: 41-78 [PMID: 15802953 DOI: 10.1089/vim.2005.18.41]
62. Kubera M, Maes M, Holan V, Basta-Kaim A, Roman A, Shani J. Prolonged desipramine treatment increases the production of interleukin-10, an anti-inflammatory cytokine, in C57BL/6 mice subjected to the chronic mild stress model of depression. *J Affect Disord* 2001; 63: 171-178 [PMID: 11246093 DOI: 10.1016/S0165-0327(00)00182-8]
63. Song C, Lin A, Bonaccorso S, Heide C, Verkerk R, Kenis G, Bosmans E, Scharpe S, Whelan A, Cosyns P, de Jongh R, Maes M. The inflammatory response system and the availability of plasma tryptophan in patients with primary sleep disorders and major depression. *J Affect Disord* 1998; 49: 211-219 [PMID: 9629951 DOI: 10.1016/S0165-0327(98)00025-1]
64. Vogelzangs N, Duijvis HE, Beekman AT, Kluft C, Neuteboom J, Hoogendijk W, Smit JH, de Jonge P, Penninx BW. Association of depressive disorders, depression characteristics and antidepressant medication with inflammation. *Transl Psychiatry* 2012; 2: e79 [PMID: 22832816 DOI: 10.1038/tp.2012.8]
65. Suzuki E, Shintani F, Kanba S, Asai M, Nakaki T. Induction of interleukin-1 beta and interleukin-1 receptor antagonist mRNA by chronic treatment with various psychotropics in widespread area of rat brain. *Neurosci Lett* 1996; 215: 201-204 [PMID: 8899748 DOI: 10.1016/0304-3940(96)12985-2]
66. Nabriski D, Saperstein A, Brand H, Jain R, Zwickler D, Hutchinson B, Rosenzweig S, Hollander CS, Audhya T. Role of corticotropinreleasing factor in immunosuppression. *Trans Assoc Am Physicians* 1991; 104: 238-247 [PMID: 1668987]
67. Glover AT, Shaw SM, Williams SG, Fildes JE. Can inflammation be an independent predictor of depression? *Brain Behav Immun* 2010; 24: 173; author reply 174-175 [PMID: 19932747 DOI: 10.1016/j.bbi.2009.11.008]

68. Leonard BE, Myint A. Inflammation and depression: is there a causal connection with dementia? *Neurotox Res* 2006; 10: 149-160 [PMID: 17062376 DOI: 10.1007/BF03033243]
69. Ting KK, Brew BJ, Guillemin GJ. Effect of quinolinic acid on human astrocytes morphology and functions: implications in Alzheimer's disease. *J Neuroinflammation* 2009; 6: 36 [PMID: 20003262 DOI: 10.1186/1742-2094-6-36]
70. Ekdahl CT, Kokaia Z, Lindvall O. Brain inflammation and adult neurogenesis: the dual role of microglia. *Neuroscience* 2009; 158: 1021-1029 [PMID: 18662748 DOI: 10.1016/j.neuroscience.2008.06.052]
71. Kaneko N, Kudo K, Mabuchi T, Takemoto K, Fujimaki K, Wati H, Iguchi H, Tezuka H, Kanba S. Suppression of cell proliferation by interferon-alpha through interleukin-1 production in adult rat dentate gyrus. *Neuropsychopharmacology* 2006; 31: 2619-2626 [PMID: 16823390 DOI: 10.1038/sj.npp.1301137]
72. Koo JW, Duman RS. IL-1beta is an essential mediator of the antineurogenic and anhedonic effects of stress. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105: 751-756 [PMID: 18178625 DOI: 10.1073/pnas.0708092105]
73. Monje ML, Toda H, Palmer TD. Inflammatory blockade restores adult hippocampal neurogenesis. *Science* 2003; 302: 1760-1765 [PMID: 14615545 DOI: 10.1126/science.1088417]
74. Yamagata K., Andreasson K., Kaufmann W.E., Barnes C.A., Worley P.F. Expression of a mitogen-inducible cyclooxygenase in brain neurons: regulation by synaptic activity and glucocorticoids. *Neuron* 1993, 11:371-386.
75. Breder C.D., DeWitt D., Krang R.P. Characterization of inducible cyclooxygenase in rat brain. *J. Comp. Neurology* 1995,355:296-315.
76. Kaufmann W.E., Worley P.F., Pegg J., Bremer M., Isakson P. COX-2, a synaptically induced enzyme is expressed by excitatory neurons at postsynaptic sites in rat cerebral cortex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1996, 93:2317-2321.
77. Worley P.F., Bhat R.V., Baraban J.M., Ericson C.A., McNaughton B.L., Barnes C.A. Thresholds for synaptic activation for transcription factors in hippocampus: correlations with long-term enhancement. *J. Neuroscience* 1993, 13:4776-4786.
78. Andreasson K., Worley P.F. Induction of β -A activin expression by synaptic activity and during neocortical development. *Neuroscience* 1995,69: 781-796.
79. Lyford G., Yamagata K., Kaufmann W.E., Barnes C.A., Sanders L.K., Copeland N.G., Gilbert D.J., Jenkins N.A., Lanahan A.A., Worley P.F. Arc a growth factor and activity-regulated gene encodes a novel cytoskeleton associated protein that is enriched in dendritic spines. *Neuron* 1995, 14: 433-445.

80. O'Neil G.P., Ford-Hutchinson A.W. Expression of mRNA cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 in human tissues. *FEBS Lett.* 1993, 330: 156-160
81. Peri K.G., Hardy P., Li D.Y., Varma D.R., Chemtob S. Prostaglandin G/H synthase-2 is a major contributor of brain prostaglandins in the newborn. *J. Biol. Chem.* 1995, 270: 24615-24620.
82. O'Banion M.K., Miller J.C., Chang J.W., Kaplan M.D., Coleman P.D. Interleukin-1 beta induces prostaglandin G/H synthase-2 (cyclooxygenase-2) in primary murine astrocytes. *J. Neurochem.* 1996, 66: 2532-2540.
83. Matsuo Y., Izumiyama M., Onodera H., Kurosawa A., Kogure K. Effect of a novel thromboxane A₂ receptor antagonist, S-1452, on postischemic brain injury in rats. *Stroke* 1993, 24: 2059-2064.
84. Althaus H.H., Siepl C. Oligodendrocytes isolated from adult pig brain synthesise and release prostaglandins. *Cell Tissue Res.* 1997, 287: 135-141.
85. Fiebich B.L., Biber K., Lieb K., Van Calker D., Berger M., Bauer J., Gebickehaerter P.J. Cyclooxygenase-2 expression in rat microglia is induced by adenosine A_{2a}-receptors. *Glia* 1996, 18: 152-160.
86. Cao C., Matsumura K., Yamagata K., Watanabe Y. Induction by lipopolysaccharide of cyclooxygenase-2 mRNA in rat brain; its possible role in the febrile response. *Brain Res.* 1995, 697:187-196.
87. Breder C.D., Saper C.B. Expression of inducible cyclooxygenase mRNA in the mouse brain after systemic administration of bacterial lipopolysaccharide. *Brain Res.* 1996, 713: 64-69.
88. Cao C., Matsumura K., Yamagata K., Watanabe Y. Endothelial cells of the rat brain vasculature express cyclooxygenase-2 mRNA in response to systemin interleukin-1 beta: a possible role of prostaglandin synthesis responsible for fever. *Brain Res.* 1996, 733:263-272.
89. Otto J., Smith W. The orientation of prostaglandin endoperoxide synthases-1 and -2 in the endoplasmic reticulum. *J. Biol. Chem.* 1994, 269: 19868-19875.
90. Matsumura K., Watanabe Y., Imai-Matsumura K., Connolly M., Koyama Y., Onoe H., Watanabe Y. Mapping of prostaglandin E₂ binding sites in rat brain using quantitative autoradiography. *Brain Res.* 1992, 581: 292-298.
91. Sugimoto Y., Namba T., Honda A., Hayashi Y., Negishi M., Ichikawa A., Narumiya S. Cloning and expression of a cDNA for mouse prostaglandin E receptor EP₃ subtype. *J. Biol. Chem.* 1992, 267: 6463-6466.
92. Narumiya S. Prostanoid receptors: Structure, function and distribution. *Ann. N.Y. Acad. Science* 1994, 744: 126-138.

93. Sugimoto Y., Hasumoto K., Namba T. Cloning and expression of a cDNA for mouse prostaglandin F receptor. *J. Biol Chem.* 1994a, 269: 1356-1360.
94. Batshake B., Nilsson C., Sundelin J. Molecular characterization of the mouse prostanoid EP1 receptor gene. *Eur. L. Biochem.* 1995, 231: 809-814.
95. Matsumura K., Watanabe Y., Onoe H., Watanabe Y. Prostacyclin receptor in the brain and central terminals of the primary sensory neurons: an autoradiographic study using a stable prostacyclin analogue [³H]iloprost. *Neuroscience* 1995, 65: 493-503.
96. Kitanaka J., Hashimoto H., Sugimoto Y. Cloning and expression of a cDNA for rat prostaglandin F2alpha receptor. *Prostaglandins* 1994, 48: 31-41.
97. Sugimoto Y., Shigemoto R., Namba T., Negishi M., Mizuno N., Narumiya S., Ichikawa A. Distribution of the messenger RNA for the prostaglandin E receptor subtype EP3 in the mouse nervous system. *Neuroscience* 1994b, 62: 919-928.
98. S. Yatsuga, A. Suomalainen, *Hum. Mol. Genet.* 21 (2012) 526.
99. R. Marion-Letellier, G. Savoye, S. Ghosh, *Eur. J. Pharmacol.* (2015).
100. P.J. Brown, T.A. Smith-Oliver, P.S. Charifson, N.C. Tomkinson, A.M. Fivush, D.D. Sternbach, L.E. Wade, L. Orband-Miller, D.J. Parks, S.G. Blanchard, S.A. Kliewer, J.M. Lehmann, T.M. Willson, *Chem. Biol.* 4 (1997) 909.
101. Q. Jiang, M. Heneka, G.E. Landreth, *CNS Drugs* 22 (2008) 1.
102. M.T. Heneka, G.E. Landreth, M. Hull, *Nat. Clin. Pract. Neurol.* 3 (2007) 496.
103. S. Chigurupati, S.A. Dhanaraj, P. Balakumar, *Eur. J. Pharmacol.* 755 (2015) 50.
104. S. Kersten, J. Seydoux, J.M. Peters, F.J. Gonzalez, B. Desvergne, W. Wahli, *J. Clin. Investig.* 103 (1999) 1489.
105. E.P. Mottillo, A.E. Bloch, T. Leff, J.G. Granneman, *J. Biol. Chem.* 287 (2012) 25038.
106. J.E. Rame, L.A. Barouch, M.N. Sack, E.G. Lynn, M. Abu-Asab, M. Tsokos, S.J. Kern, J.J. Barb, P.J. Munson, M.K. Halushka, K.L. Miller, K. Fox-Talbot, J. Zhang, J.M. Hare, M.A. Solomon, R.L. Danner, *Physiol. Genom.* 43 (2011) 726.
107. F.A. Monsalve, R.D. Pyarasani, F. Delgado-Lopez, R. Moore-Carrasco, *Mediat. Inflamm.* 2013 (2013) 549627.
108. H.J. Lee, S.S. Choi, M.K. Park, Y.J. An, S.Y. Seo, M.C. Kim, S.H. Hong, T.H. Hwang, D.Y. Kang, A.J. Garber, D.K. Kim, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 296 (2002) 293.
109. N. Baregamian, J.M. Mourot, A.R. Ballard, B.M. Evers, D.H. Chung, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 379 (2009) 423.
110. L. Wang, J. Zhu, S. Shan, Y. Qin, Y. Kong, J. Liu, Y. Wang, Y. Xie, *Cell Res.* 18 (2008) 911.

111. L. Enayatfard, F. Rostami, S. Nasoohi, S. Oryan, A. Ahmadiani, L. Dargahi, *Neuromolecular Med.* (2013).
112. C.S. Yeh, F.Y. Chung, C.J. Chen, W.J. Tsai, H.W. Liu, G.J. Wang, S.R. Lin, *DNA Cell Biol.* 27 (2008) 623.
113. S.S. Chung, M. Kim, B.S. Youn, N.S. Lee, J.W. Park, I.K. Lee, Y.S. Lee, J.B. Kim, Y.M. Cho, H.K. Lee, K.S. Park, *Mol. Cell Biol.* 29 (2009) 20.
114. D. Marmolino, M. Manto, F. Acquaviva, P. Vergara, A. Ravella, A. Monticelli, M. Pandolfo, *PLoS One* 5 (2010) e10025.
115. I. Autiero, S. Costantini, G. Colonna, *PLoS One* 4 (2009) e7350.
116. N. Vu-Dac, K. Schoonjans, V. Kosykh, J. Dallongeville, R.A. Heyman, B. Staels, J. Auwerx, *Mol. Cell Biol.* 16 (1996) 3350.
117. M. Buler, S.M. Aatsinki, R. Skoumal, J. Hakkola, *Biochem. Pharmacol.* 82 (2011) 2008.
118. D.P. Arcari, W. Bartchewsky, T.W. dos Santos, K.A. Oliveira, A. Funck, J. Pedrazzoli, M.F. de Souza, M.J. Saad, D.H. Bastos, A. Gambero, O. Carvalho Pde, M.L. Ribeiro, *Obes. (Silver Spring)* 17 (2009) 2127.
119. S. Sookoian, M.S. Rosselli, C. Gemma, A.L. Burgueno, T. Fernandez Gianotti, G.O. Castano, C.J. Pirola, *Hepatology* 52 (2010) 1992.
120. P. Liang, B. Jiang, X. Huang, W. Xiao, P. Zhang, X. Yang, J. Long, X. Xiao, X. Huang, *Wound Repair Regen.* 16 (2008) 691.
121. T. Deng, S. Shan, P.P. Li, Z.F. Shen, X.P. Lu, J. Cheng, Z.Q. Ning, *Endocrinology* 147 (2006) 875.
122. L. Escribano, A.M. Simon, A. Perez-Mediavilla, P. Salazar-Colocho, J. Del Rio, D. Frechilla, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 379 (2009) 406.
123. R. Bordet, T. Ouk, O. Petrault, P. Gele, S. Gautier, M. Laprais, D. Deplanque, P. Duriez, B. Staels, J.C. Fruchart, M. Bastide, *Biochem. Soc. Trans.* 34 (2006) 1341.
124. Y.H. Niu, R.T. Yi, H.L. Liu, T.Y. Chen, S.L. Zhang, Y.R. Zhao, *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi* 19 (2011) 511.
125. H.M. Lee, H.J. Kang, H.H. Park, S.C. Hong, J.K. Kim, J.H. Cho, *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* 118 (2009) 721.
126. R. Skerrett, M.P. Pellegrino, B.T. Casali, L. Taraboanta, G.E. Landreth, *J. Biol. Chem.* 290 (2015) 21591.
127. A. Yadav, S. Agarwal, S.K. Tiwari, R.K. Chaturvedi, *Curr. Pharm. Des.* 20 (2014) 5558.
128. S.K. Tiwari, R.K. Chaturvedi, *Curr. Med. Chem.* 21 (2014) 2610.
129. R. Bene, S. Antic, M. Budisic, M. Lisak, Z. Trkanjec, V. Demarin, S. PodobnikSarkanji, *Acta Clin. Croat.* 48 (2009) 377.

130. A. Elhamili, M. Wetterhall, A. Puerta, D. Westerlund, J. Bergquist, J. Chromatogr. A 1216 (2009) 3613.
131. M. Hasegawa, Biomolecules 6 (2016).
132. M. Benkler, N. Agmon-Levin, Y. Shoenfeld, Int. J. Neurosci. 119 (2009) 2133
133. A. Fuster-Matanzo, M. Llorens-Martin, F. Hernandez, J. Avila, Mediat. Inflamm. 2013 (2013) 260925.
134. G. Cappellano, M. Carecchio, T. Fleetwood, L. Magistrelli, R. Cantello, U. Dianzani, C. Comi, Am. J. Neurodegener. Dis. 2 (2013) 89.
135. K.H. Kang, H.H. Liou, M.J. Hour, H.C. Liou, W.M. Fu, Neuropharmacology 73C (2013) 380.
136. R. Niranjan, Mol. Neurobiol. (2013).
137. H. Fan, Y. Guo, X. Liang, Y. Yuan, X. Qi, M. Wang, J. Ma, H. Zhou, J. Biomed. Res. 27 (2013) 296.
138. J.J. Breunig, M.V. Guillot-Sestier, T. Town, Front. Aging Neurosci. 5 (2013) 26.
139. D. Tripathy, A. Sanchez, X. Yin, J. Luo, J. Martinez, P. Grammas, Front. Aging Neurosci. 5 (2013) 19.
140. T. Moller, J. Neural Transm. 117 (2010) 1001.
141. A. Silvestroni, R.L. Faull, A.D. Strand, T. Moller, Neuroreport 20 (2009) 1098.
142. W. Zhao, D.R. Beers, S.H. Appel, J. Neuroimmune Pharmacol. (2013).
143. I.M. Chiu, E.T. Morimoto, H. Goodarzi, J.T. Liao, S. O'Keeffe, H.P. Phatnani, M. Muratet, M.C. Carroll, S. Levy, S. Tavazoie, R.M. Myers, T. Maniatis, Cell Rep. (2013).
144. J. Bassaganya-Riera, K. Reynolds, S. Martino-Catt, Y. Cui, L. Hennighausen, F. Gonzalez, J. Rohrer, A.U. Benninghoff, R. Hontecillas, Gastroenterology 127 (2004) 777.
145. R.K. Chaturvedi, M. Flint Beal, Free Radic. Biol. Med. 63C (2013) 1.
146. R.B. Mounsey, H.L. Martin, M.C. Nelson, R.M. Evans, P. Teismann, Neuroscience 300 (2015) 576.
147. R. Falcone, T.M. Florio, E. Di Giacomo, E. Benedetti, L. Cristiano, A. Antonosante, A. Fidoamore, M. Massimi, M. Alecci, R. Ippoliti, A. Giordano, A. Cimini, J. Cell Biochem. 116 (2015) 844.
148. A.A. Martinez, M.G. Morgese, A. Pisanu, T. Macheda, M.A. Paquette, A. Seillier, T. Cassano, A.R. Carta, A. Giuffrida, Neurobiol. Dis. 74 (2015) 295.
149. A.R. Carta, T. Simuni, Expert Opin. Investig. Drugs 24 (2015) 219.
150. A. Pisanu, D. Lecca, G. Mulas, J. Wardas, G. Simbula, S. Spiga, A.R. Carta, Neurobiol. Dis. 71 (2014) 280.

151. J.K. Barbiero, R.M. Santiago, D.S. Persike, M.J. da Silva Fernandes, F.S. Tonin, C. da Cunha, S. Lucio Boschen, M.M. Lima, M.A. Vital, *Behav. Brain Res.* 274 (2014) 390.
152. J.K. Barbiero, R. Santiago, F.S. Tonin, S. Boschen, L.M. da Silva, M.F. Werner, C. da Cunha, M.M. Lima, M.A. Vital, *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 53 (2014) 35.
153. C.R. Swanson, E. Du, D.A. Johnson, J.A. Johnson, M.E. Emborg, *PPAR Res.* 2013 (2013) 582809.
154. T. Breidert, J. Callebert, M.T. Heneka, G. Landreth, J.M. Launay, E.C. Hirsch, *J. Neurochem.* 82 (2002) 615.
155. X. Zhang, M.C. Rodriguez-Galan, J.J. Subleski, J.R. Ortaldo, D.L. Hodge, J.M. Wang, O. Shimozaoto, D.A. Reynolds, H.A. Young, *Blood* 104 (2004) 3276.
156. T. Dehmer, M.T. Heneka, M. Sastre, J. Dichgans, J.B. Schulz, *J. Neurochem.* 88 (2004) 494.
157. K. Chaturvedi, M.F. Beal, *J. Neurochem.* 106 (2008) 506.
158. R.M. Cowell, K.R. Blake, T. Inoue, J.W. Russell, *Neurosci. Lett.* 439 (2008) 269.
159. C.B. Carroll, M.L. Zeissler, C.O. Hanemann, J.P. Zajicek, *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 38 (2012) 535.
160. M. Pinto, N. Nissanka, S. Peralta, R. Brambilla, F. Diaz, C.T. Moraes, *Mol. Neurodegener.* 11 (2016) 25
161. G.K. Ulusoy, T. Celik, H. Kayir, M. Gursoy, A.T. Isik, T.I. Uzbay, *Brain Res. Bull.* 85 (2011) 380.
162. I. Luptak, J.A. Balschi, Y. Xing, T.C. Leone, D.P. Kelly, R. Tian, *Circulation* 112 (2005) 2339.
163. J.C. Corona, S.C. de Souza, M.R. Duchon, *Exp. Neurol.* 253 (2014) 16.
164. A.R. Carta, L. Frau, A. Pisanu, J. Wardas, S. Spiga, E. Carboni, *Neuroscience* 194 (2011) 250.
165. Y.M. Lee, J.S. Choi, M.H. Kim, M.H. Jung, Y.S. Lee, J. Song, *Nutrition* 22 (2006) 956.
166. T.W. Jung, J.Y. Lee, W.S. Shim, E.S. Kang, S.K. Kim, C.W. Ahn, H.C. Lee, B.S. Cha, *Alcohol Alcohol* 41 (2006) 231.
167. T.W. Jung, J.Y. Lee, W.S. Shim, E.S. Kang, S.K. Kim, C.W. Ahn, H.C. Lee, B.S. Cha, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 340 (2006) 221.
168. T.W. Jung, J.Y. Lee, W.S. Shim, E.S. Kang, S.K. Kim, C.W. Ahn, H.C. Lee, B.S. Cha, *J. Neurol. Sci.* 253 (2007) 53.
169. H.E. Kocalis, M.K. Turney, R.L. Printz, G.N. Laryea, L.J. Muglia, S.S. Davies, G.D. Stanwood, O.P. McGuinness, K.D. Niswender, *PLoS One* 7 (2012) e42981.

170. C.I. Schnegg, M. Kooshki, F.C. Hsu, G. Sui, M.E. Robbins, *Free Radic. Biol. Med* 52 (2012) 1734.
171. H.J. Lim, S. Lee, J.H. Park, K.S. Lee, H.E. Choi, K.S. Chung, H.H. Lee, H.Y. Park, *Atherosclerosis* 202 (2009) 446.
172. M. Sadeghian, L. Marinova-Mutafchieva, L. Broom, J.B. Davis, D. Virley, A.D. Medhurst, D.T. Dexter, *J. Neuroimmunol.* 246 (2012) 69.
173. A. Iwashita, Y. Muramatsu, T. Yamazaki, M. Muramoto, Y. Kita, S. Yamazaki, K. Mihara, A. Moriguchi, N. Matsuoka, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 320 (2007) 1087.
174. E. Benetti, R. Mastrocola, M. Rogazzo, F. Chiazza, M. Aragno, R. Fantozzi, M. Collino, M.A. Minetto, *Mediat. Inflamm.* 2013 (2013) 509502.
175. N. Gill, K.R. Bijjem, P.L. Sharma, *Indian J. Pharmacol.* 45 (2013) 278.
176. E. Esposito, I. Paterniti, R. Meli, P. Bramanti, S. Cuzzocrea, *Spine (Phila Pa 1976)* 37 (2012) E73.
177. H.L. Martin, R.B. Mounsey, S. Mustafa, K. Sathe, P. Teismann, *Exp. Neurol.* 235 (2012) 528.
178. A. Kreisler, P. Gele, J.F. Wiart, M. Lhermitte, A. Destee, R. Bordet, *Brain Res.* 1135 (2007) 77.
179. Carrasco, D. Casper, P. Werner, *J. Neurosci. Res.* 81 (2005) 121.
180. I. Kurkowska-Jastrzebska, M. Babiuch, I. Joniec, A. Przybylkowski, A. Czlonkowski, A. Czlonkowska, *Int. Immunopharmacol.* 2 (2002) 1213.
181. S. Cuzzocrea, S. Bruscoli, E. Mazzon, C. Crisafulli, V. Donato, R. Di Paola, E. Velardi, E. Esposito, G. Nocentini, C. Riccardi, *Mol. Pharmacol.* 73 (2008) 323
182. G. Cipriani, S. Danti, M. Vedovello, A. Nuti, C. Lucetti, *Geriatr. Gerontol. Int.* (2013).
183. M. Zolezzi, N.C. Incestrosa, *Mol. Neurobiol.* (2013).
184. L. Longerich, R. Johnson, D. Brent, M.H. Gault, *Clin. Nephrol.* 34 (1990) 72.
185. G.E. Landreth, M.T. Heneka, *Neurobiol. Aging* 22 (2001) 937.
186. R.K. Sodhi, N. Singh, A.S. Jaggi, *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* 384 (2011) 115.
187. M.T. Heneka, M.P. Kummer, S. Weggen, B. Bulic, G. Multhaup, L. Munter, M. Hull, T. Pflanzner, C.U. Pietrzik, *Curr. Alzheimer Res.* 8 (2011) 115.
188. M. Yamanaka, T. Ishikawa, A. Griep, D. Axt, M.P. Kummer, M.T. Heneka, *J. Neurosci.* 32 (2012) 17321.
189. K. Bujold, K. Mellal, K.F. Zoccal, D. Rhinds, L. Brissette, M. Febbraio, S. Marleau, H. Ong, *Atherosclerosis* 229 (2013) 408.

190. A. Griciuc, A. Serrano-Pozo, A.R. Parrado, A.N. Lesinski, C.N. Asselin, K. Mullin, B. Hooli, S.H. Choi, B.T. Hyman, R.E. Tanzi, *Neuron* 78 (2013) 631.
191. S.J. Webster, A.D. Bachstetter, L.J. Van Eldik, *Alzheimers Res. Ther.* 5 (2013) 28.
192. P.M. LoRusso, S.A. Piha-Paul, M. Mita, A.D. Colevas, V. Malhi, D. Colburn
193. J.M. Zolezzi, C. Silva-Alvarez, D. Ordenes, J.A. Godoy, F.J. Carvajal, M.J. Santos, N.C. Inestrosa, *PLoS One* 8 (2013) e64019.
194. S. Mandrekar-Colucci, J.C. Karlo, G.E. Landreth, *J. Neurosci.* 32 (2012) 10117.
195. L.A. Denner, J. Rodriguez-Rivera, S.J. Haidacher, J.B. Jahrling, J.R. Carmical, C.M. Hernandez, Y. Zhao, R.G. Sadygov, J.M. Starkey, H. Spratt, B.A. Luxon, T.G. Wood, K.T. Dineley, *J. Neurosci.* 32 (2012) 16725.
196. Y. Yang, C. Shiao, J.F. Hemingway, N.L. Jorstad, B.R. Shalloway, R. Chang, C.D. Keene, *PLoS One* 8 (2013) e64246.
197. X. Wang, Y. Wang, J.P. Hu, S. Yu, B.K. Li, Y. Cui, L. Ren, L.D. Zhang, *Mol. Neurobiol.* (2016).
198. J. Liu, L.N. Wang, J.P. Jia, *Drugs Aging* 32 (2015) 57.
199. H. Zhang, Y. Gao, P.F. Qiao, F.L. Zhao, Y. Yan, *Int. J. Dev. Neurosci.* 38 (2014) 223.
200. S. Xu, G. Liu, X. Bao, J. Wu, S. Li, B. Zheng, R. Anwyl, Q. Wang, *J. Alzheimers Dis.* 39 (2014) 239.
201. P. Papadopoulos, P. Rosa-Neto, J. Rochford, E. Hamel, *PLoS One* 8 (2013) e68612.
202. R. Bordet, T. Ouk, O. Petrault, P. Gele, S. Gautier, M. Laprais, D. Deplanque, P. Duriez, B. Staels, J.C. Fruchart, M. Bastide, PPAR: a new pharmacological target for neuroprotection in stroke and neurodegenerative diseases, *Biochem. Soc. Trans.* 34 (2006) 1341e1346.
203. M. Allahtavakoli, R. Moloudi, M.K. Arababadi, A. Shamsizadeh, K. Javanmardi, Delayed post ischemic treatment with Rosiglitazone attenuates infarct volume, neurological deficits and neutrophilia after embolic stroke in rat, *Brain Res.* 1271 (2009) 121e127.
204. C. Gu, Y. Wang, J. Li, J. Chen, F. Yan, C. Wu, G. Chen, Rosiglitazone attenuates early brain injury after experimental subarachnoid hemorrhage in rats, *Brain Res.* 1624 (2015) 199e207.
205. A.R. Carta, PPAR-gamma: therapeutic prospects in Parkinson's disease, *Curr. Drug Targets* 14 (2013) 743e751.
206. Y.C. Chen, J.S. Wu, H.D. Tsai, C.Y. Huang, J.J. Chen, G.Y. Sun, T.N. Lin, Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR-gamma) and neurodegenerative disorders, *Mol. Neurobiol.* 46 (2012) 114e124.

207. E. Esposito, S. Cuzzocrea, Targeting the peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) in spinal cord injury, *Expert Opin. Ther. Targets* 15 (2011) 943e959.
208. Q.Q. Meng, X.J. Liang, P. Wang, X.P. Wang, J.W. Yang, Y.F. Wu, H.Y. Shen, Rosiglitazone enhances the proliferation of neural progenitor cells and inhibits inflammation response after spinal cord injury, *Neurosci. Lett.* 503 (2011) 191e195.
209. Lehmann J. M., Moore L. B., Smith-Oliver T. A., Wilkison W. O., Willson T. M. and Kliewer S. A. (1995) An antidiabetic thiazolidinedione is a high affinity ligand for peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR gamma). *J. Biol. Chem.* 270, 12953–12956.
210. Heneka M. T. and Landreth G. E. (2007) PPARs in the brain. *Biochim. Biophys. Acta* 1771, 1031–1045.
211. Luo Y., Yin W., Signore A. P., Zhang F., Hong Z., Wang S., Graham S. H. and Chen J. (2006) Neuroprotection against focal ischemic brain injury by the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonist rosiglitazone. *J. Neurochem.* 97, 435–448.
212. Ryan K. K., Li B., Grayson B. E., Matter E. K., Woods S. C. and Seeley R. J. (2011) A role for central nervous system PPAR-gamma in the regulation of energy balance. *Nat. Med.* 17, 623–626.
213. Qi L., Jacob A., Wang P. and Wu R. (2010) Peroxisome proliferator activated receptor-gamma and traumatic brain injury. *Int. J. Clin. Exp. Med.* 3, 283–292.
214. Yi J. H., Park S. W., Brooks N., Lang B. T. and Vemuganti R. (2008) PPARgamma agonist rosiglitazone is neuroprotective after traumatic brain injury via anti-inflammatory and anti-oxidative mechanisms. *Brain Res.* 1244, 164–172.
215. Giaginis C., Tsourouflis G. and Theocharis S. (2008) Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (PPAR-gamma) ligands: novel pharmacological agents in the treatment of ischemia reperfusion injury. *Curr. Mol. Med.* 8, 562–579.
216. Chen Y. C., Wu J. S., Tsai H. D., Huang C. Y., Chen J. J., Sun G. Y. and Lin T. N. (2012) Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR-gamma) and neurodegenerative disorders. *Mol. Neurobiol.* 46, 114–124.
217. Zhao X., Ou Z., Grotta J. C., Waxham N. and Aronowski J. (2006) Peroxisome-proliferator-activated receptor-gamma (PPARgamma) activation protects neurons from NMDA excitotoxicity. *Brain Res.* 1073–1074, 460–469.
218. Aoun P., Watson D. G. and Simpkins J. W. (2003) Neuroprotective effects of PPARgamma agonists against oxidative insults in HT-22 cells. *Eur. J. Pharmacol.* 472, 65–71.

219. Rasgon N. L., Kenna H. A., Williams K. E., Powers B., Wroolie T. and Schatzberg A. F. (2010) Rosiglitazone add-on in treatment of depressed patients with insulin resistance: a pilot study. *ScientificWorldJournal* 10, 321–328.
220. Eissa Ahmed A. A., Al-Rasheed N. M. and Al-Rasheed N. M. (2009) Antidepressant-like effects of rosiglitazone, a PPARgamma agonist, in the rat forced swim and mouse tail suspension tests. *Behav. Pharmacol.* 20, 635–642.
221. Sharma A. N., Elased K. M. and Lucot J. B. (2012) Rosiglitazone treatment reversed depression- but not psychosis-like behavior of db/db diabetic mice. *J. Psychopharmacol.* 26, 724–732.
222. Kapadia R., Yi J. H. and Vemuganti R. (2008) Mechanisms of antiinflammatory and neuroprotective actions of PPAR-gamma agonists. *Front. Biosci.* 13, 1813–1826.
223. Felten S.Y., Felten D.L. *Psychoneuroimmunology.*, Chapter: Innervation of lymphoid tissue. 1991, 2nd Ed.
224. Munck, A., Guyre P. M., et al. Physiological Functions of Glucocorticoids in Stress and Their Relation to Pharmacological Actions. *J. Endocr. Rev.* 1984, 5: 25-44.
225. Wieggers, G. J., Labeur, M. S. Glucocorticoids accelerate anti-T cell receptor-induced T cell growth. *J Immunol* 1995, 155(4): 1893-1902.
226. Dantzer R., Bluthé R.M., Kelley K.W. Androgen-dependent vasopressinergic neurotransmission attenuates interleukin-1-induced sickness behavior. *Brain Res.* 1991 557: 115-120.
227. Goodman C.S., Shatz C.J. Developmental mechanisms that generate precise patterns of neuronal connectivity. *Cell/Neuron* 1993, 72/10: 77-98.
228. Shatz C.J. Impulsive activity and the patterning of connections during CNS development. *Neuron* 1990, 5: 745-756.
229. Labiner D.M., Butler L.S., Cao Z., Hoford D.A., Shin C., McNamara J.O. Induction of c-fos mRNA by kindled seizures: complex relationship with neuronal burst-firing. *J. Neuroscience* 1993, 13: 744-751.
230. Schacher S., Kandel E.R., Montarolo P. cAMP and arachidonic acid stimulate long-term structural and functional changes produced by neurotransmitters in Aplysia sensory neurons. *Neuron* 1993, 10: 1079-88.
231. Volterra A. Arachidonic acid metabolites as mediators of synaptic modulation. *Cell Biol. Int. Rep.* 1989, 13: 1189-1199.
232. Piomelli D. Eicosanoids in synaptic transmission. *Crit. Rev. Neurobiol.* 1994, 8: 65-83.
233. Katsuki H., Okuda S. Arachidonic acid as a neurotoxic and neurotrophic substance. *Prog Neurobiol.* 1995, 46: 607-636.

234. Dumius A., Sebben M., Haynes L., Pin J.P., Bockaert J. NMDA receptors activate the arachidonic cascade system in striatal neurons. *Nature* 1988, 336: 68-70.
235. Dumius A., Pin J.P., Oomagari K., Sebben M., Bockaert J. Arachidonic acid released from striatal neurons by joint stimulation of ionotropic and metabotropic quisqualate receptors. *Nature* 1990, 347: 182-184.
236. Pellerin L., Wolfle. S. Release of arachidonic acid by NMDA-receptor activation in the rat hippocampus. *Neurochem. Res.* 1991, 16: 983-989.
237. Clements M.P., Bliss T.V., Lynch M.A. Increase in arachidonic acid concentration in a postsynaptic membrane fraction following the induction of long-term potentiation in the dentate gyrus. *Neuroscience* 1991, 45: 379-89.
238. Folco G.C., Longiave D., Bosisio E. Relations between prostaglandin E2, F2 alpha and nucleotides levels in rat brain and induction of convulsions. *Prostaglandins* 1977, 13: 893-900.
239. Seregi A., Folly G., Antal M., Serfozo P., Schaefer A. Studies on prostaglandin F2 alpha formation caused by pentamethylenetetrazol-induced convulsions in rat brain. *Prostaglandins* 1981, 21:217-226.
240. Seregi A., Forstermann U., Heldt R., Hertting G. The formation and regional distribution of prostaglandins D2 and F2 alpha in the brain of spontaneously convulsing gerbils. *Brain Res.* 1985, 337: 171-174.
241. Bazan N.G., Birkle D.I., Tang W., Reddy T.S. The accumulation of free arachidonic acid, dialcylglycerols, prostaglandins and lipoxygenase reaction products in the brain during experimental epilepsy. *Adv. Neurol.* 1986, 44: 879-902
242. Baran H., Heldt R., Hertting G. Increased prostaglandin formation in rat brain following systemic application of kainic acid. *Brain Res.* 1987, 404:107-112.
243. Lysz T.W., Centra M., Markey K., Keeting P.E. Evidence for increased activity of mouse brain fatty acid cyclooxygenase following drug induced convulsions. *Brain Res.* 1987, 408: 6-12.
244. Nicol G.D., Klingberg D.K., Vasko M.R. Prostaglandin E2 increases calcium conductance and stimulates release of substance P in avian sensory neurons. *J. Neuroscience* 1992, 12: 1917-1927.
245. Allgaier C., Meder W. Cultured chick sympathetic neurons: prostanoid EP1 receptor-mediated facilitation of noradrenaline release. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* 1995, 352: 447-450.
246. Holscher C. Inhibitors of cyclooxygenases produce amnesia for a passive avoidance task in the chick. *Eur. J Neuroscience* 1995, 7: 1360-1365.

247. Lerea L.S., Carlson N.G., Simonato M., Morrow J., Roberts J.L., McNamara J.O. prostaglandin F2alpha is required for NMDA receptor mediated induction of c-fos mRNA in dentate gyrus neurons. *J. Neuroscience* 1997, 17: 117-124
248. Lerea L.S., Butler L.S., McNamara J.O. NMDA and non-NMDA receptor mediated increase of c-fos mRNA in dentate gyrus neurons involves calcium influx via different routes. *J. Neuroscience* 1992, 12: 2971-2981.
249. Kliewer S.A., Lenhard J.M., Wilison T.M., Patel I., Morris D.C., Lehmann J.M. A prostaglandin J2 metabolite binds peroxisome proliferator-activated receptor γ and promotes adipocyte differentiation. *Cell* 1995, 83:813-819.
250. Iadecola C., Zhang F., Casey R., Clark H., Ross M. Inducible nitric oxide synthase gene expression in vascular cells following transient focal cerebral ischemia. *Stroke* 1996, 27: 1373-1380.
251. Nogawa S., Zhang F., Ross E., Iadecola C. Cyclooxygenase-2 gene expression in neurons contributes to ischemic brain damage. *J. Neuroscience* 1997, 17: 2746-1755.
252. Caggiano A.O., Kraig R.P. Eicosanoids and nitric oxide influence induction of reactive gliosis from spreading depression in microglia but not astrocytes. *J. Comp. Neurol.* 1996, 369: 93-108.
253. Bazan N.G., Allan G. Platelet-activation factor in the modulation of excitatory amino acid neurotransmitter release and of gene expression. *J. Lipid Mediat. Cell Signal* 1996, 14: 321-330.
254. Herschman H.R. Regulation of prostaglandin synthase-1 and prostaglandin synthase-2. *Cancer and Metastasis Rev.* 1994, 13: 241-256.
255. Adams J., Collaco-Moraes Y., Bellerocche G. Cyclooxygenase-2 induction in the cerebral cortex: an intracellular response to synaptic excitation. *J. Neurochem.* 1996, 66: 6-13.
256. Erwan Thouennon, Yong Cheng, Vida Falahatian, Niamh X. Cawley and Yoke Peng Loh Rosiglitazone-activated PPAR γ induce neurotrophic factor- $\alpha 1$ transcription contributing to neuroprotection, *JOURNAL OF NEUROCHEMISTRY* | 2015 | 134 | 463-470

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι υποδοχείς ενεργοποιημένου πολλαπλασιαστικού παράγοντα υπεροξυσωμάτων (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor, PPARs) συνιστούν πυρηνικούς υποδοχείς, που ρυθμίζουν αρνητικά τη δυσλειτουργία των μιτοχονδρίων και του πρωτεασώματος, του οξειδωτικού στρες και τη νευροφλεγμονή, που είναι οι κύριες αιτίες της παθολόγησης νευροεκφυλιστικών διαταραχών, όπως η νόσος Parkinson, η νόσος Alzheimer's, η νόσος Huntington και η Αμυοτροφική Πλευρική Σκλήρυνση, ενώ αποτελούν και σημαντικό θεραπευτικό στόχο για αυτές. Από την άλλη, οι PPAR αγωνιστές είναι νευροπροστατευτικοί και αυξάνουν τη λειτουργία των μιτοχονδρίων, συμβάλλοντας με τη σειρά τους στην ρύθμιση και πρόληψη διαφόρων φλεγμονών, στο μεταβολισμό της γλυκόζης και στον νευροπαθητικό πόνο.

Στόχος της δεδομένης έρευνας ήταν η μελέτη της γονιδιακής έκφρασης φλεγμονωδών παραγόντων σε τμήματα εγκεφάλου επίμυων. Διερευνήθηκαν αφενός η επίδραση του αγωνιστή του υποδοχέα PPAR γ στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα (Κ.Ν.Σ.) επίμυων, μέσω χρήσης πειραματικού μοντέλου πρόκλησης φλεγμονής από λιποπολυσακχαρίτη LPS, αφετέρου η σύνδεση της φλεγμονής και του Κ.Ν.Σ. με την πιθανή αντιφλεγμονώδη δράση του αγωνιστή των υποδοχέων PPAR γ , ροσιγλιταζόνη, γνωστού αντιδιαβητικού φαρμάκου.

Η διαδικασία περιελάμβανε δύο πειραματικά πρωτόκολλα, που τελικώς ανέδειξαν σαφώς ότι η επίδραση του LPS προκάλεσε σημαντική αύξηση του mRNA της rCOX-2 και των ιντερλευκινών IL-1b και IL-6 (5-, 17- και 8-φορές, αντίστοιχα), ενώ δεν επηρέασε καθόλου τις γονιδιακές εκφράσεις των rCOX-1 και rPPARa. Παράλληλα, από τη δεύτερη πειραματική συνθήκη, αποδείχθηκε ότι σε όλες τις επιλεγμένες δομές του εγκεφάλου η προ-χορήγηση της ροσιγλιταζόνης σε συνδυασμό με χορήγηση LPS, προκάλεσε σημαντική μείωση των αυξημένων από τον LPS επιπέδων mRNA είτε σε ορισμένα είτε σε όλα τα γονίδια (rCOX-2, rIL-1b ή/και rIL-6). Τέλος, η αποκλειστική χορήγηση ροσιγλιταζόνης δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντικές αλλαγές σε αυτά.

Συνολικά, από τα αποτελέσματα πορίζεται ο ρυθμιστικός ρόλος του αγωνιστή των υποδοχέων PPAR γ ροσιγλιταζόνη στον περιορισμό της ενεργοποίησης του γονιδίου της rCOX-2 και εντείνεται η αναγκαιότητα περαιτέρω πειραματικών μελετών.

Λέξεις κλειδιά: Φλεγμονή, rCOX-1, rCOX-2, PPARa, ροσιγλιταζόνη, LPS, rIL-1b, rIL-6, επίμυες, Κεντρικό Νευρικό Σύστημα

ABSTRACT

Peroxisome Proliferator-Activated Receptors (PPARs) are nuclear receptors that negatively regulate mitochondrial and proteasome dysfunction, oxidative stress and neuroinflammation, which are the main causes of the pathogenesis of neurodegenerative disorders such as Parkinson, Alzheimer's disease, Huntington's disease and ALS, and constitute important therapeutic goal for them. On the other hand, PPAR agonists are neuroprotective that increase mitochondrial function, also contributing to the regulation and prevention of various inflammatory, on glucose metabolism, and neuropathic pain.

The aim of the given research was the study of gene expression of inflammatory factors in rat brain sections. Firstly, it was investigated the effect of the PPAR γ receptor agonist in the Central Nervous System (CNS) of rats, by using of an experimental model of inflammation induction by lipopolysaccharide LPS, and then the connection of inflammation and CNS with the possible anti-inflammatory effect of the agonist of PPAR γ receptors, rosiglitazone, a well-known antidiabetic drug.

The procedure consisted of two experimental protocols, finally revealed clearly that the effect of LPS caused a significant increase in the mRNA of rCOX-2 and interleukins IL-1b and IL-6 (5-, 17-, and 8-fold, respectively), while hardly affected the gene expressions of rCOX-1 and rPPAR α . In addition, the second experimental condition proved that the pre-administration of rosiglitazone in combination with an administration of LPS in all selected brain structures, caused a significant reduction of elevated by LPS mRNA levels in some or all genes (rCOX-2, rIL-1b and / or rIL-6). Finally, the exclusive administration of rosiglitazone did not reveal statistically significant changes in them.

Overall, it was concluded by the results the regulatory role of PPAR receptor agonist rosiglitazone in limiting the activation of rCOX-2 gene and the stretched necessity of further experimental studies.

Keywords: *Inflammation, rCOX-1, rCOX-2, PPAR α , rosiglitazone, LPS, rIL-1b, rIL-6, rats, Central Nervous System*

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1. Ο ρόλος του δικτύου κυτοκίνης σε κατάθλιψη σε σχέση με το ανοσοποιητικό σύστημα, άξονας υποθαλάμου-υπόφυσης-επινεφριδίων, νευροδιαβιβαστών, και αυτόνομου νευρικού συστήματος. Το σχήμα δείχνει την επικοινωνία μεταξύ των περιφερειακών και κεντρικών συστημάτων κυτοκίνης. Πρόωρη έμφυτη προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες που απελευθερώνονται από μακροφάγα (TNF- α , IL-1, IL-6 και INF- α), και αργή απόκτηση κυτοκινών T κυττάρου (IL-2 και INF- γ) διεγείρει την έκκριση γλυκοκορτικοειδών ενεργώντας και στα τρία επίπεδα του άξονα HPA. Τα γλυκοκορτικοειδή είναι αρνητική ανατροφοδότηση επί του περιφερειακού ανοσοποιητικού συστήματος για να καταστείλει την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτοκινών. Τα γλυκοκορτικοειδή, επίσης, παίζουν σημαντικό ρόλο στην πρόκληση μετατόπισης από την κυτταρική (T-βοηθού 1) για χημικές (T-βοηθητικά 2) ανοσοαποκρίσεις. Οι κεντρικές κυτοκίνες συνήθως εκκρίνονται από το αστροκύτταρα ή μικρογλοία. Οι Κεντρικές κυτοκίνες (IL-1, IL-6, TNF- α , και IPN- γ) θεωρούνται ότι εμπλέκονται σε νευροπλαστικότητα στον εγκέφαλο. Οι νευροδιαβιβαστές (NA, ACH, και 5-HT) ρυθμίζουν τις κυτοκίνες περιφερικά αλλάζοντας το επίπεδο συγκέντρωσης κορτιζόλης. Η Ach, DA, και NA προάγουν την έκκριση της CRH στον υποθάλαμο, και η 5-HT αναστέλλει την έκκριση της CRH στον υποθάλαμο και την υπόφυση ACTH σε. Η ANS ρυθμίζει επίσης την παραγωγή περιφερειακών κυτοκινών. το παρασυμπαθητικό νεύρο φτάνει άμεσα το ανοσοποιητικό σύστημα, ενώ το συμπαθητικό νεύρο επηρεάζει το ανοσοποιητικό σύστημα μέσω της έκκρισης NA από τα περιφερικά συμπαθητικά γάγγλια. 5-HT: σεροτονίνη ACH: ακετυλοχολίνη ACTH: Αδρενοκορτικοτρόπος ορμόνη ANS: αυτόνομο νευρικό σύστημα CRH: παράγοντας απελευθέρωσης κορτικοτροπίνης DA: ντοπαμίνη HPA: Υποθάλαμος-υπόφυση-επινεφρίδια NA: Νοραδρεναλίνη PVN: παρακοιλιακός πυρήνας του υποθαλάμου TH: βοηθητικά T κυττάρων IL: ιντερλευκίνη TNF: παράγοντας νέκρωσης όγκου IFN: ιντερφερόνες.

Σχήμα 2. Σχηματική αναπαράσταση των νευροφλεγμονωδών οδών στην παθογένεση της κατάθλιψης. Η παραγωγή κυτοκίνης αρχικά ενεργοποιείται από στρες και ενεργοποίηση συμπαθητικού νευρικού συστήματος. Με τη σειρά του, οι κυτοκίνες έχουν ένα σημαντικό ρόλο δρώντας μέσω της οδού εξάντλησης νευροδιαβιβαστή, νευροενδοκρινικής οδού, και νευρικής πλαστικότητας οδό. Υπάρχουν πολλές

αλληλεπιδράσεις μεταξύ αυτών των οδών που υποδηλώνει την ύπαρξη ενός συμπλόκου μοντέλο για την παθογένεση της κατάθλιψης. 5-HT: σεροτονίνη BDNF: Brain νευροτροφικός παράγοντας που προέρχεται GR: υποδοχέας γλυκοκορτικοειδών HPA: υποθάλαμος-υπόφυση-επινεφρίδια IDO: ινδολοαμίνης-2,3-διοξυγενάση NMDA: N-μεθυλ-Daspartate.

Σχήμα 3. Συνολικά αποτελέσματα της δράσης του LPS στα γονίδια φλεγμονής rCOX-1, rCOX-2, rIL-1b, rIL-6 και rPPARa, στον υποθάλαμο. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται σε σχέση με το 100% (επίπεδα ομάδας ελέγχου). Ο αστερίσκος δηλώνει στατιστικά σημαντική αλλαγή σε σχέση με την ομάδα ελέγχου (επίπεδο του 100, για $P < 0.05$).

Σχήμα 4. Επίδραση του LPS στα επίπεδα του mRNA της rCOX-1 στον υποθάλαμο. Τα αποτελέσματα έχουν κανονικοποιηθεί με βάση την β-ακτίνη.

Σχήμα 5. Επίδραση του LPS στα επίπεδα του mRNA της rCOX-2 στον υποθάλαμο. Τα αποτελέσματα έχουν κανονικοποιηθεί με βάση την β-ακτίνη. Ο αστερίσκος δηλώνει στατιστικά σημαντική αλλαγή σε σχέση με την ομάδα ελέγχου ($P < 0.05$).

Σχήμα 6. Επίδραση του LPS στα επίπεδα του mRNA της rIL-1b στον υποθάλαμο. Τα αποτελέσματα έχουν κανονικοποιηθεί με βάση την β-ακτίνη. Ο αστερίσκος δηλώνει στατιστικά σημαντική αλλαγή σε σχέση με την ομάδα ελέγχου ($P < 0.05$).

Σχήμα 7. Επίδραση του LPS στα επίπεδα του mRNA της rIL-6 στον υποθάλαμο. Τα αποτελέσματα έχουν κανονικοποιηθεί με βάση την β-ακτίνη. Ο αστερίσκος δηλώνει στατιστικά σημαντική αλλαγή σε σχέση με την ομάδα ελέγχου ($P < 0.05$).

Σχήμα 8. Συνολικά αποτελέσματα της δράσης του LPS στα γονίδια φλεγμονής rCOX-1, rCOX-2, rIL-1b, rIL-6 και rPPARa, στον ιππόκαμπο. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται σε σχέση με το 100% (επίπεδα ομάδας ελέγχου). Ο αστερίσκος δηλώνει στατιστικά σημαντική αλλαγή σε σχέση με την ομάδα ελέγχου (επίπεδο του 100, για $P < 0.05$).

Σχήμα 9. Επίδραση του LPS στα επίπεδα του mRNA της rCOX-2 στον ιππόκαμπο. Τα αποτελέσματα έχουν κανονικοποιηθεί με βάση την β-ακτίνη.

Σχήμα 10. Επίδραση του LPS στα επίπεδα του mRNA της *iIL-1b* στον ιππόκαμπο. Τα αποτελέσματα έχουν κανονικοποιηθεί με βάση την β -ακτίνη. Ο αστερίσκος δηλώνει στατιστικά σημαντική αλλαγή σε σχέση με την ομάδα ελέγχου ($P < 0.05$).

Σχήμα 11. Επίδραση του LPS στα επίπεδα του mRNA της *iIL-6* στον ιππόκαμπο. Τα αποτελέσματα έχουν κανονικοποιηθεί με βάση την β -ακτίνη. Ο αστερίσκος δηλώνει στατιστικά σημαντική αλλαγή σε σχέση με την ομάδα ελέγχου ($P < 0.05$).

Σχήμα 12. Συνολικά αποτελέσματα της δράσης του LPS στα γονίδια φλεγμονής *rCOX-1*, *rCOX-2*, *iIL-1b* και *iIL-6*, στο ραβδωτό. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται σε σχέση με το 100% (επίπεδα ομάδας ελέγχου). Ο αστερίσκος δηλώνει στατιστικά σημαντική αλλαγή σε σχέση με την ομάδα ελέγχου (επίπεδο του 100, για $P < 0.05$).

Σχήμα 13. Επίδραση του LPS στα επίπεδα του mRNA της *rCOX-1* στο ραβδωτό. Τα αποτελέσματα έχουν κανονικοποιηθεί με βάση την β -ακτίνη. Ο αστερίσκος δηλώνει στατιστικά σημαντική αλλαγή σε σχέση με την ομάδα ελέγχου ($P < 0.05$).

Σχήμα 14. Επίδραση του LPS στα επίπεδα του mRNA της *rCOX-2* στο ραβδωτό. Τα αποτελέσματα έχουν κανονικοποιηθεί με βάση την β -ακτίνη. Ο αστερίσκος δηλώνει στατιστικά σημαντική αλλαγή σε σχέση με την ομάδα ελέγχου ($P < 0.05$).

Σχήμα 15. Επίδραση του LPS στα επίπεδα του mRNA της *iIL-1b* στο ραβδωτό. Τα αποτελέσματα έχουν κανονικοποιηθεί με βάση την β -ακτίνη. Ο αστερίσκος δηλώνει στατιστικά σημαντική αλλαγή σε σχέση με την ομάδα ελέγχου ($P < 0.05$).

Σχήμα 16. Επίδραση του LPS στα επίπεδα του mRNA της *iIL-6* στο ραβδωτό. Τα αποτελέσματα έχουν κανονικοποιηθεί με βάση την β -ακτίνη. Ο αστερίσκος δηλώνει στατιστικά σημαντική αλλαγή σε σχέση με την ομάδα ελέγχου ($P < 0.05$).

Σχήμα 17. Επίδραση της ροσιγλιταζόνης στην επαγωγή του mRNA της *rCOX-2* από το LPS, στον υποθάλαμο. Τα αποτελέσματα έχουν κανονικοποιηθεί με βάση την β -ακτίνη. Ο αστερίσκος δηλώνει στατιστικά σημαντική αλλαγή σε σχέση με την ομάδα αναφοράς (ομάδα LPS, για $P < 0.05$).

Σχήμα 18. Επίδραση της ροσιγλιταζόνης στην επαγωγή του mRNA της *iIL-1b* από το LPS, στον υποθάλαμο. Τα αποτελέσματα έχουν κανονικοποιηθεί με βάση την β -ακτίνη. Η δίεση δηλώνει στατιστικά σημαντική αλλαγή σε σχέση με την ομάδα ελέγχου (ομάδα control, για $P < 0.05$).

Σχήμα 19. Επίδραση της ροσιγλιταζόνης στην επαγωγή του mRNA της rIL-6 από το LPS, στον υποθάλαμο. Τα αποτελέσματα έχουν κανονικοποιηθεί με βάση την β-ακτίνη. Ο αστερίσκος δηλώνει στατιστικά σημαντική αλλαγή σε σχέση με την ομάδα αναφοράς (ομάδα LPS, για $P < 0.05$), ενώ η δίεση σε σχέση με την ομάδα αναφοράς (ομάδα LPS, για $P < 0.05$).

Σχήμα 20. Επίδραση της ροσιγλιταζόνης στην επαγωγή του mRNA της rCOX-2 από το LPS, στον ιππόκαμπο. Τα αποτελέσματα έχουν κανονικοποιηθεί με βάση την β-ακτίνη.

Σχήμα 21. Επίδραση της ροσιγλιταζόνης στην επαγωγή του mRNA της rIL-1b από το LPS, στον ιππόκαμπο. Τα αποτελέσματα έχουν κανονικοποιηθεί με βάση την β-ακτίνη. Ο αστερίσκος δηλώνει στατιστικά σημαντική αλλαγή σε σχέση με την ομάδα αναφοράς (ομάδα LPS, για $P < 0.05$), ενώ η δίεση σε σχέση με την ομάδα αναφοράς (ομάδα LPS, για $P < 0.05$).

Σχήμα 22. Επίδραση της ροσιγλιταζόνης στην επαγωγή του mRNA της rIL-6 από το LPS, στον ιππόκαμπο. Τα αποτελέσματα έχουν κανονικοποιηθεί με βάση την β-ακτίνη. Ο αστερίσκος δηλώνει στατιστικά σημαντική αλλαγή σε σχέση με την ομάδα αναφοράς (ομάδα LPS, για $P < 0.05$), ενώ η δίεση σε σχέση με την ομάδα αναφοράς (ομάδα LPS, για $P < 0.05$).

Σχήμα 23. Επίδραση της ροσιγλιταζόνης στην επαγωγή του mRNA της rCOX-2 από το LPS, στο ραβδωτό. Τα αποτελέσματα έχουν κανονικοποιηθεί με βάση την β-ακτίνη. Ο αστερίσκος δηλώνει στατιστικά σημαντική αλλαγή σε σχέση με την ομάδα αναφοράς (ομάδα LPS, για $P < 0.05$), ενώ η δίεση σε σχέση με την ομάδα αναφοράς (ομάδα LPS, για $P < 0.05$).

Σχήμα 24. Επίδραση της ροσιγλιταζόνης στην επαγωγή του mRNA της rIL-1b από το LPS, στο ραβδωτό. Τα αποτελέσματα έχουν κανονικοποιηθεί με βάση την β-ακτίνη. Ο αστερίσκος δηλώνει στατιστικά σημαντική αλλαγή σε σχέση με την ομάδα αναφοράς (ομάδα LPS, για $P < 0.05$), ενώ η δίεση σε σχέση με την ομάδα αναφοράς (ομάδα LPS, για $P < 0.05$).

Σχήμα 25. Επίδραση της ροσιγλιταζόνης στην επαγωγή του mRNA της rIL-6 από το LPS, στο ραβδωτό. Τα αποτελέσματα έχουν κανονικοποιηθεί με βάση την β-ακτίνη. Ο αστερίσκος δηλώνει στατιστικά σημαντική αλλαγή σε σχέση με την ομάδα

αναφοράς (ομάδα LPS, για $P < 0.05$), ενώ η δέση σε σχέση με την ομάδα αναφοράς (ομάδα LPS, για $P < 0.05$).

Σχήμα 26. Προτεινόμενος μηχανισμός για τον νευροπροστατευτικό ρόλο της ροσιγλιταζόνης μέσω αυξημένης παραγωγής mRNA αλλά και πρωτεΐνης NF- $\alpha 1$.