

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
HELLENIC SOCIETY FOR BIOLOGICAL SCIENCES

29^ο ΕΤΗΣΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ
29th ANNUAL CONFERENCE

ΠΡΑΚΤΙΚΑ
PROCEEDINGS

17^η – 19^η Μαΐου 2007

May 17 – 19, 2007

ΚΑΒΑΛΑ

ΕΚΔΟΤΗΣ

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

Πρόεδρος: Ομ. Καθηγητής Θ. Παταργιάς

Γραμματεία: Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου,

Τμήμα Βιολογίας Πανεπιστημίου Αθηνών

Τηλ. 210-7274136, 7274637, Fax: 210-7274635

E-mails: tpatarg@biol.uoa.gr, EEBE-2006@biol.uoa.gr,

cgaitan@biol.uoa.gr, smanol@biol.uoa.gr,

lmargar@biol.uoa.gr, lazou@bio.auth.gr,

ipapasid@biol.uoa.gr, marmaras@upatras.gr,

Ιστοσελίδα: <http://kyttariki.biol.uoa.gr>

ISBN: 978-960-87324-5-2

ISSN: 1109-4885

© Ελληνική Εταιρεία Βιολογικών Επιστημών, 2007

Εκτυπώθηκε στο Εκτυπωτικό Κέντρο του

Εθνικού & Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών

ΧΟΡΗΓΟΙ - SPONSORS

**Νομαρχιακή Αυτοδιοίκηση Καβάλας
Δήμος Καβάλας
Δ.ΑΝ.Ε. Καβάλας
Τεχνικό Επιμελητήριο Καβάλας**

**Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης**

**DIOPHAR A.E.
MULTITRADING S.A.**

**BIOLINE Scientific O.E.
IONPLUS
BIOSURE – R & T Cell Co.
Chembiotin Ltd
TechnoBioChem Ltd
Γ. Κορδοπάτης
I.M. Κυριακίδης Ε.Π.Ε.
Chemilab Ε.Π.Ε.
Στ. Τσίμπος Ε.Π.Ε.**

**ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΕΣ ΕΚΔΟΣΕΙΣ ΠΑΡΙΣΙΑΝΟΥ Α.Ε.
MAGENTA Ε.Π.Ε.
ΕΚΔΟΣΕΙΣ αεί**

Διοικητικό Συμβούλιο Ε.Ε.Β.Ε. (2006-2008)
Hellenic Society for Biological Sciences Board (2006-2008)

Πρόεδρος:	Ομ. Καθηγητής Θεοχάρης Παταργιάς
Αντιπρόεδρος:	Καθηγήτρια Αντιγόνη Λάζου
Γενική Γραμματέας:	Αν. Καθηγήτρια Αικατερίνη Γαϊτανάκη
Ειδική Γραμματέας:	Αν. Καθηγήτρια Ισιδώρα Παπασιδέρη
Ταμίας :	Επικ. Καθηγητής Σωτήρης Κ. Μανώλης
Μέλη :	Καθηγητής Λουκάς Χ. Μαργαρίτης Καθηγητής Βασίλης Ι. Μαρμάρας

Οργανωτική Επιτροπή
Organizing Committee

Καθηγητής Ισίδωρος Μπέης
Καθηγητής Λουκάς Χ. Μαργαρίτης
Καθηγήτρια Αντιγόνη Λάζου
Επικ. Καθηγητής Σωτήρης Κ. Μανώλης
Λέκτορας Ευθυμία Αντωνοπούλου
Δρ. Αθανάσιος Τσικλήρας
Δρ. Σύλβια Παπαβασιλείου

- Η Οργανωτική Επιτροπή δεν φέρει ευθύνη για το περιεχόμενο των περιλήψεων που δημοσιεύονται στον τόμο αυτό.
- The Organizing Committee has no responsibility for the content of the abstracts published in this volume.

- Οι εργασίες έχουν ταξινομηθεί αλφαβητικά με βάση το όνομα του πρώτου συγγραφέως γραμμένο στην ελληνική γλώσσα.
- Papers have been arranged alphabetically according to the Hellenic-written name of the first author.

Επιμέλεια Έκδοσης Πρακτικών

Σωτήρης Κ. Μανώλης, Επικ. Καθηγητής

Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών

Η ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΩΝ ΣΥΝΕΔΡΙΩΝ ΤΗΣ Ε.Ε.Β.Ε. ΤΑ ΤΕΛΕΥΤΑΙΑ 30 ΧΡΟΝΙΑ

Από τον Πρόεδρο της Ε.Ε.Β.Ε. Ομ. Καθηγητή θ. Παταργιά

Αγαπητοί Σύεδροι,

Το 29^ο ετήσιο Συνέδριο της Ελληνικής Εταιρείας Βιολογικών Επιστημών διοργανώνεται φέτος στην Καβάλα από 17 μέχρι 19 Μαΐου 2007.

Η επιλογή της Καβάλας, ως τόπου διεξαγωγής του Συνεδρίου, έγινε με κριτήριο την παρουσία του Ινστιτούτου Αλιευτικής Έρευνας (ΕΘ.Ι.Α.Γ.Ε.), που σαφώς βρίσκεται μέσα στις Βιολογικές Επιστήμες που θεραπεύει η Ε.Ε.Β.Ε.

Είναι σημαντικό ότι το Συνέδριο αποτελεί χώρο συνάντησης φοιτητών (προ- και μεταπτυχιακών) από όλα τα Τμήματα Βιολογίας, αλλά και από Τμήματα συναφών γνωστικών αντικειμένων. Και φαίνεται ότι πραγματικά υπάρχει ένα αυξανόμενο ενδιαφέρον των φοιτητών γιατί κάθε χρόνο ο αριθμός των συμμετεχόντων (με ερευνητική δουλειά ή όχι) συνεχώς αυξάνεται.

Οι φετινές συμμετοχές προφορικών και αναρτημένων ανακοινώσεων έφτασαν τις 210 περίπου, (σχετικά ικανοποιητικός αριθμός σε σχέση με τα προηγούμενα χρόνια και αυτόν που αναμενόταν) αλλά γι' αυτό ευθύνονται σε σημαντικό βαθμό οι κινητοποιήσεις των φοιτητών (καταλήψεις επί τρεις μήνες) και των μελών ΔΕΠ.

Αν κάποιος παρακολουθήσει τη σχετική θεματολογία και τις συμμετοχές των 28 συνεδρίων που έχει διοργανώσει μέχρι σήμερα η Ε.Ε.Β.Ε. θα διαπιστώσει την αλματώδη πρόοδο των Βιολογικών Επιστημών στη χώρα μας και τη δημιουργία πολλών ερευνητικών ομάδων. Γεγονός που δεν μπορεί να περάσει απαρατήρητο.

Μετά την ίδρυση της Εταιρείας, το 1976, πραγματοποιήθηκε το πρώτο της Συνέδριο στο Τμήμα Βιολογίας του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης (1979) στο οποίο παρουσιάστηκαν μόλις 41 εργασίες.

Στην επόμενη δεκαετία (1980-1989) ο αριθμός των εργασιών που παρουσιάστηκαν ήταν περίπου 630, με ένα μέσο όρο 70 εργασίες/έτος.

Τη δεκαετία του '90 (1990-1999) στα δέκα συνέδρια παρουσιάστηκαν 1400 εργασίες, δηλαδή ο μέσος όρος διπλασιάστηκε και έφτασε τις 140 εργασίες / έτος.

Στα 8 συνέδρια που έχουν διοργανωθεί στη δεκαετία που διανύουμε (2000-2007), παρουσιάστηκαν περίπου 1500 εργασίες (συμπεριλαμβανο-

μένων και των 200 φετινών, ήτοι ο μέσος όρος ξεπέρασε τις 185 εργασίες / έτος.

Έτσι είμαστε υποχρεωμένοι να διατηρήσουμε αμείωτο το ενδιαφέρον συμμετοχής και είναι σίγουρο πως το νέο Δ.Σ. της ΕΕΒΕ θα προσπαθήσει με όλες του τις δυνάμεις για το καλλίτερο δυνατό.

Θα πρέπει επίσης να σημειωθεί ότι από το 1998 με πρωτοβουλία του τότε Προέδρου της Ε.Ε.Β.Ε. Καθηγητή Λ.Χ. Μαργαρίτη άρχισε (και συνεχίζεται κάθε χρόνο) η ηλεκτρονική καταγραφή των συνεδρίων και το υλικό των παρουσιάσεων υπάρχει στην ιστοσελίδα της Ελληνικής Εταιρείας Βιολογικών Επιστημών (<http://kyttariki.biol.uoa.gr/>), καθώς και σε DVD, γεγονός που αποτελεί σημαντική καινοτομία.

Ακόμη μια νέα καινοτομία αποτελεί η προφορική (4λεπτη) παρουσίαση των πόστερς, έτσι ώστε να δίνεται η πρόποσα προσοχή σε σημαντικές δουλειές. Οι προφορικές ομιλίες έχουν περιοριστεί σημαντικά και εφέτος έχουμε μόνο 11 προσκεκλημένους ερευνητές και μέλη ΔΕΠ που θα μας παρουσιάσουν ανασκοπήσεις της ερευνητικής τους δουλειάς, σε θέματα αιχμής και γενικότερου ενδιαφέροντος, που ελπίζουμε ότι θα αποτελέσουν το δέλεαρ για τους προπτυχιακούς φοιτητές και φοιτήτριες που παρακολουθούν κάθε χρόνο το συνέδριο αυτό.

Τέλος, τα τελευταία χρόνια έχει θεσπιστεί ειδική τελετή προς τιμήν των αφυπηρετούντων από τα Ελληνικά ΑΕΙ, διακεκριμένων επιστημόνων της Ελληνικής Βιολογικής κοινότητας -μελών της Ε.Ε.Β.Ε.

Το Συνέδριο αρχίζει την Πέμπτη 17^η Μαΐου στις 5 το απόγευμα και ολοκληρώνεται το Σάββατο 19^η Μαΐου στις 9.00 το βράδυ. Δυστυχώς δεν κατορθώσαμε λόγω της αυξημένης συμμετοχής να μην υπάρχουν παράλληλες Συνεδρίες.

Το συνέδριο θα πραγματοποιηθεί στα Αμφιθέατρα της Νομαρχιακής Αυτοδιοίκησης Καβάλας και του Τεχνικού Επιμελητηρίου Καβάλας.

Εδώ θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Νομάρχη Καβάλας, το Νομαρχιακό Συμβούλιο, τον Δήμαρχο Καβάλας και την Δημοτική Αναπτυξιακή Εταιρεία Καβάλας (μέγας χορηγός του Συνεδρίου) και τον Πρόεδρο του Τεχνικού Επιμελητηρίου Καβάλας.

Σας ευχόμαστε καλή διαμονή στην όμορφη πόλη της Καβάλας και καλή επιτυχία σε όλους όσοι παρουσιάσουν τη δουλειά τους.

Αθήνα Μάιος 2007

Ομ. Καθηγητής θ. Παταργιάς



ΔΗΜΟΤΙΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΙΑΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ ΚΑΒΑΛΑΣ



ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΕΣ ΕΚΔΟΣΕΙΣ

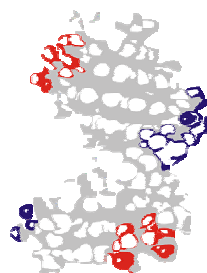
ΜΑΡΙΑ ΓΡ. ΠΑΡΙΣΙΑΝΟΥ

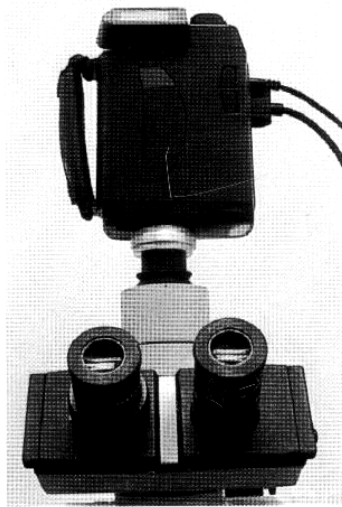
ΝΑΥΑΡΙΝΟΥ 20 – 10680 ΑΘΗΝΑ
ΤΗΛ. 210- 36.10.519 – 36.15.047
ΤΗΛ/ΦΑΧ: 210-36.36.424

ΠΑΡΙΣΙΑΝΟΥ Α.Ε.

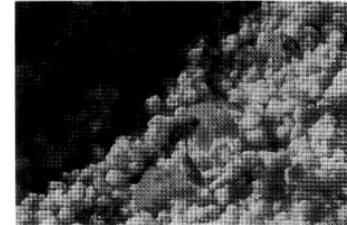
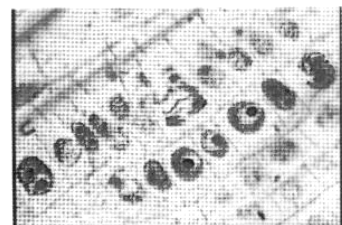
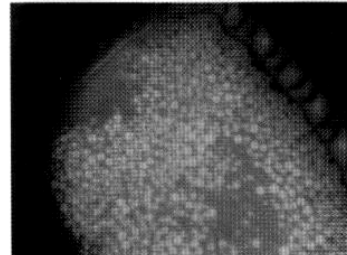
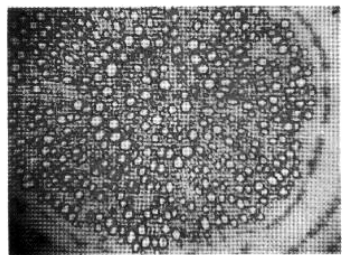
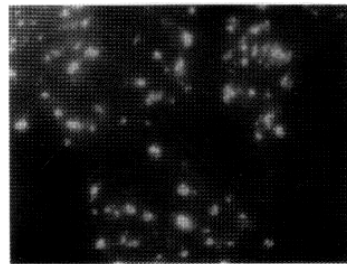
ΧΑΡ. ΤΡΙΚΟΥΠΗ 47-49
10681 ΑΘΗΝΑ
ΤΗΛ/ΦΑΧ: 210-330.68.80

BIOLine
scientific
ΑΦΘΙ ΝΤΟΥΡΟΥ - Ε.ΔΕΜΑΓΚΟΣ Ο.Ε





Η BIOSURE έχει αναπτύξει συστήματα προσαρμογής της ψηφιακής κάμερας για μικροσκόπια (απλά και στερεοσκόπια). Επιπλέον, η μεγάλη ευαισθησία της κάμερας επιτρέπει την καταγραφή εικόνων ανοσοφθορισμού (FISH κ.λ.π.)



Biosure –R & T Cell Co.

6, Aglavrou st, 117 41

Koukaki, Athens, GREECE

Tel: 30-210-92.23.246, Fax: 30-210-92.23.252



Το CD-ROM αυτό αποτελεί τον πρώτο ελληνικό ηλεκτρονικό οδηγό των Θηλαστικών της Ελλάδας και το πρώτο μέρος από τη προσπάθεια παρουσίασης με την τεχνολογία των πολυμέσων της φυσικής μας κληρονομιάς.

Επιστημονική επιμέλεια:

Δρ. Ευστράτιος Δ. Βαλάκος, Επίκουρος Καθηγητής, τομέας φυσιολογίας ζώων και ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας Πανεπιστημίου Αθηνών

Αφήγηση:

Αλέξης Κωστάλας



Αγγλικό-Ελληνικό-Αγγλικό
ΧΡΥΣΗ ΕΚΔΟΣΗ



Αγγλικό-Ελληνικό-Αγγλικό
ΒΑΣΙΚΗ ΕΚΔΟΣΗ



Γερμανικό-Ελληνικό-Γερμανικό



Ιταλικό-Ελληνικό-Ιταλικό



Γαλλικό-Ελληνικό-Γαλλικό



Αγγλικό-Ελληνικό-Αγγλικό ΘΡΩΝ
Ιατρικής-Βιολογίας



Αρχαία-Νέα-Αρχαία Ελληνικά



Ελληνικό Ερμηνευτικό-Εγκυκλο-
παιδικό



Γραμματοσειρές
Unicode No 1



Γραμματοσειρές
Unicode No 2



Γραμματοσειρές
Unicode No 3



Γραμματοσειρές
Unicode No 4

MAGENTA
Εμμ. Μπενάκη 59 - 106 81 Αθήνα
Τηλ.: 801 11 711711 - Φαξ: 210 3891861
www.magenta.gr - info@magenta.gr

ΤΑ ΠΡΑΚΤΙΚΑ ΚΑΙ ΟΙ ΟΜΙΛΙΕΣ ΤΩΝ ΣΥΝΕΔΡΙΩΝ ΣΕ CD ΚΑΙ DVD

Οι εφαρμογές των πολυμέσων έχουν χρησιμοποιηθεί εδώ και πολλά χρόνια στα συνέδρια της Ελληνικής Εταιρείας Βιολογικών Επιστημών και περιλαμβάνουν την καταγραφή όλων σχεδόν των δραστηριοτήτων (προσφωνήσεις, διαλέξεις, ανακοινώσεις, στρογγυλές τράπεζες, κλπ.). Βρισκόμαστε στην ευχάριστη θέση να πληροφορήσουμε τους ενδιαφερόμενους, ότι υπάρχουν ήδη διαθέσιμα σε DVD οι παρουσιάσεις των συνεδρίων 2002 (Ερέτρια) και 2003 (Λέσβος). καθώς και σε CD τα Πρακτικά των συνεδρίων 1999-2003



Copyright: Α.Χ. Μαργαρίτης, Θ. Βελέντζας, Γ. Παπαδήμας και συνεργάτες.



TECHNOBIOCHEM Ltd

Chemicals, biochemicals & scientific Instruments

80 Karaiskou str. Piraeus - Greece

Tel.: +30210 41.70.629, 4172225

Fax : +30210 41.72.225

e-mail: kyrhel@otenet.gr

**Χημικά, Βιοχημικά & Επιστημονικά Όργανα
Ηρώων Πολυτεχνείου 49, 185 35 Πειραιάς**

Τηλ: 210 4170629, 210 4220360

Fax: 210 4172225

E-mail: kyrhel@otenet.gr

CHEMBIOTIN Ltd

*Χημικά – Βιοχημικά – Εργαστηριακός Εξοπλισμός
Όργανα Χημείου*

Tel.: 0030 210 96 200 10, 0030 210 96 13 479

Fax: 0030 210 96 200 10 E-mail: chembiot@otenet.gr





Η εταιρεία μας CHEMILAB Ε.π.ε. είναι αποκλειστικός προμηθευτής των εταιρειών:



Αντισώματα , αντιδραστηρια Western blot.



Μεμβράνες αποτυπωσης Nytran,Protran,Westran



Χαρτι 3mm, ηθμοι,



Genmedika Biotechnology Corp.
9F-8, No.736 Chungcheng Road,
Chungho, Taipei County 235, Taiwan
TEL: +886 2 82262199
FAX: +886 2 82262196
Website: www.gmb.com.tw

Plasmid purification kits, Gel extraction kits, Pcr clean up kits, genomic DNA, total RNA extraction kits

Διευθυνση: ΙΘΩΜΗΣ 26,15231,Χαλανδρι
Τηλ: 210-6775363, Email:info@chemilqab.gr

I.M. ΚΥΡΙΑΚΙΔΗΣ Α.Ε.

Επιστημονικά όργανα – Χημικά αντιδραστήρια

Life Science Research

CEQ 8000
CEQ 8000i Genomic Analysis System
CEQ 8800 Genomic Analysis System

CENTRIFUGATION
• Ultracentrifuges
• High Performance Centrifuges
• General Centrifuges

AUTOMATED SOLUTIONS
• ASPEC 4800/700
• AS Bioreactor
• LIS Core System

IMMUNOANALYSIS
• Immunoassay
• Primary Immunization
• General Analysis

GENERAL
• Baby Cooled LIS Core
• PIPES
• Spectrophotometer

I.M. ΚΥΡΙΑΚΙΔΗΣ Α.Ε.
ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΑ ΟΡΓΑΝΑ – ΧΗΜΙΚΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Biomedical Research Solutions

BECKMAN COULTER

ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΑ ΟΡΓΑΝΑ & ΧΗΜΙΚΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ
Τηλ: 210 91 70111, Fax: 210 91 81023, e-mail: info@imk.gr
ΚΕΝΤΡΟΜΕΛΑΒ: Τηλεφωνικό Κέντρο: 210 91 81000
Τηλ: 210 91 81033, 210 91 81034, Τηλ: 210 91 81035, e-mail: bio@imk.gr

PROTEOMELAB
FROM TISSUES TO TARGETS

Identify

Isolate

Fractionate

Characterize

Evaluate

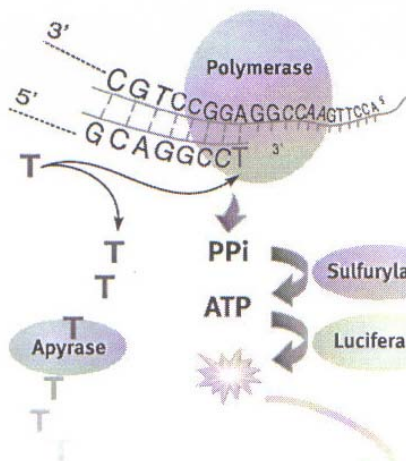
Diagnose

- Flow cytometry
- Automated fluorescence microscopy
- Microarray technology
- Omics data analysis
- General purpose centrifuges
- High performance centrifuges
- Ultracentrifuges
- Centrifugal filtration
- Automated liquid handling
- High performance centrifuges
- Ultracentrifuges
- Liquid chromatography
- Capillary electrophoresis / Mass spectrometry
- Spectrophotometry
- Protein concentration in solution
- Automated protein crystallization
- Microarray technology
- Software solutions
- Automated immunoassay
- Flow cytometry
- Electrophoresis
- Immunoprecipitation
- Immunoblotting

The pathway to protein discovery begins here

Γ. ΚΟΡΔΟΠΑΤΗΣ ΕΠΕ

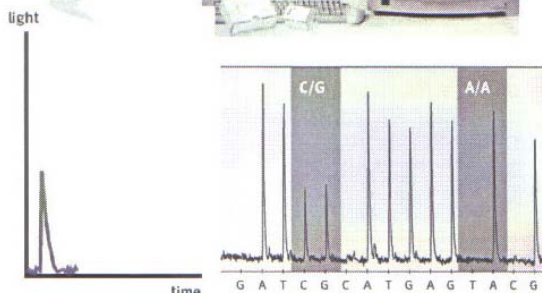
PYROSEQUENCING™ - ONE HOUR TO EXPLICIT SEQUENCE DATA



- No separation
- No tags or probes - No gels
- Fast - 1 SNP/ 6 sec
- Quantitative peak heights
- Parallel capability - microtiter plate format
- Flexible - in throughput
- in assay design
- in type of applications



Real time sequencing detection (Sequence by synthesis)
 Detect incorporation of nucleotides
 Monitor run as it is proceeding
 Detection of pyrophosphate release upon nucleotide incorporation
 Fast and accurate



Pyrosequencing™ is an established genetic analysis method based on the principle of sequencing by synthesis. It is the only genetic analysis method capable of delivering explicit sequence information within minutes. Pyrosequencing is an ideal choice for genetic analysis in clinical research. The output data from Pyrosequencing is the gold standard of genetic information: real sequence data. This is the best possible assurance of a correct genetic test.

Γ. ΚΟΡΔΟΠΑΤΗΣ ΕΠΕ – Κ. Χρονά 18, Ν. Ψυχικό – Τηλ.: 210 67 74 160 – Fax: 210 67 55 469
 e-mail: g.kordopatis@hellasnet.gr

ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΚΑΤΑΓΡΑΦΗΣ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΩΝ ΣΗΜΑΤΩΝ Για Μελέτες σε Ανθρώπους και Ζώα

Ανακαλύψτε σήμερα αυτό που ήδη γνωρίζουν χιλιάδες
ικανοποιημένοι χρήστες...



Επιστημονικά Πεδία

- Φυσιολογία
- Βιολογία
- Νευρολογία
- Βιοτεχνολογία
- Ψυχοφυσιολογία
- Εργοφυσιολογία
- Βιοϊατρική Μηχανική
- Φαρμακολογία & Τοξικολογία
- Κτηνιατρική



Τα συστήματα BIOPAC είναι η ολοκληρωμένη λύση για καταγραφή, ανάλυση και επεξεργασία βιοϊατρικών, φυσιολογικών παραμέτρων. Η μεγάλη ποικιλία μορφωτροπών υψηλής ποιότητας, οι νέες ισχυρές μονάδες καταγραφής, το δυναμικό λογισμικό και η εξελιγμένη βιβλιογραφία είναι μερικά από τα πλεονεκτήματα που καθιστούν τα συστήματα BIOPAC την ιδανική λύση για το εργαστήριό σας. Ρίξτε μια ματιά στον [κατάλογο των πελατών μας](#).

Τα συστήματα BIOPAC διατίθενται σε δύο εκδόσεις με διαφορετικό προσανατολισμό:

BIOPAC STUDENT LAB —————> εκπαιδευτικές εφαρμογές
MP100 και MP150 —————> ερευνητικές εφαρμογές

MP150 ΚΑΙ MP100

Σύγχρονα συστήματα για έρευνα

Μελέτες Αναπνευστικών Λειτουργιών	ECG	Συνεχής μη Επεμβατική
Καρδιοαγγειακές Αιμοδυναμικές Μελέτες	EMG	μέτρηση πίεσης αίματος
In-vitro Φαρμακολογία	EOG Κινήσεις Οφθαλμών	Εργοφυσιολογία
Ηλεκτρική Βιοαγωγιμότητα	Προκλητά Δυναμικά	Βιο-μηχανική
(ενδείξεις καρδιακής λειτουργίας)	Ψυχοφυσιολογία	Τηλεδιαβίβαση σημάτων
Καταγραφές Μικρο-ηλεκτροδίων	Laser Doppler Flow	Αυτόνομοι ενσχυτές
Ηλεκτρογαστρογράφημα	Πληθυσμογραφία	Θάλαμοι νεύρων
EEG	Μελέτες Ύπνου	Tissue baths

biopac student lab

ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΑ ΕΡΓΑΛΕΙΑ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΩΝ ΠΡΟΔΙΑΓΡΑΦΩΝ

Αποκλειστικός εισαγωγέας: ΕΤ.ΤΣΙΜΠΟΣ ΕΠΕ

Κωνσταντινουπόλεως 946 Παρρών 54642 Θεσσαλονίκη
www.tsimpos.gr tsimpos@tsimpos.gr ΤΗΛ.2310-888630

ΠΕΡΙΛΗΨΕΙΣ

ABSTRACTS

IN VITRO ΜΟΛΥΝΣΗ ΔΕΝΔΡΙΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΕ *L. INFANTUM* ΠΡΟΚΑΛΕΙ ΦΩΣΦΟΡΥΛΙΩΣΗ ΤΩΝ ERK1/2 ΚΙΝΑΣΩΝ ΚΑΙ ΠΑΡΕΜΠΟΔΙΖΕΙ ΤΗΝ ΩΡΙΜΑΝΣΗ ΤΟΥΣ

Αγάλλου Μ., Ντότσικα Ε., Καραγκούνη Ε.

Εργαστήριο Κυτταρικής Ανοσολογίας, Τμήμα Μικροβιολογίας, Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ, Βασιλίσσης Σοφίας 127, 115 21, Αθήνα, ekaragouni@pasteur.gr

Τα δενδριτικά κύτταρα (DCs) αποτελούν την κύρια ομάδα αντιγονο-παρουσιαστικών κυττάρων κατέχοντας σημαντικό ρόλο για την μετάβαση από την έμφυτη στην επίκτητη ανοσολογική απόκριση. Κατά τη μόλυνση από διάφορα παθογόνα, τα DC ενεργοποιούνται και στη συνέχεια ενεργοποιούν διακριτές ομάδες T λεμφοκυττάρων μέσω της ανοσολογικής σύναψης και της παραγωγής διαφόρων κυτταροκινών. Το πρωτόζωο *Leishmania* είναι υποχρεωτικά ενδοκυττάριο παράσιτο των μονοπύρηνων φαγοκυττάρων των οποίων οι λειτουργίες τροποποιούνται προκειμένου να επιτευχθεί η εγκατάσταση της μόλυνσης ή η ενεργοποίηση μιας επιτυχούς ανοσολογικής απόκρισης. Στην παρούσα εργασία μελετήσαμε *in vitro*, την αλληλεπίδραση δενδριτικών κυττάρων από μυελό οστών ποντικών BALB/c, με το παράσιτο *L. infantum* και ειδικότερα την επίδραση της μόλυνσης στα μονοπάτια μεταγωγής μηνυμάτων (MAP κινάσες) που συμμετέχουν σε αυτή. Οι MAP κινάσες είναι μόρια τα οποία ρυθμίζουν την ενεργοποίηση ποικίλων γονιδίων κυτταροκινών μέσω της ενεργοποίησης διαφόρων μεταγραφικών παραγόντων. Παρατηρήσαμε ότι τα DCs κατορθώνουν να φαγοκυτταρώσουν το παράσιτο, το οποίο έχει σαν αποτέλεσμα την παρεμπόδιση της ωρίμασής τους. Επιπρόσθετα, τα DC δεν κατορθώνουν να παράγουν επαρκή ποσότητα IL-12 και TNF α παρουσία ή απουσία του προσδέματος CD40L μετά τη μόλυνση. Μάλιστα, 5 λεπτά μετά την μόλυνση παρατηρήθηκε φωσφορυλίωση των ERK1/2 και όχι της p38 κινάσης. Επίσης, δεν παρατηρήθηκε αποικοδόμηση του I κ B α . Χρήση των ειδικών αναστολέων PD98059 (MEKK1/2) και SB203580 (p38) έδειξε ότι η ενεργοποίηση των ERK1/2 από το παράσιτο ρύθμιζε αρνητικά την παραγωγή IL-12 σε αντίθεση με την p38. Επώαση των DCs με διαλυτό αντιγόνο παρασίτου είχε το ίδιο αποτέλεσμα. Αντίθετα, όταν τα DCs διεγείρονταν πριν την επώαση με διαλυτό αντιγόνο, παρουσία ή απουσία CD40L σε συνδυασμό με IFN- γ , παρατηρήθηκε φωσφορυλίωση της p38 και παραγωγή IL-12 και TNF α . Τα παραπάνω, επισημαίνουν τη σημασία των ERK1/2 και p38 στην εγκατάσταση της μόλυνσης με το παράσιτο *Leishmania infantum* και τα υποδεικνύουν ως υποψήφιους στόχους ανοσοπαρέμβασης.

IN VITRO INFECTION OF DENDRITIC CELLS WITH *L. INFANTUM* CAUSES ERK1/2 PHOSPHORYLATION AND SUSTAINS THEIR MATURATION

Agallou M., Dotsika E., and E. Karagouni

*Lab. of Cellular Immunology, Dept. of Microbiology, Hellenic Pasteur Institute,
127 Vas. Sofias Ave., 115 21, Athens, ekaragouni@pasteur.gr*

Dendritic cells (DCs) are professional antigen-presenting cells whose role is the transition from innate to adaptive immunity. During infection, DCs become activated and activate, in turn, specific groups of T lymphocytes through the formation of immunological synapse and the production of various cytokines. *Leishmania spp.* are obligately intracellular parasites of the mononuclear phagocyte system. In a mammalian host, macrophages function both as host cells required for parasite survival and as effector arm of a successful T-cell-mediated immune response. In the present study, we investigated the interaction between bone marrow derived DCs from BALB/c mice, with *L. infantum*. Also, we were interested in the effect of the above interaction in MAP kinase signal transduction pathways. MAP kinases comprise a protein family whose role is the activation of various cytokine genes through the activation of specific transcription factors. We observed that DCs managed to phagocytose parasites but this had a negative impact on their maturation status. Furthermore, DCs could not produce sufficient amounts of IL-12 and TNF α in the presence or absence of CD40L during infection. Also, we were able to detect the phosphorylation of ERK1/2 but not p38 kinase, 5 min post infection, and no degradation of I κ B α during infection. Use of specific inhibitors for MEKK1/2 (PD98059) and p38 (SB203580) showed that ERK1/2 activation during infection, downregulated IL-12 production which was p38 dependent. The same results were observed after DC treatment with soluble *Leishmania* antigen (SLA). On the contrary, DCs stimulation with IFN- γ before treatment with SLA, in the presence or absence of CD40L, led to phosphorylation of p38 and efficient production of IL-12 and TNF α . The above results denote ERKs' and p38's importance in the infection with *Leishmania infantum* and we recommend them as candidate targets for immunointervention

**ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΤΩΝ p38-MAPK / MSK1 ΣΤΗ ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ
ΕΠΑΓΟΜΕΝΗΣ ΑΠΟ ΤΟ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΦΩΣΦΟΡΥ-
ΛΙΩΣΗΣ ΤΗΣ ΜΙΚΡΟΥ ΜΟΡΙΑΚΟΥ ΒΑΡΟΥΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ
ΘΕΡΜΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ (sHsp) ΣΕ H9c2 ΚΥΤΤΑΡΑ**

Αγγελή Ι.Κ., Γαϊτανάκη Αικ. και Μπέης Ι.

*Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ,
Πανεπιστιμιούπολη Ιλίσσια, 157 84 Αθήνα*

Ένα από τα σημαντικότερα στρεσογόνα ερεθίσματα στα οποία εκτίθενται τα καρδιακά κύτταρα είναι η επίδραση ενεργών ριζών οξυγόνου (ROS). Οι μικρού μοριακού βάρους πρωτεΐνες θερμικού στρες (small Heat Shock Proteins - sHsps) έχει βρεθεί ότι προστατεύουν τα κύτταρα έναντι του οξειδωτικού στρες είτε λειτουργώντας ως πρωτεΐνες-συνδοί (molecular chaperones) είτε διασφαλίζοντας την ακεραιότητα των κυτταρικών δομών κάτω από τις στρεσογόνες αυτές συνθήκες. Θεωρήθηκε λοιπόν σημαντικό να μελετηθούν τα σηματοδοτικά μονοπάτια που εμπλέκονται στη ρύθμιση της φωσφορυλίωσης της sHsp σε καρδιακούς μυοβλάστες H9c2. Μελέτη του χρονικού προτύπου απόκρισης της sHsp κατά την επίδραση 200μM H₂O₂ στο παραπάνω πειραματικό μοντέλο, κατέδειξε μέγιστη φωσφορυλίωση της sHsp στο κατάλοιπο σερίνης 59 στις 2 ώρες. Με χρησιμοποίηση ειδικών αναστολέων για συγκεκριμένα σηματοδοτικά μονοπάτια, διαπιστώθηκε αναστολή της παραπάνω απόκρισης παρουσία των SB203580 (αναστολέας της p38-MAPK), H89 (αναστολέας της MSK1) καθώς και του BAPTA (ουσία που δεσμεύει τα ιόντα ασβεστίου). Προηγούμενη μελέτη μας έχει δείξει μέγιστη φωσφορυλίωση της p38-MAPK και της MSK1 στα 15 λεπτά επίδρασης με H₂O₂. Μέσω ανοσοκυτταροχημικής μελέτης πιστοποιήθηκε συνεντοπισμός της φωσφορυλιωμένης μορφής της sHsp με την τουμπουλίνη σε καρδιακούς μυοβλάστες στους οποίους επιδράσαμε με 200μM H₂O₂. Τα αποτελέσματα αυτά καταδεικνύουν για πρώτη φορά την εμπλοκή των p38-MAPK / MSK1 και του ασβεστίου στη ρύθμιση της φωσφορυλίωσης της sHsp κατά την επίδραση οξειδωτικού στρες. Διαφαίνεται ακόμη πιθανός προστατευτικός της ρόλος στη διασφάλιση της ακεραιότητας του κυτταροσκελετού-συμβάλλοντας πιθανά στην κυτταρική επιβίωση.

- Το έργο συγχρηματοδοτείται από το Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο και Εθνικούς πόρους ΕΠΕΑΕΚ [ΠΥΘΑΓΟΡΑΣ I (Κ.Α. 70/3/7399)].

INVOLVEMENT OF P38-MAPK / MSK1 IN THE REGULATION OF H₂O₂-INDUCED PHOSPHORYLATION OF sHSP IN H9c2 CELLS

Aggeli I.K., Gaitanaki C., and Beis I.

*Dept. of Animal and Human Physiology, School of Biology, University of Athens,
Panepistimioupolis Ilissia, 157 84 Athens*

One of the most important challenges that cardiomyocytes experience is an increase in the levels of ROS. Small heat shock proteins (sHsps) have been found to protect cells against oxidative stress either by functioning as molecular chaperones or by securing the integrity of multiple cellular components under stressful conditions. Therefore, we decided to study in particular, the signaling cascades involved in the regulation of sHsp phosphorylation. Looking into the time profile of the sHsp response to treatment of H9c2 cells with 200 μ M H₂O₂ the latter phosphorylation levels (at serine 59) were found to be maximally induced after 2h. Interestingly, inhibition of p38-MAPK (SB203580) and MSK1 (H89) as well as BAPTA, which is a calcium chelating agent, almost abrogated this response. In a previous study of ours, both p38-MAPK and MSK1 have been found to attain their maximal phosphorylation levels at 15min of H₂O₂ treatment. Performing immunocytochemistry we also detected a co-localization of phosphorylated sHsp with tubulin in myoblasts subjected to 200 μ M H₂O₂ treatment. Our results indicate for the first time the involvement of p38-MAPK, MSK1 and calcium signaling in the mechanism regulating oxidative stress-induced sHsp phosphorylation. One can postulate that sHsp exerts a protective role under these stressful conditions by mediating cytoskeletal integrity, thus contributing to cellular survival.

- *The project is co-funded by the European Social fund and National Resources [PYTHAGORAS I grant (70/3/7399)].*

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΒΟΛΦΡΑΜΙΟΥ ΣΤΗΝ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΔΟΜΗ ΚΑΙ
ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ*****Αδαμάκης Σ. Ι-Α.¹, Ελευθερίου Π.Ε.¹, Rost T.L.²***¹ *Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Σχολή Θετικών Επιστημών, Τμήμα
Βιολογίας, Τομέας Βοτανικής, 541 24 Θεσσαλονίκη*² *Section of Plant Biology, University of California, Davis, CA 95616, USA*

Διερευνήθηκε η επίδραση του βολφραμίου στην ανάπτυξη δύο ανώτερων φυτών και ειδικότερα των καλλιεργούμενων ποικιλιών μπιζελιού (*Pisum sativum* cv. onpard) και βαμβακιού (*Gossypium hirsutum* cv. campo) σε επίπεδο οπτικής και ηλεκτρονικής μικροσκοπίας. Πραγματοποιήθηκε επίδραση 200 mg/l και 500 mg/l νατριούχου βολφραμίου (Na₂WO₄) για διάστημα τριών και έξι ημερών. Οι μετρήσεις του μήκους της κεντρικής ρίζας έδειξαν άμεση αναστολή της ανάπτυξης του φυτού. Το επάκριο μερίστωμα αδυνατεί να ανακάμψει μετά την απομάκρυνση του βολφραμίου. Παρατηρήθηκαν άτυπες κυτταρικές διαιρέσεις και αποκλίσεις από την τυπική λεπτή δομή, ακόμη και στις επιδράσεις για χρονικό διάστημα τριών ημερών. Οι πρώτες περιλαμβάνουν τόσο αυτές με ασυνήθη προσανατολισμό της κυτταρικής πλάκας όσο και εκείνες με ατελή κυτταρικά τοιχώματα. Επίσης, παρατηρήθηκαν πυρήνες με μεγάλα χυμοτόπια πυρηνίσκων. Η μελέτη με ανοσοεντόπιση σωλινίνης έδειξε ότι, παρουσία βολφραμίου οι μικροσωληνίσκοι χάνουν την τυπική οργάνωσή τους και εμφανίζονται στη θέση τους μη αναμενόμενα πολυμερή σωλινίνης. Συμπερασματικά, από τη μελέτη προκύπτει ότι το βολφράμιο εκδηλώνει τοξικότητα στην ανάπτυξη των φυτών. Η δράση του εξαρτάται από τη συγκέντρωση και το χρονικό διάστημα της επίδρασης. Φαίνεται ότι το βολφράμιο έχει παρόμοια δράση με άλλα βαρέα μέταλλα και οδηγεί στη νέκρωση των φυτικών ιστών, προκαλεί μείωση του όγκου του κυτταροπλάσματος, επηρεάζει αρνητικά τη διαδικασία της κυτταροκίνησης, προκαλεί διαταραχές στον κυτταρικό σκελετό των μικροσωληνίσκων, ανώμαλες κυτταρικές διαιρέσεις, διόγκωση των χυμοτοπίων των πυρηνίσκων και ασυνήθη χυμοτοπιασμό.

TUNGSTEN EFFECTS ON PLANT CELL ULTRASTRUCTURE AND GROWTH

Adamakis S. I-D.¹, Eleftheriou P.E.¹, and Rost T.L.²

¹*Department of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki,
GR-541 24 Thessaloniki, Greece*

²*Section of Plant Biology, University of California, Davis, CA 95616, USA*

The effect of 200 and 500 mg/l of tungsten for three and six days on pea (*Pisum sativum* cv. onmard) and cotton (*Gossypium hirsutum* cv. campo) seedlings was investigated, with light and transmission electron microscopy. It was found that tungstate (Na_2WO_4) retarded the seedling growth rate and stopped root elongation. Seedlings could recover when tungstate was removed, but the primary root continued to be stunted. Ultrastructural observations of treated and untreated plants revealed that the metal induced the formation of incomplete cytokinetic cell walls and misaligned cell plates. Vacuoles appeared semi-circular, while nucleoli became large and spherical with a central nucleolar vacuole, even at three days of treatment. A tubulin immunofluorescence study revealed that in treated plants microtubules lose their normal appearance and formation of abnormal polymers of tubulin is induced. In particular, the present observations on pea and cotton seedlings indicated that tungstate: a) inhibits plant shoot and root system growth, b) inhibits cell plate formation and completion, c) induces ultrastructural malformations to vacuoles and the cytoskeleton, and d) causes the formation of large and persistent nucleolar vacuoles.

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΠΡΟΤΥΠΟΥ ΚΑΤΑΝΟΜΗΣ ΤΩΝ ΙΣΟΜΟΡΦΩΝ
ΤΩΝ ΙΣΤΟΝΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ ΦΥΤΙΚΩΝ
ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΥΠΟ ΤΗΝ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΦΥΤΟΟΡΜΟΝΩΝ***Αλατζάς Α. και Φουντούλη Α.**Εργαστήριο Βιολογίας Ανάπτυξης, Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής
Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας Α.Π.Θ.*

Μελετήθηκαν οι ισομορφές των ιστονών στις τρεις αναπτυξιακές ζώνες (μεριστωματική ζώνη, ζώνη επιμήκυνσης και ζώνη διαφοροποίησης) της ρίζας του φυτού *Zea mays* L. Απομονώθηκαν ιστόνες από κάθε αναπτυξιακή ζώνη ξεχωριστά, διαχωρίστηκαν με δισδιάστατη ηλεκτροφόρηση AUT/AUC-PAGE και έγινε ανοσοανήγνωση των ιστονών H1, H2A, H2B, H3 και H4. Παράλληλα, αναλύθηκαν με τον ίδιο τρόπο ιστόνες που απομονώθηκαν από φυτά που αναπτύχθηκαν παρουσία των φυτοορμονών αυξίνης και γιββεριλλίνης. Η ανάλυση των πηκτών έγινε με τη βοήθεια H/Y και υπολογίστηκε η ποσοστιαία συμμετοχή κάθε ισομορφής και τροποποιημένης μορφής σε κάθε κύρια τάξη ιστονών. Η ανάλυση των πηκτών έδειξε ότι η ποσοστιαία συμμετοχή ορισμένων ισομορφών μεταβάλλεται τόσο κατά την διαφοροποίηση των κυττάρων στα φυτά-μάρτυρες, όσο και κατά την επίδραση εξωγενών φυτοορμονών. Συγκεκριμένα, στη ζώνη διαφοροποίησης παρατηρείται αύξηση της συμμετοχής των ισομορφών H1⁰, H2B.2 και H3.2 και σχετική μείωση της συμμετοχής των ισομορφών H1A, H2B.1, και H3.1. Ταυτόχρονα, παρατηρείται σχετική αύξηση της συμμετοχής των τροποποιημένων μορφών της H3 και μείωση της συμμετοχής της ουβικουιτωμένης H2A (uH2A) και της ακετυλιωμένης H4. Κατά την επίδραση αυξίνης παρατηρείται σε όλες τις αναπτυξιακές ζώνες σημαντική αύξηση της συμμετοχής των ισομορφών H1⁰, H2A.1 και H3.1, η συμμετοχή της ισομορφής H1A, της uH2A και της ακετυλιωμένης H4 διατηρούνται στα επίπεδα της ζώνης διαφοροποίησης των μαρτύρων, ενώ μειώνεται και η συμμετοχή των τροποποιημένων μορφών της H3. Τέλος, κατά την επίδραση γιββεριλλίνης παρατηρείται, σε σχέση με τους μάρτυρες, σημαντική αύξηση της συμμετοχής των ισομορφών H1A, H2B.1 (εκτός από τη ζώνη επιμήκυνσης), και H3.1 (στη ζώνη διαφοροποίησης), ενώ μειώνεται, σε όλες τις αναπτυξιακές ζώνες, η συμμετοχή της H1⁰, και της ακετυλιωμένης H4. Η συμμετοχή της H2A.1 διατηρείται σε υψηλά, σε σχέση με τους μάρτυρες επίπεδα, ενώ μειωμένη εμφανίζεται η συμμετοχή της uH2A (εκτός από την μεριστωματική ζώνη) και των τροποποιημένων μορφών της H3. Οι παρατηρούμενες μεταβολές στη συμμετοχή των διαφόρων ισομορφών των ιστονών πιθανόν να οφείλονται στη διαφορετική φυσιολογική κατάσταση των φυτικών κυττάρων σε κάθε μία από τις περιπτώσεις που μελετήθηκαν. Η διαφοροποίηση των φυτικών κυττάρων καθώς και η απόκρισή τους στις εξωγενείς φυτοορμόνες προϋποθέτουν μεταβολή του ρυθμού κυτταρικών διαρύσεων και του προτύπου γονιδιακής έκφρασης, συνεπώς αλλαγές στη δομή και λειτουργία της χρωματίνης, για τις οποίες πιθανόν να απαιτούνται διαφορετικές σχετικές αναλογίες των διαφόρων ισομορφών των ιστονών καθώς και διαφορετικό επίπεδο τροποποίησής τους.

DISTRIBUTION OF HISTONE VARIANTS DURING PLANT CELL DIFFERENTIATION AFTER PLANT HORMONE TREATMENT

Alatzas A., and Foundouli A.

*Laboratory of Developmental Biology, Department of Genetics, Development &
Molecular Biology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki*

The developmental zones in the root of *Zea mays* (meristematic zone, elongation zone and differentiation zone) can be easily identified and isolated. Histones from each zone were isolated, separated by two-dimensional AUT/AUC-PAGE and histones H1, H2A, H2B, H3 and H4 were immunodetected. Additionally, histones were isolated from roots treated with auxin and gibberillin and analyzed as mentioned above. Gels were scanned and analyzed by means of computer and each variant and modified form ratio was estimated within the five major histone classes. According to gel analysis, distribution of histone variants is altered during plant cell differentiation, both in controls and in plants treated with plant hormones. The ratios of H1⁰, H2B.2 and H3.2 variants are increased in differentiation zone, while the ratios of H1A, H2B.1 and H3.1 variants and the ratios of ubiquitinated H2A and acetylated H4 are decreased, compared to meristematic and elongation zones. In plants treated with auxin, an increase in the ratios of H1⁰, H2A.1 and H3.1 variants is observed, while the ratios of H1A variant, ubiquitinated H2A and acetylated H4 are decreased to the levels of differentiation zone, regardless the developmental zone the samples derived from. A decrease in the ratios of modified forms of H3 is also observed in plants treated with auxin. Finally, in plants treated with gibberillin, the ratios of H1A, H2A.1, H2B.1 (except samples from elongation zone) and H3.1 (in samples from differentiation zone) are increased, compared to the controls, while the ratios of H1⁰ variant, ubiquitinated H2A (except samples from meristematic zone) and modified forms of H3 and H4 are decreased, regardless the developmental zone the samples derived from. The alterations of histone variant distribution observed in the developmental zones of maize root maybe correlated to the different physiological state of the plant cells. Both plant cell differentiation and response to exogenous supplied plant hormones result in alterations in the physiological state of the cell and consequently in chromatin structure and function, that probably necessitate distinct variants' ratios and modification level during each process.

**ΧΩΡΟΚΑΤΑΝΟΜΗ ΤΩΝ BRACHYURA DECAPODA ΣΤΟ
ΘΕΡΜΑΪΚΟ ΚΟΛΠΟ: ΠΡΟΚΑΤΑΡΚΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ
ΑΠΟΡΡΙΠΤΟΜΕΝΩΝ ΑΣΠΟΝΔΥΛΩΝ ΠΑΡΑΚΤΙΑΣ ΑΛΙΕΙΑΣ**

Αλεξανδρίδης Ν., Φρυγανιώτης Κ., Χιντήρογλου Χ.

Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ, 540 06 Θεσ/νίκη

Στα πλαίσια ερευνητικού προγράμματος για την καταγραφή της βιοποικιλότητας των απορριπτόμενων θαλάσσιων ασπόνδυλων οργανισμών που εκπονείται στο Τμήμα Βιολογίας (ΑΠΘ), μελετήθηκαν οι απορριπτόμενοι οργανισμοί 25 δίχτων παράκτιας αλιείας στο Θερμαϊκό Κόλπο, το χρονικό διάστημα Νοέμβριος-Δεκέμβριος του 2006. Σε 14 δίχτυα καταγράφηκαν συνολικά 264 άτομα Βραχύουρων Δεκαπόδων, τα οποία ταξινομήθηκαν σε 11 είδη [*Carcinus aestuarii* NARDO 1847, *Eriphia verrucosa* (FORSKAL 1775), *Goneplax rhomboides* (LINNAEUS 1758), *Liocarcinus arcuatus* (LEACH 1814), *Liocarcinus corrugatus* (PENNANT 1777), *Liocarcinus depurator* (LINNAEUS 1758), *Liocarcinus vernalis* (RISSO 1816), *Macropodia rostrata* (LINNAEUS 1761), *Maja crispata* RISSO 1827, *Pilumnus spinifer* H. MILNE EDWARDS 1834, *Xantho incisus* (LEACH 1814)]. Η χωροκατανομή των ειδών αυτών εμφανίζεται μάλλον ασυνεχής, αντικατοπτρίζοντας τις βιονομικές συνθήκες του πυθμένα στον κόλπο, γεγονός που διερευνάται. Το είδος με τη μεγαλύτερη αφθονία ήταν το *Carcinus aestuarii*. Ο λόγος αρσενικών / θηλυκών ατόμων του είδους βρέθηκε ίσος με $\delta^{131}:53\delta$, ενώ η κατανομή των κλάσεων μεγέθους του πληθυσμού ακολουθούσε θεωρητική κανονική κατανομή ($\chi^2 = 15.3$, $df = 10$, $p = 0.12$). Από το σύνολο των 11 ειδών τα 7 (*C. aestuarii*, *E. verrucosa*, *L. arcuatus*, *L. corrugatus*, *L. depurator*, *L. vernalis*, *M. crispata*) θεωρούνται ως εμπορεύσιμα είδη (FAO 1987). Η αλιευτική δραστηριότητα στα παράκτια οικοσυστήματα φαίνεται να προκαλεί μία μορφή μεταφοράς βιοτικών στοιχείων, καθώς αρκετά είδη μεταφέρονται από ένα ενδιαίτημα σε κάποιο άλλο, κατά τη διάρκεια της διαλογής των αλιευμάτων. Οι διεργασίες αυτές, όμως, δε γνωρίζουμε κατά πόσο επηρεάζουν την ευρύτερη σύνθεση των βιοκοινοτήτων. Κατά συνέπεια, η μελέτη τούτης της απορριπτόμενης βιοποικιλότητας κρίνεται ως αναγκαία για ένα ευρύτερο ορθολογικό διαχειριστικό σχέδιο των παράκτιων οικοσυστημάτων.

**SPATIAL DISTRIBUTION OF BRACHYURA DECAPODA IN
THERMAIKOS GULF: PRELIMINARY RESULTS OF DISCARDED
INVERTEBRATES OF INSHORE FISHERY**

Alexandridis N., Fryganiotis K., Chintiroglou Ch.

Department of Zoology, School of Biology, AUTH, 540 06 Thessaloniki

As a part of a research program recording the biodiversity of the discarded marine invertebrate organisms which is being carried out at the School of Biology (AUTH), the discarded organisms from 25 nets of inshore fishery in Thermaikos Gulf have been studied during the period of November-December 2006. In 14 nets a total of 264 individuals of Brachyura Decapoda have been recorded, which have been classified into 11 species. [*Carcinus aestuarii* NARDO 1847, *Eriphia verrucosa* (FORSKAL 1775), *Goneplax rhomboides* (LINNAEUS 1758), *Liocarcinus arcuatus* (LEACH 1814), *Liocarcinus corrugatus* (PENNANT 1777), *Liocarcinus depurator* (LINNAEUS 1758), *Liocarcinus vernalis* (RISSO 1816), *Macropodia rostrata* (LINNAEUS 1761), *Maja crispata* RISSO 1827, *Pilumnus spinifer* H. MILNE EDWARDS 1834, *Xantho incisus* (LEACH 1814)]. The spatial distribution of these species appears to be rather incontinuous, reflecting the bionomy of the sea bed in the gulf, with the matter still being under investigation. The most abundant species was *Carcinus aestuarii*. The male/female ratio of the species was found equal to ♂131:53♀, while the population's distribution of size classes did not differ significantly from an even distribution ($\chi^2 = 15.3$, $df = 10$, $p = 0.12$). 7 out of the 11 species (*C. aestuarii*, *E. verrucosa*, *L. arcuatus*, *L. corrugatus*, *L. depurator*, *L. vernalis*, *M. crispata*) are considered as commercial (FAO 1987). Fishing activity in coastal ecosystems appears to cause some form of transport of biotic elements, as many species are being transported from one habitat to another, during the sorting of catches. We do not know, however, to what extent these procedures affect the general composition of biocommunities. The study of this discarded biodiversity is therefore considered to be necessary for a wide rational management design of coastal ecosystems.

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΩΝ ΠΟΥΡΙΝΩΝ ΣΤΗΝ ΑΠΟΙΚΟΔΟ-
ΜΗΣΗ *IN VITRO* ΤΗΣ πολυ(A) ΟΥΡΑΣ ΑΠΟ ΤΗΝ πολυ(A)-
ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΡΙΒΟΝΟΥΚΛΕΑΣΗ.**

*Αναστασάκης Δ., Μπαλατσός Ν. Α.Α. και Κ. Σταθόπουλος**

*Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Πλούτωνος 26,
412 21 Λάρισα (*cstath@bio.uth.gr)*

Τα ευκαρυωτικά mRNA ωριμάζουν συνήθως από διαδικασίες προσθήκης της καλύπτρας, ματίσματος, και πολυαδενυλίωσης. Η καλύπτρα είναι μια μεθυλιωμένη γουανίνη συνδεδεμένη μέσω 5'-5' τριφωσφορικού δεσμού με το πρώτο νουκλεοτίδιο, ενώ η πολυαδενυλίωση είναι η προσθήκη μιας ουράς 70-300 καταλοίπων αδενοσίνης στο 3' άκρο. Η αποικοδόμηση του mRNA ξεκινάει συνήθως με την βράχυνση της πολυ(A) ουράς. Σε ανώτερους οργανισμούς το κύριο ένζυμο για την διαδικασία της αποαδενυλίωσης είναι η πολυ(A)-εξειδικευμένη ριβονουκλεάση, PARN. Προσδένεται ειδικά στην πολυ(A) ουρά και την αποικοδομεί με φορά 3'-5', ενώ η καλύπτρα στο 5' άκρο διεγείρει την επεξεργαστική (processive) δράση του ενζύμου *in vitro*. Άλλοι παράγοντες που ρυθμίζουν την δράση της PARN είναι η πολυ(A) προσδενόμενη πρωτεΐνη C (PABC), ο eIF4E, το σύμπλοκο που προσδένει την καλύπτρα στον πυρήνα (CBC), και παράγοντες που προσδένονται σε περιοχές ARE.

Με σκοπό την εύρεση μηχανισμών που ρυθμίζουν την αποικοδόμηση του mRNA, εστιάσαμε την προσοχή μας σε παράγοντες ή μόρια που τυχόν επηρεάζουν την δράση της PARN. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζουμε αφορούν στην επίδραση των νουκλεοτιδίων πουρίνης σε *in vitro* αντιδράσεις αποαδενυλίωσης. Βρέθηκε ότι και τα τρία νουκλεοτίδια γουανίνης, GMP, GDP και GTP μειώνουν τη δραστηριότητα του ενζύμου. Η αναστολή αυξάνεται κατά τη σειρά GMP<GDP<GTP, ενώ η κινητική ανάλυση έδειξε πως και τα τρία νουκλεοτίδια αναστέλλουν το ένζυμο με μικτή μη συναγωνιστική αναστολή. Το ATP όπως και τα τριφωσφορικά δεοξυνουκλεοτίδια dATP και dGTP μείωσαν τη δραστηριότητα της PARN στα ίδια επίπεδα και με τον ίδιο τρόπο με το GTP. Τα αποτελέσματα δείχνουν πως ο αριθμός των φωσφορικών ομάδων του νουκλεοτιδίου επηρεάζει την ενεργότητα της PARN και όχι τόσο το είδος της πουρίνης ή του σακχάρου.

EFFECT OF PURINE NUCLEOTIDES ON poly(A) DEGRADATION BY poly(A)-SPECIFIC RIBONUCLEASE (PARN) *IN VITRO*.

*Anastassakis D., Balatsos N. A.A., and C. Stathopoulos**

*Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly, 26 Ploutonos st., 412 21 Larissa, Greece (*cstath@bio.uth.gr).*

Mature eukaryotic messenger RNAs are generated from larger precursors, by a series of processing steps, i.e. capping, splicing and polyadenylation. Capping is the addition of an inverted m⁷G(5')ppp(5')N structure, known as cap, at the very beginning of the transcript, while polyadenylation is the addition of a series of adenosines (70-300 residues) at the 3'ends. mRNA degradation usually begins with the shortening of poly(A) tail. Poly(A)-specific ribonuclease, PARN, is a key enzyme in this process. It binds specifically poly(A) tails and degrades them 5'-3', while the cap stimulates PARN activity by increasing the processivity of degradation. Other factors that regulate PARN are the poly(A)-binding protein C, eIF4E (competing for cap-binding), the cap-binding complex, and ARE-associated proteins. In order to elucidate the mechanisms that regulate mRNA stability we focus on factors/molecules that affect PARN activity. In this presentation we show data on the effect of guanosine nucleotides on PARN. We find that all three ribonucleotides GTP, GDP, GMP reduce PARN activity. Results and kinetic analysis show that the effectiveness on the activity reduction pattern is GMP<GDP<GTP, and the nucleotides behave as mixed noncompetitive inhibitors. We then checked the effect of ATP and we find that it can reduce activity as efficiently and in the same way as GTP. Finally deoxynucleotides, such dGTP and dATP, also reduce the rate of poly(A) degradation following mixed noncompetitive kinetics. It seems that purine nucleotides reduce PARN activity and it is the number of the phosphate groups of the nucleotide that affect enzyme activity, not the purine base or the sugar.

**ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΔΥΝΑΜΙΚΗ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ
ATYAEPHYRA DESMARESTII (MILLET, 1831) (CRUSTACEA,
DECAPODA, ATYIDAE) ΣΤΟΝ ΠΟΤΑΜΟ ΛΟΥΡΟ**

Αναστασιάδου Χ. και Ι.Δ. Λεονάρδος

*Εργαστήριο Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών,
Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Πανεπιστημιούπολη, 45110, Ιωάννινα*

Το είδος *Atyaephyra desmarestii* (Millet, 1831) ανήκει στα κολυμβητικά δεκάποδα των επιφανειακών εσωτερικών υδάτων. Το είδος εμφανίζει ευρεία ζωογεωγραφική διανομή στα ποτάμια και λιμναία οικοσυστήματα της Ευρώπης και των παρα-Μεσογειακών περιοχών. Αναφορικά με τον Ελλαδικό χώρο, πρόκειται για τον μοναδικό αντιπρόσωπο της οικογένειας Atyidae. Έχει αναφερθεί στα ποτάμια και τις λίμνες της δυτικής και βόρειας ηπειρωτικής Ελλάδας. Στην παρούσα έρευνα, μελετήθηκε η δομή πληθυσμών και ορισμένες παράμετροι της βιολογίας του είδους, στο ποταμό Λούρο. Μελετήθηκε και καταγράφηκε σε μηνιαία βάση η αναλογία φύλων και η κατά μήκος σύνθεση των πληθυσμών του είδους, η σχέση μήκους-βάρους των ατόμων, ο γοναδοσωματικός δείκτης για αρσενικά και θηλυκά άτομα και η γονιμότητα των θηλυκών ατόμων δια μέσου της παρατήρησης της ωοφορίας. Το είδος παρουσιάζει παρατεταμένη αναπαραγωγική περίοδο η οποία διαρκεί από τον Απρίλιο μέχρι το Σεπτέμβριο. Η γονιμότητα φαίνεται να εξαρτάται από το μέγεθος των θηλυκών ωοφόρων ατόμων. Διαπιστώθηκε φυλετικός διμορφισμός, με τα θηλυκά άτομα να είναι μεγαλύτερα σε μέγεθος από τα αρσενικά.

**POPULATION STRUCTURE AND DYNAMICS OF THE SPECIES
ATYAEPHYRA DESMARESTII (MILLET, 1831) (CRUSTACEA,
DECAPODA, ATYIDAE) FROM LOUROS RIVER**

Anastasiadou Chr., and I.D. Leonardos

*Laboratory of Zoology, Department of Biological Applications and Technology,
University of Ioannina, University, Campus, 45110, Ioannina*

The species *Atyaephyra desmarestii* (Millet, 1831) is classified to the natant decapods of surface freshwater ecosystems. The species demonstrates a rather wide zoogeographical distribution, occupying the lotic and lentic habitats of Europe and circum-Mediterranean areas. Regarding to Greek freshwater ecosystems, *Atyaephyra desmarestii* is the only representative of the family Atyidae. The species has been reported from riverine and lacustrine ecosystems of western and northern mainland of Greece. Although *A. desmarestii* demonstrates an important ecological interest, contributing to the energy flow in the freshwater ecosystems, the information on the bionomy of the species is poor and scattered. In the present study, the population structure and dynamic as well as certain life history parameters were studied in Louros River. Particularly, the sex ratio, the size frequency distributions, the individual growth, the gonadosomatic index for male and female specimens and the fecundity of ovigerous females were monthly studied and recorded. The species shows extended reproductive period from April to September. Fecundity seems to be size dependent. The species shows sex dimorphism, with the female specimens being bigger than the male ones.

ΕΠΟΧΙΑΚΕΣ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΕΙΣ ΤΩΝ Ε.Ρ.Τ. ΟΜΑΔΩΝ ΣΤΟΝ ΠΟΤΑΜΟ ΚΡΑΘΙ (ΑΧΑΪΑ, ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΣ)

*Ανδριοπούλου Α.¹, Γκρίτζαλης Κ.¹, Κουτσοδήμου Μ.¹, Λεγάκις Α.²,
Σκουλικίδης Ν.¹*

¹ΕΛ.ΚΕ.Θ.Ε., Ινστ. Εσωτερικών Υδάτων, 46,7 χλμ. Αθηνών-Σουνίου, 190 13 Ανάβυσσος .

² Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη 15784 Ζωγράφου.

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν οι εποχιακές διακυμάνσεις των Ε.Ρ.Τ. taxa (Εφημερόπτερα, Πλεκόπτερα, Τριχόπτερα) στον π. Κράθι κατά το Καλοκαίρι-Φθινόπωρο 2005. Επιλέχθηκαν 5 σταθμοί ξεκινώντας από τις πηγές με απόσταση από αυτές: **Θέση 1:** 2,3 km, **Θέση 2:** 5,2 km, **Θέση 3:** 8,8 km, **Θέση 4:** 26,7 km και **Θέση 5:** 28,5 km. Ο ποταμός Κράθις είναι μικρού μήκους ca 30 km, με ασβεστολιθικού τύπου λεκάνη απορροής, έκτασης 149 km², και συνεχούς ροής με εξαίρεση ένα τμήμα του κοντά στις εκβολές που συνήθως είναι άνωδρο κατά τους θερινούς μήνες. Βάσει του Illies, ο Κράθις ανήκει στην οικοπεριοχή 6 (Ελληνικά Δυτικά Βαλκάνια). Η λεκάνη απορροής του είναι μια τυπική μεσογειακή ήπια αγροτική περιοχή που εμφανίζει διάφορα είδη βλάστησης (φυλλοβόλα, αειθαλή, κωνοφόρα δάση, διάφορες καλλιέργειες κλπ.). Η συλλογή και εξέταση υδάτινων μακροασπονδύλων έγινε με τη μέθοδο AQEM, όπου τα Ε.Ρ.Τ. taxa στις θέσεις δειγματοληψίας έδωσαν τα εξής αποτελέσματα:

Θέση 1: Τα Εφημερόπτερα κυριαρχούν και στις δύο περιόδους με είδη των Heptageniidae και Baetidae. Τα Πλεκόπτερα εμφάνισαν περισσότερα taxa την άνοιξη με κοινή εμφάνιση και στις δύο περιόδους των Nematidae και Perlodidae. Τέλος, τα Τριχόπτερα εμφανίζουν λίγες οικογένειες συνολικά με κυρίαρχη οικογένεια τα Hydropsychidae.

Θέση 2: Παρατηρήθηκε ότι την άνοιξη έχουμε συνολικά περισσότερα Ε.Ρ.Τ. taxa, αλλά τα Baetidae κυριαρχούν ποσοτικά και στις δύο περιόδους.

Θέση 3: Ο σταθμός αυτός εμφάνισε την μεγαλύτερη ποικιλότητα και ισοδυναμία, από όλους τους σταθμούς ειδικά την άνοιξη. Αυτό οφείλεται στην μεγάλη και σταθερή παροχή νερού καθώς και στην παρουσία αρκετών ενδαιτημάτων και ιδιαίτερα οργανικών, όπως: ρίζες και συσσωρεύσεις φύλλων, κορμών, παρουσία φυτών (*Carex sp*, *Juncus sp*. κ.ά.).

Θέση 4: Εμφανίζει περισσότερα taxa την άνοιξη με επικρατέστερα τα Εφημερόπτερα (Baetidae), αλλά σε σχέση με τις ανάντη θέση λιγότερα taxa.

Θέση 5: Εμφάνισε περισσότερα Ε.Ρ.Τ. taxa την άνοιξη με κυρίαρχα τα Εφημερόπτερα (Heptageniidae), αλλά σε σχέση με τις άλλες θέσεις αυτή είναι πιο φτωγή, όπου αυτό οφείλεται στην περιοδικότητα της παροχής, στον περιορισμένο αριθμό ενδαιτημάτων, στην απουσία φυτικών οργανισμών (ρίζες, υδροχαρή φυτά κ.ά.) και τέλος στο μεγάλο εύρος της κοίτης.

Συμπερασματικά τα Ε.Ρ.Τ. taxa εμφανίζονται με διάφορες διακυμάνσεις σε όλους τους σταθμούς και ειδικά την άνοιξη, ενώ στην θέση 5 εμφανίζονται περιορισμένα σε ποικιλότητα και αριθμό, ενώ τα taxa των Πλεκοπτέρων απουσιάζουν το φθινόπωρο, γεγονός το οποίο επηρεάζει την βαθμολογία των βιοτικών δεικτών.

SEASONAL VARIATIONS OF E.P.T. TAXA IN KRATHIS RIVER (ACHAIA, PELOPONNESSE, GREECE)

*Andriopoulou A.¹, Gritzalis K.C.¹, Koutsodimou M.¹, Legakis A.², and
N.T. Skoulikidis¹*

¹*H.C.M.R., Institute of Inland Waters, 46.7 km Athens – Sounion Ave., 190 13
Anavyssos, Greece*

²*University of Athens, School of Biology, Department of Zoology, University
Campus, 157 84 Zografou, Greece*

Seasonal variations of E.P.T taxa (Ephemeroptera, Plecoptera, Trichoptera) were studied in Krathis River during summer – autumn 2005. Five sites were selected along the river. The first one was located 2,3 km from the springs, the second 5.2 km, the third 8.8 km, the fourth 26.7 km and the fifth 28.5 km from the springs. Krathis River is approximately 30 km long. Its catchment occupies an area of 149 km² and predominately presents a calcareous substrate. The flow is permanent lengthwise; however it becomes dry at its lower portion during summer. It belongs to ecoregion 6 (Hellenic Western Balkans) according to Illies. The catchment area presents a typical mediterranean agricultural character. The most dominant vegetation species are: deciduous forest, evergreen forest, coniferous forest, agricultural plantations. AQEM method was used for the collection and study of the aquatic macroinvertebrates. The results from the study of E.P.T. taxa, were:

Site 1: Ephemeroptera (Heptageniidae, Baetidae) dominated in both seasons. As far as Plecoptera are concerned, the families Nemouridae & Perlodidae were mainly found in both seasons; however more species were observed during spring. Finally, among the Trichoptera a few families were presented, among which Hydropsychidae was dominant.

Site 2: More E.P.T. taxa were recorded during spring. Baetidae family (Ephemeroptera) was quantitatively dominant in both seasons.

Site 3: The highest diversity and evenness occurred in this site especially in spring. This is due to the high and stable water discharge as well as due to the presence of many microhabitats (organics, roots, leaf concentration, aquatic plants, *Carex sp.*, *Juncus sp.*, trunks, etc).

Site 4: More E.P.T. taxa and especially Ephemeroptera (Baetidae) were recorded in spring. However, the upstream sites presented less taxa.

Site 5: More E.P.T. taxa and especially Ephemeroptera (Baetidae) were recorded in spring. As far as the number of taxa is concerned, site 5 is poorer than the others, due to periodic water discharge, limited number of microhabitats, absence of plants (roots, emergent macrophytes, etc) and, finally, due to the wider river bed.

The results clearly showed that E.P.T. taxa were present in all sites especially in spring. In site 5 they were found to be limited in variation and numbers. In the same site Plecoptera were absent in autumn's sampling fact that affects the score of the biotic indices.

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΣ ΣΤΗΝ ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΗ
ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΚΑΙ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΓΛΥΚΟΛΥΤΙΚΩΝ
ΕΝΖΥΜΩΝ ΣΤΟ ΘΑΛΑΣΣΙΟ ΔΙΟΥΡΟ *MYTILUS
GALLOPROVINCIALIS* (L.)**

Ανέστης Α., Portner H.-O., Στάικου Α. και Β. Μιχαηλίδης

*Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τμήμα Βιολογίας, Εργαστήριο
Φυσιολογίας Ζώων. Θεσσαλονίκη, 54124.*

Στα πλαίσια της αύξησης της παγκόσμιας θερμοκρασίας, οργανισμοί, όπως τα δίθυρα, θα αντιμετωπίσουν πρώτοι τις συνέπειες από τις ακραίες συνθήκες. Η ετήσια θερμοκρασία της θάλασσας στην περιοχή του Θερμαϊκού Κόλπου, όπου καλλιεργούνται μύδια του είδους *Mytilus galloprovincialis*, κυμαίνεται μεταξύ των 9 και 26°C. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η επίδραση του θερμικού στρες στις φυσιολογικές και βιοχημικές αποκρίσεις των μυδιών καθώς και οι περιορισμοί που το στρες επιφέρει σε αυτά, μέσω του προσδιορισμού της Ενδογενούς Επιδίωξης για Αύξηση (Scope For Growth, SFG), η οποία υποδηλώνει το κέρδος ενέργειας από την προσλαμβανόμενη τροφή. Επίσης προσδιορίστηκε η δραστηριότητα των γλυκολυτικών ενζύμων εξοκινάση (HK), φωσφο-φρουκτοκινάση (PFK), αλδολάση (Ald), κινάση του φωσφογλυκερινικού οξέος (PGK), πυροσταφυλική κινάση (PK) και καρβοξυκινάση του φωσφοενολοπυροσταφυλικού οξέος (PEPCK). Μύδια που είχαν εγκλιματιστεί για 2 εβδομάδες στους 18°C, μεταφέρθηκαν σε 5 ενυδρεία, η θερμοκρασία του νερού ρυθμίστηκε στους 20°C, 24°C, 26°C, και 28°C και τα ζώα εγκλιματίστηκαν στις νέες θερμοκρασίες για 30 ημέρες. Άτομα απομακρύνονταν κάθε 5 ημέρες από τα ενυδρεία και γινόταν προσδιορισμός του SFG και της δραστηριότητας των ενζύμων. Σύμφωνα με τα αποτελέσματά μας, η αύξηση της θερμοκρασίας εγκλιματισμού οδηγεί σε μετάπτωση του SFG σε αρνητική τιμή υποδεικνύοντας μια σημαντική απώλεια της ικανότητας των μυδιών να κερδίζουν ενέργεια από την τροφή τους, γεγονός που συμβαδίζει με την υψηλή θνησιμότητα που καταγράφηκε στις υψηλότερες θερμοκρασίες. Με εξαίρεση την PEPCK και την PK, οι δραστηριότητες των υπόλοιπων ενζύμων αυξήθηκαν σημαντικά ως απόκριση στις υψηλές θερμοκρασίες, ιδιαίτερα μετά τους 24°C. Επιπλέον, η μείωση του λόγου PK/PEPCK φανερώνει μια μετάπτωση από τον αερόβιο στον αναερόβιο τύπο μεταβολισμού. Ωστόσο, τα στοιχεία από τις δραστηριότητες των ενζύμων φανερώνουν μια επανενεργοποίηση του μεταβολισμού στους ιστούς των μυδιών μετά από παρατεταμένο εγκλιματισμό στους 26°C και 28°C. Αυτή η επανενεργοποίηση ενδεχομένως υποστηρίζει ενεργειακά την έκφραση των Hsp κατά το θερμικό στρες.

EFFECTS OF TEMPERATURE ON THE ENERGETICS AND GLYCOLYTIC ENZYMES ACTIVITIES IN THE MARINE BIVALVE *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* (L.)

Anestis A., Poertner H.-O., Staikou A., and B. Michaelidis

Aristotle University of Thessaloniki, School of Science, Department of Biology, Laboratory of Animal Physiology. Thessaloniki, 54124.

Like most aquatic organisms, mussels cannot regulate their body temperature in accordance with surrounding environment, so they will be the first to be affected by temperature extremes in the context of global warming. The annual temperature in Greece and especially in the Thermaikos Gulf, where *M. galloprovincialis* is cultivated, ranges between 9 to 26°C. The present work aimed to study the effects of thermal stress on the physiological and biochemical responses and limitations of *M. galloprovincialis* through the determination of its scope for growth (SFG), which indicate the energy gained by the intaked food. The activities of key glycolytic enzymes hexokinase (HK), phosphofructokinase (PFK), aldolase (Ald), phosphoglycerate kinase (PGK), pyruvate kinase (PK) and phosphoenolopyruvate carboxykinase (PEPCK) were determined as well. Adult mussels that had been acclimated for two weeks at 18°C, were introduced into five aquaria, with temperatures adjusted to 20°C, 24°C, 26°C, and 28°C and were left to acclimate for 30 days. Individuals were removed after 5, 10, 15, 20 and 30 days and SFG and enzyme activities were determined according to known methods. According to our results, increase in acclimation temperatures turns SFG negative indicating a significant loss of mussel's ability to gain energy from the ingested food, which is parallel with the increased percentage of mortality of *M. galloprovincialis*. Except of PEPCK and PK, the activities of enzymes increased significantly in the PAM and mantle as response to increasing acclimation temperature especially beyond of 24°C. In addition, the decrease in the ratio of PK/PEPCK implies a shift of aerobic to anaerobic component of metabolism in the tissues. However, the data from the enzymatic activities, indicate a reactivation of metabolic rate in the tissues of mussel after prolonged acclimation at 26°C and 28°C. Reactivation of metabolism may support energetically the expression of Hsp during thermal stress.

**ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΣΠΕΡΜΑΤΟΘΗΚΗΣ ΣΕ
ΠΛΗΘΥΣΜΟΥΣ ΤΟΥ ΧΕΡΣΑΙΟΥ ΣΑΛΙΓΚΑΡΙΟΥ *CERAEA*
VINDOBONENSIS ΑΠΟ ΠΕΡΙΟΧΕΣ ΤΗΣ ΒΟΡΕΙΑΣ ΕΛΛΑΔΑΣ.**

Αποστολίδου Μ. και Α. Στάικου

*Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο
Τ.Κ. 54124 Θεσσαλονίκη,*

Η μορφολογική μελέτη της σπερματοθήκης πραγματοποιήθηκε σε οκτώ πληθυσμούς του χερσαίου σαλιγκαριού *Ceraea vindobonensis* που συλλέχθηκαν από περιοχές της Βόρειας Ελλάδας διαφορετικών κλιματικών συνθηκών. Από την κεντρική Μακεδονία συλλέχθηκαν δύο δείγματα από το Νομό Θεσσαλονίκης από ενδιαιτήματα κοντά στον Αξιό και Γαλλικό ποταμό, δύο δείγματα από το Νομό Πέλλας από ενδιαιτήματα στην περιοχή Λόγγου Έδεσσας, και από περιοχή κοντά στο χωριό Μαυροβούνι, καθώς και δύο δείγματα από το Νομό Σερρών από ενδιαιτήματα κοντά στη λίμνη Κερκίνη (Μανδράκι) και στον ποταμό Στρυμόνα. Τέλος άλλα δύο δείγματα συλλέχθηκαν από τον Νομό Ροδόπης στη Θράκη από ενδιαιτήματα κοντά στα χωριά Εχίνος και Κένταυρος. Συνολικά μελετήθηκαν 152 άτομα σε σχέση με το χρωματικό πρότυπο του κελύφους τους και χωρίστηκαν σε δύο ομάδες ατόμων (μορφές) με ανοιχτόχρωμο και σκουρόχρωμο πρότυπο στις γραμμώσεις του κελύφους. Η μελέτη της δομής της σπερματοθήκης πραγματοποιήθηκε σε δείγμα 103 σαλιγκαριών. Βρέθηκε ότι η σπερματοθήκη του είδους αυτού αποτελείται από απλό χώρο γονιμοποίησης και ένα ή περισσότερα πλευρικά σωληνάκια. Ο χώρος γονιμοποίησης και το κύριο σωληνάριο έχουν περίπου το ίδιο μήκος με το κύριο σωληνάριο να είναι λίγο μακρύτερο στις περισσότερες περιπτώσεις. Ο αριθμός των πλευρικών σωληναρίων κυμαινόταν από ένα έως πέντε ενώ οι πληθυσμοί που μελετήθηκαν δεν διαφοροποιούνταν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους ως προς αυτό το χαρακτηριστικό. Τέλος, οι δύο διακριτές μορφές των σαλιγκαριών δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά ως προς την πολυπλοκότητα της δομής της σπερματοθήκης τους.

**VARIATION OF SPERMATHECA MORPHOLOGY IN
POPULATIONS OF THE LAND SNAIL *Cepaea vindobonensis* FROM
NORTH GREECE.**

Apostolidou M., and A. Staikou

*Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University 54 124
Thessaloniki, Greece*

The morphology of the spermatheca was studied in eight populations of *Cepaea vindobonensis* from North Greece experiencing different climatic conditions. Samples were collected from the central part of Macedonia, from habitats near Axios and Gallikos rivers, from the Logos region of Edessa and the village of Mavrovouni, and from Kerkini Lake and Strymonas River. Two more samples were collected from habitats in the Rodope Mountain in Thrace near the villages of Ehinis and Kentavros. A total of 152 shells were analyzed for the color of their bands and were assigned in two groups representing dark banded and faint banded snails. A subsample from each population was used for the histological study of the spermatheca. The morphology of the spermatheca was studied in a total of 103 snails. Our results indicated that the spermatheca consisted of a simple fertilization chamber and a variable number of lateral tubules. The number of tubules ranged from one to five in the studied populations and no significant difference was detected among them. The mean length of the fertilization chamber was almost equal to the mean length of the main tubule but the main tubule was a few sections longer than the fertilization chamber in many cases. Moreover no difference in spermathecal morphology was observed between the two morphs of the snails (dark banded vs. faint banded).

**ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΝΙΚΟΤΙΝΙΚΟΥ
ΕΝΤΟΜΟΚΤΟΝΟΥ IMIDACLOPRID ΣΤΟ
ΚΑΡΔΙΟΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΟΥ ΕΠΙΜΥΟΣ***

Αραμπατζή Η.¹, Βασιλείου Χ.¹, Παπαευθυμίου Χ. και Θεοφιλίδης Γ.

*Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Σχολή Θετικών Επιστημών, Τμήμα Βιολογίας,
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης*

Το νικοτινικό εντομοκτόνο imidacloprid (IMI) ενεργεί, όπως και η νικοτίνη, στο νευρικό σύστημα, δρώντας ως αγωνιστής της ακετυλοχολίνης. Στα έντομα η μεγάλη συγγένεια του IMI με τις υπομονάδες των νικοτινικών υποδοχέων, εξηγεί την υψηλή τοξικότητά του. Οι μελέτες της δράσης του imidacloprid στα θηλαστικά είναι ανύπαρκτες. Σκοπός της εργασίας είναι η αξιολόγηση της δράσης του IMI στο καρδιοαναπνευστικό σύστημα του επίμυος. Η μεθοδολογία που χρησιμοποιήθηκε, περιλαμβάνει αναισθησία με ένυδρη χλωράλη, ανατομία για την έκθεση των καρωτιδικών αρτηριών, συνεχή καταγραφή του ηλεκτροκαρδιογραφήματος (ΗΚΓ). Για τον αναπνευστικό ρυθμό χρησιμοποιήθηκε μεταγωγέας τάσης που εφαρμόστηκε στο θώρακα του αναισθητοποιημένου επίμυος. Οι καταγραφές έγιναν για 80 λεπτά μετά την έγχυση του IMI στην καρωτιδική αρτηρία. Το IMI σε συγκέντρωση 0.027 μg/ml στο πλάσμα αύξησε τη συνολική διάρκεια του αναπνευστικού ρυθμού κατά 20±7 % (n=4) σε σχέση με τον μάρτυρα 80 λεπτά μετά την έγχυση. Στο ίδιο χρονικό διάστημα παρατηρήθηκε 15±5 % μείωση στη συχνότητα της αναπνοής ενώ, ο χρόνος ανόδου της εισπνοής σημειώνει αύξηση κατά 40±8 %. Στον καρδιακό ρυθμό δεν παρουσιάστηκαν σημαντικές αλλαγές, ένδειξη ότι οι βασικές καρδιακές λειτουργίες παραμένουν ανεπηρέαστες. Τα αποτελέσματα καθιστούν σαφή την επίδραση του IMI στο κέντρο του αναπνευστικού ρυθμού, όπου σύμφωνα με τη βιβλιογραφία υπάρχουν νευρωνικά δίκτυα με χολινεργικές (νικοτινικές) συνάψεις. Η ύπαρξη κυρίως μουσκαρινικού τύπου υποδοχέων στην καρδιά πιθανόν να εξηγεί την έλλειψη δράσης του IMI στην καρδιακή λειτουργία.

¹ Ισοδύναμη συμμετοχή των συγγραφέων

- (*) Η έρευνα χρηματοδοτήθηκε από το Υπουργείο Εθνικής Παιδείας και Θρησκευμάτων και την Ευρωπαϊκή Ένωση στα πλαίσια του προγράμματος Πυθαγόρας II.

ASSESSMENT OF THE ACTIVITY OF THE NICOTINIC INSECTICIDE IMIDACLOPRID ON CARDIORESPIRATORY SYSTEM OF THE RAT*

Arabatzi E.¹, Vasileiou C.¹, Papaefthimiou C., and Theophilidis G.

Laboratory of Animal Physiology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki

The neonicotinoid insecticide imidacloprid (IMI) acts on the nervous system, like nicotine, mainly as an agonist of acetylcholine. The high toxicity of IMI on insects is caused by the high affinity of IMI with the subunits of nicotinic receptors. Because little is known on the toxicity of IMI on mammals, the purpose of the present work is to investigate the effects of IMI on the cardiorespiratory system of the rat. The methodology used includes anesthesia with chloral hydrate, anatomy for the exposure of carotid arteries only and constant recording of Electrocardiogram (ECG). To record the respiratory rhythm, a isometric tension transducer was applied on the thorax of the anaesthetized rat. The recordings were made constantly 80 minutes after the intravenous injection of IMI into the carotid artery. At final concentration of 0.027 μ g/ml IMI in the plasma there was an increase in the total duration of the respiratory period by 20 \pm 7%, compared with control values, 80 minutes after the drug application. A 15 \pm 5% decrease was noticed also in the respiratory frequency, while the rise time of inhalation increased up to 40 \pm 8%. In contrast to respiratory activity, no significant changes were observed on ECG, an indication that basic functions of the heart remained unaffected. The results indicate an effect of IMI, at the concentration used above, on the respiratory control centre, where there are neuronal networks with cholinergic (nicotinic) synapses. The presence of muscarinic cholinergic receptors in cardiac myocytes probably accounts for the lack of activity of IMI in heart rate.

¹ The first two authors contributed equally to the work

- (*) *The research was financed from Ministry of National Education and Religious Affairs and European Union in the frame of Pythagoras Project II.*

Η ΠΡΩΤΕΪΝΗ HRC ΠΡΟΣΔΕΝΕΤΑΙ ΣΤΗΝ SERCA2

**Αρβανίτης Δ.Α.¹, Βαφειαδάκη Ε.¹, Γκούο-Τσανγκ Φαν,² Μπράιαν Α.
Μίττον,² Κίμπερλν Ν. Γκρέγκορ,² Φεντερίκα Ντελ Μόντε,³
Κοντρογιάννη-Κωνσταντοπούλου Αικ.⁴, Σανούδου Δ.¹ και Ε.Γ. Κρασιά^{1,2}**

¹Τομέας Μοριακής Βιολογίας, Κέντρο Βασικής Έρευνας, Ίδρυμα Ιατροβιολογικών
Ερευνών της Ακαδημίας Αθηνών, ²Τμήμα Φαρμακολογίας και Κυτταρικής
Βιοφυσικής, Ιατρικής Σχολής, Πανεπιστήμιο του Σινσινάτι, Οχάιο, Η.Π.Α., ³Τμήμα
Καρδιολογίας, Ιατρική Σχολή του Χάρβαρντ, Γενικό Νοσοκομείο της
Μασσαχουσέτης, Βοστώνη, Η.Π.Α., ⁴Τμήμα Φυσιολογίας, Ιατρική Σχολή,
Πανεπιστήμιο του Μέριλαντ, Βαλτιμόρη, Η.Π.Α.

Η αδυναμία του σαρκοπλασματικού δικτύου να ανακυκλώσει τα ιόντα ασβεστίου έχει συσχετισθεί με εξασθενημένη συσταλτικότητα, η οποία μπορεί να εξελιχθεί σε καρδιακή ανεπάρκεια. Η πλούσια σε ιστιδίνη πρωτεΐνη που δεσμεύει ασβέστιο (HRC) είναι ένα συστατικό του σαρκοπλασματικού δικτύου που συνδέεται στην τριαδίνη και που μπορεί να επηρεάσει την λειτουργία του υποδοχέα της ρυανοδίνης. Η υπερέκφραση της HRC σε καρδιές διαγονιδιακών ποντικών συνδέεται με χαμηλό ρυθμό πρόσληψης ιόντων ασβεστίου από το σαρκοπλασματικό δίκτυο. Βρήκαμε πως η HRC μπορεί να προκαλεί μερικώς αυτό το φαινόμενο δια της άμεσης πρόσδεσης της στην ΑΤΡάση ασβεστίου του σαρκοπλασματικού δικτύου 2 (SERCA2). Στην αλληλεπίδραση αυτή συμμετέχουν τα αμινοξικά κατάλοιπα 320-460 της HRC και ένα τμήμα της αμινο-τελικής περιοχής του μεταφορέα κατιόντων της SERCA2 (74-90 αα), η οποία προβάλλει εντός του αυλού του σαρκοπλασματικού δικτύου. Το πρωτεϊνικό τμήμα της HRC που προσδέεται στην τριαδίνη εντοπίζεται έπειτα 609-699 αα. Η ειδική αλληλεπίδραση ανάμεσα στην HRC και τη SERCA2 επιβεβαιώθηκε *in vivo* με ανοσο-κατακρήμιση, ανοσοφθορισμό και συνεστιακή μικροσκοπία, καθώς και με κατακρήμιση με σφαιρίδια σεφαρόζης, χρησιμοποιώντας ομογενοποιημένες καρδιές ανθρώπου και ποντικού, μυοκαρδιοκύτταρα, όπως και *in vitro* πειράματα επικάθισης και ανοσο-εντύπωσης με ανασυνδυασμένες πρωτεΐνες. Μελέτες με διαδοχικές συγκεντρώσεις ιόντων ασβεστίου έδειξαν πως η πρόσδεση της HRC στη SERCA2 είναι εξαρτημένη από το ασβέστιο. Τα αποτελέσματα των ιόντων ασβεστίου στην αλληλεπίδραση HRC/SERCA2 είναι αντίθετα από ότι στην αλληλεπίδραση HRC/τριαδίνη. Έτσι, η HRC μπορεί να μεσολαβεί στην σύνδεση της πρόσληψης και της απελευθέρωσης ασβεστίου από το σαρκοπλασματικό δίκτυο.

HRC PROTEIN BINDS TO SERCA2

**Arvanitis D.A.¹, Vafiadaki E.¹, Guo-Chang Fan², Bryan A. Mitton²,
Kimberly N. Gregory², Federica Del Monte³, Aik. Kontrogianni-
Konstantopoulos⁴, D. Sanoudou¹, and E. G. Kranias^{1,2}**

¹Molecular Biology Division, Center for Basic Research, Foundation for Biomedical Research of the Academy of Athens, Athens, Greece; ²Department of Pharmacology and Cell Biophysics, College of Medicine, University of Cincinnati, Cincinnati, Ohio, U.S.A.; ³Department of Cardiology, Harvard Medical School, Massachusetts General Hospital, Boston, MA.; ⁴Department of Physiology, School of Medicine, University of Maryland Baltimore, Baltimore, Maryland, U.S.A.

Depressed cardiac Ca cycling by the sarcoplasmic reticulum (SR) has been associated with attenuated contractility which can progress to heart failure. The histidine-rich calcium binding protein (HRC) is an SR component that binds to triadin and may affect the ryanodine receptor. HRC overexpression in transgenic mouse hearts was associated with decreased rates of SR Ca uptake. We found that HRC may mediate part of its regulatory effects in cardiac muscle by binding directly to sarcoplasmic reticulum Ca-ATPase 2 (SERCA2). This interaction involves the amino acid residues 320-460 of HRC and part of the N-terminal cation transporter domain of SERCA2 (74-90 aa), which projects into the SR lumen. The triadin binding domain of HRC is located downstream 609-699 aa. Specific binding between HRC and SERCA was verified *in vivo* by co-immunoprecipitation, co-immunostaining and sepharose pull-downs using human and mouse cardiac homogenates, cardiomyocytes, as well as *in vitro* by blot overlays with recombinant proteins. Ca-titration studies indicated that the binding of HRC to SERCA2 is Ca-dependent. The effect of Ca on the HRC/SERCA2 interaction is opposite to this HRC/triadin. Thus, HRC may mediate a fine cross-talk between SR Ca uptake and release.

**ΤΟ ΝΟ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ ΡΥΘΜΙΣΗΣ ΤΗΣ ΠΡΟΣΛΗΨΗΣ LPS, ΑΠΟ
ΤΑ ΑΙΜΟΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΕΝΤΟΜΟΥ *C. capitata******Αρμπή Μ., Τσάκας Σ., Λαμπροπούλου Μ., Μαρμάρας Β.Ι.****Εργαστήριο Βιολογίας - Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών*

Τα αιμοκύτταρα των εντόμων, όπως και τα πολυμορφοπύρρηνα κύτταρα του αίματος στον άνθρωπο, παράγουν διάφορες μορφές δραστικού οξυγόνου, όπως το H_2O_2 και το NO, όταν έλθουν σε επαφή με ενδοτοξίνες και βακτήρια, ως μέρος της άμυνας του οργανισμού. Στην εργασία αυτή μελετήθηκε η παραγωγή και η συμμετοχή του NO στην πρόσληψη του LPS από τα αιμοκύτταρα του εντόμου *C. capitata*. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν φθορίζοντα μόρια τα οποία οξειδώνονται ειδικά και μετατοπίζουν την καμπύλη φθορισμού τους, όπως DHR (οξείδωση από H_2O_2), HE (οξείδωση από O_2^-) και DCFH (οξείδωση από NO και H_2O_2). Πειράματα με κυτταρομετρία ροής έδειξαν ότι τα αιμοκύτταρα, παρουσία LPS, παράγουν αποκλειστικά NO και καθόλου O_2^- ή H_2O_2 . Η συμμετοχή του NO στη ρύθμιση της πρόσληψης του LPS, επιβεβαιώθηκε με τη χρήση L-NAME, ένας εξειδικευμένος αναστολέας της συνθετάσης του NO. Η παρουσία του αναστολέα, σε καλλιέργεια αιμοκυττάρων, μείωσε την πρόσληψη του LPS, λόγω της μειωμένης παραγωγής NO. Ανοσοαποτυπώματα των MAP κινασών, από εκχύλισμα αιμοκυττάρων, μετά από καλλιέργεια, παρουσία αναστολέων του μεταβολισμού των διαφόρων μορφών δραστικού οξυγόνου, έδειξαν ότι κατά την πρόσληψη LPS, η μείωση της παραγωγής NO δεν επηρεάζει καθόλου τη φωσφορυλίωση της ERK, επηρεάζει λίγο τη φωσφορυλίωση της JNK και δεν επιτρέπει καθόλου τη φωσφορυλίωση της p38. Σε πειράματα κυτταρομετρίας ροής, η παρουσία αναστολέων της φωσφορυλίωσης των ERK, JNK και p38 δεν προκάλεσαν καμία αλλαγή στην παραγωγή NO. Τέλος οι αναστολείς της έκκρισης, SITS και brefeldin μείωσαν πολύ λίγο ή καθόλου την παραγωγή NO, παρόλο που προκάλεσαν μείωση της πρόσληψης του LPS. Φαίνεται ότι η επαφή του LPS με τα αιμοκύτταρα πυροδοτεί την παραγωγή NO, το οποίο, συμμετέχει στη ρύθμιση της πρόσληψης LPS από τα αιμοκύτταρα, δρα πριν (upstream) από τις MAP κινάσες και σχετίζεται με τη φωσφορυλίωση της p38.

**NITRIC OXIDE (NO) AS A MODULATOR OF LPS UPTAKE,
BY THE HEMOCYTES OF THE MEDFLY *C. capitata***

Arbi M., Tsakas S., Lampropoulou M., Marmaras V. J.

Laboratory of Biology – Department of Biology, University of Patras

Insect hemocytes and human polymorphonuclear blood cells, as well, produce several reactive oxygen species, such as H₂O₂ and NO, when they are challenged by endotoxins and bacteria, as a part of their innate defence mechanisms. In the present work, we investigated the production and participation of NO in the uptake of LPS, by the hemocytes of the insect *C. capitata*. For this purpose, certain fluorescent probes were used, which are specifically oxidized and transfer their fluorescence plot, such as DCFH (oxidized by NO and H₂O₂), DHR (oxidized by H₂O₂) and HE (oxidized by O₂⁻). Flow cytometry analysis revealed the production of NO, due to LPS hemocyte challenging and no production of either O₂⁻ or H₂O₂, from the hemocytes. The active role of NO, in the LPS uptake, was confirmed with the use of L-NAME, a specific inhibitor of NO synthase. The presence of this inhibitor, in hemocyte culture, reduced the LPS uptake by hemocytes, due to the lack of NO production. Immunoblot analysis of MAP kinases, from crude extracts of cultured hemocytes in the presence of metabolism enzyme inhibitors of the reactive oxygen species, showed that during LPS challenging the decreased NO production affected JNK phosphorylation in a small extend, while it did not affect ERK phosphorylation, at all. It must be noted that the lack of NO production affected p38 by totally preventing its phosphorylation. On the other hand, flow cytometry experiments showed that inhibition of ERK, JNK and p38 phosphorylation did not affect NO production. In addition, the presence of secretion inhibitors, SITS and brefeldin, did not decreased significantly the NO production, although they reduced LPS uptake. Consequently, it appears that LPS challenged hemocytes produce NO which actively participates in LPS uptake by the hemocytes. In addition, NO acts upstream of MAP kinases and somehow actively regulates p38 phosphorylation. Although secretion influences LPS uptake, this occurs in an independent mechanism, beside NO production.

**ΣΧΕΣΗ ΜΕΤΑΞΥ ΤΕΡΗΔΟΝΑΣ, ΠΕΡΙΟΔΟΝΤΙΤΙΔΑΣ, ΠΡΟ-
ΘΑΝΑΤΙΑΣ ΑΠΩΛΕΙΑΣ ΔΟΝΤΙΩΝ ΚΑΙ ΜΑΣΗΤΙΚΗΣ ΑΠΟ-
ΤΡΙΒΗΣ ΣΕ ΠΛΗΘΥΣΜΙΑΚΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟΥ
ΣΚΕΛΕΤΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ*****Βάννα Β.Γ.¹, Μανώλης Σ.Κ.²***

¹*Institute of Archaeology, UCL, 31-34 Gordon Square, WC1H 0PY, London, UK
Email: v.vanna@ucl.ac.uk*

²*Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό &
Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη 157 84 Αθήνα.
E-mail: smanol@biol.uoa.gr*

Η τερηδόνα, η *κάθετη* και *οριζόντια* περιοδοντίτιδα, η προθανάτια απώλεια δοντιών και η μασητική αποτριβή είναι άμεσα συνδεδεμένες καταστάσεις (conditions) μεταξύ τους. Συνοπτικά, η απόθεση πλάκας έχει σαν αποτέλεσμα την τερηδόνα και την περιοδοντίτιδα και εκείνες με τη σειρά τους την προθανάτια απώλεια δοντιών. Επίσης, οι περισσότερες πληθυσμιακές μελέτες δείχνουν ότι η δριμύτητα της μασητικής αποτριβής, είναι αντιστρόφως ανάλογη με τη συχνότητα της τερηδόνας. Με σκοπό να προσδιοριστεί αυτή η σχέση και να γίνει κατανοητή η φύση της, ερευνήθηκε η κατανομή της κάθε κατάστασης μεταξύ των φύλων. Έχοντας αυτόν τον στόχο, μελετήθηκε ένα σύνολο 1073 δοντιών, 406 από θήλεα και 667 από άρρενα άτομα, από το Βόρειο Νεκροταφείο της Ελληνιστικής (3^{ου} – 1^{ου} αι. π.Χ.) πόλης της Δημητριάδας. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης έδειξαν ότι η προθανάτια απώλεια δοντιών στις γυναίκες σχετίζεται περισσότερο με την εντοπισμένη σε μία περιοχή μόλυνση, ενώ στους άντρες, είναι περισσότερο αποτέλεσμα πιο γενικευμένης μόλυνσης του φατνιακού οστού. Επιπλέον, το γεγονός ότι τα επίπεδα μασητικής αποτριβής στα άρρενα άτομα του πληθυσμού είναι πολύ πιο υψηλά, υποδεικνύει ότι οι άνδρες πιθανότατα έτρωγαν πιο αποξεστικές τροφές, όπως κρέας. Αυτό εξηγεί και τη μικρότερη συχνότητα τερηδόνας, και την σχετιζόμενη με αυτή (καθώς και με την *κάθετη* περιοδοντίτιδα) προθανάτια απώλεια δοντιών, η οποία συνδέεται με την αυξημένη κατανάλωση ζωικής πρωτεΐνης, σε αντίθεση με μία διατροφή πλούσια σε υδαάνθρακες για τις γυναίκες, που έχει σαν αποτέλεσμα υψηλά ποσοστά τερηδονισμού.

ASSOCIATION AMONG CARIES, PERIODONTITIS, ANTE-MORTEM TOOTH LOSS AND OCCLUSAL ATTRITION IN HUMAN SKELETAL POPULATION SAMPLES

Vanna V.G.¹, Manolis S.K.²

¹*Institute of Archaeology, UCL, 31-34 Gordon Square, WC1H 0PY, London, UK
E-mail: v.vanna@ucl.ac.uk*

²*Department of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, School of Sciences, University of Athens, Panepistimiopolis 157 84 Athens, Greece
E-mail: smanol@biol.uoa.gr*

Dental caries, vertical and horizontal periodontitis, ante-mortem tooth loss and occlusal attrition are conditions very closely related to each other. Synoptically, plaque deposits lead to carious lesions and periodontal disease and consequently ante-mortem tooth loss. Additionally, in most studies, the severity of occlusal attrition is found to be inversely related to the frequency of carious lesions. In order to determine this relation and better understand its nature, the distribution of each condition between the sexes was investigated. For this purpose, a total of 1073 teeth, 406 female and 667 male, from an ancient skeletal population sample from the North Cemetery of the Hellenistic (3rd-1st cent. BC) town of Demetrias, were examined. The results of the present study suggested that tooth loss in female individuals is related more to localised infection (vertical periodontitis), whereas in males, ante-mortem loss could be largely attributed to generalised infection of the alveolar bone (horizontal periodontitis). Moreover, more severe occlusal attrition in males in the population, suggests that, compared to females, they probably ate more abrasive foods, such as meat, and that would also explain the lower rates of caries, and caries- and vertical periodontitis- associated ante-mortem tooth loss, related to higher consumption of animal protein, as opposed to a highly-cariogenic, rich-in-carbohydrates female diet.

**ΥΠΟΠΛΑΣΙΑ ΤΗΣ ΑΔΑΜΑΝΤΙΝΗΣ ΚΑΙ Η ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΗΣ ΩΣ
ΔΕΙΚΤΗ ΤΟΥ ΕΠΙΠΕΔΟΥ ΥΓΕΙΑΣ ΣΕ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟΥΣ
ΣΚΕΛΕΤΙΚΟΥΣ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥΣ*****Βάννα Β.Γ.¹, Μανώλης Σ.Κ.²***

¹*Institute of Archaeology, UCL, 31-34 Gordon Square, WC1H 0PY, London, UK*
Email: v.vanna@ucl.ac.uk

²*Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό &
Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 157 84 Αθήνα*

Η μελέτη πληθυσμών που χρησιμοποιεί την υποπλασία της αδαμαντίνης ως δείκτη του επιπέδου υγείας, βασίζεται στην υπόθεση ότι οι διαφορές στη συχνότητα της κατάστασης (condition) αντικατοπτρίζουν διαφορές στο επίπεδο του στρες κατά την παιδική ηλικία. Ωστόσο, η ερμηνεία που δίνεται στα αποτελέσματα μίας τέτοιας μελέτης είναι προβληματική. Σύμφωνα με κάποιους ερευνητές, όσο πιο μεγάλη είναι η συχνότητα της υποπλασίας, τόσο πιο πολύ το στρες κατά την παιδική ηλικία και λιγότερο ευνοϊκές οι συνθήκες διαβίωσης. Άλλοι μελετητές υποστηρίζουν ότι οι δείκτες στρες είναι απόδειξη ότι τα άτομα που προσβλήθηκαν από ασθένειες, ανάρρωσαν και ότι αυτό σημαίνει ότι οι συνθήκες διαβίωσής τους ήταν ευνοϊκότερες ή το ανοσοποιητικό τους σύστημα ισχυρότερο, από εκείνων που πέθαναν κατά την παιδική ηλικία και έτσι δεν υπήρχε αρκετός χρόνος για να εκδηλωθούν τα σημάδια στρες στα δόντια τους. Στην παρούσα μελέτη 1838 δοντιών συνολικά, ερευνήθηκε η κατανομή της υποπλασίας της αδαμαντίνης μεταξύ των φύλων, σε έναν αρχαίο (30^{ος} – 1^{ος} αι. π.Χ.) και σε έναν σύγχρονο (20^{ος} αι.) σκελετικό πληθυσμό. Τα αποτελέσματά της αποτελούν χαρακτηριστικό παράδειγμα και των δύο αντικρουόμενων απόψεων και υποδεικνύουν ότι η ερμηνεία βρίσκεται στη σχέση μεταξύ της συχνότητας της υποπλασίας και της μακροβιότητας του πληθυσμού. Στην περίπτωση του αρχαίου πληθυσμού, η παρουσία της υποπλασίας ισοδυναμεί σε καλύτερες συνθήκες διαβίωσης, και πιο συγκεκριμένα, σημαίνει ότι τα αρρένα άτομα, παρόλο που είχαν εκτεθεί σε στρες κατά την παιδική ηλικία, είχαν περισσότερες πιθανότητες να το ξεπεράσουν και να επιζήσουν μέχρι να φτάσουν σε μεγαλύτερη ηλικία, ενώ τα θήλεα είχαν μεν εκτεθεί σε ασθένειες και σε έλλειψη θρεπτικών ουσιών αλλά δεν υπήρχε χρόνος για να αναπτυχθεί η υποπλασία, επειδή πέθαναν λίγο αργότερα, σε μικρή ηλικία και δεν πρόφτασαν να ενηλικιωθούν. Στον σύγχρονο πληθυσμό, συμβαίνει το ακριβώς αντίθετο, δηλαδή η παρουσία της υποπλασίας ισοδυναμεί με χειρότερες συνθήκες διαβίωσης για εκείνους, στην προκειμένη περίπτωση για τα αρρένα άτομα, που την παρουσιάζουν σε μεγαλύτερη συχνότητα.

ENAMEL HYPOPLASIA AND ITS INTERPRETATION AS A HEALTH INDICATOR IN HUMAN SKELETAL POPULATIONS

Vanna V.G.¹, Manolis S.K.²

¹ *Institute of Archaeology, UCL, 31-34 Gordon Square, WC1H 0PY, London, UK*
E-mail: v.vanna@ucl.ac.uk

² *Department of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, School of Sciences, University of Athens, Panepistimiopolis 157 84 Athens, Greece*
E-mail: smanol@biol.uoa.gr.

Population analysis using dental enamel defects as health-indicators is based on the assumption that differences in the frequency of the condition reflects differences in the stress levels of a population. However, there is a problem with the interpretation of the results given by such analysis. According to some researchers, the more frequent the defects, the greater was the stress experienced during their childhood, thus the less favourable life conditions the population had. Others suggest that stress markers mean that the individual managed to get through the disease and recovered, so, his / her living conditions or individual resistance must have been better than those who had died in childhood and thereby do not show any traces of stress on their teeth.

In the present study of a total of 1838 teeth, the distribution of enamel hypoplasia between the sexes in an ancient (3rd – 1st cent. BC) and a modern skeletal population (20th cent.) was investigated. Its outcome perfectly illustrates these conflicting views and suggests that interpretation remains in the association between enamel defects and the longevity of individuals. In the case of the ancient population, the presence of defects equals to better life conditions and more specifically, it means that males, although they were exposed to stress during childhood, had more chances of surviving it and reaching an older age so, there was time for the defects to develop, whereas females were exposed to disease and nutritional deficiencies but there was not time for them to develop the defects because they died shortly after in a young age and never reached adulthood. In the contemporary population, the exact opposite is the case; presence of enamel defects equals to worse living conditions for those, namely men, who exhibited them in higher frequencies.

**ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΛΥΚΟΠΕΝΙΟΥ ΣΕ ΤΟΜΑΤΕΣ ΚΑΙ
ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΤΟΜΑΤΑΣ ΚΑΙ ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΗΜΕΡΗΣΙΑΣ
ΠΡΟΣΛΗΨΗΣ ΤΟΥ**

***Βασάρα Ε.¹, Μπαμπατζιμοπούλου Μ.², Κεφαλάς Π.², Ντάλλα Β.²,
Χατζηαντωνίου Σ.²***

*¹Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας,
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης*

*²Τμήμα Διατροφής και Διαιτολογίας, Σχολή Τεχνολογίας Τροφίμων και Διατροφής,
Αλεξάνδρειο ΤΕΙ Θεσσαλονίκης*

Οι τομάτες αποτελούν σημαντικό παράγοντα της μεσογειακής διατροφής και συγχρόνως κύρια πηγή πρόσληψης του λυκοπενίου, καροτενοειδούς με αντιοξειδωτική δράση, που προσδίδει το κόκκινο χρώμα στη τομάτα και το καρπούζι. Επιδημιολογικές μελέτες έχουν συσχετίσει τη διαιτητική πρόσληψη τομάτας, με μείωση του κινδύνου εμφάνισης διαφόρων μορφών καρκίνου και αθηρωμάτωσης. Σκοπός της εργασίας αυτής ήταν να υπολογίσει την περιεκτικότητα λυκοπενίου σε τομάτα και προϊόντα τομάτας, που διατίθενται στην ελληνική αγορά, καθώς επίσης, να εκτιμήσει τα επίπεδα ημερήσιας πρόσληψης λυκοπενίου σε δείγμα ελληνικού πληθυσμού. Στην ανάλυση, που έγινε με φασματοφωτομετρική μέθοδο (μέτρηση οπτικής πυκνότητας δείγματος στα 503nm), συμπεριλήφθηκαν τομάτες από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας και επεξεργασμένα προϊόντα τομάτας πέντε διαφορετικών εταιρειών. Η περιεκτικότητα λυκοπενίου κυμάνθηκε από 1.1mg/100g στις νωπές τομάτες έως 54.9g/100g στον τοματοπελτέ. Μεταξύ των προϊόντων των εταιρειών, μεγαλύτερη απόκλιση παρατηρήθηκε στον τοματοχυμό (4.6-17.5mg/100g) και στον πελτέ (19.1-54.9mg/100g). Η μέση ημερήσια διαιτητική πρόσληψη λυκοπενίου εκτιμήθηκε με τη χρησιμοποίηση λεπτομερούς ερωτηματολογίου εβδομαδιαίας συχνότητας κατανάλωσης τομάτας, προϊόντων τομάτας, εδεσμάτων που παρασκευάζονται με τομάτα και καρπουζιού το καλοκαίρι. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το καλοκαίρι η πρόσληψη λυκοπενίου είναι 20.14 mg/ημέρα/άτομο, ενώ το χειμώνα είναι 1.28 mg/ημέρα/άτομο, οπότε και κυμαίνεται σε χαμηλά επίπεδα σε σχέση με το προτεινόμενο RDI.

LYCOPENE CONTENT OF TOMATOES AND TOMATO PRODUCTS AND ESTIMATION OF DAILY LYCOPENE INTAKE

Vasara E.¹, Babajimopoulos M.², Kefalas P.², Dalla V.², Chatziantoniou S.²

¹Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki

²Department of Nutrition and Dietetics, Alexandrion TEI of Thessaloniki

Tomatoes constitute an important part of mediterranean diet and a major source of lycopene intake, a carotenoid with antioxidant properties, responsible for the red color of tomatoes and watermelon. Population studies have shown that lycopene can be useful in decreasing risk of developing cancer and atherosclerosis. The aim of this study was to evaluate the lycopene content of tomatoes and tomato products which are commercially available in the supermarkets and to estimate its daily intake levels in a Greek population sample. For lycopene estimation a spectrophotometric method was used (optical density was measured at 503nm). Fresh tomatoes and tomato products, which were manufactured by five different brands, were included in the analysis. Lycopene content ranged from 1.1mg/100g in fresh tomatoes to 54.9mg/100g in tomato paste. The greatest variation between brands was observed in tomato juice and paste, where lycopene ranged from 4.6 to 17.5 and from 19.1 to 54.9, respectively. Average daily dietary lycopene intake levels were assessed by administering a food (tomato, tomato products, dishes prepared with tomato and watermelon in summer) consumption frequency questionnaire. In summer lycopene intake is 20.14 mg/day/subject. In winter lycopene intake is 1.28 mg/day/subject, and is ranged in low level according suggested RDI.

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΠΕΠΤΙΔΙΩΝ ΤΟΥ ΘΥΜΟΥ ΑΔΕΝΑ ΣΤΗ
ΦΑΓΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗ ΚΑΙ ΑΝΤΙΓΟΝΟΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ
ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΩΝ/ΜΑΚΡΟΦΑΓΩΝ.**

Βασιλόπουλος Σ., Σαμαρά Π., Ιωάννου Κ., Σκοπελίτη Μ., Τσιτσιλώνη Ο.

Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών

Η Προθυμοσίνη α (ΠροΤα) είναι ένα όξινο πολυπεπτίδιο, μήκους 109 αμινοξέων, που αρχικά απομονώθηκε από θύμο αδένα αρουραίου και εμφανίζει έντονες ανοσοενισχυτικές ιδιότητες. Στην παρούσα εργασία μελετήσαμε την ικανότητα της ΠροΤα και του δραστικού καρβοξυτελικού της πεπτιδίου ΠροΤα(100-109), να επάγουν τις φαγοκυτταρικές ιδιότητες μονοκυττάρων/μακροφάγων καθώς και την ωρίμανση δενδριτικών κυττάρων, που αποτελούν τα κατεξοχήν «επαγγελματικά» αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα. Απομονώθηκαν μονοπύρηνια του περιφερικού αίματος με φυγοκέντρηση σε κλίση Ficoll και από αυτά επελέγησαν τα μονοκύτταρα με προσκόλληση σε πλαστική επιφάνεια. Παράλληλα, χρησιμοποιήθηκαν και οι ανθρώπινες μονοκυτταρικές σειρές THP-1 και U937. Η επίδραση της ΠροΤα και του ΠροΤα(100-109) στη διέγερση της φαγοκυτταρικής ικανότητας των μονοκυττάρων/μακροφάγων μελετήθηκε εφαρμόζοντας τη δοκιμασία της φαγοκυττάρωσης σωματιδίων zymosan, μετά από επώαση 1-18 ωρών. Παράλληλα, τα απομονωμένα μονοκύτταρα επώαστηκαν για 7 ημέρες παρουσία GM-CSF και IL-4, οπότε και διαφοροποιήθηκαν σε ανώριμα δενδριτικά κύτταρα. Στο τέλος της επώασης τα δενδριτικά κύτταρα ενεργοποιήθηκαν με την ΠροΤα και το ΠροΤα(100-109), χρησιμοποιώντας παράλληλα ως θετικό μάρτυρα τον βακτηριακό LPS. Μετά από 24 ώρες, ελέγξαμε με κυτταρομετρία ροής την έκφραση των μορίων CD14, CD80, CD83, CD86 και HLA-DR. Τα αποτελέσματα της μελέτης μας έδειξαν ότι η ΠροΤα και το ΠροΤα(100-109) αυξάνουν τη φαγοκυτταρική ικανότητα των μονοκυττάρων/ μακροφάγων και επάγουν την ωρίμανση των δενδριτικών κυττάρων, αυξάνοντας την έκφραση των συνδιεγερτικών μορίων και την αντιγονοπαρουσίαση μέσω των MHC μορίων τάξης II. Μελλοντικά, σκοπεύουμε να διερευνήσουμε την ικανότητα της ΠροΤα και του πεπτιδίου ΠροΤα(100-109) να επάγουν την έκπτυξη ειδικών T-κυτταρικών κλώνων σε αντιγονοειδικές καλλιέργειες μετά από ενεργοποίηση.

- ***Χρηματοδότηση:*** Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας, (05non-EU-404 092).

THE EFFECT OF THYMIC PEPTIDES ON PHAGOCYTOSIS AND ANTIGEN PRESENTATION OF MONOCYTES/ MACROPHAGES.

Vasilopoulos S., Samara P., Ioannou K., Skopeliti M., Tsitsilonis O.

Department of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, GR 157 84 Athens

Prothymosin α (ProT α) is an acidic polypeptide, 109 amino acid long, initially isolated from rat thymus and exhibiting significant immuno-enhancing activities. In the present study, we investigated the ability of ProT α and its immunoreactive carboxy-terminal peptide ProT α (100-109) to induce the phagocytic capacity of monocytes/ macrophages, as well as the maturation of monocyte-derived dendritic cells (DC), which are considered professional antigen presenting cells. Peripheral blood mononuclear cells were isolated over Ficoll gradient centrifugation and from these, monocytes were selected by adherence on plastic surface. We also used the human monocytic/macrophage cell lines, THP-1 and U937. The ability of ProT α and ProT α (100-109) to stimulate phagocytosis was determined according to the percentage of cells incorporating zymosan particles, after 1-18 hours of incubation. Moreover, purified monocytes were differentiated to immature DC upon a 7-day incubation with GM-CSF and IL-4. Immature DC were subsequently activated with ProT α and ProT α (100-109), using bacterial LPS as for a positive control. After 24 hours, surface expression of CD14, CD80, CD83, CD86 and HLA-DR molecules was estimated by flow cytometry. Our results show that both ProT α and ProT α (100-109) increase the phagocytic capacity of monocytes/macrophages and induce DC maturation, by upregulating co-stimulatory molecules and antigen presentation through MHC class II molecules. In the future, we intend to investigate the ability of ProT α and ProT α (100-109) to stimulate antigen-specific T-cell stimulation cultures.

- **Funding:** *General Secretariat for Research and Technology (05non-EU-404 092)*

**Η ΠΡΩΤΕΪΝΗ HAX-1 ΑΠΟΤΕΛΕΙ ΣΥΝΔΕΤΗ ΤΗΣ
ΦΩΣΦΟΛΑΜΒΑΝΗΣ ΣΤΟ ΚΑΡΔΙΑΚΟ ΜΥ**

**Βαφειαδάκη Ε.¹, Σανούδου Δ.¹, Αρβανίτης Δ.Α.¹, Ντόν Η. Κατίνο²
Κρασιά Ε.Γ.^{1,3}, Κοντρογιάννη-Κωνσταντοπούλου Αικ.²**

¹Τομέας Μοριακής Βιολογίας, Κέντρο Βασικής Έρευνας, Ίδρυμα Ιατροβιολογικών
Ερευνών της Ακαδημίας Αθηνών, Σωρανού του Εφεσίου 4, Αθήνα 115 27, ²Ιατρική
Σχολή, Τμήμα Φυσιολογίας, Πανεπιστήμιο Maryland της Βαλτιμόρης, Department
of Physiology, 685 West Baltimore Street, Βαλτιμόρη, MD 21201, ΗΠΑ, ³Ιατρική
Σχολή, Τμήμα Φαρμακολογίας και Κυτταρικής Βιοφυσικής, Πανεπιστήμιο του
Cincinnati, 231 Bethesda Ave, Cincinnati, OH 45267-0575, ΗΠΑ

Η Φωσφολαμβάνη (PLN), μια πρωτεΐνη του σαρκοπλασματικού δικτύου, αποτελεί βασικό ρυθμιστή της ομοιόστασης των ιόντων ασβεστίου και κατ' επέκταση της συσταλτικότητας της καρδιάς. Η ρυθμιστική αυτή δράση της PLN επιτυγχάνεται μέσω της αλληλεπίδρασης της με την αντλία ιόντων ασβεστίου της μεμβράνης του σαρκοπλασματικού δικτύου (SERCA2a) και έχει ως αποτέλεσμα την μείωση της δυνατότητας μεταφοράς ιόντων ασβεστίου από την SERCA2a. Με σκοπό τον εντοπισμό άλλων πρωτεϊνικών συνδετών της PLN, εξετάσαμε μια ανθρώπινη καρδιακή βιβλιοθήκη cDNA με την τεχνική του yeast-two-hybrid. Η πρωτεΐνη HS-1 associated protein X-1 (HAX-1), η οποία εκφράζεται ευρέως σε ανθρώπινους ιστούς και έχει αντι-αποπτωτική δράση, εντοπίστηκε μέσω της μελέτης μας ως συνδέτης της PLN. Η απευθείας και ειδική αλληλεπίδραση μεταξύ των πρωτεϊνών της PLN και HAX-1 επιβεβαιώθηκε με τη χρήση δυο διαφορετικών *in vitro* πειραμάτων, ενώ μελέτες κινητικής έδειξαν ότι η σταθερά διάστασης του πρωτεϊνικού συμπλόκου (K_D) είναι $1 \mu\text{M}$. Επιπλέον, η αλληλεπίδραση μεταξύ των δυο πρωτεϊνών βρέθηκε να επηρεάζεται από την φωσφορυλίωση της PLN και μέσω αλλαγών της συγκέντρωσης του ασβεστίου. Η πρωτεΐνη SERCA2a εντοπίστηκε να κατάκρημνίζεται από τη HAX-1, αποτέλεσμα που υποδεικνύει ότι η HAX-1 αποτελεί μέρος του πρωτεϊνικού συμπλόκου που δημιουργείται μεταξύ της PLN και της SERCA2a. Μικροσκοπική ανάλυση ανοσοφθορισμού εντόπισε την HAX-1 στα μιτοχόνδρια ενώ παρουσία της PLN η HAX-1 υπέστη αναδιανομή και συνεντοπίστηκε στο ενδοπλασματικό δίκτυο με την PLN. Η αντι-αποπτωτική δράση της HAX-1 βρέθηκε να αυξάνει παρουσία της PLN, υποδεικνύοντας τον σημαντικό ρόλο της αλληλεπίδρασης των δυο πρωτεϊνών στη κυτταρική επιβίωση, πιθανόν μέσω της ρύθμισης της ομοιόστασης των ιόντων ασβεστίου στο σαρκοπλασματικό δίκτυο.

HAX-1 IS A NOVEL INTERACTING PROTEIN OF PHOSPHOLAMBAN IN CARDIAC MUSCLE

Vafiadaki E.¹, Sanoudou D.¹, Arvanitis D.A.¹, Dawn H. Catino², Kranias E.G.^{1,3}, and Aik. Kontrogianni-Konstantopoulos²

¹ Molecular Biology Division, Foundation for Biomedical Research of the Academy of Athens, Soranou Efessiou 4, Athens 115 27, Greece³University of Maryland Baltimore, School of Medicine, Department of Physiology, 685 West Baltimore Street, Baltimore, MD 2120 ; ³University of Cincinnati, College of Medicine, Department of Pharmacology and Cell Biophysics, 231 Albert Sabin Way, Cincinnati, OH 45267-0575;

Phospholamban (PLN), a sarcoplasmic reticulum protein, is an important regulator of Ca²⁺-homeostasis and contractility in the heart. Its regulatory effects are mediated through its interaction with the sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase, (SERCA2a), resulting in reversible inhibition of its Ca²⁺-affinity. To investigate the existence of additional proteins that may interact with PLN, we screened a human cardiac cDNA library using the yeast two-hybrid system. HS-1 associated protein X-1 (HAX-1), a ubiquitously expressed protein with anti-apoptotic function, was identified as a PLN-binding partner. The direct interaction between PLN and HAX-1 was confirmed by two distinct *in vitro* binding assays, while kinetic studies determined a K_D of ~1μM as the binding affinity of the protein complex. Furthermore, the interaction was found to be modulated by PLN phosphorylation and Ca²⁺ concentration. SERCA2a was also detected in the pull down samples, suggesting that HAX-1 forms part of the PLN/SERCA2a complex. HAX-1 was localized to the mitochondria by immunofluorescence studies while, in the presence of PLN, HAX-1 redistributed and co-localized at the endoplasmic reticulum. The anti-apoptotic function of HAX-1 was found to be enhanced in the presence of PLN, indicating an important role of this interaction in cell survival, possibly through regulation of SR Ca²⁺-homeostasis.

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΒΙΩΣΙΜΟΤΗΤΑΣ ΕΝΗΛΙΚΩΝ ΑΤΟΜΩΝ
Drosophila melanogaster ΥΠΟ ΤΗΝ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ
ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ Ursolic acid ΚΑΙ Oleuropein**

**Βελέντζας Π.Δ., Νέζης Ι.Π., Στραβοπόδης Δ.Ι., Παπασιδέρη Ι.Σ.
και Α.Χ. Μαργαρίτης**

*Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ,
Πανεπιστημιούπολις, Ζωγράφου 15784, Αθήνα*

Στην παρούσα μελέτη περιγράφεται η επίδραση των αντιοξειδωτικών παραγόντων Ursolic acid και Oleuropein στη βιωσιμότητα ενήλικων ατόμων *Drosophila melanogaster*. Οι παραπάνω ουσίες, η κυτταροβιολογική δράση των οποίων έχει πρόσφατα συσχετισθεί, μεταξύ άλλων, με ενεργοποίηση πρωτεασώματος, προστίθενται στην τροφή ενήλικων εντόμων σε διαφορετικές συγκεντρώσεις και ακολουθεί ποσοτική μέτρηση της βιωσιμότητας, με καταγραφή των αποτελεσμάτων και στατιστική επεξεργασία. Μετά την προσθήκη της ουσίας Ursolic acid στην τροφή των εντόμων, σε συγκεντρώσεις 4 $\mu\text{g/ml}$ και 15 $\mu\text{g/ml}$, διαπιστώθηκε η παρουσία αρνητικής επίδρασης στη βιωσιμότητα των εντόμων, προκαλώντας τη μαζική εξόντωση του πληθυσμού σε χρονικό διάστημα 35/45 ημερών, με αυξανόμενο ρυθμό θνησιμότητας από τη 19^η έως την 35^η/45^η ημέρα. Η ουσία Oleuropein προστίθεται στην τροφή των εντόμων σε συγκεντρώσεις 0,5 $\mu\text{g/ml}$, 2,5 $\mu\text{g/ml}$ και 15 $\mu\text{g/ml}$, χωρίς να διαπιστώνεται κάποια στατιστικά σημαντική επίδραση στη βιωσιμότητα των εντόμων, σε καμία από τις παραπάνω συγκεντρώσεις, σε σύγκριση με την αντίστοιχη του πληθυσμού-μάρτυρα. Η *in vivo* διαφορετική κυτταροτοξική δράση των δύο ουσιών θα μπορούσε να συσχετισθεί με τη δημιουργία διαφορετικών μεταβολικών προϊόντων, η συσσώρευση των οποίων εμφανίζεται την 19^η ημέρα ανάπτυξης των ενήλικων εντόμων.

- Το έργο συγχρηματοδοτείται κατά: 75% της Δημόσιας Δαπάνης από την Ευρωπαϊκή Ένωση – Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο, 25% της Δημόσιας Δαπάνης από το Ελληνικό Δημόσιο – Υπουργείο Ανάπτυξης – Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας, και από τον Ιδιωτικό Τομέα, στο πλαίσιο του Μέτρου 8.3 του Ε.Π. Ανταγωνιστικότητα – Γ' Κοινοτικό Πλαίσιο Στήριξης

**EFFECTS OF THE ANTIOXIDANT SUBSTANCES Ursolic acid AND
Oleuropein ON THE LONGEVITY OF *Drosophila melanogaster***

***Velentzas P.D., Nezis I.P., Stravopodis D.J., Papassideri I.S.,
and Margaritis L.H.***

*Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of
Athens, Panepistimiopolis, 157 84 Zografou, Athens, Greece*

In the present study, we describe the *in vivo* biological effects of the antioxidants substances Ursolic acid and Oleuropein on the longevity of the model biological system *Drosophila melanogaster*. The above substances, which have been recently reported to induce, among others, proteasome function, are added, in various concentrations, in normal fly diet and the obtained longevity data are quantitated and statistically analyzed. The presence of Ursolic acid, either at concentrations of 4 µg/ml or 15 µg/ml, in the fly diet results in a significant longevity decrease, also begetting the population's massive obliteration over a time period of 35/45 days, commencing at the 19th day of adult insect development with an increasing mortality rate. On the contrary, when the fly diet contains 0,5 µg/ml, 2,5 µg/ml and 15 µg/ml of Oleuropein concentrations, there are no statistically significant effects regarding insects' longevity and survival, in all the tested conditions, when compared with the ones of the control populations. The *in vivo* differential effects and cytotoxic activities of the two compounds could be likely related to the formation of distinct metabolic derivatives, a process initiated on the 19th day of the insect developmental course.

- *The present work is financially supported by: 75% Public Costs provided by European Commission – European Social Fund; 25% Public Costs provided by Hellenic State – Ministry of Development – General Secretariat of Research and Technology; Private Sector; according to the Action 8.3 of the European Program “Competitiveness” – 3rd European Commission Reliance Framework*

**Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΑΚΕΤΥΛΙΩΣΗΣ ΙΣΤΟΝΩΝ ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ
ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΑΠΟΚΡΙΣΗ ΤΟΥΣ ΣΕ ΑΒΙΟΤΙΚΕΣ
ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΕΙΣ*****Βλαχονάσιος Κ.Ε. *****Εργαστήριο Βοτανικής, Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών
Επιστημών Αριστοτέλειο, Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη, 54124*

Οι ιστόνες είναι εξελεκτικά συντηρημένες και περιέχουν αμινο-τελικές ουρές που προεξέχουν από το νουκλεόσωμα. Οι τροποποιήσεις των ιστονών στις αμινο-τελικές ουρές όπως ακετυλίωση, μεθυλίωση, φωσφορυλίωση, ουβικοιτινίωση και άλλες, παίζουν ένα ουσιαστικό ρόλο στην ανακατασκευή της χρωματίνης και στη μεταγραφική ρύθμιση. Οι διαφορετικοί τύποι των τροποποιήσεων δρουν συνεργιστικά ή ανταγωνιστικά. Τα ειδικά πρότυπα των μετατροπών των ιστονών δημιουργούν τον αποκαλούμενο «κώδικα των ιστονών», ο οποίος σηματοδοτεί την ενεργοποίηση ή την καταστολή της έκφρασης των σύστοιχων γονιδίων. Η ακετυλίωση των ιστονών H3 και H4 φαίνεται να είναι ο κύριος ρυθμιστής των μετατροπών της χρωματίνης συντελώντας στη μεταγραφή ή στη καταστολή των γονιδίων. Ο ομοιοστατικός χαρακτήρας της ακετυλίωσης των ιστονών στα νουκλεοσώματα διατηρείται από την ανταγωνιστική δράση των ενζύμων ακετυλοτρανσφερασές των ιστονών (HAT) και αποακετυλάσες των ιστονών (HDAC). Οι HATs και HDACs συνδέονται με μεγάλα πολυμερή συμπλέγματα όπως το SAGA, που περιέχουν πρωτεΐνες που δρουν ως συνενεργοποιητές ή συνκαταστολείς αντίστοιχα. Ο στόχος της ερευνητικής ομάδας είναι η μελέτη του ρόλου της ακετυλίωσης των ιστονών στην ανάπτυξη των φυτών και τις αποκρίσεις τους σε αβιοτικές καταπονήσεις στο *Arabidopsis thaliana*. Χρησιμοποιώντας ανάστροφη γενετική έγινε χαρακτηρισμός μεταλλάξεων *ada2b*, *ada2a* και *gen5*. Μεταλλάξεις στα γονίδια *ADA2b* και *GCN5* και όχι στο *ADA2a* είχαν δραματικές επιπτώσεις στην αύξηση και ανάπτυξη των φυτών, επηρέασαν τη ρύθμιση της έκφρασης κρυο-επαγόμενων γονιδίων και περίπου 5% της γονιδιακής έκφρασης σε βλαστικούς ιστούς. Τα αποτελέσματα της έρευνας αυτής και άλλων πηγών της ακετυλίωσης των ιστονών στα φυτά θα παρουσιαστούν.

* Προσκεκλημένος ομιλητής

THE ROLE OF HISTONE ACETYLATION IN PLANT DEVELOPMENT AND RESPONSE TO ABIOTIC STRESS

*Vlachonasios K.E. **

Laboratory of Botany, Department of Botany, School of Biology, Faculty of Science, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, 54124

Core histones proteins are conserved through evolution and contain flexible N-terminal tails protruding outward of nucleosomes. Histone modifications including acetylation, methylation, phosphorylation and ubiquitylation, etc. play a pivotal role in chromatin remodelling and transcriptional regulation. These different types of modifications are dependant agonistically or antagonistically. Specific patterns of histone modifications establish the so-called “histone code” that dictates expression or repression of the cognate DNA sequences. Among these modifications, acetylation of histones H3 and H4 appears as a key switch for the inter-conversion between permissive and repressive states of chromatin domains. The homeostatic balance of nucleosomal histone acetylation is maintained therefore by antagonistic action of histone acetyltransferases (HAT) and histone deacetylases (HDAC). HAT and HDACs associated with large, multisubunit complexes, like SAGA, that contain proteins acting as coactivators or corepressors. We were interesting to study the role of histone acetylation on plant development and their response to abiotic stress in *Arabidopsis*. Using reverse genetics, we have characterized several mutants such as *ada2b*, *ada2a* and *gcn5*. Mutations on *ADA2b* and *GCN5* genes but not on *ADA2a* had dramatically effects on plant growth and development, influence the regulation of the cold-responsive genes and affect about 5% of gene expression in vegetative tissues. The results of this research and other aspects of histone acetylation will be presented.

** Invited speaker*

**ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΤΩΝ p38-MAPK ΚΑΙ JNKs ΣΤΗ ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ
ΕΠΑΓΟΜΕΝΗΣ ΑΠΟ ΤΟ ΘΕΡΜΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΑΠΟΚΡΙΣΗΣ ΣΤΟΝ
ΚΑΡΔΙΑΚΟ ΜΥ ΑΜΦΙΒΙΟΥ**

Γαϊτανάκη Αικ., Μαστρή Μ., Αγγελή Ι.Κ., και Μπέης Ι.

*Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ,
Πανεπιστιμιούπολη Ιλίσσια, 157 84 Αθήνα*

Οι ενεργοποιούμενες από μιτογόνα πρωτεϊνικές κινάσες (mitogen-activated protein kinases-MAPKs) συνιστούν μέλη σημαντικού μονοπατιού μεταγωγής σημάτων, συμμετέχοντας στην απόκριση σε δυσχερείς περιβαλλοντικές συνθήκες. Ειδικότερα, οι υπο-οικογένειες των p38-MAPK (p38 reactivating kinase) και των JNKs (c-Jun N-terminal kinases) έχει βρεθεί ότι ενεργοποιούνται από ποικιλία στρεσογόνων ερεθισμάτων. Τα αμφίβια, ως εξώθερμοι οργανισμοί, εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από την θερμοκρασία του περιβάλλοντος στο οποίο εκτίθενται. Γι αυτό το λόγο, μελετήθηκε η ενεργοποίηση των MAPKs στην απόκριση της εμποτιζόμενης απομονωμένης καρδιάς του αμφιβίου *Rana ridibunda* στην υπερθερμία (42°C). Ανάλυση κατά Western, έδειξε σημαντική αύξηση των επιπέδων φωσφορυλίωσης της p38-MAPK από τα 30 λεπτά έως και 3 ώρες επίδρασης υπερθερμίας. Αντίστοιχο ήταν και το πρότυπο φωσφορυλίωσης των JNKs, με τη μέγιστη ενεργοποίησή τους να ανιχνεύεται στα 30 λεπτά επίδρασης και να παραμένει σε υψηλά επίπεδα μέχρι και τις 3 ώρες. Παράλληλα, εντοπίστηκαν αυξημένα τα επίπεδα φωσφορυλίωσης του μεταγραφικού παράγοντα c-jun, μετά από 1 έως και 3 ώρες εμποτισμού στους 42°C. Επιπλέον, φαίνεται πιθανό να ενεργοποιείται και το αποπτωτικό μονοπάτι αφού ανιχνεύθηκαν θραύσματα της πολυμεράσης PARP μετά από 4 ώρες υπερθερμίας. Με δεδομένη την ενεργοποίηση των JNKs και p38-MAPK κάτω από τις συγκεκριμένες συνθήκες, φαίνεται αναγκαίο να διεξαχθούν περαιτέρω μελέτες ώστε να αποσαφηνιστεί πιθανός προστατευτικός τους ρόλος που συμβάλλει στην κυτταρική ομοιόσταση και επιβίωση.

- Το έργο χρηματοδοτείται από προγράμματα του ΕΛΚΕ.

INVOLVEMENT OF P38-MAPK AND JNKs IN THE REGULATION OF THE AMPHIBIAN HEART RESPONSE TO THERMAL STRESS

Gaitanaki C., Mastri M., Aggeli I.K., and Beis I.

Dept. of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimioupolis, Ilissia, 157 84 Athens

Mitogen-activated protein kinases (MAPKs) constitute members of a major intracellular signal transduction pathway, mediating several responses to adverse environmental conditions. In particular, p38-MAPK and JNKs have been found to be activated by multiple stress stimuli. Amphibians as ectotherms are largely dependent on environmental temperature in terms of their survival. Therefore, we decided to investigate MAPKs possible involvement in the isolated amphibian heart response to hyperthermia (42°C). Western blot analysis of samples from perfused *Rana ridibunda* hearts showed a significant upregulation of p38-MAPK phosphorylation levels from 30min up to 3h. JNKs phosphorylation pattern was similar, getting maximal at 30min and remaining elevated for at least 3h. In accordance with the aforementioned results we also found c-jun to be phosphorylated, thus activated, in samples from hearts perfused at 42°C for 1h to 3h. Quite interestingly, looking into the possible triggering of the apoptotic mechanism under these conditions, we detected fragments of the polymerase PARP after 4h of hyperthermia. Given JNKs and p38-MAPK activation under these particular stressful conditions, further studies are needed in order to elucidate the possible protective role these MAPKs may play – contributing to preservation of cell homeostasis and survival.

- *The project is funded by ELKE grants.*

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΝΗΣΤΕΙΑΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΜΕ ΣΟΓΙΑ
ΚΑΙ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΟΣ ΤΑΥΡΙΝΗΣ ΣΤΗΝ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ
PPAR ΣΤΟ ΗΠΑΡ ΤΗΣ ΣΥΝΑΓΡΙΔΑΣ (*DENTEX DENTEX*)**

*Γαγκιάδη Ι.¹, Κουρκούνη Ε.¹, Καϊτετζίδου Ε.¹, Χατζηφώτης Σ.²,
Αντωνοπούλου Ε.¹*

¹ Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ., 541 24 Θεσσαλονίκη,
E-mail: eanono@bio.auth.gr

² Ινστιτούτο Υδατοκαλλιεργειών, ΕΛ.ΚΕ.Θ.Ε., 710 03 Ηράκλειο

Η συνεχώς αυξανόμενη ζήτηση ιχθυοτροφών σε συνδυασμό με τη συσσώρευση ενδομυϊκού λίπους στα καλλιεργούμενα είδη ψαριών οδηγούν στην ανάγκη μερικής αντικατάστασης των ιχθυάλευρων και ιχθυελαίων, με πηγές πρωτεϊνών ή ελαίων, αντίστοιχα, φυτικής προέλευσης. Οι PPAR (υποδοχείς που ενεργοποιούνται από πολλαπλασιαστές υπεροξειδωσμάτων) ανήκουν στην οικογένεια των πυρηνικών υποδοχέων και είναι ρυθμιστές της ενεργειακής ομοιόστασης του οργανισμού. Οι PPAR απαντώνται σε τρεις μορφές (α, β και γ) με διαφορετική κατανομή στους ιστούς και επιτελούν διαφορετικές λειτουργίες, με τον PPAR α να λειτουργεί ως γενικός ρυθμιστής του ενεργειακού μεταβολισμού στο ήπαρ, όπως φαίνεται από μελέτες κυρίως στα θηλαστικά, ενώ ο PPAR γ επάγει τη δημιουργία λιπώδη κυττάρων. Η παρούσα εργασία αφορά στη μελέτη του μεταγραφικού ελέγχου των PPAR α και γ στις διαδικασίες του μεταβολισμού του ήπατος της συναγρίδας μετά από πείραμα α) νηστείας/επανασίτισης, β) σίτιση με 25% σόγια και γ) σίτιση με 25% και 40% σόγια και ταυτόχρονη προσθήκη 0,2% ταυρίνης. Η έκφραση των PPAR μελετήθηκε με semi-quantitative RT-PCR, ενώ χρησιμοποιήθηκαν εξειδικευμένοι εκκινητές για τους δύο τύπους. Στο πείραμα της νηστείας, παρατηρείται μια τάση για αύξηση στην έκφραση του PPAR γ, 4 ώρες μετά τη σίτιση. Η αντικατάσταση με 25% σόγια οδήγησε σε μικρή μείωση του PPAR γ, ενώ καμία σημαντική διαφορά δεν παρατηρήθηκε στον PPAR α. Αντίθετα, χορήγηση ταυρίνης στα σιτηρέσια με 25% και 40% σόγια, αυξάνει τον PPAR α, ενώ η έκφραση του PPAR γ δε μεταβάλλεται σημαντικά.

THE INFLUENCE OF FASTING/RE-FEEDING, SOY DIETS AND TAURINE SUPPLEMENTATION ON THE EXPRESSION OF LIVER PPARs OF THE COMMON DENTEX, (*DENTEX DENTEX*)

Gapkiadi I.¹, Kourkouni E.¹, Kaitetzidou E.¹, Chatzifotis S.², Antonopoulou E.¹

¹ *Department of Zoology School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 541 24, Thessaloniki, e-mail: eantono@bio.auth.gr*

² *Institute of Aquaculture, Hellenic Centre for Marine Research of Crete, 710 03, Heraklio*

The increasing requirements in fishmeal combined with fat accumulation in farmed fishes' tissues, leads to the necessity of fish oil and fish meal replacement with plant sources. PPARs (Peroxisome Proliferator-Activated Receptors) belong to the nuclear receptor family and are involved in the regulation of energy metabolism. The three types of PPARs (α , β and γ) display differential tissue distribution having different functions. PPAR α regulates the energy metabolism in liver, as referred to mammals, while PPAR γ induces the adipose tissues' differentiation. The involvement of PPAR α and γ in the transcriptional control of liver metabolism in common dentex was studied after a) fasting/re-feeding experiments, b) feeding with 25% soy and c) feeding with 25% or 40% soy containing 0.2% taurine. The expression of PPAR α and γ was studied with semi-quantitative RT-PCR, while specific primers for each of the two different types of PPARs were used. In the fasting experiment, PPAR γ expression tends to be increased 4 hours after feeding. Feeding with 25% soymeal, resulted in a small decrease in PPAR γ expression, while there was no difference in PPAR α expression. On the contrary, after taurine addition, the levels of PPAR α mRNA showed an increase, although PPAR γ expression was approximately stable.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΝΘΗΣΗΣ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ
Cistus incanus* L. supsp. *incanus**Γαροφαλάκης Γ., Ριζοπούλου Σ.**

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο
Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, 157 84, Αθήνα.
E-mail: geo_gar7@yahoo.gr, srhizop@biol.uoa.gr

Το φυτό *Cistus incanus* L. supsp. *incanus* (λαδανιά) είναι ένας θάμνος που απαντάται στο Μεσογειακό οικοσύστημα. Έχει χαρακτηριστική άνθηση από υπόγυνα και ακτινόμορφα άνθη, με έγχρωμη, ευμεγέθη, χωριστοπέταλη στεφάνη που αποτελείται από πέντε, ροδινοϊώδη, εύπτωτα πέταλα, που εκπτύσσονται ως ζαρωμένα ή τσαλακωμένα. Το άνοιγμα των πετάλων αρχίζει περί την 0100 π.μ. και ολοκληρώνεται στις 0830 π.μ., οπότε τα επισκέπτονται οι επικονιαστές (κυρίως η μέλισσα *Apis mellifera* L.) Ωστόσο, η έναρξη και η διάρκεια του ανοίγματος ποικίλει τόσο από άνθος σε άνθος, όσο και από φυτό σε φυτό. Η αντίστροφη διαδικασία λαμβάνει χώρα το απόγευμα. (1700-2100 μ.μ.). Το ίδιο άνθος μπορεί να ανοιγοκλείσει δύο-τρεις φορές πριν μαραθεί, εκτός και αν τα εύπτωτα πέταλα δεν αντέξουν την καταπόνηση από τον άνεμο, τη βροχή, τους επικονιαστές. Άρα, ένα άνθος ζει για τρία 24-ωρα περίπου. Προσδιορίστηκαν οι χρωστικές και βρέθηκε ότι τα πέταλα απορροφούν στην περιοχή της ορατής ακτινοβολίας (400-500 nm), αλλά και στην περιοχή της υπεριώδους ακτινοβολίας (350-390 nm) εξαιτίας φλαβονοειδών που περιέχουν. Τα άνθη φωτογραφήθηκαν στο υπεριώδες τμήμα του φάσματος, για να αποτυπωθεί η αντίληψη της εικόνας που προσλαμβάνουν οι επικονιαστές. Μορφομετρικές μετρήσεις ανέδειξαν ότι το βάρος των πετάλων (595 πέταλα από 119 άνθη) συσχετίζεται γραμμικά με την περίμετρο και την επιφάνειά τους. Παράλληλα, υπολογίστηκε το εμβαδόν της στεφάνης για κάθε άνθος, ξεχωριστά.

- Ευχαριστούμε τον Δρ. Μ. Δουλγερίδη (Διευθυντή Καλλιτεχνικής Συντήρησης της Εθνικής Πινακοθήκης) και τον Π. Ρομπάκη (συντηρητή έργων τέχνης) για φωτογράφιση στο U.V.
- Η παρούσα εργασία διενεργείται στα πλαίσια έργου (Κ.Α. 70/3/8036), το οποίο συγχρηματοδοτείται από το Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο και Εθνικούς Πόρους (ΕΠΕΑΕΚ II) ΠΥΘΑΓΟΡΑΣ II.

A STUDY OF THE ANTHESIS OF *Cistus incanus* L. *subsp. incanus*

Garofalakis G., Rhizopoulou S.

*Department of Botany, Faculty of Biology, National & Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis, 15784, Athens – Greece,
E-mail: geo_gar7@yahoo.gr, srhizop@biol.uoa.gr*

Cistus incanus is a shrub, widely distributed in the Mediterranean ecosystem. The blossoming period of the species –during spring– is characterized by hypogynous and actinomorphic flowers, with a relatively large, purple corolla, consistent by five easily abscised, wrinkled petals, and numerous yellow stamens. In April, the petals start to open at 0100 h and their expansion is completed by 0830 h, concurrently with the visit of pollinators (i.e. the common bee *Apis mellifera* L.). However, the duration of the whole process of flower opening varies among flowers and plants. The reverse process takes place in the afternoon (1700-2100 h). The same flower can open and close two to three times before it withers, unless the easily abscised petals fail to tolerate the stress from abiotic factors (e.g. wind, rain) and pollinators. We found that the petals absorb in the region of the visible spectrum (400-500 nm), as well as in the region of U.V. spectrum (350-390 nm) due to the presence of flavonoids. The flowers of *Cistus* were photographed at the ultra violet part of the spectrum in order to assimilate the perception of their image by insects. Morphological measurements were made and it was found that the weight of petals (595 petals from 119 flowers) was linearly correlated with both perimeter and area of petals; in addition, the area of each corolla was measured.

- *We wish to thank Dr. M.Doulgeridis (Director of the Art Conservation Department of the National Gallery) and P. Rombakis for the U.V. pictures.*
- *This work is part of the 70/3/8036 project, which is co-funded by the European Social Fund and National Resources – (EPEAEK II) PYTHAGORAS II.*

ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΑ ΠΟΛΥ-ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΑ ΣΥΜΠΛΟΚΑ ΤΟΥ δ-ΟΠΙΟΕΙΔΟΥΣ ΥΠΟΔΟΧΕΑ ΜΕ ΤΗ STAT5B ΚΑΙ ΤΙΣ Gβγ ΥΠΟΜΟΝΑΔΕΣ**Γεωργαντά Ε.-Μ. και Ζ. Γεωργούση***

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

** E-mail: iro@bio.demokritos.gr*

Πρόσφατες μελέτες του εργαστηρίου μας έδειξαν πως ο μεταγραφικός παράγοντας STAT5A αλληλεπιδρά με το YXXL συντηρημένο μοτίβο του καρβοξυτελικού άκρου του μ-οπιοειδούς υποδοχέα και φωσφορυλιώνεται μετά την ενεργοποίηση του υποδοχέα (Mazarakou & Georgoussi, 2005). Βασίζόμενοι σε αυτές τις παρατηρήσεις θελήσαμε να ελέγξουμε κατά πόσο οι STAT5A/B μεταγραφικοί παράγοντες αλληλεπιδρούν και ενεργοποιούνται με παρόμοιο τρόπο και από τον δ-οπιοειδή υποδοχέα (δ-OR), που φέρει το ίδιο δομικό μοτίβο στο καρβοξυτελικό του τμήμα. *In vitro* πειράματα πρόσδεσης, χρησιμοποιώντας μια GST χιμαιρική πρωτεΐνη του καρβοξυτελικού άκρου του δ-οπιοειδούς υποδοχέα (αμινοξέα 310-372) έδειξαν την άμεση αλληλεπίδραση των STAT5A/B με τον δ-OR. Αποκοπή των 26 αμινοξέων του καρβοξυτελικού άκρου που συμβάλλουν στο σχηματισμό της 8^{ης} έλικας και περιέχουν την αλληλουχία YXXL απέδειξε τη σπουδαιότητα της περιοχής αυτής για την πρόσδεση των STAT5 πρωτεϊνών. Πειράματα συν-ανοσοκατακρήμνισης επιβεβαίωσαν την αλληλεπίδραση της STAT5B με τον δ-OR καθώς επίσης και τη δημιουργία ενός λειτουργικού συμπλόκου μεταξύ του δ-OR, της STAT5B και του διμερούς των Gβγ υπομονάδων. Ενεργοποίηση του δ-OR με DSLET σε κύτταρα HEK293, τα οποία εκφράζουν τη STAT5B και τον δ-οπιοειδή υποδοχέα, οδηγεί σε φωσφορυλίωση της STAT5B μέσω της Src τυροσινικής κινάσης. Τα αποτελέσματα αυτά υποδηλώνουν ότι ο σχηματισμός πολυ-πρωτεϊνικών συμπλόκων με αφετηρία τον δ-οπιοειδή υποδοχέα, τη STAT5B και τις Gβγ υπομονάδες, εμπλέκεται στη φωσφορυλίωση του STAT5B μεταγραφικού παράγοντα μέσω ενός νέου σηματοδοτικού μηχανισμού.

FUNCTIONAL COMPLEXES BETWEEN δ -OPIOID RECEPTOR, STAT5B AND G $\beta\gamma$ SUBUNITS

Georganda I.-M., and Z. Georgoussi*

*Laoratory of Cellular Signaling & Molecular Pharmacology, Institute of Biology,
N.C.S.R. "Demokritos", 15310, Ag. Paraskevi, Athens*

** E-mail: iro@bio.demokritos.gr*

Our recent observations have shown that STAT5A interacts directly within the YXXL conserved motif of the C-terminal region of the μ -opioid receptor and is phosphorylated upon receptor stimulation by opioid agonists. In this regard, we sought to determine whether STAT5A/B interact in a similar manner with the δ -opioid receptor (DOR) that contains the same structural motif. Pull-down assays, employing a GST fusion peptide encompassing the C-terminal region of the DOR (δ -CT), have shown that STAT5A/B interact directly with the DOR. A truncated version of the δ -CT that lacks the YXXL motif indicated the importance of this motif together with helix 8 for STAT5 binding. Immunoprecipitation studies confirmed the interaction of STAT5B with the DOR. Additional co-immunoprecipitations indicated that STAT5B forms a ternary complex with G $\beta\gamma$ subunits and the DOR. DSLET exposure of HEK293 cells stably transfected with the DOR and endogenously expressing only STAT5B leads to STAT5B tyrosine phosphorylation. Collectively, our data demonstrate that formation of dynamic complexes between the DOR, G $\beta\gamma$ and STAT5B is involved in STAT5B phosphorylation.

**ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΡΙΩΝ ΕΙΔΩΝ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *TRACHURUS* ΜΕ
ΠΟΛΛΑΠΛΗ PCR ΠΟΥ ΒΑΣΙΖΕΤΑΙ ΣΕ ΑΠΛΟΥΣ ΣΗΜΕΙΑΚΟΥΣ
ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΥΣ (SNPs) ΤΟΥ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΟΥ DNA**

**Γεωργιάδης Α.¹, Καραϊσκού Ν.², Σανδαλτζόπουλος Ρ.³
και Α.Π. Αποστολίδης¹**

¹Εργ. Ιχθυοκομίας & Αλείας, Τομέας Ζωικής Παραγωγής, Γεωπονική Σχολή, Α.Π.Θ.

²Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης & Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ.

³Εργαστήριο Γονιδιακής Έκφρασης, Μοριακής Διαγνωστικής και Σύγχρονων Θεραπευτικών
Μέσων, Τμήμα Μοριακής Βιολογίας & Γενετικής, Α.Π.Θ.

Οι αναλύσεις της αλληλουχίας των γονιδίων του μιτοχονδριακού DNA έχουν τεκμηριώσει ότι η ποικιλομορφία εκδηλώνεται κυρίως ως πολυμορφισμοί μονών νουκλεοτιδίων (SNPs). Το γεγονός αυτό καθιστά το μιτοχονδριακό DNA (mtDNA) ιδανικό σύστημα για την εφαρμογή τεχνικών ανάλυσης SNPs για τη μελέτη του γενετικού πολυμορφισμού σε επίπεδο πληθυσμού ή ακόμα και για την ταυτοποίηση της προέλευσης συγκεκριμένων ατόμων. Στην εργασία αυτή εφαρμόζεται η μέθοδος της πολλαπλής PCR, με σκοπό τη διάκριση των τριών ειδών του γένους *Trachurus* που απαντώνται στην περιοχή της Μεσογείου: του *T. trachurus* (γκριζοσαύριδο), του *T. mediterraneus* (ασπροσαύριδο) και του *T. picturatus* (μαυροσαύριδο). Για το σκοπό αυτό σχεδιάστηκαν εκκινητές που επιτρέπουν την ταυτόχρονη ενίσχυση με την PCR τριών, μοναδικών για το κάθε είδος, τμημάτων του κυτοχρώματος b του mtDNA. Στη συνέχεια με μια απλή ηλεκτροφόρηση των ενισχυμένων τμημάτων σε πηκτή αгарόζης γίνεται εφικτή η αναμφίβολη διάκριση των τριών ειδών. Η μεθοδολογία που παρουσιάζουμε εδώ είναι ακριβής και εύκολη στην εκτέλεσή της, περιλαμβάνει μία μόνο αντίδραση, παράγει αποτελέσματα που είναι εύκολα να ερμηνευτούν και δεν εμπεριέχει, κατά τον προσδιορισμό κάποιου ατόμου, κάποιο σημαντικό κίνδυνο για ψευδώς θετικά/ αρνητικά αποτελέσματα. Με βάση την ταχύτητα και το χαμηλό της κόστος αυτή η διαγνωστική ανάλυση είναι εξαιρετικά χρήσιμη σε μεγάλης κλίμακας μελέτες καθώς επιτρέπει την ακριβή αναγνώριση των τριών ειδών του γένους *Trachurus* και την αποκάλυψη τυχόν εμπορικής νοθείας.

**RAPID DISCRIMINATION OF THREE *TRACHURUS* SPECIES
USING A MULTIPLEX PCR ASSAY BASED ON SINGLE NUCLEO-
TIDE POLYMORPHISMS (SNPs) OF MITOCHONDRIAL DNA**

Georgiades A.¹, Karaiskou N.², Sandaltzopoulos R.³, and A.P. Apostolidis¹

¹*Lab of Ichthyology & Fisheries, Department of Animal Production, Faculty of Agriculture,
Aristotle University of Thessaloniki*

²*Department of Genetics, Development & Molecular Biology, School of Biology, Aristotle
University of Thessaloniki*

³*Lab of Gene Expression, Molecular Diagnostics and Modern Therapeutics, Department of
Molecular Biology & Genetics, Democritus University of Thrace, Alexandroupolis*

Due to the nature of mitochondrial DNA gene variation, manifesting itself primarily as single nucleotide polymorphisms (SNPs), the mtDNA system is ideal for the use of SNP molecular detection assays for the study of genetic polymorphism on a population level or as a means to determine the origin of certain individuals. We present here a reliable, rapid, and inexpensive multiplex PCR methodology for analyzing diagnostic mitochondrial SNPs in three *Trachurus* species that abide in Mediterranean waters: *T. trachurus*, *T. mediterraneus*, and *T. picturatus*. Compatible primers were designed to allow for simultaneous PCR amplification of three, unique for each species, fragments of the mtDNA cytochrome b gene. The subsequent agarose gel electrophoretic analysis of the amplicons was proved to result to unambiguous identification of all three *Trachurus* species. The methodology presented here is easy to set up, involves a single reaction, yields data easy to interpret and does not pose significant risk for false positive/negative assignment of a given individual. Due to its rapid and economical nature, this multiplex PCR analysis of SNPs of mtDNA is especially useful for large-scale association studies as it allows the accurate discrimination of *Trachurus* fish species and the detection of commercial fraud.

**ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΕΙΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΔΥΝΑΜΙΚΗΣ
ΕΝΟΣ ΤΕΧΝΗΤΟΥ 4-α-ΕΛΙΚΟΕΙΔΟΥΣ ΔΕΜΑΤΙΟΥ: [Ala₂Leu₂]₈***Γεωργούλια Π.Σ. και Ν.Μ. Γλυκός**Τμήμα Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης*

Η [Ala₂Leu₂]₈ είναι μία παραλλαγή της Rop, με επανασχεδιασμένο υδρόφοβο πυρήνα ώστε να αποτελείται αποκλειστικά από κατάλοιπα αλανίνης και λευκίνης στις *a* και *d* θέσεις, αντίστοιχα, του 4-α-ελικοειδούς δεματίου. Για τις περισσότερες από τις παραλλαγές της Rop δεν υπάρχει γνωστή δομή, αλλά θεωρήθηκε (λόγω *in vivo* δραστηριότητας) ότι υιοθετούν αυτή της φυσικής πρωτεΐνης. Για την [Ala₂Leu₂]₈ λόγω της ιδιαίτερης κινητικής της, προτάθηκε ότι θα απαντά σε μίγμα δύο τοπολογιών, σε αυτή της φυσικής (*anti*) πρωτεΐνης και σε μία *syn* τοπολογία. Για να εξεταστεί η ορθότητα της υπόθεσης σχεδιάστηκαν δύο ομοδιμερή με τη μεταλλαγμένη αλληλουχία με τις δύο εναλλακτικές τοπολογίες. Πραγματοποιήθηκαν δύο προσομοιώσεις συνολικής διάρκειας 20ns σε ένα παράλληλο υπολογιστικό περιβάλλον συστοιχίας υπολογιστών τύπου Beowulf. Τα συστήματα προετοιμάστηκαν με αναλυτική παρουσία διαλύτη και συνθήκες περιοδικής επανάληψης. Εφαρμόστηκαν αλγόριθμοι (Nosé-Hoover Langevin Dynamics – Langevin piston barostat) για τη διατήρηση σταθερής πίεσης και θερμοκρασίας (NpT), η particle-mesh Ewald για τον υπολογισμό των ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων ενώ οι ατομικές συντεταγμένες όλων των ατόμων του συστήματος (τροχιά) καταγράφονταν με βήμα 2fs. Η ανάλυση των προσομοιώσεων περιλαμβάνει υπολογισμούς όπως: rmsd από αρχική και μέση δομή, rmsf και R_G που είναι παράμετροι της κινητικότητας και σταθερότητας του μορίου, δημιουργία χαρτών αποστάσεων, μελέτη δευτεροταγούς δομής και principle component analysis. Τα αποτελέσματα δείχνουν πως οι δύο υποψήφιες τοπολογίες με τη μεταλλαγμένη αλληλουχία είναι εξίσου σταθερές, με την τοπολογία της native (Rop-like) να δίνει συστηματικά ελαφρώς πιο σταθεροποιημένες τιμές.

**MOLECULAR DYNAMICS SIMULATIONS
OF AN ARTIFICIAL 4-A-HELIX BUNDLE: [Ala₂Leu₂]₈**

Georgoulia P.S., Glykos N.M.

Molecular Biology and Genetics, Democritus University of Thrace

[Ala₂Leu₂]₈ is a designed variant of Rop with a fully repacked hydrophobic core, consisting exclusively of alanines and leucines at the *a* and *d* positions, respectively, of the 4-helix bundle. Most Rop variants are assumed to adopt a structure similar to that of the native protein as indicated by their *in vivo* activity. However due to the drastic change in the kinetics of [Ala₂Leu₂]₈, an alternative theory has been proposed, according to which there are two possible topologies, the native (*anti*) and the *syn*. In order to examine that theory we prepared two homodimers, each having the mutant sequence and each of the two alternative topologies. Two molecular dynamics simulations (total simulation time of 20ns) were performed on a GNU/Linux Beowulf cluster using periodic boundary conditions with explicit representation of water and full treatment of the electrostatics. All production runs were performed using the impulse Verlet-I multiple timestep integration algorithm. The inner timestep was 2fs, short-range nonbonded interactions were calculated every two steps and long-range electrostatic interactions every four time steps using the particle-mesh Ewald method. Temperature and pressure were controlled using the Nosé-Hoover Langevin Dynamics and Langevin piston barostat control methods for the production of NpT runs. Trajectories were obtained by saving the atomic coordinates of the whole system every 0.4ps. Analysis of the trajectories includes calculation of rmsd from the starting and from the average structure, calculation of the evolution of radius of gyration (R_G), distance maps between C_a atoms, secondary structure analysis and principal component analysis. The results of the dynamics show that the two alternative topologies are possibly equally stable, with the native (Rop-like) topology slightly more stable.

**ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑ ΣΤΟΥΣ ΕΠΙΜΥΣ : ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΚΑΙ
ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ***Γιάγκου Μ.***Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης & Μορ. Βιολογίας Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ*

Η πειραματική αρθρίτιδα (ΠΑ) των επίμυων θεωρείται ως ένα από τα καταλληλότερα μοντέλα μελέτης της ρευματοειδούς αρθρίτιδας στον άνθρωπο. Η συμβατική θεραπεία της αρθρίτιδας δεν είναι απόλυτα ικανοποιητική ενώ τα διάφορα αντιρευματικά φάρμακα που είναι διαθέσιμα σήμερα οδηγούν συχνά σε παρενέργειες. Η τοπική παραγωγή χονδροπροστατευτικών, οστεοπροστατευτικών ή ανοσορρυθμιστικών παραγόντων με τη βοήθεια της γονιδιακής ή κυτταρικής ή συνδυασμού τους θεραπείας αποτελεί μία σύγχρονη και ελκυστική πειραματική στρατηγική τόσο για τη θεραπεία της αρθρίτιδας όσο και κατανόησης του μηχανισμού παθογένειας. Η ανάπτυξη της ΠΑ χαρακτηρίζεται αρχικά από την εμφάνιση φλεγμονής στα άκρα των επίμυων η οποία οδηγεί σε σταδιακή καταστροφή του αρθρικού ιστού και του οστού και σταδιακή εμφάνιση παραμόρφωσης και υπερπλασίας των άκρων. Η τοπική χορήγηση στην άρθρωση ή στους μύες πλασμιδιακού φορέα προκαλεί την τοπική έκφραση του γονιδίου της α1-όξινης γλυκοπρωτεΐνης (AGP). Παρά το γεγονός ότι η παραπάνω έκφραση οδηγεί σε επιδείνωση των συμπτωμάτων αρθρίτιδας, οδηγεί στη συνέχεια σε παρεμπόδιση στην εμφάνιση παραμορφωτικής αρθρίτιδας. Αυτός ο διπλός ρόλος της AGP στο μηχανισμό επαγωγής αρθρίτιδας πιθανά να οφείλεται τόσο στην ανοσορρυθμιστική της δράση όσο και στη διαφορική της έκφραση γενικευμένα (ορός) ή τοπικά στην άρθρωση. Αιμοποιητικά κύτταρα του μυελού των οστών φαίνεται να συμμετέχουν στην τοπική παραγωγή της AGP. Τα συνοβιακά κύτταρα της άρθρωσης των αρθρικών επίμυων δείχνουν μειωμένο ρυθμό απόπτωσης και αυξημένο ρυθμό πολλαπλασιασμού *in vitro*. Τόσο τα κύτταρα του μυελού των οστών όσο και το υπερκείμενο καλλιέργειών του προκαλούν αναστροφή του παραπάνω φαινομένου. Η οδός μεταμόσχευσης ολικού μυελού των οστών σε μη ακτινοβολημένους αρθρικούς αρουραίους φαίνεται να είναι σημαντική για την απαιτούμενη ανοσορύθμιση καταστολής της αρθρίτιδας. Ο ρόλος των μεσεγχυματικών κυττάρων του μυελού στην παραπάνω ανοσορύθμιση φαίνεται να εξαρτάται από τη μέθοδο απομόνωσης και καλλιέργειάς τους.

* Προσκεκλημένος ομιλητής

ADJUVANT ARTHRITIS IN RATS: GENE AND CELLULAR THERAPY

*Yiangou M.**

Dept. Genet., Dev. & Mol. Biol., Sch. Biol., Aristotle Univ. Thessaloniki, Greece

Adjuvant Arthritis (AA) is an animal model that resembles rheumatoid arthritis (RA) of man. Conventional therapy does not control this destructive process sufficiently and the anti-rheumatic drugs available today can cause severe systemic adverse effects. Local application of chondroprotective and osteoprotective agents by means of gene therapy or cellular therapy would be an attractive alternative to conventional therapy and could minimize systemic adverse effects. Adjuvant arthritis is characterized by inflammation of rat joints followed by progressive destruction of articular cartilage and bone. Administration of plasmid containing the AGP gene in rat joints results in increased inflammation and reduction of articular cartilage and bone destruction. This dual function of AGP on AA development may be due to both immunomodulatory activity and differential systemic (serum) or local production of AGP. Bone marrow (BM) haemopoetic cells may be involved in AGP production in arthritic joints. Arthritic synoviocytes possess low apoptosis and increased proliferative activity in vitro and BM cell secretions or supernatant isolated from BM cultures inhibited this activity. The route of bone marrow transplantation in non radiated arthritic rats may be important for the BM mediated immunosuppression of AA. Preliminary data show that BM mesenchymal cells activity on AA synoviocytes or arthritis development is negative or may depend on method of isolation.

** Invited speaker*

**ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΑΚΑΛΥΨΗ
ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΠΟΥ ΕΝΕΧΟΝΤΑΙ ΣΤΗ ΣΤΡΑΤΟΛΟΓΗΣΗ
ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΕ ΟΓΚΟΥΣ ΩΟΘΗΚΩΝ**

*Γιαννακάκης Α., Λανίτης Ε., Ντανγκάη Ν., Γαλάνης Α.
και Ρ. Σανδαλτζόπουλος.*

*Εργαστήριο Γονιδιακής Έκφρασης, Μοριακής Διαγνωστικής και Σύγχρονων
Θεραπευτικών Μέσων, Τμήμα Μοριακής Βιολογίας & Γενετικής, Δ.Π.Θ.*

Η παρουσία λεμφοκυττάρων [κυττάρων Τ ή/και φονικών κυττάρων (natural killer, NK)] είναι θετικός προγνωστικός δείκτης για την επιβίωση των καρκινοπαθών σε διάφορους τύπους καρκίνου. Έχει επίσης αναφερθεί σημαντική θετική συσχέτιση ανάμεσα στην παρουσία λεμφοκυττάρων Τ (intratumoral infiltrating T lymphocytes, TILs) και τη βελτίωση της κλινικής εικόνας ασθενών με καρκίνο στην ωοθήκη. Παρόλα αυτά, ο μοριακός μηχανισμός της μετανάστευσης (migration) και διήθησης (infiltration) λεμφοκυττάρων στους όγκους παραμένει σε μεγάλο βαθμό άγνωστος. Προκειμένου να ανακαλύψουμε γονίδια που πιθανώς ενέχονται στη διαδικασία στρατολόγησης λεμφοκυττάρων σε όγκους ωοθηκών, εφαρμόσαμε την προηγμένη τεχνολογία ανάλυσης διαφορικής έκφρασης ADDER (Amplification of Double-stranded cDNA End Restriction Fragments) στην οποία κάθε mRNA τελικά αντιστοιχεί σε ένα τμήμα DNA συγκεκριμένου μήκους. Τα τμήματα αυτά μπορούν να διαχωριστούν με αποδιατακτική ηλεκτροφόρηση και να ανιχνευτούν με σάρωση LASER. Συγκρίναμε τα πρότυπα γονιδιακής έκφρασης όγκων ωοθηκών του ίδιου σταδίου, που είτε ήταν εμπλουτισμένοι σε Τ-λεμφοκύτταρα (TIL+) είτε όχι (TIL-). Η ανίχνευση των λεμφοκυττάρων έγινε με ανοσοϊστοχημεία χρησιμοποιώντας αντισώματα που αναγνωρίζουν αντιγονικούς δείκτες των λεμφοκυττάρων αλλά και με την ποσοτική μέτρηση των επιπέδων mRNA γονιδίων χαρακτηριστικών των λεμφοκυττάρων. Επιλεγμένα γονίδια από τη συλλογή των γονιδίων που βρέθηκαν να υπερεκφράζονται σε όγκους ωοθηκών TIL+ υποβάλλονται σε περαιτέρω αξιολόγηση με μέτρηση των επιπέδων του mRNA με Real-time PCR σε μεγάλο αριθμό δειγμάτων (n>50). Εκτός από τα απόλυτα επίπεδα της γονιδιακής έκφρασης, εκτιμάται η συσχέτιση των επιπέδων έκφρασης με αυτά μοριακών δεικτών των Τ-λεμφοκυττάρων. Μετά την ολοκλήρωση της μελέτης μας, είναι ενδιαφέρον να συγκριθούν τα αποτελέσματά μας με άλλες μελέτες στις οποίες χρησιμοποιήθηκαν διαφορετικές προσεγγίσεις (π.χ. μικροσυστοιχίες DNA). Εκτιμούμε ότι μεταξύ των γονιδίων που έχουμε εντοπίσει θα περιλαμβάνονται γονίδια που ενέχονται στη στρατολόγηση των Τ-λεμφοκυττάρων με πιθανότητα να μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως θεραπευτικοί στόχοι.

FUNCTIONAL GENOMICS FOR THE IDENTIFICATION OF GENES INVOLVED IN THE RECRUITMENT OF LYMPHOCYTES IN OVARIAN TUMOURS

Giannakakis A., Lanitis E., Dangaj D., Galanis A., and R. Sandaltzopoulos

Laboratory of Gene Expression, Molecular Diagnostics and Modern Therapeutics, Department of Molecular Biology and Genetics, Democritus University of Thrace

The presence of lymphocytes (T and/or natural killer cells) is a positive prognostic indicator for the survival of cancer patients with various types of tumours. A significant correlation between the detection of intratumoral infiltrating T lymphocytes (TILs) and the development of the clinical picture of the patients with ovarian cancer has been documented. However, the molecular mechanism responsible for the migration of T lymphocytes and infiltration of tumours remains largely elusive. In an attempt to discover putative gene products that may be involved in the recruitment of lymphocytes in ovarian tumours, we employed an advanced differential expression analysis technique (ADDER, Amplification of Double-stranded cDNA End Restriction Fragments), in which every mRNA is represented at the end by a DNA fragment of a defined length. These fragments can be separated by denaturing gel electrophoresis and detected by a LASER scanner. We have compared the gene expression profiles of first stage ovarian tumours which were either enriched with T lymphocytes (TIL+) or not (TIL-). T lymphocytes were detected by immunocytochemistry using antibodies that react to specific lymphocyte antigens and by quantitation of lymphocyte-specific transcripts by Q-RT-PCR. Selected genes found to be overexpressed in TIL+ tumours were subjected to further validation by Q-RT-PCR in a great number of samples (>50). Besides measuring the absolute levels of these transcripts, we analysed whether their levels correlate to the levels of T-lymphocyte-specific molecular markers. When our analysis is complete, it will be interesting to compare our results to those derived by other techniques, such as DNA arrays. We expect that amongst the genes identified and validated, genes involved in lymphocytes recruitment will be included. Such genes may be good candidates as targets for therapeutic approaches.

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ ΟΡΓΑΝΙΚΩΝ
ΕΙΣΡΟΩΝ ΣΤΙΣ ΒΙΟΓΕΩΧΗΜΙΚΕΣ ΔΙΕΡΓΑΣΙΕΣ ΣΕ ΔΕΛΤΑΪΚΑ
ΙΖΗΜΑΤΑ**

**Γιαννικόπουλος Ν.¹, Δασενάκη Μ.¹, Βελέντζα Μ.², Ακουμιανάκη Ι.³,
Δασενάκης Μ.¹, Νικολαΐδου Α.²**

¹Τομέας Χημείας Περιβάλλοντος, Τμήμα Χημείας, Εθνικό Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθήνας, Πανεπιστημιόπολη, Ζωγράφου 157 71, Αθήνα. ²Τομέας Ζωολογίας και Θαλάσσιας Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθήνας, Πανεπιστημιόπολη, Ζωγράφου 157 71, Αθήνα. ³Ινστιτούτο Ωκεανογραφίας, Ελληνικό Κέντρο Θαλάσσιων Ερευνών, Μαύρο Λιθάρι 19013, Ανάβυσσος, Αττική

Σε αντίθεση με ότι συμβαίνει σε άλλα παράκτια περιβάλλοντα, στα ιζήματα των μεταβατικών οικοσυστημάτων (δελταϊκές εκβολές, λιμνοθάλασσες) εναποτίθενται και συσσωρεύονται μεγάλες ποσότητες οργανικής ύλης, πλούσιες σε χουμικές και φαινολικές ενώσεις χερσαίας προέλευσης καθώς και σε λιγνινο-κυτταρινούχες ενώσεις προερχόμενες από χερσαία και θαλάσσια αγγειόσπερμα. Γενικά θεωρείται ότι οι ενώσεις αυτές, λόγω της πολυπλοκότητας της δομής τους, διασπώνται από τις θαλάσσιες μικροβιακές βιοκοινωνίες με χαμηλότερους ρυθμούς από ότι η οργανική ύλη φυτοπλαγκτικής προέλευσης. Ωστόσο οι υψηλοί μεταβολικοί ρυθμοί που έχουν παρατηρηθεί σε υποθαλάσσια δελταϊκά ιζήματα υποδεικνύουν υψηλούς ρυθμούς αποικοδόμησης και ανταλλαγής μεταβολιτών μέσω αερόβιας και αερόβιας οξείδωσης της οργανικής ύλης. Στην παρούσα μελέτη, ελέγχουμε την υπόθεση ότι οι βιογεωχημικές διεργασίες και το ισοζύγιο εισροών άνθρακα και αζώτου διαφέρουν ανάμεσα σε ιζήματα δελταϊκά και παράκτια ιζήματα ανάλογα με την ποιότητα των οργανικών εισροών στην επιφάνεια των ιζημάτων. Για το σκοπό αυτό διενεργήθηκε πείραμα σε μικρόκοσμους με ιζήματα από τις δελταϊκές εκβολές του Σπερχειού και τον αμμώδη ρηχό κόλπο της Βραυβρόνας. Οι μικρόκοσμοι εμπλουτίστηκαν με φυτοπλαγκτό, χερσογενή σωματίδια από τις όχθες του Σπερχειού και με θρύμματα *Zostera noltii*. Οι ροές οξυγόνου, νιτρικών και αμμωνιακών για κάθε τύπο εμπλουτισμού συγκρίθηκαν σε σχέση με μη εμπλουτισμένο μάρτυρα για κάθε τύπο ιζήματος. Το πείραμα διήρκεσε τρεις μήνες και μετά το πέρας του, εκτιμήθηκαν οι συγκεντρώσεις διαφόρων μεταβολιτών και βιοπολυμερών (πρωτεΐνες, υδατάνθρακες, λιπίδια, λιγνίνες) στο νερό των πόρων στα υποεπιφανειακά αναερόβια στρώματα των μικρόκοσμων. Τα αποτελέσματα από τις αναλύσεις αυτές συζητούνται υπό το πρίσμα παράλληλων μετρήσεων ενζυματικής δραστηριότητας και φυλογενετικής ταυτοποίησης γονιδίων 16S rRNA στα συγκεκριμένα ιζήματα.

- Το έργο συγχρηματοδοτείται στα πλαίσια του ΕΠΕΑΕΚ II (ΠΥΘΑΓΟΡΑΣ II) από το Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο και Εθνικούς πόρους

IMPACT OF THE QUALITY AND ORIGIN OF FOOD INPUTS IN THE BIOGEOCHEMICAL PROCESSES IN DELTAIC SEDIMENTS

Giannikopoulos N.¹, Dassenaki M.¹, Velentza M.², Akoumianaki I.³, Dassenakis M.¹, Nicolaidou A.²

¹Laboratory of Environmental Chemistry, Department of Chemistry, National and Kapodistrian University of Athens, Zografou 157 71, Greece. ²Laboratory of Zoology and Marine Biology, Department of Biology, National and Kapodistrian University of Athens, Zografou 157 71, Greece. ³Institute of Oceanography, Hellenic Centre for Marine Research, Mavro Lithari 19013, Anavyssos, Attica, Greece

Large quantities of terrigenous organic material, rich in phenolic and humic compounds, as well of phytodetrital material originating from terrestrial vegetation and seagrass are mainly deposited in the subaqueous deltaic and estuarine depositions. These inputs are generally considered as refractory, owing to the complexity of their structure. However, high benthic metabolic rates observed in deltaic systems indicate high decomposition rates and nutrient fluxes through aerobic and anaerobic oxidation of organic matter. In this study we test the hypothesis that biogeochemical processes and the carbon and nitrogen budgets are different between deltaic and other non-river influenced coastal systems. In doing so, phytoplankton, terrigenous riverine particles and *Zostera noltii* senescent leaves were added to microcosms containing sediment from the deltaic depositions of Spercheios River and from the sandflat of Vravrona bay. Fluxes (oxygen, nitrates and ammonium) for each type of food input were compared with control microcosms for each type of sediment for three months. After the end of the experiment, the concentrations of metabolites and biopolymers (proteins, carbohydrates, lipids, lignins) were measured in the pore water of the subsurface anoxic layers of the microcosms. The results are discussed in view of the results from enzymatic activity measurements and 16S rRNA diversity at the same sediments.

- *This study was co-funded by the European Social Fund and National Resources (EPEAEK II PYTHAGORAS II, Greek Ministry of Education)*

**ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΔΥΝΑΜΙΚΗ ΤΗΣ ΒΕΝΘΙΚΗΣ ΜΙΚΡΟΧΛΩΡΙΔΑΣ ΣΤΗ
ΘΑΛΑΣΣΙΑ ΠΕΡΙΟΧΗ: ΚΑΛΑΜΙΤΣΙ-Β.Δ. ΑΚΤΕΣ ΠΡΕΒΕΖΗΣ
ΤΟΥ ΙΟΝΙΟΥ ΠΕΛΑΓΟΥΣ**

Γκανούλη Μ. και Νικολαΐδης Γ.*

*Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο
Θεσσαλονίκης, Τ.Θ.109, 54124 Θεσσαλονίκη (*e-mail:mgkanoul@bio.auth.gr)*

Για τη μελέτη της δομής και της δυναμικής της βενθικής μικροχλωρίδας πραγματοποιήθηκαν τέσσερις (4) εξαμηνιαίες συχνότητας δειγματοληψίες στην περιοχή Καλαμίτσι (Β.Δ. ακτές Πρεβέζης Ιονίου Πελάγους). Σε κάθε δειγματοληψία, η συλλογή υλικού έγινε από τρεις (3) σταθερούς σταθμούς της μεσοπαράλιας ζώνης που απείχαν 500 μέτρα μεταξύ τους. Συνολικά αναγνωρίστηκαν 33 ταξινομικές ομάδες, η πλειονότητα των οποίων ήταν προσκολλημένες (επιφυτικά είδη) σε μακροφύκη. Η πλειοψηφία των μικροφυκών (26 taxa) άνηκαν στα Διάτομα, έπονται τα Κυανοβακτήρια (6) και τα Δινοφύκη (1). Τα διάτομα επικρατούσαν έναντι των υπόλοιπων ταξινομικών ομάδων και σε επίπεδο βιομάζας με ποσοστιαία συμμετοχή, αναφορικά της αφθονίας, η οποία κυμαινόταν από 53 έως 72%. Ακολούθησαν τα κυανοβακτήρια με ποσοστά συμμετοχής από 28 έως 47% και τα δινοφύκη με μοναδικό εκπρόσωπο το γένος *Ostreopsis* κατά τη θερινή περίοδο σε ποσοστό έως 5%. Οι υψηλότερες αφθονίες της μικροχλωρίδας (9.819 κυτ/cm²) παρατηρήθηκαν τη θερινή περίοδο ενώ οι χαμηλότερες (6.533 κυτ/cm²) τη χειμερινή περίοδο. Από τα διάτομα, τα υψηλότερα ποσοστά συμμετοχής παρουσίασαν πληθυσμοί του γένους *Navicula* (31,3-33,0%) καθώς και πληθυσμοί των γενών *Amphora* και *Licmophora*. Από τα κυανοβακτήρια ξεχώριζαν είδη από τα γένη *Oscillatoria*, *Arthrospira* και *Lyngbya*. Η επικράτηση των διατόμων στη βενθική μικροχλωρίδα με ένα σχετικά μεγάλο αριθμό γενών, σε συνδυασμό με τις τιμές ποικιλότητας των Shannon-Weiner (H') και Gleason (d), υποδηλώνουν την ποιότητα των παράκτιων νερών στη συγκεκριμένη περιοχή, που σύμφωνα με τους Nikolaidis *et al.* (2006) χαρακτηρίζεται από καλή έως εξαιρετικά καλή.

**STRUCTURE AND DYNAMIC OF THE BENTHIC MICROFLORA
OF KALAMITSI BEACH: NORTH-WEST COAST OF PREBEZA-
IONIAN SEA**

Ganouli M. *, and Nikolaidis G.

*Department of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki,
P.O. BOX 109, GR-54124, Thessaloniki (*e-mail:mgkanoul@bio.auth.gr)*

In order to study the structure and dynamic of the benthic microflora material was collected in four (4) different seasonal cruises during the years 2004-2006 in Kalamitsi beach (N.W. coast of Prebeza-Ionian Sea). Sampling of material was conducted at three (3) fixed sampling stations along the eulittoral zone (the three stations being 500m apart). A total of thirty three (33) taxa were identified, most of them attached epiphytically on macroalgae. The majority of the microalgae belong to Diatoms (26 taxa), followed by Cyanobacteria (6) and Dinophyceae (1). Diatoms dominated also in biomass reaching abundances from 53 to 72%. Cyanobacteria biomass (expressed as cell density) ranged from 28 to 47% and Dinophyceae (*Ostreopsis* sp.) were found only during the summer, reaching abundances up to 5%. The highest values of microflora's abundance (9,819 cells/cm²) were recorded during the summer and the lowest (6,533 cells/cm²) during the winter sampling. Among the diatoms the highest abundances were populations of the genus *Navicula* (31.3-33.0%), followed by *Amphora* and *Licmophora* species. Among cyanobacteria species of *Oscillatoria*, *Arthrospira* and *Lyngbya* prevailed. Both diatom dominance in the community of the benthic microflora and the calculated values of diversity indexes of Shannon-Weiner (H') and Gleason (d), indicate the quality of coastal water masses, which according to Nikolaidis *et al.* (2006) is classified as good up to excellent.

Η ΥΠΟΘΕΣΗ AIDS ΤΗΣ ΒΕΓΓΑΖΗΣ**Garbougia A.-R.¹, Σαλίχος Α.² και Ι. Σούρδης³**

¹Laboratory of Virology, Istituto Nazionale di Malattie Infettive Lazzaro Spallanzani, Rome, Italy. ²Rega Institute for Medical Research, Katholieke Universiteit Leuven, B-3000 Leuven, Belgium. ³Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιερα Οδός 75, Αθήνα 11855

Η εκτεταμένη χρήση μεθόδων μεγάλης κλίμακας προσδιορισμού αλληλουχιών ιών επιτρέπει πλέον νέους τρόπους προσέγγισης του τρόπου εξάπλωσης των ιών σε ανθρώπινους πληθυσμούς. Λόγω του υψηλού ρυθμού μεταλλάξεων οι ιοί παρουσιάζουν μεγάλη ποικιλομορφία. Η ποικιλομορφία αυτή παρουσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον στους επιδημιολόγους ειδικά σε μελέτες προσδιορισμού της αρχής και του τρόπου διαδόσεως μολύνσεων σε ενδονοσοκομειακών λοιμώξεων. Όμως, παρά τις εντατικές προσπάθειες εντοπισμού των εξελικτικών αλλαγών, το πρόβλημα της παρουσίας της ακριβούς εξελικτικής ιστορίας μιας ομάδας ακολουθιών ιών παραμένει άλυτο. Δεν είναι πάντα δυνατή η αποτύπωση των εξελικτικών τους σχέσεων με τα συνήθη δένδρογράμματα της παραδοσιακών φυλογενετικών μεθόδων. Η έλλειψη κατάλληλων μεθόδων είναι έκδηλη στις περιπτώσεις αυτές. Ενδεικτική είναι η περίπτωση της Βεγγάζης: Πέντε βουλγάρες νοσηλεύτριες και ένας παλαιστίνιος ιατρός είναι φυλακισμένοι στην Βεγγάζη της Λιβύης εδώ και οκτώ χρόνια. Το Φεβρουάριο του 1999 ασκήθηκε εναντίον τους δίωξη μετά από μια επιδημία προσβολής ιού ανοσολογικής ανεπάρκειας τύπου 1 (HIV-1) και ηπατίτιδας C (HCV) σε περισσότερα από 400 παιδιά του νοσοκομείου Αλ-Φατέχ στην Βεγγάζη της Λιβύης. Το υγειονομικό προσωπικό κατηγορήθηκε ότι σκόπιμα έκαναν ενέσεις με μολυσμένο από HIV αίμα στα παιδιά. Το Μάη του 2004, δικαστήριο καταδίκασε το νοσηλευτικό προσωπικό σε εκτέλεση δια τουφεκισμού, προκαλώντας κύμα διεθνών αντιδράσεων αναγκάζοντας το Ανώτατο Δικαστήριο να ζητήσει επανάληψη της δίκης. Όμως τον Δεκέμβριο του 2006 καταδικάστηκαν πάλι σε θάνατο. Κατά την επανάληψη της δίκης το δικαστήριο αρνήθηκε να λάβει υπόψη επιστημονικές εργασίες που προσπαθούσαν δείξουν ότι η επιδημία είχε αρχίσει να εκδηλώνεται αρκετά χρόνια πριν να αρχίσουν να εργάζονται οι κατηγορούμενοι εκεί και μάλλον η μόλυνση είχε προκληθεί από τις άσχημες υγειονομικές συνθήκες του νοσοκομείου. Η σπουδαιότερη απ'ο τις εργασίες αυτές ήταν των Oliveira et al. (*Nature* **444**, 836-837), Στην εργασία αυτή όλα τα διαθέσιμα στελέχη HIV-1 και HCV που ήταν στενά συσχετισμένα με τις ακολουθίες του νοσοκομείου Αλ-Φατέχ αναλύθηκαν και κατασκευάστηκαν φυλογενετικά δέντρα με μεθόδους Μέγιστης Πιθανοφάνειας. Συγκρίνοντας διάφορες ομαδοποιήσεις ακολουθιών ότι τα στελέχη 'κυκλοφορούσαν' στο νοσοκομείο πριν την άφιξη των αλλοδαπών υγειονομικών το Μάρτιο του 1998. Υποθέτουν επίσης ότι τα στελέχη αυτά προήρχοντο από την Δυτική Αφρική από όπου κατάγονται πολλοί από τους ξένους εργάτες της Λιβύης. Προσπαθούμε μια διαφορετική προσέγγιση του προβλήματος. Εφαρμόζουμε μία ανάλυση των στελεχών των ιών βασισμένη στην αρχή της Φειδωλής Εξέλιξης. Με τον τρόπο αυτό αναπτύσσουμε ένα χρήσιμο εργαλείο για την ιχνηλάτιση της πορείας της μόλυνσης μεταξύ των ασθενών. Η μέθοδος έχει ήδη εφαρμοστεί για την επίλυση παρόμοιου προβλήματος μόλυνσης από ιο ηπατίτιδας C σε παιδιατρική κλινική στην Ιταλία (*J Clin Microbiol.* **42**, 4230-6)

THE BENGHAZI OUTBREAK

Garbougia A.R.¹ Salichos L.^{2,3}, and J. Sourdis³

¹Laboratory of Virology, Istituto Nazionale di Malattie Infettive Lazzaro Spallanzani, Rome, Italy. ²Rega Institute for Medical Research, Katholieke Universiteit Leuven, B-3000 Leuven, Belgium. ³Department of Agricultural Biotechnology, Agricultural University of Athens, 75 Iera Odos, Athens 11855, Greece

The abundance of rapid and large-scale sequencing of viruses has allowed new insights into the patterns and processes of their spread through human populations. Due to their high rate of mutations, viruses exhibit a large diversity in human populations of various regions. This diversity has long been of interest to epidemiologists especially in studies for the determination of the origin and the spread of contamination in cases of viral outbreaks, such as the nosocomial ones. However, in spite of the intentional efforts to detect the evolutionary events, the problem of the representation of the exact evolutionary history of a group of viral sequences is still unfolding. The relations between them cannot always be presented by bifurcating or even multifurcating trees (graphs with no cycles) of the traditional phylogenetic methods. The lack of relevant methodology is obvious in all such cases. The case of Benghazi outbreak is a typical one: Five nurses from Bulgaria and a Palestinian doctor have been held in prison in Benghazi, Libya for eight years. Charges were brought against them in February 1999 after outbreaks of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and hepatitis C virus (HCV) infection in children attending Al-Fateh Hospital in Benghazi, Libya. The health staff were accused of deliberately injecting more than 400 children with blood contaminated with HIV. In May 2004, a court sentenced the medics to death by firing squad, prompting a wave of international outrage. As a consequence, the Supreme Court overturned the verdict and ordered a retrial. However, on December 2006, the court condemned the foreign health professionals to death again. Also, the court refused to take into account some scientific studies that tried to show that the outbreak had begun several years before the accused began working there and was caused by poor hygiene at the hospital. The main of such studies is the recent paper of Oliveira et al. (*Nature* **444**, 836-837) In this study all available reference HIV-1 and HCV strains that were closely related to the sequences from the Al-Fateh Hospital were analyzed and phylogenies were estimated using maximum-likelihood methods. They assume by comparing various cluster of sequences that the strains were already circulating and prevalent in this hospital and its environs before the arrival in March 1998 of the foreign medical staff and that they were part of a single outbreak of a strain that is common in West Africa, home of many immigrants to Libya. We attempt to approach the problem in a different way by applying a parsimonious analysis of molecular data to achieve a useful tool in tracing the history of transmission in outbreaks of viral infection. The theoretical method we developed is based on the Minimum Spanning Tree and allows us to identify the source of outbreaks and the most probable patient-to-patient chain of transmissions. We have already used this model to identify the history of transmission of hepatitis C virus (HCV) infection in an outbreak involving children in a pediatric hospital in Italy (*J Clin Microbiol.* **42**, 4230-6)

**ΣΥΝΕΡΓΑΣΙΑ ΧΡΩΣΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΣ ΓΙΑ ΤΗΝ
ΕΚΦΡΑΣΗ ΧΡΩΜΑΤΙΚΩΝ ΠΡΟΤΥΠΩΝ ΣΕ ΑΝΘΗ ΦΥΤΩΝ*****Γκίκας Δ., Ριζοπούλου Σ.***

*Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο
Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, 15784, Αθήνα.
E-mail: jimgikas14@yahoo.gr , rhizop@biol.uoa.gr*

Η μαθηματική επεξεργασία φασμάτων (που ελήφθησαν με τη βοήθεια φασματοφωτόμετρου τύπου Cary) από έγχρωμα πέταλα ανθέων (η συλλογή των οποίων έγινε στον Βοτανικό κήπο «Ιουλίας και Αλεξάνδρου Διομήδους»), προκάλεσε το παράδοξο συμπέρασμα ότι το χρωματικό πρότυπο που εκδηλώνεται από τη στεφάνη των ανθών των φυτών δεν μπορεί να οφείλεται αποκλειστικά στις χρωστικές που περιέχονται στα κύτταρα των πετάλων. Από τα αποτελέσματά μας φαίνεται ότι παρόμοια φάσματα απορρόφησης αντιστοιχούν σε άνθη με διαφορετικό (ορατό) χρώμα. Το δόγμα «χρώμα = χρωστική», πρέπει να ξαναμελετηθεί επισταμένως εφόσον μια πολύ σημαντική συνιστώσα της χρωματικής έκφρασης (η επιφάνεια) παραλείπεται. Ο δυϊσμός του φωτός υπαγορεύει συνεργασία μεταξύ χρωστικής (φωτόνιο) και επιφάνειας (κύμα). Η πολύπλοκη αρχιτεκτονική του ανάγλυφου της επιφάνειας των πετάλων (την οποία μελετά η ερευνητική μας ομάδα) τροφοδοτεί μια υποψία περί υψηλής κανονικότητας, η οποία θα μπορούσε να θεωρηθεί ως ένας φυσικός, φυτικός φωτονικός κρύσταλλος. Οι συχνότητες των φωτονίων που «χάνονται» μέσα στον φωτονικό κρύσταλλο μπορούν να ενισχύουν ένα χρωματικό αποτέλεσμα (απόχρωση, χροιά) ή να δημιουργούν ένα νέο. Σημειώνεται ότι οι πρώτες απόψεις για τη φύση του χρώματος διατυπώθηκαν από τον Δημόκριτο (σε ότι σώθηκε από άλλους συγγραφείς), τον Αριστοτέλη (*Μικρά φυσικά*) και τον Θεόφραστο (*Περί αισθήσεων*).

- *Ευχαριστούμε τον Σ. Κοϊνή και τον Κ. Μεθενίτη (Επίκουρους Καθηγητές, στο Τμήμα Χημείας του Ε.Κ.Π.Α.), για τη βοήθεια στη φασματοφωτομετρία.*
- *Η παρούσα εργασία διενεργείται στα πλαίσια έργου (Κ.Α. 70/3/8036) που συγχρηματοδοτείται από το Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο και Εθνικούς Πόρους (ΕΠΕΑΕΚ II) ΠΥΘΑΓΟΡΑΣ II.*

**FLOWER COLOUR SEEMS TO BE RELATED TO A SYNERGETIC
EFFECT BETWEEN PIGMENT ACCUMULATION AND PETAL
SURFACE**

Gikas D., Rhizopoulou S.

*Department of Botany, Faculty of Biology, National & Kapodistrian University of
Athens, Panepistimiopolis, 157 84, Athens, Greece.
E-mail: jimgikas14@yahoo.gr, srhizop@biol.uoa.gr*

Colourful flower petals, selected from the Botanical Garden of “Julia and Alexander Diomedes”, were used to extract the pigments so as to investigate their absorbance by using mathematical models. In several cases, from apparently different colourful petals, similar spectrums were obtained. It is likely that the colour of the petals is the outcome of both pigment concentration and petal micro-sculpture (according to former results of our research group). Hence, it is suggested that the dogma “pigments=colour” should be reconsidered, since one main factor (i.e. the surface) has been underestimated. It is likely that the “wave-particle” duality of the light is related to synergetic effect between the pigments (photon) and the surface (wave). Furthermore, our results may eventually prove the hypothesis of a natural photonic crystal, right. It should be noted that the sense of the colourful surfaces of flowers, in terms of hue, nuance and tone, is closely related to the original ideas of Demokritos, Aristotle and Theophrastus (*on the sensus*).

- *We are grateful to S. Koinis and K. Methenitis (Assistant Professors, Chemistry Department, National and Kapodistrian University of Athens), for help with spectrophotometer.*
- *This work is part of the 70/3/8036 project, which is co-funded by the European Social Fund and National Resources – (EPEAEK II) PYTHAGORAS II.*

**ΕΠΙΠΕΔΑ ΡΕΖΙΣΤΙΝΗΣ ΟΡΟΥ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΟΥ
ΚΑΤΑΜΗΝΙΟΥ ΚΥΚΛΟΥ**

**Γκιάκα Θ.¹, Ασημακόπουλος Β.², Μηλούσης Α.², Κατεργάρη Σ.Α.²,
Τρούσσα Α.², Γιανισλής Γ.², Καμπουρομύτη Γ.¹, Νικολέττος Ν.²**

¹Μικροβιολογικό Εργαστήριο, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Αλεξ/πολη
²Εργαστήριο Φυσιολογίας, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Αλεξ/πολη

Η ρεζιστίνη είναι μία αδιποκυτταροκίνη που εμπλέκεται στη ρύθμιση της ινσουλινικής δράσης. Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι να διερευνηθεί εάν τα επίπεδα της ρεζιστίνης παρουσιάζουν διακυμάνσεις κατά τη διάρκεια του καταμήνιου κύκλου και εάν τα επίπεδα αυτά συσχετίζονται με τα επίπεδα οιστραδιόλης, ωχρινοτρόπου ορμόνης (LH), ωοθηλακιοτρόπου ορμόνης (FSH) και προγεστερόνης. Μελετήθηκαν δεκαπέντε υγιείς γυναίκες, με $BMI \leq 24.9 \text{ kg/m}^2$, κατά τη διάρκεια του καταμήνιου κύκλου. Έγιναν αιμοληψίες κάθε 2^η μέρα κατά τη διάρκεια του κύκλου και, στη συνέχεια, προσδιορισμός επιπέδων ρεζιστίνης, οιστραδιόλης, LH, FSH και προγεστερόνης ορού. Τα επίπεδα ρεζιστίνης ορού ποίκιλαν μεταξύ 2.367 και 7.673ng/ml. Οι χαμηλότερες συγκεντρώσεις παρατηρήθηκαν κατά την έναρξη ($4.194 \pm 0.728 \text{ ng/ml}$) και οι υψηλότερες κατά το τέλος των ωοθηλακιορρηκτικών κύκλων ($5.975 \pm 3.83 \text{ ng/ml}$). Υψηλότερες συγκεντρώσεις ρεζιστίνης παρατηρήθηκαν μετά την εκκριτική αιχμή της LH, αλλά, γενικώς, δεν υπήρχε σημαντική συσχέτιση μεταξύ επιπέδων ρεζιστίνης και E2, προγεστερόνης, LH and FSH. Συμπερασματικά, τα επίπεδα ρεζιστίνης μεταβάλλονται κατά τη διάρκεια του καταμήνιου κύκλου. Τα επίπεδα αυτά δεν φαίνεται να συσχετίζονται με τις μεταβολές των επιπέδων των γοναδοτροπινών ή των στεροειδών ορμονών του φύλου.

SERUM RESISTIN CONCENTRATIONS THROUGHOUT THE MENSTRUAL CYCLE

Gioka Th.¹, Asimakopoulos B.², Milousis A.², Katergari S.², Troussa A.², Gianislis G.², Kabouromiti G.¹, Nikolettos N.²

¹Dept. of Microbiology, University Hospital of Alexandroupolis, 68100 Alexandroupolis, Greece.

²Lab. of Physiology, School of Medicine, Democritus University of Thrace, 68100 Alexandroupolis, Greece.

Resistin, a product of RSTN gene, is an adipose tissue hormone, involved in the regulation of insulin activity. In this study we investigated whether resistin concentrations fluctuate during the menstrual cycle and if resistin concentrations are correlated with estradiol, luteinizing hormone (LH), follicular stimulating hormone (FSH) and progesterone concentrations. Fifteen ovulatory cycles of healthy volunteers, with body mass index ≤ 24.9 , were analyzed. Blood samples were taken on alternate days throughout the menstrual cycle for measurement of serum resistin, estradiol, LH, FSH and progesterone concentrations. Serum concentrations of resistin varied between 2.367 and 7.673ng/ml. The lowest mean concentration was observed at the beginning (4.194 ± 0.728 ng/ml) and the highest mean concentration at the end of ovulatory cycles (5.975 ± 3.83 ng/ml). Higher concentrations were observed after LH surge but in general, resistin concentrations were not significantly correlated with E2, progesterone, LH and FSH. Conclusively, resistin serum concentrations show fluctuation during the menstrual cycle, which, in most cases is not correlated with the fluctuation of the levels of gonadotropins or sex-steroid hormones.

**COmplete GENome Tracking (CoGenT): ΒΑΣΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ ΜΕ
ΠΛΗΡΩΣ ΑΛΛΗΛΟΥΧΗΜΕΝΑ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΑ ΓΙΑ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ
ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ**

**Goldovsky L., Δαρζέντας N., Courtot M., Freilich S., Χατζηδημητρίου A.,
Θεοδοσίου Θ., Ουζούνης X.**

*Computational Genomics Unit, Ινστιτούτο Αγροβιοτεχνολογίας, Εθνικό Κέντρο
Έρευνας και Τεχνολογικής Ανάπτυξης*

Από τη δημοσίευση της πρώτης ολόκληρης ακολουθίας γονιδιώματος για τον οργανισμό *Haemophilus influenzae* Rd το 1995, περισσότερα από 500 γονιδιώματα έχουν αλληλουχηθεί. Αυτός ο πλούτος πληροφοριών ακολουθίας επιτρέπει συγκριτικές λειτουργικές και εξελικτικές μελέτες. Παρόλα αυτά οι περισσότερες από τις υπάρχουσες βάσεις δεδομένων έχουν σχεδιαστεί για να παρέχουν πρόσβαση σε πληροφορία γονίδιο ανά γονίδιο και δεν είναι κατάλληλες για μελέτες μεγάλης κλίμακας. Προκειμένου να αντιμετωπίσουμε αυτό το πρόβλημα αναπτύξαμε τη βάση δεδομένων GoGenT (<http://cgg.ebi.ac.uk/services/cogent/>). Η GoGenT περιέχει πλήρη και δημοσιευμένα γονιδιώματα και βοηθάει στην επαναδιανομή των δεδομένων, ενώ διασφαλίζει την επαναληψιμότητα στον τομέα της υπολογιστικής γονιδιωματικής. Μέσω του συστήματος παρακολουθείται ο σχετικός χρόνος των γονιδιωματικών ακολουθιών ανάλογα με την εμφάνισή τους στην βιβλιογραφία. Επίσης, ένα μνημονικό του κωδικού του είδους δημιουργείται και χρησιμοποιείται σαν πρόθεμα για να κατασκευαστεί ένα μοναδικό πρωτεϊνικό αναγνωριστικό. Οι πρωτεΐνες αναγνωρίζονται από τον κωδικό του είδους ακολουθούμενο από παύλα και ένα νούμερο. Η χρήση των μνημονικών αναγνωριστικών επιτρέπει τον πλήρη διαχωρισμό των γονιδιωμάτων και των πρωτεϊνών με απλό τρόπο, καθώς και την εύκολη εφαρμογή μεθόδων υπολογιστικής βιολογίας σε αυτά. Έχουμε επεκτείνει την αρχική βάση δεδομένων για να περιλάβουμε και άλλες σημαντικές πτυχές της επιστήμης της υπολογιστικής γονιδιωματικής, όπως phylogenetic profiles και πρωτεϊνικές οικογένειες. Το σύστημα CoGenT++ σχεδιάστηκε για να παρέχει ένα περιεκτικό, σταθερό, εύελκτο και χρήσιμο περιβάλλον που καθοδηγείται από τα εκάστοτε επιστημονικά ερωτήματα. Η βασική αρχή σχεδιασμού του περιβάλλοντος CoGenT++ είναι οι διάφορες προ-υπολογισμένες οντότητες να περιγράφονται κατά τρόπο ομοιόμορφο.

Complete GENome Tracking (CoGenT): DATABASE OF FULLY SEQUENCED GENOMES FOR COMPUTATIONAL BIOLOGY APPLICATIONS

Goldovsky L., Darzentas N., Courtot M., Freilich S., Hadzidimitriou A., Theodosiou T., Ouzounis C.

Computational Genomics Unit, Institute of Agrobiotechnology, Centre for Research and Technology - Hellas

Since the publication of the first entire genome sequence for *Haemophilus influenzae* Rd in 1995, more than 500 genomes have been sequenced. This wealth of sequence information provides immense opportunities for genome-wide mining and exploration, including aspects of comparative and evolutionary studies, and functional genomics. Yet, most of the existing databases are designed to provide access to genomic information on a gene-by-gene basis, and are not fully suitable for large-scale studies. We developed the Complete Genome Tracking (CoGenT) database (<http://cgg.ebi.ac.uk/services/cogent/>), to enable both large-scale analyses and unified linking of various projects. CoGenT is a database of fully sequenced and published genomes to facilitate the re-distribution of data and ensure reproducibility of results. A design decision was made to keep track of the relative timing of genome sequences in order of their appearance in the literature. A mnemonic species code is generated and used as a prefix to construct unique protein identifiers. The use of mnemonic identifiers enable to clearly distinguish genomes and proteins from a given genome in a simple manner, and also their efficient use in computational biology applications. We have extended the original sequence database to include other facets of computational genomics, such as phylogenetic profiles and protein families. The CoGenT++ system is designed to provide a comprehensive, robust, flexible and useful environment guided by research issues in computational genomics. The original design principle of the CoGenT++ environment is to capture various aspects of genomic information, including a multitude of pre-computed entities, in a uniform manner.

**ΟΙΚΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΒΕΝΘΙΚΗΣ ΠΑΝΙΔΑΣ
ΤΩΝ ΠΟΤΑΜΩΝ ΤΗΣ ΝΟΤΙΑΣ ΕΥΒΟΙΑΣ***Γκρίτζαλης Κ.Χ., Κουτσοδήμου Μ., Ανδριοπούλου Α. και Θ. Κουβαρντά**Ελληνικό Κέντρο Θαλασσιών Ερευνών – Ινστιτούτο Εσωτερικών Υδάτων
46,7 χλμ Αθηνών – Σουνίου, 190 13 Ανάβυσσος*

Η χρήση βιοτικών δεικτών τελευταίως έχει αυξηθεί σημαντικά. Η πληρέστερη ανάπτυξή τους βασίζεται σε αυτοοικολογικά στοιχεία της ποτάμιας βενθικής πανίδας. Στα πλαίσια Ευρωπαϊκού προγράμματος (STAR, www.eu-star.at) πραγματοποιήθηκαν θερινές δειγματοληψίες στους ποταμούς Πλατανιστό, Αντιά και Δημοσάρη της Ν. Εύβοιας. Σύμφωνα με το σύστημα Α της οδηγίας 2000/60/ΕΚ για την τυπολογία, οι τρεις λεκάνες απορροής χαρακτηρίζονται πυριτικές, μικρού υψομέτρου και έκτασης. Στο πεδίο εφαρμόστηκε η πολυενδιατηματικής προσέγγισης μέθοδος AQEM. Από την επεξεργασία των δειγμάτων καταλήξαμε σε συμπεράσματα σχετικά με χαρακτηριστικά της οικολογικής ποιότητας. Η αφθονία των taxa είναι μεγαλύτερη στον Πλατανιστό και ακολουθούν Δημοσάρης και Αντιάς. Σε άλλες παραμέτρους (αριθμός taxa, οικογενειών και γενών) προηγείται αριθμητικά ο Δημοσάρης και ακολουθεί ο Πλατανιστός. Ο Σαπροβιοτικός δείκτης είναι μη μετρήσιμος, γεγονός που δηλώνει ότι δεν βρέθηκαν ανθεκτικοί στη ρύπανση οργανισμοί. Αντίθετα, βρέθηκαν ευαίσθητα στη ρύπανση taxa και στους 3 ποταμούς. Σύμφωνα με τους περισσότερους βιοτικούς δείκτες (BMWP, BBI, IBE) η οικολογική ποιότητα των ποταμών χαρακτηρίζεται από “moderate” ως και “good”. Τα μεγαλύτερα ποσοστά μακροασπονδύλων φαίνεται να συγκεντρώνονται στη “littoral zone” (21-27%) και ακολούθως στην “hyporithral zone” (11-17%). Φαίνεται ότι οι περισσότεροι οργανισμοί “προτιμούν” τη ροή τύπου RP (48% στον Αντιά) και τη ροή τύπου RL (25% στον Πλατανιστό). Όσον αφορά τους τροφικούς τύπους, στον Πλατανιστό κυριαρχούν οι “φυτοφάγοι” (28,7%) ακολουθούν οι συλλέκτες (19,4%), παθητικοί ηθμοφάγοι και θηρευτές (8,63% και 8,18%). Στον Αντιά κυριαρχούν οι παθητικοί ηθμοφάγοι με τους grazers (36,85% και 35,05%), ακολουθούν οι θηρευτές (15,43%) και οι συλλέκτες (8,4%). Στο Δημοσάρη το μεγαλύτερο ποσοστό είναι “φυτοφάγοι” (33,3%), παθητικοί ηθμοφάγοι (21,18%) και τέλος “θηρευτές” (15,51%) και “συλλέκτες” (14,82%). Από ταξινομική άποψη ένα σημαντικό ποσοστό καταλαμβάνουν τα δίπτερα και τα τριχόπτερα στον Αντιά και τον Δημοσάρη (~30%) ενώ στον Πλατανιστό κυριαρχούν τα τριχόπτερα και τα εφημερόπτερα (~27%). Ικανοποιητική συμμετοχή πλεκοπτέρων έχουμε στον Πλατανιστό και Δημοσάρη (15% και 5,6%). Συμπερασματικά, από την επεξεργασία των δεδομένων της βενθικής πανίδας φαίνεται ότι στα παραπάνω ποτάμια εμφανίζονται αυτοοικολογικά στοιχεία σε ικανοποιητικό βαθμό.

ECOLOGIC CHARACTERISTICS OF THE BENTHIC FAUNA IN THE RIVERS OF S. EUVOIA

Gritzalis K.C., Koutsodimou M., Andriopoulou A., and T. Kouvarda

*Hellenic Centre for Marine Research – Institute of Inland Waters
46,7 km Athens-Sounion Ave., 190 13 Anavyssos, Greece*

The use of biotic indices has increased recently. Many autoecological elements of the riverine benthic fauna have contributed to their development. Summer samplings in the frame of the European Project STAR (www.eu.star.at) were conducted on three rivers of S. Euvoia, Platanistos, Antias and Dimosaris. According to the system A of the typology directive 2000/60/EU, all three basins are characterized as silicate, small sized and of low altitude. On site, the multihabitat approach AQEM method was applied. Sample processing resulted to the formation of an outline of the ecologic quality. Abundance is increased in Platanistos while Antias and Dimosaris are following. In other parameters, (number of taxa, families, genera) Dimosaris is preceding and Platanistos follows. The fact that Saprobic index was not calculated, indicates that no pollution-resistant taxa were found, yet sensitive taxa were found in all three rivers. According to several biotic indices, (BMWP, BBI, IBE) the ecologic status of the river is qualified as “moderate” or “good”. The most significant proportion of macroinvertebrates seems to gather around the “littoral zone” (21-27%) and the “hyporithral zone” (11-17%). Most of the macroinvertebrates found prefer RP type flow (Antias: 48%) and RL type flow (Platanistos: 25%). Regarding feeding types, in Platanistos “grazers” are dominant (28,7%) while “collectors”, “passive filter feeders” and “predators” (19,4%, 8,63%, 8,18%) are following. In Antias the dominant types are “passive filter feeders” and “grazers” (36,85%, 35,05%) followed by “predators” and “collectors”(15,43%, 8,4%). In Dimosaris, “grazers” represent the 33,3%, “passive filter feeders” the 21,18% and finally “predators” and “collectors” the 15,51% and 14,82%. From a taxonomic aspect, Diptera and Trichoptera take a significant proportion (~30%) in Antias and Dimosaris while Trichoptera and Ephemeroptera (~27%) are most abundant in Platanistos. The participation of Plecoptera comes to 15% in Platanistos and 5,6% in Dimosaris. Conclusively, the processing of the river benthic fauna data shows that all three rivers seem to display a satisfactory level of autoecological elements.

**ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ JNK-MAPK ΚΑΙ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΩΝ
ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΣΤΟ *Mytilus galloprovincialis******Γουργού Ε., Αγγελή Ι.Κ., Γαϊτανάκη Αικ., Μπέης Ι.****Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό &
Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, Ιλίσια, 15784, Αθήνα*

Μία από τις οικογένειες των ενεργοποιούμενων από μιτογόνα πρωτεϊνικών κινασών (MAPKs) είναι η οικογένεια των JNKs (c-Jun N-terminal kinases). Οι κινάσες αυτές φαίνεται να ενεργοποιούνται, μέσω φωσφορυλίωσής τους, από ποικίλα ερεθίσματα, μεταξύ των οποίων το οξειδωτικό και το θερμικό στρες. Η οικογένεια των JNKs έχει μελετηθεί εκτεταμένα σε πλήθος οργανισμών, κυρίως σε θηλαστικά. Ωστόσο, υπάρχουν λίγα στοιχεία για τη δράση τους σε θαλάσσια ασπόνδυλα. Έτσι, κρίθηκε σκόπιμη η μελέτη των κινασών αυτών στο *Mytilus galloprovincialis*. Για το σκοπό αυτό, έγινε διαχωρισμός των ισομορφών των JNKs με ταχεία υγρή χρωματογραφία πρωτεϊνών (FPLC-Fast Liquid Protein Chromatography) και ταυτοποίησή τους με τη χρήση κατάλληλων αντισωμάτων έναντι της φωσφορυλιωμένης μορφής τους, με ανοσοσύτωση κατά Western (Western blotting). Διερευνήθηκε επίσης, σε δυο σειρές πειραμάτων, η συμμετοχή τους στην απόκριση του ιστού των βραγχίων στο θερμικό στρες (υπερθερμία). Στην πρώτη σειρά, τα πειραματόζωα εκτέθηκαν για μικρά χρονικά διαστήματα (30 min και 60 min) σε θερμοκρασία 30°C και παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων φωσφορυλίωσης των JNKs σε σχέση με το μάρτυρα, με μέγιστη ενεργοποίηση στο χρόνο των 30 min. Στη δεύτερη σειρά, τα πειραματόζωα εκτέθηκαν για μεγαλύτερα χρονικά διαστήματα (2h ως 24h) σε θερμοκρασία 30°C και παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων φωσφορυλίωσης των JNKs σε σχέση με το μάρτυρα, με μέγιστη ενεργοποίηση στο χρόνο των 2h. Σε επιλεγμένα χρονικά διαστήματα (30 min και 60 min) έγινε μελέτη της ενεργοποίησης μεταγραφικών παραγόντων που αποτελούν γνωστά από τη βιβλιογραφία υποστρώματα των JNKs. Με βάση τα παραπάνω, προτείνεται ότι το μονοπάτι των JNKs εμπλέκεται στην απόκριση στην υπερθερμία και μάλιστα φαίνεται να σχετίζεται, μέσω της ενεργοποίησης μεταγραφικών παραγόντων, με την επαγωγή της έκφρασης συγκεκριμένων γονιδίων.

- Το έργο συγχρηματοδοτείται από το Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο και Εθνικούς Πόρους (ΕΠΕΑΕΚ II) ΠΥΘΑΓΟΡΑΣ II.

JNK-MAPK AND TRANSCRIPTIONAL FACTORS ACTIVATION IN *Mytilus galloprovincialis*

Gourgou E., Aggeli I.K., Gaitanaki C., Beis I.

*Department of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology,
National & Kapodistrian University of Athens, Panepistimioupolis, Ilisia,
15784, Athens, Greece*

One of the mitogen activated protein kinases (MAPK) families is the JNK family (c-jun N-terminal kinases). JNK-MAPKs are believed to be activated by phosphorylation, under various forms of stress, such as oxidative and thermal stress. JNK-MAPKs have been comprehensively studied in numerous organisms, especially mammals. However, little is known about their involvement in stress response in marine invertebrates. It is, hence, of special interest to study JNK-MAPKs activation in *Mytilus galloprovincialis*. To this purpose, JNKs isoforms were separated by FPLC (Fast Protein Liquid Chromatography) and identified by using proper anti-phosphoJNK antibodies (Western blotting). JNKs participation in thermal stress response, in the gill tissue, was also investigated, in two sets of experiments. In the first set, specimens were exposed to hyperthermia (30°C) for short time intervals (30min and 60min). An increase in phosphorylation, in regard to control, was observed, with maximum activation taking place at 30min. In the second set, specimens were exposed to hyperthermia (30°C) for longer time intervals (2h-24h), and an increase in phosphorylation, in regard to control, was observed, with maximum activation taking place at 2h. Specimens from selected time intervals were used to detect possible activation of transcriptional factors, known to be substrates of JNK-MAPKs. It is therefore suggested that the JNK-MAPK pathway is involved in the thermal stress response and is apparently connected, via activation of transcriptional factors, to the induction and expression of certain nuclear genes.

- *The project is co-funded by the European Social Fund and National Resources – (EPEAEK II) PYTHAGORAS II*

**Η ΜΕΤΑΛΛΑΞΗ *hythana1* ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ *AtCesA3* ΠΡΟΚΑΛΕΙ
ΑΡΝΗΤΙΚΗ ΗΜΙΚΥΡΙΑΡΧΗ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗ ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗ
ΚΥΤΤΑΡΙΝΗΣ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ *Arabidopsis thaliana***

**Δάρας Γ.¹, Ρήγας Σ.¹, Penning B.², Φασσέας Κ.¹, McCann M.C.²
και Π. Χατζόπουλος¹**

¹Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιερά οδός 75, Αθήνα

²Department of Biological Sciences, Purdue University, West Lafayette, IN47907, USA

Το κυτταρικό τοίχωμα αποτελεί μια δυναμική δόμηση που καθορίζει την αρχιτεκτονική της ανάπτυξης των φυτών καθώς και την απόκριση τους σε καταπονήσεις προερχόμενες από περιβαλλοντικούς ή βιοτικούς (παθογόνα) παράγοντες. Οι καταλυτικές υπομονάδες της συνθάσης της κυτταρίνης (CesAs) συμμετέχουν στη βιοσύνθεση κυτταρίνης, η οποία αποτελεί το σημαντικότερο πολυμερές, συστατικό των φυτικών κυτταρικών τοιχωμάτων. Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των λειτουργικών υπομονάδων είναι αναγκαίες για την ομαλή και φυσιολογική σύνθεση κυτταρίνης. Συνεπώς, η ενσωμάτωση στο σύμπλοκο μη λειτουργικών υπομονάδων CesA, ενδεχομένως θα επηρέαζε αρνητικά το σχηματισμό του κυτταρικού τοιχώματος (Taylor *et al.*, 2000). Οι μέχρι σήμερα χαρακτηρισμένες μεταλλάξεις στα γονίδια CesA είναι υπολειπόμενες σε σχέση με τη σύνθεση κυτταρίνης. Το μετάλλαγμα *hythana1* (*hyt-1*) αρχικά απομονώθηκε από σάρωση πληθυσμού σπορίων χημικά μεταλλαγμένων με EMS ελέγχοντας την ανάπτυξη της ρίζας. Η ημικυρίαρχη μετάλλαξη *hyt1* παρουσιάζει πρόβλημα στην επιμήκυνση και στην αρχιτεκτονική των κυττάρων. Σε ομοζυγωτή κατάσταση το μετάλλαγμα είναι θνησιγόνο αμέσως μετά τη βλάστηση, ενώ σε ετεροζυγωτή κατάσταση παρουσιάζει δραματική μείωση της ανάπτυξης. Ποσοτική ανάλυση με FTIR της δομής του κυτταρικού τοιχώματος αποδεικνύει σημαντική μείωση της κυτταρίνης ανάμεσα στα ομοζυγωτά και ετεροζυγωτά *hyt1* μεταλλάγματα σε σχέση με τα φυτά αγρίου τύπου. Μοριακή χαρτογράφηση της μετάλλαξης αποκάλυψε ότι η αντικατάσταση μιας νουκλεοτιδικής βάσης από G σε A στο γονίδιο At5g05170 (*AtCesA3*) προκαλεί υποκατάσταση της Προλίνης 578 σε Σερίνη, η οποία είναι υπεύθυνη για την ημικυρίαρχη αρνητική επίδραση. Όταν ο μοριακός τόπος που περιέχει το μεταλλαγμένο γονίδιο *AtCesA3* (P578S) εισέλθει σε φυτά αγρίου τύπου, προκαλεί την επικράτηση της ημικυρίαρχης επίδρασης, με αποτέλεσμα τα φυτά να εμφανίζουν τον *hyt1* φαινότυπο. Πολλαπλή ευθυγράμμιση του πρωτεϊνικού τμήματος που περιέχει την Προλίνη 578, έδειξε ότι είναι υψηλά συντηρημένο όχι μόνο στους φυτικούς αλλά και σε άλλους οργανισμούς που συνθέτουν κυτταρίνη. Είναι πιθανόν το τμήμα αυτό να σχετίζεται με την πρόσδεση της UDP-γλυκόζης, καταλύοντας έτσι τη δράση του ενζυμικού συμπλόκου σύνθεσης της κυτταρίνης (Unligil, 2000). Η ανάλυση της ημικυρίαρχης *hyt1* μετάλλαξης παρέχει νέα δεδομένα όσον αφορά τη δράση του συμπλόκου σύνθεσης κυτταρίνης, βοηθώντας την κατανόηση των μηχανισμών ρύθμισης βιοσύνθεσης και ελέγχου απόθεσης κυτταρίνης κατά την ανάπτυξη του κυττάρου. Η κατανόηση τέτοιων μηχανισμών θα οδηγήσει στην προώθηση σημαντικών εφαρμογών που σχετίζονται όχι μόνο με την παραγωγή βιοκαυσίμων αλλά και με άλλες χρήσεις της βιομάζας.

Βιβλιογραφία

- Taylor, N. G. Laurie, S. and Turner, S. R. (2000). Multiple Cellulose Synthase Catalytic Subunits Are Required for Cellulose Synthesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **12**, 2529–2539.
- Unligil, U.M. and Rini, J.M. (2000). Glycosyltransferase structure and mechanism. *Current Op in Structur Biol* **10**, 510–517.

***Hythana1* MUTATION OF *AtCesA3* EXHIBITS NEGATIVE SEMIDOMINANT EFFECT ON *Arabidopsis thaliana* CELLULOSE BIOSYNTHESIS**

Daras G.¹, Rigas S.¹, Penning B.², Fasseas C.¹, McCann M.C.², and P. Hatzopoulos¹

¹ *Department of Agricultural Biotechnology, Agricultural University of Athens, Iera Odos 75, Athens 11855, Greece*

² *Department of Biological Sciences, Purdue University, West Lafayette, IN47907, USA*

Cell walls are dynamic structures that represent key determinants of overall plant form, growth and development including plant responses to environmental and pathogen-induced stress. Cellulose synthase catalytic subunits (CesAs) have been implicated in catalyzing the biosynthesis of cellulose, the major component of plant cell walls. Interactions between CesA subunits are thought to be required for normal cellulose synthesis, which suggests that incorporation of defective CesA subunits into cellulose synthase complex could potentially cause a dominant effect on cellulose synthesis (Taylor *et al.*, 2000). However, *cesA* mutations characterised up to date have shown to be recessive in terms of cellulose synthesis. Performing a genetic screen for abnormal root growth of an EMS mutagenised seed population, we isolated *hyt1* (*hythana1*), a semidominant mutation that impairs cellular architecture and elongation. Intriguingly, *hythana1* homozygous seedlings are embryo lethal, while growth of *hyt1* heterozygous plants is dramatically decreased. Fourier transform infra-red microspectroscopy (FTIR) analysis revealed significant reduction of cellulose content between homozygous and heterozygous *hyt1* plants compared to wild type. Map-based cloning revealed a single-nucleotide transition from G to A causing the amino acid substitution of Proline 578 to Serine, which is responsible for the negative semidominant mutant phenotype of *AtCesA3* (At5g05170) allele. Genomic DNA corresponding to *AtCesA3* (P578S) mutant gene when introduced into wild type *Arabidopsis* plants resulted in acquisition of *hyt1* negative semidominant mutant phenotype. Multiple sequence alignment of the protein region flanking Proline 578 revealed a conserved consensus between plant and non-plant *CesA* genes. This domain is likely to be associated with CesA catalytic activity, which is UDP-glucose substrate-binding (Unligil, 2000). *hyt1* semidominant mutation shed light into cellulose synthase complex enzymatic activity facilitating our comprehension of cellulose biosynthesis mechanisms that modulate cell wall deposition during growth and development. The profound insights will accelerate practical implementations with respect to current emphasis on biofuels and other uses of lignocellulosic biomass yield.

References

- Taylor, N. G. Laurie, S. and Turner, S. R.** (2000). Multiple Cellulose Synthase Catalytic Subunits Are Required for Cellulose Synthesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **12**, 2529–2539.
- Unligil, U.M. and Rini, J.M.** (2000). Glycosyltransferase structure and mechanism. *Current Op in Structur Biol* **10**, 510–517.

**ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ ΓΙΑ ΣΥΝΘΕΤΙΚΗ
ΒΙΟΛΟΓΙΑ****Δαρζέντας Ν.^{1,2}, Τσαντάρης Α.¹, Ουζούνης Χ.^{1,2}**¹ *Ινστιτούτο Αγροβιοτεχνολογίας, Εθνικό Κέντρο Έρευνας και Τεχνολογικής
Ανάπτυξης*² *Computational Genomics Unit, Ινστιτούτο Αγροβιοτεχνολογίας, Εθνικό Κέντρο
Έρευνας και Τεχνολογικής Ανάπτυξης*

Η επιταχυνόμενη διαθεσιμότητα ακολουθιών γονιδιωμάτων έχει επιτρέψει στους επιστήμονες να καταλάβουν καλύτερα τη δομή, τη λειτουργία, και την εξέλιξη τους. Τέτοια γνώση ανοίγει συναρπαστικές νέες δυνατότητες, π.χ. για τομείς όπως η συνθετική βιολογία. Στόχος της συνθετικής βιολογίας είναι να χτιστούν τεχνητά βιολογικά υποσυστήματα ή και πλήρως επανασχεδιασμένες μορφές ζωής. Τέτοια “designer cells” (ή τα μέρη τους) θα μπορούν να εκτελέσουν συγκεκριμένες λειτουργίες για ένα πλήθος εφαρμογών, ή να μας βοηθήσουν να κατανοήσουμε βασικές αρχές της βιολογίας κυτταρικών συστημάτων. Αναπτύσσουμε υπολογιστικές μεθόδους άμεσα εφαρμόσιμες στο συναρπαστικό αυτό πεδίο. Αυτές οι μέθοδοι θα συνδυάσουν και θα αναλύσουν εξελικτικές, λειτουργικές και άλλες πληροφορίες για ένα πλήθος πρότυπων βιολογικών ειδών. Ο στόχος θα είναι να γίνει κατανοητό πώς τα απαραίτητα (essential) γονίδια διαφέρουν π.χ. από την άποψη των δομικών ιδιοτήτων ή των εξελικτικών ιστοριών, ώστε έτσι να γίνει δυνατή η *in-silico* αναγνώρισή τους. Πολλαπλές μέθοδοι βιοπληροφορικής θα χρησιμοποιηθούν για να καθορίσουν τα πιο καθοριστικά από αυτά τα χαρακτηριστικά γνωρίσματα της ιδιότητας του essentiality. Επιπλέον, πολλαπλοί πόροι δεδομένων, συμπεριλαμβανομένων λειτουργικών πληροφοριών και πληροφοριών μεταλλάξεων, γνωστά ή προβλεφθέντα πρωτεϊνικά δίκτυα αλληλεπίδρασης, και μεταβολικά μονοπάτια, θα εισαχθούν στο σύστημα, προκειμένου να ληφθούν διαφορετικές απόψεις της δομής και της λειτουργίας του υπό μελέτη γονιδιώματος. Συνοπτικά, το έργο αυτό θα αναπτύξει καινοτόμες υπολογιστικές τεχνικές, θα συγκεντρώσει σχετικά βιολογικά δεδομένα από πολλαπλές πηγές, και θα τα συνδυάσει προς ένα σαφές αλλά μεγάλης κλίμακας και μοναδικών δυνατοτήτων (η πρόβλεψη essential γονιδίων είναι ένα παράδειγμα) μεθοδολογικό πλαίσιο για το νέο τομέα της συνθετικής βιολογίας, με σημαντικές βιοτεχνολογικές εφαρμογές.

DEVELOPMENT OF COMPUTATIONAL METHODS FOR SYNTHETIC BIOLOGY

Darzentas N.^{1,2}, Tsaftaris A.¹, Ouzounis C.^{1,2}

¹*Institute of Agrobiotechnology, Centre for Research and Technology - Hellas*

²*Computational Genomics Unit, Institute of Agrobiotechnology, Centre for
Research and Technology - Hellas*

The accelerating availability of genome sequences has enabled scientists to better understand genomic structure, function, and evolution. Such knowledge opens up exciting new possibilities, such as synthetic biology. The goal of synthetic biology is ultimately to build artificial biological sub-systems all the way to re-designed complete life forms. Such ‘designer cells’ (or their components) can then perform specific functions for a multitude of applications, or, for instance, help us understand basic principles of cellular systems biology. We develop computational methods directly applicable in this fascinating field. These methods will combine and analyze evolutionary, functional and other information for a number of model biological organisms. The objective will be to understand how essential (essential) genes differ, e.g. in case of structural attributes or evolutionary histories, in order to be able to predict them *in-silico*. Multiple bioinformatics methods will be utilised in order to determine the defining traits of essentiality. Moreover, multiple sources of data, including functional information and mutational data, known or predicted protein networks of protein interactions, and metabolic pathways, will be imported in the system, so that we obtain different viewpoints of the structure and function of the researched systems. In summary, this project will develop innovative computational tools, will assemble relevant biological data from multiple sources, and will combine them towards an explicit but large-scale methodological framework of unique possibilities (prediction of gene essentiality being one of them) for synthetic biology, with important biotechnological applications.

**ΠΡΟΤΥΠΑ ΣΩΜΑΤΙΚΗΣ ΥΠΕΡΜΕΤΑΛΛΑΞΙΓΕΝΕΣΗΣ (ΣΥΜ)
ΣΤΗ ΧΡΟΝΙΑ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ (ΧΛΛ)**

**Δαρζέντας Ν.^{1,7}, Χατζηδημητρίου Α.², Murray F.³, Μπέλεση Χ.⁴, Davi F.⁵,
Ghia P.⁶, Αναγνωστόπουλος Α.², Rosenquist R.³, Τσαυτάρης Α.¹,
Ουζούνης Χ.^{1,7}, Σταματόπουλος Κ.²**

¹ Ινστιτούτο Αγροβιοτεχνολογίας, Εθνικό Κέντρο Έρευνας και Τεχνολογικής
Ανάπτυξης, ² Αιματολογική Κλινική/MMMO Π.Γ.Ν. «Γ. Παπανικολάου», ³ Dept. of
Genetics and Pathology, Uppsala University, Sweden, ⁴ Αιματολογικό Τμήμα,
Π.Γ.Ν. Νίκαιας, ⁵ Service d'Hématologie Biologique & Université Pierre et Marie
Curie Hôpital, Paris, France, ⁶ Università Vita-Salute San Raffaele, Milano, Italy,
⁷ Computational Genomics Unit, Ινστιτούτο Αγροβιοτεχνολογίας, Εθνικό Κέντρο
Έρευνας και Τεχνολογικής Ανάπτυξης

Η ανάλυση των γονιδίων των ανοσοσφαιρινών στη ΧΛΛ αποκάλυψε την ύπαρξη τουλάχιστον δύο υποτύπων, που διακρίνονται με βάση την παρουσία ή μη σωματικών μεταλλάξεων στις αναδιατάξεις του γενετικού τόπου της βαριάς αλυσίδας (IGH). Επίσης, το ρεπερτόριο των ανοσοσφαιρινών στη ΧΛΛ εμφανίζει ιδιαίτερη επιλεκτικότητα και χαρακτηρίζεται από υποσύνολα περιπτώσεων με «στερεότυπες» αλληλουχίες HCDR3. Στην παρούσα μελέτη, εξετάσαμε τα πρότυπα ΣΥΜ των γονιδίων IGHV σε μια ομάδα 1967 ασθενών με ΧΛΛ από 6 Ευρωπαϊκές χώρες. Συχνότερα γονίδια ήταν τα IGHV1-69, IGHV4-34, IGHV3-23, IGHV3-7 και IGHV3-21. Αμετάλλακτες αλληλουχίες έφεραν 677 ασθενείς, ενώ αλληλουχίες με μικρό αριθμό μεταλλάξεων ή σημαντικό αριθμό μεταλλάξεων έφεραν, αντιστοίχως, 227 και 1065 ασθενείς. Στην αμετάλλακτη υποομάδα επικρατούσαν τα γονίδια IGHV1-69 και IGHV4-39, στην υποομάδα με λίγες μεταλλάξεις τα IGHV3-21, IGHV1-69 και IGHV1-2, ενώ στη μεταλλαγμένη υποομάδα τα IGHV3-7, IGHV3-23 και IGHV4-34. Συνολικά, παρατηρήθηκε μεγαλύτερη στόχευση μεταλλάξεων στις περιοχές HCDR των γονιδίων IGHV3 συγκριτικά με τα IGHV1 και IGHV4. Αντίθετα, τα γονίδια IGHV4 και IGHV1 έφεραν περισσότερες μεταλλάξεις στις περιοχές HFR2 και HFR3 συγκριτικά με τα IGHV3. Συμπερασματικά, διαπιστώθηκε διαφορετική στόχευση των γονιδίων IGHV στη ΧΛΛ. Στερεότυπες αλληλουχίες IG στη ΧΛΛ εμφανίζουν επικέντρωση μεταλλάξεων σε ειδικά κωδικόνια κατά «νοσο-ειδικό» τρόπο. Τέλος, τα αποτελέσματα της μελέτης προσφέρουν περαιτέρω ενδείξεις για το ρόλο της επιλογής από το αντιγόνο στην παθογένεση της ΧΛΛ.

SOMATIC HYPERMUTATION (SHM) PATTERNS IN CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA (CLL)

Darzentas N.^{1,7}, Hadzidimitriou A.², Murray F.³, Belessi C.⁴, Davi F.⁵, Ghia P.⁶, Anagnostopoulos A.², Rosenquist R.², Tsaftaris A.¹, Ouzounis C.^{1,7}, Stamatopoulos K.²

¹ *Institute of Agrobiotechnology, Centre for Research and Technology - Hellas*
² *Hematology Department/MMMO «G. Papanikolaou» Hospital,* ³ *Dept. of Genetics and Pathology, Uppsala University, Sweden,* ⁴ *Hematology Department, Nikaia Hospital,* ⁵ *Service d'Hématologie Biologique & Université Pierre et Marie Curie Hôpital, Paris, France,* ⁶ *Università Vita-Salute San Raffaele, Milano, Italy,*
⁷ *Computational Genomics Unit, Institute of Agrobiotechnology, Centre for Research and Technology - Hellas*

SHM analysis of IGHV genes has enabled a subdivision of CLL in two groups, with and without somatic mutations. Multiple CLL subsets with distinctive IGH and light chain IG (IGK/L) gene rearrangements were found to have remarkably stereotyped B-cell receptors, including CDR3. In this study, we examined 1967 in-frame IGHV-D-J sequences of different CLL patients from 6 European countries. The most frequent IGHV genes were IGHV1-69 and IGHV4-34, followed by IGHV3-23, IGHV3-7, IGHV3-21. Following the 98% cut-off, 1065/1967 sequences from our series may be considered as “mutated”, whereas the remainder may be considered as “unmutated”, subdivided in a “truly unmutated” subgroup with 677 sequences and a “borderline homology” subgroup with 227 sequences. The IGHV3-7, IGHV3-23 and IGHV4-34 genes predominated in the mutated subgroup. In the “borderline homology” subgroup, the most frequent genes were IGHV3-21, IGHV1-69 and IGHV1-2. Finally, the IGHV1-69 and IGHV4-39 genes predominated among “truly unmutated” sequences. Overall, there was a greater targeting of mutations to the HCDRs of IGHV3 sequences compared to IGHV1 and IGHV4 cases, whilst IGHV4 and IGHV1 sequences tended to have more mutations in the HFR2 and HFR3 than IGHV3 sequences. Several subsets of cases with stereotyped HCDR3 sequences subsets showed shared replacement mutations. In conclusion, the CLL expressed IGH repertoire is characterized by disease-biased SHM patterns. The results of the present study provide further evidence for the role of antigen selection in the pathogenesis of at least a proportion of CLL cases.

**ΣΕ ΑΝΑΖΗΤΗΣΗ ΤΟΥ ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ: ΧΑΡΤΟΓΡΑΦΗΣΗ ΚΑΙ
ΤΟΠΟΓΡΑΦΙΑ ΤΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ HCDR3 ΣΤΗ ΧΡΟΝΙΑ
ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ (ΧΛΛ)**

*Δαρζέντας Ν.^{1,4}, Χατζηδημητρίου Α.², Σταματόπουλος Κ.², Μπέλεση Χ.³, Λαουτάρης
Ν.³, Φάσσας Α.², Αναγνωστόπουλος Α.², Τσαυτάρης Α.¹, Ουζούνης Χ.^{1,4}*

¹ *Ινστιτούτο Αγροβιοτεχνολογίας, Εθνικό Κέντρο Έρευνας και Τεχνολογικής
Ανάπτυξης, ² Αιματολογική Κλινική/ΜΜΜΟ Π.Γ.Ν. «Γ. Παπανικολάου»*

³ *Αιματολογικό Τμήμα, Π.Γ.Ν. Νίκαιας, ⁴ Computational Genomics Unit, Ινστιτούτο
Αγροβιοτεχνολογίας, Εθνικό Κέντρο Έρευνας και Τεχνολογικής Ανάπτυξης*

Η τεράστια ποικιλότητα της περιοχής HCDR3 της βαριάς αλυσίδας των ανοσοσφαιρινών εξασφαλίζεται από την αναδιάταξη ξεχωριστών γονιδίων και από την προσθήκη και αφαίρεση νουκλεοτιδίων στις συμβολές κατά τον ανασυνδυασμό V(D)J. Η μαθηματική πιθανότητα να εκφράζονται ταυτόσημες ανοσοσφαιρίνες από δύο διαφορετικούς κλώνους λεμφοκυττάρων είναι 10^{-12} . Η πραγματική κατάσταση είναι πολύ διαφορετική στη ΧΛΛ, της οποίας το ρεπερτόριο HCDR3 χαρακτηρίζεται από σημαντικό βαθμό στερεοτυπίας. Η ακριβής έκταση του φαινομένου δεν έχει διερευνηθεί με εξελιγμένες βιοπληροφορικές μεθόδους. Στην παρούσα μελέτη, αναζητήσαμε αμινοξικά μοτίβα (patterns) στην περιοχή HCDR3 σε 1948 αλληλουχίες HCDR3 ασθενών με ΧΛΛ. Η ομάδα αναφοράς περιλάμβανε 6357 αλληλουχίες HCDR3 από άλλες οντότητες (εκτός ΧΛΛ). Με βάση τα μοτίβα, συνολικά 1133/8305 αλληλουχίες κατατάχθηκαν σε 555 υποσύνολα (clusters). Τα υποσύνολα περιλάμβαναν 685/1948 αλληλουχίες ΧΛΛ (35%) έναντι μόλις 448/6357 αλληλουχίες μη-ΧΛΛ (7%) ($p < 0.0001$). Σε επιλεγμένα υπερσύνολα περιλαμβάνονταν περιπτώσεις οι οποίες εμφάνιζαν επίσης κοινούς φαινοτύπους, επισημαίνοντας βαθύτερες βιολογικές/κλινικές συσχετίσεις. Συνεπώς, το ρεπερτόριο της ΧΛΛ εμφανίζει μοναδικά χαρακτηριστικά και διαχωρίζεται σαφώς από άλλες οντότητες. Η στερεοτυπία των αλληλουχιών υπαινίσσεται και ένα στερεότυπο, πιθανόν περιορισμένο ρεπερτόριο αντιγόνων. Στην παρούσα φάση, η μεθοδολογία επιτρέπει την ταχύτατη και εξονυχιστική ανακάλυψη συσχετίσεων σε επίπεδο αμινοξικής ακολουθίας μεταξύ ανοσοσφαιρινών ασθενών ΧΛΛ. Η ομαδοποίηση των ακολουθιών θα επιτρέψει την βαθύτερη κατανόηση της παθογένεσης της ΧΛΛ και την παράλληλη επιβεβαίωση των ευρημάτων.

IN SEARCH FOR THE ANTIGEN: MAPPING AND TOPOLOGY OF THE HCDR3 LANDSCAPE IN CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA (CLL)

Darzentas N.^{1,4}, Hadzidimitriou A.², Stamatopoulos K.², Belessi C.³, Laoutaris N.³, Fassas A.², Anagnostopoulos A.², Tsaftaris A.¹, Ouzounis C.^{1,4}

¹Institute of Agrobiotechnology, Centre for Research and Technology - Hellas

²Hematology Department/MMMO «G. Papanikolaou» Hospital, ³Hematology Department, Nikaia Hospital, ⁴Computational Genomics Unit, Institute of Agrobiotechnology, Centre for Research and Technology - Hellas

The enormous variety in the HCDR3 region of immunoglobulins heavy chain (IGH) is provided by the recombination of separate genes and the addition or/and deletion of nucleotides in the junctions during V(D)J recombination. The estimated probability of expression of identical (stereotypic) immunoglobulins by two different lymphocytic clones is 10^{-12} . The reality is quite different as far as it concerns CLL: CLL's HCDR3 repertoire is notably characterized by stereotypy. The exact extent of this phenomenon is not yet clarified by advanced bioinformatics methods. In the present study, we searched for aminoacid patterns in HCDR3 region among 1948 HCDR3 sequences of CLL patients. The study group included 6357 HCDR3 sequences of other entities (non-CLL). According to the patterns, 1133/8305 sequences in total were ranked in 555 subgroups (clusters). The clusters included 685/1948 CLL sequences (35%). In contrast, only 448/6357 non-CLL sequences (7%) were included in clusters ($p < 0.0001$). Sequences with common patterns but also with common phenotypes were included in selected superclusters, underlining biological/clinical correlations. Consequently, the CLL repertoire presents unique characteristics and differs explicitly from the other entities. The stereotypy of sequences implies a stereotypic, probably limited antigen repertoire. At this phase, the methodology allows a quick and thorough detection of correlations on aminoacid sequence level among immunoglobulins of CLL patients. Sequence clustering in multiple levels will allow the profound understanding of CLL pathogenesis and the parallel confirmation of the findings.

**ΠΡΟΚΑΤΑΡΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ
ΔΙΑΡΚΕΙΑΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ ΤΗΣ ΠΡΟΝΥΜΦΙΚΗΣ ΜΟΡΦΗΣ
ΣΚΥΦΟΜΕΔΟΥΣΑΣ (*AURELIA AURITA*) ΣΕ ΧΑΜΗΛΗ
ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΣΤΗΝ ΑΥΞΗΣΗ**

Δεληγιώργη Ε.-Σ.¹, Στεριώτη Α.², Αντωνοπούλου Ε.¹

¹Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο
Θεσσαλονίκης, Τ.Θ. 134, 541 24, Θεσσαλονίκη

²Ενυδρείο Κρήτης, Ελληνικό Κέντρο Θαλασσιών Ερευνών Κρήτης,
Τ.Θ. 2214, 71003, Ηράκλειο

Στην παρούσα εργασία, παρουσιάζονται τα προκαταρτικά αποτελέσματα της επίδρασης της διάρκειας αποθήκευσης των προνυμφικών μορφών (εφύρες) σκυφομέδουσας, *Aurelia aurita*, σε χαμηλή θερμοκρασία (4 °C) στην αύξησή τους, με στόχο τη δημιουργία αποθέματος για πιθανή μελλοντική χρήση. Για το σκοπό αυτό, χρησιμοποιήθηκαν δύο αποθέματα εφυρών, με διαφορά στη διάρκεια αποθήκευσής τους, με το ένα απόθεμα να έχει παραμείνει ένα μήνα (δεξαμενή Α) και το άλλο δύο μήνες (δεξαμενή Β) στους 4 °C. Στην κάθε δεξαμενή, όγκου 17 L, τοποθετήθηκαν 200 άτομα εφυρών. Το πείραμα διήρκησε 28 ημέρες. Από τα πρώτα αποτελέσματα προκύπτει ότι η μέση διάμετρος σκιαδίου των εφυρών, διαφέρει στατιστικά σημαντικά (t-value: -5.76 p<0.0001) ανάμεσα στα άτομα των δύο δεξαμενών, με μεγαλύτερες τιμές στη δεξαμενή Β (2.33 mm), από τα άτομα της δεξαμενής Α (1.41 mm). Επίσης, παρατηρήθηκε και στις δύο δεξαμενές χαμηλή ημερήσια αύξηση, -0.02 G day⁻¹ και 0.06 G day⁻¹, για τις δεξαμενές Α και Β αντίστοιχα, γεγονός το οποίο μπορεί να οφειλόταν στη πυκνότητα των εφυρών στις δεξαμενές καθώς και στη συγκέντρωση της τροφής τους (*Artemia* sp.). Από τα παραπάνω, προκύπτει ότι η διάρκεια αποθήκευσης των εφυρών φαίνεται να επηρεάζει τη μετέπειτα αύξηση, γεγονός το οποίο απαιτεί περισσότερη ανάλυση. Το πείραμα αποτελεί το πρώτο από μια σειρά πειραμάτων που έχουν σκοπό τον προσδιορισμό των παραμέτρων που ελέγχουν τα πρώτα στάδια ανάπτυξης του είδους.

**PRELIMINARY RESULTS OF THE EFFECT OF STORAGE
DURATION OF SCYPHOMEDUSAE LARVA (*AURELIA AURITA*)
UNDER LOW TEMPERATURE CONDITIONS ON THEIR
GROWTH**

Deligiorgi E.-S.¹, Steriotti A.², Antonopoulou E.¹

¹*Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki,
P.O. Box 134, 54124, Thessaloniki*

²*Crete's Aquarium, Hellenic Center of Marine Research, P.O. Box 2214, 71003,
Heraklion*

The present work refers to the preliminary results of the effect of the storage duration of scyphomedusae larva (ephyrae), *Aurelia aurita*, under low temperature conditions (4 °C) on their growth, aiming to create stock for possible future use. For this purpose, the stocks of ephyrae, that were used, had a difference in their storage duration, with the first stock to have remained at 4 °C for one month (Tank A) and the other for two months (Tank B). Two hundred ephyrae were placed in each tank (tank volume 17 L) and the experiment lasted for 28 days. The first results showed that there was a statistically significant difference (t-value: -5.76 p<0.0001) in the mean bell diameter of the ephyrae between the tanks, with greater values in tank B (2.33 mm), in comparison to tank A (1.41 mm). Furthermore, there was a rather low daily growth in both tanks, -0.02 G day⁻¹ and 0.06 G day⁻¹, for tanks A and B, respectively. This could be due to the density of ephyrae in the tanks and to the quantity of provided food (*Artemia* sp.). From the results mentioned above, the storage duration seems to have an effect on the ephyrae growth. However, further analysis is needed. This study is the first one out of a series of experiments in order to specify the parameters which control the development of the species.

**ΔΥΝΑΜΙΚΗ ΤΟΥ ΠΛΑΓΚΤΟΥ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΘΑΛΑΣΣΙΟΥ
ΧΙΟΝΙΟΥ ΣΤΟΝ ΟΡΜΟ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ**

Δεληγιώργη Ε.-Σ.^{1,2}, Μιχαλούδη Ε.¹, Μουστάκα-Γούνη Μ.^{2}*

¹Τομέας Ζωολογίας, ²Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο
Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, *email: mmustaka@bio.auth.gr

Η δομή και η δυναμική του φυτοπλαγκτού, πρωτοζωοπλαγκτού και μεσοζωοπλαγκτού παρουσία συσσωματωμάτων θαλάσσιου χιονιού, εξετάστηκε στον Όρμο Θεσσαλονίκης κατά την περίοδο 13/10/2005 έως 24/11/2005. Σε όλα τα δείγματα νερού παρατηρήθηκαν, σε μεγάλη αφθονία, συσσωματώματα σωματιδίων μεγέθους >0,5 mm (θαλάσσιο χιόνι) καθώς και μικρότερα συσσωματώματα (<0,5 mm). Στα συσσωματώματα αυτά, βρέθηκαν ενσωματωμένοι σχεδόν στο σύνολό τους οι φυτοπλαγκτικοί οργανισμοί (98% της συνολικής αφθονίας του φυτοπλαγκτού). Τα πρυμνεσιοφύκη, τα κρυπτοφύκη και τα διάτομα αποτέλεσαν τις κυρίαρχες ομάδες του φυτοπλαγκτού (σχετική αφθονία 74%, 19% και 7% αντίστοιχα). Το διάτομο *Cylindrotheca closterium*, το οποίο ήταν κυρίαρχο στο φυτοπλαγκτό, είναι γνωστό ότι παράγει βλεννώδεις ουσίες, οι οποίες αποτελούν κύριο συστατικό του θαλάσσιου χιονιού.

Σε αντίθεση με το φυτοπλαγκτό, οι ζωοπλαγκτικοί οργανισμοί βρέθηκαν ελεύθεροι στο νερό και όχι ενσωματωμένοι στα συσσωματώματα. Ως προς τη σχετική αφθονία κυριάρχησαν στο πρωτοζωοπλαγκτό τα βλεφαριδωτά (70%), ενώ οι πιο άφθονες ομάδες του μεσοζωοπλαγκτού ήταν τα κοπήποδα και το ζελατινώδες ζωοπλαγκτό (45% και 29% αντίστοιχα).

Το φυτοπλαγκτό κατά την περίοδο έρευνας χαρακτηρίστηκε από χαμηλή ποικιλότητα ειδών (49 είδη). Ο αριθμός ειδών φυτοπλαγκτού που καταγράφηκε ήταν κατά πολύ μικρότερος από τον αριθμό ειδών της αντίστοιχης περιόδου προηγούμενων ετών (περίπου 100 είδη), οπότε δεν είχε σημειωθεί παρουσία θαλάσσιου χιονιού.

PLANKTON DYNAMICS DURING MARINE SNOW IN THESSALONIKI BAY

Deligiorgi E.-S.^{1,2}, *Michaloudi E.*¹, *Moustaka-Gouni M.*^{2*}

¹Department of Zoology, ²Department of Botany, School of Biology, Aristotle
University of Thessaloniki, *email: mmustaka@bio.auth.gr

Phytoplankton, protozooplankton and mesozooplankton structure and dynamics, during the development of marine snow, were studied in Thessaloniki Bay from 13/10/2005 to 24/11/2005.

Particle aggregates exceeding in size 0.5 mm (marine snow), as well as smaller aggregates (<0.5 mm) were recorded in high numbers, in all the water samples. Phytoplankton organisms were almost entirely found embedded inside the aggregates (98% of the total phytoplankton individuals). Prymnesiophytes, cryptophytes and diatoms were the dominant groups of phytoplankton in terms of relative abundance (74%, 19% and 7%, respectively). The diatom *Cylindrotheca closterium*, which was one of the dominant phytoplankton species, is known to produce extracellular polymeric substances, which comprise important components of marine snow. Contrary to the phytoplankton, zooplankton inclusion in the aggregates was not observed. The zooplankton species were found free in the surrounding water. In terms of relative abundance, ciliates (70%) dominated the protozooplankton while copepods and the gelatinous zooplankton were the most abundant groups of the mesozooplankton (45% and 29%, respectively).

The phytoplankton during the study period was characterized by low species diversity (49 species). The phytoplankton species number recorded was the lowest compared to the species number found during the same time period of previous years (approximately 100 species), when no marine snow was detected.

**ΕΚΦΡΑΣΗ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΠΟΥ ΕΜΠΛΕΚΟΝΤΑΙ ΣΤΗ ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗ
ΤΩΝ ΦΑΙΝΥΛΠΡΟΠΑΝΟΕΙΔΩΝ ΚΑΙ ΤΩΝ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΩΝ
ΣΤΗΝ ΕΠΙΔΕΡΜΙΔΑ ΚΑΙ ΤΟ ΜΕΣΟΦΥΛΛΟ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ *LOTUS
JAPONICUS***

Δελής Κ., Φλεμετάκης Εμ. και Π. Κατινάκης

*Εργαστήριο Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας, Γεωπονικό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιερά οδός 75, TK 11855, Βοτανικός, Αθήνα*

Το φυτό *Lotus japonicus* αποτελεί φυτό μοντέλο κυρίως για τη διερεύνηση της συμβιωτικής σχέσης αζωτοδεσμευτικών βακτηρίων και φυτού. Ωστόσο, οι γνώσεις που σχετίζονται με την έκφραση γονιδίων που εμπλέκονται στον δευτερογενή μεταβολισμό του φυτού είναι περιορισμένες. Η συμμετοχή επίσης φαινολικών συστατικών στην οργανογένεση των φύλλων και την οντογένεση των στοματίων έχει ελάχιστα μελετηθεί σε μοριακό επίπεδο. Στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε αρχικά *in silico* διερεύνηση στις διεθνής βάσης γονιδιακών δεδομένων για γονίδια που κωδικοποιούν ένζυμα κλειδιά στη βιοσύνθεση των φαινυλοπροπανοειδών (π.χ. λυάση της φαινυλαλανίνης, PAL) και φλαβονοειδών (π.χ. ισομεράση και συνθάση της χαλκόνης). Για τη μελέτη συσσώρευσης των μεταγραφημάτων των συγκεκριμένων γονιδίων απομονώθηκε ολικό RNA από την προσαξονική, την αποαξονική επιδερμίδα και το μεσόφυλλο. Στη συνέχεια, με τη χρήση λογισμικού, έγινε επιλογή κατάλληλων εκκινητών και εύρεση της συσσώρευσης των μεταγραφημάτων 37 γονιδίων με τη μέθοδο του ποσοτικού PCR πραγματικού χρόνου (Real Time-PCR). Επιπλέον, χρησιμοποιήθηκαν γονίδια μάρτυρες όπως το High carbon dioxide (HIC), το οποίο εκφράζεται μόνο στα καταφρακτικά κύτταρα των στοματίων, ενώ επιπλέον αποτελεί κρίσιμο σύνδεσμο στην οργανογένεση των στοματίων και στη απόκριση των φυτών σε ερεθίσματα υψηλής συγκέντρωσης CO₂, γεγονός που το καθιστά εξαιρετικά ενδιαφέρον έναντι κλιματικών αλλαγών και της αύξησης του CO₂ της ατμόσφαιρας. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η επιδερμίδα του φύλλου αποτελεί μεταγραφικά εξαιρετικά ενεργό ιστό, ο οποίος ενδεχομένως συνθέτει αυτόνομα τους αναγκαίους δευτερογενείς μεταβολίτες. Επιπρόσθετα, εντοπίστηκαν ιστοεξειδικευμένοι ισότυποι γονιδίων (π.χ. ισομεράση της χαλκόνης) καθώς και γονίδια των οποίων η έκφραση ήταν ιδιαίτερα υψηλή στους υπό μελέτη ιστούς.

- Το έργο συγχρηματοδοτείται κατά 75% από το Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο (ΕΚΤ) και κατά 25% από Εθνικούς Πόρους (ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ - ΠΥΘΑΓΟΡΑΣ II)

TRANSCRIPTIONAL ANALYSIS OF GENES CORRELATED TO PHENYLPROPANOID AND FLAVONOID BIOSYNTHESIS IN EPIDERMIS AND MESOPHYLL OF *LOTUS JAPONICUS* LEAVES

Delis C., Flemetakis E., and P. Katinakis

*Laboratory of Molecular Biology, Department of Agricultural Biotechnology,
Agricultural University of Athens, Iera odos 75. 11855, Botanikos, Athens, Greece*

Plant genome sequencing is reinforcing the view that plants devote considerable efforts towards developing chemical solutions to biological problems. The biosynthesis of phenylpropanoids, flavonoids and the natural compounds derived from them are among the most thoroughly investigated biosynthetic pathways in plants natural products. The biological roles have been ascribed to these molecules concerning plant adaptation against biotic and abiotic stress as well as serve as precursors for compounds bounded to polymers in cell wall fractions. *Lotus japonicus* plants have been extensively used for plant microbe symbiosis studies. The progressing genome sequencing of *L. japonicus* and the release of a great number of ESTs in plant genome databases allow the clarification of metabolic pathways in the corresponding plant. *In silico* analysis has revealed cDNA clones coding for enzymes involved in phenylpropanoids and flavonoids biosynthesis. Although, the contribution of phenylpropanoids and flavonoids in plants interactions with their environment is extensively studied, the involvement of these molecules in plant development and particularly in leaves organogenesis is less clear. Total RNA was isolated from the abaxial, adaxial epidermis and mesophyll of *L. japonicus* leaves. Using appropriate software gene specific primers were selected and quantitative Real Time-PCR was performed. The thirty seven genes have been examined are involved in phenylpropanoids (e.g. phenylalanine ammonia-lyase (PAL)) and flavonoids biosynthesis (e.g. chalcone synthase and isomerase). Furthermore, genes known to be expressed in a tissue-specific manner were tested for their expression in the corresponding tissues (e.g. High CO₂ (HIC)). This gene has found to be expressed only in the guard cells of leaves stomata in *Arabidopsis thaliana* plants. In addition, the importance of HIC gene is dramatically increasing due to its involvement in plant adaptation under high CO₂ atmospheric concentration. Leaves epidermis found to be significantly transcriptional active tissue for genes involved in phenylpropanoid and flavonoid biosynthesis. Moreover, tissue specific isotypes of genes were identified, which are expressed in leaves epidermis (e.g. chalcone isomerase) as well as genes highly expressed in the examined tissues.

- *The project is co-funded by European social fund and national resources - O.P. "EDUCATION" II (Environment - PYTHAGORAS II – funding of research groups in Agricultural University of Athens).*

**ΔΕΙΚΤΗΣ ΜΑΖΑΣ ΣΩΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΠΡΩΤΟΔΙΑΓΝΩΣΜΕΝΗ
ΣΚΛΗΡΥΝΣΗ ΚΑΤΑ ΠΛΑΚΑΣ. ΥΠΑΡΧΕΙ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ;**

*Δερμιτζάκης Ε.¹, Δερμιτζάκη Χ.², Βασάρα Ε.³, Μπουζιάνη Χ.¹, Κούτλας
Ε.¹, Jobst R.¹, Μιχαήλ-Κλεφτούρη Κ.², Γεωργιάδης Γ.¹, Τσίπτσιος Ι.¹*

*¹Νευρολογική Κλινική, Ε.Σ.Υ., Γ.Ν. Παπαγεωργίου, Θεσσαλονίκη, ²Τμήμα
Διατροφής και Διαιτολογίας, Σχολή Τεχνολογίας Τροφίμων και Διατροφής,
Αλεξάνδρειο ΤΕΙ Θεσσαλονίκης, ³Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας
Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης*

Πρόσφατες μελέτες υποστηρίζουν ότι ένας από τους παράγοντες που μπορεί να εμπλέκονται στην εμφάνιση της σκλήρυνσης κατά πλάκας (ΣΚΠ) είναι και οι διατροφικές συνήθειες. Επιπλέον, γίνεται συζήτηση, όσον αφορά στην εμφάνιση αλλά και την εξέλιξη της νόσου, για δύο ορμόνες, τη λεπτίνη και τη γρελίνη, οι οποίες συσχετίζονται τόσο με τη ρύθμιση του σωματικού βάρους, όσο και με την φλεγμονώδη αντίδραση που αποτελεί το βασικό μοντέλο της ΣΚΠ. Σκοπός της εργασίας αυτής είναι να διερευνήσει καταρχήν αν υπάρχει συσχέτιση της εμφάνισης της νόσου με το Δείκτη Μάζας Σώματος (ΔΜΣ). Από το αρχείο του ιατρείου πολλαπλής σκλήρυνσης της Νευρολογικής Κλινικής του Νοσοκομείου Παπαγεωργίου Θεσσαλονίκης συλλέχθηκαν στοιχεία από 237 ασθενείς (69 άνδρες και 168 γυναίκες). Υπολογίστηκε ο ΔΜΣ (σε Kg/m^2) και η μέση ηλικία διάγνωσης της ΣΚΠ. Ο ΔΜΣ και το ύψος των ασθενών συγκρίθηκαν με αντίστοιχα δεδομένα που δημοσιεύτηκαν από την επιδημιολογική Έρευνα Αττικής το 2001, και επίσης με αυτά που διαθέτει η Eurostat και αφορούν στο γενικό πληθυσμό της Ελλάδας. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι άνδρες ασθενείς είναι πιο υψηλοί, σε σχέση με τον γενικό ανδρικό πληθυσμό, ενώ υπάρχει μια ένδειξη, όχι σημαντική, για χαμηλότερο ΔΜΣ ($\alpha=0.05$). Όμως, οι γυναίκες ασθενείς έχουν σημαντικά χαμηλότερο ΔΜΣ, κατά τη διάγνωση της νόσου, και είναι πιο ψηλές από τον γενικό γυναικείο πληθυσμό ($\alpha=0.05$).

BODY MASS INDEX AND FIRST DIAGNOSED MULTIPLE SCLEROSIS. IS THERE ANY ASSOCIATION?

Dermitzakis E.¹, Dermitzaki C.², Vasara E.³, Bouziani C.¹, Koutlas E.¹, Jobst R.¹, Michael-Kleftouri K.², Georgiadis G.¹, Tsiptsios I.¹

¹Department of Neurology, G.H. Papageorgiou, Thessaloniki, ²Department of Nutrition and Dietetics, Alexandrian Technological School of Thessaloniki, ³Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki

It has been recently referred that nutrition may be involved in the aetiology of multiple sclerosis (MS). In addition, it has been suggested that the hormones leptin and ghrelin may play a role in the onset and development of the disease. What is more, both these hormones are associated with the body weight regulation mechanism, as well as, the inflammatory reaction which is the basic pattern of MS. The aim of this paper is to study if there is any association between body mass index (BMI) and first diagnosed MS. Data were collected from 237 (69 men and 168 women) untreated patients. The diagnosis of MS was established at the Neurological Department of General Hospital Papageorgiou. BMI (Kgr/m²) and mean age of patients were calculated. BMI and height were compared with data considering the general population in Greece, published in the Epidemiological Research ATTICA Study in 2001, and with analogous data of Eurostat. MS patients had lower BMI than the corresponding control populations, and in women the difference is statistically significant ($\alpha=0.05$). Moreover, MS patients, both men and women, found to be significantly taller than the general population ($\alpha=0.05$).

**ΤΑΞΙΝΟΜΙΚΗ ΚΑΙ ΟΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΘΕΩΡΗΣΗ ΣΤΕΛΕΧΩΝ
DUNALIELLA (CHLOROPHYCEAE) ΑΠΟ ΤΙΣ ΑΛΥΚΕΣ
ΜΕΓΑΛΟΥ ΕΜΒΟΛΟΥ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ**

Δολαψάκης Ν.¹, Διαλλινάς Γ.², Οικονόμου-Αμίλλη Α.¹

¹Τομέας Οικολογίας & Ταξινομικής, ²Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας,
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, Ζωγράφου 15784

Μελετήθηκαν στελέχη ειδών του γένους *Dunaliella* (Dunal 1838) (μονοκύτταροι φυτοπλαγκτικοί οργανισμοί των Χλωροφυκών, Chlorophyceae) από τις αλυκές Μεγάλου Εμβόλου Αγγελοχωρίου Θεσσαλονίκης με στόχο την ταξινομική τους διεκρίνιση και την οικολογική τους θεώρηση. Η μεθοδολογία βασίστηκε σε συνδυασμό κλασικών (βάσει μορφολογικών γνωρισμάτων, ορατών με το φωτονικό μικροσκόπιο) και μοριακών μεθόδων (βάσει γενετικών γνωρισμάτων, με απομόνωση και ανάλυση ITS1-5.8S-ITS2 αλληλουχιών ριβοσωμικού DNA) και σύγκριση των δεδομένων με υλικό από τη διεθνή βιβλιογραφία και τις τράπεζες αλληλουχιών (GenBank). Για την εκτενή μελέτη των ελληνικών ειδών *Dunaliella*, απομονώθηκαν και καλλιεργήθηκαν οκτώ (8) στελέχη του γένους, εκ των οποίων τα επτά (7) ταυτοποιήθηκαν από μορφολογική και γενετική άποψη ως *D. salina* (Dunal) Teodoresco. Για το άλλο (8ο) στέλεχος που διέθετε ενδιάμεσα μορφολογικά γνωρίσματα, μεταξύ των ειδών *D. tertiolecta* Butcher και *D. viridis* Teodoresco, δεν διαπιστώθηκε αλληλουχία ταυτόσημη με άλλη κατατεθειμένη στο GenBank. Το παραχθέν φυλογενετικό δέντρο (τύπου Neighbor-Joining): α) επιβεβαίωσε τη μορφολογική ταξινόμηση των επτά ελληνικών απομονωμένων στελεχών ως *D. salina* β) τοποθέτησε το όγδοο απομονωμένο στέλεχος *Dunaliella* σε ταξινομική θέση (κλάδο) ενδιάμεση μεταξύ των ομάδων *Tertiolectae* και *Virides* όπως υποδεικνύεται βάσει μορφολογίας και, γ) ανέδειξε κατόπιν συγκρίσεως με διεθνή δεδομένα την ύπαρξη διαφορετικών γεωγραφικών και 'οικολογικών' στελεχών εν γένει για το γένος *Dunaliella*. Το παραχθέν φυλογενετικό δέντρο επίσης αμφισβητεί την κλασική ταξινόμηση ορισμένων ειδών *Dunaliella* με μορφολογικά μόνο κριτήρια, όπως έχει αναφέρεται σε αρκετές βιβλιογραφικές αναφορές από υλικό πολλών γεωγραφικών περιοχών, ενώ αναδεικνύει την ανάγκη ευρύτερης ταξινομικής αναθεώρησης των ειδών ενός γένους ενδιαφέροντος στις υδατοκαλλιέργειες και τη βιοτεχνολογία.

**TAXONOMICAL AND ECOLOGICAL ASSESSMENT OF
DUNALIELLA (CHLOROPHYCEAE) STRAINS FROM THE
SALTWORKS OF MEGALON EMBOLON (THESSALONIKI)**

Dolapsakis N.¹, Diallinas G.², Economou-Amilli A.¹

¹*Department of Ecology and Systematics,* ²*Department of Botany, Faculty of
Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, Zografou 15784*

Strains of species belonging to the genus *Dunaliella* (Dunal 1838) (single-celled phytoplankton of Chlorophyceae) were investigated from the solar saltworks of Megalon Embolon (Aggelohori, Thessaloniki) in order to assess their taxonomy and ecology. The methodology was based on classical (based on morphological characteristics using light microscopy) and molecular methods (based on sequencing the ITS1-5.8S-ITS2 region of the ribosomal DNA) and comparison of the results with world-wide material (bibliography data) and sequence databases (GenBank). For this extensive study, eight (8) Greek strains were isolated and cultured. Seven (7) of the strains were morphologically and genetically identified as *D. salina* (Dunal) Teodoresco. For the eighth (8th) strain, representing a species with intermediate morphological characteristics between *D. tertiolecta* Butcher and *D. viridis* Teodoresco, there was no identical or similar sequence found at GenBank. The phylogenetic tree constructed (Neighbor-Joining): (i) confirmed the morphologically-based taxonomy of the seven Greek *D. salina* strains, (ii) placed one of the isolated Greek strains of *Dunaliella* at a taxonomical position (clade) between those of the groups *Tertiolectae* and *Virides*, as already suggested by its morphological characteristics, and (iii) demonstrated, after comparison with world-wide data, the existence of different geographical and 'ecological' strains for the whole genus *Dunaliella*. The phylogenetic tree constructed brought to light the questionable taxonomy of *Dunaliella* species when this is solely based on morphological criteria, as already cited in several publications concerning strains from different geographic regions; whereas it demonstrates the need for a broader taxonomical reassessment of *Dunaliella*, a genus of value to aquaculture and biotechnology.

**Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΟΥ ΤΟΥ ΥΔΡΟΓΟΝΟΥ (H₂O₂) ΚΑΙ
ΤΩΝ ΙΟΝΤΩΝ ΣΙΔΗΡΟΥ ΣΤΗΝ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ NF-κB
ΑΠΟ ΤΟΝ TNF-a**

Δούλιας Π.-Θ.¹, Γαλάρης Δ.¹ και Καναβάρος Π.²

*¹Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, ²Εργαστήριο Ανατομίας-Ιστολογίας-
Εμβρυολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων*

Η κυτταροκίνη TNF-a θεωρείται ένας από τους ισχυρότερους επαγωγείς ενδοκυτταρίων σημάτων με επιπτώσεις στον έλεγχο του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, της κυτταρικής διαφοροποίησης και του αποπτωτικού θανάτου των κυττάρων. Στην παρούσα μελέτη διερευνήθηκε ο ρόλος μεταγραφικών παραγόντων στη μεταγωγή του σήματος από τον TNF-a και η εμπλοκή του H₂O₂ και των ιόντων σιδήρου στην παραπάνω διαδικασία. Για το σκοπό αυτό κύτταρα HeLa διαμολύνθηκαν με πλασμίδια που έφεραν υποκινητές (promoters) με ειδικές αλληλουχίες για τον μεταγραφικό παράγοντα NF-κB, σε συνδυασμό με ένα γονίδιο αναφοράς (reporter gene). Παρατηρήθηκε ότι η έκθεση των κυττάρων σε TNF-a οδήγησε σε ενεργοποίηση του NF-κB. Παρόλο που ήταν γνωστό ότι η σηματοδοτική δράση του TNF-a διαμεσολαβείται από το H₂O₂, παρατηρήθηκε ότι η προσθήκη εξωγενούς H₂O₂ σε διάφορα χρονικά σημεία μετά την έκθεση των κυττάρων σε TNF-a ανέστειλε την ενεργοποίηση του NF-κB, δηλαδή η παρουσία του H₂O₂ ανέστειλε την σηματοδοτική δράση του TNF-a. Προεπάση των κυττάρων με το σιδηροδεσμευτικό μόριο δεσφεριζαμίνη, πριν από την έκθεση σε TNF-a μείωσε την ενεργοποίηση του NF-κB υποδηλώνοντας την εμπλοκή των ιόντων σιδήρου στους μοριακούς μηχανισμούς μεταγωγής του σήματος από τον TNF-a.

- *Το ερευνητικό έργο συγχρηματοδοτήθηκε από την Ευρωπαϊκή Ένωση - Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο (ΕΚΤ) & Εθνικούς Πόρους, στα πλαίσια του προγράμματος με τίτλο «ΠΥΘΑΓΟΡΑΣ II» το οποίο εντάσσεται στο ΕΠΕΑΕΚ II του 3^{ου} Κοινοτικού Πλαισίου Στήριξης του ΥΠ.Ε.Π.Θ.*

THE ROLE OF HYDROGEN PEROXIDE (H₂O₂) AND IRON IONS TO NF-κB ACTIVATION BY TNF-α

Doulias P.-T.¹, Galaris D.¹, and Kanavaros P.²

¹Laboratory of Biological Chemistry, ²Laboratory of Anatomy-Histology-Embryology, Medical School, University of Ioannina.

The cytokine TNF-α is considered as one of the major inducers of intracellular signals. These signals affect processes connected with cell proliferation and differentiation and also with apoptotic cell death. In the present study, the role of transcription factors in signal transduction induced by TNF-α and the implication of H₂O₂ and intracellular iron in these processes was explored. For this purpose, HeLa cells were transfected with plasmids carrying promoters with specific sequences for binding the transcription factor NF-κB in combination with a reporter gene. It was observed that exposure of the cells to TNF-α led to NF-κB activation. Although, it was known that the action of TNF-α as a signaling molecule is mediated by H₂O₂, it was observed that the addition of exogenous H₂O₂ at different time points after the initial exposure of the cells to TNF-α inhibited NF-κB activation, i.e. the presence of H₂O₂ inhibited the effect of TNF-α. Incubation of the cells with iron chelator desferrioxamine before being exposed to TNF-α, diminished the NF-κB activation indicating the implication of iron in the molecular mechanisms of signal transduction by TNF-α.

- ***The research Project is co-funded by the European Union - European Social Fund (ESF) & National Sources, in the framework of the program "Pythagoras II" of the "Operational Program for Education and Initial Vocational Training" of the 3rd Community Support Framework of the Hellenic Ministry of Education.***

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ NUCKS ΚΑΤΑ ΤΗΝ
ΕΜΒΡΥΙΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΟΥ ΑΡΟΥΡΑΙΟΥ**

**Δρόσος Γ.¹, Γεωργούλης Αν.², Χαβάκη Σ.², Amawi K.², Κατσαντώνη Ε.³,
Østvold A.C.⁴, Παταργιάς Θ.¹, Κίττας Χρ.², Μαρίνος Ε.², Κουλούκουσα
Μ.², Αλεπόρου-Μαρίνου Β.¹**

¹Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Γενετικής και Βιοτεχνολογίας,
²Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιατρική Σχολή, Εργαστήριο Ιστολογίας και Εμβρυολογίας,
³ΙΙΒΕΑΑ, Εργαστήριο Αιματολογίας, ⁴University of Oslo, Norway, Department of
Medical Biochemistry, Institute Group of Basic Medical Science

Η πρωτεΐνη NUCKS (NUclear, Casein Kinase and cyclin-dependent kinase Substrate) είναι μια έντονα φωσφορυλιωμένη χρωμοσωμική πρωτεΐνη και απαντάται στους περισσότερους κυτταρικούς τύπους σπονδυλοζώων. Η NUCKS αποτελεί υπόστρωμα για κινάσες που ενεργοποιούνται από δεύτερα μηνύματα (cAMP-dependent protein kinase, calcium/calmodulin-dependent protein kinase II και calcium/phospholipid-dependent protein kinase). Ακόμα, η NUCKS φωσφορυλιώνεται από τις κινάσες του κυτταρικού κύκλου CK-2 και Cdk1. Αν και παραμένουν αδιευκρίνιστες η ακριβής δομή και λειτουργία της πρωτεΐνης NUCKS, παρόλα αυτά είναι γνωστό ότι η πρωτεΐνη διαθέτει μια περιοχή πρόσδεσης στο DNA (DNA-binding domain) με δομή α-έλικας. Το γονίδιο της NUCKS έχει όλα τα χαρακτηριστικά ενός οικιακού γονιδίου (housekeeping). Ο σημαντικός ρόλος της πρωτεΐνης NUCKS κατά την εμβρυική ανάπτυξη επιβεβαιώνεται από το γεγονός ότι η πρωτεΐνη είναι παρούσα σε έμβρυα αρουραίων, στο στάδιο των δύο κυττάρων.

Στην παρούσα εργασία γίνεται μελέτη της έκφρασης της NUCKS σε έμβρυα αρουραίου διαφόρων ηλικιών τόσο σε επίπεδο mRNA με την τεχνική Reverse Transcription PCR (RT-PCR), όσο και σε πρωτεϊνικό επίπεδο με την τεχνική ανοσοστυπώματος κατά Western.

Τα αποτελέσματα δείχνουν διαφορετική έκφραση της NUCKS ανάλογα με την ηλικία του εμβρύου σε διάφορα όργανα όπως στον εγκέφαλο, στο ήπαρ, στις γονάδες και στα άκρα, υποδεικνύοντας το σημαντικό της ρόλο κατά την εμβρυική ανάπτυξη και οργανογένεση.

STUDY OF THE EXPRESSION OF NUCKS PROTEIN DURING EMBRYONIC DEVELOPMENT OF RAT

Drosos Y.¹, Georgoulis An.², Havaki S.², Amawi K.², Katsantoni E.³, Østvold A.C.⁴, Pataryas Th.¹, Kittas Chr.², Marinos E.², Kouloukoussa M.², Aleporou-Marinou V.¹

¹University of Athens, Department of Biology, Division of Genetics and Biotechnology, ²University of Athens, School of Medicine, Lab of Histology and Embryology, ³Biomedical Research Foundation (BRF) of the Academy of Athens, Hematology Division, ⁴University of Oslo, Norway, Department of Medical Biochemistry, Institute Group of Basic Medical Science

NUCKS (NUclear, Casein Kinase and cyclin-dependent kinase Substrate) is a highly phosphorylated nuclear protein, present in a number of vertebrate cell types and tissues. NUCKS is a substrate for the second messenger kinases, (cyclic AMP-dependent protein kinase, calcium/calmodulin-dependent protein kinase II and calcium/phospholipid-dependent protein kinase). In addition, NUCKS is phosphorylated by CK-2 and CDK1/Cyclin B *in vitro* and *in vivo*. Although the precise structure and function of NUCKS is not well understood, a putative DNA-binding domain was recently characterised and shown to constitute an α -helix. NUCKS gene has all the features of being a housekeeping gene. The presence of NUCKS protein in rat embryos at the stage of 2-cells confirms its important role during embryonic development.

In the present work, the expression of NUCKS is studied in rat embryos of different developmental stages with Reverse Transcription PCR (RT-PCR) and Western immunoblot methods.

The results show differential expression of NUCKS in several organs, such as brain, liver, gonads and limbs, depending on the embryonic stage. The results indicate the important role of NUCKS during embryonic development and organogenesis.

**Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΑΝΑΔΙΟΡΓΑΝΩΤΩΝ ΤΗΣ ΧΡΩΜΑΤΙΝΗΣ ΣΤΗΝ
ΑΠΟΠΤΩΤΙΚΗ ΑΠΟΚΡΙΣΗ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ****Εμμανουηλίδου Α.¹, Καρέτσου Ζ.¹ και Θ. Παπαμαρκάκη^{1,2}**

¹Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 451 10 Ιωάννινα. ²Ινστιτούτο Βιοϊατρικών Ερευνών-Ιδρυμα Τεχνολογίας και Ερευνας Πανεπιστημιούπολη Ιωαννίνων, 451 10 Ιωάννινα

Ο προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος/απόπτωση είναι μια συντηρημένη εξελικτικά διαδικασία που ρυθμίζει την ανάπτυξη και την ομοιόσταση των οργανισμών. Η απόπτωση χαρακτηρίζεται από μοριακές και μορφολογικές αλλαγές, συμπεριλαμβανόμενης της πύκνωσης και του κατακερματισμού του πυρήνα και της ενδονουκλεολυτικής διάσπασης του DNA. Πρόσφατα, ανακαλύφθηκε μια νέα ομάδα ρυθμιστών της απόπτωσης η οποία περιλαμβάνει χρωματινικές πρωτεΐνες που αποσυμπυκνώνουν τη δομή της χρωματίνης, μέσω αλληλεπιδράσεων με τη συνδετική ιστόνη H1 και τις ιστόνες του πυρήνα του νουκλεοσώματος. Για να μελετήσουμε τον ρόλο των πρωτεϊνών αυτών στην αποπτωτική απόκριση των κυττάρων προκαλέσαμε απόπτωση σε κύτταρα HeLa χρησιμοποιώντας τρία χημειοθεραπευτικά φάρμακα, Cisplatin, Taxol, Etoposide.

Μελετήσαμε με ανοσοφθορισμό και συνεστιακή μικροσκοπία την εντόπιση των συνοδών των ιστονών και τα επίπεδα έκφρασής τους σε φυσιολογικά και αποπτωτικά κύτταρα. Χρησιμοποιώντας πλασμιδιακούς φορείς υπερέκφρασης και RNAi πλασμίδια για την αποσιώπηση της έκφρασης, μελετήσαμε την αποπτωτική απόκριση των κυττάρων. Τα αποτελέσματά μας υποδεικνύουν τον αντι-αποπτωτικό ρόλο των πρωτεϊνών αυτών. Στόχος μας είναι η ρύθμιση των πρωτεϊνικών επιπέδων των αναδιοργανωτών της χρωματίνης ώστε να αντιμετωπισθεί η ανθεκτικότητα που παρουσιάζουν τα καρκινικά κύτταρα σε χημειοθεραπευτικά φάρμακα.

- **Το ερευνητικό έργο** συγχρηματοδοτήθηκε από την Ευρωπαϊκή Ένωση - Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο (ΕΚΤ) & Εθνικούς Πόρους, στα πλαίσια του προγράμματος με τίτλο «ΠΥΘΑΓΟΡΑΣ II» το οποίο εντάσσεται στο ΕΠΕΑΕΚ II του 3^{ου} Κοινοτικού Πλαισίου Στήριξης του ΥΠ.Ε.Π.Θ.

THE ROLE OF CHROMATIN REMODELERS IN THE APOPTOTIC RESPONSE OF CANCER CELLS

Emmanouilidou A.¹, Karetsou Z.¹, and Th. Papamarcaki^{1,2}

¹*Laboratory of Biological Chemistry, Medical School, University of Ioannina,
45110, Ioannina, Greece.*

²*Foundation for Research and Technology-Hellas/Biomedical Research Institute,
451 10 Ioannina, Greece.*

Programmed cell death/ apoptosis is a highly conserved mechanism that regulates cell growth and homeostasis. Apoptosis is characterized by molecular and morphological changes, including chromatin condensation and DNA fragmentation. Recently, a new group of apoptosis regulating proteins has been discovered that consists of proteins which remodel chromatin structure through interactions with linker histone H1 or core histones. To study the role of these proteins in the apoptotic response of cancer cells, we induced apoptosis in HeLa cells with drugs commonly used in cancer therapies: Cisplatin, Etoposide and Taxol. We studied the expression levels and localization of histone chaperones in normal and apoptotic cells. Using vectors for overexpression or RNAi silencing of the proteins, we studied the apoptotic response of cancer cells. Our data indicate the anti- apoptotic role of histone chaperones and suggest new potential targets to overcome resistance of cancer cells in chemotherapeutic drugs.

- *The research Project is co-funded by the European Union - European Social Fund (ESF) & National Sources, in the framework of the program "Pythagoras II" of the "Operational Program for Education and Initial Vocational Training" of the 3rd Community Support Framework of the Hellenic Ministry of Education.*

**ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΠΕΝΤΕ ΤΕΡΠΕΝΙΚΩΝ
ΟΥΣΙΩΝ (ΛΙΝΑΛΟΟΛΗ, ΦΕΓΧΟΝΗ, Π-ΚΥΜΕΝΙΟ, Α-ΠΙΝΕΝΙΟ,
ΚΙΝΕΟΛΗ) ΣΤΟ ΣΥΝΘΕΤΟ ΔΥΝΑΜΙΚΟ ΕΝΕΡΓΕΙΑΣ ΤΟΥ
ΙΣΧΙΑΚΟΥ ΝΕΥΡΟΥ ΤΟΥ ΒΑΤΡΑΧΟΥ***

Ζαλαχώρας Ι.¹, Βώκου Δ.² και Θεοφιλίδης Γ.¹

*Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας¹ και Τομέας Οικολογίας²,
Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, Θεσσαλονίκη 541 24, Ελλάς.*

Μελετήθηκε, η δράση πέντε τερπενικών ουσιών (λιναλοόλη, φεγγόνη, π-κυμένιο, α-πινένιο και κινεόλη), συστατικά των αιθέριων ελαίων, στο απομονωμένο ισχιακό νεύρο του βατράχου *Rana ridibunda*. Χρησιμοποιήθηκε ειδικό σύστημα ηλεκτροφυσιολογικής καταγραφής του Σύνθετου Δυναμικού Ενέργειας (ΣΔΕ) από το ισχιακό νεύρο. Η σύγκριση της δραστηριότητας των ουσιών έγινε με βάση το χρόνο που απαιτείται για να μειωθεί το ύψος του ΣΔΕ στο 50% της αρχικής τιμής (IT₅₀). Προέκυψε ότι όλες οι ουσίες, σε συγκέντρωση 30mM, αναστέλλουν το ΣΔΕ, αλλά με διαφορετική ταχύτητα. Συνοπτικά, το IT₅₀ για τη λιναλοόλη ήταν 5.3±1.8min, για τη φεγγόνη 18±4.3min, για την κινεόλη 33.6±4.7h, για το α-πινένιο 33±2.1h και για το π-κυμένιο 21.6±1.6h (n=5). Τα δεδομένα δείχνουν ότι η λιναλοόλη και η φεγγόνη ήταν οι πιο δραστικές. Η αναστολή του ΣΔΕ είναι μη αναστρέψιμη, όσο το νεύρο εκτίθεται στην ουσία. Όμως, όταν απομακρύνθηκαν η λιναλοόλη και η φεγγόνη από τον χώρο καταγραφής και προστέθηκε οξυγονωμένος φυσιολογικός ορός, έγινε πλήρης επαναφορά του ΣΔΕ στην αρχική του τιμή. Διαπιστώθηκε, επίσης, πως προεπώαση του νεύρου σε 30mM ακετόνης καθιστά τη φεγγόνη μη δραστική. Ο μηχανισμός αναστολής και επαναφοράς του ΣΔΕ φαίνεται να οφείλεται στην επίδραση των ουσιών αυτών στα τασεοελεγχόμενα κανάλια ιόντων Νατρίου, απόκριση που σχετίζεται με πιθανή δράση τους ως τοπικά αναισθητικά.

- (*) Η έρευνα χρηματοδοτήθηκε από το Υπουργείο Εθνικής Παιδείας και Θρησκευμάτων και την Ευρωπαϊκή Ένωση στο πλαίσιο του προγράμματος Πυθαγόρας II.

A COMPARATIVE STUDY OF THE EFFECTS OF FIVE TERPENES (LINALOOL, FENCHONE, P-CYMENE, A-PINENE, CINEOLE) ON THE COMPOUND ACTION POTENTIAL OF SCIATIC NERVE OF THE FROG*

Zalachoras I.¹, Vokou D.², and Theophilidis G.¹

Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology¹ and Department of Ecology², School of Biology, Aristotle University, Thessaloniki 54124, Hellas

The action of five terpenes (linalool, fenchone, p-cymene, a-pinene, and cineole), compounds of essential oils, on the isolated sciatic nerve of the frog *Rana ridibunda* was investigated. The study was based mainly on a specially designed recording chamber, which permitted the electrophysiological monitoring of the evoked nerve Compound Action Potential (CAP). To assess the biological activity of terpenes, the time which is required to reduce CAP in the 50% of the initial value or half-time vitality (IT₅₀), was estimated. All terpenes at 30 mM inhibit CAP. The rate of inhibition was unique for each compound tested. Thus IT₅₀ of linalool, fenchone, cineole, a-pinene and p-cymene was found to be 5.3±1.8 min, 18±4.3 min, 33.6±4.7 h, 33±2.1h and 21.6±1.6h respectively, pointing out that linalool and fenchone were far more effective compounds than the others. The inhibition of CAP was not reversible during the exposure period to linalool and fenchone. However, a total recovery of CAP to its initial value took place, when linalool and fenchone were replaced by physiological saline. In addition, preincubation of the sciatic nerve with acetone (30 mM) eliminated the inhibitory action of fenchone. It seems that the mechanism of CAP inhibition and recovery is caused by the effects of terpenes on the voltage-gated sodium channels, a response associated with their possible action as local anaesthetics.

- (*) *The research was financed from Ministry of National Education and Religious Affairs and European Union in the frame of Pythagoras Project II.*

**ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΣΥΓΧΡΟΝΩΝ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΩΝ
ΤΕΧΝΙΚΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΟΥ ΜΥΚΗΤΑ *FUSARIUM
OXYSPORUM* F. SP. *VASINFECTUM* ΚΑΙ ΜΕΛΕΤΕΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ
ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΑΜΥΝΑΣ ΤΟΥ ΒΑΜΒΑΚΟΣ (*GOSSYPIUM HIRSUTUM*)**

Ζαμπούνης Α.Γ.¹, Παπλωματάς Ε.², Τσαντάρης Α.Σ.^{1,3}

¹ *Ινστιτούτο Αγροβιοτεχνολογίας (ΙΝ.Α), ΕΚΕΤΑ, 6^ο χλμ. Χαριλάου-Θέρμης, 57001, Θεσσαλονίκη*

² *Τμήμα Φυτοπαθολογίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθήνας, Ιερά Οδός 75, 118 55 Αθήνα*

³ *Τμήμα Γενετικής και Βελτίωσης Φυτών, Α.Π.Θ., 54006, Θεσσαλονίκη*

Η φουζαρίωση του βάμβακος που προκαλείται από τον μύκητα *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (FOV) θεωρείται κύρια απειλή για την καλλιέργεια βάμβακος. Επομένως, ήταν αναγκαία η μοριακή ανίχνευση αυτών των απομονώσεων του FOV. Η ενίσχυση με αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης (PCR) των επαναλαμβανόμενων τμημάτων των ριβοσωμικών ενδογονιδιακών περιοχών (IGS) και κοπή με τρία περιοριστικά ένζυμα είχε ως αποτέλεσμα τη δημιουργία τριών ευδιάκριτων απλότυπων για τις απομονώσεις του FOV. Επιπρόσθετα, πραγματοποιήθηκε αλληλούχιση των IGS τμημάτων και εντοπίστηκαν πολυμορφισμοί απλού νουκλεοτιδίου (SNPs). Χρησιμοποιώντας αυτά τα δεδομένα αναπτύχθηκαν δυο εξειδικευμένες δοκιμές PCR πραγματικού χρόνου για την απόλυτη ποσοτικοποίηση του γενωμικού DNA αυτών των απομονώσεων σε διάφορα εδάφη και φυτικούς ιστούς. Με σκοπό να αναγνωριστεί η πιθανή ανάμειξη των εξαρτώμενων από το σαλικυλικό (SA) ή το ιασμονικό οξύ (JA) βιοχημικών οδών μεταγωγής σήματος στην ενεργοποίηση των αντιδράσεων άμυνας έναντι αυτών των απομονώσεων εξετάστηκε η επίδραση κάποιων χημικών επαγωγέων άμυνας, όπως του BION (ένα ανάλογο του SA) και του μεθυλεστέρα του ιασμονικού οξέος (MeJA), σε φυτά βαμβακιού πριν την μόλυνση με μια απομόνωση του FOV. Τα γονίδια άμυνας που εξετάστηκαν ήταν αυτά του *PR-10*, της χητινάσης (*PR-3*) και της *S*-τρανσφεράσης της γλουταθειόνης (*GST*). Τα αποτελέσματα παρέχουν πολύτιμες πληροφορίες για τις αντιδράσεις άμυνας σε αυτού του είδους τις αλληλεπιδράσεις φυτού-παθογόνου.

**DEVELOPMENT OF MODERN MOLECULAR DIAGNOSTIC
TECHNIQUES FOR IDENTIFICATION OF FUNGAL *FUSARIUM
OXYSPORUM* F. SP. *VASINFECTUM* AND EXPRESSION STUDIES
OF DEFENSE GENES IN COTTON (*GOSSYPIUM HIRSUTUM*)**

Zambounis A.G.¹, Paplomatas E.², Tsaftaris A.S.^{1,3}

¹*Institute of Agrobiotechnology (IN.A.), CERTH, 6th km of Charilaou-Thermi Road,
GR-570 01, Thessaloniki*

²*Department of Plant Pathology, Agricultural University of Athens, 75 Iera Odos,
GR-118 55, Athens*

³*Department of Genetics and Plant Breeding, Aristotle University of Thessaloniki,
GR- 540 06, Thessaloniki*

Cotton fusarium wilt, caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (*FOV*), is considered as a major threat for commercial cotton production. Therefore was useful the detection of these *FOV* isolates. Polymerase chain reaction (PCR) amplification of the repetitive regions of the ribosomal intergenic spacer regions (IGS) and digestion with three restriction enzymes resulted in identification of three unique haplotypes for *FOV* isolates. In addition, IGS regions were sequenced and single nucleotide polymorphisms (SNPs) were revealed. Using these data there were developed two specific real-time PCR-based assays for the absolute quantification of genomic DNA from these isolates in soil substrates and plant tissues. In order to identify possible involvement of salicylic acid (SA)- or jasmonate (JA)- dependent signal transduction pathways in activation of defense mechanisms against these isolates, it was examined the effect of treatment with chemical defense inducers such as BION (a chemical analogue of SA) and methyl jasmonate (MeJA) on cotton plants before infection with a *FOV* isolate. The defense genes examined were *PR10*, chitinase (*PR3*) and glutathione *S*-transferase (*GST*). Results obtained providing useful data for defense reactions on this type of plant-pathogen interaction.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΟΥΡΑΙΜΙΚΩΝ ΤΟΞΙΝΩΝ ΣΤΗΝ ΔΥΣΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΟΥ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟΥ

**Ζαφειροπούλου Κ.¹, Καραμπίνα Σ.¹, Μπίτα Θ.², Βλαχογιάννης Β.Ι.²,
Κατσώρης Π.¹**

¹Τμήμα Βιολογίας, ²Τμήμα Ιατρικής, Νεφρολογικό Κέντρο, Πανεπιστήμιο Πατρών.

Στην χρόνια νεφρική ανεπάρκεια, η μειωμένη διήθηση του πλάσματος οδηγεί στην αυξημένη συγκέντρωση τοξινών στο αίμα. Αυτό προκαλεί δυσλειτουργία του ενδοθηλίου, η οποία περιλαμβάνει την φλεγμονή, την αθηροσκλήρωση και τελικά την υπέρταση. Στο πλαίσιο της μελέτης της δράσης των μη διηθούμενων τοξινών, χρησιμοποιήθηκε ορός ασθενών πριν και μετά την αιμοκάθαρση. Ως *in vitro* σύστημα μελέτης, χρησιμοποιήθηκε πρωτογενής καλλιέργεια ενδοθηλιακών κυττάρων από ομφάλια φλέβα ανθρώπου (HUVEC) και ελέγχθηκε η επίδραση ορού πριν και μετά την αιμοκάθαρση, στον πολλαπλασιασμό, την απόπτωση, την μετανάστευση και την «επούλωση πληγών» των κυττάρων αυτών. Επίσης, μελετήθηκε η έκφραση των μεταλλοπρωτεϊνών MMP-2 και MMP-9 καθώς και των αναστολέων τους TIMP-1 και 2 σε επίπεδο mRNA και πρωτεΐνης. Χρόνο- και δοσο-εξαρτώμενα πειράματα έδειξαν ότι ο μετά-ορός, σε σχέση με τον προ-ορό, επάγει τον πολλαπλασιασμό, την μετανάστευση και την διαδικασία της «επούλωσης πληγών» των ενδοθηλιακών κυττάρων με στατιστικά σημαντικό τρόπο, ενώ βρέθηκε να μειώνει την απόπτωση. Επίσης βρέθηκε ότι ο προ-ορός, σε σχέση με τον μετά-ορό, επάγει με στατιστικά σημαντικό τρόπο, την έκφραση και ενεργότητα των MMP-2 και την MMP-9, ενώ καταστέλλει την έκφραση καθώς και τα επίπεδα των αναστολέων TIMP-1 και TIMP-2. Συμπερασματικά, ο ορός πριν την αιμοκάθαρση φαίνεται να συμμετέχει στην δυσλειτουργία του ενδοθηλίου, καταστέλλοντας τον πολλαπλασιασμό, την μετανάστευση και επάγοντας ταυτόχρονα την απόπτωση των ενδοθηλιακών κυττάρων. Παράλληλα ο προ-ορός καταστρέφει την εξωκυττάρια ύλη των ενδοθηλιακών κυττάρων επάγοντας τις MMP-2 και -9 και καταστέλλοντας ταυτόχρονα τους αναστολείς TIMP-1 και -2.

THE EFFECT OF UREMIC TOXINS IN ENDOTHELIAL DYSFUNCTION

Zafeiropoulou K.¹, Karabina S.¹, Bitá Th.², Vlachogiannis B.J.², Katsoris P.¹

*¹Department of Biology, ²Internal Medicine Nephrology, Department of Medicine,
University of Patras*

In chronic renal disease, reduced glomerular filtration results to increased toxin concentration in blood. This leads, among others, to endothelial dysfunction which concludes inflammation, atherosclerosis and finally hypertension. In this study, in order to investigate the effect of non-filtrated toxins, we used serum from end-stage renal patients before (BHS) or after (AHS) haemodialysis. As *in vitro* system of study we used the primary endothelial cell culture from human umbilical vein (HUVEC) and the effect of BHS and AHS on cell proliferation, migration, apoptosis and wound healing was investigated. In addition, the expression of matrix metalloproteases MMP-2 and MMP-9 and their inhibitors TIMP-1 and TIMP-2 was examined. Time course and dose-response experiments revealed that AHS induces proliferation, migration and wound healing while reduced apoptosis in a statistically significant manner. BHS, compared to AHS, induces the expression and activity of MMP-2 and MMP-9, while inhibits the expression of TIMP-1 and TIMP-2. Concluding, BHS - compared to AHS- leads to endothelial dysfunction, inhibiting cell proliferation, cell migration and inducing apoptosis. In addition, BHS contributes to the degradation of extracellular matrix, inducing MMP-2 and MMP-9 and inhibiting TIMP-1 and TIMP-2.

**ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΗ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ ΚΙΝΗΤΗΣ
ΤΗΛΕΦΩΝΙΑΣ. ΕΠΗΡΕΑΖΕΤΑΙ Η ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΓΝΩΣΗ
ΑΠΟ ΤΙΣ ΠΑΡΕΜΒΑΣΕΙΣ ΤΩΝ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΩΝ;**

Ζηνέλης Σ.Α., MD, BA, Ιατρός

*Ελληνική Αντικαρκινική Εταιρεία Κεφαλονιάς και Ιθάκης, Γερμενή 1 Αργοστόλι
28100, Κεφαλονιά, E-mail: zinelis@otenet.gr Τηλ. 2671023440*

Τελευταία παρατηρείται αυξημένη ανησυχία για τις πιθανές βλάβες της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας από την κινητή τηλεφωνία. Η Διεθνής Επιτροπή Μη-Ιονίζουσας Ακτινοβολίας (ICNIRP) διαμόρφωσε τα όρια έκθεσης το 1997. Αυτά τα όρια υιοθέτησε η Ευρωπαϊκή Ένωση και ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (Π.Ο.Υ.) σαν ανεξάρτητοι φορείς. Είναι όμως αυτοί οι οργανισμοί ανεξάρτητοι; Επηρεάζεται η επιστημονική γνώση από την βιομηχανία με επιπτώσεις στην υγεία των πολιτών;

Μέλη της ICNIRP είναι και στον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας, στην Ευρωπαϊκή Επιτροπή και έχουν μεγάλη συμμετοχή στις Ευρωπαϊκές μελέτες INTERPHONE για τα κινητά τηλέφωνα. Μάλιστα σε όλες τις Ευρωπαϊκές μελέτες INTERPHONE υπάρχουν ορισμένα χαρακτηριστικά όπως: 1) Ως κριτήριο συμμετοχής στις μελέτες είναι ένας χρήστης που χρησιμοποίησε το κινητό μια φορά την εβδομάδα για 6 μήνες. 2) Μεγάλη συμμετοχή μελών ICNIRP και των κέντρων που εργάζονται. 3) Μερική συμμετοχή με χρηματοδότηση από την βιομηχανία.

Η δανέζικη μελέτη του Δεκεμβρίου 2006 χρησιμοποίησε χρήστες κινητού με κριτήριο εάν κάποιος κάποτε <<enei>> έκανε χρήση μεταξύ 1982-1995. Χρήστες που είχαν το κινητό δια μέσου της εταιρείας, άρα μεγαλύτερη πιθανότητα για μεγάλη χρήση, είχαν αποκλειστεί από την μελέτη. Το περιοδικό που δημοσίευσε τη μελέτη δε δέχτηκε να δημοσιεύσει επιστολές κριτικής από άλλους επιστήμονες για τα προβλήματα της μελέτης. Ένας από τους συγγραφείς ήταν στην εκδοτική ομάδα.

Η επιστημονική γνώση μπορεί να επηρεάζεται και ως εξής; Μελέτες που αποδεικνύουν βλάβες αγνοούνται. Επιστήμονες που αναφέρουν βλάβες από την ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία χάνουν τα ερευνητικά κονδύλια. Παραδείγματα: Όταν ο καθηγητής Ross Adey ζήτησε χρηματοδότηση για να επαναλάβει τη μελέτη του << Αλληλεπίδραση εγκεφάλου και πεδίων μικροκυμάτων τα οποία παράγονται από τα κινητά τηλέφωνα>>, η εταιρεία του αρνήθηκε και επιπλέον εισηγήθηκε στον καθηγητή να μην δαπανήσει άλλα χρήματα για μελέτες με ηλεκτρομαγνητικά πεδία. Επίσης όταν ο Jerry Phillips έδειξε ότι υπάρχουν βλάβες από την ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία η εταιρεία που είχε τη συνεργασία προσπάθησε να προλάβει τη δημοσίευση. Μεγάλο προβληματισμό προκάλεσαν οι καταγγελίες του Hardell et al (American Journal of Industrial Medicine 2006) ότι βιομηχανίες κατασκευάζουν άρθρα για δημοσίευση όπως: Ο Sir Richard Doll είχε μυστική σύμβαση με τη βιομηχανία ως σύμβουλος, με αμοιβή 1 000 αγγλικές λίρες την ημέρα, για να γράψει έκθεση για το vinyl chloride ότι δεν προκαλεί βλάβες, και 15 000 αγγλικές λίρες αμοιβή σε γνωστό που θα έκανε την ανασκόπηση και έγκριση προς δημοσίευση στο συγκεκριμένο περιοδικό Scandinavian Journal of Work, Environment and Health.

Συμπέρασμα: 1) Οι ICNIRP, Ευρωπαϊκή Ένωση, ΠΟΥ, μελέτες INTERPHONE δεν είναι ανεξάρτητοι. 2) Βλέπουμε παρεμβάσεις από τις βιομηχανίες σε διάφορα στάδια της επιστημονικής έρευνας και των δημοσιεύσεων, με αποτέλεσμα επιπτώσεις στην υγεία των πολιτών. 3) Η πολιτεία πρέπει να παρέμβει και να αναγνωρίσει τις ελλείψεις των σημερινών ορίων έκθεσης του 1997, ώστε να προστατέψει τη δημόσια υγεία.

ELECTROMAGNETIC RADIATION MOBILE TELEPHONY. IS THE SCIENTIFIC KNOWLEDGE INFLUENCED BY THE INDUSTRY?

Zinelis S.A., MD, BA

*Hellenic Cancer Society, Cefallonia/Ithaki, Greece- Germeni 1, Argostoli 28100,
Cefalonia, Greece (zinelis@otenet.gr Tel 26710 23440)*

Recently there is an increase concern for the possible effects of the electromagnetic radiation (EMR) from mobile telephony. The International Coemission Non Ionized Radiation Protection(ICNIRP) proposed the exposure guidelines in 1997. These guidelines were adopted by the European Union(EU) and World Health Organization(WHO). Are these organizations independent? Is the scientific knowledge influenced by industry with consequences to human health?

Members of ICNIRP are also in WHO, EU, and have participation in the European Interphone studies for mobile telephones. As can be seen, all the European Interphone studies have certain characteristics. 1) To be included in the study the prerequisite is to use mobile once a week for 6 months. 2) A high participation by members from ICNIRP and their working centers. 3) Funding is also partially done from industry.

In the Danish study of December 2006 to be included in the study the prerequisite was if someone <<ever> used a mobile between 1982-1995. Users who had the mobile from their company , who were most likely high users were excluded from the study. The Journal which published this study refused to publish letters to the editor which were pointing out the problems of the study. One of the authors was also in the editorial board.

The scientific knowledge can also be influenced by: If studies show biological effects are ignored. When scientists report biological effects from the EMR loose their funds. For example Dr Ross Adey asked for more funds to repeat the study <<Brain and Microwave fields which are produced from mobile telephones>>, the company refused and told him not to spend any more money for EMR. Also when Jerry Phillip showed biological effects from EMR the company tried to prevent the publication of the study.

There is a big concern caused by Dr. Hardell's article (American Journal of Industrial Medicine 2006) that industry is influencing articles for publications. Sir Richard Doll had a secret contract with industry as a consultant for a fee 1000 sterling per day, in order to write a review for vinyl chloride that does not cause lesions and 15 000 sterling fee for the review and be sent specifically to Scandinavian Journal of Work, Environment and Health.

Conclusion: 1) ICNIRP, EU, WHO, Interphone studies are not independent. 2) Industry can influence research and publication with consequences to human health. 3) Governments have to intervene and realize the limitations of 1997 guidelines, this way can protect the public health.

ΝΕΑ ΜΕΘΟΔΟΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΩΝ ΟΣΤΙΚΩΝ ΜΕΤΑΣΤΑΣΕΩΝ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ: ΟΙ ΚΑΡΚΙΝΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ CEA ΚΑΙ CA 15-3 ΚΑΙ ΤΟ ΣΠΙΝΘΗΡΟΓΡΑΦΗΜΑ ΤΩΝ ΟΣΤΩΝ ΣΕ ΣΥΝΔΥΑΣΜΟ ΜΕ ΤΟ ΠΡΟΚΟΛΛΑΓΟΝΟ-I

**Ζησιμόπουλος Α.^{1,*}, Κυριατζής Γ.², Βουζούνης Π.³, Παρμενοπούλου Β.⁴,
Παρδάλης Β.⁵, Καφάς Π.⁶**

¹Τμήμα Πυρηνικής Ιατρικής Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Αλεξανδρούπολης, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης (Τηλ.: +302551076587, e-mail: azissim@yahoo.gr)

^{2,4}Τμήμα Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής Δημοκρίτειου Πανεπιστημίου Θράκης

^{3,5}Ιατρική Σχολή Δημοκρίτειου Πανεπιστημίου Θράκης-Τμήμα Πυρηνικής Ιατρικής

⁶Τμήμα Οδοντοφαρμακικής Χειρουργικής, Οδοντιατρική Σχολή ΑΠΘ

Στην παρούσα μελέτη εκτιμήθηκε η κλινική χρησιμότητα των ICTP και PICP σε σύγκριση με τους γνωστούς καρκινικούς δείκτες: το καρκινικό εμβρυϊκό αντιγόνο (cancer embryonic antigen-CEA) και το καρκινικό αντιγόνο 15-3 (cancer antigen 15-3-CA), αλλά και με το σπινθηρογράφημα των οστών για την πρόωπη διάγνωση των οστικών μεταστάσεων από καρκίνο του μαστού. Μελετήθηκαν 97 γυναίκες μέσης ηλικίας 58±8 ετών με αδενοκαρκίνωμα του μαστού. Η διάγνωση τέθηκε ιστολογικά. Οστικές μεταστάσεις στο σπινθηρογράφημα των οστών που έγινε με 925 MBq μεθυλενοδιφωσφορικό τεχνήτιο-99m είχαν διαγνωστεί στις 68, ενώ οι υπόλοιπες 29 δεν παρουσίασαν μεταστάσεις στο σπινθηρογράφημα των οστών. Επίσης μελετήθηκαν 52 φυσιολογικές γυναίκες (αμινοδότες), ίδιου μέσου όρου ηλικίας, σαν ομάδα ελέγχου – μαρτύρων για τον προσδιορισμό των φυσιολογικών τιμών των παραπάνω βιολογικών δεικτών. Όλοι οι δείκτες έδειξαν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ασθενών με οστικές μεταστάσεις και αυτών χωρίς μεταστάσεις. Ειδικά το CA 15-3 και το ICTP εμφάνισαν σημαντική διαφορά ($P < 0,01$), ενώ το PICP και το CEA παρουσίασαν οριακή διαφορά. Επίσης παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ του αριθμού των οστικών μεταστάσεων και του PICP ($P < 0,05$), αλλά και του ICTP ($P < 0,05$). Η ευαισθησία των δεικτών PICP, ICTP, CEA και CA 15-3 ευρέθη 28,1%, 48,6%, 42% και 78% αντίστοιχα, και η ειδικότητά τους: 83,9%, 94%, 65% και 86% αντίστοιχα. Ο συνδυασμός των ICTP, PICP, CEA και του CA 15-3 αύξησε την ευαισθησία και την ειδικότητα της εξέτασης σε 82% και 96% αντίστοιχα, όσον αφορά στην παρακολούθηση των ασθενών με καρκίνο του μαστού και οστικές μεταστάσεις. Το ICTP και το CA 15-3 ήταν οι πλέον αξιόπιστοι δείκτες για την πρόωπη ανίχνευση των οστικών μεταστάσεων από καρκίνο του μαστού. Η εξέταση των ICTP και του PICP, όταν γίνεται μαζί με την εξέταση του CA 15-3 αυξάνει επί πλέον την ευαισθησία και την ειδικότητα της εξέτασης κατά 4% και κατά 10% αντίστοιχα. Ο συνδυασμός των PICP και ICTP δεν ήταν αρκετά ευαίσθητος.

Λέξεις κλειδιά: Προκολλαγόνο-I – Καρκίνος μαστού – Σπινθηρογράφημα CEA – CA 15-3 – Οστικές μεταστάσεις

TYPE I COLLAGEN BIOMARKERS IN THE EARLY DIAGNOSIS OF BONE METASTASES IN PATIENTS WITH BREAST CANCER. COMPARISON WITH CEA, CA 15-3 AND BONE SCINTIGRAPHY

***Zissimopoulos A.^{1,*}, Kyriatzis G.², Vouzounis P.³, Parmenopoulou V.⁴,
Pardalis B.⁵, Kafas P.⁶***

¹Unit of Nuclear Medicine, University General Hospital of Alexandroupolis, Democritus University of Thrace, Tel.: +302551076587, e-mail: azissim@yahoo.gr

^{2,4}Unit of Molecular Biology, Democritus University of Thrace, Molecular Biology and Genetics, Alexandroupolis

^{3,5}Unit of Medical School, Democritus University of Thrace, Medical School, Alexandroupolis

⁶Clinic of Oral Surgery, Aristotle University, Oral Surgery and Radiology, Thessalonica, Greece

The most common metastases of breast cancer (BC) are bone metastases. Serum pro-I collagen peptide (PICP) and I collagen telopeptide (ICTP) levels indicate the rate of bone collagen synthesis and bone resorption respectively and therefore metastatic bone activity. We have studied the clinical importance of serum PICP and ICTP as indicators of early bone metastases in patients with BC in comparison with CA 15-3, CEA and bone scintigraphy. Ninety seven women of mean age 58±8 years with BC were examined. The diagnosis was histologically confirmed. Bone metastases were first diagnosed in 68 of them by bone scans performed after the intravenous injection of 925 MBq of technetium-99m methylenediphosphonate, while 29 patients had no bone metastases. We also examined 52 women with the same mean age as controls. Both patients and controls had serum PICP, ICTP, CA 15-3 and CEA measurements. Levels of ICTP and CA 15-3 were significantly higher in patients with BC and bone metastases in comparison to patients without metastases ($P<0.05$) while PICP and CEA were only marginally higher. A statistically significant correlation was observed among the existence of bone metastases and ICTP serum levels ($P<0.05$). The sensitivity of PICP, ICTP, CEA and CA 15-3 was 28.1%, 48.6%, 78%, 42% respectively and their specificity was 83.9%, 94%, 65% and 86% respectively. ICTP and CA 15-3 are the most reliable markers for the early diagnosis of bone metastases in BC. PICP alone or with ICTP were not sensitive enough. Only CA 15-3 showed sensitivity 78% and specificity 86%. When combined CA 15-3, ICTP and CEA the sensitivity and specificity of the study increased to 82% and 96% accordingly.

Keywords: Procollagen I carboxyterminal propeptide - Breast cancer - Bone scan CEA – CA15-3 - Bone metastase.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΓΛΥΚΟΖΗΣ ΣΤΗ ΦΑΓΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗ ΤΩΝ ΟΞΕΙΔΩΜΕΝΩΝ ΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΩΝ (oxLDL) ΑΠΟ ΤΑ ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΑ

Ζολώτα Ζ.¹, Κολιάκος Γ.², Καλογιάννη Μ.¹

¹*Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή
Θετικών Επιστημών Α.Π.Θ.*

²*Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας,
Α.Π.Θ., Θεσσαλονίκη 54124*

Τα μονοκύτταρα έχουν την ικανότητα να προσλαμβάνουν τις οξειδωμένες λιποπρωτεΐνες χαμηλής πυκνότητας (oxLDL) μέσω των υποδοχέων-«ρακοσυλλεκτών» CD36. Στη συνέχεια τα μονοκύτταρα μετατρέπονται σε αφρώδη κύτταρα, τα οποία αποτελούν το πρώτο στάδιο σχηματισμού της αθηρωμάτωσης. Έχουμε δείξει ότι αυξημένες συγκεντρώσεις γλυκόζης και ινσουλίνης αυξάνουν τον αριθμό των CD36 υποδοχέων στην επιφάνεια των μονοκυττάρων. Επιπλέον, η δέσμευση και αναγνώριση των oxLDL από τους CD36 υποδοχείς σηματοδοτεί την ενεργοποίηση της μεταγραφής των PPAR γ . Έχει βρεθεί ότι ο ενεργοποιητής των PPAR γ ροσιγλιταζόνη έχει δράση παρόμοια με αυτή της γλυκόζης ή της ινσουλίνης και επάγει την αύξηση του αριθμού των CD36 των μονοκυττάρων. Τα αποτελέσματα των πειραμάτων μας έδειξαν ότι η ροσιγλιταζόνη έχει αθηρογόνο δράση. Η χρήση των αναστολέων του ανταλλάκτη Na⁺/H⁺ (NHE1), cariporide, των ισομορφών α και β (Go), και όλων των ισομορφών (Gf) της πρωτεϊνικής κινάσης C (PKC) προκάλεσε μείωση της αύξησης του αριθμού των CD36 και της πρόσληψης των oxLDL που οφειλόταν στη δράση της γλυκόζης, της ινσουλίνης ή της ροσιγλιταζόνης. Τα αποτελέσματα αυτά αποδεικνύουν την εμπλοκή του NHE1 καθώς και των ισομορφών της PKC στο σηματοδοτικό μονοπάτι της φαγοκυττάρωσης των oxLDL. Επίσης η χρήση του αναστολέα της PI3K, wortmanin, φαίνεται να παρεμποδίζει τη φαγοκυττάρωση των oxLDL. Στα πειράματα χρησιμοποιήθηκαν επίσης οι ουσίες πουρομυκίνη, η οποία παρεμποδίζει την μετάφραση των mRNA, και η κυτοχλασίνη D, η οποία αποδιατάσσει το δίκτυο των ινιδίων ακτίνης του κυτοσκελετού. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η αύξηση του αριθμού των CD36 υποδοχέων στα μονοκύτταρα οφείλεται στην έκφραση του mRNA των CD36, ενώ στη διαδικασία πρόσληψης των oxLDL από τα μονοκύτταρα συμμετέχει το δίκτυο ακτίνης του κυτοσκελετού.

**EFFECT OF GLUCOSE ON PHAGOCYTOSIS OF OXIDIZED
LIPOPROTEINS (oxLDL) FROM MONOCYTES**

Zolota Z.¹, Koliakos G.², Kaloyianni M.¹

¹Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, Biology School,
Aristotle University of Thessaloniki,

²Laboratory of Biological Chemistry, Medical School, Aristotle University of
Thessaloniki, Thessaloniki 54124

Monocyte CD36 scavenger receptor recognise and bind oxidized low density lipoproteins (oxLDL). OxLDL are then phagocytosed and accumulate in the lysosomes converting monocytes into foam cells. Foam cells formation is essential for the development of atherosclerosis. We have shown that increased concentrations of glucose and insulin cause an increase in the number of monocyte CD36 receptors. It is also known that the binding and uptake of the oxLDL by CD36 is a signal for the activation of PPAR γ (Peroxisome Proliferator-Activated Receptors γ) transcription. It is also known that the PPAR γ agonist rosiglitazone induces the number of CD36 and oxLDL uptake. The results of our experiments confirmed that glucose, insulin and rosiglitazone caused an increase in the oxLDL uptake. The use of cariporide (the NHE1 inhibitor), Go (inhibitor of PKC α and PKC β isoforms) and Gf (inhibitor of all PKC isoforms) reversed the effect of glucose, insulin or rosiglitazone, indicating the involvement of NHE1 and PKC isoforms in the signal transduction leading to oxLDL phagocytosis. The use of wortmanin (inhibitor of PI3K) also reversed the effect of glucose, insulin or rosiglitazone. Besides, puromycin (protein synthesis inhibitor) and cytochalasin D (cytoskeleton degradation factor) treatment indicated that the increase in the number of CD36 receptors can be attributed to CD36 mRNA transcription and underscored the essential role of actin in the oxLDL uptake.

**ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ, ΔΥΝΑΜΙΚΗ ΤΗΣ
ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΚΑΙ ΥΠΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΕΝΤΟΠΙΣΜΟΣ ΤΟΥ
ΟΡΘΟΛΟΓΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ PESCADILLO ΑΠΟ ΤΑ ΦΥΤΑ
Arabidopsis thaliana ΚΑΙ *Zinnia elegans***

Ζωγραφίδης Α.¹, Καπόλας Γ.¹, Μηλιώνη Δ.², Χαραλαμπίδης Κ.¹

¹Εργαστήριο Μοριακής Φυσιολογίας Φυτών, Τομεας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας,
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη GR 15784, Αθήνα

²Εργαστήριο Μοριακής βιολογίας, Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας, Γεωπονικό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

Το γονίδιο pescadillo απομονώθηκε αρχικά ως μια εμβρυική μετάλλαξη του zebrafish. Περεταίρω μελέτες έχουν δείξει πως ομόλογα ζωικά γονίδια, αλλά και του σακχαρομύκητα εμπλέκονται στη βιογένεση των ριβοσωμάτων, στον κυτταρικό κύκλο και στην καρκινογένεση, ενώ διακοπή της λειτουργίας του γονιδίου οδηγεί σε αναστολή της κυτταρικής αύξησης. Νεότερες μελέτες κατέδειξαν πως το pescadillo αλληλεπιδρά ειδικά με το στοιχείο απόκρισης καδμίου στο ανθρώπινο γονίδιο της οξυγενάσης 1 της αίμης υποδεικνύοντας έναν επιπρόσθετο ρόλο ως πρωτεΐνη που δεσμεύει DNA. Επί του παρόντος, στα φυτά δεν έχει γίνει ο λειτουργικός και ο μοριακός χαρακτηρισμός του ομόλογου γονιδίου pescadillo και η εμπλοκή του στη φυτική ανάπτυξη είναι ακόμα άγνωστη. Στην παρούσα εργασία παρουσιάζουμε τον μοριακό και λειτουργικό χαρακτηρισμό του ομόλογου pescadillo του φυτού *A. thaliana* (*AtPES*). Το γονίδιο *AtPES* περιέχει δυο υψηλά συντηρημένα μοτίβα (pescadillo και BRCT περιοχή) και είναι ικανό να αναστρέφει τον θερμοευαίσθητο φαινότυπο για το γονίδιο NOP7/YPH1 (ομόλογο pescadillo) του degron στελέχους Y40047 του σακχαρομύκητα, υποδεικνύοντας ότι η λειτουργία του είναι συντηρημένη ανάμεσα σε μύκητες και φυτά. Επίσης, δείχνουμε ότι η πρωτεΐνη *AtPES* εντοπίζεται κυρίως στο κοκκώδες τμήμα του φυτικού πυρηνίσκου, περιοχή στην οποία γίνεται η αποκοπή του ITS1 και ο σχηματισμός των προ-ριβοσωμικών υπομονάδων. Πειράματα ημιποσοτικού RT-PCR έδειξαν ότι η έκφραση του γονιδίου *ZePES* είναι άμεσα εξαρτώμενη από τον κυτταρικό κύκλο σε συγχρονισμένες κυτταρικές καλλιέργειες από *Zinnia elegans*. Από την ανάλυση διαγονιδιακών φυτών φαίνεται ότι το *AtPES* εκφράζεται κατά τη διάρκεια της βλαστικής και αναπαραγωγικής φάσης της ανάπτυξης, κυρίως σε μεριστωματικούς ιστούς και ενεργά διαιρούμενα κύτταρα, ενώ η απώλεια της λειτουργίας του γονιδίου έχει ως αποτέλεσμα τον έμβryo- ή γαμετικό- θνησιγόνο φαινότυπο. Τέλος προτινουμε ότι το γονίδιο *AtPES* είναι βασικό γονίδιο στα φυτά, εμπλέκεται στη βιογένεση των ριβοσωμάτων, στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και επομένως στη φυσιολογική ανάπτυξη του φυτού.

**FUNCTIONAL CHARACTERIZATION, EXPRESSION PATTERN
AND SUBCELLULAR LOCALIZATION OF THE PLANT
PESCADILLO ORTHOLOGUE FROM *Arabidopsis thaliana* AND
*Zinnia elegans***

Zografidis A.¹, Kapolas G.¹, Milioni D.², and K. Haralampidis¹

¹*Molecular Plant Physiology Laboratory, Dept. of Botany, Faculty of Biology,
University of Athens, Panepistimiopolis, GR 15784, Athens.*

²*Molecular Biology Laboratory, Dept. of Agricultural Biotechnology, Agricultural
University of Athens, Athens, Greece.*

The Pescadillo gene was originally identified and characterized through a mutational screening in zebrafish. Subsequent reports have shown that yeast and animal homologs are implicated in ribosome biogenesis, cell cycle progression and carcinogenesis, while disruption of its function leads to growth arrest. More recent findings demonstrate that PESCADILLO interacts specifically with cadmium response element of the human heme oxygenase-1 gene, signifying an additional role of PESCADILLO, as a DNA binding protein. At present, no homologs of *pescadillo* gene have been characterized in plants and their involvement in plant development is still unknown. Here we report, for the first time, the molecular and functional characterization of the *pescadillo* homolog of *A. thaliana* (*AtPES*). *AtPES* contains two highly conserved motifs (pescadillo, BRCT domain) and is able to complement the temperature-sensitive phenotype of yeast degon strain Y40047, impaired in the NOP7/YPH1 gene (*pescadillo* homolog), demonstrating a functional conservation between yeast and plants. We also show that *AtPES* localizes predominantly in the granular component of the plant nucleolus, the site of internal spacer 1 (ITS1) excision and pre-ribosomal assembly. Furthermore semiquantitative RT-PCR experiments show that *ZePES* (*Zinnia elegans*) is expressed in a cell cycle dependent manner in synchronized cell cultures. Analysis of transgenic plants reveals that *AtPES* is expressed during vegetative and reproductive development predominantly in meristematic tissues and actively dividing cells, while disruption of its function results in an embryo- or gamete- lethal phenotype. We therefore propose that *AtPES* is an essential gene in plants, involved in ribosome biogenesis, cell proliferation and thus normal development

ΑΠΟΜΑΚΡΥΝΣΗ ΡΥΠΩΝ ΑΠΟ ΟΡΓΑΝΙΚΑ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΑ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΥΔΡΟΛΥΤΙΚΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ

**Θεοδοσίου Ε.¹, Ράπτη Σ.², Μαλέα Α.², Πούρνου Α.², Καραντώνη Ε.²,
Παναγιάρης Γ.², Κολίσης Φ.¹**

¹ΕΜΠ, Σχολή Χημικών Μηχανικών, Εργαστήριο Βιοτεχνολογίας,
Ηρώων Πολυτεχνείου 9, 15 700, Ζωγράφου, Αθήνα

²ΤΕΙ Αθήνας, Τμήμα Συντήρησης Αρχαιοτήτων & Έργων Τέχνης,
Αγίου Σπυρίδωνος, 12210, Αιγάλεω, Αθήνα

Τα ένζυμα που ενδιαφέρουν τους συντηρητές έργων τέχνης και αρχαιοτήτων είναι υδρολυτικά ένζυμα όπως λιπάσες, πρωτεϊνάσες ή αμυλάσες. Πηγές τέτοιων ενζύμων αποτελούν βακτήρια και μύκητες, ενώ έχουν απομονωθεί από ζώα και φυτά. Λόγω της ικανότητάς τους να προσδένουν εξειδικευμένα μια ευρεία τάξη μορίων, καταλύουν αποτελεσματικά διάφορες χημικές αντιδράσεις. Η δραστικότητα πολλών ενζύμων μπορεί να ανασταλεί από την πρόσδεση ειδικών μορίων ή ιόντων.

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η υδρολυτική δράση 4 λιπασών (*Thermomyces lanuginosus*, *Candida cylindracea*, *Porcine pancreas*, *Candida antarctica*) σε τεχνητά γηρασμένα δοκίμια βαμβακερού υφάσματος εμβαπτισμένων σε φυτικό έλαιο. Σύστημα διεξαγωγής της ενζυμικής υδρόλυσης των λιπαρών ρύπων επιλέχθηκε ρυθμιστικό διάλυμα με pH 7,7. Οι αντιδράσεις πραγματοποιήθηκαν σε επωαστήρα σταθερής θερμοκρασίας (30°C) και ανάδευσης (150 rpm) για 5 ημέρες. Ο έλεγχος της πορείας των ενζυμικών αντιδράσεων πραγματοποιήθηκε με φασματόμετρο υπερύθρου (FTIR). Οι λιπάσες από *T. lanuginosus* και *C. cylindracea* κρίθηκαν αποτελεσματικές, υδρολύοντας 0.15% w/v και 0.4% w/v λιπαρού ρύπου (εκφρασμένου σε ελαϊκό οξύ) αντίστοιχα μετά το πέρας της επώασης. Η περαιτέρω ανάπτυξη της έρευνας προβλέπει τη συγκριτική αξιολόγηση της ανωτέρω μεθόδου καθαρισμού με άλλες (συμβατικές ή μη) λαμβάνοντας υπόψη αφενός το βαθμό απομάκρυνσης των ρύπων, αφετέρου την πιθανή επίδραση στο υπόστρωμα. Ανάλογο ερευνητικό πρωτόκολλο βρίσκεται υπό εφαρμογή για την απομάκρυνση ρητινών από δερμάτινα δοκίμια.

HYDROLYTIC ENZYMES AND THEIR ABILITY TO REMOVE DRYING OILS AND RESINS FROM COTTON AND LEATHER MADE SAMPLES

***Theodosiou E.¹, Rapti S.², Malea A.², Pournou A.², Karantoni E.²,
Panagiariis G.², Kollisis F.N.¹***

¹ NTUA, School of Chemical Engineering, Laboratory of Biotechnology, Athens, Greece

² Technological Educational Institute of Athens, Department of Conservation of Antiquities and Works of Art, Athens, Greece

The enzymes that may be important tools for art restoration and conservation are mainly hydrolytic enzymes such as lipases, proteinases and amylases. Enzymes are biological catalysts that are produced by bacterial and fungal cells, plants and animals. Almost all processes in a biological cell need enzymes in order to occur at significant rates. Enzymes in general are highly specific for the reaction catalyzed, including substrate, product, and coenzyme requirements. Specific enzyme inhibitors regulate enzyme activity and can be irreversible or reversible inhibitors.

The aim of the present study is to investigate the ability of four lipases (*Candida cylindracea*, *Porcine pancreas*, *Candida antarctica*, *Thermomyces lanuginosus*) to remove drying oil from cotton made samples. The enzymatic reactions were carried out in screw capped tubes using phosphate buffer (pH 7.7). In all cases studied, the tubes were incubated in an orbital shaker at 150 rpm at 30⁰C for 5 days. Samples were withdrawn at various times and subjected to FTIR analysis. Lipases from *T. lanuginosus* and *C. cylindracea* hydrolyzed 0.15% and 0.4% w/v of drying oil (expressed as %w/v oleic acid) after 5 days of incubation respectively. Future research will include the comparative study of the above method with other cleaning methods (conventional or not), taking into account the removal efficiency of drying oil and the negative effect on the object of interest as well. Similar research on resin removal from leather made objects is in progress.

ΑΝΑΒΑΘΜΙΣΗ ΚΑΙ ΕΠΕΚΤΑΣΗ ΤΗΣ ΒΑΣΗΣ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ gpDB

Θεοδοροπούλου Μ.Κ., Ελευσινιώτη Α.Α., Μπάγκος Π.Γ. και Χαμόδρακας Σ.Ι.

*Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο
Αθηνών, Αθήνα 157 01*

Η gpDB είναι μια δημόσια διαθέσιμη, σχεσιακή βάση δεδομένων, η οποία περιλαμβάνει δεδομένα για G-πρωτεΐνες, GPCR καθώς και τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ τους. Αυτή τη στιγμή περιλαμβάνει πληροφορίες για 410 G-πρωτεΐνες και 2795 GPCR. Τόσο για τις G-πρωτεΐνες, όσο και για τους GPCR, τα δεδομένα είναι ομαδοποιημένα σε κλάσεις, οικογένειες, υποοικογένειες και τύπους. Η αλληλεπίδραση μεταξύ G-πρωτεϊνών και GPCR δείχνεται στο επίπεδο των υποοικογενειών. Στόχος της συγκεκριμένης εργασίας, ήταν αφ' ενός μεν να ανανεωθεί η gpDB συμπεριλαμβάνοντας όλες τις καινούργιες πληροφορίες που αφορούν τις G-πρωτεΐνες, τους GPCR και την αλληλεπίδρασή τους, αφ' ετέρου δε, να επεκταθεί η βάση δεδομένων, ώστε να συμπεριλάβει την πληροφορία για την μεταγωγή σήματος από τις G-πρωτεΐνες στα μόρια-εκτελεστές. Για αυτό το λόγο συγκεντρώσαμε στοιχεία για την αλληλεπίδραση μεταξύ G-πρωτεϊνών και μορίων εκτελεστών μέσα από εκτενή αναζήτηση στη βιβλιογραφία. Επίσης συγκεντρώσαμε πληροφορίες για τις πρωτεϊνικές ακολουθίες των μορίων-εκτελεστών από τη δημόσια βάση δεδομένων UNIPROT. Συγκεκριμένα, ανασύρθηκαν 1510 τέτοιες πρωτεϊνικές ακολουθίες. Κατατάξαμε τα μόρια-εκτελεστές σε οικογένειες, υποοικογένειες και τύπους με βάση τη λειτουργία τους. Συγκεκριμένα καταλήξαμε σε 21 οικογένειες, 31 υποοικογένειες και 68 τύπους μορίων-εκτελεστών. Η αλληλεπίδραση μεταξύ G-πρωτεϊνών και μορίων-εκτελεστών δείχνεται σε επίπεδο υποοικογενειών G-πρωτεϊνών με τύπους μορίων-εκτελεστών. Μέσω της αναζήτησης στη διεθνή βιβλιογραφία, συγκεντρώσαμε και πληροφορίες για τα αποτελέσματα που έχει η αλληλεπίδραση αυτή, δεδομένα, τα οποία επίσης συμπεριλαμβάνονται στη βάση. Για να επιτευχθεί η επέκταση της βάσης δεδομένων, τροποποιήσαμε το ήδη υπάρχον σχεσιακό μοντέλο. Έτσι, πλέον, οι αλληλεπιδράσεις των G-πρωτεϊνών με τους αντίστοιχους GPCR να γίνονται στο επίπεδο των υποοικογενειών, όσον αφορά δε, τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ G-πρωτεϊνών με μόρια εκτελεστών, επιτρέπονται αλληλεπιδράσεις υποοικογενειών G-πρωτεϊνών με διάφορους τύπους εκτελεστών. Απώτερος στόχος μας, είναι να συμπεριλάβουμε στη συγκεκριμένη βάση δεδομένων ένα ακόμη μεγαλύτερο τμήμα της διαδικασίας μεταγωγής σήματος μέσα στα κύτταρα.

UPDATING AND EXTENDING gpDB

Theodoropoulou M.C., Elefsinioti A.L., Bagos P.G., and Hamodrakas S.J.

*Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology,
University of Athens, Athens 157 01*

GpDB is a publicly accessible, relational database of G-proteins, GPCRs and their interactions. At the moment, data for 410 G-proteins and 2795 GPCRs are available. G-proteins and GPCRs are categorized into classes, families, subfamilies and types. The interaction between them is shown at the subfamily level. Our goal in this project was to update gpDB, adding all the recent data concerning G-proteins, GPCRs and their interactions. Furthermore, we wanted to extend the database including now information about signal transduction from G-proteins to effector molecules. In order to achieve this, we collected information concerning the interaction between G-proteins and their effectors by an extended literature search. We also collected sequence information regarding the effectors from the publicly available protein database UNIPROT. In particular, 1510 sequences of effectors were retrieved. We then categorized the effectors into families, subfamilies and types based on their function. Specifically, we ended up to 21 families, 31 subfamilies and 68 types of effectors. Different G-protein subfamilies interact with particular effector types. We also gathered information concerning the results of every interaction between G-proteins and particular effectors and this information is also included in our database. In order to extend the database, we modified its relational scheme. The interactions between G-proteins and GPCRs, are now shown at the subfamily level, whereas, for the interactions between G-proteins and their effectors, G-protein subfamilies are allowed to interact with specific effector types. Our future goal is to include in gpDB an even larger part of the signal transduction pathway.

**ΜΕΛΕΤΗ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΩΝ ΣΕ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΑ
tRNA ΓΟΝΙΔΙΑ ΑΠΟ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΠΟΙΚΙΛΑ ΚΛΙΝΙΚΑ
ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ**

**Θεοτόκης Π.¹, Καμινάρη Α.¹, Σταμάτης Κ.¹, Ηλιάδης Χ.², Μαριδάκη Ε.³,
Χρηστάκου Ε.³, Πετσιάβα Ε.³, Μαμούρης Ζ.¹, Σταθόπουλος Κ.¹, Ζίφα Α.¹**

¹Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Πλούτωνος 26,
41221 Λάρισα

²Νευροχειρουργική κλινική, ΠΠΝ Λάρισας, ³ Παιδιατρική Κλινική Α.Γ.Ν.Ν Βόλου

Τα τελευταία χρόνια σύνδρομα με βαριά κλινικά συμπτώματα όπως το MELAS και το MERRF έχουν συνδεθεί με την ανίχνευση μεταλλάξεων σε συγκεκριμένα μιτοχονδριακά γονίδια που κωδικοποιούν μόρια tRNA. Το γονίδιο το οποίο συγκεντρώνει τις περισσότερες σε αριθμό αναφερόμενες μεταλλάξεις, είναι αυτό του tRNA^{Leu(UUR)} (*MT-TL1*). Δεδομένης της σημασίας των μορίων tRNA στην μιτοχονδριακή πρωτεϊνοσύνθεση μελετήθηκε σε μία ομάδα 30 ασθενών με ποικίλα κλινικά συμπτώματα η ύπαρξη μεταλλάξεων στην ευρύτερη περιοχή του *MT-TL1* συμπεριλαμβανομένων και τμημάτων των παρακείμενων γονιδίων, *MT-RNR2* (16S rRNA) και *MT-ND1* (NADH dehydrogenase). Παράλληλα η μελέτη επεκτάθηκε και σε τρία επιπλέον μιτοχονδριακά γονίδια tRNA [tRNA^{His}, tRNA^{Ser(AGY)} και tRNA^{Leu(CUN)}]. Ο αρχικός έλεγχος για την ύπαρξη ή όχι διαφορετικού προτύπου στην ομάδα των ασθενών έγινε με SSCP και τα PCR προϊόντα στα οποία εντοπίστηκαν διαφορές σε σχέση με τους μάρτυρες αλληλουχίστηκαν προκειμένου να ταυτοποιηθεί η ακριβής θέση των μεταλλάξεων. Καμία μετάλλαξη δεν ανιχνεύθηκε στο γονίδιο του tRNA^{Leu(UUR)}. Παρατηρήθηκαν μεταλλάξεις σε θέσεις που έχουν προαναφερθεί στα γονίδια tRNA^{Leu(CUN)}, *MT-ND1* και *MT-RNR2* και οι οποίες έχουν συνδεθεί με συγκεκριμένα σύνδρομα σε ανθρώπινους πληθυσμούς. Επιπλέον όμως βρέθηκαν δύο νέες μεταλλάξεις στα γονίδια *MT-ND1* και *MT-RNR2* που δεν έχουν αναφερθεί προηγουμένως στη διεθνή βιβλιογραφία και οι οποίες πιθανότατα σχετίζονται με την γενικότερη κλινική εικόνα των ασθενών.

IDENTIFICATION OF MUTATIONS ON MITOCHONDRIAL tRNA GENES FROM PATIENTS WITH VARIOUS CLINICAL PERTURBATIONS

Theotokis P.¹, Kaminari A.¹, Stamatis C.¹, Heliadis Ch.², Maridaki E.³, Christakou E.³, Petsiava E.³, Mamuris Z.¹, Stathopoulos C.¹, Zifa A.¹

¹*Department of Biochemistry & Biotechnology, University of Thessaly, 26 Ploutonos st., 41 221 Larissa, Greece*

²*Neurosurgical Clinic University Hospital of Larissa*

³*Paediatric Clinic, Achillopouion Regional General Hospital of Volos, Greece*

Over the last decade, mutations in specific mitochondrial tRNA genes have become increasingly recognized as important markers of multisystemic disorders, such as mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and stroke like episodes (MELAS) and myoclonus epilepsy with ragged red fibers (MERRF). The broadest sequence variability (23 pathogenic and 7 polymorphic changes) and highest pathogenic mutation to neutral variant ratio is observed in the tRNA^{Leu(UUR)} gene (*MT-TL1*). Given the fact that tRNA molecules have a central role in mitochondrial protein synthesis, 30 patients with various clinical perturbations were screened to determine the presence of existing mutations in the genetic loci of *MT-TL1* and its neighbouring *MT-RNR2* (16S rRNA) and *MT-ND1* (NADH dehydrogenase) genes. In parallel, the survey was extended to three additional mitochondrial tRNA genes [tRNA^{His}, tRNA^{Ser(AGY)} and tRNA^{Leu(CUN)}]. The method used to detect the presence of mutations was single strand conformation polymorphism (SSCP). In an attempt to identify the exact location of the mutations that result different profiles in comparison to the controls we extended our analysis by direct sequencing of the respective PCR products. None of the 30 patients were found to carry any mutation in the tRNA^{Leu(UUR)} gene. A number of mutations in tRNA^{Leu(CUN)}, *MT-ND1* and *MT-RNR2* genes were observed that have been associated with specific clinical features in human populations. Interestingly, two novel mutations in *MT-ND1* and *MT-RNR2* genes that have never been reported before were identified and they are most likely related to the abnormal clinical phenotype of the patients.

Ο ΝΗΣΙΩΤΙΣΜΟΣ ΚΑΙ Η ΠΛΗΘΥΣΜΙΑΚΗ ΠΥΚΝΟΤΗΤΑ ΩΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΣΤΗΝ ΑΝΑΓΕΝΝΗΣΗ ΤΗΣ ΟΥΡΑΣ ΣΤΙΣ ΣΑΥΡΕΣ

Θεράπη Π.¹, Σκέλλα Α.¹, Σίμου Χ.¹, Παφίλης Π.^{2,1} και Ε.Α. Βαλάκος¹

¹Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και
Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, 157-84, Αθήνα

²Τομέας Διαχείρισης Οικοσυστημάτων, Τμήμα Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο
Αιγαίου, Λόφος Πανεπιστημίου, 81-100, Μυτιλήνη

Η αναγέννηση της ουράς στις σαύρες ενεργοποιείται ταχύτατα μετά την αυτοτομία καθώς το συγκεκριμένο μέλος παίζει βασικό ρόλο στην συνολική τους απόδοση (στην κίνηση, στην αποθήκευση ενέργειας, στα πρότυπα συμπεριφοράς). Ο ρυθμός της αναγέννησης σχετίζεται άμεσα με την επιβίωση του ατόμου που εφάρμοσε αυτοτομία. Πολλοί είναι οι παράγοντες που επιδρούν στην ταχύτητα του σχηματισμού των νέων ιστών. Στην παρούσα μελέτη εξετάστηκαν η επίδραση του βιότοπου και η πυκνότητα των πληθυσμών. Συγκεκριμένα εργαστήκαμε με τα είδη *Podarcis erhardii* και *Podarcis peloponnesiaca* που έχουν προσαρμοστεί σε τελείως διαφορετικά περιβάλλοντα. Συγκεκριμένα το πρώτο είδος προέρχεται από τη Νάξο (ήπιες κλιματικές μεταβολές, μέτρια θηρευτική πίεση, περιορισμένη τροφική διαθεσιμότητα) και το δεύτερο από την περιοχή της ορεινής λίμνης της Στυμφαλίας (έντονο ετήσιο κλιματικό ανάγλυφο, έντονη πίεση θήρευσης, υψηλή διαθεσιμότητα τροφής). Για να εκτιμηθεί η δράση της πυκνότητας του πληθυσμού τα ζώα και των δύο ειδών (που σε φυσικές συνθήκες παρουσιάζουν παρεμφερείς πυκνότητες) αφέθηκαν να προχωρήσουν σε αναγέννηση σε ατομικά και σε ομαδικά (8 άτομα στο καθένα) terraria. Το μήκος της νεοσχηματιζόμενης ουράς καταγράφονταν σε εβδομαδιαία βάση. Στο είδος *P. peloponnesiaca* δεν παρατηρήθηκε καμία διαφορά στο ρυθμό αναγέννησης ανεξάρτητα από τον τύπο terrarium όπου στεγάζονταν. Αντίθετα, στο είδος *P. erhardii* τα ζώα που στεγάζονταν σε ομαδικά terraria παρουσίασαν σαφώς χαμηλότερο ρυθμό αναγέννησης σε σύγκριση με εκείνα που προέρχονταν από ατομικά. Από τη διαειδική σύγκριση προέκυψε ότι τα δύο είδη εμφανίζουν τον ίδιο ρυθμό αναγέννησης. Αυτά τα αποτελέσματα υπογραμμίζουν τη σημαντικότητα της αναγέννησης η οποία δεν διαφοροποιείται ακόμα και σε πλήρως διακριτά οικοσυστήματα. Η αρνητική επίδραση της πυκνότητας στους νησιωτικούς πληθυσμούς μπορεί να εξηγηθεί από την περιορισμένη ποσότητα τροφής.

- Η παρούσα μελέτη χρηματοδοτείται από το ΠΕΝΕΔ 03 (03ΕΔ 112) και από τον ΠΥΘΑΓΟΡΑ II του ΕΠΕΑΕΚ II από το Υπουργείο Παιδείας και την ΕΕ.

INSULARITY AND POPULATION DENSITY AS INTERFERRING FACTORS TO CAUDAL REGENERATION

Therapi P.¹, Skella A.¹, Simou Ch.¹, Pafilis P.^{2,1}, and E.D. Valakos¹

¹ *Department of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimioupolis 15784, Athens*

² *Section of Biodiversity Conservation, Department of Environmental Studies, University of the Aegean, University Hill, 81100 Mytilini.*

Tail regeneration is activated rapidly after autotomy has occurred since this particular limb holds a crucial role in the overall performance of lizard (movement, energy store, behavioral models). The rate of regeneration is connected directly to the survivorship of the autotomized individual. There are many interfering factors that may alter new tissue formation. In this study we examined the impact of biotope and the density of population. We studied the species *Podarcis erhardii* and *Podarcis peloponnesiaca* which are adapted to quite different ecosystems. Animals belonging to the first derived from Naxos island (mild climatic changes, medium predation pressure, limited food availability) while lizards from the second comes from Stymfalia lake in mountain Peloponnese (intense climatic fluctuations, high predation pressure, high food availability). In order to estimate the impact of population density lizards were housed in individual and group (8 animals per each) terraria. The length of the tail was measured weekly. No differences were detected in the case of *P. peloponnesiaca* regardless the type of the terrarium. Contrary in *P. erhardii* regeneration rate was lower in the case of lizards that were housed in group terraria. The transpecific comparison showed that both species regenerate at the same time period. Taking together our findings underscore the significance of regeneration in all types of ecosystems. The negative influence of population density in the case of insular ecosystems may be attributed to the low food availability that cannot support a full process for all individuals.

- *The present work is supported by PENED 03 (03ED112) and PYTHAGORAS II from EPEAEK II, Hellenic Ministry of Education and EE.*

**ΒΙΟΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΤΗΣ ΡΥΠΑΝΣΗΣ ΧΕΡΣΑΙΩΝ
ΟΙΚΟΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΜΕ ΤΗ ΒΟΗΘΕΙΑ ΒΙΟΜΑΡΤΥΡΩΝ, ΜΕ
ΕΜΦΑΣΗ ΣΤΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΤΟΥ cAMP, ΤΩΝ ΟΥΔΕΤΕΡΩΝ
ΛΙΠΙΔΙΩΝ, ΤΩΝ ΛΥΣΟΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΤΩΝ
ΑΥΤΟΜΕΤΑΛΛΟΓΡΑΦΙΚΩΝ ΚΟΚΚΩΝ**

Ττζιου Αικ.¹, Καλογιαννη Μ.², Δημητριάδης Β.Κ.¹

¹ Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας,
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 54124 Θεσσαλονίκη

² Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 54006
Θεσσαλονίκη

Στην παρούσα εργασία έγινε διερεύνηση της χρησιμοποίησης νέων βιομαρτύρων ρύπανσης με σκοπό την εκτίμηση της ρύπανσης που προκαλείται σε μία κεντρική οδική αρτηρία της πόλης της Θεσσαλονίκης και συγκεκριμένα αυτή της Αγίου Δημητρίου. Ως ζώο βιοενδείκτης χρησιμοποιήθηκε το σαλιγκάρι *Eobania vermiculata*, το οποίο από προηγούμενες μελέτες του εργαστηρίου μας έχει δείξει πως ανταποκρίνεται ικανοποιητικά στην εφαρμογή καθιερωμένων βιομαρτύρων ρύπανσης. Στα πλαίσια αυτά, ο πεπτικός αδένας και η αιμόλεμφος σαλιγκαριών συλλέχθηκαν από διαβαθμισμένες αποστάσεις από την οδική αρτηρία (5, 20 και 150 m) το Μάιο του 2006. Η μελέτη των επιπέδων του σηματοδοτικού μορίου cAMP, της πυκνότητας όγκου ουδέτερων λιπιδίων, λυσοσωμάτων καθώς και αυτομεταλλογραφικών κόκκων στον πεπτικό αδέντα των σαλιγκαριών έδωσε θετικά αποτελέσματα, αφού παρατηρήθηκε αύξηση των τιμών τους όσο η περιοχή συλλογής ήταν πλησιέστερη στην οδική αρτηρία. Αξιοσημείωτη είναι όμως και η στατιστικά σημαντική συσχέτιση των προηγούμενων υπό διερεύνηση βιομαρτύρων ρύπανσης με καθιερωμένους βιομαρτυρές που επίσης εξετάστηκαν (σταθερότητα της λυσοσωμικής μεμβράνης, συγκέντρωση των μεταλοθειονινών και δραστικότητα της ακετυλ-χολινεστεράσης), γεγονός που ενισχύει τη χρήση των πρώτων σε μελέτες βιοπαρακολούθησης της ρύπανσης χερσαίων οικοσυστημάτων.

**BIOMONITORING OF POLLUTION IN TERRESTRIAL
ECOSYSTEMS BY THE USE OS BIOMARKERS, WITH
EMPHASIS ON LEVELS OF cAMP, NEUTRAL LIPIDS,
LYSOSOMES AND BLACK SILVER DEPOSITS**

Itziou Aik.¹, Kaloyianni M.², Dimitriadis V.K.¹

¹*Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology,
Aristotle University, 54124 Thessaloniki*

²*Department of Zoology, Aristotle University, 54006 Thessaloniki*

In the present work the pollution levels across a major road of Thessaloniki (Agiou Dimitriou) were estimated. As a bioindicator organism, the snail *Eobania vermiculata* was used, since previous work of our laboratory has shown that it responded successfully to the application of established pollution biomarkers. In order to define possible alterations of biomarker values, the digestive gland and the haemolymph of the snails were sampled from graduated distances of the road (5, 20 and 150 m) on May 2006. The examination of the biomarkers showed a significant increase of the signalling molecule cAMP contents, as well as of the volume density of neutral lipids, lysosomes and autometallographic deposits, as we were getting closer to the road. In addition, the previous under investigation biomarkers were significantly correlated with established ones (lysosomal membrane stability, metallothionein contents, acetyl-cholinesterase activity), which were also measured during the study. The results mentioned above support the use of the examined biomarkers, regarding them as promising tools in biomonitoring studies of terrestrial pollution.

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΡΟΘΥΜΟΣΙΝΗΣ α ΚΑΙ ΤΟΥ ΑΝΟΣΟ-
ΔΡΑΣΤΙΚΟΥ ΚΑΡΒΟΞΥΤΕΛΙΚΟΥ ΤΗΣ ΠΕΠΤΙΔΙΟΥ ΣΤΙΣ
ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΕΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ ΟΥΔΕΤΕΡΟΦΙΛΩΝ**

**Ιωάννου Κ.¹, Σαμαρά Π.¹, Βασιλόπουλος Σ.¹, Κάλφα Η.², Σκοπελίτη Μ.¹,
Τσιτσιλώνη Ο.¹**

¹Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, Αθήνα,

²Β' Περιφερειακό Κέντρο Αιμοδοσίας και Κέντρο Αιμορροφιλικών, ΓΝΑ «Λαϊκό», Αθήνα.

Η Προθυμοσίνη α (ΠροΤα) είναι ένα εξαιρετικά συντηρημένο πολυπεπτίδιο, που αποτελείται από 109 αμινοξικά κατάλοιπα και ανευρίσκεται σε όλα τα κύτταρα των σπονδυλόζων. Εκτός από τον πυρηνικό της ρόλο που σχετίζεται με τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, παρουσιάζει και σημαντική ανοσοενισχυτική δράση σε πολλούς λεμφοκυτταρικούς υποπληθυσμούς. Σύμφωνα με τα δεδομένα του εργαστηρίου μας, το ανοσοδραστικό της κέντρο εντοπίζεται στο καρβοξυτελικό της άκρο στην περιοχή των αμινοξέων 100-109. Στην παρούσα εργασία, μελετήσαμε την επίδραση της ΠροΤα και του ανοσοδραστικού της πεπτιδίου ΠροΤα(100-109) στις ενδοκυτταρικές αντιμικροβιακές λειτουργίες των ουδετερόφιλων, τη φαγοκυττάρωση και την παραγωγή υπεροξειδικού ανιόντος. Τα ουδετερόφιλα απομονώθηκαν από περιφερικό αίμα υγιών δοτών ύστερα από φυγοκέντρηση σε κλίση Ficoll και ακόλουθη λύση των ερυθροκυττάρων. Η δράση της ΠροΤα και του ΠροΤα(100-109) στις αντιμικροβιακές λειτουργίες των ουδετερόφιλων ελέγχθηκε με τις δοκιμασίες της φαγοκυττάρωσης σωματιδίων zymosan και της αναγωγής του nitroblue tetrazolium. Τα αποτελέσματα μας έδειξαν ότι επώαση με την ΠροΤα ή το πεπτίδιο ΠροΤα(100-109) οδηγεί σε σημαντική αύξηση της φαγοκυττάρωσης και της ενδοκυτταρικής παραγωγής υπεροξειδίου από τα ουδετερόφιλα. Η ενίσχυση των αντιμικροβιακών λειτουργιών των ουδετερόφιλων με την ΠροΤα και το πεπτίδιο ΠροΤα(100-109) θα ελεγχθούν στο άμεσο μέλλον και για την *in vivo* δραστηριότητά τους σε πειραματικά μοντέλα ζώων.

- Χρηματοδότηση: Ειδικός Λογαριασμός Κονδυλίων Έρευνας, Πανεπιστήμιο Αθηνών

**EFFECT OF PROTHYMOSIN α AND ITS IMMUNOREACTIVE
CARBOXYTERMINAL PEPTIDE ON NEUTROPHILS'
ANTIMICROBIAL FUNCTIONS**

***Ioannou K.¹, Samara P.¹, Vasilopoulos S.¹, Kalfa I.², Skopeliti M.¹,
Tsitsilonis O.¹***

¹Department of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology, University of Athens, ²2nd Peripheral Blood Transfusion Unit and Haemophilic Centre, General Hospital of Athens "Laikon"

Prothymosin α (ProT α) is a highly conserved polypeptide, consisting of 109 amino acids and present in all vertebrate cells. Besides its nuclear role related to proliferative events, ProT α possesses a significant immunoenhancing activity on multiple lymphocyte cell subpopulations. Based on experimental data of our laboratory, we recently showed that ProT α 's immunologically active centre is localized at its carboxyl terminus at the sequence spanning residues 100-109. In the present study, we investigated the effect of ProT α and its immunoactive peptide ProT α (100-109) on intracellular antimicrobial activities of neutrophils, e.g. on phagocytosis and intracellular production of hydrogen peroxide. Neutrophils were isolated from the peripheral blood of healthy volunteers over Ficoll gradient centrifugation and subsequent hypotonic lysis of erythrocytes. The effect of ProT α and ProT α (100-109) on neutrophil antimicrobial activities was assayed by zymosan particle incorporation and nitroblue tetrazolium reduction assays. Our results show that activation of neutrophils with ProT α and ProT α (100-109) significantly increases phagocytosis and intracellular hydrogen peroxide production. The enhancement of neutrophils' antimicrobial activities by ProT α and the peptide ProT α will be tested in the near future for their effectiveness in in vivo experimental animal models.

- *Funding: Special Account for Research Grants, University of Athens*

ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ ΤΗΣ ΙΝΤΕΡΦΕΡΟΝΗΣ ΤΥΠΟΥ Ι ΣΤΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΩΝ Τ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΕΛΑΝΩΜΑΤΩΝ

**Καβροχωριανού Α.^{1,2}, Κατούνα Α.², Αλεξοπούλου Σ.², Θουφρονίτης Γ.³,
Τσιτσιλώνη Ο.Ε.¹ και Χαραλάμπους Σ.²**

¹Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας ΕΚΠΑ, ²Εργαστήριο Διαγονιδιακής Τεχνολογίας, / Μοριακή Γενετική, Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ, Αθήνα
³ CNRS- FRE 2937, Παρίσι

Η μεταβίβαση των μηνυμάτων των κυτταροκινών, ιντερφερονών τύπου Ι, IFNα και IFNβ, πραγματοποιείται μέσω κοινού υποδοχέα (IFNAR). Η IFNα παρουσιάζει αντιϊική, αντιπολλαπλασιαστική και ανοσορυθμιστική δράση. Η κατανόηση της πιθανής συνεισφοράς της στην ανοσοεπιτήρηση ενάντια στην ανάπτυξη όγκων, αποτελεί στόχο ενός ευρύτερου ερευνητικού έργου. Επειδή, αφενός, τα Τ λεμφοκύτταρα παίζουν κεντρικό ρόλο σε αυτή τη διαδικασία, αφετέρου η IFNα χρησιμοποιείται ήδη σε αντικαρκινικά θεραπευτικά σχήματα, θα επιχειρήσουμε να μελετήσουμε πως ο IFNAR1, εκφρασμένος αποκλειστικά και μόνο σε Τ κύτταρα, συνεισφέρει σε διάφορες ανοσορυθμιστικές δραστηριότητες. Για το σκοπό αυτό απαιτείται ένα *in vivo* σύστημα ιστοειδικής έκφρασης του υποδοχέα. Στην παρούσα εργασία, κατάλληλα σχεδιασμένα, και ελεγμένα *in vitro* για τη λειτουργικότητα της, γονιδιακή κατασκευή χρησιμοποιήθηκε για να δημιουργηθούν, με την χρήση διαγονιδιακής τεχνολογίας, ποντίκια τα οποία εκφράζουν την υπομονάδα 1 του υποδοχέα της ιντερφερόνης α (IFNAR1) αποκλειστικά στα Τ κύτταρα. Η ιστοειδική έκφραση του διαγονιδίου έγινε εφικτή με τη χρήση του υποκινητή του γονιδίου CD2. Μετά από μικροένεση του διαγονιδίου σε προπυρήνες ζυγωτών ποντικών προέκυψαν εννέα διαγονιδιακές σειρές, οι οποίες ελέγχθηκαν ως προς την έκφραση και λειτουργικότητα του διαγονιδίου σε μεταγραφικό και μεταφραστικό επίπεδο. Δύο από τις διαγονιδιακές σειρές διατηρήθηκαν, αναπαράχθηκαν και διασταυρώθηκαν με ποντίκια τα οποία δεν εκφράζουν τον IFNAR1 (IFNAR1^{-/-}) για περαιτέρω μελέτη. Ο ρόλος των Τ κυττάρων που υπερεκφράζουν τον IFNAR1 κατά την ανάπτυξη όγκων θα μελετηθεί στη συνέχεια σε IFNAR1^{-/-}T^{+/+} ποντίκια αφού χορηγηθούν καρκινικά κύτταρα της σειράς B16 μελανώματος.

**BIOLOGICAL ROLE OF THE RECEPTOR OF TYPE I
INTERFERON IN THE FUNCTION OF T CELLS ON THE
DEVELOPMENT OF MELANOMAS**

***Kavrohorianou A.^{1,2}, Katouna A.², Alexopoulou S.², Thyphronitis G.³,
Tsitsiloni O.E.¹, and Haralambous S.²***

¹Department of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, University of Athens, ²Laboratory of Transgenic Technology/ Molecular Genetics, Hellenic Pasteur Institute Athens, ³ CNRS- FRE 2937, Paris.

Type I interferons, IFN- α and IFN- β , share the same receptor (IFNAR) for signaling. IFN α is a cytokine with antiviral, antiproliferative and immunoregulatory activities. Understanding its possible contribution to immunosurveillance against tumor growth is the goal of a long term research project. Since, T lymphocytes, on one hand, play a central role in this process and IFN α , on the other, is used as a therapeutic agent particularly in melanomas, our attempt is to show how IFNAR1, expressed exclusively on T cells, contributes to several immunomodulatory activities. To achieve this, an *in vivo* system for tissue-specific expression of the IFNAR1 was designed. In the present study, the IFNAR1 construct, after been checked *in vitro* for its functionality, was used to create mice expressing IFNAR1 on exclusively on T cells using transgenic technology. For the tissue-specific expression of the transgene the CD2 promoter, which is specific for T cells, was used. After pronuclear microinjection of the transgene into mouse zygotes nine transgenic lines were obtained, which were checked on the transcriptional and translational level for transgene expression. Two of them were maintained, reproduced and backcrossed with IFNAR1 deficient mice for further use. The role of T cell-expressing IFNAR1, in tumor development, will be studied in IFNAR1^{-/-}T^{+/+} mice immunized with a tumour cell line, B16 melanoma.

IN VITRO ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΑΝΟΧΗΣ ΤΟΥ ΙΣΧΙΑΚΟΥ ΝΕΥΡΟΥ ΤΟΥ ΑΡΟΥΡΑΙΟΥ ΣΕ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΥΠΟΞΙΑΣ ΚΑΙ ΑΝΟΞΙΑΣ*

Καγιαβά Α. και Θεοφιλίδης Γ.

*Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Σχολή Θετικών Επιστημών, Τμήμα Βιολογίας,
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης*

Οι μελέτες των επιπτώσεων της υποξίας και της ανοξίας στο απομονωμένο ισχιακό νεύρο των θηλαστικών είναι περιορισμένες. Άλλες μελέτες έχουν δείξει ότι η βιωσιμότητα του ισχιακού νεύρου σε συνθήκες υποξίας είναι περίπου 120 λεπτά. Σκοπός της εργασίας είναι η αξιολόγηση της ανοχής του ισχιακού νεύρου του αρουραίου σε συνθήκες υποξίας και ανοξίας. Για να επιτευχθεί αυτό απομονώθηκε το νεύρο και τοποθετήθηκε του σε τρίχωρο θάλαμο για την καταγραφή του σύνθετου δυναμικού ενέργειας (ΣΔΕ) υπό διαφορετικές συνθήκες υποξίας και ανοξίας. Στο θάλαμο τοποθετείται φυσιολογικός ορός ο οποίος: α) οξυγονώνεται συνεχώς, β) οξυγονώνεται αρχικά και να παραμένει καθόλη τη διάρκεια του πειράματος χωρίς να γίνει αντικατάστασή του και γ) περιέχει 100 % άζωτο. Σαν ένδειξη της βιωσιμότητας χρησιμοποιήθηκε το ΣΔΕ το οποίο καταγράφεται συνεχώς σε θερμοκρασίες 25° C και 37° C. Σε συνθήκες συνεχούς οξυγόνωσης (βλέπε α) ο χρόνος που απαιτείται για τη μείωση του ύψους του ΣΔΕ στο 50 % της αρχικής του τιμής (IT₅₀) είναι 26.28 ± 1.58 ώρες (25° C) και 5.40 ± 0.55 ώρες (37° C). Σε συνθήκες υποξίας (βλέπε β) το IT₅₀ είναι 4.34 ± 0.59 ώρες (25° C) και 266.25 ± 20.25 λεπτά (37° C). Σε συνθήκες ανοξίας (βλέπε γ) το IT₅₀ είναι 11.40 ± 1.70 λεπτά (25° C) και 7.88 ± 0.23 λεπτά (37° C). Τα αποτελέσματα δείχνουν νευροπροστασία με μείωση της θερμοκρασίας. Με τη βοήθεια του μοντέλου αυτού ακολούθησε αξιολόγηση της ανοχής του ισχιακού νεύρου σε συνθήκες ανοξίας μετά την παραμονή του νεύρου σε τέτοιες συνθήκες για 1, 2, 4, 6 και 10 ώρες. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το ισχιακό νεύρο παραμένει κατά 80 % λειτουργικό ακόμα και 4 ώρες μετά την παραμονή του σε συνθήκες ανοξίας.

- (*) Η έρευνα χρηματοδοτήθηκε από το Υπουργείου Εθνικής Παιδείας και Θρησκευμάτων και την Ευρωπαϊκή Ένωση στο πλαίσιο του προγράμματος Πυθαγόρας II.

IN VITRO EVALUATION OF THE TOLERANCE OF THE RAT SCIATIC NERVE UNDER CONDITIONS OF HYPOXIA AND ANOXIA*

Kagiava A., and Theophilidis G.

*Laboratory of Animal Physiology, School of Biology, Aristotle University of
Thessaloniki*

The studies of the effects of hypoxia and anoxia on the isolated sciatic nerve of mammals are limited. Certain studies have shown that the viability of sciatic nerve under conditions of hypoxia is 120 minutes. The aim of this study is the evaluation of tolerance of the rat sciatic nerve under conditions of hypoxia and anoxia. To achieve that, the sciatic nerve was placed into a three-chambered recording bath where the compound action potential (CAP) was recorded under different conditions of hypoxia and anoxia. The chambers are filled with saline which: a) is continuously oxygenated, b) is oxygenated at the beginning of the experiment and c) contains 100 % nitrogen. The CAP was used as indication of the viability of the sciatic nerve. The CAP was recorded continuously at the temperature of 25° C and 37° C. Under continuous oxygenation (a) the value of IT₅₀, the time required for the reduction of the CAP at 50 % of its initial value, is 26.28 ± 1.58 hours (25° C) and 5.40 ± 0.55 hours (37° C). Under conditions of hypoxia (b) the value of the IT₅₀ is 4.34 ± 0.59 hours (25° C) and 266.25 ± 20.25 minutes (37° C). Under conditions of anoxia (c) the value of the IT₅₀ is 11.40 ± 1.70 minutes (25° C) and 7.88 ± 0.23 minutes (37° C). The results indicate neuroprotection caused by the decrease of the temperature. Using this model we evaluated the tolerance of the sciatic nerve under conditions of anoxia and when the nerve remains under these conditions for 1, 2, 4, 6 and 10 hours. The results indicate that the sciatic nerve remains at 80 % functional even after its exposure under conditions of anoxia.

- (*) Supported by the program PYTHAGORAS II of the Greek Ministry of Education and Religion and the European Union

**ΚΛΩΝΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΠΥΡΗΝΙΚΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΠΟΥ
ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΟΥΝΤΑΙ ΑΠΟ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΤΕΣ
ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΟΣΩΜΑΤΩΝ ΣΤΗ ΣΥΝΑΓΡΙΔΑ (*Dentex dentex*)**

Καϊτετζίδου Ε.¹, Favre-Krey L.², Κρέη Γ.², Αντωνοπούλου Ε.¹

¹Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ., 541 24 Θεσσαλονίκη,
e-mail: eantono@bio.auth.gr

²Ινστιτούτο Αλιευτικής Έρευνας, ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε., 640 07 Καβάλα

Οι υποδοχείς που ενεργοποιούνται από πολλαπλασιαστές υπεροξειδιοσωμάτων (PPARs) είναι μεταγραφικοί παράγοντες που ανήκουν στην υπεροικογένεια των πυρηνικών ορμονικών υποδοχέων και ενεργοποιούνται μεταξύ άλλων από φυσικά λιπαρά οξέα και από φαρμακευτικές ουσίες με υπολιπιδαιμική δράση. Οι PPARs εμφανίζονται σε τρεις τύπους α, β ή δ και γ, σε θηλαστικά, αμφίβια, πτηνά και πρόσφατα και στα ψάρια, με διαφορετικούς και διακριτούς ρόλους ο καθένας. Στην παρούσα εργασία, παρουσιάζεται η κλωνοποίηση των τριών ισοτύπων PPAR α, β και γ για ένα ψάρι με μεγάλη εμπορική αξία, τη συναγρίδα (*Dentex dentex*). Συνδυασμός των RT-PCR με 5'/3'RACE-PCR με τη χρήση ειδικών για κάθε τύπο PPAR εκκινητών, οδήγησε στην ενίσχυση των cDNA των PPAR α και β, και τμήματος του cDNA του PPAR γ. Οι κωδικοποιημένες περιοχές για τον PPAR α, β και γ αριθμούν 477, 510 και 505 αμινοξέα, αντίστοιχα. Οι PPAR της συναγρίδας είναι ομόλογοι των PPAR άλλων οργανισμών. Μάλιστα η μεγαλύτερη ομολογία διαπιστώνεται μεταξύ του PPAR α της συναγρίδας και του PPAR α1 της τσιπούρας, για τον PPAR β της συναγρίδας με τον PPAR β της τσιπούρας και του λαβρακιού και τέλος για τον PPAR γ της συναγρίδας με τον PPAR γ της τσιπούρας. Επίσης, μεγαλύτερη ομολογία παρουσιάζεται αρχικά στις περιοχές πρόσδεσης των PPAR με το DNA και εν συνεχεία στην περιοχή πρόσδεσης του συνδέτη, υποδεικνύοντας έτσι τη συντήρηση της λειτουργίας και των ιδιοτήτων των PPAR.

**CLONING OF THREE PEROXISOME PROLIFERATOR -
ACTIVATED RECEPTOR ISOTYPES OF COMMON DENTEX
(*Dentex dentex*)**

Kaitetzidou E.¹, Favre-Krey L.², Krey G.², Antonopoulou E.¹

¹*Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki,
541 24, Thessaloniki, e-mail: eaantono@bio.auth.gr*

²*Fisheries Research Institute, NAGREF, 640 07, Kavala*

The peroxisome proliferator activated receptors (PPARs) are ligand inducible transcription factors that belong to the nuclear hormone receptor family and they are activated by different compounds, mainly by various fatty acids and different hypolipidemic drugs. Three PPAR subtypes (α , β/δ and γ) have been identified in various organisms, including mammals, birds, amphibian and recently they have been identified in teleosts, where each of the three isotypes fulfills specific functions. In the present work, through RT-PCR and 5'/3' RACE we have cloned and identified the cDNAs encoding the three different PPAR subtypes in common dentex. According to their sequence analysis, significant homology to PPARs from other organisms revealed. Deduced amino acid numbers for PPAR alpha, PPAR beta and PPAR gamma were 477, 510 and 505, respectively. Highest amino acid identities were found for dentex PPAR alpha with sea bream PPAR alpha1, for dentex PPAR beta with both sea bass and sea bream PPAR beta, and for dentex PPAR gamma with sea bream PPAR gamma. This homology is particularly evident at the DNA binding domain and, to a lesser extends, at the ligand binding domain of the receptors, indicating conservation of their function and properties across species. The cloning of another fish PPARs with special commercial interest for aquaculture will allow the detailed study of the functions of these receptors, and help us in understanding the molecular mechanisms that especially govern lipid metabolism in fish.

**ΠΡΟΤΥΠΟ ΚΑΤΑΝΟΜΗΣ ΧΡΩΜΑΤΟΦΟΡΩΝ ΣΤΗΝ ΚΟΙΛΙΑΚΗ
ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΗΣ ΚΕΦΑΛΗΣ. ΕΠΙΒΕΒΑΙΩΣΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ
ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΓΟΝΟΥ ΚΕΦΑΛΟΕΙΔΩΝ**

Κακαγή Κ.², Καρβελά Α.² και Γ. Μίνος¹

¹Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης, Παράρτημα Ν.
Μουδανιών, Τμήμα Τεχνολογίας Αλιείας και Υδατοκαλλιέργειών, Τ.Θ. 157,
63200, Ν. Μουδανιά. ²ΤΕΙ Ηπείρου, Τμήμα Ιχθυοκομίας – Αλιείας, Ηγουμενίτσα

Η εκτροφή των κεφαλοειδών και οι εμπλουτισμοί, γίνονται συνήθως με άγριο γόνο και η σωστή ταυτοποίηση των ειδών είναι απαραίτητη για τη σύλληψη επιθυμητών ειδών. Στόχος της παρούσας εργασίας είναι να γίνει επιβεβαίωση της αξιοπιστίας της μεθόδου προσδιορισμού γόνου 5 ειδών κεφαλοειδών με το πρότυπο της κατανομής των χρωματοφόρων στην κοιλιακή περιοχή της κεφαλής σε άτομα μεγέθους 10-50 mm από τις ακτές του νομού Θεσπρωτίας. Για το έλεγχο της αξιοπιστίας του προσδιορισμού των ειδών χρησιμοποιήθηκαν προγενέστερες μέθοδοι (αριθμός πυλωρικών τυφλών, κατανομή χρωματοφόρων στο σώμα, περίοδος αναπαραγωγής, εποχή εμφάνισης γόνου, βιολογικές προτιμήσεις). Στο *Mugil cephalus* παρατηρείται μία σειρά μελανοφόρων στην κοιλιακή επέκταση του βραγχιακού επικαλύμματος (*KEBE*) και μία στο ωοειδές σχήμα (*ΩΣ*), διακλαδιζόμενο στο ύψος των ματιών σχηματίζοντας διχάλα. Το πρότυπο κυριαρχεί 100% σε μεγέθη 20-40 mm. Στο *Liza aurata* εμφανίζονται μία σειρά μελανοφόρων στο *ΩΣ* και δύο στην *KEBE* σε ποσοστό από 85% (20-40 mm) έως 96 % (10-20 mm), και η μία εξαφανίζεται σταδιακά σε μεγέθη 40-50 mm. Στο *Liza ramada*, μία σειρά μελανοφόρων στην *KEBE* και μία ολιγάριθμη στο *ΩΣ*, με πολύ μικρές διαφοροποιήσεις (10%) σε μεγέθη >30mm. Στο *Liza saliens* διπλή σειρά μελανοφόρων στην *KEBE* (δεν επεκτείνονται πέραν του ύψους του ματιού) απλή (10-20 mm) ή πολλές σειρές (>20mm) στο *ΩΣ*. Τέλος στο *Chelon labrosus* δύο σειρές μελανοφόρων στην *KEBE* και δύο στο *ΩΣ*, που επεκτείνονται πίσω από την προσοφθάλμια περιοχή. Το 25% και το 42% ατόμων μήκους 20-30 και 40-50 mm, είχε μονή σειρά έως ελάχιστα στο *ΩΣ* και ελάχιστα αλλού. Το περιγραφόμενο πρότυπο των μελανοφόρων για τα ιχθύδια από τις ακτές της Δυτικής Ελλάδας, περιγράφεται επιτυχώς με τη χρήση των προαναφερομένων κλειδών. Αναγκαία θεωρείται περαιτέρω έρευνα για διαφοροποιήσεις του προτύπου σε ιχθύδια προερχόμενα από διαφορετικούς βιοτόπους.

**MELANOPHORE PATTERN IN JUGULAR REGION.
VALIDATION METHOD IN GREY MULLET SPECIES FRY**

Kakagi K.², Karvela A.², and G. Minos¹

¹Alexander Technological Educational Institute Thessalonikis, Department of Aquaculture and Fisheries Technology, P.O. Box: 157, 63200, N. Moudania.

²TEI Epirus, Department of Aquaculture and Fisheries, 46100, Igoumenitsa.

The intensive aquaculture of grey mullets, as well as the enrichments of natural populations is accomplished usually with wild fry. Thus the right identification of species is essential to collect the desirable species. Objective of the present work is to validate the reliability of the identification method of fry of 5 Mugilidae species with the use of the melanophore pattern on the ventral side of the head in individuals of 10-50 mm long, from the coasts of Thesprotia prefecture. To control the accuracy of species identification was used previous published methods (number of pyloric caeca, distribution of chromophores along the body flanks, reproduction period, season of appearance of fry in coastal waters, biological preferences). In *Mugil cephalus* observed single row of melanophores in ventro-opercular region (VE) and single in gular region (G), bifurcated at the level of the eyes. This is the only pattern (100%) in lengths of 20-40 mm. In *Liza aurata*, appeared single melanophore row in G and two rows in VE in percentage from 85% (20-40 mm) until 96% (10-20 mm), reduced to a single row progressively in lengths 40-50 mm. In *Liza ramada*, a single melanophore row in VE and a few melanophores in G, with very small differentiations (10%) in fishes longer than >30mm. In *Liza saliens*, double melanophore row in VE (they are not extended behind the eyes) single row (10-20 mm) or a lot of melanophores (>20mm) in G. Finally in *Chelon labrosus*, two melanophore rows in VE and two in G, that are extended behind the ocular region. The 25% and the 42% of individuals of length distribution 20-30 mm and 40-50 mm had single row until a few melanophores in G, very little elsewhere. According to the results, the ventral head melanophore pattern for Mugilidae fry from the coasts of Western Greece is described successfully with the use of specialized identifications keys. Further research is considered in differentiation of melanophore pattern for individuals emanating from different biotopes.

**ΑΝΟΣΟΤΡΟΠΟΙΗΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΟΥ *LACTOBACILLUS*
PARACASEI SUBSP *PARACASEI* ΣΤΟΝ ΡΑΧΙΑΙΟ ΑΕΡΟΘΥΛΑΚΑ
ΚΑΙ ΤΟ ΕΝΤΕΡΟ ΠΟΝΤΙΚΩΝ**

**Κακαγιάννη Μ.¹, Ζήνωνος Ε.¹, Γιαννάκη Ε.², Κουρελής Α.¹,
Τζανετάκης Ν.³, Λιτοπούλου-Τζανετάκη Ε.³, Γιάγκου Μ.¹**

¹Τομ. Γεν., Ανάπτ. & Μορ. Βιολ., Τμ. Βιολογίας, ΑΠΘ, ²Αιματ. Εργ. Αντικαρκ. Νος.
Θες/νικης Θεαγένειο, ³Ερ. Μικροβιολ. & Υγιειν. Τροφ., Τμ. Γεωπονίας, Α.Π.Θ.,

Σε προηγούμενα πειράματα μας χρησιμοποιήθηκε το μοντέλο του ραχιαίου αεροθύλακα των επίμυων για τον προσδιορισμό προβιοτικών μικροοργανισμών. Η χορήγηση στον αεροθύλακα του γνωστού προβιοτικού στελέχους 9433 *Lactobacillus acidophilus* και σε αντίθεση με το μη προβιοτικό στέλεχος 15009 του *Lactobacillus helveticus* είχε ως αποτέλεσμα τη ραγδαία συσσώρευση στον αεροθύλακα μεγάλου αριθμού πολυμορφοπύρηνων (PMN) κυττάρων. Σκοπός της εργασίας αυτής είναι να προσδιοριστεί η ανοσοτροποποιητική δράση των στελεχών DC412 και G15.11 του είδους *Lactobacillus paracasei* subsp. *Paracasei*. Η χορήγηση του *L. acidophilus* 9433 και του DC412 στον αεροθύλακα προκαλεί τη συσσώρευση μεγάλου αριθμού κυττάρων 3 ώρες μετά τη χορήγηση. Με κυτταρομετρία ροής και φθορίζουσες ζύμες βρέθηκε ότι τα κύτταρα αυτά παρουσίαζαν υψηλό ποσοστό φαγοκυττάρωσης των ζυμών. Αντίθετα τα στελέχη 15009 και G15.11 έδειξαν μικρά ποσοστά φαγοκυττάρωσης. Με μικροσκοπία φθορισμού σε τομές μεμβράνης του αεροθύλακα και σε τομές λεπτού εντέρου ποντικών παρατηρήθηκε ότι το στέλεχος DC412 διαθέτει ικανότητα προσκόλλησης και διείσδυσης στους ιστούς, ενώ από τα άλλα 3 στελέχη το 9433 έδειξε μόνο μεγάλη ικανότητα διείσδυσης. Ανάλογος τρόπος προσκόλλησης των στελεχών παρατηρήθηκε *in vitro* στην κυτταρική σειρά εντεροκυττάρων Caco-2. Τα στελέχη DC412 και 9433 ενεργοποιούν διαφορετικού τύπου ανοσοαπόκριση αφού επάγουν διαφορετικό πρότυπο κυτοκινών. Το DC412 όπως και το στέλεχος 9433 προκαλούν αύξηση στον αριθμό των κυττάρων του εντέρου που παράγουν IgA αντισώματα. Συμπερασματικά το μοντέλο του ραχιαίου αεροθύλακα μπορεί να δώσει αξιόπιστα αποτελέσματα για την ανοσοτροποποιητική δράση μικροοργανισμών ενώ το στέλεχος DC412 *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* διαθέτει όλα τα κριτήρια των προβιοτικών μικροοργανισμών.

IMMUNOMODULATING ACTIVITY OF *LACTOBACILLUS PARACASEI* SUBSP *PARACASEI* ON DORSAL AIR POUCH AND INTESTINE OF MICE

***Kakagianni M.¹, Zinonos I.¹, Yiannaki E.², Kourelis A.¹, Tzanetakis N.³,
Litopoulou-Tzanetaki E.³, Yiangou M.¹***

¹Dept. Genet., Dev. & Mol. Biol., Sch. Biol., AUTH, ²Haem. Lab. Anticancer Hosp. Theagenio, ³Lab. of Food Microbiol. & Hygiene, Faculty of Agric, AUTH

The air pouch model previously used to estimate the immunomodulating activity of probiotic *Lactobacillus acidophilus* 9433 was also used in this study to determine the immunomodulating activity of 2 *Lactobacillus paracasei subsp paracasei* strains (DC412 και G15.11) both possessing characteristics of probiotic bacteria. The probiotic strain *Lactobacillus acidophilus* 9433 and the non-probiotic strain *Lactobacillus helveticus* 15009 were also included as positive and negative controls respectively. Flow cytometry analysis revealed that administration in air pouch only of the strains DC412 or 9433 results in significant accumulation of polymorphonucleated (PMN) cells by 3 hours post treatment. In addition these PMN cells exhibited increased ability to phagocytose FITC labeled yeast. By fluorescence microscopy on air pouch membrane and small intestine sections we have shown that strain possesses increased ability to adhere and penetrate the cells forming the air pouch membrane or intestine epithelium. Strain 9433 showed only increased ability to penetrate the tissues examined. Furthermore, only the strain DC412 showed increased adhesive activity to human enteric cell line Caco-2. DC412 and 9433 induce differential cytokine profile suggesting that activate different type of immune response. Intragastric administration of strain DC412 as well as 9433 results in increased number of IgA producing cells in intestine. All the above data indicate that the dorsal air pouch model could be used for a fast screening of probiotic bacteria and that strain DC412 fulfills the criteria to be characterize as probiotic.

**ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΕΙΔΩΝ ΤΗΣ
ΕΛΛΑΔΑΣ: ΈΝΑ ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ ΧΡΗΣΗΣ ΤΗΣ ΒΑΣΗΣ ΔΕΔΟ-
ΜΕΝΩΝ «ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΟΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ», ΓΙΑ ΤΑ Decapoda
Crustacea**

**Καλαμπούκας Σ., Κολοβός Π., Λαμπαδά Α., Μαβίδης Μ., Κούκουρας Θ.
και Γ.Ν. Θωμόπουλος**

Εργ. Γεν. Βιολογίας και Εργαστήριο Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ

Διεθνώς, η αναγκαία πλέον καταγραφή της βιοποικιλότητας σε όλα της τα επίπεδα, από τα μόρια μέχρι τα ενδιαιτήματα, και η συγκέντρωση της διαθέσιμης πληροφορίας με τη χρήση πληροφορικών συστημάτων, αποτελεί έναν τομέα αιχμής των βιολογικών επιστημών. Η πρώτη προσπάθεια ολοκληρωμένης καταγραφής της ελληνικής βιοποικιλότητας πραγματοποιείται στο Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσ-σαλονίκης, στα πλαίσια του ΕΠΕΑΕΚ II (Πυθαγόρας II). Στόχος αυτού του προγράμματος είναι η καταγραφή σε μια βάση δεδομένων, προσβάσιμη από το διαδίκτυο, της βιοποικιλότητας των ειδών της Ελλάδας, συμπεριλαμβανόμενης της γενετικής και κυτταρικής ποικιλότητάς τους. Η βάση δεδομένων ονομάζεται «Ελληνική Βιοποικιλότητα» και είναι προσβάσιμη δια μέσου του διαδικτυακού τόπου <http://155.207.8.122:8080>. Όσον αφορά το επίπεδο της γενετικής και κυτταρικής ποικιλότητας, στη βάση αυτή καταχωρούνται, για κάθε ελληνικό είδος, όλες οι πληροφορίες από τη βιβλιογραφία σχετικά με: α) το γενετικό υλικό (χρωμοσώματα, πυρηνικό DNA, μιτοχονδριακό DNA), β) την ύπαρξη υβριδίων, γ) τη γενετική τροποποίηση/βελτίωση, και δ) τη δομή και λειτουργία των κυττάρων και των ιστών σε επίπεδο οπτικής και ηλεκτρονικής μικροσκοπίας. Έτσι, παρέχεται ένα «εργαλείο» για επιλεκτική άντληση της καταχωρημένης επιστημονικής πληροφορίας, η οποία μπορεί να αξιοποιηθεί και να αναπτυχθεί ερευνητικά, ως μέσο εκπαίδευσης των φοιτητών και ως μέσο ενημέρωσης άλλων σχετικών φορέων. Στα πλαίσια αυτού του προγράμματος καταγράφηκαν (πilotικά) όλες οι υπάρχουσες πληροφορίες για τη γενετική και κυτταρική ποικιλότητα των Decapoda Crustacea της Ελλάδας, που αριθμούν ~ 276 είδη. Από την ανάλυση των δεδομένων προκύπτει ότι: α) σε γενετικό επίπεδο, μελέτες για τα χρωμοσώματα και το πυρηνικό DNA υπάρχουν για το 10,9% των ελληνικών ειδών (30 είδη), μελέτες για το μιτοχονδριακό DNA υπάρχουν για το 7,2% των ελληνικών ειδών (20 είδη), ενώ μελέτες γενετικής τροποποίησης/βελτίωσης υπάρχουν για το 2,5% των ελληνικών ειδών (7 είδη), β) σε κυτταρικό/ιστολογικό επίπεδο, μελέτες υπάρχουν για το 23,6% των ελληνικών ειδών (65 είδη), γ) η πιο μελετημένη ομάδα των Decapoda σε γενετικό/κυτταρικό επίπεδο είναι τα Brachyura (40 είδη), και δ) για τα ενδημικά είδη της Ελλάδας (7 είδη) η γενετική/κυτταρική ποικιλότητα έχει μελετηθεί μόνο το 28,6% των ειδών (2 είδη). Γενικότερα, μπορεί να λεχθεί ότι όσον αφορά τη γενετική και κυτταρική ποικιλότητα της συγκεκριμένης ομάδας, η οποία περιλαμβάνει αρκετά είδη υψηλής εμπορικής αξίας, οι σχετικές πληροφορίες είναι ακόμα πολύ περιορισμένες.

**GENETIC AND CELLULAR DIVERSITY OF GREEK SPECIES:
AN EXAMPLE OF THE USE OF THE DATABASE "GREEK
BIODIVERSITY", FOR DECAPODA CRUSTACEA.**

*Kalampoukas S., Kolovos P., Lampada A., Mavidis M., Koukouras Th.,
and G.N. Thomopoulos*

*Laboratory of Gen. Biology and Laboratory of Zoology, Department of Biology,
Aristotle University of Thessaloniki*

Biodiversity, from molecules to habitats, and the gathering of all available information with the use of informatics is a main subject for the biological sciences. The first attempt for a complete recording of the Greek Biodiversity is taking place in the Aristotle University of Thessaloniki, as part of EPEAEK II (Pythagoras II). The object of this programme is to record in a database, which is accessible from the Internet, all the available information about the Greek species, including their genetic and cellular diversity. The database's name is "Greek Biodiversity" and is accessed through the URL <http://155.207.8.122:8080>. Concerning the genetic and cellular diversity, all the available information about the genetic material (chromosomes, nuclear DNA, mitDNA), the presence of hybrids, the genetic improvement, the structure and function of the cells and tissues are recorded for each species found in Greece. So, there is a "tool" for selective gathering of the scientific information, which can be used in research and education. In this programme, all the available information concerning the genetics and cellular diversity of the Decapoda Crustacea in Greece (~ 276 species), is recorded. The analysis of the recorded data shows that: a) studies for the chromosomes and nuclear DNA exist for the 10.9% of the Greek species (30 species), studies for the mitDNA exist for the 7.2% (20 species) of the Greek species, whereas studies for genetic improvement exist for the 2.5% (7 species) of the Greek species; b) at the cellular and histological level, studies exist for the 23.6% of the Greek species (65 species); c) the suborder of Decapoda with the most available information is the Brachyura (40 species), and d) for the endemic species of Greece (7 species) the genetic and cellular diversity has been studied for the 28.6% of the species (2 species). It is clear that the available information concerning the genetic and cellular diversity of the species of this group, in which many species of great commercial value are included, is very limited.

**ΜΕΛΕΤΗ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ ΣΤΟ ΜΙΤΟΧΟΝ-
ΔΡΙΑΚΟ tRNA^{Leu(UUR)} ΓΟΝΙΔΙΟ ΣΕ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ
ΠΛΗΘΥΣΜΟ**

**Καμινάρη Α.¹, Θεοτόκης Π.¹, Σταμάτης Κ.¹, Πουρνάρας Σ.²,
Μαμούρης Ζ.¹, Σταθόπουλος Κ.¹, Ζίφα Α.¹**

¹Τμ. Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας, Παν/μιο Θεσσαλίας, Πλούτωνος 26, 41221 Λάρισα

²Τμ. Ιατρικής, Εργαστήριο Μικροβιολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, 41110 Λάρισα

Πρόσφατα, ένας μεγάλος αριθμός μεταλλάξεων που ανιχνεύθηκαν σε μιτοχονδριακά γονίδια tRNA έχει συνδεθεί με τη εμφάνιση εξαιρετικά ετερογενών ασθενειών με ποικίλα κλινικά συμπτώματα στον άνθρωπο. Ο λόγος για τον οποίο συμβαίνει αυτό έγκειται στον κεντρικό ρόλο των μορίων tRNA στη μιτοχονδριακή πρωτεϊνοσύνθεση όπου εμπλέκονται στην σύνθεση ενζύμων απαραίτητων για τον ενεργειακό μεταβολισμό. Στην πλειοψηφία των μιτοχονδριακών μορίων tRNA έχουν παρατηρηθεί τόσο πολυμορφικές μεταλλάξεις, όσο και μεταλλάξεις οι οποίες έχουν χαρακτηριστεί ως παθογόνες. Οι πρώτες δεν επηρεάζουν τη δομική ακεραιότητα ή τη λειτουργικότητα των μιτοχονδριακών tRNAs και συνεισφέρουν στη ποικιλομορφία μεταξύ των ανθρώπινων πληθυσμών. Στη παρούσα μελέτη εξετάστηκε η ύπαρξη τέτοιων πολυμορφισμών στο γονίδιο tRNA^{Leu(UUR)} (MT-TL1) σε ελληνικό πληθυσμό φυσιολογικών ατόμων, μελέτη η οποία διεξάγεται για πρώτη φορά στον Ελλαδικό χώρο. Ο λόγος που επιλέχθηκε το συγκεκριμένο γονίδιο είναι η υψηλή αναλογία που παρουσιάζει σε παθογόνες μεταλλάξεις και ουδέτερους πολυμορφισμούς (27 μεταλλάξεις - 7 πολυμορφισμοί). Ειδικότερα, από δείγματα ολικού αίματος 105 ατόμων, απομονώθηκε και ενισχύθηκε με αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) το γονίδιο tRNA^{Leu(UUR)} (MT-TL1), καθώς και τμήματα των παρακείμενων γονιδίων *MT-RNR2* (16S rRNA) και *MT-ND1* (NADH dehydrogenase 1). Ακολούθως, η ανίχνευση των μεταλλάξεων στα προϊόντα PCR πραγματοποιήθηκε με την τεχνική του πολυμορφισμού διάταξης μονήρους αλυσίδας (SSCP) και η περαιτέρω ταυτοποίηση τους επετεύχθη ύστερα από αλληλούχηση. Ανιχνεύθηκαν 7 μεταλλάξεις στα 105 άτομα: έναν ήδη ταυτοποιημένο πολυμορφισμό στο γονίδιο του tRNA^{Leu(UUR)}, δύο ήδη ταυτοποιημένους πολυμορφισμούς στο γονίδιο *MT-ND1*, ενώ βρέθηκαν τρεις νέες μεταλλάξεις που αναφέρονται για πρώτη φορά, μία στο γονίδιο *MT-ND1* και δυο στο γονίδιο *MT-RNR2* της ριβοσωμικής υπομονάδας.

**STUDIES ON THE DETECTION OF POLYMORPHISMS IN THE
MITOCHONDRIAL tRNA^{Leu(UUR)} GENE FROM A GROUP OF
HEALTHY HUMAN POPULATION**

***Kaminari A.¹, Theotokis P.¹, Stamatis C.¹, Pournaras S.,²
Mamuris Z.¹, Stathopoulos C.¹, Zifa A.***

*¹Department of Biochemistry & Biotechnology, University of Thessaly,
26 Ploutonos st., 41 221 Larissa, Greece*

*²Department of Medicine, Laboratory of Microbiology, University of Thessaly,
41110 Larissa, Greece*

Mitochondrial tRNA genes undergo a high rate of mutations, which in recent reports have been accused for resulting to extremely heterogeneous diseases of various clinical symptoms. This can be explained by the central role of tRNAs in mitochondrial protein synthesis of enzymes involved in energy metabolism. Both polymorphic and pathogenic mutations have been reported for the vast majority of tRNA genes. Polymorphic neutral mutations however, seem not to affect the structural integrity of the functional role of mtRNAs but rather to contribute to the diversity of human populations. In the present study we examined the sequence variation of the tRNA^{Leu(UUR)} (MT-TL1) gene in a Greek population of healthy individuals, something that has never been performed so far. The reason for choosing to investigate this particular gene is its high pathogenic mutation to neutral variant ratio (27 pathogenic – 7 polymorphic changes). Specifically, we examined blood samples from 105 individuals using the method of polymerase chain reaction (PCR) in order to enhance the gene in question and parts of its neighbouring MT-RNR2 (16S rRNA), MT-ND1 (NADH dehydrogenase 1) genes, as well. Furthermore, we used the method of single stranded conformation polymorphism (SSCP) in order to detect any possible changes in the patterns and performed direct sequencing in order to identify the exact location of these changes. We detected 7 mutations in total; an already known polymorphism in the tRNA^{Leu(UUR)} gene, two known polymorphisms in the ND1 gene, and finally two novel mutations in 16S rRNA gene and in the ND1 gene that have never been reported before.

ΒΕΝΘΙΚΕΣ ΣΥΝΑΘΡΟΙΣΕΙΣ ΣΤΟ ΛΙΜΑΝΙ ΤΗΣ ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ ΜΕ ΕΜΦΑΣΗ ΣΤΑ ΑΛΛΟΧΘΟΝΑ ΕΙΔΗ

Καμπούρογλου Β.¹ και Α. Νικολαΐδου²

Τομέας Ζωολογίας-Θαλάσσιας Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Πανεπιστημιόπολη, Αθήνα 15784

¹ vkambour@biol.uoa.gr ² anikol@biol.uoa.gr

Οι βενθικές βιοκοινωνίες μελετήθηκαν στο λιμάνι της Καλαμάτας στα πλαίσια ευρύτερου προγράμματος που αφορά στην παρείσδυση αλλόχθονων ειδών στα Ελληνικά λιμάνια μέσω ναυσιπλοΐας. Διερευνήθηκε η δομή και η αφθονία των βιοκοινωνιών σκληρού και μαλακού υποστρώματος σε οκτώ σταθμούς από το εσωτερικό μέχρι το εξωτερικό του λιμανιού. Συνολικά συλλέχθηκαν 1985 άτομα τα οποία ανήκαν σε 177 είδη ή ανώτερα τάξα. Ο αριθμός των τάξων ήταν περίπου ίδιος στους δύο τύπους υποστρωμάτων και ανερχόταν σε 97 και 91 στο μαλακό και στο σκληρό πυθμένα αντιστοίχως. Όμως, στο μαλακό υπόστρωμα το 73% των ειδών ανήκαν στους Πολύχαιτους και το 26% στα Μαλάκια, ενώ στο σκληρό η επικράτηση των Πολυχαιτών ελαττώθηκε (41%) προς όφελος των Καρκινοειδών (27%). Η ποικιλότητα ήταν σχετικά χαμηλή και κυμάνθηκε από 2.12 ως 2.87 στο μαλακό υπόστρωμα και από 2.51 ως 3.13 στο σκληρό.

Ανευρέθηκαν τρία αλλόχθονα είδη: Το Βραχύουρο *Percnon gibbesi* (H. Milne Edwards, 1853), ο Πολύχαιτος *Pseudonereis anomala* (Gravier, 1901) και το Γαστερόποδο *Strombus persicus* (Swainson, 1821). Το *P. gibbesi* είναι τροπικής Ατλαντικής προέλευσης. Είχε ήδη αναφερθεί από την κεντρική Μεσόγειο, αλλά η παρουσία του στον Μεσσηνιακό Κόλπο αποτελεί την πρώτη αναφορά του στην Ελλάδα. Το Βραχύουρο μπορεί να εισήλθε στη Μεσόγειο από παρασυρόμενες προνύμφες, μετακινούμενα ενήλικα ή από τυχαία μεταφορά μέσω ναυσιπλοΐας. Η μέγιστη αφθονία του στην Καλαμάτα ήταν 1 άτομο/m². Το *P. anomala* είναι είδος κοινό στις βιοκοινωνίες σκληρού υποστρώματος της Ερυθράς Θάλασσας και του Ινδικού και Ειρηνικού Ωκεανού, το οποίο μετανάστευσε στην Μεσόγειο μέσω της διώρυγας του Σουέζ (Λεσσεψιανός μετανάστης). Η παρουσία του μέσα ή κοντά σε λιμάνια υποδεικνύει ότι η εξάπλωσή του μπορεί να διευκολύνθηκε από τη ναυσιπλοΐα. Στην Καλαμάτα βρέθηκε σε πυκνότητες από 8-33 άτομα/m². Το *S. persicus*, με πυκνότητα 8 άτομα/m² στην Καλαμάτα, είναι επίσης Λεσσεψιανός μετανάστης, του οποίου η κατανομή περιοριζόταν αρχικά στη Θάλασσα της Αραβίας και τμήμα του Περσικού Κόλπου.

BENTHIC ASSEMBLAGES OF KALAMATA PORT (MESSINIAKOS GULF) WITH EMPHASIS ON ALIEN SPECIES

Kambouroglou V.¹, and A. Nicolaidou²

*Dept. of Zoology - Marine Biology, Faculty of Biology, University of Athens,
Panepistimiopolis, GR 157 84, Athens, Greece
¹vkambour@biol.uoa.gr, ²anikol@biol.uoa.gr*

The benthic communities of the harbour of Kalamata (Messiniakos Gulf, Ionian Sea) were studied in the framework of a larger project concerning invasion of alien species in Greek ports through navigation. Community structure and abundance on both hard and soft substrata were investigated at eight stations from the inner to the outer harbour. A total of 1985 specimens were identified which belonged to 177 species or higher taxa. The number of taxa was approximately the same in the two types of substrata amounting to 97 and 91 in soft and hard bottom respectively. However, in the soft bottom 73% of the species belonged to the polychaetes and 26% to the mollusks, while on the hard substrata the dominance of the polychaetes decreased (41%) in favour of the crustacea (27%). The diversity was relatively low ranging from 2.12 to 2.87 in soft substrata and from 2.51 to 3.13 on the hard.

Three alien species were detected: The crab *Percnon gibbesi* (H. Milne Edwards, 1853), the polychaete *Pseudonereis anomala* (Gravier, 1901) and the gastropod *Strombus persicus* (Swainson, 1821). *P. gibbesi* is of tropical Atlantic origin. It has been reported from the central Mediterranean before, but its presence in Messiniakos Gulf is the earliest eastern Mediterranean record. The crab may have entered the Mediterranean either through larval drift, adult movements or accidental transport through shipping. Its maximum density in Kalamata was 1 indiv/m². *P. anomala* is a common species of hard-bottom communities in the Red Sea and the Indian and Pacific Oceans which has migrated to the Mediterranean Sea through the Suez Canal (Lessepsian migrant). Its presence in and near ports suggests that its spreading may have been facilitated by shipping. In Kalamata it was found at densities of 8-33 indiv/m². *S. persicus*, with density 8 indiv/m² in Kalamata, is also a Lessepsian immigrant, its distribution originally being restricted to the Arabian Sea and part of the Persian Gulf.

**ΘΕΩΡΗΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ ΤΩΝ
ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΤΟΥ ΧΟΡΙΟΥ ΤΩΝ ΩΘΟΥΛΑΚΙΩΝ ΤΩΝ
ΜΕΤΑΞΟΣΚΩΛΗΚΩΝ**

***Καραμάνος Θ., Παπανδρέου Ν.Χ., Οικονομίδου Β.Α.
και Χαμόδρακας Σ.Ι.***

*Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο
Αθηνών, Αθήνα 157 01*

Το χόριο είναι το κύριο συστατικό του κελύφους των ωοθυλακίων των μεταξοσκωλήκων. Είναι κυρίως πρωτεϊνικής φύσεως, και λόγω των εξαιρετικών μηχανικών και φυσικοχημικών του ιδιοτήτων, προστατεύει το ωοκύτταρο και το αναπτυσσόμενο έμβρυο από περιβαλλοντικούς κινδύνους. Έχουμε ήδη δείξει ότι πεπτίδια-ανάλογα τμημάτων της κεντρικής συντηρητικής περιοχής των οικογενειών Α και Β των πρωτεϊνών του χορίου δημιουργούν, σε ποικιλία συνθηκών, ινίδια με αμυλοειδή χαρακτηριστικά, γεγονός που μας οδήγησε να προτείνουμε ότι το χόριο είναι ένα φυσικό προστατευτικό αμυλοειδές. Αν και τα αμυλοειδή ινίδια έχουν συσχετισθεί με πλήθος ασθενειών, όπως η νόσος του Alzheimer, ο διαβήτης τύπου II, οι σπογγώδεις εγκεφαλοπάθειες, κ.α., οι οποίες πιστεύεται ότι προκαλούνται όταν υδατοδιαλυτές πρωτεΐνες μετατρέπονται σε κανονικά ινιδιακά συσσωματώματα που τελικά εναποτίθενται σε όργανα και ιστούς, υπάρχουν και οργανισμοί που εκμεταλλεύονται αυτή την ιδιότητα των πρωτεϊνών και των πεπτιδίων να φτιάχνουν τέτοιες δομές, κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες, και παράγουν νέες, διαφορετικές βιολογικές λειτουργίες. Πάντως η διαδικασία της δημιουργίας αμυλοειδών ινιδίων καθώς και οι ιδιότητες τους αποτελούν αντικείμενο εκτεταμένων ερευνών. Για το σκοπό αυτό, και σε συνδυασμό με πειραματικά δεδομένα, κατασκευάστηκαν δομικά μοντέλα των συντηρημένων περιοχών των πρωτεϊνών του χορίου με τεχνικές συγκριτικής προτυποποίησης (comparative modeling) και στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε μελέτη των αλληλεπιδράσεών τους, χρησιμοποιώντας τεχνικές αγκυροβόλησης πρωτεϊνών (docking). Οι παραπάνω θεωρητικές μελέτες σε συνδυασμό με τις πειραματικές ίσως ρίξουν φως στην κατανόηση της ελικοειδούς αρχιτεκτονικής του χορίου, καθώς και στην ερμηνεία των παθολογικών και μη ιδιοτήτων των αμυλοειδών ινιδίων.

THEORETICAL STUDIES OF SILKMOTH CHORION PROTEIN INTERACTIONS

***Karamanos Th., Papandreou N.C., Iconomidou V.A.,
and Hamodrakas S.J.***

Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Athens 157 01

Chorion is the major component of silkmoth eggshell. It is largely proteinaceous and due to the remarkable mechanical and physicochemical properties of its constituent proteins, it protects the oocyte and the developing embryo from environmental hazards. We have previously shown that peptide-analogues of the central conservative domains of the A and B classes of chorion proteins form, under a variety of conditions, fibrils with amyloid characteristics: these are straight, unbranched double helices of indeterminate length and uniform in diameter (~90 Å), which bind Congo red and their oriented fibers give 'cross-β' (where the β-strands are perpendicular to the fiber axis) X-ray diffraction patterns. This, led us to propose that silkmoth chorion is a natural protective amyloid. Although amyloid fibrils have been associated with many neurodegenerative diseases known as amyloidoses, including Alzheimer's disease, diabetes type II and prion diseases, which are believed to be caused when soluble proteins convert to ordered fibrillar aggregates that finally deposit in organs and tissues, occasionally, it seems that several living organisms take advantage of the inherent ability of proteins and peptides, to form such structures under certain conditions and generate novel and diverse biological functions, noted following our proposal for the existence of natural protective amyloids. However, the fibrillogenesis mechanisms and the structural properties of amyloid fibrils are still under intense investigation. For this purpose, in conjunction with experimental data, structural models of the conserved parts of chorion proteins of both families were constructed, utilizing comparative modeling. Their packing interactions were investigated theoretically, applying protein docking techniques. These studies, along with experimental data, may enlighten our understanding of chorion helicoidal architecture and may shed some light to the pathogenic and non-pathogenic properties of amyloid fibrils.

ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΣ ΦΤΕΡΩΝ ΤΑΡΙΧΕΥΜΕΝΩΝ ΠΤΗΝΩΝ: ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

Καραντώνη Ε., Μαλέα Α., Παναγιάρης Γ.

*Τμήμα Συντήρησης Αρχαιοτήτων & Έργων Τέχνης, ΤΕΙ Αθήνας, Αγ. Σπυρίδωνος &
Μήλου 1, 12210, Αιγάλεω, Αθήνα*

Ο καθαρισμός των αντικειμένων που φέρουν φτερά είναι ιδιαίτερα δύσκολος εξαιτίας της λεπτεπίλεπτης δομής των φτερών και της φύσης ορισμένων χρωματισμών τους. Σκοπός της συγκεκριμένης εργασίας ήταν η επιλογή της βέλτιστης μεθόδου για τον καθαρισμό του φτερώματος ενός ταριχευμένου μαύρου πτηνού. Η απομάκρυνση των επικαθήσεων από τέτοια αντικείμενα μπορεί να γίνει με μηχανικό ή χημικό τρόπο. Οι δοκιμές καθαρισμού πραγματοποιήθηκαν σε δείγματα από φτερά περιστεριού (καφέ-μαύρου χρώματος). Οι μέθοδοι που δοκιμάστηκαν και συγκρίθηκαν ήταν οι εξής: χημικός καθαρισμός με ακετόνη και με αιθανόλη, και μηχανικός καθαρισμός με τις μεθόδους της αναρρόφησης με ηλεκτρική σκούπα και με χρήση laser. Στην περίπτωση του laser πραγματοποιήθηκαν δοκιμές στο ορατό (στα 532nm) και το υπέρυθρο (στα 1064nm) μήκος κύματος από ένα Q-switched Nd:YAG laser. Και στα δύο μήκη κύματος δοκιμάστηκαν διάφορες τιμές πυκνότητας ενέργειας. Η αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των μεθόδων έγινε με στερεομικροσκόπιο και ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης. Στην περίπτωση του καθαρισμού με ακετόνη και αιθανόλη παρατηρήθηκε σχετική απομάκρυνση των επικαθήσεων και ενοποίηση των μυστάκων του φτερού σε μικρές ομάδες. Ο καθαρισμός του φτερού με ηλεκτρική σκούπα, αν και έδωσε πολύ καλά αποτελέσματα, καταπόνησε το φτερό. Η ακτινοβολία laser στα 532nm προκάλεσε αποχρωματισμό. Αντίθετα, πολύ καλός καθαρισμός, χωρίς αποχρωματισμό ή διατάραξη των μυστάκων, πραγματοποιήθηκε με την υπέρυθρη ακτινοβολία laser (στα 1064nm) όταν η πυκνότητα ενέργειας ήταν 0,31 J/cm². Μετά την ολοκλήρωση των δοκιμών και την συγκριτική αξιολόγησή τους, πραγματοποιήθηκε ο καθαρισμός του ταριχευμένου πτηνού με υπέρυθρη ακτινοβολία (1064nm) με πυκνότητα ενέργειας 0,31 J/cm². Μετά την εφαρμογή οι επικαθήσεις που είχαν αιχμαλωτιστεί στην μικροδομή του φτερού απομακρύνθηκαν χωρίς να προκληθεί αποχρωματισμός.

CLEANING OF FEATHERS OF TAXIDERMY BIRDS: COMPARATIVE STUDY

Karantoni E., Malea E., Panagiariis G.

*Department of Conservation of Antiquities and Works of Art, T.E.I. of Athens, Ag.
Spiridonos Str., 12210, Egaleo, Athens*

The cleaning procedure of objects with feathers is a particular difficult task especially because of the feathers fine structure and their coloration. The aim of this project was the choice of the best cleaning method for the plumage of a taxidermy black bird. The removal of dust deposits from such objects can be achieved by mechanical or chemical way. Preliminary cleaning tests were performed on reference samples of pigeon feathers (brownish-black color). The following methods were tested and compared: chemical cleaning using acetone and ethanol, and mechanical cleaning using vacuum and laser. As far as the laser is concerned, tests were performed employing visible (at 532nm) and infrared (at 1064nm) wavelengths from a Q-switched Nd:YAG laser system. In both wavelengths, tests were carried out at different levels of fluence. The physicochemical methods used to evaluate the effectiveness of the cleaning methods were stereomicroscopy and scanning electron microscopy. In the case of acetone and ethanol cleaning, partial removal of deposits and grouping of the barbs of feather were observed. Vacuum cleaning gave very good results but it disturbed the feather. The visible radiation (at 523nm) from the laser caused discoloration. On the contrary, the infrared radiation (στα 1064nm) at 0,31 J/cm² successfully removed the deposits, without surface disruption or discoloration. Once the cleaning tests had been completed and their results had been elaborated, the cleaning of the taxidermy bird was proceeded by means of infrared radiation at 0,31 J/cm². The cleaning proved very successful as all the trapped soil deposits in the feather microstructure were removed without causing any discoloration.

ΟΙΚΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΜΑΚΡΟΑΣΠΟΝΔΥΛΗΣ ΠΑΝΙΔΑΣ ΡΕΟΝΤΩΝ ΥΔΑΤΩΝ ΣΕ ΑΓΡΟΤΙΚΗ ΛΕΚΑΝΗ ΑΠΟΡΡΟΗΣ

Καραούζας Ι., Γκρίτζαλης Κ. και Θ. Κουβαρντά

*ΕΛΚΕΘΕ, Ινστιτούτο Εσωτερικών Υδάτων. 46,7 χλμ Αθηνών – Σουνίου, Ανάβυσσος
19 013, Αττική*

Οι αγροτικές χρήσεις γης έχουν σημαντική επίδραση στην ποιότητα και στα ενδιαιτήματα των τρεχούμενων νερών καθώς και στην βιολογική τους σύνθεση. Ο σκοπός της μελέτης αυτής ήταν να αξιολογηθεί η επίδραση των αγροτικών χρήσεων γης στην δομή και σύνθεση της μακροασπόνδυλης πανίδας στον ποταμό Πάμισο (Ν.Δ. Πελοπόννησος), ο οποίος διασχίζει μια λεκάνη απορροής 781 χλμ² που χρησιμοποιείται κυρίως για καλλιέργειες και συγκεκριμένα για την παραγωγή ελαιόλαδου. Οι κύριες πηγές ρύπανσης της προέρχονται από τα απόβλητα ελαιοτριβείων και λύματα από αστικές περιοχές καθώς και από την χρήση λιπασμάτων και φυτοφαρμάκων. Πέντε σταθμοί δειγματοληψίας επιλέχθηκαν κατά μήκος του ποταμού και μακροασπόνδυλοι οργανισμοί συλλέχθηκαν με βάση το ποσοστό παρουσίας των ενδιαιτημάτων του κάθε σταθμού, στην αρχή του ξηράς περιόδου (Ιούνιος 2002) και στο τέλος της υγρής περιόδου (Απρίλιος 2003). Χρήσεις γης σε επίπεδο τοπικό και λεκάνης καταγράφηκαν και διάφοροι φυσικοχημικοί παράμετροι αναλύθηκαν κατά την διάρκεια των δύο δειγματοληψιών. Επίσης, εφαρμόστηκε το River Habitat Survey (RHS), μια μέθοδος εκτίμησης της υδρογεομορφολογικής κατάστασης του ποταμού. Γενικά, η οικολογική ποιότητα των σταθμών δια-κυμάνθηκε από φτωχή έως μέτρια ενώ η υδρομορφολογική ποιότητα των περισσότερων σταθμών ήταν σημαντικά τροποποιημένη. Οι επιδράσεις της ρύπανσης και των υδρομορφολογικών τροποποιήσεων είχε σαν αποτέλεσμα την δημιουργία μίας βιοκοινωνίας αποτελούμενη από είδη ανθεκτικά και με ευρεία κατανομή με σημαντικά μεγάλους πληθυσμούς. Οι τροφικές συνήθειες των μακροασπόνδυλων οργανισμών δεν παρουσίασαν την φυσική και αναμενόμενη κατανομή κατά μήκος του ποταμού. Οι θρυμματοφάγοι στους περισσότερους σταθμούς αντι-καταστάθηκαν από φυτοφάγους ενώ οι τελευταίοι μαζί με τους συλλέκτες ήταν τα κυρίαρχα είδη σε όλους τους σταθμούς χωρίς σημαντικές εποχικές αλλαγές. Η σημαντική αύξηση των ηθμοφάγων που παρατηρήθηκε την άνοιξη στους περισσότερους σταθμούς υποδηλώνει την αύξηση της εισροής των σωματιδιακών οργανικών υλικών.

ECOLOGICAL CHARACTERISTICS OF MACROINVERTEBRATE FAUNA IN AN AGRICULTURAL RIVER BASIN

Karaouzas I., Gritzalis K., and Th. Kouvarda

*HCMR, Institute of Inland Waters
46.7 km Athens-Sounion Av., Anavissos 19 013, Attica, Greece*

Agricultural land uses have a strong influence on river water and habitat quality and on its biotic components. The aim of this study was to assess the influence of agricultural land uses on the structure and composition of macroinvertebrate fauna in Pamisos River (S.W. Peloponnesus, Greece) that flows through a river basin of 781 km², which is mainly used for agricultural purposes, especially for olive oil production. Most important pollution sources in the basin include wastewaters from olive oil mills and urban domestic areas and fertiliser/pesticide application. Five sampling sites were selected along the longitudinal gradient of Pamisos river and benthic macroinvertebrates were sampled proportionally to microhabitat coverage of each site at the beginning of the dry season (June 2002) and at the end of the wet season (April 2003). Land use at local and catchment scale and physicochemical variables were collected while River Habitat Survey (RHS) was performed to assess the hydromorphological condition of the sites. Overall, sites ranged from poor to moderate ecological quality, while habitat modification was significant in most sites. Impacts of pollution (nutrient) and habitat modification have resulted to the formation macroinvertebrate community dominated by tolerant and generalist species with significant abundances. Macroinvertebrate functional feeding groups did not show the expected longitudinal changes. Shredders have decreased significantly and been replaced by grazers in most sites. Gatherers/collectors and grazers/scrapers were the dominant functional feeding groups in all sites with no substantial seasonal shifts, whereas the increase in filter feeders in most sites during spring revealed high organic particulate matter inputs.

**ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΠΟΛΙΚΩΝ ΚΑΤΑΛΟΙΠΩΝ ΠΙΘΑΝΩΝ ΔΙΑ-
ΜΕΜΒΡΑΝΙΚΩΝ ΤΜΗΜΑΤΩΝ ΣΤΗΝ ΔΙΑΠΕΡΑΣΗ ΞΑΝΘΙΝΗΣ
YGFΟ ΤΗΣ *E. COLI*: ΟΥΣΙΑΣΤΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ HIS31,
GLU272, ΚΑΙ ASP304**

Καρενά Α. και Ε. Φριλίγγος

Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων Ιατρική Σχολή, Ιωάννινα 45110

Η διαπεράση ξανθίνης YgfO της *E. coli* K-12 αποτελεί πρότυπο σύστημα μελέτης των σχέσεων δομής-λειτουργίας για τους μεταφορείς νουκλεοτιδικών βάσεων (πουρινών) της οικογένειας NAT/NCS2, μιας σημαντικής και εξελικτικά συντηρημένης οικογένειας πρωτεϊνών ενεργού μεταφοράς. Συστηματική μεταλλαξιγένεση των 14 πολικών και ιονιζόμενων καταλοίπων αμινοξέων (His, Arg, Lys, Asp, Glu) που εντοπίζονται σε πιθανά διαμεμβρανικά τμήματα της YgfO αποκάλυψε ότι δύο κατάλοιπα (Glu272 και Asp304) είναι αναντικατάστατα για τον μηχανισμό ενεργού μεταφοράς ξανθίνης, καθώς οι αντικαταστάσεις E272D, E272Q, E272C, D304E, D304N και D304C οδηγούν σε φυσιολογικά επίπεδα έκφρασης στη μεμβράνη αλλά μηδενική ενεργότητα. Τα κατάλοιπα αυτά εντοπίζονται σε εξαιρετικά συντηρημένες θέσεις της αλληλουχίας του μορίου (E272, απόλυτα συντηρημένη και D304, συντηρημένη ως D, E, ή N, σε όλους τους γνωστούς μεταφορείς NAT/NCS2), ανοδικά μιας σημαντικής περιοχής του μεταφορέα (315-340, NAT motif) που έχει προταθεί ότι συμμετέχει στο μονοπάτι μεταφοράς υποστρώματος και στον καθορισμό της εξειδίκευσης αναγνώρισης πουρινών, τόσο στον μεταφορέα ξανθίνης YgfO (Karatza et al., 2006) όσο και στον μεταφορέα ουρικού/ξανθίνης του ασκομύκητα *Aspergillus nidulans* UapA (Koukaki et al., 2005). Επίσης, σημαντικός εμφανίζεται να είναι και ο ρόλος της His31, ενός απολύτως συντηρημένου καταλοίπου των μεταφορέων NAT/NCS2 στο μέσον της διαμεμβρανικής έλικας I. Συγκεκριμένα, επίπεδα ενεργότητας που είναι ευθέως ανάλογα με τα επίπεδα έκφρασης στην κυτταροπλασματική μεμβράνη ευρέθησαν για τα μεταλλάγματα H31Q (150% σε σχέση με την φυσικού τύπου διαπεράση), H31N (100%), H31C και H31L (40%), H31K και H31R (0.1-0.2%). Τα αποτελέσματα υποδεικνύουν μία ειδική (ενδομοριακή ή διαμοριακή) αλληλεπίδραση της His31 που συμμετέχει στην βέλτιστη αναδίπλωση και είσοδο στη μεμβράνη κατά την τοπογένεση του μορίου ή επηρεάζει την δομική του σταθερότητα. Είναι αξιοσημείωτο ότι, κατά παρόμοιο τρόπο, αντικατάσταση του αντίστοιχου καταλοίπου (His86) του ομόλογου μεταφορέα UapA, στους ασκομύκητες (Pantazopoulou and Diallinas, 2006), οδηγεί σε προβλήματα τοπογένεσης και ανεπαρκή στόχευση του μορίου στην πλασματική μεμβράνη.

Αναφορές

- Karatza et al. (2006) *J. Biol. Chem.* 281, 39881-90
Koukaki et al. (2005) *J. Mol. Biol.* 350, 499-513
Pantazopoulou and Diallinas (2006) *Mol. Membr. Biol.* 23, 337-48

**SCANNING ANALYSIS OF PUTATIVE INTRA-MEMBRANE
POLAR RESIDUES IN THE XANTHINE PERMEASE YGFO OF *E.
COLI*: ESSENTIAL ROLES OF HIS31, GLU272, ASP304**

Karena E., and S. Frillingos

Lab. of Biological Chemistry, University of Ioannina Medical School, Ioannina 45110

YgfO from *E. coli* K-12 is used as a model molecular system for the analysis of structure-function relationships in the ubiquitous nucleobases-ascorbate transporter family (NAT/NCS2). Systematic replacement of the 14 intra-membrane ionizable residues of the YgfO permease reveals that two of them, Glu272 and Asp304, are irreplaceable for active xanthine transport, since mutants E272D, E272Q, E272C, D304E, D304N and D304C are normally expressed in the inner *E. coli* membrane but lack any uptake activity. These residues are located at conserved NAT/NCS2 positions (E272, irreplaceable; D304, replaceable only with E or N), upstream of a conserved sequence region (315-340, NAT motif) implicated in defining the substrate pathway and purine recognition in both YgfO (Karatza et al., 2006) and UapA, the uric acid/xanthine-transporting homologue from *Aspergillus nidulans* (Koukaki et al., 2005). The role of His31, an absolutely conserved residue of NAT/NCS2 transporters, in the approximate middle of transmembrane helix I, also appears to be important. In particular, levels of xanthine uptake activity and expression in the inner *E. coli* membrane are quantitatively proportional for mutants H31Q (150% of wild-type), H31N (100%), H31C and H31L (40%), H31K and H31R (0.1-0.2%). The results indicate that His31 participates in a specific (intra- or inter-molecular) interaction, conferring to the optimal folding and insertion of YgfO in the membrane, during topogenesis, or to the structural stability of the membrane-embedded molecule. Importantly, analogous observations have been made with the corresponding His86-mutations of the homologous fungal transporter UapA (Pantazopoulou and Diallinas, 2006), which lead to topogenesis problems and inadequate targeting of the molecule to the plasma membrane.

References

- Karatza et al. (2006) *J. Biol. Chem.* 281, 39881-90
Koukaki et al. (2005) *J. Mol. Biol.* 350, 499-513
Pantazopoulou and Diallinas (2006) *Mol. Membr. Biol.* 23, 337-48

**ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΟΙΚΟΛΟΓΙΚΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΝΕΡΟΥ
ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΟΧΗ Ν. ΦΙΛΑΔΕΛΦΕΙΑΣ (ΓΑΛΛΙΚΟΣ ΠΟΤΑΜΟΣ)
ΚΑΤΑ ΤΑ ΕΤΗ 2004 – 2006**

**Καρμέζη Μ., Πετρίδου Μ., Κουσέρας Θ., Γούσια Ε., Κατσικάτσου Μ.,
Πετρίκη Ο., Πώρρα Μ., Μπόμπορη Δ., Λαζαρίδου Μ.**

*Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Ζωολογίας,
Θ. 134, 54124 Θεσσαλονίκη*

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η εκτίμηση, σύμφωνα με την οδηγία 2000/60/ΕΚ, της ποιότητας του νερού στην περιοχή του Γαλλικού ποταμού κοντά στο χωριό Ν. Φιλαδέλφεια (Β 40° 48' 764", Α 22° 51' 689"). Η έρευνα έγινε στο πλαίσιο του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών του Τμήματος Βιολογίας του Α.Π.Θ. Δειγματοληψίες νερού και βιολογικού υλικού πραγματοποιήθηκαν τον Οκτώβριο του 2004 και 2005 και το Μάρτιο και Οκτώβριο του 2006. Τα βενθικά μακροασπόνδυλα συλλέχθηκαν με την ημιποσοτική μέθοδο 3+1 λεπτού κλάτσημα-σάρωση (kick-sweep). Οι δειγματοληψίες ψαριών έγιναν με ηλεκτραλιεία. Οι μετρήσεις των φυσικοχημικών παραμέτρων του νερού έγιναν *in situ* και στο εργαστήριο. Η εκτίμηση της φυσικής κατάστασης του ποταμού στη συγκεκριμένη θέση πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο River Habitat Survey (RHS). Η σύνθεση της βιοκοινωνίας των βενθικών μακροασπονδύλων αναλύθηκε με τις πολυπαραγοντικές τεχνικές: ανάλυση κανονικών αντιστοιχιών (CCA) και ανάλυση ποσοτών ομοιότητας (Simpser). Η οικολογική κατάσταση της θέσης δειγματοληψίας προσδιορίστηκε με τη χρήση του Ελληνικού Συστήματος Αξιολόγησης (ΕΣΑ), ενώ χρησιμοποιήθηκε και ο Ιβηρικός Δείκτης Συνεχούς Παρακολούθησης (ΙΒΔΣΠ). Σύμφωνα με τη μέθοδο RHS η περιοχή δειγματοληψίας χαρακτηρίστηκε ως «σημαντικά τροποποιημένη». Η σύνθεση και η αφθονία των οικογενειών των βενθικών μακροασπονδύλων εμφάνισαν διαφορές κατά τη διάρκεια της έρευνας. Αύξηση της αφθονίας και του αριθμού των ταξινομικών ομάδων παρατηρήθηκε από το 2004 έως το 2006. Σύμφωνα με το ΕΣΑ η ποιότητα του ποταμού τον Οκτώβριο του 2004 χαρακτηρίστηκε ως «κακή», τον Οκτώβριο του 2005 ως «μέτρια», το Μάρτιο του 2006 ως «καλή» και τον Οκτώβριο του 2006 ως «μέτρια». Ο δείκτης ΙΒΔΣΠ χαρακτήρισε τα νερά του ποταμού τον Οκτώβριο του 2004 ως «ρυπασμένα», τον Οκτώβριο του 2005 ως «διαταραγμένα», το Μάρτιο του 2006 ως «πολύ καθαρά» και τον Οκτώβριο του 2006 ως «καθαρά». Τον Οκτώβριο του 2006 αναγνωρίστηκαν τέσσερα είδη ψαριών, τα *Gobio gobio*, *Barbus peloponnesius*, *Gambusia affinis* και *Leuciscus cephalus*, με το τελευταίο να εμφανίζει την υψηλότερη σχετική αφθονία σε αριθμό και κατά βάρος συμμετοχή. Συμπερασματικά, η οικολογική ποιότητα στην εξεταζόμενη θέση (περιοχή Ν. Φιλαδέλφειας, Γαλλικός ποταμός) βρέθηκε «κακή» έως «μέτρια» εκτός από τον Μάρτιο του 2006 («καλή») που ήταν η μοναδική δειγματοληψία σε περίοδο υψηλής ροής.

ECOLOGICAL EVALUATION OF WATER QUALITY IN THE LOWER PART OF GALLIKOS RIVER DURING THE PERIOD 2004–2006

**Karmezi M., Petridou M., Kouseras T., Gousia E., Katsikatsou M., Petriki
O., Porra M., Bobori D., Lazaridou M.**

*Aristotle University of Thessaloniki, School of Biology, Department of Zoology,
UPBox 134, 54124, Thessaloniki*

The aim of the present research was to evaluate the ecological quality of the water at the lowland part of Gallikos river near the village N. Philadelphia (N 40° 48' 764'', E 22° 51' 689'') in accordance with the Water Framework Directive 2000/60 /EC. This research forms part of a postgraduate project running at the School of Biology of the Aristotle University. Samples of water, benthic macroinvertebrates and fish were collected in October of 2004 and 2005 and in March and October of 2006. Benthic macroinvertebrates were collected with the semi-quantitative 3+1 minutes kick-sweep method, while fish by electrofishing. Measurements of physico-chemical parameters were performed in situ and in the laboratory. The natural condition of the river was evaluated with the River Habitat Survey (RHS) method. Two multivariate statistical methods were applied to the macroinvertebrate data: Canonical Correspondence Analysis (CCA) and Similarity Percentages Analysis (Simper). The ecological quality of the river was evaluated using the Hellenic Evaluation System (HES). The Iberian Biological Monitoring Working Party (IBMWP) score was also applied. According to the RHS method the sampling site was classified as "significantly modified". Differences in the synthesis and abundance of the benthic biocommunity were also observed during the studied period. An increase in the abundance and number of taxa was detected from 2004 to 2006. According to HES the quality of the river in the sampling site was estimated as "bad" in October 2004, "moderate" in October 2005, "good" in March 2006 and "moderate" in October 2006. The IBMWP score classified the sampling site as "polluted" in October 2004, as "with some disturbance" in October 2005, as "very clean" in March 2006 and "clean" in October 2006. In October 2006 four fish species were identified, *Gobio gobio*, *Barbus peloponnesius*, *Gambusia affinis* and *Leuciscus cephalus*, with the latter showing the highest relative abundance in terms of number and weight. In conclusion, the ecological quality of the region upstream N. Philadelphia (Gallikos river) was found "bad" to "moderate" except for March 2006 ("good") which represented the high flow period.

ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΩΝ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ ΤΟΥ CTLA-4 ΜΕ ΤΗΝ ΝΟΣΟ ΤΟΥ GRAVES

Καρναούρη Α.Χ., Μπάγκος Π.Γ. και Χαμόδρακας Σ.Ι.

*Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο
Αθηνών, Αθήνα 157 01*

Το CTLA-4 (Cytotoxic T Lymphocyte-associated Antigen 4, CD152) είναι μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη, μέλος της υπερικογένειας των ανοσο-σφαιρινών, η οποία διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη φυσιολογική ομοιόσταση, ως εναλλακτικός προσδέτης των μορίων B7-1 και 2, δρώντας ως ανασταλτικός παράγοντας και μειορρυθμίζοντας τη λειτουργία των T-λεμφοκυττάρων. Ορισμένοι πολυμορφισμοί του CTLA-4 έχουν κατά καιρούς συσχετιστεί με διάφορα αυτοάνοσα νοσήματα, μεταξύ των οποίων είναι η νόσος του Graves. Πρόκειται για μια νόσο του θυρεοειδούς αδένου, η οποία χαρακτηρίζεται από αυξημένα επίπεδα κυκλοφορούντων ενεργοποιημένων T-κυττάρων και θυρεοειδικών αυτοαντισωμάτων που κατευθύνονται προς τον TSH υποδοχέα, προάγοντας έτσι την ενεργοποίηση της λειτουργίας του αδένου και προκαλώντας υπερθυρεοειδισμό. Σε μια προσπάθεια συνεκτίμησης όλων των δεδομένων που έχουν παρουσιαστεί από τις επιμέρους μελέτες που συσχετίζουν το CTLA-4 με την εμφάνιση της νόσου του Graves, προχωρήσαμε σε μια μετα-ανάλυση των επιδημιολογικών μελετών. Στη μελέτη μας συμπεριλήφθηκαν 35 έρευνες οι οποίες συγκέντρωναν πληροφορίες για συνολικά 7519 ασθενείς και 9123 υγιή άτομα (μάρτυρες). Οι πολυμορφισμοί που μας απασχόλησαν ήταν ο +49 A/G στο εξόνιο 1, που αφορά αντικατάσταση της θρεονίνης από αλανίνη στην 17^η θέση του προδρόμου πρωτεϊνικού μορίου (33 μελέτες), ο -318 C/T στον υποκινητή που πιθανολογείται ότι σχετίζεται με διαφορική έκφραση της πρωτεΐνης (11 μελέτες) και ο c160 (A/G) πολυμορφισμός που αφορά ένα τμήμα 6.1kb στην 3' αμετάφραστη περιοχή του CTLA-4 (6 μελέτες). Τα αποτελέσματα ήταν ετερογενή και η ανάλυση πραγματοποιήθηκε με χρήση μοντέλων τυχαίων επιδράσεων (random effects models). Τα αποτελέσματα μας, έδειξαν ότι υπάρχει σημαντική συσχέτιση των πολυμορφισμών +49A/G και c160 του CTLA-4 και της ασθένειας, καθώς και στις δυο περιπτώσεις, η ύπαρξη του αλληλομόρφου G αυξάνει στατιστικώς σημαντικά την πιθανότητα εμφάνισης της νόσου. Όσον αφορά τον πολυμορφισμό -318C/T, η ύπαρξη του πολύ σπανίου αλληλομόρφου T φαίνεται να λειτουργεί 'προστατευτικά' απέναντι στην ασθένεια, αν και τα αποτελέσματα είναι επισφαλή λόγω της μικρής συχνότητας εμφάνισης αυτού του αλληλομόρφου.

CORRELATION BETWEEN CTLA-4 POLYMORPHISMS AND THE RISK OF DEVELOPING GRAVES' DISEASE

Karnaouri A.C., Bagos P.G., and Hamodrakas S.J.

*Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of
Athens, Athens 157 01*

CTLA-4 (Cytotoxic T Lymphocyte-associated Antigen 4, CD152) is a single-spanning membrane protein, member of the immunoglobulin superfamily which plays an important role in homeostasis, transmitting an inhibitory signal to T cells. Whereas the antigen-specific signal in T-cell activation is mediated through the HLA class II and T-cell receptor (TCR) interaction, the cytotoxic antigen 4 (CTLA-4) is an important co-stimulatory receptor molecule, interacting with the B7-1 and B7-2 molecules of the antigen-presenting cell, down-regulating T-cell function. Various single nucleotide polymorphisms (SNPs) of the CTLA-4 gene have been implicated in susceptibility to autoimmune diseases, such as Graves' disease. Graves' disease is an inflammatory disease, characterized by increased circulating activated T cells and thyroid-specific autoantibodies. Antibodies directed against the TSH receptor stimulate thyroid function, leading to glandular overactivity, which causes hyperthyroidism. In order to quantify the results extracted from previous studies, we conducted a meta-analysis to evaluate the association of CTLA-4 variants with Graves' disease. We identified 35 eligible studies, which included 7519 Graves' disease cases and 9123 healthy controls. Three polymorphisms were of major interest in our meta-analysis: the exon 1, +A49G polymorphism, which is responsible for a substitution of Threonine by Alanine in the 17th position of the precursor protein (33 studies), the promoter-C318T polymorphism, which is speculated to be responsible for differential expression of the protein (11 studies) and ct60 (A/G) polymorphism, mapped to the 6.1kb-3'UTR of the CTLA-4 gene. The results were heterogeneous and for all analyses, random effect models were used. The results suggest that the G allele of ct60 and the G allele at position +49A/G are associated with genetic susceptibility to Graves' disease. The T allele at position -318 seems to be 'protective' against Graves' disease; however, this should be interpreted carefully, taking into account the very low frequency of the particular allele.

**ΠΡΟΣΑΡΜΟΓΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΑΛΟΦΙΛΩΝ ΑΡΧΑΙΩΝ: ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ
ΑΠΟ ΜΕΛΕΤΕΣ ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗΣ ΠΡΟΤΥΠΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΗΣ
ΔΙΥΔΡΟΦΟΛΙΚΗΣ ΑΝΑΓΩΓΑΣΗΣ**

Καστρίτης Π.Α., Παπανδρέου Ν.Χ. και Χαμόδρακας Σ.Ι.

*Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Πανεπιστήμιο
Αθηνών, Αθήνα 157 01*

Οι πρωτεΐνες των αλόφιλων αρχαίων έχουν την ικανότητα να λειτουργούν σε υψηλές συγκεντρώσεις αλάτων, που προκαλούν αποδιάταξη ή απενεργοποίηση ομόλογων πρωτεϊνών από μη αλόφιλα είδη. Η ικανότητα προσαρμογής των αλόφιλων αρχαίων σε υψηλές συγκεντρώσεις άλατος και ο μηχανισμός μέσω του οποίου επιτυγχάνεται η προσαρμογή δεν έχουν διασαφηνιστεί πλήρως. Προκειμένου να ληφθούν χρήσιμες πληροφορίες για την εξήγηση του φαινομένου, πραγματοποιήθηκαν μελέτες συγκριτικής προτυποποίησης της Διυδροφολικής Αναγωγάσης (DHFR; E.C. 1.5.1.3) αλόφιλων αρχαίων, που οδήγησαν στην δημιουργία τρισδιάστατων μοντέλων. Τα μοντέλα βελτιστοποιήθηκαν με υπολογισμούς ελαχιστοποίησης ενέργειας, έγινε έλεγχος πιστότητάς τους καθώς και περαιτέρω αναλύσεις. Συμπληρωματικά, πραγματοποιήθηκαν υπολογισμοί αμινοξικής σύστασης σε επίπεδο ακολουθίας και δομής, οπτική παρατήρηση των επιφανειών και των πυρήνων των μοντέλων, αλλά και υπολογισμοί της κατανομής του ηλεκτροστατικού δυναμικού στην επιφάνειά τους, σε σύγκριση με ομόλογες DHFRs μη αλόφιλων ειδών. Τα δεδομένα που προέκυψαν παρέχουν στοιχεία που πιθανόν ρίχνουν κάποιο φως στον μηχανισμό του φαινομένου: Οι DHFRs των αλόφιλων αρχαίων πιθανότατα διατηρούν το δίπλωμά τους σε υψηλές συγκεντρώσεις αλάτων, έχοντας πολύ αρνητικά φορτισμένες επιφάνειες και ασθενείς υδρόφοβους πυρήνες.

HALOADAPTATION: INSIGHTS FROM COMPARATIVE MODELING STUDIES OF HALOPHILIC ARCHAEAL DHFRs

Kastritis P.L., Papandreou N.C., and Hamodrakas, S.J.

*Faculty of Biology, Department of Cell Biology and Biophysics, University of
Athens, Panepistimiopolis, Athens 157 01, Greece*

Proteins of halophilic archaea function in high salt concentrations that inactivate or precipitate homologous proteins from non-halophilic species. Haloadaptation and the mechanism behind the phenomenon are not yet fully understood. In order to obtain useful information, homology modeling studies of Dihydrofolate Reductases (DHFR; E.C. 1.5.1.3) from halophilic archaea were performed that led to the construction of structural models. These models were subjected to energy minimization, structural evaluation and analysis. Complementary approaches concerning calculations of the amino acid composition and visual inspection of the surfaces and cores of the models, as well as calculations of electrostatic surface potentials, in comparison to non-halophilic DHFRs were also performed. The results provide evidence that sheds some light to the phenomenon of haloadaptation: DHFRs from halophilic archaea may maintain their fold, in high salt concentrations, by sharing highly negatively charged surfaces and weak hydrophobic cores.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΔΙΑΤΑΡΑΧΩΝ ΣΤΟ ΦΥΤΟΠΛΑΓΚΤΟ ΤΗΣ ΛΙΜΝΗΣ ΚΑΣΤΟΡΙΑΣ

Κατσιάπη Μ.¹, Βαρδάκα Ε.², Κορμάς Κ.³, Μουστάκα-Γούνη Μ.^{1,*}

¹Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης,
Τ.Θ 109, 541 24 Θεσσαλονίκη (*e-mail: mmustaka@bio.auth.gr)

²Τμήμα Τεχνολογίας Αλιείας & Υδατοκαλλιέργειών, Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό
Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης, Παράρτημα Ν. Μουδανιών, Τ.Θ. 14561, 54 101
Ν. Μουδανιά

³Τμήμα Γεωπονίας, Ιχθυολογίας & Υδάτινου Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο
Θεσσαλίας,, 384 46 Νέα Ιωνία, Βόλος

Η σύνθεση και η διαδοχή του φυτοπλαγκτού σε μια λίμνη επηρεάζονται σε μεγάλο βαθμό από την επίδραση φυσικών ή ανθρωπογενών διαταραχών. Στην εύτροφη Λίμνη Καστοριάς, η οποία από παλιά χαρακτηρίζεται από επικράτηση κυανοβακτηρίων καθ'όλη τη διάρκεια του έτους, διερευνήθηκαν οι μεταβολές στη σύνθεση και τη διαδοχή των ειδών του φυτοπλαγκτού κατά τη διάρκεια της θερινής περιόδου του έτους 2005. Η ποικιλότητα ειδών φυτοπλαγκτού ήταν υψηλή και οι διακυμάνσεις της συνολικής βιομάζας έντονες, ενώ για πρώτη φορά στη διάρκεια της τελευταίας δεκαετίας παρατηρήθηκαν να επικρατούν και άλλες ομάδες του φυτοπλαγκτού πλην των κυανοβακτηρίων, όπως τα χλωροφύκη και τα διάτομα. Η υψηλή συχνότητα βροχοπτώσεων και η ελεγχόμενη απομάκρυνση νερού από τη λίμνη με τη μορφή διαταραχής, φαίνεται ότι οδήγησαν σε καθυστερημένη εμφάνιση και επικράτηση των κυανοβακτηρίων. Επίσης, είδη όπως τα *Limnothrix redekei* και *Cylindrospermopsis raciborskii* τα οποία ήταν κυρίαρχα στο φυτοπλαγκτό της λίμνης κατά τη διάρκεια της θερινής περιόδου τα προηγούμενα έτη, δεν παρατηρήθηκαν. Ωστόσο, το κυρίαρχο από τα κυανοβακτήρια είδος *Microcystis aeruginosa* εξακολουθεί να σχηματίζει άνθιση νερού στη λίμνη. Η απομάκρυνση νερού από τη λίμνη με τη μορφή διαταραχής σε περιόδους κρίσιμες για την αύξηση του φυτοπλαγκτού, φαίνεται να αποτελεί καλό διαχειριστικό εργαλείο στα πλαίσια αποκατάστασης της λίμνης. Παρόλα αυτά, η βελτίωση στην οικολογική κατάσταση της λίμνης τη συγκεκριμένη περίοδο μπορεί να είναι προσωρινή και περιορισμένη λόγω της αύξησης ανθεκτικών στην έκπλυση κυανοβακτηρίων, όπως το κυανοβακτήριο *M. aeruginosa*.

DISTURBANCE EFFECTS ON THE PHYTOPLANKTON OF LAKE KASTORIA

Katsiapi M.¹, Vardaka E.², Kormas K.³, Moustaka-Gouni M.^{1,}*

¹*Department of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki,
GR-541 24 Thessaloniki, Greece (*e-mail: mmustaka@bio.auth.gr)*

²*Department of Fisheries and Aquaculture Technology, Alexander Technological
Educational Institute of Thessaloniki, Campus of Nea Moudania, P.O. Box 157,
GR-632 00 Nea Moudania, Greece*

³*Department of Ichthyology and Aquatic Environment, University of Thessaly, 384
46 Nea Ionia, Greece*

The role of disturbances is critical for the composition and succession of freshwater phytoplankton. Species composition and succession were studied during the summer of 2005 in the eutrophic Lake Kastoria, which has a history of cyanobacterial blooms throughout the year. Species diversity was high and phytoplankton biomass exhibited remarkable fluctuations. Besides cyanobacteria, dominance of other phytoplankton groups such as chlorophytes and diatoms was recorded for the first time during the last decade. Rainfall events of high frequency and flushing of the lake through its outflow appear to have a negative effect on cyanobacteria growth, resulting in their delayed dominance in phytoplankton. The cyanobacteria *Limnothrix redekei* and *Cylindrospermopsis raciborskii* that dominated the lake's phytoplankton during the summer of previous years were not detected in the lake. However, a water bloom dominated by the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* was recorded. Flushing of the lake during periods that are critical for cyanobacteria dominance in phytoplankton may provide an effective measure in the lake's restoration. Nevertheless, the observed improvement of the lake's ecological status may be temporary and restricted due to the development of cyanobacteria species that are tolerant to flushing, such as *M. aeruginosa*.

**ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΠΟΥ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΟΥΝΤΑΙ ΑΠΟ
ΕΠΑΓΩΓΕΙΣ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΟΣΩΜΑΤΩΝ (PPAR) ΣΤΗΝ ΚΑΡΔΙΑ
ΔΙΑΒΗΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΥΠΕΡΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΑΙΜΙΚΩΝ ΑΡΟΥΡΑΙΩΝ.
ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΙΣΧΑΙΜΙΑΣ/ ΕΠΑΝΕΜΠΙΟΤΙΣΜΟΥ**

Κέλλυ Τ., Αντωνοπούλου Ε., Πάνου Η., Λάζου Α.

*Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο
Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης*

Η καρδιά των θηλαστικών παρουσιάζει μεγάλη πλαστικότητα όσον αφορά την επιλογή υποστρώματος για την παραγωγή ATP, ανάλογα με το αναπτυξιακό στάδιο, τη διατροφή και τις ενεργειακές απαιτήσεις. Αν και η οξείδωση των λιπαρών οξέων αποτελεί την κύρια πηγή ATP σε φυσιολογικές καταστάσεις, αυτό μπορεί να μεταβληθεί σε συνθήκες έλλειψης οξυγόνου ή διαφορετικής διαίτας. Οι PPAR είναι μεταγραφικοί παράγοντες οι οποίοι ανήκουν στην υπερικογένεια των πυρηνικών υποδοχέων και παίζουν ρόλο στο μεταβολισμό των λιπαρών οξέων αλλά εμπλέκονται και σε άλλες κυτταρικές διαδικασίες όπως το οξειδωτικό στρες και η φλεγμονή. Οι PPAR απαντώνται σε τρεις διαφορετικές ισομορφές α, β/δ και γ με διαφορετική κατανομή και ενεργοποιούνται από φυσικά λιπαρά οξέα και από φαρμακευτικές ενώσεις με υπολιπιδαιμική δράση. Πρόσφατες ενδείξεις υποστηρίζουν ότι φυσικοί και συνθετικοί συνδέτες τους μπορούν να έχουν πολλαπλές επιδράσεις στο καρδιαγγειακό σύστημα συμπεριλαμβανομένης και της προστασίας από την ισχαιμία. Ο ακριβής ρόλος, όμως, των ισομορφών των PPAR στην παθοφυσιολογία της καρδιάς δεν έχει ακόμη αποσαφηνιστεί. Σκοπός της εργασίας ήταν να προσδιοριστεί η έκφραση των ισομορφών των PPAR στην καρδιά διαβητικών και υπερχοληστερολαιμικών ζώων και να διερευνηθεί αν αυτή τροποποιείται σε συνθήκες ισχαιμίας ή ισχαιμίας επανεμπίοτισμού. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η έκφραση του PPARα αυξάνεται στο διαβητικό και υπερχοληστερολαιμικό μυοκάρδιο ενώ αυτή του PPARγ μειώνεται στο υπερχοληστερολαιμικό μυοκάρδιο σε σχέση με το φυσιολογικό. Το πρότυπο της έκφρασης των PPAR κατά την ισχαιμία και ισχαιμία/επανεμπίοτισμό δεν φαίνεται να διαφοροποιείται σημαντικά μεταξύ των φυσιολογικών, διαβητικών και διαβητικών/ υπερχοληστερολαιμικών ζώων. Χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση για να προσδιοριστεί ο ρόλος των ισομορφών των PPAR στην αντίσταση της καρδιάς στην ισχαιμία.

- Η έρευνα χρηματοδοτήθηκε εν μέρει από την Γ.Γ.Ε.Τ. στο πλαίσιο της Επιστημονικής και Τεχνολογικής Συνεργασίας Ελλάδας-Σλοβακίας

**EXPRESSION OF PEROXISOME PROFILERATOR-ACTIVATED
RECEPTORS (PPAR) IN DIABETIC AND HYPERCHOLESTEROLEMIC
RAT HEART. EFFECT OF ISCHEMIA/REPERFUSION**

Kelly T., Antonopoulou E., Panou I., Lazou A.

*Lab of Animal Physiology, Dept of Zoology, Sch of Biology, Aristotle University of
Thessaloniki*

The mammalian heart demonstrates tremendous substrate plasticity regarding ATP production that depends upon the developmental stage, nutrition and energy demands. Although fatty acid oxidation comprises the main source of ATP in average conditions, this can be altered in case of limited oxygen or different diet. PPARs are transcription factors that belong to the superfamily of nuclear receptors and they play a major role in fatty acid metabolism, as well as in many other cellular processes such as oxidative stress and inflammation. Three PPAR isoforms, named α , β/δ and γ have been identified from different organisms, including rat, with different tissue distribution, and they are activated by natural fatty acids and drugs with hypolipidemic action. Recent evidence indicates that ligands of PPARs may play a role in the protection of the heart during ischemia. However, the exact role of PPAR isoforms in cardiac pathophysiology has not been defined yet. The aim of the study was to determine the expression of PPAR isoforms in diabetic and hypercholesterolemic rat hearts and the modulation of this expression under conditions of ischemia or ischemia/reperfusion. According to the results, expression of PPAR α increases in the diabetic and hypercholesterolemic myocardium whereas expression of PPAR γ decreases in the hypercholesterolemic myocardium. On the other hand, the expression pattern of PPARs under ischemia and ischemia/reperfusion is not different among normal, diabetic and hypercholesterolemic animals. The role of the different PPAR isoforms in resistance of the heart to ischemia remains to be further investigated.

- *The work was partly supported by G.S.R.T under the Research and Technology Cooperation scheme between Greece and Slovakia.*

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ ΣΤΗ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗ ΤΩΝ MAPKs ΚΑΙ NF-κB ΚΑΙ ΣΤΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΤΗΣ ΚΑΤΑΛΑΣΗΣ ΣΕ ΣΚΕΛΕΤΙΚΟΥΣ ΜΥΟΒΛΑΣΤΕΣ

Κεφαλογιάννη Ε., Γαϊτανάκη Κ. και Μπέης Ι.

Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η επίδραση του οξειδωτικού στρες στην ενεργοποίηση ορισμένων κύριων σηματοδοτικών μορίων και στην επαγωγή αντιοξειδωτικών ενζύμων, στους C2 μυοβλάστες. Σε συνέχεια προηγούμενης μελέτης, εξετάστηκε η υποκυτταρική κατανομή των MAPKs, της MSK1, που αποτελεί υπόστρωμα των MAPKs, και της p65 υπομονάδας του μεταγραφικού παράγοντα NF-κB με μεθόδους ανοσοκυτταροχημείας, παρουσία και απουσία H₂O₂. Επιπλέον, εξετάστηκε η ενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα AP1 σε αντίστοιχες συνθήκες, τα συστατικά του οποίου αποτελούν υποστρώματα των MAPKs. Παρατηρήθηκε αύξηση της ικανότητας πρόσδεσης του AP1 στο DNA κατά την επίδραση με H₂O₂, με χρονο- και δοσο-εξαρτώμενο πρότυπο. Ακόμη, βρέθηκε ότι ο c-Jun, συστατικό του AP1, φωσφορυλιώνεται ισχυρά κατά το οξειδωτικό στρες. Με τη χρησιμοποίηση ειδικών αναστολέων διαπιστώθηκε ότι και οι δύο αυτές αποκρίσεις εξαρτώνται από τις JNKs. Ακολούθως, εξετάστηκε η ενεργοποίηση πιθανών γονιδίων στόχων των παραπάνω μονοπατιών. Βρέθηκε ότι τα επίπεδα του mRNA του γονιδίου της καταλάσης αυξάνονται ασθενώς με χρονο- και δοσο-εξαρτώμενο τρόπο. Κανένας όμως από τους αναστολείς των σηματοδοτικών μορίων που χρησιμοποιήθηκαν δεν είχε κάποια επίδραση στα επίπεδα του mRNA της καταλάσης. Αντίστοιχο ήταν το αποτέλεσμα όταν εξετάστηκε η ενεργότητα του ενζύμου. Φαίνεται από τα παραπάνω ότι τα σηματοδοτικά μονοπάτια των MAPKs και του NF-κB ενεργοποιούνται και αλληλεπιδρούν σε καταστάσεις οξειδωτικού στρες στους σκελετικούς μυοβλάστες, συμμετέχοντας πιθανώς σε προστατευτικούς μηχανισμούς.

- Η έρευνα αυτή χρηματοδοτήθηκε από τον ΕΛΚΕ του ΕΚΠΑ.

**EFFECT OF OXIDATIVE STRESS ON MAPKs AND NF-κB
SIGNALING PATHWAYS AND ON CATALASE IN SKELETAL
MYOBLASTS**

Kefaloyianni E., Gaitanaki C., and Beis I.

*Department of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology,
University of Athens*

In the present study, the effect of oxidative stress on the activation of main signalling pathways and on the induction of antioxidant enzymes was studied, in skeletal myoblasts. Continuing a previous study, we examined the subcellular distribution of MAPKs, the MAPK substrate MSK1 and the p65 subunit of NF-κB, in the presence or absence of H₂O₂, using immunocytochemical methods. Furthermore, the activation of the transcription factor AP1, whose components are MAPK substrates, was studied during H₂O₂ treatment. An increase on AP1 DNA-binding activity by H₂O₂ was observed, following a time- and dose-dependent profile. In addition, the AP1 component c-Jun was strongly phosphorylated during oxidative stress. Those responses were both inhibited by JNK inhibitors. Subsequently, the activation of target-genes of the above-mentioned pathways was investigated. The mRNA levels of catalase were time- and dose-dependently increased. However, none of the signaling molecules' inhibitors used affected this response. Similar results were obtained when the activation of catalase was measured. Thus, it seems that the signaling pathways of MAPKs and NF-κB are activated and interact during oxidative stress on skeletal myoblasts, probably contributing in cell-protective mechanisms.

- *This study was funded by the Special Research Account of the University of Athens.*

**ΙΣΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΛΛΟΙΩΣΕΙΣ ΣΤΟ ΝΕΦΡΟ ΤΟΥ
ΒΑΤΡΑΧΟΥ *RANA RIDIBUNDA* ΑΠΟ ΥΔΡΟΒΙΟΤΟΠΟΥΣ ΤΗΣ
ΒΟΡΕΙΟΥ ΕΛΛΑΔΑΣ**

***Κλαδίσκος Ν., Κουτσοκέρα Α., Λουμπουρδής Ν.
και Π. Κυριακοπούλου-Σκλαβούνου***

*Εργαστήριο Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο
Πανεπιστήμιο, 540 06 Θεσσαλονίκη*

Τα τελευταία χρόνια το περιβάλλον επιβαρύνεται με αυξανόμενο ρυθμό κυρίως από ανθρωπογενείς παράγοντες με αποτέλεσμα τη μόλυνση των χερσαίων και των υδάτινων οικοσυστημάτων. Ειδικότερα οι υγρότοποι επιμολύνονται από ποικίλους οργανικούς ρυπαντές, όπως φυτοφάρμακα και οργανικούς διαλύτες, καθώς και από βαρέα μέταλλα με συνέπεια οι πληθυσμοί να ελαττώνονται δραματικά. Ένας από αυτούς είναι ο βάτραχος *Rana ridibunda* ο οποίος αποδεδειγμένα αποτελεί καλό βιοδείκτη για την πιθανή ρύπανση του βιότοπού του. Σκοπός της έρευνας ήταν η ιστολογική, η ιστοπαθολογική και η ιστοχημική μελέτη στο νεφρό του βατράχου *Rana ridibunda* το οποίο βρισκόταν κάτω από έντονο stress. Με την απλή χρώση της αιματοξυλίνης – ηωσίνης παρατηρούνται αλλοιώσεις στο κυτταρικό επίπεδο, όπως το φαινόμενο της κυτταρομεγαλίας, καθώς επίσης και στο διακυτταρικό με δημιουργία ιστολογικών εστιών (foci) διαφοροποιημένων κυτταρικών τύπων και ινώσεων, που αποτελούν ενδείξεις για πιθανά πρώιμα στάδια καρκινογένεσης. Πιο συγκεκριμένα οι εστίες αποτελούν θέσεις στις οποίες πραγματοποιείται διαπίδυση λεμφοκυττάρων και πιθανώς μονοκυττάρων εξαιτίας παρουσίας στην συγκεκριμένη θέση μολυσματικού παράγοντα. Παράλληλα στις παρακείμενες θέσεις της ιστολογικής καταστροφής πραγματοποιείται αναγέννηση των εγγύς εσπειραμένων σωληναρίων (Proximal Convolutated Tubules). Παρατηρήθηκαν επίσης νεκρωτικές εστίες.

**HISTOPATHOLOGICAL ALTERATIONS IN THE KIDNEY OF
THE FROG *RANA RIDIBUNDA* FROM WETLANDS OF
NORTHERN GREECE**

***Kladisios N., Koutsokera A., Loumbourdis N.,
and P. Kyriakopoulou-Sklavounou***

*Department of Zoology, School of Biology,, Aristotle University of Thessaloniki,
GR 54124 Thessaloniki, Greece*

Over the last years the environment is being burdened with an increasing rate, mostly due to human factors, so that the terrestrial and water ecosystems are being polluted. More specifically the wetlands are polluted by several organic pollutants, such as pesticides and organic solvents, as well as by heavy metals, resulting in the dramatic animal demographic decrease. One of the animals exposed to these pollutants is the frog *Rana ridibunda*, which, as has earlier been indicated, is a good bioindicator of pollution. The aim of this study was the histological, histopathological and histochemical analysis of the kidney of the frog *Rana ridibunda*, living in such environments and is continuously exposed to such pollutants and is thus under intense stress. Application of the simple staining procedure, hematoxylin-eosine, revealed such histopathological alterations and lesions both at the cellular level, such as karyomegaly, and at the histopathological one. The latter included a focus with lymphocytes and, possibly monocytes. Another focus of interest was a necrotic focus. These results show that the frogs living in these environments are under intense stress, possibly as a result of their exposure to pollutants, such as organic and inorganic.

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ RF ΠΑΛΜΙΚΩΝ ΠΕΔΙΩΝ ΤΗΣ DCS1800MHz
ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΚΙΝΗΤΩΝ ΤΗΛΕΦΩΝΩΝ ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΑΡΑ-
ΓΩΓΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΕΝΤΟΜΟΥ *Drosophila virilis***

***Κοκκαλιάρης Κ.Α., Βέρρας Σ., Χαβδούλα Ε., Παναγόπουλος Α.,
και Α.Χ. Μαργαρίτης***

*Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας,
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 15784*

Ο βαθμός επικινδυνότητας και ο βαθμός επιβάρυνσης της υγείας των χρηστών κινητών τηλεφώνων είναι θέματα καθολικού ενδιαφέροντος που διχάζουν την επιστημονική κοινότητα. Τα πειράματά μας σχεδιάστηκαν ώστε να μελετηθεί η επίδραση της DCS ακτινοβολίας (Digital Cellular System) στην αναπαραγωγική ικανότητα του εντόμου *D. virilis*. Η ακτινοβολία DCS εκπέμπεται από κινητά τηλέφωνα, έχει φέρουσα συχνότητα 1800 MHz, μορφή παλμική (σύστημα TDMA) και κατά τη διάρκεια των πειραμάτων είναι “διαμορφωμένη” (ομιλούσα εκπομπή). Το πειραματικό πρωτόκολλο που εφαρμόστηκε περιλάμβανε ακτινοβόληση έξι λεπτών ημερησίως, για τα πρώτα πέντε εικοσιτετράωρα της ζωής των ενήλικων εντόμων, οπότε και εμφανίζουν το μέγιστο της αναπαραγωγικής τους ικανότητας. Η Διεθνής Επιτροπή Προστασίας από τη Μη Ιονίζουσα Ακτινοβολία, ICNIRP, και ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας, WHO, θέσπισαν (1998) τα όρια “ασφαλούς” έκθεσης στην ακτινοβολία, εντός των οποίων η χρήση κινητών τηλεφώνων θεωρητικά δεν εγκυμονεί κινδύνους για τον χρήστη. Στόχος της παρούσας εργασίας είναι να ελεγχθεί πιθανή ύπαρξη βιολογικών επιδράσεων της ακτινοβολίας σε οργανισμούς, κάτω από τα ισχύοντα μέχρι και σήμερα όρια “ασφαλούς” έκθεσης. Τα αρχικά αποτελέσματα των πειραμάτων μας υποδηλώνουν σαφή μείωση της αναπαραγωγικής ικανότητας των ενήλικων ατόμων, αντίστοιχη με αυτή που είχε παρατηρηθεί σε προηγούμενα πειράματα του εργαστηρίου μας (Panagoroulos D., L.H. Margaritis, 2004), αλλά η πραγματοποίηση περισσότερων πειραμάτων κρίνεται απαραίτητη. Βέβαια, τα πειραματικά αποτελέσματα αυτά δεν μπορούν να επεκταθούν άμεσα στον άνθρωπο, είναι όμως αρκετά για να μας οδηγήσουν σε μία πιο συνετή χρήση των κινητών τηλεφώνων, ενδεχόμενα με τη χρήση ασπίδας προστασίας που έχουμε πατεντάρει (Α.Χ.Μ., αρ. πατ. 1005265/2005).

- Η έρευνα αυτή χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Πανεπιστημίου Αθηνών προς τον καθηγητή Α.Χ. Μαργαρίτη

**EFFECTS OF PULSED RADIO FREQUENCY OF DCS1800MHZ
ELECTROMAGNETIC RADIATION ON THE REPRODUCTIVE
CAPACITY OF THE INSECT *Drosophila virilis***

***Kokkaliaris K.D., Verras S., Chavdoula E., Panagopoulos D.,
and L.H. Margaritis***

*Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University
of Athens, Athens 15784, Greece*

Risk due to the usage of mobile phones as well as the damage upon health of the users are matters of considerable concern and controversy among the members of the scientific community. Our experiments were designed to explore the impact of DCS (Digital Cellular System) radiation, having a carrier frequency at 1800 MHz, on the reproductive capacity of the insect *Drosophila virilis*. This radiation is emitted by cellular phones utilizing DCS system that carries pulsive radiation (TDMA protocol). During our studies the radiation is modulated by human voice (speaking emission). The experimental protocol applied herein included daily exposure of the insects for six minutes during the first five days of their adult life. During this period, the insects appear to reach the maximum of their reproductive capacity. The “*International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection*” (ICNIRP) and the “*World Health Organisation*” (WHO) have established on 1988 certain safety levels that are meant not to engrave danger upon users. The purpose of the present study is to reveal possible biological effects of the radiation on organisms below these levels. The preliminary experimental results imply reduction of the reproductive capacity of the insects, similar to our previous findings on *D. melanogaster* (Panagopoulos D. and L.H. Margaritis, 2004), but more experiments have to be conducted in order to ensure that biological impact. Of course, these results cannot be directly connected with human health, but they are sufficient to imply the need for prudent use of mobile phones, using for example the protective shield, which has been patented by LHM.(nr 1005265/2005).

- *This work has been supported by the Special Account for Research Grants of the University of Athens to Professor L.H. Margaritis*

Panagopoulos, D.J., Karabarbounis A., Margaritis L.H. (2004) Effect of GSM 900-MHZ mobile phone radiation on the reproductive capacity of *Drosophila melanogaster*. *Electromagnetic Biology & Medicine*, vol23, nr.1, 29-43, 2004

**ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΚΗΣ ΔΙΣΜΟΥΤΑΣΗΣ
(SOD) ΚΑΙ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΤΟΥ ΡΙΒΟΣΩΜΙΚΟΥ ΜΙΣΧΟΥ *MgP0*,
MgP1 και *MgP2* ΣΤΟ ΜΥΔΙ *Mytilus galloprovincialis*.**

Κολαΐτη Ρ.-Μ., Λασθιωτάκη Ε. και Σ. Κουγιανού-Κουτσούκου

*Τομέας Γενετικής και Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Πανεπιστημιόπολις, Αθήνα 15701*

Η υπεροξειδική δισμουτάση, SOD, ανήκει στα αντιοξειδωτικά ένζυμα που συμμετέχουν στην άμυνα των οργανισμών έναντι οξειδωτικής βλάβης, καταλύοντας την μετατροπή των υπεροξειδικών ριζών σε μοριακό οξυγόνο και υπεροξείδιο του υδρογόνου. Στο ζυμομύκητα *Saccharomyces cerevisiae* η κατάσταση φωσφορυλίωσης των όξινων πρωτεϊνών P1 και P2 του ριβοσωμικού μίσχου ρυθμίζεται με άμεση αλληλεπίδραση της υπεροξειδικής δισμουτάσης με την πρωτεϊκή κινάση 60S. Ο μίσχος της 60S ριβοσωμικής υπομονάδος αποτελείται από ένα πρωτεϊνικό πενταμερές, P0(P1/P2)₂, που αλληλεπιδρά με τους παράγοντες επιμήκυνσης και επηρεάζει την ριβοσωμική ενεργότητα κατά την πρωτεϊνοσύνθεση. Οι όξιμες ριβοσωμικές πρωτεΐνες P1/P2 βρίσκονται φωσφορυλιωμένες στα ριβοσώματα, και η αντιστρεπτή φωσφορυλίωση ρυθμίζει την ενεργότητα των ριβοσωμάτων. Πειράματα της ομάδας μας στο μεσογειακό μύδι *Mytilus galloprovincialis* έχουν δείξει ότι ο ριβοσωμικός μίσχος αποτελείται από τις πρωτεΐνες *MgP0*, *MgP1* και *MgP2* και ότι η πρωτεΐνη *MgP0* υπερεκφράζεται σε συνθήκες στρες. Στην παρούσα έρευνα μελετάται η λειτουργική σχέση της υπεροξειδικής δισμουτάσης και των P-πρωτεϊνών του ριβοσωμικού μίσχου στο *M. galloprovincialis*. Προς την κατεύθυνση αυτή απομονώθηκε το cDNA μόριο της υπεροξειδικής δισμουτάσης (*MgSOD*) του μυδιού και υποκλωνοποιήθηκε σε ειδικό φορέα έκφρασης pRSET, με στόχο τον καθαρισμό της ανασυνδυασμένης πρωτεΐνης. Τα cDNA μόρια των πρωτεϊνών *MgP1* και *MgP2* απομονώθηκαν επίσης, ενώ ανάλυση ριβοσωμάτων από μανδύα και βράγχια του μυδιού με ηλεκτροφόρηση ισοηλεκτρικής εστίασης και ανοσομεταφορά κατά Western με ειδικό μονοκλωνικό αντίσωμα, έδειξε ότι οι πρωτεΐνες *MgP1* και *MgP2* βρίσκονται φωσφορυλιωμένες στα ριβοσώματα. Η επίδραση του περιβαλλοντικού στρες στην έκφραση των πρωτεϊνών *MgSOD* και *MgP0* μελετάται με ανάλυση κατά Northern.

- Το πρόγραμμα αυτό χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Πανεπιστημίου Αθηνών (ΕΛΚΕ, 70/4/7803 στην Σ.Κ).

**FUNCTIONAL STUDY OF SUPEROXIDE DISMUTASE (SOD) AND
THE RIBOSOMAL STALK PROTEINS *MgP0*, *MgP1* AND *MgP2* IN
THE MUSSEL *Mytilus galloprovincialis***

Kolaiti R.-M., Lasthiotaki H., and S. Kouyanou-Koutsoukou

*Department of Genetics and Biotechnology, Faculty of Biology, University of
Athens, Panepistimiopolis, Athens 15701*

Superoxide dismutase, SOD, is an antioxidant enzyme that catalyzes the dismutation of the superoxide anion into molecular oxygen and hydrogen peroxide, protecting the cell against oxidative stress. In the yeast *Saccharomyces cerevisiae*, the phosphorylation of P1/P2 proteins can be regulated by direct interaction of superoxide dismutase (SOD) with protein kinase 60S. The stalk of the large 60S ribosomal subunit consists of a protein pentamer, P0(P1/P2)₂, that reacts with the elongation factors, affecting the ribosomal activity during protein synthesis. The acidic ribosomal proteins P1/P2 are found phosphorylated in the ribosomes, while reversible phosphorylation is an important mechanism in the control of ribosomal activity. Studies of our group in the mussel *Mytilus galloprovincialis* showed that the ribosomal stalk consists of the proteins *MgP0*, *MgP1* and *MgP2*, as well as, that the *MgP0* protein is over expressed at stress conditions. We present here the functional study of superoxide dismutase, (*MgSOD*), and the ribosomal stalk P-proteins in the mussel *M. galloprovincialis*. To this direction, the cDNA molecule of superoxide dismutase (*MgSOD*) was isolated and subcloned in a specific expression vector pRSET, for the isolation the recombinant protein. The cDNAs of the proteins *MgP1* and *MgP2* of *M. galloprovincialis* were also isolated, while analysis of ribosomes from mantle and gills with isoelectrofocusing and immunoblotting with a specific monoclonal antibody showed that *MgP1* and *MgP2* are found phosphorylated in the ribosomes. The effect of environmental stress in the expression of *Mg SOD* and *MgP0* proteins is studied by Northern blot analysis.

- *This project has been supported by the Special Account for Research Grants of Athens University (SARG, 70/4/7803 to SK).*

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΒΙΟΔΕΙΚΤΩΝ ΓΙΑ ΤΟΝ ΕΛΕΓΧΟ ΤΗΣ ΤΡΙΤΟΒΑΘΜΙΑΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΑΣΤΙΚΩΝ ΛΥΜΑΤΩΝ

Κοντάνα Α.¹, Παπαδημητρίου Χ.³, Σαμαράς Π.², και Γιάγκου Μ.¹

¹Τομέας Γενετ., Ανάπ. και Μορ. Βιολ., Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ

²Τμήμα Τεχνολογίας Αντιρύπανσης ΤΕΙ Δυτικής Μακεδονίας

³Εργ. Περιβαλ. και Ενεργ. Διεργ., Τεχνολογικό Πάρκο-Θεσσαλονίκη

Η ολοένα αυξανόμενη απαίτηση για κατανάλωση υδάτινων πόρων συνδυαζόμενη με την περιορισμένη διαθεσιμότητα και καταλληλότητά τους, καθιστά άμεση την ανάγκη περαιτέρω επεξεργασίας των λυμάτων και ακόμη περισσότερο την εύρεση βιοδεικτών για την εκτίμηση της αποτελεσματικότητας αυτής. Στην παρούσα εργασία, συλλέχθηκαν δείγματα από Εγκαταστάσεις Επεξεργασίας Λυμάτων (ΕΕΛ) τα οποία και υποβλήθηκαν σε διάφορες μεθόδους τριτοβάθμιας επεξεργασίας, όπως είναι η απολύμανση με χλώριο, η κροκίδωση με άνυδρο τριχλωριούχο σίδηρο (FeCl₃) αλλά και η διήθηση από φίλτρο ενεργού άνθρακα. Μετά τον έλεγχο των λυμάτων ως προς τα φυσικοχημικά και μικροβιολογικά τους χαρακτηριστικά και την αποστείρωσή τους σε αυτόκαυστο, χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή θρεπτικού υλικού RPMI-1640 και την καλλιέργεια σπληνοκυττάρων ποντικού. Η αυξημένη μιτογονική απόκριση των σπληνοκυττάρων που παρατηρείται στα δευτεροβάθμια επεξεργασμένα λύματα, συνοδεύεται και από αύξηση της παραγωγής των κυτοκινών IL-1, IL-10 και TNFα στο υπερκείμενο των καλλιιεργειών. Η εφαρμογή της τριτοβάθμιας επεξεργασίας και κυρίως το φίλτρο του ενεργού άνθρακα σε συνδυασμό με τη χλωρίωση, οδηγεί σε μείωση της μιτογονικής απόκρισης και των επιπέδων των κυτοκινών (εκτός της IL-10). Επίσης, παρατηρήθηκε ακόμη μεγαλύτερη μείωση της μιτογονικής απόκρισης των σπληνοκυττάρων κατά τις διαδοχικές υποδιπλάσιες αραιώσεις των λυμάτων. Ακόμη, λόγω του ότι σε προηγούμενα πειράματά μας βρέθηκε επαγωγή των πρωτεϊνών οξείας φάσης στο πλάσμα και τα κύτταρα του αίματος αρουραίων που έπιναν νερό-εκροής ΕΕΛ, μελετήθηκαν στο πυρηνικό εκχύλισμα του ήπατος των παραπάνω αρουραίων οι παράγοντες μεταγραφής C/EBPα και C/EBPβ, που είναι υπεύθυνοι για τη μεταγραφή γονιδίων stress. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα οι C/EBPα και -β θα μπορούσαν πιθανά να χρησιμοποιηθούν ως βιοδείκτες για την εκτίμηση της ποιότητας των λυμάτων που εκρέουν από τις ΕΕΛ.

DETERMINATION OF BIOMARKERS TO EVALUATE TERTIARY WASTE WATER TREATMENT

Kontana A.¹, Papademetriou C.³, Samaras A.², and Yiangou M.¹

¹Dept. Genet., Dev. & Mol. Biol., Sch. Biol., Aristotle University of Thessaloniki.

²Sch. Technology, TEI West Macedonia. ³Chem. Proc. Eng. Res. Inst., Centre Res. & Technology-Thessaloniki

Wastewater reclamation and reuse is an environmental friendly and cost efficient process in the management of water resources. However, there is need for additional wastewater treatment and determination of sensitive biomarkers in order to evaluate it. Secondary treated municipal wastewater samples subjected to tertiary treatment by chlorination, FeCl₃ coagulation, and absorption on granular activated carbon (GAC) or combination of the above techniques. Physicochemical and microbiological characteristics of each sample were assessed, followed by their autoclave sterilization. Culture of mouse splenocytes in RPMI-1640 medium, prepared with the above water samples, revealed increased mitogenic responses of splenocytes cultured in secondary treated effluent. This increase is accompanied with increase of IL-1 and TNF α production. Tertiary treatment resulted in reduction of the above responses. Maximum reduction was observed with GAC followed by chlorination suggesting that wastewater treatment plants must include tertiary treatment in their procedures. We furthermore determine that C/EBP transcription factors, responsible for the activation of several stress genes, may serve as biomarkers to monitor the effectiveness of wastewater treatment.

**ΑΝΑΠΤΥΞΙΑΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ ΚΑΙ cDNA ΚΛΩΝΟΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ
ΕΣΤΕΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΟΡΜΟΝΗΣ ΝΕΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΕΝΤΟΜΟΥ
SESAMIA NONAGRIOIDES (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

Κοντογιαννάτος Δ., Γκουβίτσας Θ. και Α. Κούρτι

Τομέας Βιοχημείας, Ενζυμικής Τεχνολογίας, Μικροβιολογίας και Μοριακής
Βιολογίας, Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.
Ιερά Οδός 75, 118 55 Αθήνα, e-mail: akourti@aua.gr

Η μεταμόρφωση και η αναπαραγωγή των εντόμων ρυθμίζεται από την ορμόνη νεότητας (JH). Ένας από τους παράγοντες που ρυθμίζουν τον τίτλο της JH στην αιμοδέμφο, είναι η δράση της εστεράσης της ορμόνης νεότητας (JHE). Στην εργασία αυτή παρουσιάζουμε το πλήρες cDNA της εστεράσης της ορμόνης νεότητας (JHE), στο Λεπιδόπτερο *Sesamia nonagrioides* (SnJHE). Ένα μερικό cDNA από 508 bp απομονώθηκε με εκφυλισμένους εκκινητές και βρέθηκε να είναι υψηλά ομόλογο με τη JHE του εντόμου *Bombyx mori*. Εφαρμόσαμε 5' και 3' RACE για να παρατηρήσουμε το πλήρες μέγεθος της cDNA ακολουθίας. Το cDNA έχει ένα συνολικό μέγεθος 1851 bp, με κωδική περιοχή 1728 bp. Η πρωτεΐνη που κωδικοποιεί περιέχει 576 αμινοξέα και έδειξε την ποιο υψηλή ομοιότητα με τις JHEs του *Bombyx mori* (50%) και της *Manduca sexta* (49%). Η προκύπτουσα από το cDNA κλώνο αμινοξική ακολουθία, περιέχει όλα τα πέντε λειτουργικά μοτίβα τα οποία εμφανίζονται στις περισσότερες εστεράσες, πρωτεάσες και λιπάσες. Ανάλυση με ημιποσοτικό RT-PCR έδειξε, ότι τα μετάγραφα του SnJHE ήταν παρόντα στο λιπώδη ιστό από την αρχή του τρίτου προνυμφικού σταδίου. Από το στάδιο αυτό, τα μετάγραφα του SnJHE αυξάνουν σταδιακά μέχρι το πέμπτο προνυμφικό στάδιο, μετά αρχίζουν να ελαττώνονται και εξαφανίζονται τελείως κατά το στάδιο της νύμφης. Αυτά τα αποτελέσματα δείχνουν ότι το γονίδιο SnJHE εκφράζεται στο λιπώδη ιστό κατά το στάδιο της μεταμόρφωσης.

**CORN BORER (SESAMIA NONAGRIOIDES) JUVENILE
HORMONE ESTERASE: DEVELOPMENTAL EXPRESSION
AND cDNA CLONING**

Kontogiannatos D., Gkouvitsas T., and A. Kourti

*Department of Agricultural Biotechnology, Agricultural University of Athens
Iera Odos 75, 11855, Athens, Greece. Tel.: +30-210-5294615,
e-mail: akourti@aua.gr*

Metamorphosis and reproduction in insects are controlled by juvenile hormone (JH). One of the factors, which regulate the JH titer in the hemolymph, is the activity of juvenile hormone esterase (JHE). In this study, we report the full-length cDNA, of juvenile hormone esterase cDNA from *Sesamia nonagrioides* (*SnJHE*). A 508 bp partial cDNA was generated and found to be highly homologous to the JHE from *Bombyx mori*. 5' and 3' RACE were performed to obtain the full length cDNA sequence. The cDNA has a total length of 1851 bp, with a 1728 bp coding region. The deduced protein sequence contains 576 amino acids and showed high identity to JHEs of *Bombyx mori* (50%) and *Manduca sexta* (49%). The deduced amino acid sequence of the cDNA clone contained all five functional motifs that are present in most of esterases, proteases and lipases. Semiquantitative RT-PCR analysis showed that the *SnJHE* transcript was present predominantly in the fat body at the beginning of the third larval instar. During this instar, *SnJHE* transcript increased gradually until fifth instar, then decreased, and disappeared at pupal stage. These results indicate *SnJHE* gene expression in the fat body at the metamorphic stage.

ΕΠΟΧΙΑΚΕΣ ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΣΕ ΠΡΟΤΥΠΑ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ ΤΟΥ ΧΕΡΣΑΙΟΥ ΣΑΛΙΓΚΑΡΙΟΥ *HELIX ASPERSA*: ΜΙΑ ΙΣΤΟΡΙΑ ΕΠΙΤΥΧΙΑΣ

Κοτσακιάζη Π.¹, Γκιώκας Σ.², Παφίλης Π.^{3,1} και Ε.Δ. Βαλάκος¹

¹Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, 157-84, Αθήνα

²Τομέας Βιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26-500, Πάτρα

³Τομέας Διαχείρισης Οικοσυστημάτων, Τμήμα Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Αργαίου,
Λόφος Πανεπιστημίου, 81-100, Μυτιλήνη

Τα χερσαία σαλιγκάρια συχνά επιδεικνύουν ετήσιους κύκλους δραστηριότητα που διακόπτονται από περιόδους λαθροβίωσης (χειμέρια νάρκη/διαθέριση) συνοδευόμενες από ποικιλία συμπεριφορικών και φυσιολογικών προσαρμογών προκειμένου να διασφαλίσουν την επιβίωσή τους κάτω από αντίξοες περιβαλλοντικές συνθήκες. Αυτές οι προσαρμογές είναι χρήσιμες στην κατανόηση των εξειδικευμένων για κάθε είδος απαιτήσεων ενδιαιτήματος και στην πρόβλεψη της απόκρισής τους σε περιβαλλοντικές αλλαγές. Εξετάσαμε τα εποχιακά πρότυπα της φυσιολογίας και της βιοχημικής σύστασης σε ένα ηπειρωτικό πληθυσμό του ευρέως διασπαρμένου χερσαίου σαλιγκαριού *Helix aspersa* σε σχέση με την οικολογία συμπεριφοράς του και τις κλιματικές συνθήκες. Οι αποθεματικές ουσίες (γλυκογόνο, λιπίδια, πρωτείνες) και το νερό συσσωρεύονται πριν την καλοκαιρινή διάπαυση, αλλά στη συνέχεια μειώνονται γρήγορα. Η LDH δείχνει μια σημαντική πτώση κατά τη διάρκεια της διάπαυσης, υποδεικνύοντας την απουσία αναερόβιων μονοπατιών. Το υδατικό περιεχόμενο δεν δείχνει σημαντική πτώση κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού. Το πιο σημαντικό εύρημα της μελέτης ήταν η σαφής διάκριση της καλοκαιρινής περιόδου διάπαυσης. Επιπλέον δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση ανάμεσα στις συμπεριφορικές και φυσιολογικές αποκρίσεις και τις κλιματικές συνθήκες. Οι φυσιολογικές αποκρίσεις του *Helix aspersa* φαίνεται να είναι αποτελεσματικές και αποτελούν ικανό αντιστάθμισμα στις αντίξοες συνθήκες κατά τη διάρκεια της διαθέρισης. Ίσως η συμπεριφορική και φυσιολογική οικολογία του *Helix aspersa* να μπορεί να χαρακτηριστεί ως οπορτουμιστική. Το στοιχείο αυτό αποτελεί ένα σημαντικό πλεονέκτημα σε σχέση με τις σύγχρονες κλιματικές τάσεις και ίσως εξηγεί την επικράτηση αυτού του γένους στα μεσογειακού τύπου οικοσυστήματα.

- Μέρος της έρευνας χρηματοδοτήθηκε από το Πρόγραμμα Καποδιστριας (ΕΚΠΑ)

SEASONAL CHANGES IN PHYSIOLOGICAL PATTERNS OF THE LAND SNAIL *HELIX ASPERSA*: A SUCCESS STORY

Kotsakiozi P.¹, Giokas S.², Pafilis P.^{3,1}, and E.D. Valakos¹

¹*Section of Animal and Human Physiology, Department of Biology, University of Athens, Panepistimioupolis 15784, Athens*

²*Section of Animal Biology, Department of Biology, University of Patras, 26500, Patras*

³*Section of Biodiversity Conservation, Department of Environmental Studies, University of the Aegean, University Hill, 81100 Mytilini.*

Land snails often exhibit intra-annual cycles of activity interspersed by periods of dormancy (hibernation/aestivation), accompanied by a range of behavioural and physiological adaptations to ensure their survival under adverse environmental conditions. These adaptations are useful to understand species-specific habitat requirements and to predict their response to environmental changes. We examined the seasonal physiological and biochemical composition patterns in a mainland population of the wide-spread land snail *Helix aspersa* in relation to its behavioural ecology and climatic conditions. Fuel reserves (glycogen, lipids, proteins) and water were accumulated prior to summer aestivation, but subsequently were rapidly depleted. LDH exhibited a substantial fall during aestivation, suggesting the absence of anaerobic pathways. Water content did not exhibit substantial fall during summer. The major outcome of our study was the clear distinction of the aestivation summer period. We observed disassociation between behavioural and physiological responses and climatic conditions. The physiological responses of *H. aspersa* seemed to be effective and compensate the effect of adverse conditions during aestivation. Perhaps, the behavioural and physiological ecology of *H. aspersa* is opportunistic. This constitutes an important advantage considering the current climatic trends, and may explain the dominance of this genus in the Mediterranean-type ecosystems.

- Part of the *present work is supported by Kapodistrias project (NKUA)*

ΜΟΝΟΠΑΤΙΑ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ ΑΛΛΟΣΤΕΡΙΚΩΝ ΣΗΜΑΤΩΝ ΣΤΑ ΡΙΒΟΣΩΜΑΤΑ: Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ 5S ΡΙΒΟΣΩΜΑΤΙΚΟΥ RNA

Κούβελα Α.Χ., Ξαπλαντέρη Μ., Γερμανάς Γ.Β. και Καλπαξής Δ.Α.

Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Τμήμα Ιατρικής, Παν/μιο Πατρών, 26500- Πάτρα

Η μεγάλη ριβοσωματική υπομονάδα του *Escherichia coli* συγκροτείται από δύο είδη RNA, το 23S και το 5S rRNA, καθώς και 33 πρωτεΐνες. Η δευτεροταγής δομή του 5S rRNA αποτελείται από πέντε έλικες (I-V), δύο ακραίες θηλειές (C και D), δύο εσωτερικές θηλειές (B και E) και μία θη-λειά (A) στην οποία συναντώνται τρεις έλικες. Το 5S rRNA συμπλεκόμενο με τις ριβοσωματικές πρωτεΐνες L5, L18 και L25 σχηματίζει την κεντρική προεξοχή της μεγάλης υπομονάδας. Εκτεινόμενο από την περιοχή αυτή, συνδέει το άνω τμήμα της μεγάλης υπομονάδας με το κέντρο της πεπτιδυλο-τρανσφεράσης (PTαση) και τη θέση πρόσδεσης του παράγοντα επιμήκυνσης EF-G. Η χωροθέτηση αυτή οδήγησε στην υπόθεση ότι το 5S rRNA διευκολύνει την επικοινωνία μεταξύ των διαφόρων λειτουργικών κέντρων του ριβοσώματος. Ένας τρόπος να ελεγχθεί η υπό-θεση αυτή, είναι να μεταβάλει κανείς εξειδικευμένα την τριτοταγή δια-μόρφωση του 5S rRNA και να συσχετίσει τις προκύπτουσες διαμορφωτικές αλλαγές με μεταβολές στις ριβοσωματικές λειτουργίες. Για το λόγο αυτό, επισημάναμε 5S rRNA μ'ένα φωτοδραστικό ανάλογο της σπερμίνης, την N¹-αζιδοβενζαμιδινο-σπερμίνη, και χρησιμοποιήσαμε το επισημασμένο προϊόν για να ανασυγκροτήσουμε 50S ριβοσωματικές υπομονάδες. Όπως ανεμένετο, πρόσδεση της σπερμίνης στο 5S rRNA προκάλεσε τοπικές διαμορφωτικές αλλαγές. Συγκεκριμένα, η θηλειά A υιοθέτησε χαλαρή διαμόρφωση, ενώ οι θηλειές C, D και E, καθώς και οι έλικες III και V απέκτησαν μία πιο συνεκτική διαμόρφωση. Αυτές οι αλλαγές, αν και περιορισμένης έκτασης, είχαν ως αποτέλεσμα την αύξηση της ικανότητας των ριβοσωμάτων για δέσμευση αμινοακυλο-tRNAs και κατάλυση του σχηματισμού του πεπτιδικού δεσμού. Επίσης, βελτίωσαν την ικανότητα των ριβοσωμάτων να μετατοπίζουν τα tRNAs από τις A- και P-θέσεις στις P- και E-θέσεις. Περαιτέρω ανάλυση απεκάλυψε ότι το τελευταίο φαινόμενο προκλήθηκε, λόγω διευκόλυνσης της πρόσδεσης του EF-G στο ριβόσωμα. Συμπερασματικά, φαίνεται ότι το κέντρο της PTάσης και η περιοχή πρόσδεσης του EF-G συντονίζουν τις λειτουργίες τους, μέσω μετάδοσης αλλοστερικών σημάτων που διαμεσολαβούνται από το 5S rRNA.

ALLOSTERIC SIGNAL TRANSMISSION PATHWAYS IN RIBOSOMES: THE ROLE OF 5S RIBOSOMAL RNA

Kouvela E.C., Xaplanteri M., Gerbanas G.V., and Kalpaxis D.L.

Lab. of Biochemistry, School of Medicine, University of Patras, 26500-Patras, Greece

The large subunit of *Escherichia coli* ribosomes comprises two RNA species, 23S and 5S rRNA, and 33 proteins. The 5S rRNA secondary structure consists of five helices (I-V), two terminal loops (C and D), two internal loops (B and E), and a hinge loop (A) organized in a three-helix junction. 5S rRNA in complex with ribosomal proteins L5, L18 and L25 forms the central protuberance of the large ribosomal subunit. Extending from the central protuberance, 5S rRNA connects the upper part of the large subunit with the peptidyl transferase (PTase) center and the binding site of the elongation factor EF-G. Occupation of this strategic ribosomal region by 5S rRNA led to the hypothesis that 5S rRNA facilitates communication between the different functional centers of ribosomes. An experimental approach to test this hypothesis is to specifically alter the 5S rRNA tertiary structure and to correlate the resultant conformational changes with alterations in the functions of ribosomes. For this purpose, we labeled 5S rRNA with a photoreactive analogue of spermine, N¹-azidobenzamidino-spermine, and used the labeled product to reconstitute 50S ribosomal subunits. As expected, binding of spermine to 5S rRNA caused local conformational changes. Namely, loop A adopted an apparent “loosening” of its structure, while loops C, D, E and helices III and V achieved a more tight folding. These conformational changes, although not of the extreme amplitude, led to improved capability of ribosomes to bind aminoacyl-tRNA and catalyze the formation of peptide bond. Moreover, ribosomes possessing 5S rRNA such modified, were more efficient to translocate tRNAs from the A- and P-sites to the P- and E-sites. Further experiments revealed that the latter behavior was due to an enhancement of EF-G binding to ribosomes. In light of these changes, it seems that PTase center and EF-G binding center are able to coordinate their functions by transmission of allosteric signals through 5S rRNA.

- **Acknowledgements:** *This work was supported by a grant from European Social Fund, Operational Program for Educational and Vocational Training II (Program IRAKLEITOS).*

**ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΤΟΥ ΑΝΟΡΓΑΝΟΥ ΑΖΩΤΟΥ ΣΤΟ ΕΔΑΦΟΣ
ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΚΑΙ ΣΥΜΒΑΤΙΚΗΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΓΛΥΚΟΥ
ΣΟΡΓΟΥ**

Κούβελας Α., Χριστοφορίδης Χ., Αγγελόπουλος Κ.

Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, Ρίον 26500

Το γλυκό σόργο [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] είναι ένα σχετικά νέο καλλιεργούμενο είδος στην Ευρωπαϊκή Ένωση με υψηλούς C₄ φωτοσυνθετικούς ρυθμούς και με πολύ καλή προσαρμοστικότητα στα Μεσογειακά οικοσυστήματα ως ενεργειακή καλλιέργεια για την παραγωγή βιομάζας. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν οι μεταβολές των αμμωνιακών και νιτρικών ιόντων στο έδαφος της καλλιέργειας στο οποίο εφαρμόστηκαν δύο χειρισμοί διαχείρισης της γονιμότητας του εδάφους, συμβατικός και βιολογικός. Στο συμβατικό χειρισμό έγινε προσθήκη ανόργανων λιπασμάτων και φυτοφαρμάκων. Στο βιολογικό χειρισμό αξιοποιήθηκαν η τεχνική της χλωρής λίπανσης, η προσθήκη οργανικής ουσίας και πληθυσμοί μικροοργανισμών που αλληλεπιδρούν με τα φυτά της καλλιέργειας. Κατά την έναρξη του πειράματος, η συγκέντρωση αμμωνιακών και νιτρικών στο εδαφικό διάλυμα, σε βάθος 30cm από την επιφάνεια του εδάφους και στους δύο χειρισμούς, κυμαινόταν από 0,20-0,50 και 25-30mg/L αντιστοίχως, ενώ σε βάθος 60cm οι αντίστοιχες τιμές αμμωνιακών και νιτρικών κυμαινόταν από 0,40-1,30 και 19-27mg/L. Κατά τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου τόσο στα 30cm και όσο στα 60cm βάθος, οι συγκεντρώσεις των αμμωνιακών και των νιτρικών μειώθηκαν σημαντικά στα 0,03-0,10 και 0-5mg/L αντιστοίχως. Τα νιτρικά παρέμειναν στα ανωτέρω επίπεδα έως το τέλος της καλλιεργητικής περιόδου. Αντίθετα τα αμμωνιακά παρουσίασαν διακυμάνσεις. Ανάλογες μεταβολές παρουσιάστηκαν και στις συγκεντρώσεις αμμωνιακών και νιτρικών σε δείγματα εδάφους. Οι μεταβολές των νιτρικών και αμμωνιακών στο έδαφος είναι αποτέλεσμα της ανοργανοποίησης του αζώτου και της πρόσληψης από τα φυτά της καλλιέργειας.

**SOIL INORGANIC NITROGEN CHANGES IN SWEET SORGHUM
CROP MANAGED WITH BIOLOGICAL AND CONVENTIONAL
CULTIVATING PRACTICES**

Kouvelas A., Xristoforidis X., Angelopoulos K.

Department of Biology, University of Patras, Rion 26500

Sweet sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] is a relative new crop in European Union presenting high C₄ photosynthetic rates and adaptability to Mediterranean ecosystems as energy crop for biomass production. In the present work, soil nitrate and ammonium changes were studied in a field experiment with two soil fertility treatments, conventional and biological one. In conventional treatment, inorganic fertilizers and pesticides were added. In biological treatment green manure technique were applied as well as organic substance and microbial populations that interact with crop plants. At the beginning of experiment ammonium and nitrate concentrations in soil solution were 0,20-0,50 and 25-30mg/L at 30 cm depth in both treatments respectively, while at 60cm were 0,40-1,30 και 19-27mg/L respectively. During cultivated period at 30cm as well as 60cm depth both ammonium and nitrate concentrations were considerably decreased up to 0,03-0,10 and 0-5mg/L respectively. Nitrate remained in the above levels until the end of cultivated period. In contrast ammonium concentrations were varied. Proportional changes were found in soil ammonium and nitrate concentrations. All these variations in soil nitrate and ammonium concentrations could be explained as the result of dynamics in soil nitrogen mineralization and crop nitrogen uptake during crop growth.

ΑΝΟΣΟΤΡΟΠΟΠΟΙΗΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΩΝ ΖΥΜΩΝ

Κουρελής Α.¹, Τζανετάκης Ν.², Αιτοπούλου-Τζανετάκη Ε.², Γιάγκου Μ.¹

¹Τομέας Γενετ., Ανάπτ. και Μορ. Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ

²Εργαστ. Μικροβιολ. και Υγιειν. Τροφ., Τμήμα Γεωπονίας, Α.Π.Θ.

Ως προβιοτικοί χαρακτηρίζονται οι μικροοργανισμοί των οποίων η χορήγηση σε κατάλληλο αριθμό έχει ευεργετική επίδραση στον ξενιστή. Τέτοιοι μικροοργανισμοί είναι βακτήρια τα οποία ανήκουν κυρίως στα γένη *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus* και ζύμες του είδους *Saccharomyces cerevisiae*. Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκαν ζύμες που απομονώθηκαν από παραδοσιακό τυρί φέτα ή από κόπρανα βρεφών. Όλα τα στελέχη αυτά παρουσίαζαν ιδιότητες που χαρακτηρίζουν τους προβιοτικούς μικροοργανισμούς όπως η ανάπτυξη παρουσία χολικών αλάτων και χαμηλό pH, η *in vitro* μείωση των επιπέδων χοληστερόλης καθώς και η ικανότητα προσκόλλησης σε κύτταρα της κυτταρικής σειράς Caco-2. Τα στελέχη αυτά ήταν αρνητικά στην παραγωγή νουκλεασών, πηκτινινασών, αιμολυτικών ή αιμοσυγκολλητικών παραγόντων. Χρησιμοποιήθηκε το μοντέλο του ραχιάιου αεροθύλακα σε επίμυς και ποντίκια για τον προσδιορισμό της ανοσοτροποποιητικής τους δράσης. Η χορήγηση των ζυμών στον αεροθύλακα είχε ως αποτέλεσμα σε 4 στελέχη (2 του γένους *Kluyveromyces* και 2 του γένους *Saccharomyces*) να παρατηρείται άμεση συσσώρευση πολυμορφοπύρηνων κυττάρων (PMN). Η αύξηση των PMN συνοδευόταν με αυξημένη ικανότητά τους να φαγοκυτταρώνουν. Όλα τα στελέχη προκάλεσαν αύξηση του TNFα στο εξίδρωμα. Σύμφωνα με το πρότυπο κυτοκινών που επάγουν το ένα στέλεχος του είδους *Saccharomyces cerevisiae* επάγει Th1 ανοσοαπόκριση (IFN-γ) ενώ το στέλεχος του είδους *Saccharomyces boulardii* επάγει Th2 ανοσοαπόκριση (IL-10). Τα κύτταρα του σπλήνα επιμύων δείχνουν αυξημένη μιτογονική απόκριση σε κυτταρικά εκχυλίσματα από τα παραπάνω στελέχη. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι η χρησιμοποίηση του μοντέλου του ραχιάιου αεροθύλακα βοηθά στην επιλογή προβιοτικών στελεχών και ότι τα 4 στελέχη που απομονώθηκαν θα πρέπει να μελετηθούν περαιτέρω για να αποδειχθεί η καταλληλότητά τους να χρησιμοποιηθούν σε βιοτεχνολογική κλίμακα.

IMMUNOMODULATING ACTIVITY OF PROBIOTIC YEAST

Kourelis A.¹, Tzanetakis N.², Litopoulou-Tzanetaki E.², Yiangou M.¹

¹Dept. Genet., Devel. & Mol. Biol., Sch. Biol., AUTH, ²Lab. of Food Microb. & Hygiene, Faculty of Agric, AUTH

Probiotics are living microorganisms which upon ingestion in certain number exert health benefits to the host. Most common probiotic belong to the genera *Lactobacillus*, *Bifidiobacterium*, *Streptococcus* and the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. The yeasts used in our study were isolated from the traditional greek Feta cheese and infants' faeces. All the strains were positive to the most common probiotic tests such as growth in the presence of bile salts and at low pH, *in vitro* reduction of cholesterol levels and adhesion to Caco-2 cell cultures. The strains were negative to pathogenicity tests such as DNase and coagulase production and α and β haemolysis. We used the dorsal air pouch model in rats and mice to determine their immunomodulating activity. Administration of four strains of yeast (2 of the genus *Kluyveromyces* and 2 of the genus *Saccharomyces*) into the air pouch resulted in the accumulation of increased number of polymorphonuclear cells (PMNs) along with increased PMNs phagocytic activity. All yeast strains induced the production of TNF- α into the air pouch exudates. According to the cytokine profile *S. cerevisiae* strain induces Th1 response (IFN- γ) while the *S. boulardii* strain induces Th2 response (IL-10). Cell extracts from these strains increase the *in vitro* proliferative response of spleen cells. In conclusion our data suggest that the air pouch model is reliable to characterize probiotic microorganisms however more experimentation is needed to establish that the 4 strains can be used in biotechnological scale.

**ΒΙΟΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ ΑΠΟΡΡΙΠΤΟΜΕΝΩΝ ΑΣΠΟΝΔΥΛΩΝ ΑΠΟ
ΤΗΝ ΠΑΡΑΚΤΙΑ ΑΛΙΕΙΑ ΣΤΟ ΝΟΤΙΟ ΑΙΓΑΙΟ: ΜΙΑ
ΠΡΟΚΑΤΑΡΚΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ**

**Κουρεπίνη Μ., Σταματελάτου Β., Φρυγανιώτης Κ., Δαμιανίδης Π.,
Βουλτσιάδου Ε., Χιντήρογλου Χ.**

Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α. Π. Θ., Θεσ/νίκη 540 06

Είναι γνωστό ότι η εμπορική αλιεία μπορεί να προκαλέσει μεταβολές στη δομή κάποιων θαλάσσιων ενδιαιτημάτων και να επηρεάσει αρνητικά τη δομή των πληθυσμών των ειδών που συλλέγονται ως παρεμπίπτον αλίευμα. Στο πλαίσιο ενός ευρύτερου ερευνητικού προγράμματος του Τομέα Ζωολογίας του Τμήματος Βιολογίας του Α.Π.Θ., έγινε μια προσπάθεια να μελετηθεί η βιοποικιλότητα των απορριπτόμενων θαλάσσιων ασπόνδυλων οργανισμών από τα δίχτυα των σκαφών παράκτιας αλιείας. Δείγματα συλλέχθηκαν σε δύο περιοχές του Νοτίου Αιγαίου: εξετάστηκαν 11 αλιευτικά σκάφη από την Κρήτη και 13 από τη Μύκονο. Συνολικά συλλέχθηκαν 1272 άτομα που ταξινομήθηκαν σε 62 είδη. Τα Gastropoda (30,6%) και τα Malacostraca (25,8%) ήταν οι κυρίαρχες ομάδες και ακολουθούσαν τα Bivalvia (12,9%), Echinoidea (6,5%), Asteroidea (6,5%), Ascidiacea (6,5%), Porifera (4,8%), Anthozoa (4,8%) και Polychaeta (1,6%). Τα αποτελέσματα αυτά, αντανακλούν την ύπαρξη μιας σημαντικής ποικιλότητας ασπονδύλων, τουλάχιστον στο ταξινομικό επίπεδο της κλάσης. Οι τιμές της βιομάζας των απορριπτόμενων ασπονδύλων ήταν υψηλές (μέση τιμή: $876,22 \pm 743,29$ g, ελάχιστη: 108,12 g, μέγιστη: 3282,13 g). Πολλά από τα είδη που βρέθηκαν, όπως τα *Liocarcinus depurator* και *Calappa granulata*, έχουν εμπορική αξία που όμως δεν είναι γνωστή στους αλιείς. Η ποιοτική και ποσοτική σύνθεση των απορριπτόμενων ασπονδύλων από την παράκτια αλιεία μπορεί να έχει σημαντική επίδραση στη δομή και τη δυναμική του παράκτιου οικοσυστήματος, καθώς αυτά μετά τη διαλογή τους, απορρίπτονται μακριά από τον τόπο συλλογής τους. Είναι απαραίτητο να μελετηθούν περισσότερο οι μηχανισμοί και τα αποτελέσματα αυτής της μεταφοράς βιοτικών στοιχείων καθώς επίσης και άλλων περιβαλλοντικών επιπτώσεων που μπορεί να οφείλονται στα απορριπτόμενα, ώστε να γίνει δυνατός ο σχεδιασμός πιθανών μέτρων διαχείρισης του παράκτιου οικοσυστήματος.

**BIODIVERSITY OF INVERTEBRATES DISCARDED BY
COASTAL FISHERIES IN THE SOUTH AEGEAN SEA: A
PRELIMINARY SURVEY**

***Kourepini M., Stamatelatou V., Fryganiotis K., Damianidis P.,
Voultsiadou E., Chintiroglou C.C.***

*Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki,
540 06 Thessaloniki*

Commercial fisheries may induce changes in habitats and have harmful effects on non-target species populations. Non-target species usually include a variety of invertebrates which are eventually discarded. Within the framework of a research project undertaken by the Department of Zoology, School of Biology Aristotle University of Thessaloniki, an attempt was made to collect and record the discarded benthic invertebrates caught as by-catch in coastal fisheries nets. Samples were taken at two Aegean regions: 11 fishing boats were examined in Crete and 13 in Mykonos Island. In total, 1272 invertebrate individuals classified into 62 species were collected. Among them, Gastropoda (30,6%) and Malacostraca (25,8%) were the dominant groups, followed by Bivalvia (12,9%), Echinoidea (6,5%), Asteroidea (6,5%), Ascidiacea (6,5%), Porifera (4,8%), Anthozoa (4,8%) and Polychaeta (1,6%). These results, although not providing a complete picture of the existing communities, reflect a considerable invertebrate diversity, at least at the class taxonomic level. Biomass values of the discarded invertebrates were high as well (mean value: 876,22 ± 743,29 g, min: 108,12 g, max: 3282,13 g). Many of the species identified, such as *Liocacinus depurator* and *Calappa granulate*, are of manifest commercial value according to FAO commercial designations, which however is not recognized or appreciated by the local fishermen. It is possible that the qualitative and quantitative composition of the coastal fisheries invertebrate discards have a significant effect on the structure and dynamics of the coastal ecosystem. Since they are discarded far from their collection site, after a sorting process on the boat, they are transported from one fishing field to another. Further studies are needed in order to understand the mechanisms and impacts of this biotic transportation, as well as other environmental effects of the discarded by-catch, thus helping in the assessment of possible conservation measures for the coastal environment.

ΠΕΡΙ ΟΙΚΟΛΟΓΙΚΩΝ ΤΡΙΓΩΝΩΝ ΣΤΟ ΑΙΓΑΙΟ

**Κουρεπίνη Μ., Σταματελάτου Β., Δαμιανίδης Π., Φρουγανιώτης Κ.,
Χιντήρογλου Χ.**

Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α. Π. Θ., Θεσ/νίκη 540 06

Από ένα σύνολο 24 δειγμάτων απορριπτόμενων ασπόνδυλων οργανισμών, παράκτιας αλιείας, που συλλέχθηκαν στην Κρήτη και στη Μύκονο, διαπιστώθηκαν 8 ξεχωριστά οικολογικά τρίγωνα (Ο.Τ.)¹, στα οποία συμμετείχαν, εκτός από το *Calliactis parasitica* (Actiniaria), 3 είδη Ανομούρα (*Dardanus calidus*, *D. arrosor* και *Paguristes eremite*) και 7 είδη νεκρών γαστεροπόδων (*Semicassis granulata undulata*, *Tonna galea*, *Charonia tritonis variegata*, *Hexaplex trunculus*, *Natica stercusmuscarum*, *Bolma rugosa* και *Galeodea echinophora*). Η κατανομή της συχνότητας εμφάνισης των Ο.Τ. έδειξε, πως επί του συνόλου των 51 δειγμάτων κυριαρχεί το Ο.Τ., *S. granulata undulata* - *D. calidus* - *C. parasitica* με συχνότητα 44,90%, ενώ ακολουθεί το Ο.Τ., *S. granulata undulata* - *D. arrosor* - *C. parasitica* με 30,30%. Η συχνότητα εμφάνισης των υπόλοιπων 6 Ο.Τ., κυμάνθηκε από 2-13% περίπου. Η ποιοτική σύγκριση των αποτελεσμάτων αυτών με τα αντίστοιχα εκείνων που προέρχονται από το Β. Αιγαίο², έδειξε πως τα Ο.Τ. του Ν. Αιγαίου διαφέρουν, ως προς τη συγκρότησή τους από αυτά του Νοτίου. Τα ανόμουρα που συμμετέχουν στα Ο.Τ. του Β. Αιγαίου είναι τα *Paguristes eremite* και *D. excavatus*, ενώ ως κατοικία τους είχαν τα γαστερόποδα *Phylonotus trunculus*, *Cassidaria echinophora* και *Bolinus brandaris*. Το τρίτο μέλος των Ο.Τ. παραμένει το *C. parasitica*. Οι διαφορές αυτές αποτυπώνουν, ενδεχομένως, δύο βιογεωγραφικές περιοχές (Βόρειο και Νότιο Αιγαίο), τα όρια των οποίων δεν φαίνεται να είναι τελείως ξεκάθαρα. Η συμπεριφορά των ανόμουρων αλλά και η σύνθεση της πανίδας των γαστεροπόδων στις περιοχές αυτές, φαίνεται πως αποτελούν σημαντικές μεταβλητές στην εξάπλωσή τους. Η περαιτέρω διερεύνηση των Ο.Τ. της Μεσογείου, στη βάση της χωροκατανομής τους, θεωρούμε πως μπορεί να συμβάλει στην τυποποίηση της χαρτογράφησης της βιοποικιλότητας στην ευρύτερη περιοχή.

¹ Ross D. and Sutton L. (1963). Proc. of the Intern. Congress of Zoology (I) 62pp.

² Chintiroglou C. & Koukouras A. (1991). *Oceanologica Acta*, 14 (4): 389-396.

ABOUT ECOLOGICAL TRIANGLES IN AEGEAN

**Kourepini M., Stamatelatou V., Damianidis P., Fryganiotis K.,
Chintiroglou C.C.**

*Dept. Of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki,
540 06 Thessaloniki*

From a total of 24 samples of discarded invertebrates by coastal fisheries in Crete and Mykonos, 8 ecological triangles (E.T.)³ were found, which consisted of *Calliactis parasitica*, 3 anomurans (*Dardanus calidus*, *D. arrosor* and *Paguristes eremite*) and 7 shells of dead gastropods (*Semicassis granulata undulata*, *Tonna galea*, *Charonia tritonis variegata*, *Hexaplex trunculus*, *Natica stercusmuscarum*, *Bolma rugosa* και *Galeodea echinophora*). The most frequent E.T. among the 51 samples was that of *S. granulata undulata* - *D. calidus* - *C. parasitica* (43,14%), followed by *S. granulata undulata* - *D. arrosor* - *C. parasitica* (23,53%). The frequency of the other 6 E.T. ranged between 2 and 14%. The E.T. of southern Aegean differ from those in the north⁴ with respect to their qualitative structure. The anomurans involved in north Aegean E.T.s are *Paguristes eremite* and *Dardanus excavatus*, found inside the dead gastropods *Phylonotus trunculus*, *Cassidaria echinophora* and *Bolinus brandaris*, while the third part of the E.T. is still *C. parasitica*. On the basis of these differences, two micro-biogeographical regions can be distinguished in the Aegean Sea, one in the north and one in the south, with undefined boundaries. The composition of the gastropod fauna and their utilization as host by the anomurans has a great impact on their geographical distribution. The study of the spatial distribution of the E.T.s on a larger scale over the Mediterranean basin will contribute significantly to the mapping of the biodiversity in the region.

³ Ross D. and Sutton L. (1963). Proc. Of The Intern. Congress of Zoology (I) 62pp

⁴ Chintiroglou C. & Koukouras A. (1991). *Oceanologica Acta*, 14 4, 389-396.

ΤΑ ΒΙΟΪΛΙΚΑ ΤΗΣ ΑΙΜΟΔΙΑΛΥΣΗΣ ΠΡΟΚΑΛΟΥΝ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ ΙΣΤΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ (TISSUE FACTOR-TF) ΠΟΥ ΕΞΑΡΤΑΤΑΙ ΑΠΟ ΤΟ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑ

**Κουρτζέλης Ι.¹, Καμπάς Κ.¹, Τσέκου Α.³, Ραφαήλ Σ.¹, Παναγούτσος Σ.²,
Πασαδάκης Π.², Παρασκευοπούλου Τ.¹, Πετανίδης Σ.¹, Μητρούλης Ι.¹,
Δούμας Μ.¹, Λάμπρης Ι.³, Ρίτης Κ.¹**

¹ Α' Πανεπιστημιακή Παθολογική Κλινική, Δ.Π.Θ., Αλεξανδρούπολη.

² Πανεπιστημιακή Νεφρολογική Κλινική, Δ.Π.Θ., Αλεξανδρούπολη.

³ Τμήμα Παθολ. & Εργαστ. Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πεννσylvάνια.

Η φλεγμονή και η θρόμβωση, με μη διευκρινισμένους ακόμη μηχανισμούς, συνδέονται σε πολλά κλινικά μοντέλα. Τα βιοϊλικά αιμοκάθαρσης είναι γνωστοί φλεγμονώδεις αγωνιστές των ουδετερόφιλων και του συμπληρώματος. Οι σε αιμοκάθαρση ESRD (End Stage Renal Disease) ασθενείς είναι επιρρεπείς σε θρομβωτικά επεισόδια. Ο TF αποτελεί τον κύριο *in vivo* υποκινητή της πήξης. Πρόσφατα, δείξαμε ότι τα ουδετερόφιλα παράγουν λειτουργικό TF μέσω του C5a/C5aR. Με βάση τα παραπάνω, μελετήσαμε τη συμμετοχή της «συνομιλίας» ουδετερόφιλο-C5a-TF στη θρομβογένεση αιμοκαθαιρόμενων ESRD ασθενών. Ο TF αναλύθηκε λειτουργικά στα υπερκείμενα καλλιέργειών ουδετερόφιλων (modified Prothrombin Time-mPT), με κυτταρομετρία ροής (FACS), και ανάλυση σε επίπεδο RNA με quantitative Real Time PCR (qRT-PCR). Διαπιστώθηκε ότι τα ουδετερόφιλα των ESRD ασθενών υπερεκφράζουν TF σε επίπεδο RNA και FACS, ενώ ο ορός τους μπορεί να διεγείρει υγιή ουδετερόφιλα να παράγουν λειτουργικό TF με μέγιστη δραστηριότητα 15 min μετά την έναρξη της αιμοκάθαρσης. Η δράση αυτή επιβεβαιώθηκε ότι είναι πλήρως εξαρτώμενη από το ενεργοποιημένο συμπλήρωμα και μάλιστα την αναφυλατοξίνη C5a, διότι αναστέλλεται πλήρως τόσο μετά από επώαση με Compstatin, (αποκλειστικού αναστολέα του συμπληρώματος), όσο και μετά από αναστολή των υποδοχέων του C5a. Τα παραπάνω *ex vivo* πειράματα επιβεβαιώθηκαν και *in vitro*, διαπιστώνοντας ότι ο ορός υγιών δοτών προεπωασμένος με ίνες των βιοϊλικών που χρησιμοποιούνται από τους ESRD ασθενείς, αποκτά τις ίδιες προσηκτικές ιδιότητες με τον ορό των ασθενών. Αποδεικνύεται ότι τα βιοϊλικά των ESRD ασθενών αποτελούν ένα ακόμη θρομβωτικό μοντέλο όπου ουδετερόφιλο και συμπλήρωμα ως φλεγμονώδεις μεσολαβητές διεγείρονται, με τελικό αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του εξωγενούς συστήματος της πήξης μέσω TF.

**A COMPLEMENT DEPENDENT TISSUE FACTOR (TF)
EXPRESSION IS TRIGGERED BY HEMODIALYSIS
BIOMATERIALS**

***Kourtzelis I.¹, Kampas K.¹, Tsekou A.³, Rafail S.¹, Panagoutsos S.²,
Passadakis P.², Paraskevopoulou T.¹, Petanidis S.¹, Mitroulis I.¹,
Doumas M.¹, Lambris I.³, Ritis K.¹***

¹1st Department of Internal Medicine, DUTH, Alexandroupolis. ²Department of Nephrology, DUTH, Alexandroupoli. ³Department of Pathology & Lab. medicine, UPenn

Inflammation and thrombosis are linked, with still unclarified mechanisms, in many clinical models. Biomaterials used in hemodialysis are well known inflammation agonists of neutrophils and complement. Hemodialysis-End Stage Renal Disease (ESRD) patients are prominent to thrombotic events. TF plays the pivotal in vivo initiator of coagulation cascade. We have previously shown that neutrophils express functional TF through C5a/C5aR. Prompted by these observations, we studied the contribution of neutrophil-C5a-TF cross-talk in hemodialysis-ESRD thrombogenesis. TF was functionally analysed at supernatants of neutrophil cultures (modified Prothrombin Time-mPT), with flow cytometry (FACS), and quantitative Real Time PCR (qRT-PCR). It was established at RNA and protein levels that ESRD patients' neutrophils overexpress TF, while their serum can stimulate healthy neutrophils to produce functional TF with a peak of activity at 15 min of hemodialysis. This action was ascertained to be completely dependent on the activated complement, and more specific the C5a anaphylatoxin, because it is totally inhibited after incubation with Compstatin, (exclusive complement inhibitor) and inhibition of the C5a receptors as well. The ex vivo experiments were also in vitro confirmed, since serum from healthy donors preincubated with biomaterial fibers used by ESRD patients, acquires the same procoagulant properties with patient serum. Biomaterials in hemodialysis-ESRD patients trigger the TF-initiated coagulation system through a neutrophil-C5a cross-talk, suggesting thus another clinical model linking inflammation and thrombosis.

**ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΕΝΟΣ ΜΙΚΡΟΥ HSP ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΚΑΙ ΜΕΛΕΤΗ
ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΣΕ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΔΙΑΠΑΥΣΗΣ ΚΑΙ ΜΗ ΔΙΑΠΑΥΣΗΣ
ΣΤΟ ΕΝΤΟΜΟ SESAMIA NONAGRIOIDES (LEF.)**

Κούρτη Α. και Θ. Γκουβίτσας

*Τομέας Βιοχημείας, Ενζυμικής Τεχνολογίας, Μικροβιολογίας και Μοριακής
Βιολογίας, Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Ιερά Οδός 75, 118 55 Αθήνα, e-mail: akourti@aua.gr*

Στη μελέτη αυτή απομονώσαμε και χαρακτηρίσαμε έναν πλήρη cDNA κλώνο, που κωδικοποιεί ένα μέλος της οικογένειας των α -crystallin/s HSP, από το έντομο *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera: Noctuidae). Το cDNA κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη από 185 αμινοξέα με υπολογισμένο μοριακό βάρος 20.8 kDa. Η προκύπτουσα αμινοξική ακολουθία έδειξε τη μεγαλύτερη ομοιότητα (83%) με την *hsp20.4* του *Bombyx mori*. Επίσης βρήκαμε στην 5'-UTR περιοχή ένα στοιχείο που είναι παράγοντας θερμικού σοκ. Στην *SnoHsp20.8* βρέθηκαν πρωτεϊνικά μοτίβα όπως, μια θέση N-γλυκοζυλίωσης και δύο θέσεις για φωσφορυλίωση της κινάσης της καζεΐνης II. Για να μελετήσουμε την έκφραση του *SnoHsp20.8* γονιδίου έναντι περιβαλλοντικών καταπονήσεων (ζέστης και κρύου), εφαρμόσαμε τη μέθοδο του ημιποσοτικού PCR (RT-PCR). Σε μη διαπάουσες προνύμφες, τα μετάγραφα ήταν υψηλά εκφρασμένα σε σχέση με θερμική καταπόνηση σε 40°C, ενώ στην περίπτωση ψυχρής καταπόνησης (0°C, 5°C ή 10°C), ήταν σημαντικά αυξημένα στην ανάκαμψη από την ψυχρή καταπόνηση. Επιπλέον, εξετάσαμε την έκφραση του *SnoHsp20.8* γονιδίου σε διαπαύουσες προνύμφες. Τα επίπεδα έκφρασης του *SnoHsp20.8* γονιδίου ήταν όμοια μεταξύ διαπαουσών και μη διαπαουσών προνυμφών, και επομένως δεν υπάρχουν ενδείξεις ότι το γονίδιο αυτό παίζει κάποιο ρόλο κατά τη διάρκεια της μειωμένης μορφογένεσης κατά τη διαχείμαση του εντόμου.

- Η έρευνα αυτή χρηματοδοτήθηκε από το πρόγραμμα ΕΠΕΑΕΚ II στα πλαίσια του έργου «ΠΥΘΑΓΟΡΑΣ II-ΕΝΙΣΧΥΣΗ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΩΝ ΟΜΑΔΩΝ ΣΤΑ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑ με χρηματοδότηση 75% από το Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο και 25% από Εθνικούς πόρους.

**ISOLATION AND EXPRESSION OF A SMALL HSP GENE
DURING DIAPAUSE AND NON DIAPAUSE CONDITIONS IN THE
CORN STALK BORER *SESAMIA NONAGRIOIDES* (Lef.)**

Kourti A., and T. Gkouvitsas

*Department of Agricultural Biotechnology, Agricultural University of Athens
Iera Odos 75, 11855, Athens, Greece. Tel.: +30-210-5294615
e-mail: akourti@aua.gr*

In the present study, a full-length cDNA clone encoding a member of the α -crystallin/s HSP family was isolated and characterized from the *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera: Noctuidae). The cDNA encoded a protein of 185 amino acids with calculated molecular weights of 20.8 kDa. The deduced amino acid sequences showed the highest identity of 83% with *Bombyx mori hsp20.4*. We found a heat shock factor element at the 5'-UTR. Protein motifs such as an N-glycosylation site and two casein kinase II phosphorylation sites were found in *SnoHsp20.8*. To analyze the gene expression of *SnoHsp20.8* against environmental stresses (heat and cold), we performed a semi-quantitative reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR). In nondiapausing individuals, the transcripts were highly expressed in response to a 40°C heat shock and in the case of cold shock (0°C, 5°C or 10 °C), were significantly increased by recovery after cold shock. Furthermore, we examine the expression of *SnoHsp20.8* in larval diapause. Expression levels of *hsp20.8* were similar between diapausing and non-diapausing larvae, therefore this gene not suggest that it play a role during this overwintering developmental arrest.

- *The project is co-funded by European Social Fund (75%) & National Resources (25%) - O.P. "EDUCATION" II.*

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟΥ ΔΙΑΜΕΜΒΡΑΝΙΚΟΥ TNF α ΣΤΟΥΣ ΝΕΥΡΩΝΕΣ ΤΟΥ ΚΝΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΕΓΚΕΦΑΛΟΜΥΕΛΙΤΙΔΑ ΣΕ ΠΟΝΤΙΚΙΑ

Κουτρολός Μ.¹, Εμμανουήλ Μ.¹, Χαραλάμπους Σ.¹, Τσέλιος Θ.², Probert L.¹

¹*Εργαστήριο Μοριακής Γενετικής, Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ.*

²*Τομέας Οργανικής Χημείας, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Πατρών.*

Η Πειραματική Αυτοάνοση Εγκεφαλομυελίτιδα (ΠΑΕ) είναι ένα ζωικό μοντέλο για τη μελέτη της Σκλήρυνσης κατά Πλάκας, που επάγεται με ανοσοποίηση με πρωτεΐνες ή πεπτίδια μυελίνης και χαρακτηρίζεται από ενεργοποίηση Τ κυττάρων ειδικών για τη μυελίνη, απομυελίνωση και καταστροφή των νευρώνων στο ΚΝΣ. Ο TNF α εκφράζεται από τους νευρώνες του ΚΝΣ, αλλά η λειτουργία του δεν είναι γνωστή. Για να μελετηθεί ο ρόλος του διαμεμβρανικού TNF α στους νευρώνες κατά την ΠΑΕ, χρησιμοποιήθηκαν τα διαγονιδιακά ποντίκια TgK11^{+/-}, που υπερεκφράζουν μεταλλαγμένο ανθρώπινο διαμεμβρανικό TNF α στους νευρώνες του ΚΝΣ, ενώ παρουσιάζουν φυσιολογική ανάπτυξη και δεν εμφανίζουν φαινοτυπικές ή ιστολογικές ανωμαλίες (Akassoglou *et al.*, 1997). Στο μοντέλο που χρησιμοποιήθηκε, η ΠΑΕ επάγεται με ενεργό ανοσοποίηση με πεπτίδιο MOG₃₅₋₅₅ (*myelin oligodendrocyte glycoprotein*) σε ποντίκια με γενετικό υπόβαθρο C57Bl6, και προκαλεί χρόνια μορφή της ασθένειας. Πραγματοποιήθηκε επαγωγή της ΠΑΕ σε 2 ομάδες πειραματοζώων (TgK11^{+/-} και ποντίκια ελέγχου) και ακολούθησε καταγραφή της κλινικής τους εικόνας. Παρατηρήθηκε ότι η έναρξη της ασθένειας έτεινε να γίνει νωρίτερα στα TgK11^{+/-} ποντίκια, ενώ η ίδια ομάδα εμφάνισε ελαφρώς χειρότερη κλινική εικόνα μέχρι και την κορύφωση της ασθένειας. Εντούτοις, αυτή η διαφορά δεν είναι στατιστικά σημαντική. Κατά τη χρόνια φάση της ΠΑΕ, οι δύο ομάδες είχαν παρόμοια κλινική εικόνα με μικρή βελτίωση και σταθεροποίηση της ασθένειας. Τα παραπάνω αποτελέσματα επιβεβαιώθηκαν με ιστολογική ανάλυση τομών από το ΚΝΣ των πειραματοζώων. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι η υπερέκφραση διαμεμβρανικού TNF α στους νευρώνες του ΚΝΣ δεν επηρεάζει την εξέλιξη της ΠΑΕ. Συνεπώς, η επαφή του διαμεμβρανικού TNF α των νευρώνων με άλλους κυτταρικούς τύπους (όπως ολιγοδενδροκύτταρα) στο ΚΝΣ δε δημιουργεί επιπρόσθετες φλεγμονώδεις δράσεις.

**ROLE OF NEURON-SPECIFIC HUMAN TRANSMEMBRANE TNF α
IN THE CNS DURING EXPERIMENTAL AUTOIMMUNE
ENCEPHALOMYELITIS IN MICE**

Koutrolas M.¹, Emmanouil M.¹, Haralambous S.¹, Tselios T.², Probert L.¹

¹*Laboratory of Molecular Genetics, Hellenic Pasteur Institute.*

²*Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry, University of Patras.*

Experimental Autoimmune Encephalomyelitis (EAE) is an animal model for Multiple Sclerosis (MS) that is induced by immunization with myelin proteins or peptides and is characterized by activation of myelin-reactive T cells, demyelination and neuronal degeneration in the CNS. TNF α is constitutively expressed by CNS neurons but its function is not known. To study the role of neuronal TNF α during EAE, we used TgK11^{+/-} transgenic mice, which overexpress a mutant human transmembrane TNF α (tm-TNF α) specifically in neurons. In contrast to transgenic mice that overexpress neuron-specific wild type (soluble) TNF α and spontaneously develop an MS-type disease, TgK11^{+/-} have normal development and show no phenotypic or histological abnormalities (*Akassoglou et al., 1997*). We use a chronic model of EAE induced with MOG₃₅₋₅₅ (*myelin oligodendrocyte glycoprotein*) in C57B16 background mice. We induced EAE in TgK11^{+/-} and control littermates and followed their clinical score daily. Disease onset tended to occur earlier in TgK11^{+/-} mice, while the same group had slightly worse clinical score until the disease peak. However, these differences did not reach statistical significance. During the EAE chronic phase, both groups had similar clinical score, showing slight improvement and stabilization of the disease. Histological analysis of CNS tissues showed no difference in the extent of inflammation and demyelination between the 2 groups. These results indicate that neuron-specific tm-TNF α overexpression does not seem to influence the course of EAE. Thus, contact between neurons overexpressing tm-TNF α and other cell types (such as oligodendrocytes) is not sufficient for exacerbating CNS inflammation in this MS model.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΚΑΔΜΙΟΥ ΣΤΟΥΣ ΑΠΟΜΟΝΩΜΕΝΟΥΣ ΚΟΛΠΟΥΣ ΤΗΣ ΚΑΡΔΙΑΣ ΤΟΥ ΒΑΤΡΑΧΟΥ *RANA RIDIBUNDA**

Κουτσιμπέλα Κ., Παπαευθυμίου Χ. και Θεοφιλίδης Γ.

*Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Σχολή Θετικών Επιστημών, Τμήμα Βιολογίας,
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης*

Το κάδμιο αποτελεί έναν από τους πλέον τοξικούς περιβαλλοντικούς και βιομηχανικούς ρυπαντές, που μπορεί να επάγει ποικίλες αρνητικές επιδράσεις τόσο στον άνθρωπο όσο και στα ζώα. Πλήθος πειραματικών δεδομένων υποδηλώνουν, ότι ο καρδιακός ιστός ίσως αποτελεί έναν από τους στόχους της τοξικότητας του καδμίου. Σκοπός της εργασίας είναι η μελέτη των επιδράσεων του καδμίου στους απομονωμένους κόλπους της καρδιάς του βατράχου *Rana ridibunda*. Για το λόγο αυτό οι κόλποι εκτέθηκαν σε διαφορετικές συγκεντρώσεις καδμίου 20, 5, 2.5 και 1 μM . Παρατηρήθηκε ότι στις τρεις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις επήλθε αναστολή της αυτόματης σύσπασης των κόλπων σε διαφορετικό για κάθε συγκέντρωση χρόνο. Για τη συγκέντρωση των 20 μM η αναστολή της σύσπασης σημειώθηκε μετά από 35 ± 10 λεπτά ($n=5$), για τα 5 μM μετά από 60 ± 15 λεπτά ($n=4$), ενώ για τα 2.5 μM μετά από 170 ± 20 λεπτά ($n=3$). Αντίθετα, δεν παρατηρήθηκε δράση του μετάλλου σε συγκέντρωση 1 μM μετά από χρόνο έκθεσης μεγαλύτερο των 175 λεπτών ($n=3$). Είναι πιθανό, η τοξική δραστηριότητα του μετάλλου να οφείλεται στην ικανότητά του να επάγει την παραγωγή οξειδωτικών ριζών μέσω της φυσιολογικής αερόβιας αναπνευστικής διαδικασίας, που πραγματοποιείται στα μιτοχόνδρια, τα οποία αφθονούν στους κόλπους της καρδιάς του βατράχου. Προκειμένου να ελεγχθεί η παραπάνω υπόθεση, πραγματοποιήθηκε επίδραση με N-acetyl-L-cysteine (NAC), η οποία αποτελεί αποδεδειγμένη αντιοξειδωτική ουσία. Όμως η ίδια η παρουσία NAC προκαλεί αναστολή της καρδιακής σύσπασης σε συγκέντρωση από 1 έως 3 mM. Μόνο η συγκέντρωση του 0.5 mM φαίνεται να μην έχει εμφανή δράση στην αυτόματη σύσπαση των κόλπων. Η πιθανή ανασταλτική ικανότητα του NAC στην δράση του καδμίου θα διερευνηθεί αφού πρώτα καθορισθούν τα ελάχιστα όρια δράσης του.

- (*) Η έρευνα χρηματοδοτήθηκε από το Υπουργείο Εθνικής Παιδείας και Θρησκευμάτων και την Ευρωπαϊκή Ένωση στα πλαίσια του προγράμματος Πυθαγόρας II.

EFFECTS OF CADMIUM ON THE ISOLATED ATRIA OF THE HEART OF THE FROG *RANA RIDIBUNDA**

Koutsimpela K., Papaefthimiou C., and Theophilidis G.

*Laboratory of Animal Physiology, School of Biology, Aristotle University of
Thessaloniki*

Cadmium is considered to be one of the most toxic environmental and industrial pollutants, having significant toxic effects to living organisms, such as human and animals. Previous studies indicate that the heart may be the main target of the toxicity induced by cadmium. Therefore, the effects of cadmium on the isolated atria of the heart of the frog *Rana ridibunda* were investigated. The atria were exposed to different concentrations of cadmium such as 20, 5, 2.5 and 1 μ M. Cadmium inhibited the spontaneous contraction of atria in 2, 5 and 20 μ M and the inhibition time was concentration dependent. In particular, 20 μ M inhibited completely atria contraction within 35 ± 10 min (n=5). The inhibition time raised up to 60 ± 15 min (n=4) and 170 ± 20 min (n=3), when 5 and 2.5 μ M of cadmium were used respectively. On the contrary, the contraction of atria remained unaffected during incubation with 1 μ M for over 175 minutes (n=3). The toxic activity of cadmium might be due to its ability to cause the production of reactive oxygen species (ROS) via the physiological aerobic process, carried out in mitochondria, which are numerous in the atria. To test the above possibility, the atria were incubated with N-acetyl-L-cysteine (NAC), a compound having standard anti-oxidant properties. However, NAC itself inhibits cardiac contraction in a concentration range between 1 and 3 mM. It seems that NAC does not cause obvious effects on the spontaneous contraction of atria only at the concentration of 0.5 mM. To investigate the possible cardioprotective role of NAC against cadmium, the minimum concentration that affects the function of the heart has to be clarified.

- (*) *The research was financed from Ministry of National Education and Religious Affairs and European Union in the frame of Pythagoras Project II.*

**ΜΟΡΙΑΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ DQA ΚΑΙ DRB ΤΟΥ
ΜΕΙΖΟΝΟΣ ΣΥΜΠΛΕΓΜΑΤΟΣ ΙΣΤΟΣΥΜΒΑΤΟΤΗΤΑΣ (MHC)
ΣΤΑ ΕΙΔΗ *LEPUS EUROPAEUS* ΚΑΙ *LEPUS TIMIDUS***

**Κουτσογιαννούλη Ε.¹, Σταμάτης Κ.¹, Μούτου Κ.¹, Πυροβέτση Α.¹,
Suchentrunk F.², Μαμούρης Ζ.¹**

¹Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πλούτωνος 26
και Αιόλου, Λάρισα

²Res. Inst. of Wildlife Ecology, University of Veterinary Medicine Vienna,
Savoyenstr. 1, A-1160 Vienna, Austria

Η αποσαφήνιση του τρόπου με τον οποίο η φυσική επιλογή προωθεί την τοπική προσαρμογή αλληλεπιδρώντας με τη μετανάστευση, τη γενετική παρέκκλιση και τις μεταλλάξεις είναι ο βασικός σκοπός της εξελικτικής βιολογίας. Σε όλα τα σπονδυλωτά που έχουν μελετηθεί μέχρι σήμερα, το μείζον σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας (MHC) είναι μία πολυγονιδιακή οικογένεια που συνδέει το ανοσοποιητικό σύστημα με τις μολυσματικές ασθένειες. Παρά το γεγονός ότι έχουν προσδιοριστεί πολλά υποψήφια γονίδια ενδεχομένως κάτω από την επίδραση θετικής επιλογής σε οργανισμούς μοντέλα, το MHC παραμένει ένα δυναμικό μοντέλο για τον έλεγχο ανταγωνιστικών υποθέσεων που αφορούν τις αιτίες και τις συνέπειες της επιλογής. Ο σκοπός αυτής της μελέτης είναι να παρέχει προκαταρκτικά δεδομένα για το MHC τάξης II στον καφέ λαγό (*Lepus europaeus*) και στον ορεινό λαγό (*Lepus timidus*), δύο καλά διαχωρισμένα είδη που συνυπάρχουν στην Ελβετία και όπως έχουν δείξει προηγούμενες μελέτες υβριδίζονται και προς τις δύο κατευθύνσεις. Η ανάλυση έγινε στα γονίδια DQA και DRB σε 116 άτομα του *L. europaeus* και 90 άτομα του *L. timidus* χρησιμοποιώντας τη μέθοδο SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism, ανάλυση πολυμορφισμού διαμόρφωσης μονού κλώνου) σε συνδυασμό με την άμεση αλληλούχιση. Οχτώ αλληλόμορφα βρέθηκαν στο *L. europaeus* και 5 στο *L. timidus* για το DQA. Το ποσοστό της ετεροζυγωτίας για το *L. europaeus* και το *L. timidus* είναι 47,4% και 18,2% αντίστοιχα. Εννέα αλληλόμορφα βρέθηκαν στο *L. europaeus* και 7 στο *L. timidus* για το DRB. Το ποσοστό της ετεροζυγωτίας για το *L. europaeus* και το *L. timidus* είναι 28,6% και 57,6% αντίστοιχα. Η κατασκευή φυλογενετικού δέντρου και στα δύο είδη και γονίδια δείχνει ότι κάποιες DQA (ή DRB) αλληλουχίες του *L. europaeus* είναι περισσότερο συγγενικές με κάποιες του *L. timidus* και αντίστροφα, με υψηλά ποσοστά ανασυνδυασμού. Τα αποτελέσματα αυτά αναλύονται σε σχέση με το γενετικό υπόβαθρο, με πιθανά φαινόμενα υβριδισμού, με την ιστορία των δύο πληθυσμών και με ανοσολογικές αποκρίσεις.

**MOLECULAR ANALYSIS OF DQA AND DRB GENES OF MAJOR
HISTOCOMPATIBILITY COMPLEX (MHC) IN *LEPUS
EUROPAEUS* AND *LEPUS TIMIDUS***

***Koutsogiannouli E.¹, Stamatis C.¹, Moutou K.¹, Pirovetsi A.¹,
Sunchentrunk F.², Mamuris Z.¹***

¹*University of Thessaly, Department of Biochemistry and Biotechnology, Ploutonos
26 & Aioulou street, Larissa*

²*Res. Inst. of Wildlife Ecology, University of Veterinary Medicine Vienna,
Savoyenstr. 1, A-1160 Vienna, Austria*

Elucidating how natural selection promotes local adaptation in interaction with migration, genetic drift and mutation is a central aim of evolutionary biology. In all vertebrates studied to date, the major histocompatibility complex (MHC) is a multigene family acting at the interface between the immune system and infectious diseases. Despite the fact that numerous candidate genes potentially under the influence of positive selection have been identified in model organisms the MHC remains a potential model for testing competing hypotheses on the causes and consequences of selection. This study aimed to provide preliminary data on the genetic variability of the MHC class II of the brown hare (*Lepus europaeus*) and mountain hare (*Lepus timidus*) two well-separated species that co-exist in Switzerland and, as previous genetic studies showed, hybridised in both direction. We analysed DQA and DRB genes in 116 individuals of *L. europaeus* and in 90 individuals of *L. timidus*, using Single Strand Conformation Polymorphism (SSCP) combined with direct sequencing. Eight alleles in *L. europaeus* and 5 alleles in *L. timidus* were found for DQA. The percentage heterozygosity in *L. europaeus* and *L. timidus* was 47,4% and 18,2% respectively. Nine alleles in *L. europaeus* and 7 alleles *L. timidus* were found for DRB. The percentage heterozygosity in *L. europaeus* and *L. timidus* was 28,6% and 57,6%, respectively. The construction of phylogenetic trees in both species and genes showed that several DQA (or DRB) sequences of *L. europaeus* are more relative to those of *L. timidus* and vice-versa, with high percentages of recombination. These findings are discussed in relation to genetic background, possible hybridization phenomena, life history of populations and immune reaction.

**ΑΝΑΛΥΣΗ ΝΕΑΣ ΤΕΧΝΙΚΗΣ ΑΥΤΟΜΕΤΑΛΛΟΓΡΑΦΙΑΣ (AMG)
ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΒΑΡΕΩΝ ΜΕΤΑΛΛΩΝ ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ
ΤΟΥ ΒΑΤΡΑΧΟΥ *RANA RIDIBUNDA***

***Κουτσοκέρα Α., Κλαδίσιος Ν., Λουμπουρδής Ν.
και Π. Κυριακοπούλου-Σκλαβούνου***

*Εργαστήριο Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο
Πανεπιστήμιο, 540 06 Θεσσαλονίκη*

Τα βαρέα μέταλλα τα τελευταία χρόνια βρίσκονται στο επίκεντρο των μελετών όσον αφορά τη ρύπανση του περιβάλλοντος. Τα προβλήματα που δημιουργούν στα ζώα οφείλονται στην ιδιότητα της βιοσυσσωρευσης τους, ειδικά στο ήπαρ και στους νεφρούς. Σκοπός αυτής της μελέτης ήταν η ανίχνευση των ναοκρυστάλλων των βαρέων μετάλλων με την καινοτόμα μέθοδο της αυτομεταλλογραφίας (AMG) σε συνδυασμό με τη χρώση αιματοξυλίνης- ηωσίνης. Με την τεχνική αυτή προκύπτει μία πλήρης εικόνα του ιστού, καθώς η αιματοξυλίνη βάφει μοβ τους πυρήνες, η ηωσίνη βάφει ροζ το κυτόπλασμα, ενώ ο άργυρος της αυτομεταλλογραφίας δημιουργεί μία κάψουλα που επικαλύπτει τα συνδεδεμένα με θειούχες ενώσεις βαρέα μέταλλα, προσδίδοντας μία σκούρα απόχρωση κάνοντάς τα ορατά. Η περαιτέρω μελέτη με υπολογιστικά προγράμματα επιτρέπει το ποσοτικό προσδιορισμό της συγκέντρωσης των βαρέων μετάλλων. Παράλληλα έγινε σύγκριση της νέας τεχνικής με την απλή τεχνική της αυτομεταλλογραφίας και της μεθόδου ροδανίνης, που αφορά τον εντοπισμό του χαλκού, προκύπτοντας η ποιοτική υπεροχή της. Η τεχνική αυτή μπορεί στο μέλλον να χρησιμοποιηθεί ως όργανο για την πιθανή συσχέτιση των βαρέων μετάλλων με ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις που παρατηρούνται συχνά σε ζωικούς οργανισμούς.

**THE ANALYSIS OF THE NEW METHOD AUTOMETALLO-
GRAPHY (AMG) TRACING OF HEAVY METALS IN THE
TISSUES OF THE FROG *RANA RIDIBUNDA***

***Koutsokera A., Kladisios N., Loumbourdis N.,
and P. Kyriakopoulou-Sklavounou***

*Department of Zoology, School of Biology,, Aristotle University of Thessaloniki,
GR 54124 Thessaloniki, Greece*

Heavy metals have been in the centerfold of studies concerning environmental pollution over the last years. The numerous problems are due to the phenomenon of their bioaccumulation in the animal tissues, especially to the livers and kidneys. The aim of this study was the tracing of heavy metal nanocrystals by the innovative method of autometallography (AMG) in accordance with the *Hematoxylin-Eosin* staining procedure. This method provides a complete picture of the tissue, since the *Hematoxylin* stains the nuclei purple, the *eosin* stains the cytoplasm pink, while the silver ion supply creates a capsule which covers the complex of the heavy metal-sulphurous combination, making them visible. Further study with computer programs like image analysis program provides the quantitative determination of the heavy metal concentration. Also the comparison between the new and the original method of the autometallography and the rhodanine method, which traces copper deposits in the tissues, depicts its qualitative superiority, since higher quantities of heavy metals become visible. Moreover, this method could be used as a tool of histopathological studies and the possible roles of heavy metals in such histopathological alterations.

**ΠΛΑΣΜΑΤΟΚΥΤΤΑΡΟΕΙΔΗ ΔΕΝΔΡΙΤΙΚΑ ΩΣ ΟΧΗΜΑΤΑ
ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ ΑΝΤΙΓΟΝΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΠΑΓΩΓΗ ΠΡΟΣΤΑ-
ΤΕΥΤΙΚΗΣ ΑΝΟΣΙΑΣ ΣΕ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΜΟΝΤΕΛΑ
ΔΕΡΜΑΤΙΚΗΣ ΛΕΙΣΜΑΝΙΑΣΗΣ**

Κουτσώνη Ο.¹, Τσαγκόζης Π.², Καραγκούνη Ε.¹, Ντότσικα Ε.¹

¹Εργαστήριο Κυτταρικής Ανοσολογίας, Ελληνικό Ινστιτούτο Pasteur, Βασιλίσσης
Σοφίας 127, Αθήνα (e.dotsika@pasteur.gr), ²Karolinska Institute, Sweden

Η δερματική Λείσμανίαση χαρακτηρίζεται από μακρά παραμονή του παθογόνου μικρο-οργανισμού στον ξενιστή, ο οποίος αποκτά ισχυρή ανοχή στην επανамόλυνση. Έχει αποδειχθεί πως η ανωτέρω συμπεριφορά του ξενιστή οφείλεται στην επικράτηση ισχυρής Th1 απόκρισης, ειδικής για το ενδοκυτταρικό παράσιτο. Οι Λείσμανιάσεις παραμένουν ένα μείζον πρόβλημα υγείας και ταυτόχρονα αποτελούν νέο-εμφανιζόμενες ασθένειες σε πολλές περιοχές του κόσμου, προσβάλλοντας εκατομμύρια ανθρώπους, παρά την πρόοδο που έχει μέχρι σήμερα επιτελεστεί στη βασική έρευνα. Όπως προκύπτει και από τα παραπάνω, η αποτελεσματική θεραπεία και η πρόληψη έναντι της νόσου αποτελούν προβλήματα μείζονος σημασίας και η ανάγκη επίλυσης τους κρίνεται επιτακτική. Η ανοσιακή μεταφορά δένδριτικών κυττάρων μετά από επώαση των τελευταίων με αντιγόνα, αποτελεί μια πολλά υποσχόμενη μέθοδο για την ανάπτυξη εμβολίων νέας γενιάς. Άλλωστε είναι γνωστό πως τα δένδριτικά κύτταρα κατέχουν εξέχοντα ρόλο στην επαγωγή ειδικών Τ λεμφοκυτταρικών αποκρίσεων και η χρήση τους στην ενεργή ανοσοθεραπεία (εμβόλια) έναντι ιικών νοσημάτων και καρκίνου μελετάται ευρέως τα τελευταία χρόνια. Τα πλασματοκυτταροειδή δένδριτικά [pDCs, CD11c⁺CD45R(B220)⁺] που χρησιμοποιήθηκαν προέκυψαν μετά από *ex vivo* καλλιέργεια κυττάρων μυελού των οστών με το ανασυνδυασμένο flt3-L μόριο. Η παρούσα έρευνα αφορά στη διερεύνηση της ικανότητας επαγωγής προστασίας με την *in vivo* χορήγηση αυτόλογων pDCs που μεταφέρουν διαλυτά αντιγόνα του παρασίτου (SLA=Soluble Leishmania Antigen), σε πειραματικό μοντέλο δερματικής λείσμανίας. Σε γενετικούς ευαίσθητους επίμυες της αιμομικτικής φυλής BALB/c χορηγήθηκαν ενδοφλέβια 10⁶ pDCs που είχαν ή όχι ευαισθητοποιηθεί με SLA. Η επαγωγή προστασίας ελέγχθηκε με πειραματική μόλυνση, δηλαδή με χορήγηση 10³ μετακυκλικών προμαστιγωτών παρασίτων του στελέχους *Leishmania major*, ενδοδερμικά στο πτερύγιο του αυτιού. Τα ζώα που είχαν εμβολιαστεί με pDCs που έφεραν SLA ανέπτυξαν προστασία εκδηλώνοντας σημαντικά μικρότερες δερματικές αλλοιώσεις μέχρι την 17^η εβδομάδα διάρκειας του πειραματισμού συγκριτικά με τους μάρτυρες και μικρότερους λόγους IgG1/IgG2a αντισωμάτων συγκριτικά με τους επίμυες-μάρτυρες, καταδεικνύοντας την εγκατάσταση μιας προστατευτικής απόκρισης τύπου Th1 παρά μιας μη προστατευτικής Th2. Επιπλέον, βρέθηκε ότι ο αριθμός των CD4⁺CD25⁺ T ρυθμιστικών κυττάρων στους επιχώριους λεμφαδένες και στον σπλήνα των προστατευμένων και μη προστατευμένων ζώων δεν παρουσίασε διαφορά. Αυτά τα αποτελέσματα προτείνουν ότι η ανοσιακή μεταφορά pDCs που μεταφέρουν αντιγόνα του πρωτοζώου *Leishmania* επάγουν προστατευτική ανοσία. Ο προσδιορισμός πιο συγκεκριμένων ανοσολογικών παραμέτρων σε διαφορετικές χρονικές στιγμές μετά τη μόλυνση θα βοηθήσει στη διαλεύκανση του ρόλου των pDCs για την ενδεχόμενη μελλοντική τους χρήση ως «εργαλεία εμβολιασμού» έναντι πρωτοζωικών νοσημάτων.

**PLASMACYTOID DENDRITIC CELLS AS ANTIGEN VEHICLES
FOR THE INDUCTION OF PROTECTIVE IMMUNITY IN
EXPERIMENTAL CUTANEOUS LEISHMANIASIS**

Koutsoni O.¹, Tsagozis P.², Karagouni E.¹ and E. Dotsika¹

¹Laboratory of Cellular Immunology, Hellenic Pasteur Institute, Athens, Vasilissis Sofias 127 avenue (e.dotsika@pasteur.gr); ²Karolinska Institute, Sweden

Cutaneous leishmaniasis is characterized of long-term persistence of pathogens in a host that is able to maintain strong resistance to reinfection. It has been demonstrated that this is due to the generation of a robust parasite specific Th1 response. Despite the basic science advances, leishmaniasis remain prevalent as well as newly emerging in many parts of the world affecting millions of people. However effective treatment and prevention of disease remains a problem to solve. Adoptive transfer of antigen loaded dendritic cells (DCs) is a powerful approach for the development of novel vaccines since DCs play a pivotal role in the induction of antigen specific T cell responses, and therefore their use for the active immunotherapy (vaccination) of viral diseases and malignancies has been extensively investigated the recent years. Enriched plasmacytoid DCs (pDCs) that were used, were obtained by *ex vivo* expansion of bone marrow cells cultured with recombinant flt3-ligand. This study aimed to investigate whether experimental vaccination in a murine model of cutaneous leishmaniasis using autologous pDCs loaded with soluble leishmania antigens (SLA), could confer protection *in vivo*. Genetically susceptible BALB/c mice were intravenously vaccinated with 10⁶ naïve or parasite antigen loaded pDCs. Resistance to challenge infection was tested by intradermal administration of 10³ metacyclic promastigotes of *Leishmania major* in the ear pinna. The group of mice which was vaccinated with pDCs loaded with SLA, developed protective immune mechanisms which resulted in lesion's size reduction until the 17th week post infection. In addition, sera from mice with the protective regime showed statistically significant lower ratios of IgG1/IgG2a comparing to infected mice, indicating the establishment of a protective Th1 type response rather than a non-protective Th2. Both naïve or parasite antigen loaded pDCs were found to elicit equal numbers of CD4⁺CD25⁺ T regulatory cells in draining lymph nodes or spleen at 17 weeks post infection. Identification of specific immune parameters at various time points post infection will shed light to future perspectives for plasmacytoid dendritic cells' usage as vaccine tools for protozoan diseases.

ΜΟΡΙΑΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΕΛΙΚΑΣ 12 ΤΟΥ PPAR α (ΥΠΟΔΟΧΕΑΣ ΠΟΥ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΕΙΤΑΙ ΑΠΟ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΤΕΣ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΟΣΩΜΑΤΩΝ-ΤΥΠΟΣ ΑΛΦΑ): ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΣΤΗ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΗ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ

*Κρέη Γρηγόρης**

Εθνικό Ίδρυμα Αγροτικής Έρευνας, Ινστιτούτο Αλιευτικής Έρευνας, 64007 Νέα Πέραμος, Καβάλα.

Είναι γενικά αποδεκτό ότι η επίδραση των υποδοχέων που ενεργοποιούνται από πολλαπλασιαστές υπεροξειδισωμάτων (PPARs) στην έκφραση των γονιδίων στόχων τους προϋποθέτει την ακολουθία τριών γεγονότων: την αναγνώριση και πρόσδεση σε αποκρινόμενα στοιχεία στους προαγωγείς των γονιδίων στόχων, τη δέσμευση του προσδέτη και την ανταλλαγή συνκαταστολέων – συνενεργοποιητών. Η δέσμευση του προσδέτη από τον υποδοχέα θεωρείται ως το κύριο έναυσμα για τη μεταγραφική ενεργοποίηση, παρόλο που εναλλακτικοί μηχανισμοί, όπως η φωσφορυλίωση, μπορούν να ρυθμίσουν τη δράση των υποδοχέων. Σχετικά με το τελευταίο, παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον η υψηλή βασική δραστηριότητα του PPAR α , η μοριακή υπόσταση της οποίας, όπως επίσης και ο λειτουργικός της *in vivo* ρόλος, δεν είναι ξεκάθαρη. Εκτός από τον ρόλο της στη δέσμευση του προσδέτη, η LBD (ligand binding domain) περιοχή των πυρηνικών υποδοχέων περιέχει και την κύρια και εξαρτώμενη από τον προσδέτη λειτουργία μεταγραφικής δραστηριότητας, γνωστή και ως AF-2 (activation function-2). Η LBD των PPARs αποτελείται από 12 α -έλικες, από τις οποίες η έλικα 12 είναι το δυναμικό τμήμα της AF-2. Πιστεύεται ότι οι προσδέτες που ενεργοποιούν τους PPARs σταθεροποιούν την LBD σε μία συμπαγή και άκαμπτη δομή στην οποία η έλικα 12 βρίσκεται σε θέση που προάγει τη δέσμευση συνενεργοποιητών. Σε όλα τα μέλη της υπεροικογένειας των υποδοχέων πυρηνικών ορμονών (NHR) η έλικα 12 περιέχει ένα κεντρικό μοτίβο ακολουθίας αμινοξέων με ιδιότητες αμφιπαθούς α -έλικας, το ΦΦΧ(D/E)ΦΦ, όπου το Φ αντιπροσωπεύει υδροφοβικά κατάλοιπα, και το Χ κατάλοιπα με μακριές υδρόφιλες, ουδέτερες, ή πολικές πλευρικές αλυσίδες. Σε σύγκριση με τους άλλους υποδοχείς της υπεροικογένειας των NHR οι τρεις τύποι των PPARs, σε όλους τους οργανισμούς στους οποίους έχουν μελετηθεί, είναι μοναδικοί στο ότι κατέχουν μια ακολουθία στο καρβοξυτελικό τους άκρο που περιλαμβάνει δύο αλληλεπικαλυπτόμενα μοτίβα της ομόφωνης AF-2 ακολουθίας στην έλικα 12 (ΦΦΧΕΦΦΧDΦΦ). Σ' αυτήν την εργασία εξετάσαμε το ρόλο αυτών των καρβοξυτελικών καταλοίπων του PPAR α συνδυάζοντας την ανάλυση της λειτουργίας πειραματικά μεταλλαγμένων υποδοχέων με τη χρήση υπολογιστικών μεθόδων (computational simulations) για την εξομοίωση της δομής των. Με αυτόν τον τρόπο αναγνωρίσαμε τα κύρια κατάλοιπα που καθορίζουν τη ρύθμιση της έλικας 12 στη βασική και στην εξαρτώμενη από τον προσδέτη μεταγραφική δραστηριότητα του PPAR α .

* Προσκεκλημένος ομιλητής

MOLECULAR ANALYSIS OF PEROXISOME PROLIFERATOR-ACTIVATED RECEPTOR ALPHA (PPAR α) HELIX 12: EFFECTS ON THE TRANSCRIPTIONAL ACTIVITY OF THE RECEPTOR

Krey Grigorios*

*National Agricultural Research Foundation, Fisheries Research Institute, 64007
Nea Peramos, Kavala*

The effect of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) on the expression of their target genes involves three events: recognition and binding of the receptor to response sequences in the promoter of the target genes, ligand binding, and co-repressor/co-activator exchange. Ligand binding by the receptor is thought to be the major trigger of transcriptional activation, although other alternative mechanisms such as phosphorylation may also modulate the receptor activity. In that respect, it is particularly intriguing the observed high constitutive activity of PPAR α , the molecular basis of which, as well as its functional role *in vivo*, remain unclear. The ligand binding domain (LBD), besides its role in ligand binding, is also the site of the major and ligand-dependent activation function of nuclear receptors, known as the activation function 2 (AF-2). The PPAR LBD consists of 12 α helices, of which helix 12 is the dynamic part of AF-2. It is thought that ligands activating PPARs stabilize the LBD in a compact and rigid structure, in which helix 12 is in a position that promotes binding of co-activator proteins. In all members of the nuclear hormone receptor (NHR) superfamily, helix 12 contains a core amino acid sequence motif $\Phi\Phi X(D/E)\Phi\Phi$, with amphipathic α -helical properties, where Φ represents hydrophobic residues and X denotes residues with long hydrophilic, neutral, or polar side chains. The three PPAR subtypes, in all organisms thus far studied, possess a unique C-terminal sequence ($\Phi\Phi XE\Phi\Phi XD\Phi\Phi$) that includes two overlapping motifs within helix 12, both conforming to the AF-2 core consensus sequence. Herein, we have studied the role of these C-terminal residues of PPAR α using a combined experimental mutant analysis and computational stimulations and we have identified key residues, which determine helix 12 regulation in its constitutive and ligand-dependent transcriptional activity.

* *Invited speaker*

ΜΟΡΙΑΚΟΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ cDNA ΓΙΑ ΤΗΝ 1B ΙΣΟΜΟΡΦΗ ΤΗΣ ΠΑΛΜΙΤΟΪΛ-ΤΡΑΝΣΦΕΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΚΑΡΝΙΤΙΝΗΣ (CPT1B) ΤΗΣ ΤΣΙΠΟΥΡΑΣ (*Sparus aurata*)

Favre-Krēh L., Μπουκουβάλα Ε., Θεοδωρίδου Μ. και Γ. Κρέη

*Εθνικό Ίδρυμα Αγροτικών Ερευνών, Ινστιτούτο Αλιευτικής Έρευνας, Εργαστήριο Μοριακής
Βιολογίας, Νέα Πέραμος, 64007 Καβάλα*

Το μιτοχondριακό σύστημα της καρνιτίνης παλμιτοΐλ-τρονσφεράσης (CPT), αποτελούμενο από την CPT1 και την CPT2, ρυθμίζει την είσοδο των λιπαρών οξέων μακράς αλυσίδας στο μιτοχόνδριο. Η CPT1 βρίσκεται αγκυροβολημένη στην εξωτερική μεμβράνη του μιτοχondρίου και καταλύει τη μεταφορά των λιπο-ακυλ ομάδων από το συνένζυμο A (CoA) στην καρνιτίνη. Η ακυλ-καρνιτίνη περνά στην εσωτερική μιτοχondριακή μεμβράνη με τη βοήθεια μιας ειδικής μεταφοράσης και η αναγέννηση των λιπο-ακυλ-CoAs μέσα στη μήτρα του μιτοχondρίου επαλείεται από τη CPT2. Η CPT1 λόγω της αναστολής της από το μαλονυλ-συνένζυμο A αποτελεί το βασικό σημείο ρύθμισης της β-οξειδωσης των λιπαρών οξέων. Αυτή η διαδικασία είναι βασική για τη διατήρηση ενός μεταβολικού μονοπατιού το οποίο ανάλογα με τις ενεργειακές ανάγκες του οργανισμού μπορεί να οδηγήσει είτε στον καταβολισμό είτε στη βιοσύνθεση των λιπαρών οξέων σε ιστούς όπως το ήπαρ, την καρδιά και τους σκελετικούς μύς. Στα θηλαστικά η CPT1 εμφανίζεται με τουλάχιστον δυο ισομορφές, από τις οποίες η μια εκφράζεται βασικά στο ήπαρ (CPT1A) και η δεύτερη (CPT1B) στους μύς. Οι δυο ισομορφές έχουν 62% ομοιότητα στην αμινοξική τους ακολουθία και παρουσιάζουν διαφορετική ευαισθησία έναντι της αναστολής από το μαλονυλ-CoA. Μια τρίτη ισομορφή η CPT1C, με αρκετές διαφοροποιήσεις από τις δυο άλλες έχει περιγραφεί πρόσφατα στα θηλαστικά. Η έκφραση αυτής της ισομορφής περιορίζεται στο κεντρικό νευρικό σύστημα και η λειτουργία της δεν έχει ακόμη αποσαφηνιστεί. Ενώ η δραστηριότητα της CPT1 αναστέλλεται από το μαλονυλ-CoA, η έκφραση των γονιδίων της ρυθμίζεται, σύμφωνα με μελέτες, από λιπαρά οξέα και πολλαπλασιαστές υπεροξειδωσώματων, καθώς και από τη διατροφική κατάσταση του οργανισμού μέσω των πυρηνικών υποδοχέων που ενεργοποιούνται από πολλαπλασιαστές υπεροξειδωσώματων (PPARs). Στην παρούσα εργασία περιγράφεται ο μοριακός χαρακτηρισμός του cDNA που συντέθηκε από το mRNA του μυϊκού ιστού της τσιπούρας (*Sparus aurata*). Το συγκεκριμένο cDNA κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη της οποίας η αμινοξική ακολουθία παρουσιάζει μεγάλη ομοιότητα με τις ακολουθίες των CPT1 πρωτεϊνών από άλλα είδη. Η μελέτη του προτύπου έκφρασης των mRNAs σε ιστούς της τσιπούρας έδειξε ότι η πρωτεΐνη αυτή εκφράζεται κυρίως στους σκελετικούς και καρδιακούς μύς και σε πολύ χαμηλά επίπεδα, ή καθόλου, στους υπόλοιπους ιστούς. Βασίζόμενοι στη φυλογενετική ανάλυση της αμινοξικής ακολουθίας της πρωτεΐνης και στη μελέτη έκφρασης του mRNA της θεωρούμε ότι η CPT1 της τσιπούρας αποτελεί την 1B ισομορφή της. Επίσης τα αποτελέσματά μας δείχνουν ότι η έκφραση του mRNA της CPT1B της τσιπούρας στην καρδιά επηρεάζεται από τη διατροφική κατάσταση των ψαριών και μάλιστα είναι ανεξάρτητη από την έκφραση του υποδοχέα PPARα στο συγκεκριμένο ιστό. Το γεγονός αυτό υποδεικνύει ότι πιθανότατα η ρύθμιση της έκφρασης της CPT1B στα ψάρια να πραγματοποιείται με διαφορετικούς μηχανισμούς από αυτούς των θηλαστικών.

**MOLECULAR CHARACTERIZATION OF A GILTHEAD SEA
BREAM (*Sparus aurata*) MUSCLE TISSUE cDNA FOR A
CARNITINE PALMITOYL-TRANSFERASE 1B (CPT1B)**

Favre-Krey L., Boukouvala E., Theodoridou M., and G. Krey

*National Agricultural Research Foundation, Fisheries Research Institute,
Molecular Biology Laboratory, Nea Peramos, 64007 Kavala*

Carnitine palmitoyltransferase 1 (CPT1) along with carnitine palmitoyltransferase 2 (CPT2) form the mitochondrial carnitine palmitotransferase system, which mediates the incorporation of long-chain fatty acids into the mitochondrion. CPT1 is anchored in the outer mitochondrial membrane and catalyzes the transfer of fatty acyl groups from coenzyme A to carnitine. Acylcarnitine transverses the inner mitochondrial membrane by means of a specific translocase and regeneration of fatty acyl-CoAs within the matrix is effectuated by CPT2. CPT1, by virtue of its inhibition by malonyl-CoA is the main regulatory point in fatty acid β -oxidation. This process is central in maintaining an effective fuel “cross talk”, which according to the energy needs of the organism can lead to either catabolism or biosynthesis of fatty acids in a variety of tissues such as the liver, heart, and the skeletal muscle. In mammals, CPT1 exists as at least two isoforms one being expressed predominantly in the liver (CPT1A) and the second (CPT1B) in the skeletal muscle. The muscle and liver isoforms are 62% identical in amino acid sequence and exhibit different sensitivity to malonyl-CoA inhibition. A third more distantly related isoform of the enzyme (CPT1C), whose expression is restricted to the central nervous system and its function remains currently elusive, has been recently described in mammalian species. In addition to the inhibition by malonyl-CoA, CPT1 activity is significantly regulated at the gene level. The expression of the CPT1 genes has been shown, in vitro and in vivo, to be regulated by fatty acids, peroxisome proliferators, as well as by feeding and fasting through the action of the peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR). Herein, we describe the identification and molecular characterization of a cDNA from the muscle tissue of the gilthead sea bream (*Sparus aurata*) that encodes a protein with high similarity to CPT1 proteins from other species. Our tissue mRNA expression results show that the identified sea bream CPT1 is predominantly expressed in the muscle and heart tissues of sea bream with little or no expression in the other tissues tested. Thus, by employing phylogenetic and tissue mRNA expression analyses we conclude that the deduced sea bream protein is likely to be the muscle CPT1 isoform (CPT1B). Furthermore, we show that the mRNA expression of this protein in sea bream heart can be regulated at the gene level depending on the prandial state of the fish, an effect that is independent of the PPAR α expression in the same tissue. Therefore the expression of CPT1B in sea bream is likely to involve different mechanisms than those controlling its expression in mammals.

**Η ΕΞΑΡΤΩΜΕΝΗ ΑΠΟ ΤΗΝ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΑΝΑΔΟΜΗΣΗ ΤΗΣ
ΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΜΕΜΒΡΑΝΗΣ ΣΧΕΤΙΖΕΤΑΙ ΜΕ ΠΡΟΣ-
ΔΕΣΗ ΑΝΟΣΟΣΦΑΙΡΙΝΩΝ, ΑΝΑΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗ ΤΩΝ ΛΙΠΙΔΙΚΩΝ
ΣΧΕΔΙΩΝ ΚΑΙ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΣΠΑΣΩΝ**

**Κριεμπάρδης Α.^{1,2}, Αντωνέλου Μ.¹, Σταμούλης Κ.³, Οικονόμου-Petersen Ε.²,
Μαργαρίτης Α.Χ.¹ και Παπασιδέρη Ι.¹**

¹Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιολογίας Κυττάρων &
Βιοφυσικής, ²Εθνικό Κέντρο Αιμοδοσίας, Αθήνα, ³Κέντρο Αιμοδοσίας Νίκαιας,
Πειραιάς

Η *ex vivo* αποθήκευση των ερυθροκυττάρων (Ε) αποτελεί ένα σύστημα-μοντέλο για τη μελέτη μονοπατιών κυτταρικής σηματοδότησης κατά τη γήρανση και τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο. Κατά την αποθήκευση, αναδιαμορφώνεται η μεμβράνη των Ε διαμεσολαβώντας σε κρίσιμα βήματα των ανωτέρω μηχανισμών. Μελετήθηκε το πρότυπο έκφρασης δυνητικών τροποποιήσεων κυτταρικής σηματοδότησης της μεμβράνης κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης Ε σε CPDA, χωρίς λευκαφαίρεση. Αναλύθηκαν μεμβράνες, κυτταροσκελετοί, αλλά και ολόκληρα φρέσκα και αποθηκευμένα Ε από 21 αιμοδότες με τεχνικές ηλεκτροφόρησης, ανοσοαποτυπώματος κατά Western και μικροσκοπία ανοσοφθορισμού. Σύμφωνα με τα πειραματικά αποτελέσματα, κατά την αποθήκευση παρατηρείται συσσωμάτωση και μείωση της ζώνης-3 καθώς και ανεπάρκεια πρωτεϊνών που σχετίζονται με λιπιδικές σχεδίες. Εντοπίζεται αυξημένη πρόσδεση IgGs στη μεμβράνη. Η σορκίνη και η συνεξίνη μετακινούνται από το κυτταρόπλασμα στη μεμβράνη, η στοματίνη και οι φλοτιλλίνες εγκαταλείπουν τη μεμβράνη, η πρωτεΐνη FAS ολιγομερίζεται και οι κασπάσες ενεργοποιούνται. Άρα, η αναδιάταξη της μεμβράνης κατά την αποθήκευση των Ε περιλαμβάνει απώλεια και οξειδωτικές διασυνδέσεις της ζώνης-3 καθώς και πρόσδεση IgGs. Η διαδικασία αυτή σχετίζεται με την ανάπτυξη και απώλεια λιπιδικών σχεδίων που πιθανόν καθοδηγείται από την ενεργοποίηση κασπασών. Οι οξειδωτικές βλάβες φαίνεται να συνιστούν ένα σημαντικό καθοδηγητή της γήρανσης των Ε κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης.

- Η μελέτη αυτή χρηματοδοτήθηκε από το “Εμπειρικό Ίδρυμα” και τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Παν/μίου Αθηνών προς την Ι. Παπασιδέρη. Ο Υποψήφιος Διδάκτορας Α. Κριεμπάρδης είναι υπότροφος του Ιδρύματος Κρατικών Υποτροφιών.

**STORAGE-DEPENDENT REMODELING OF THE RED CELL
MEMBRANE IS ASSOCIATED WITH INCREASED
IMMUNOGLOBULIN G BINDING, LIPID RAFT
REARRANGEMENT AND CASPACE ACTIVATION**

***Kriebardis A.^{1,2}, Antonelou M.¹, Stamoulis K.³, Economou-Petersen E.²,
Margaritis, L.H.¹, and Papassideri I.¹***

*¹University of Athens, Faculty of Biology, Department of Cell Biology &
Biophysics, ²National Blood Center, Athens, Greece, ³Blood Transfusion Center
Nikea, Pireaus, Greece*

Ex vivo storage is a model system for studying cell-signaling events in the senescence and programmed cell death of the red blood cells (RBCs). The membrane undergoes widespread remodeling over the storage period and hosts critical steps in these mechanisms. We investigated the expression pattern of potential cell-signaling changes in membrane over RBC storage in CPDA-preserved non-leukodepleted bags. Membrane ghosts, cytoskeletons as well as fresh and stored RBCs from 21 blood donors were analyzed by means of SDS-PAGE densitometry, immunoblotting, immunofluorescence microscopy and in situ assays for caspase activation. During storage, band 3 protein was aggregated in situ in the membrane and its content decreased as did the content of several lipid raft-related proteins. IgG binding to the membrane is also increased. Sorcin and synexin moved from the cytosol to the membrane, stomatin and flotillins left the membrane, the Fas protein was oligomerized and caspase was activated. The remodeling of the RBC membrane during storage includes loss and oxidative cross-linking of band 3 as well as IgG binding. This process occurs with lipid raft development and loss, and is probably driven by caspase activation. Oxidative injury appears to be an important driver of RBC aging during storage.

- *This study was supported by the “Empirikion Foundation” and the Special Account for Research Grants of the University of Athens to I. S. Papassideri. PhD student A. Kriebardis, MSc also thanks the “Hellenic State Scholarship Foundation” for the award of PhD fellowship.*

**Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΚΑΠΝΙΑΣ ΣΤΗΝ ΑΥΞΗΣΗ ΚΑΙ
ΑΕΡΟΒΙΑ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΧΕΡΣΑΙΟΥ ΣΑΛΙΓΚΑΡΙΟΥ
*Helix aspersa***

Κυδωνοπούλου Κ.¹, Μιχαηλίδης Β.² και Στάικου Α.¹

¹Εργαστήριο Ζωολογίας, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο
Πανεπιστήμιο, 54124 Θεσσαλονίκη

²Εργαστήριο Φυσιολογίας, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο
Πανεπιστήμιο, 54124 Θεσσαλονίκη

Οι κλιματικές αλλαγές, ως αποτέλεσμα της αύξησης του επιπέδου του ατμοσφαιρικού CO₂ εξαιτίας ανθρωπογενών εκπομπών, είναι ένα φαινόμενο ευρέως αναγνωρισμένο από πολλούς επιστήμονες. Έτσι, είναι πολύ σημαντικό να καθοριστεί το κρίσιμο όριο των επιπέδων του ατμοσφαιρικού CO₂ που επηρεάζει σχετικές βιολογικές διεργασίες ζώα. Στη παρούσα μελέτη εξετάστηκαν οι συνέπειες μετρίων επιπέδων ατμοσφαιρικού CO₂ στην αύξηση και την αερόβια ικανότητα του *Helix aspersa* από δύο διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας. Σαλιγκάρια συλλέχθηκαν από τις περιοχές της Άρτας και της Ναυπάκτου και χωρίστηκαν σε δύο ομάδες. Η μία από τις ομάδες χρησιμοποιήθηκε ως μάρτυρας, ενώ η δεύτερη τοποθετήθηκε σε ένα θάλαμο όπου μίγμα αέρα/CO₂ παρεχόταν συνεχώς. Η αύξηση ελέγχθηκε με τη μέτρηση της διαμέτρου του κελύφους ανά τακτά χρονικά διαστήματα. Επίσης η μέγιστη δραστικότητα της γαλακτικής αφυδρογονάσης (D-LDH), που είναι μια ένδειξη αναερόβιου μεταβολισμού στα κύτταρα, υπολογίστηκε στον μυ του ποδιού, τον μανδύα και το ήπατοπάγκρεας. Σύμφωνα με τα αποτελέσματά μας, η έκθεση των σαλιγκαριών σε μέτρια υπερκαπνία δεν επηρέασε την αύξηση. Ωστόσο, αυτές οι συνθήκες προκάλεσαν μια στροφή της αερόβιας παραγωγής ενέργειας σε αναερόβια. Το τελευταίο στηρίχθηκε στην αύξηση της δραστικότητας της D-LDH. Επιπλέον τα αποτελέσματα έδειξαν μια φανερή διαφορά στην απόκριση των δύο πληθυσμών σε αυξημένα επίπεδα ατμοσφαιρικού CO₂ όσον αφορά στη δραστικότητα της D-LDH. Συγκεκριμένα τα σαλιγκάρια του πληθυσμού της Ναυπάκτου αποκρίθηκαν σε χαμηλότερα επίπεδα CO₂ σε σύγκριση με αυτά του πληθυσμού της Άρτας. Αυτές οι διαφορές μπορούν να αποδοθούν στις διαφορετικές κλιματικές συνθήκες που υφίστανται τα σαλιγκάρια. Ως προς την υπερθέρμανση του πλανήτη, εάν τα αποτελέσματά μας αντικατοπτρίζουν μια διαφορετική ικανότητα των σαλιγκαριών από διαφορετικά οικοσυστήματα να αντέχουν μέτρια υπερκαπνία, παραμένει να εξακριβωθεί.

THE EFFECTS OF HYPERCAPNIA ON GROWTH AND AEROBIC CAPACITY IN THE LAND SNAIL *Helix aspersa*

Kydonopoulou K.¹, Michaelidis B.², and Staikou A.¹

¹Laboratory of Zoology, Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University, GR-54124 Thessaloniki, Greece

²Laboratory of Physiology, Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University, GR-54124 Thessaloniki

The Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC) states that climate change, as a result of an increase in the level of atmospheric CO₂ due to anthropogenic emissions, is a phenomenon widely recognized by many scientists as a potentially serious threat to the global environment. Thus, it is very important to determine the critical threshold of atmospheric CO₂ levels which affect relevant biological processes like growth and reproduction in animals. In the present study we examined the effects of moderate ambient CO₂ levels on the growth and aerobic capacity of the terrestrial gastropod species *Helix aspersa* from two different regions of Greece. Snails were collected from Arta and Nafpaktos regions and divided into two groups. One of the groups served as control while the second was put in a room where a mixture of air/CO₂ was provided continuously. Growth was monitored, by measuring the diameter of the shell at regular periods. Also the maximum activity of lactate dehydrogenase (D-LDH), which is an index of anaerobic metabolism in the cells, was determined in the foot muscle, the mantle and the hepatopancreas. According to our results, the exposure of snails at moderate hypercapnia did not affect growth. However, these conditions caused a shift of aerobic to anaerobic energy production. The latter was supported by the increase in the activity of D-LDH. Moreover, the results indicated a marked difference in the response of the two populations at increased ambient CO₂ as far as the D-LDH activity is concerned. Specifically snails from the population of Nafpaktos responded at lower levels of CO₂ than the ones from the population of Arta. These differences might be attributed to the different climatic regimes experienced by the snails. In the context of global warming, whether our results reflect a differential capacity of snails from different ecosystems to tolerate moderate hypercapnia, remains to be extrapolated.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΩΝ ΦΙΛΤΡΑ- ΡΙΣΜΑΤΟΣ ΣΤΗΝ ΑΝΑΖΗΤΗΣΗ ΣΕ ΒΑΣΕΙΣ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΩΝ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΩΝ ΜΕ ΤΟ BLASTP

Κορμιτζόγλου Ι. και Β.Ι. Προμπονάς

*Ερευνητικό Εργαστήριο Βιοπληροφορικής, Τμήμα Βιολογικών Επιστημών,
Πανεπιστήμιο Κύπρου, Τ.Θ. 20537, CY 1678, Λευκωσία, ΚΥΠΡΟΣ*

Στη μελέτη αυτή προσπαθούμε να απαντήσουμε το θεμελιώδες ερώτημα του κατά πόσο μπορούμε να κερδίσουμε σε ακρίβεια στην αναζήτηση βάσεων δεδομένων με φιλτράρισμα τόσο της αλληλουχίας-ερωτήματος (query) όσο και της ίδιας της βάσης. Χρησιμοποιήσαμε πρωτεϊνικά σύνολα από τέσσερα πλήρη γονιδιώματα (*Escherichia coli*-K12, *Salmonella enterica typhimurium*-LT2, *Methanocaldococcus jannaschii* και *Plasmodium falciparum*). Τρία από αυτά επιλέχθηκαν εξαιτίας της μεταξύ τους ποικιλομορφίας στην αμινοξική σύσταση και το μέγεθος (*E. coli*, *M. jannaschii* και *P. falciparum*) καλύπτοντας επιπλέον τους τρεις μεγάλους τομείς της ζωής, ενώ το *S. enterica* επιλέχθηκε ως στενός συγγενής του *E. coli*, αποτελώντας πρωτεϊνικό σύνολο αναφοράς. Χρησιμοποιώντας το BLASTP εκτελέσαμε συγκρίσεις του τύπου «όλα εναντίων όλων» των πρωτεϊνικών συνόλων με τον εαυτό τους. Εφαρμόσαμε δύο ευρέως χρησιμοποιούμενες τεχνικές φιλτραρίσματος, το SEG και το CAST. Αυτή η προσέγγιση έχει το πλεονέκτημα ότι γνωρίζουμε εκ των προτέρων το σωστό αποτέλεσμα (δηλ. το ίδιο το query!!) και συνεπώς μπορούμε να εκτιμήσουμε αξιόπιστα την απόδοση (στην καλύτερη περίπτωση) για τους διάφορους συνδυασμούς μασκαρίσματος που εφαρμόστηκαν. Τα αποτελέσματά μας υποδηλώνουν ότι το φιλτράρισμα τόσο της αλληλουχίας query όσο και της βάσης δεδομένων μπορεί να βελτιώσει την ακρίβεια εύρεσης του σωστού αποτελέσματος, κάτι που είναι κρίσιμο στην αναζήτηση ομολόγων με τη χρήση της τεχνικής best bidirectional hit στην υπολογιστική συγκριτική γονιδιωματική. Η χρήση επιπρόσθετων πληροφοριών που περιέχονται στα αρχεία που παράγει το BLASTP (bit-score, % ταυτόσημα κατάλοιπα, και το μήκος της στοίχισης) φαίνεται να βελτιώνει την αποδοτικότητα της μεθόδου. Τέλος, ως ένα επακόλουθο, παρατηρήσαμε σημαντική επιτάχυνση του BLASTP, γεγονός που οφείλεται κυρίως στην πολύ μεγάλη μείωση των διαδικασιών ανάγνωσης/εγγραφής και σμίκρυνση από δύο έως δέκα φορές του μεγέθους των αρχείων του BLAST σε πρωτεϊνικά σύνολα που περιέχουν ένα μεγάλο ποσοστό πρωτεϊνών χαμηλής πολυπλοκότητας.

EFFECTS OF DIFFERENT MASKING STRATEGIES ON PROTEIN SEQUENCE DATABASE SEARCHES WITH BLASTP

Kirmitzoglou I., and V.J. Promponas

*Bioinformatics Research Laboratory, Department of Biological Sciences,
University of Cyprus, P.O. Box 20537, CY 1678, Nicosia, CYPRUS*

In this work we investigate if the choice of masking schemes affects sensitivity, specificity and efficiency of protein sequence database search. In particular we answer the fundamental question whether we could gain in accuracy of database search with BLASTP by filtering both the query sequence and the database. We used the protein sets from four complete genomes (*Escherichia coli*-K12, *Salmonella enterica typhimurium*-LT2, *Methanocaldococcus jannaschii* and *Plasmodium falciparum*). Three of those genomes were selected because they were known to vary greatly in compositional features and sizes (*E. coli*, *M. jannaschii* and *P. falciparum*) and cover the three main domains of life, while *S. enterica* was chosen as a close relative of *E. coli*, thus serving as a reference protein set. We performed all-against-all BLASTP self comparisons under different masking schemes with two popular filtering methods, namely SEG and CAST. This approach has the advantage of knowing the correct hit beforehand (i.e. the query sequence itself!), and we could reliably obtain best-case performance estimates for the different masking schemes employed in our study. Our results indicate that filtering both the query sequence and the database may improve the accuracy of retrieving the true best-hit, which is crucial in homolog detection using the best bidirectional hit approach in computational comparative genomics. Utilizing extra features of the BLASTP output (bit-score, percent identities and the alignment length) is shown to enhance the method's performance. Additionally, as a side effect, we observed a significant speed-up both of BLASTP, mainly contributed by the tremendous reduction of input/output operations and a two- to ten-fold reduction of file sizes in protein sets with a big proportion of compositionally biased proteins.

ΕΠΙΒΙΩΤΙΚΟΙ ΚΕΡΑΤΟΣΠΟΓΓΟΙ ΣΤΟ ΕΔΩΔΙΜΟ ΑΣΚΙΔΙΟ
Microcosmus sabatieri

Κυροδήμου Μ.¹, Βουλτσιάδου Ε.¹, Βαφειδης Δ.²

¹ Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ, 54124 Θεσσαλονίκη

² Τμήμα Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών,
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Νέα Ιωνία Μαγνησίας

Η εργασία αυτή εντάσσεται σε ένα ευρύτερο πρόγραμμα για τη μελέτη ιδιαίτερων ενδιαιτημάτων που διαμορφώνονται στο θαλάσσιο οικοσύστημα με την παρουσία ή τη δράση οργανισμών. Το κοινό, εδώδιμο ασκίδιο *Microcosmus sabatieri* Roule, 1885 μελετήθηκε στο πλαίσιο αυτό για την επιβιωτική σπογοπανίδα του από δείγματα που συλλέχθηκαν σε 10 σταθμούς στις ακτές των νησιών Καντελιούσα, Τήλο, Χάλκη και Σύμη στη Δωδεκάνησο. Συνολικά εξετάστηκαν 115 άτομα ασκιδίων και σχεδόν σε όλα βρέθηκαν επιβιωτικοί δημόσπογγοι. Στην παρούσα φάση, μελετήθηκαν οι κερατόσπογγοι (τάξεις Dictyoceratida, Dendroceratida και Verongida) που διακρίνονται για τη μαλακή και εύκαμπτη σύσταση του σκελετού τους και για την προτίμησή τους σε ρηχά και σχετικά θερμά νερά. Σαράντα πέντε δείγματα κερατόσπογγων που ταξινομήθηκαν σε 13 είδη, βρέθηκαν σε 38 από τα ασκίδια που εξετάστηκαν. Με τη μελέτη αυτή προστίθενται τρία νέα είδη στη μέχρι σήμερα γνωστή σπογοπανίδα του Νοτίου Αιγαίου, ενώ ένα από αυτά αναφέρεται για πρώτη φορά ως στοιχείο της πανίδας του Αιγαίου. Επικρατέστεροι, όσον αφορά τη συχνότητα της παρουσία τους αλλά και την επιφάνεια κάλυψης του ασκιδίου-υποστρώματος ήταν οι σπόγγοι *Ircinia fasciculata*, *Fasciospongia cavernosa*, *Sarcotragus foetidus* και *Aplysilla rosea*. Οι κερατόσπογγοι κάλυπταν το 15% της συνολικής επιφάνειας των ασκιδίων επάνω στα οποία βρέθηκαν. Η θετική συσχέτιση μεταξύ της επιφάνειας κάλυψης των επιβιωτικών κερατόσπογγων και των μορφομετρικών χαρακτηριστικών των ασκιδίων (μήκος, περίμετρος, όγκος, υγρό βάρος, ολική επιφάνεια) δεν ήταν ισχυρή. Η χωροδιάταξη των κερατόσπογγων επάνω στον πτυχωτό χιτώνα των ασκιδίων έδειξε μια έντονη προτίμηση των προνυμφών τους για εγκατάσταση στην οπισθοκοιλιακή πλευρά των τελευταίων. Αυτό φαίνεται να σχετίζεται (1) με το γεγονός ότι αυτή η πλευρά των ασκιδίων είναι η ασθενέστερα φωτισμένη και (2) με τη μεγάλη αφθονία των μακροφυκών, που αποτελούν ανταγωνιστές των σπόγγων για χώρο, στην περισσότερο εκτεθειμένη στο φως πρόσθια και ραχιαία περιοχή των ατόμων που μελετήθηκαν.

**EPIBIONTIC KERATOSE SPONGES OF THE ASCIDIAN
*Microcosmus sabatieri***

Kyrodinou M.¹, Voultziadou E.¹, Vafidis D.²

¹*Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki,
54124 Thessaloniki, Greece*

²*Department of Ichthyology and Aquatic Environment, School of Agricultural
Sciences, University of Thessaly, Nea Ionia, Magnesia, Greece*

This paper is part of a research project aiming to the study of special marine habitats formed by ecosystem engineering species, such as sponges and tunicates. Under this scope, the common, edible ascidian *Microcosmus sabatieri* Roule, 1885 was studied for its associated sponge epifauna. Samples were collected from 10 stations on the coasts of Kandeliousa, Tilos, Chalki and Sympi Islands in Dodecanese. In total, 115 ascidian individuals bearing epibiontic demosponges on the external surface of their tunic were examined. At the present stage, keratose sponges (orders Dictyoceratida, Dendroceratida and Verongida), known for their soft and flexible spongin skeleton and their preference to live in shallow warm waters, were surveyed. Forty five keratose sponge specimens, classified into 13 species were found on 38 of the ascidians examined. Three of these species were new records for the fauna of the South Aegean and one of them is a new element for the Aegean sponge fauna. Most dominant, both in frequency of appearance and in area covered on the ascidian tunic, were the sponges *Ircinia fasciculata*, *Fasciospongia cavernosa*, *Sarcotragus foetidus* and *Aplysilla rosea*. Keratose sponges covered 15% of the total surface of the ascidians on which they were attached. The correlation between the keratose sponge cover and the morphometric characteristics of the ascidian individuals (length, perimeter, volume, wet weight, total surface area) was not strong. The spatial distribution of keratose sponges on the wrinkled tunic of the ascidians revealed a strong preference of sponge larvae for settlement on the posterior-ventral surface of the latter. This is probably related with the reduced light conditions at this side of the ascidians and with the fact that macroalgae, which are potential substrate competitors for sponges, were observed with high abundances on the exposed to light anterior and dorsal surface of the ascidians studied.

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΛΕΠΤΙΝΗΣ, ΤΟΥ ΙΣΟΠΡΟΣΤΑΝΙΟΥ, ΤΗΣ
ΡΟΣΙΓΛΙΤΑΖΟΝΗΣ ΚΑΙ ΣΥΝΔΥΑΣΜΩΝ ΤΟΥΣ ΣΤΙΣ ΣΧΕΤΙΚΕΣ
ΜΕ ΑΘΗΡΩΜΑΤΩΣΗ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΩΝ ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΩΝ
ΑΝΘΡΩΠΟΥ**

Κωνσταντινίδης Α.¹, Κολιάκος Γ.², Καλογιάννη Μ.¹

¹Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης (ΑΠΘ), 54124 ² Τομέας Βιολογικής Χημείας, Τμήμα Ιατρικής, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης (ΑΠΘ), 17034

Η αθηρωμάτωση και οι σχετικές με αυτήν καρδιαγγειακές επιπτώσεις είναι από τους κυριότερους παράγοντες θνησιμότητας στα αναπτυγμένα κράτη. Σπουδαίο ρόλο στην πραγματοποίηση των αθηρωματικών φαινομένων, παίζει μια τάξη λευκοκυττάρων, τα μονοκύτταρα. Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκαν οι ουσίες λεπτίνη (κυτοκίνη, συμμετέχει στη ρύθμιση της ενεργειακής ομοιόστασης), ισοπροστάνιο (μια προσταγλανδινοειδής ένωση) και ροσιγλιταζόνη (αντι-διαβητικό φάρμακο, ενεργοποιητής του μεταγραφικού παράγοντα PPAR γ). Καταρχήν, μελετήθηκε η επίδραση (μεμονωμένα και σε συνδυασμό) των τριών αυτών ουσιών στην ικανότητα των ανθρώπινων μονοκυττάρων να παράγουν H₂O₂ και ανιόντα σουπεροξειδίου (O₂⁻), δύο από τις πιο κοινές μορφές ελευθέρων ριζών (reactive oxygen species, ROS) που απαντώνται στις περιοχές σχηματισμού αθηρωματικών πλακών. Και οι τρεις ουσίες οδήγησαν σε αύξηση της παραγωγής των συγκεκριμένων ελευθέρων ριζών με την μεγαλύτερη αύξηση να παρατηρείται στο δείγμα που περιείχε και τις τρεις ουσίες μαζί. Επιπρόσθετα, μελετήθηκε η επίδραση της λεπτίνης, του ισοπροστανίου και της ροσιγλιταζόνης (μεμονωμένα και σε συνδυασμό), στην εσωτερίκευση μετρίως οξειδωμένων λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας (oxLDLs). Και οι τρεις ενίσχυσαν την εσωτερίκευση των μετρίως οξειδωμένων LDLs, χωρίς όμως, να παρατηρούνται συνεργατικά-αθροιστικά φαινόμενα όταν οι ουσίες χρησιμοποιούνταν μαζί. Τα αποτελέσματα αυτά θα αποτελέσουν τη βάση για την περαιτέρω μελέτη της επίδρασης των τριών αυτών ουσιών στις σχετικές με αθηρωμάτωση ιδιότητες των ανθρώπινων μονοκυττάρων.

- Η μελέτη αυτή χρηματοδοτήθηκε από τη Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας στα πλαίσια του προγράμματος ΠΕΝΕΔ 2003.

**LEPTIN, ISOPROSTANE, ROSIGLITAZONE AND THEIR
COMBINATIVE EFFECTS ON ATHEROSCLEROSIS-RELATED
PROPERTIES OF HUMAN MONOCYTES**

Konstantinidis D.¹, Koliakos G.², Kaloyianni M.¹

*¹Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, School of Biology,
Aristotle University of Thessaloniki (AUTH), 54124*

*²Department of Biological Chemistry, School of Medicine, Aristotle University of
Thessaloniki (AUTH), 17034*

Atherosclerosis and the cardiovascular effects associated with it, is one of the main causes of morbidity and mortality in the developed world. Monocytes, a distinct class of leukocytes, play a major role during atherosclerotic phenomena. In this study, the substances leptin (an adipokine which participates in energy homeostasis regulation), isoprostane (a prostaglandine-like compound) and rosiglitazone (an anti-diabetic drug of the thiazolidinedione class and an agonist of the transcription factor PPAR γ) were used. First of all, we report on the effects (separately and in combination) of leptin, isoprostane and rosiglitazone on human monocyte H₂O₂ and superoxide anion (O₂⁻) production; two of the most common reactive oxygen species (ROS) found at the sites of atheromatous plaque formation. All three substances augmented ROS production, with the most profound increase being observed when all three were added together. Additionally, we studied the effect of leptin, isoprostane and rosiglitazone (separately and in combination) on moderately oxidized low density lipoprotein (oxLDL) uptake. All three augmented the uptake of moderately oxidized LDLs; however, no synergistic-cumulative effect was observed. These results provide us with a good footing in order to study further the separate and synergistic effects of leptin, isoprostane and rosiglitazone on human monocyte atherosclerosis-related properties.

- *This study was funded through a PENED 2003 grant from the General Secretariat of Research and Technology (GSRT) of Greece.*

**ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΤΑΥΡΙΝΗΣ ΣΤΗ
ΣΥΣΠΑΣΗ ΤΩΝ ΑΠΟΜΟΝΩΜΕΝΩΝ ΚΟΛΠΩΝ ΤΗΣ ΚΑΡΔΙΑΣ ΣΕ
ΨΑΡΙ, ΑΜΦΙΒΙΟ ΚΑΙ ΘΗΛΑΣΤΙΚΟ***

**Κωνσταντινίδου Α., Αντωνοπούλου Ε., Παπαευθυμίου Χ.
και Γ. Θεοφιλίδης**

*Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Σχολή Θετικών Επιστημών, Τμήμα Βιολογίας,
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης*

Η ταυρίνη, μεταξύ άλλων, ελέγχει την ομοίωση του ασβεστίου, δρα ως αντισπασμικός παράγοντας και τροποποιεί τους διαύλους ασβεστίου και νατρίου. Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η διερεύνηση της δράσης της ταυρίνης στη σύσπαση των απομονωμένων κόλπων της καρδιάς της τσιπούρας *Sparus aurata*, του βατράχου, *Rana ridibunda* και του επίμυος. Ταυτόχρονα μελετήθηκε η δράση της ταυρίνης στη σύσπαση θηλοειδών μυών από την καρδιά επίμυ. Στους κόλπους της καρδιάς του βατράχου η ταυρίνη (50-450 μM) προκάλεσε μια δόσο-εξαρτώμενη αρνητική ινοτρόπο δράση, με την μεγαλύτερη πτώση ($46.3 \pm 13.4\%$) να παρατηρείται στα 450 μM . Στους κόλπους της καρδιάς του επίμυος η ταυρίνη (50 μM) ελάττωσε τη δύναμη σύσπασης κατά $78 \pm 1.18\%$, τέσσερις φορές περισσότερο σε σχέση με την καρδιά του βατράχου. Αντίθετα, στους κόλπους της τσιπούρας η δράση της ταυρίνης δεν είναι συγκεκριμένη, εξαιτίας της αμφιλεγόμενης χρονο-απόκρισης στη σύσπαση. Συνδυασμένη χορήγηση ατροπίνης και ταυρίνης στην καρδιά του επίμυος διατήρησε σταθερά τα επίπεδα σύσπασης (μείωση $8.7 \pm 5.2\%$). Σε λωρίδες δεξιού κόλπου της καρδιάς του επίμυος η ταυρίνη (150 μM) προκάλεσε μια $27.9 \pm 6.1\%$ ($n=3$) πτώση στη δύναμη σύσπασης. Ταυτόχρονος εμποτισμός με ατροπίνη και ταυρίνη αύξησε τη δύναμη σύσπασης κατά $25 \pm 2.5\%$, ενώ προεπώαση με προπρανολόλη (20 μM) διατήρησε την αρνητική ινοτρόπο δράση της ταυρίνης. Σε αντιδιαστολή με τους απομονωμένους κόλπους της καρδιάς του επίμυος, η ταυρίνη (150 μM) αύξησε κατά $43.8 \pm 15.8\%$ ($n=3$) τη δύναμη σύσπασης του θηλοειδή μυ. Η θετική ινοτρόπος δράση της ταυρίνης μηδενίστηκε κατά τη ταυτόχρονη χορήγηση προπρανολόλης (20 μM , $n=4$). Συμπερασματικά, η ταυρίνη φαίνεται να προκαλεί την απελευθέρωση νευροδιαβιβαστών από τις νευρικές απολήξεις, σε εύρος συγκεντρώσεων που συμπίπτει με τη φυσιολογική διακύμανση της ταυρίνης στο πλάσμα του αίματος θηλαστικών (10-100 μM).

- (*) Η έρευνα χρηματοδοτήθηκε από το Υπουργείο Εθνικής Παιδείας και Θρησκευμάτων και την Ευρωπαϊκή Ένωση στα πλαίσια του προγράμματος Πυθαγόρας II

**A COMPARATIVE STUDY OF THE ACTION OF TAURINE ON
THE CONTRACTION OF ISOLATED ATRIA OF THE HEART IN
FISH, AMPHIBIAN AND MAMMAL***

Konstantinidou A., Antonopoulou E., Papaefthimiou C., Theophilidis G.

Lab. of Animal Physiology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki

The sulfonic amino acid, taurine, controls Ca^{2+} homeostasis, shows antischemic properties and modulates Ca^{2+} and Na^{+} channels. In the present work, the effects of different concentrations of taurine (50-450 μM) on spontaneous contractions of the isolated auricle of the heart of the seabream, *Sparus aurata*, the atria of the frog, *Rana ridibunda* and rat, were investigated. The action of taurine on electrically driven papillary muscles from right ventricle was also studied. In isolated atria of the frog, taurine (50-450 μM) induced a concentration-dependent negative inotropic action, with the maximum decrease (46.3 ± 13.4 %) observed at 450 μM . In isolated atria of the rat, taurine (50 μM) caused a 78 ± 1.18 % decrease on force of contractions. On the contrary, the action of taurine is more complicated in fish due to ambiguous time-response curves of contraction. Combined application of atropine and taurine (50 μM) on rat atria eliminated the negative inotropic action of taurine (8.7 ± 5.2 % decrease). In isolated strips from right atria, taurine (150 μM) caused a 27.9 ± 6.1 % decrease on force of contractions. Simultaneous incubation with atropine (100 μM) and taurine (150 μM) enhanced force of contraction by 25 ± 2.5 %, while preincubation with propranolol (20 μM) preserved the negative inotropic action of taurine alone. In contrast to isolated atria of the rat, taurine (150 μM) induced a 43.8 ± 15.8 % increase of the contractions of papillary muscle ($n=3$). The positive inotropic action of taurine was eliminated during concomitant incubation with propranolol (20 μM). In conclusion, taurine seems to facilitate the release of neurotransmitters from nerve terminals upon concentrations consistent with the physiological range of taurine concentration in mammalian plasma (10-100 μM).

- (*) *The research was financed from Ministry of National Education and Religious Affairs and European Union in the frame of Pythagoras Project II*

ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΝΕΩΝ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΩΝ. ΣΤΗ ΔΙΔΑΣΚΑΛΙΑ ΤΩΝ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΜΑΘΗΜΑΤΩΝ

Κωσταρίδης Π., Μπαρώνα Φ., Περάκη Β.

Παιδαγωγικό Ινστιτούτο, Μεσογείων 386, Αγία Παρασκευή 153 41 Αθήνα

Τα τελευταία χρόνια, οι εκπαιδευτικές εμπειρίες που παρέχονται από το παραδοσιακό σύστημα εκπαίδευσης κρίνονται ανεπαρκείς ως προς την προετοιμασία των μελλοντικών πολιτών και εργαζομένων. Ο εκπαιδευτής-δάσκαλος δεν θεωρείται πλέον ούτε ως ο κυρίαρχος ούτε και ως αποκλειστικός φορέας και διαβιβαστής γνώσης. Επιπλέον ο ρόλος του μαθητή δεν περιορίζεται στην παθητική αποδοχή της μεταφερόμενης γνώσης. Το άτομο μαθαίνει καλύτερα σε συνεργατικά περιβάλλοντα μάθησης και προς αυτή την κατεύθυνση οι Τεχνολογίες της Πληροφορίας και της Επικοινωνίας (Τ.Π.Ε.) μπορεί να συμβάλλουν σημαντικά. Το ερώτημα που ανακύπτει είναι με ποιο τρόπο θα μπορούσαν να ενταχθούν οι Νέες Τεχνολογίες στην εκπαίδευση, ώστε η εισαγωγή τους να επιφέρει αποτελεσματικότερη μάθηση και απόκτηση νέων δεξιοτήτων, σύμφωνα με τις σύγχρονες παιδαγωγικές αντιλήψεις και στρατηγικές. Η χρήση των Νέων Τεχνολογιών στη διδασκαλία θεμάτων Βιολογίας θεωρείται πλέον απαραίτητη, δεδομένου ότι οι Βιολογικές επιστήμες αποτελούν ένα ταχύτατα εξελισσόμενο πεδίο. Η άντληση νέων δεδομένων, η παρουσίαση και η διδασκαλία τους εξαρτώνται όλο και περισσότερο από τη χρήση των Τ.Π.Ε. και ιδιαιτέρως του διαδικτύου. Οι βιολογικές δομές και λειτουργίες, εκ φύσεως σύνθετες και πολυπαραγοντικές, παρουσιάζονται, αναλύονται και ερμηνεύονται καλύτερα με τη χρήση πολυμέσων. Βέβαια, είναι απαραίτητο να επισημανθεί ο κίνδυνος παρανοήσεων αν τα μέσα αυτά δεν ενταχθούν στη διδασκαλία με τον κατάλληλο τρόπο. Επιπλέον, με δεδομένο τη ραγδαία εξέλιξη της Επιστήμης της Βιολογίας και της Τεχνολογίας, τα μέσα αυτά απαιτούν συνεχή ανανέωση του περιεχομένου τους προκειμένου να είναι αποτελεσματικά. Τα παραπάνω καθιστούν απαραίτητη την επιμόρφωση των εκπαιδευτικών σε παιδαγωγικά και διδακτικά θέματα με τη χρήση των Τ.Π.Ε., ώστε να μπορούν οι ίδιοι να δημιουργούν δραστηριότητες με τη χρήση λογισμικών. Για το σκοπό αυτό, η ομάδα Βιολογίας του Παιδαγωγικού Ινστιτούτου έχει σχεδιάσει ειδικό πρόγραμμα επιμόρφωσης εκπαιδευτικών, έχει αξιολογήσει και προτείνει σχετικό επιμορφωτικό υλικό (έντυπο και ηλεκτρονικό) καθώς και εκπαιδευτικό λογισμικό. Τέλος, έχει αναπτύξει συγκεκριμένες εκπαιδευτικές δραστηριότητες και σενάρια, σχεδιασμένα ώστε να καλύπτουν τις ανάγκες διδασκαλίας σε θέματα Βιολογίας με την παιδαγωγική αξιοποίηση λογισμικών και εργαλείων των Νέων Τεχνολογιών. Πολύ σύντομα το συγκεκριμένο εκπαιδευτικό υλικό θα είναι διαθέσιμο στην εκπαιδευτική κοινότητα.

UTILIZATION OF NEW TECHNOLOGIES IN THE TEACHING OF BIOLOGICAL COURSES

Costaridis P., Barona F., Peraki V.

Pedagogical Institute, Mesogion 386, Agia Paraskevi 153 41 Athens

The educational experiences provided by the traditional system of education, are being judged insufficient for the preparation of future citizens and workers. The schoolteacher is considered to be neither a sovereign, nor an exclusive owner and transporter of knowledge. Furthermore, the role of student does not enclose the passive acceptance of transported knowledge. Taking into account that individuals learn more effectively in collaborative learning environments, the Information and Communication Technologies (I.C.T) can contribute considerably to this direction. The question that emerges is with which way the New Technologies could be included in education, in order to achieve for students more effective learning and acquisition of new dexterities, according to the modern pedagogical perceptions and strategies. The use of New Technologies in teaching Biology themes, is considered crucially essential, since Biology science evolves rapidly. The acquisition of new data, their presentation and their teaching, depends incrementally on the use of I.C.T. and particularly on the use of the internet. The biological structures and operations, because of their complicated and multifactorial nature, are presented, analyzed and interpreted better with the use of multimedia. Naturally, the danger of misconceptions must be mentioned in case that these media are not applied properly. Moreover, beyond the teaching approaches these I.C.T. elements (considering rapid development of Biology and Technology), require continuous renewal of their content in order for this to be more effective. All the above support the training of teachers in pedagogic and teaching subjects with the use of I.C.T. That will be helpful for them in the creation of activities with the use of software. For this purpose the team of Biology of the Pedagogical Institute of Greece has drawn a special program concerning the training of teachers, has evaluated and proposed relative training material (printed and electronic) as well as educational software. Finally, it has developed concrete educational activities and scripts in order to cover the needs of teaching Biology with the pedagogic use of software's and tools of New Technologies. This educational material, will be soon enough available to every member of the "Educational community".

**ΑΥΞΗΜΕΝΗ ΚΑΡΒΟΝΥΛΙΩΣΗ ΛΑΜΙΝΙΝΗΣ ΚΑΙ ΠΑΡΑΓΩΓΗ
ΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΜΟΡΦΩΝ ΟΞΥΓΟΝΟΥ ΑΠΟ ΤΑ ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΑ
ΣΤΟ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ**

Κωστίδου Ε.¹, Κολιάκος Γ.², Καλογιάννη Μ.¹

*¹Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή
Θετικών Επιστημών, ΑΠΘ, ²Εργαστήριο Βιολογικής χημείας, Τμήμα Ιατρικής,
Σχολή Επιστημών Υγείας, ΑΠΘ, Θεσ/νίκη 54124*

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η ικανότητα των μονοκυττάρων που προέρχονται είτε από υγιείς εθελοντές ή από ασθενείς με διαβήτη τύπου ΙΙ να οξειδώνουν τη λαμινίνη, την κυριότερη πρωτεΐνη των βασικών μεμβρανών. Παράλληλα, προσδιορίστηκε η παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS). Σε μια προσπάθεια να ερευνηθεί η βιολογική σημασία της οξειδωσης της λαμινίνης στην επαγωγή της αθηροσκλήρωσης, μελετήθηκε η προσκόλληση μονοκυττάρων σε οξειδωμένη και μη λαμινίνη, χρησιμοποιώντας μονοκύτταρα υγιών εθελοντών και διαβητικών ασθενών. Παράλληλα, μελετήθηκε ο ρόλος της α2 υπομονάδας της ιντεγκρίνης, ενός υποδοχέα πρωτεϊνών των βασικών μεμβρανών στον παραπάνω μηχανισμό. Τα αποτελέσματά μας έδειξαν ότι τα μονοκύτταρα που προέρχονται από ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη οξειδώνουν τη λαμινίνη σε μεγαλύτερο βαθμό σε σχέση με τα μονοκύτταρα των υγιών εθελοντών ($p=0.031$). Παράλληλα, τα μονοκύτταρα των διαβητικών ασθενών παράγουν αυξημένα ποσά O_2^- ($p=0.0006$) και H_2O_2 ($p<0.0001$) σε σχέση με τα φυσιολογικά. Τα μονοκύτταρα των διαβητικών ασθενών εμφάνιζαν σημαντικά αυξημένη ικανότητα προσκόλλησης στην οξειδωμένη ($p=0.0467$) και μη οξειδωμένη λαμινίνη ($p=0.0038$) σε σχέση με τα μονοκύτταρα των υγιών ατόμων. Παράλληλα, τα αποτελέσματά μας έδειξαν τη συμμετοχή της α2 υπομονάδας της ιντεγκρίνης στην προσκόλληση των μονοκυττάρων τόσο στην οξειδωμένη όσο και στη μη οξειδωμένη λαμινίνη σε μονοκύτταρα προερχόμενα από φυσιολογικά άτομα και διαβητικούς ασθενείς. Τα αποτελέσματά μας έδειξαν ότι τα μονοκύτταρα που προέρχονται από διαβητικούς ασθενείς αλληλεπιδρούν διαφορετικά με τη λαμινίνη σε σύγκριση με τα αντίστοιχα των φυσιολογικών ατόμων.

- Η έρευνα αυτή χρηματοδοτείται από τη Γ.Γ.Ε.Τ (ΠΕΝΕΔ 2003)

INCREASED MONOCYTE LAMININ CARBONYLATION AND ROS PRODUCTION IN DIABETES MELLITUS

Kostidou E.¹, Koliakos G.², Kaloyianni M.¹

*¹Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, School of Biology,
Aristotle University, Thessaloniki, ²Department of Biological Chemistry, Medical
School, Aristotle University, Thessaloniki, 54124*

In the present study we evaluated the ability of monocytes derived from either healthy volunteers or patients with type II diabetes mellitus to oxidize laminin, the main basement membrane protein. Reactive oxygen species (ROS) production was also measured in both groups studied. In an attempt to investigate the biological significance of laminin oxidation in the initiation of the atherosclerotic process, we studied monocyte attachment to oxidized and native laminin, using monocytes derived from healthy volunteers and diabetic patients. The role of the alpha2 integrin subunit, a receptor for basement membrane proteins in the above mechanism was also studied. Our results indicated that monocytes derived from diabetic patients oxidize laminin at a higher degree as compared to monocytes derived from healthy volunteers ($p=0.031$). Moreover, diabetic monocytes produced increased levels of O_2^- ($p=0.0006$) and H_2O_2 ($p<0.0001$) as compared to controls. Monocytes derived from patients with diabetes mellitus also showed an increased ability to attach to either oxidized ($p=0.0467$) or non-oxidized laminin ($p=0.0038$), as compared to healthy monocytes. Our results showed the involvement of the alpha2 integrin subunit in monocyte attachment to both native and oxidized laminin in monocytes derived from healthy donors and diabetic patients. The results of the present study indicate that monocytes derived from diabetic patients interact with laminin in a different way as compared to controls.

- *This work was funded by G.S.R.T (PENED 2003)*

**ΧΑΡΤΟΓΡΑΦΗΣΗ ΤΩΝ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΩΝ ΠΕΡΙΟΧΩΝ ΤΩΝ
ΟΠΙΟΕΙΔΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΠΟΥ ΕΥΘΥΝΟΝΤΑΙ ΓΙΑ ΤΗΝ
ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΜΕ ΤΗΝ RGS4 ΠΡΩΤΕΪΝΗ**

Λεοντιάδης Α.Ι., Παπακωνσταντίνου Μ.-Π., Σαρρής Μ. και Γεωργούση Ζ.

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

Οι ρυθμιστές της σηματοδότησης μέσω G πρωτεϊνών (RGS πρωτεΐνες) δρουν στις G πρωτεΐνες ενεργοποιώντας την υδρόλυση του GTP και ανταγωνίζοντας διάφορους τελεστές. Πρόσφατες παρατηρήσεις του εργαστηρίου μας έδειξαν ότι η RGS4 πρωτεΐνη αλληλεπιδρά άμεσα με τους μ- και δ- οπιοειδείς υποδοχείς (μ-OR και δ-OR) μέσω της τρίτης ενδοκυτταρικής θηλιάς και του καρβοξυτελικού τους άκρου (Georgoussi et al., 2006). Σε μια προσπάθεια να χαρτογραφήσουμε τα ακριβή σημεία αλληλεπίδρασης της RGS4 στα καρβοξυτελικά τμήματα των υποδοχέων, δημιουργήσαμε διάφορες μεταλλαγμένες, χιμαιρικές μορφές των καρβοξυτελικών άκρων. Τα αποτελέσματά μας έδειξαν ότι η έλικα VIII των οπιοειδών υποδοχέων ευθύνεται για την πρόσδεση της RGS4. Παράλληλα, πειράματα με τη χρήση διαφόρων ελλειμματικών μορφών της RGS4 απέδειξαν την σημασία του αμινοτελικού της άκρου στην αλληλεπίδρασή της με τους υποδοχείς. Παράλληλα πειράματα συνανοσοκατακρήμνισης, σε κύτταρα HEK293, απεκάλυψαν την δημιουργία ενός τριμερούς συμπλόκου μεταξύ του μ-οπιοειδούς υποδοχέα, της RGS4 και της G α 3 πρωτεΐνης. *In vitro* μελέτες, χρησιμοποιώντας GST-χιμαιρικά πεπτιδία, επιβεβαίωσαν τη δημιουργία του ετεροτριμερούς πρωτεϊνικού συμπλόκου και υπέδειξαν τη σημασία της έλικας VIII του υποδοχέα σε αυτές τις αλληλεπιδράσεις. Συνεστιακή μικροσκοπία σε κύτταρα HEK293 μόνιμα επιμολυσμένα με τον μ-OR έδειξαν ότι η RGS4-GFP εντοπίζεται κυρίως στον πυρήνα και εν μέρει στο κυτταρόπλασμα, σε αντίθεση με την RGS2-GFP στην περίπτωση του δ-OR, που εντοπίζεται κυρίως στην μεμβράνη των ίδιων κυττάρων. Έκφραση της RGS4 σε HEK293 κύτταρα μετέβαλλε δραματικά τα επίπεδα εσωτερίκευσης του δ-OR και μείωσε τα επίπεδα φωσφορυλίωσης των ERK1,2 και για τους δύο οπιοειδείς υποδοχείς. Συμπερασματικά, τα αποτελέσματά μας δηλώνουν για πρώτη φορά τον σημαντικό ρόλο που διαδραματίζουν οι RGS πρωτεΐνες στη κυτταρική σηματοδότηση των οπιοειδών υποδοχέων.

MAPPING THE SITE OF INTERACTION OF RGS4 WITH μ - AND δ - OPIOID RECEPTORS

Leontiadis L.J., Papakonstantinou M.-P., Sarris M., and Z. Georgoussi*

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

* e-mail: iro@bio.demokritos.gr

Regulators of G protein signaling (RGS proteins) are GTPase activators and effector antagonists, acting upon members of G proteins. Recent observations from our laboratory have shown the direct interaction of RGS4 with both μ - and δ - opioid receptors (μ -OR and δ -OR) within their third intracellular loops and carboxyl-termini (CTs). In an attempt to delineate the site of interaction of RGS4, we constructed various truncated versions of the CTs and found that helix VIII is responsible for RGS4 binding. On the other hand, experiments utilising various truncated versions of RGS4 demonstrate the importance of its N-terminal region for receptor association. Co-immunoprecipitation studies in HEK293 cells revealed the formation of a functional ternary complex between RGS4, G α 3 and μ -OR, and *in vitro* experiments also confirmed that this complex is formed within helix VIII. Localization studies in HEK293 cells using confocal microscopy indicated the presence of RGS4-GFP mostly in the nucleus and partly in the cytosol when co-expressed with the μ -OR. In contrast, RGS2-GFP was mainly localized in the plasma membrane in cells expressing the δ -OR. Functional experiments in HEK293 cells indicated that the expression of RGS4, altered DSLET mediated δ -OR internalization and agonist-mediated ERK phosphorylation for both receptors. Collectively, our data indicate that expression of RGS proteins regulate opioid receptor signaling.

**ΟΝΤΟΓΕΝΕΣΗ ΣΤΟΜΑΤΙΩΝ, ΠΡΟΤΥΠΑ ΕΝΑΠΟΘΕΣΗΣ ΚΑΙ
ΑΝΑΛΥΣΗ ΦΘΟΡΙΖΟΝΤΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΣΤΗΝ
ΕΦΥΜΕΝΙΔΑ, ΤΗΝ ΕΠΙΔΕΡΜΙΔΑ ΚΑΙ ΤΟ ΜΕΣΟΦΥΛΛΟ ΤΟΥ
ΨΥΧΑΝΘΟΥΣ *LOTUS JAPONICUS***

**Λιακόπουλος Γ.¹, Δελής Κ.², Νικολόπουλος Δ.¹, Σκαλτσά Ε.³
και Γ. Καραμπουρνιώτης¹**

¹Εργαστήριο Φυσιολογίας Φυτών, Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας, Γεωπονικό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιερά Οδός 75, 11855 Αθήνα.

²Εργαστήριο Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας, Γεωπονικό
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιερά Οδός 75, 11855 Αθήνα.

³Τομέας Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων, Φαρμακευτική Σχολή,
Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Η συμμετοχή φαινολικών συστατικών στην οργανογένεση των φύλλων και την οντογένεση των στοματίων έχει ελάχιστα μελετηθεί σε ανατομικό, βιοχημικό και μοριακό επίπεδο. Στην παρούσα εργασία ως καταλληλότερο πειραματόφυτο επιλέξαμε το *Lotus japonicus*, φυτό-πρότυπο στη μελέτη των συμβιωτικών σχέσεων των φυματίων με ψυχανθή. Με βάση μέθοδο που αναπτύξαμε έγινε δυνατή η παρατήρηση των στοματίων σε μικροσκοπιο μέσω του εκπεμπόμενου φθορισμού. Πραγματοποιήθηκε καταγραφή της πυκνότητας και κατανομής των στοματίων σε διαφορετικά αναπτυξιακά στάδια των φύλλων. Οι παραπάνω παράμετροι απεικονίζονται μέσω ανάλυσης εικόνας σε ψευδοχρωματικούς χάρτες των νεαρών και ώριμων φύλλων. Ο σχηματισμός των στοματίων στα νεαρά φύλλα συμβαίνει αρχικά στην κορυφή και επεκτείνεται προς τη βάση του φύλλου, ενώ η εναπόθεση των φθορίζοντων συστατικών στα καταφρακτικά κύτταρα ακολουθεί το ίδιο πρότυπο. Παράλληλα πραγματοποιήθηκαν αναλύσεις των φαινολικών συστατικών της εφυμενίδας, της αποαξονικής και προσαξονικής επιδερμίδας και του μεσοφύλλου. Τα αποτελέσματα έδειξαν διαφορές στη σύσταση των διαλυτών κυτταρικών φαινολικών συγκριτικά με αυτά των εφυμενιδικών κηρών γεγονός το οποίο σχετίζεται με τον χαρακτηριστικό φθορισμό και το χημικό περιβάλλον του εφυμενιδικού κλάσματος.

- Το έργο συγχρηματοδοτείται κατά 75% από το Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο (ΕΚΤ) και κατά 25% από Εθνικούς Πόρους (ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ - ΠΥΘΑΓΟΡΑΣ II)

**STOMATAL ONTOGENESIS, PATTERN OF DEPOSITION AND
ANALYSIS OF BLUE-FLUORESCING PHENOLICS OCCURRING
IN THE CUTICLE, EPIDERMIS AND MESOPHYLL OF THE
MODEL LEGUME *LOTUS JAPONICUS***

***Liakopoulos G.¹, Delis C.², Nikolopoulos D.¹, Skaltsa H.³,
and G. Karabourniotis¹***

¹*Laboratory of Plant Physiology, Department of Agricultural Biotechnology,
Agricultural University of Athens, Iera Odos 75, 11855 Athens, Greece.*

²*Laboratory of Molecular Biology, Dept. Agricultural Biotechnology, Agricultural
University of Athens, Iera odos 75, 11855, Athens, Greece*

³*Department of Pharmacognosy & Chemistry of Natural Products, School of
Pharmacy, Panepistimiopolis, Zografou, 15771 Athens, Greece*

Although stomatal ontogeny is closely related to the development and maturation of the epidermal tissue, stomatal patterns in relation to the construction of the epidermis and the cuticle, as well as cuticular material deposition during leaf development have not received adequate attention. We observed the deposition of blue-fluorescing cuticular phenolics over guard and epidermal cells, as well as stomatal formation and patterning using the emitted fluorescence of the cuticle of the leaves of *Lotus japonicus*, a model legume. Based on the blue fluorescence emitted by the cuticular layers, we constructed pseudocoloured digital maps of leaves of different developmental stages, showing the pattern of stomatal formation and deposition of fluorescing compounds. A longitudinal tip-to-base gradient in the formation of stomata, as well as in the deposition of fluorescing compounds was observed in developing leaves. The deposition of blue-fluorescing phenolic compounds seems to be coordinated with stomatal development. Analyses of the phenolic compounds located in the cuticle, in adaxial and abaxial epidermal and mesophyll cells showed a tissue-specific distribution of these compounds. According to the results, the different chemical profile between cuticular and soluble cellular phenolics is related to the particular chemical environment and the characteristic fluorescence emitted by the cuticular layers.

- *The project is co-funded by European social fund and national resources - O.P. "EDUCATION" II (Environment - PYTHAGORAS II – funding of research groups in Agricultural University of Athens).*

ΚΑΡΥΟΤΥΠΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ ΤΟΥ *CARASSIUS GIBELIO* (BLOCH, 1782) ΤΗΣ ΛΙΜΝΗΣ ΠΑΜΒΩΤΙΔΑΣ (ΒΔ ΕΛΛΑΔΑ)

**Λιάσκο Ρ.¹, Παπιγγιώτη Ο.¹, Βραζέλη Π.¹, Αμπατζόπουλος Θ.Ι.²
και Ι. Λεονάρδος¹**

¹Εργαστήριο Ζωολογίας, Σχολή Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών,
Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

²Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης & Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας,
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Το *Carassius gibelio* (Bloch, 1782) με κοινό όνομα ‘πεταλούδα’, αποτελεί αλλόχθονο και εισβολικό για τα εσωτερικά ύδατα της Ελλάδας. Το είδος ανήκει στην οικογένεια των Κυπρινοειδών. Ο πληθυσμός του είδους της λίμνης Παμβώτιδας (ΒΔ Ελλάδα). αποτελείται κυρίως από θηλυκά άτομα, τα οποία αναπαράγονται με γυνογένεση. Πρόσφατα διαπιστώθηκε η παρουσία ενός σχετικά μικρού ποσοστού αρσενικών ατόμων (2-5%). Η καρυοτυπική ανάλυση του πληθυσμού έδειξε ότι τα θηλυκά άτομα είναι τριπλοειδή, με αριθμό χρωμοσωμάτων 156. Τα αρσενικά άτομα του είδους είναι τριπλοειδή με αριθμό χρωμοσωμάτων 156 και τετραπλοειδή με αριθμό χρωμοσωμάτων που κυμαίνεται από 208 έως 228. Τα αρσενικά άτομα παρουσιάζουν καλά ανεπτυγμένη γονάδα, αλλά σημαντικά μειωμένη ή και μηδενική κινητικότητα σπέρματος. Η ύπαρξη τετραπλοειδών αρσενικών του είδους *Carassius gibelio* σε φυσικούς πληθυσμούς αναφέρεται για πρώτη φορά.

**KARYOTYPIC STUDY OF THE POPULATION OF CARASSIUS
GIBELIO (BLOCH, 1782) IN THE LAKE PAMVOTIS (NW
GREECE)**

*Liasko R.¹, Papiggioti O.¹, Vrazeli P.¹, Abatzopoulos T.J.²,
and I. Leonardos¹*

¹ *Laboratory of Zoology, Department of Biological Applications and Technologies,
University of Ioannina*

² *Department of Genetics, Development & Molecular Biology, Aristotle University
of Thessaloniki*

Carassius gibelio (Bloch, 1782) or ‘gibel carp’ is a non-indigenous species of Cyprinidae that dominates the most of the freshwater ecosystems in Greece. The population of *Carassius gibelio* in the lake Pamvotis (Northwestern Greece) consists mainly of gynogenetic females, while a small proportion of males (2-5%) is also found. The karyotypic analysis of the population has shown that the females are triploid, with 156 chromosomes. The males are either triploid with chromosome number 156 or tetraploid, with chromosome number varying from 208 to 228. The males have well developed gonads while low or no sperm motility is detected. To our knowledge, this is the first report on the occurrence of tetraploid males of *Carassius gibelio* in natural populations.

Η ΦΩΣΦΟΛΙΠΑΣΗ C ΕΜΠΛΕΚΕΤΑΙ ΣΤΟΥΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥΣ ΕΛΕΓΧΟΥ ΤΗΣ ΚΥΤΟΚΙΝΗΣΗΣ ΣΤΑ ΑΝΩΤΕΡΑ ΦΥΤΑ

Αιβανός Π., Γαλάτης Β., Αποστολάκος Π.

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ, 15781, Αθήνα

Το ένζυμο φωσφολιπάση C (PLC) υδρολύει την 4,5-διφωσφορική φωσφατιδύλοϊνοσιτόλη (PIP₂) παράγοντας τριφωσφορική ινοσιτόλη (IP₃) και διακυλογλυκερόλη. Τα προϊόντα αυτά λειτουργούν ως δευτερογενή μηνύματα ελέγχοντας, μεταξύ των άλλων, και την παραγωγή ενδοκυτοτικών και εξωκυτοτικών κυστιδίων στα φυτικά κύτταρα. Στην παρούσα εργασία διερευνάται η πιθανή σχέση της PLC με την κυτοκίνηση των ανωτέρων φυτών, πορεία κατά την οποία πραγματοποιείται έντονη παραγωγή, μεταφορά και σύντηξη κυστιδίων δικτυοσωματίων. Για τον σκοπό αυτό μελετήθηκαν οι επιπτώσεις της νεομυκίνης σε κυτοκινητικά κύτταρα ακρόρριζου του φυτού *Triticum turgidum*. Η ουσία αυτή δεσμεύεται στην PIP₂, με αποτέλεσμα την αναστολή της παραγωγής της IP₃ και της διακυλογλυκερόλης μέσω της PLC. Διαπιστώθηκε ότι στα κυτοκινητικά κύτταρα, τα οποία έχουν υποστεί την επίδραση νεομυκίνης: (α) ο φραγμοπλάστης απουσιάζει ή όταν σχηματίζεται έχει άτυπη οργάνωση και ότι καθυστερεί να επεκταθεί προς την περιφέρεια του κυττάρου, (β) αναστέλλεται πλήρως ή διαταράσσεται σημαντικά ο σχηματισμός της κυτταρικής πλάκας και (γ) μεταβάλλεται σημαντικά το πρότυπο παραγωγής και εναπόθεσης καλλόζης στην αναπτυσσόμενη κυτταρική πλάκα. Τα παραπάνω φαινόμενα οδηγούν στη δημιουργία διπύρηνων κυττάρων, τα οποία σε ορισμένες περιπτώσεις διαθέτουν ατελή θυγατρικά τοιχώματα μεταξύ των θυγατρικών πυρήνων. Τα δεδομένα αυτά υποστηρίζουν ότι τα προϊόντα της δραστηριότητας της PLC συμμετέχουν στους μηχανισμούς ελέγχου της κυτοκίνησης. Η συμμετοχή αυτή πιθανώς γίνεται μέσω της IP₃, η οποία είναι γνωστό ότι σχετίζεται με τη ρύθμιση της ομοιόστασης του κυτοπλασματικού ασβεστίου, φαινομένου καθοριστικού για την ομαλή διεξαγωγή της κυτοκίνησης.

- Το έργο αυτό ενισχύθηκε οικονομικά από τον Ειδικό Λογαριασμό Έρευνας του ΕΚΠΑ (πρόγραμμα Καποδίστριας).

POSSIBLE INVOLVEMENT OF PHOSPHOLIPASE C IN PLANT CYTOKINESIS

Livanos P., Galatis B., Apostolakos P.

Department of Botany, Faculty of Biology, University of Athens, 15781, Athens

Phospholipase C (PLC) is a phosphodiesterase that hydrolyses phosphatidylinositol 4,5-biphosphate (PIP₂) generating two second messengers: inositol 1,4,5-triphosphate (IP₃) and diacylglycerol. Among many other processes, these products seem to participate in membrane trafficking. The higher plant cytokinesis is a process that is characterized by the massive production and fusion of Golgi-derived vesicles. The present study aims at examining the possible involvement of PLC in plant cytokinesis by monitoring the effects of neomycin in dividing cytokinetic root-tip cells of *Triticum turgidum*. Binding to PIP₂, neomycin inhibits IP₃ and diacylglycerol production via PLC. Microtubule phragmoplast assembly was inhibited in many cytokinetic cells, while in others this cytoskeletal array displayed extensive structural aberrations as well as delayed expansion toward the cortex. Cell plate formation was significantly perturbed or even abolished, while callose synthesis and deposition pattern was disturbed. As a result binucleate cells, with occasionally incomplete daughter walls were formed. The data suggest the involvement of PLC pathway in the mechanisms that control higher plant cytokinesis, probably through IP₃. This substance is a major regulator of cytosolic free calcium that is essential for plant cell cytokinesis.

- *This work was financed by grants from the University of Athens (project "Kapodistrias").*

**ΤΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ ΣΤΗ
‘ΒΙΟΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗ’ ΤΟΥ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΑΘΗΝΩΝ:
ΕΝΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ ΕΠΙΧΟΡΗ-
ΓΟΥΜΕΝΟ ΑΠΟ ΤΟ ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ (ΕΠΕΑΕΚ ΙΙ)**

*Αίτου Ζ., Μπάγκος Π., Οικονομίδου Β., Παπανδρέου Ν.
και Χαμόδρακας Σ.Ι.*

*Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Παν/μιο Αθηνών,
Αθήνα 157 01*

Η ραγδαία ανάπτυξη της Βιοπληροφορικής επήλθε με τη συσσώρευση τεράστιων όγκων πληροφοριών από τα διάφορα προγράμματα προσδιορισμού αλληλουχιών γονιδιωμάτων. Προκύπτει έτσι η απαίτηση για υψηλά εξειδικευμένο προσωπικό στο γνωστικό αυτό πεδίο, απαίτηση που δεν καλύπτεται από τα πτυχία που προσφέρουν τα ελληνικά πανεπιστήμια σήμερα. Έτσι, γίνεται επιτακτική η ανάγκη για ένα Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών, το οποίο να παρέχει το υπόβαθρο στα εργαλεία και την τεχνογνωσία που απαιτούνται για τη βιοπληροφορική έρευνα στον ακαδημαϊκό χώρο και στην παραγωγή. Το Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών στη Βιοπληροφορική του Πανεπιστημίου Αθηνών απευθύνεται σε πτυχιούχους των θετικών επιστημών και αποπειράται μια διεπιστημονική προσέγγιση, συγκεντρώνοντας μερικούς από τους πιο διακεκριμένους Έλληνες βιοπληροφορικούς. Το διδακτικό προσωπικό έχει επιλεγεί από τμήματα του Πανεπιστημίου Αθηνών, όπως τα τμήματα Βιολογίας και Πληροφορικής, καθώς και από άλλα πανεπιστήμια και ερευνητικά κέντρα. Το Πρόγραμμα, το οποίο οδηγεί στην απονομή Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης από το Πανεπιστήμιο Αθηνών, έχει διάρκεια τριών εξαμήνων. Οι ενδιαφερόμενοι για υποψηφιότητα, για το ακαδημαϊκό έτος που θα ξεκινήσει τον Οκτώβριο του 2007, προσκαλούνται να πληροφορηθούν σχετικά με το Πρόγραμμα στον παγκόσμιο ιστό στην διεύθυνση: <http://bioinformatics.biol.uoa.gr/msc/>

**BIOINFORMATICS POSTGRADUATE PROGRAMME AT THE
UNIVERSITY OF ATHENS: A MASTERS PROGRAMME FUNDED
BY THE HELLENIC MINISTRY OF EDUCATION (EPEAEK II)**

Litou Z., Bagos P., Iconomidou V., Papandreou N., and Hamodrakas S.J.

*Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of
Athens, Athens 157 01*

Given the pace of development in bioinformatics and the urgent need to assemble a worldwide collective effort to convert the raw data collected from the various genome projects into meaningful and useful biological information, there is a growing need for highly specialized personnel in the field. The traditional degrees offered by the Hellenic Universities do not at the moment fulfil this need and there is room for a postgraduate programme suitable for current science graduates giving them a fast track to the tools and knowledge needed for active research in both academia and industry. The postgraduate bioinformatics programme at the University of Athens (UOA) takes an interdisciplinary approach and brings together some of the leading figures from the Hellenic bioinformatics community. Teaching staff is selected from existing UOA departments including Cell Biology and Biophysics, Biochemistry and Molecular Biology, Zoology and Informatics. In addition to these inter-departmental collaborations the programme uses personnel from other Universities/research centres making this a truly unique and timely effort. The programme leading to the qualification of M.Sc from the UOA takes the form of a three semester taught. The first semester covering the basics of molecular biology and computational methods prepares the students for a more detailed investigation of specific bioinformatics tools in the second semester, where students are also given a choice of optional courses to customise their specific interests. The third semester is concluded by a research project. Potential applicants, for the intake to begin in October 2007, are invited to view the information and admissions procedure, which we have assembled together on the World Wide Web at the URL: <http://bioinformatics.biol.uoa.gr/msc/>

ΠΡΩΤΗ ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΤΟΥ ΓΑΣΤΕΡΟΠΟΔΟΥ *CHRYSALLIDA FISCHERI* ΣΤΙΣ ΕΛΛΗΝΙΚΕΣ ΘΑΛΑΣΣΕΣ

**Λουϊζίδου Π.¹, Θεσσαλού-Λεγάκη Μ.¹, Χατζηνικολάου Σ.²
και Α. Ζενέτου³**

¹Τομέας Ζωολογίας-Θαλάσσιας Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, Αθήνα 15784 ²Simi Fish Γεωργίου Σεφέρη 108, Ρόδος, 85100

³Ελλ. Κέντρο Θαλασσίων Ερευνών, Ινστ. Ωκεανογραφίας, Ανάβυσσος Αττικής 19013

Τα τελευταία χρόνια, η εισβολή ξενικών ειδών στη Μεσόγειο έχει απασχολήσει την επιστημονική κοινότητα αφού αποτελεί απειλή για τη βιοποικιλότητα της Μεσογείου. Στα πλαίσια διπλωματικής εργασίας του τμήματος Βιολογίας του Πανεπιστημίου Αθηνών πραγματοποιήθηκαν δειγματοληψίες μακροβένθους τον Ιούλιο και Αύγουστο του 2005 σε εννέα σταθμούς γύρω από τη βραχονησίδα Μάκρη (Δ. της νήσου Ρόδου), όπου είναι εγκατεστημένη μονάδα ιχθυοκαλλιέργειας. Οι δειγματοληψίες πραγματοποιήθηκαν με αυτόνομη κατάδυση σε βάθη 1, 10, 15 και 30 m. Χρησιμοποιήθηκε τετράγωνο πλαίσιο 15x 15 cm με άνοιγμα ματιού διχτυού 0,5 mm. Συλλέχθηκαν 481 άτομα Μαλακίων που ανήκουν σε 56 τάξα. Ανάμεσα τους, εντοπίστηκαν 11 άτομα (3 ζωντανά, 8 όστρακα) του Γαστερόποδου της Ερυθράς Θάλασσας *Chrysallida fischeri*. Όλα τα άτομα βρέθηκαν σε αμμώδη πυθμένα τεσσάρων σταθμών, με ή χωρίς *Posidonia oceanica*, σε βάθος 10-30 m. Η παρουσία του ξενικού αυτού είδους στη Μεσόγειο πιστοποιήθηκε για πρώτη φορά στο Ισραήλ (Haifa Bay) το 1979. Μετέπειτα αναφορές υπάρχουν από τη Τουρκία (Iskenderum, 1992 και Tasucu, 1995) και πρόσφατα (2002) από τη Νότια Αδριατική. Η χρονική αλληλουχία εύρεσης δείχνει ότι το είδος επεκτείνεται προς τα Δυτικά. Η κυριότερη είσοδος ξενικών ειδών στη Μεσόγειο είναι η Διώρυγα του Σουέζ (Λεσσειμανή μετανάστευση). Στην ευρύτερη περιοχή της Ρόδου παρατηρείται μεγάλος αριθμός Λεσσειμανών μεταναστών που πιθανόν οφείλεται : α) στη γεωγραφική θέση του νησιού, β) στις περιβαλλοντικές συνθήκες (όπως μεγαλύτερη θερμοκρασία και αλατότητα) που είναι πιο ευνοϊκές για τα είδη αυτά και γ) στην υδρογραφία της Ανατολικής Μεσογείου. Η παρουσία του *C. fischeri* στη βραχονησίδα Μάκρη αποτελεί τη πρώτη καταγραφή του για στις ελληνικές θάλασσες, και το γεγονός ότι βρέθηκαν τόσο ζωντανά όσο και νεκρά άτομα υποδηλώνει ότι το είδος είναι εγκατεστημένο στη περιοχή της Ρόδου. Με τη παρούσα αναφορά ο αριθμός των ξενικών ειδών Μαλακίων στα Ελληνικά νερά ανέρχεται σε 29.

FIRST RECORD OF THE GASTROPOD *CHRYSALLIDA FISCHERI* IN GREEK WATERS

Louizidou P.¹, Thessalou-Legaki M.¹, Hatzinikolaou S.², and A.Zenetos³

¹ *Department of Zoology - Marine Biology, School of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, GR 15784, Athens* ² *Simi Fish108 G. Seferis str, 85100 Rhodes*

³ *Hellenic Centre for Marine Research, Institute of Oceanography, Anavissos 19013, Attica*

In recent years, the introduction of alien species in the Mediterranean has been a source of concern for the scientific community since it represents a serious threat for the Mediterranean biodiversity. In the framework of a macrobenthic survey for the School of Biology of the University of Athens, sampling took place in July and August 2005 along nine transects (stations) around the islet of Makri (West of Rhodes Island) where aquaculture cages are located. Sampling was conducted by scuba diving at 1, 10, 15 and 30 m depth. A 15 x 15cm quadrat was used, equipped with a net of 0.5 mm opening. 481 molluscs were collected which belong to 56 taxa. Among them, 11 specimens (3 alive, 8 shells only) of the Red Sea gastropod *Chrysallida fischeri* were identified. They were found on the sandy bottom of four stations with or without *P. oceanica* cover at 10 – 30 m depth. The presence of this alien species was documented for the first time in the Mediterranean from Israel (Haifa Bay) in 1979. Later records are from Turkey (Iskenderum 1992 and Tasucu 1995) and recently (2002) from the South Adriatic Sea. The temporal evolution of the findings reveals its westwards expansion. The main vector of alien introduction in the Mediterranean is via the Suez Canal (Lessepsian migration). The increasing number of Lessepsian immigrants in the wider area of Rhodes is probably due to: a) the geographic position of the island, b) the environmental conditions (such as higher temperature and salinity) that are more favorable for these species and c) the hydrography of the Eastern Mediterranean. The presence of *C. fishery* in the islet of Makri is the first record for the Greek waters, and the fact that both alive and dead specimens were found indicates that the species is well established in the area of Rhodes. Including the present record, the number of alien molluscs in Greek waters increases to 29.

**ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΣΕ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΑ
ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΝΕΡΟΥ ΜΕ ΜΕΘΟΔΟΥΣ ΑΛΥΣΙΔΩΤΗΣ
ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗΣ (PCR) ΚΑΙ ΕΠΙΤΟΠΙΑΣ
ΥΒΡΙΔΟΠΟΙΗΣΗΣ (FISH)**

***Λυμπεροπούλου Δ.Σ., Κοτσάκης Ε.Α., Αρναούτης Α.Β.
και Α.Δ. Καραγκούνη***

*Τομέας Βοτανικής, Ομάδα Μικροβιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο
Αθηνών, Αθήνα, 15781*

Διαφορετικές μεθοδολογικές προσεγγίσεις έχουν χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση των παθογόνων και μη μικροοργανισμών σε δείγματα νερού περιβαλλοντικής προέλευσης, όπως μέθοδοι μοριακής βιολογίας και μικροσκοπίας. Ωστόσο, οι χαμηλοί αριθμοί στους οποίους απαντώνται αυτοί οι οργανισμοί στο νερό, καθώς και τα φαινόμενα αυτοφθορισμού, μειώνουν την αξιοπιστία τους για τον έλεγχο νερού, το οποίο προορίζεται για ανθρώπινη κατανάλωση.

Στην παρούσα μελέτη, ελέγχθηκε η παρουσία των *E. coli*, *Salmonella* sp., *Enterococcus* sp., καθώς και μικροοργανισμών της οικογένειας των *Enterobacteriaceae* σε δείγματα ακατέργαστου νερού, τα οποία συλλέχθηκαν από την τεχνητή Λίμνη του Μαραθώνα. Απευθείας ανίχνευση των παραπάνω μικροοργανισμών στα δείγματα νερού έλαβε χώρα με αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) και με τη χρήση εξειδικευμένων μορίων εκκινητών. Η επιτόπια υβριδοποίηση πραγματοποιήθηκε με φθορίζοντες ολιγονουκλετιδικούς ιχνηθέτες, οι οποίοι υβριδοποιούνται σε αλληλουχίες του 16S rRNA των παραπάνω μικροοργανισμών (σημασμένοι με Cy3), καθώς και στο σύνολο των μελών της ομάδας των Βακτηρίων (σημασμένοι με FITC). Οι παραπάνω δοκιμές πραγματοποιήθηκαν επίσης σε δείγματα που είχαν προηγουμένως εμπλουτιστεί, προκειμένου να επιτευχθεί ανίχνευση, ακόμη και στην περίπτωση πολύ χαμηλού μικροβιακού φορτίου. Παράλληλα, τα δείγματα ελέγχθηκαν με τεχνικές καλλιέργειας σε εκλεκτικά υποστρώματα και η ταυτότητα των απομονωθέντων μικροοργανισμών επιβεβαιώθηκε με τη χρήση των παραπάνω εκκινητών σε αντίδραση PCR. Ο συνδυασμός των δύο παραπάνω τεχνικών έδωσε μία αξιόπιστη εκτίμηση του μικροβιακού φορτίου των δειγμάτων, επιβεβαιώνοντας και τα αποτελέσματα της κλασικής μεθοδολογίας.

**DETECTION OF MICROBIAL PATHOGENS IN
ENVIRONMENTAL FRESHWATERS BY MEANS OF
PCR AND FLUORESCENT IN SITU HYBRIDIZATION**

Lympelopoulou D.S., Kotsakis E.A., Arnaoutis A.B., and A.D. Karagouni

*Dept. of Botany, Microbiology group, Faculty of Biology, University of Athens,
15781 Athens, Greece*

Different methodologies have been used for the detection of pathogens in environmental and drinking waters, including molecular biology and microscopy. However, the low number of these pathogens in naturally contaminated samples and the autofluorescence phenomena are major problems for the credibility of the above methods in the control of water designated for human consumption. In this study, the presence of *E. coli*, *Salmonella* sp., *Enterococcus* sp. and *Enterobacteriace* cells was investigated in untreated water collected from five distinct sites of the artificial lake of Marathonas, a water tank of EYDAP S.A. (the Athens Water Supply and Sewerage Company). Direct PCR amplification from water samples took place using genus or group specific primers. In situ hybridization was performed using fluorescently labeled oligonucleotide probes that hybridized on sequences of 16S rRNA of *E. coli*, *Salmonella* sp., *Enterococcus* sp., Enterobacteriaceae (all labeled with Cy3) and domain Bacteria (labeled with FITC). The assays were also performed in previously enriched samples for achieving detection even in samples with low bacterial load. All samples were also treated with supplementary culture-dependent techniques on selective media. The identity of all isolates was confirmed using the same genus or group specific primers as in direct amplification above. The combination of the two above methods gave a reliable estimation of the bacterial population in all samples, even in cases with low bacterial content, whilst confirmed our culture-dependent data as well.

ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΕΜΒΡΥΪΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΕΞΑΙΤΙΑΣ ΤΗΣ ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ

Μάγρας I.N.

*Εργαστήριο Ανατομικής, Ιστολογίας και Εμβρυολογίας, Κτηνιατρική Σχολή,
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης*

Η εκτεταμένη χρήση διάφορων εφαρμογών ραδιοκυμάτων έχει προκαλέσει ανησυχία για πιθανές επιπτώσεις στην υγεία του ανθρώπου και των ζώων, ειδικά όσον αφορά τα έμβρυα και ορισμένα ευαίσθητα όργανα. Οι επιπτώσεις αυτές μπορεί να οφείλονται στα επαρκώς μελετημένα αναμφισβήτητα θερμικά ή σε ατελώς μελετημένα πιθανά μη θερμικά φαινόμενα. Εδώ και δεκαπέντε περίπου χρόνια προοδευτικά αναπτύχθηκε το «πάρκο κεραιών Θεσσαλονίκης» στην κορυφή του όρους Χορτιάτη. Η ανησυχία των πολιτών που διαβιούν κοντά σε αυτό το «πάρκο» για την υγεία τους μας ενεργοποίησε να ξεκινήσουμε μια σειρά πειραματικών μελετών, οι οποίες ακόμη βρίσκονται σε εξέλιξη. Οι μελέτες αυτές εκτελέστηκαν από ερευνητική ομάδα αποτελούμενη από μέλη του Εργαστηρίου Ανατομικής, Ιστολογίας και Εμβρυολογίας της Κτηνιατρικής Σχολής, του Εργαστηρίου Τηλεπικοινωνιών της Πολυτεχνικής Σχολής και του Εργαστηρίου Παθολογικής Ανατομικής της Ιατρικής Σχολής του Α.Π.Θ. Στο ερευνητικό αυτό πρόγραμμα χρησιμοποιήθηκαν πειραματικά έμβρυα από μύες, επίμυες, όρνιθες και ορτύκια, τα οποία τοποθετήθηκαν γύρω από το «πάρκο κεραιών» καθώς και στο Εργαστήριο όπου εκτέθηκαν σε ακτινοβολία ραδιοσυχνότητας. Σε όλους τους πειραματισμούς τα κυριότερα ευρήματα σχετίζονταν με προοδευτική υπογονιμότητα, πρώιμους εμβρυϊκούς θανάτους και συγγενείς ανωμαλίες. Τα αποτελέσματα των ερευνών αυτών υπέστησαν στατιστική επεξεργασία και σε κάποιες περιπτώσεις έγιναν και μαθηματικές προσομοιώσεις.

BIOLOGICAL EFFECTS IN THE PRENATAL DEVELOPMENT DUE TO THE RADIOFREQUENCY RADIATION

Magras I.N.

*Laboratory of Anatomy, Histology and Embryology, School of Veterinary
Medicine, Aristotle University of Thessaloniki*

The extensive use of radio-waves in all their application, has caused anxiety due to their possible adverse effects on animal and human health, especially on their embryos as well as on some sensitive organs. These effects could be due to the sufficiently studied indisputable thermal or to imperfectly studied possible non-thermal phenomena. About fifteen years ago, the “antenna park of Thessaloniki” progressively developed on the top of the nearby mountain Chortiatis. The anxiety of the people living close to this “park” for their health encouraged us to undertake a research protocol that works till today. This protocol was performed in cooperation between the Laboratory of Anatomy of the Veterinary School, the Laboratory of Telecommunication of the Polytechnic School and the Laboratory of Pathology of the School of Medicine of the A.U.Th.. In this research program experimental embryos were used of mice, rats, chicken and quails, placed *in situ* around the “antenna park” and *in labo* under simulating conditions exposed in radio-frequency radiation. In all our experiments, the main findings were related with a progressive infertility, increase of early embryonic deaths and congenital anomalies. The results of our findings were elaborated statistically and in some cases mathematic simulations were realized.

**ΑΝΤΙΜΥΚΗΤΙΑΚΗ ΔΡΑΣΗ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΑΙΘΕΡΙΩΝ ΕΛΑΙΩΝ
ΤΗΣ *M. spicata* ΚΑΙ *M. pulegium* ΕΝΑΝΤΙΑ ΣΕ ΚΛΙΝΙΚΑ
ΣΤΕΛΕΧΗ ΔΕΡΜΑΤΟΦΥΤΩΝ**

Μαΐδου Σ., Ρούλιας Α., Σιβροπούλου Α. και Μ. Αρσενάκης

*Εργαστήριο Γενικής Μικροβιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο
Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη 54124*

Τα αιθέρια έλαια και τα συστατικά τους παρουσιάζουν ισχυρή αντιβακτηριακή, αντιική και αντιμυκητιακή δράση. Στην παρούσα εργασία, μελετήθηκε η αντιμυκητιακή δράση των κύριων συστατικών αιθερίων ελαίων που προέρχονται από τα φυτά *Mentha spicata* (carveol, dihydrocarveol, carvone, dihydrocarvone) και *Mentha pulegium* (pulegone, isopulegone, menthone, isomenthone, piperitone), ενάντια σε κλινικά στελέχη δερματόφυτων. Τα στελέχη που χρησιμοποιήθηκαν (*Candida albicans*, *Microsporum gypseum*, *Microsporum canis*, *Epidermophyton floccosum*, *Trichophyton interdigitale*) προκαλούν τις πιο συχνές και σημαντικές δερματοπάθειες στον άνθρωπο και στα ζώα. Ο προσδιορισμός των τιμών MIC (minimum inhibitory concentration) και MFC (minimum fungicidal concentration) έδειξε τα ακόλουθα: α) όλες οι ενώσεις παρουσίασαν αντιμυκητιακή δράση. Carveol, dihydrocarveol και piperitone παρουσίασαν ισχυρή αντιμυκητιακή δράση ενώ η menthone ασθενή, β) ο πιο ανθεκτικός και ο πιο ευαίσθητος μικροοργανισμός ενάντια σε όλες τις ενώσεις ήταν ο *C. albicans* και *E. floccosum* αντίστοιχα. Συγκεντρώσεις μικρότερες των τιμών MIC (πχ ½MIC για carveol) οδήγησαν σε σημαντική μείωση του κυτταρικού πληθυσμού (50% μετά από σχεδόν τετραπλάσιο χρόνο επώασης συγκριτικά με τον μάρτυρα, *C. albicans*). Η carveol παρουσίασε σποριοκτόνο δράση το μέγεθος της οποίας εξαρτάται από το είδος των μυκήτων. Έτσι η carveol σε συγκεντρώσεις ίσες με τις τιμές MFC θανάτωσε τα σπόρια του *M. gypseum*, *T. interdigitale*, και *M. canis* κατά 1 log, 80% και 30% αντίστοιχα. Τέλος, επανειλημμένες προσπάθειες απομόνωσης ανθιστάμενου στην carveol στελέχους του *C. albicans* απέβησαν άκαρπες. Τα παραπάνω δεδομένα συνηγορούν στο ότι η carveol είναι μια καλή υποψήφια ουσία για αντιμυκητιακή θεραπεία.

**ANTIFUNGAL ACTIVITY OF MAIN COMPONENTS OF
ESSENTIAL OILS DERIVED FROM *M. spicata* AND *M. pulegium*
AGAINST CLINICAL STRAINS OF DERMATOPHYTES**

Maidou S., Roulias A., Sivropoulou A., and M. Arsenakis

*Laboratory of General Microbiology, Department of Biology, Aristotle University
of Thessaloniki, 54124*

Essential oils and their components exhibit potent antibacterial, antiviral and antifungal activity. In the present study, the antifungal activity of the main components of essential oils derived from *Mentha spicata* (carveol, dihydrocarveol, carvone, dihydrocarvone) and *Mentha pulegium* (pulegone, isopulegone, menthone, isomenthone, piperitone) was examined against clinical strains of dermatophytes. The fungal species studied (*Candida albicans*, *Microsporum gypseum*, *Microsporum canis*, *Epidermophyton floccosum*, *Trichophyton interdigitale*) are the most frequent and significant causative agents of cutaneous fungal infections in humans and animals. The determination of MIC and MFC values showed the followings: a) all of the substances showed antifungal activity. Carveol, dihydrocarveol, piperitone exhibited high antifungal activity while menthone low. b) the most sensitive and resistant strains against all of the substances tested were *C. albicans* and *E.floccosum*, respectively. Concentrations lower than the MIC values (e.g, $\frac{1}{2}$ MIC for carveol) led to significant reduction of the cell population (50% after almost quadruple time of incubation relatively to the control, *C.albicans*). Carveol exhibited lethal activity against fungal spores, the extent of which depended on the fungal strains. Thus, concentrations of carveol equal to MFC values reduced the viability of *M. gypseum*, *T. interdigitale* and *M. canis* spores by 1 \log_{10} value, 80% and 30%, respectively. Despite repeated efforts, *C. albicans* strains resistant to carveol could not be isolated. The above results indicate that carveol is a good candidate for antifungal therapy.

**Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΔΥΟ ΧΕΙΡΙΣΜΩΝ ΤΗΣ ΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ
ΕΔΑΦΟΥΣ ΣΤΗ ΦΩΤΟΣΥΝΘΕΤΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ ΦΥΛΛΩΝ
ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΓΛΥΚΟΥ ΣΟΡΓΟΥ (*Sorghum bicolor* (L.) Moench)**

Μακρή Α., Πιστίκη Α., Αγγελόπουλος Κ.

Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, Ρίον 26500

Μελετήθηκε η επίδραση δύο χειρισμών της γονιμότητας του εδάφους στις ημερήσιες μεταβολές της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας φύλλων καλλιέργειας γλυκού σόργου (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) c.v. Keller. Το γλυκό σόργο είναι μια σχετικά νέα ενεργειακή καλλιέργεια στην Ευρωπαϊκή Ένωση για παραγωγή βιομάζας και βιοαιθανόλης. Τα φυτά του γλυκού σόργου έχουν χαρακτηριστεί για τους υψηλούς C4 φωτοσυνθετικούς ρυθμούς και την πολύ καλή προσαρμοστικότητα στα Μεσογειακά οικοσυστήματα. Οι φωτοσυνθετικές δραστηριότητες των φύλλων των φυτών στο «βιολογικό» χειρισμό κυμάνθηκαν κατά τη διάρκεια της ημέρας από 0,47-32 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ cm}^{-2} \text{ sec}^{-1}$ έναντι 2-42 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ cm}^{-2} \text{ sec}^{-1}$ φύλλων στο συμβατικό χειρισμό αντιστοίχως. Οι ανωτέρω διαφορές αυτές εξαρτώνται από την ηλικία των φύλλων, την ένταση της ηλιακής ακτινοβολίας που δέχονται κατά τη διάρκεια της ημέρας, την υδατική τους κατάσταση και την περιεκτικότητα σε άζωτο. Τις μεσημεριανές ώρες οι μέγιστες φωτοσυνθετικές δραστηριότητες (A_{max}) μετρήθηκαν στο 4^ο-6^ο φύλλο από την κορυφή. Τόσο κατά την ανατολή όσο και κατά τη δύση του ηλίου οι μεγαλύτερες φωτοσυνθετικές δραστηριότητες διαπιστώθηκαν σε νεότερης ηλικίας φύλλα. Οι μέγιστες φωτοσυνθετικές δραστηριότητες επιτυγχάνονται για εντάσεις 1600-1700 $\mu\text{mol quanta cm}^{-2} \text{ sec}^{-1}$. Η συνάρτηση $Y = P_1[X]/P_2+[X]$ περιγράφει επαρκώς τις μεταβολές της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας με την ένταση της φωτοσυνθετικά ενεργού ακτινοβολίας [X].

**THE EFFECT OF TWO SOIL FERTILITY TREATMENTS ON
LEAF PHOTOSYNTHETIC ACTIVITY IN SWEET SORGHUM
[*Sorghum bicolor* (L.) Moench] CROP.**

Makri A., Pistiki A., Angelopoulos K.

Department of Biology, University of Patras, Rion, GR 26500

The effect of two soil fertility treatments on leaf photosynthetic activities in sweet sorghum [*Sorghum bicolor* (L) Moench] cv. Keller crop, were studied. Sweet sorghum is a relative new energy crop in the European Union for biomass and ethanol production. Plants of sweet sorghum has been characterized for their high C₄ photosynthetic rates and a very good adaptability at Mediterranean ecosystems. During the day leaf photosynthetic rates varied between 0,47-32 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ cm}^{-2} \text{ sec}^{-1}$ and 2-42 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ cm}^{-2} \text{ sec}^{-1}$ in plants with “biological” and “conventional” treatment respectively. These variations depend on leaf age, solar radiation intensity they received during the day as well as their plant water state and leaf nitrogen content. At midday maximum photosynthetic rates (A_{max}) were found at 4th-6th leaf from the top of plants. Younger leaves showed higher photosynthetic rates at sunrise and sunset. Maximum photosynthetic rates reach for solar radiation intensities up to 1600-1700 $\mu\text{mol}[\text{quanta}]\text{cm}^{-2} \text{ sec}^{-1}$. The function $Y = P_1[X]/P_2 + [X]$ sufficiently describes variations in photosynthetic activities with the changes of intensities of photosynthetic active radiation [X].

**ΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΙΝΟΤΡΟΠΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ
LEVOSIMENDAN ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΙΣΧΑΙΜΙΑ ΤΩΝ ΚΑΡΔΙΟ-
ΜΥΟΚΥΤΤΑΡΩΝ: Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΩΝ ΚΙΝΑΣΩΝ**

Μακρίδου Ζ., Λεγάκης Γ., Παπαδόπουλος Δ., Λάζου Α.

*Εργ. Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο
Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη 54124*

Το levosimendan είναι ένας ευαισθητοποιητής Ca^{++} που χρησιμοποιείται ευρύτατα ως ινοτροπικός παράγοντας στη θεραπεία της καρδιακής ανεπάρκειας. Επιπλέον, έχει δειχθεί ότι μπορεί να έχει δράση αναστολέα της φωσφοδιεστεράσης καθώς επίσης και να ενεργοποιεί τα κανάλια K_{ATP} των μιτοχονδρίων και του σαρκολήματος. Σκοπός της εργασίας ήταν να διερευνηθεί η επίδραση του levosimendan τόσο στην βιωσιμότητα των καρδιομυοκυττάρων κατά την ισχαιμία όσο και στην ενεργοποίηση διαφόρων πρωτεϊνικών κινασών που συμμετέχουν σε σηματοδοτικά μονοπάτια. Εκθεση των καρδιομυοκυττάρων σε συνθήκες ισχαιμίας προκάλεσε μείωση στη βιωσιμότητά τους ενώ η προσθήκη levosimendan επανέφερε την βιωσιμότητα των κυττάρων στα επίπεδα του μάρτυρα. Επιπλέον, προσθήκη των αναστολέων πρωτεϊνικών κινασών PD98059 (ειδικός αναστολέας των ERK1/2) και LY94002 (ειδικός αναστολέας της PI-3-K) είχε ως αποτέλεσμα την κατάργηση της προστατευτικής επίδρασης του levosimendan. Εκθεση των καρδιομυοκυττάρων σε διαφορετικές συγκεντρώσεις levosimendan για διάφορους χρόνους προκάλεσε την ενεργοποίηση των ERK1/2 και της Akt ενώ είχε ανασταλτική επίδραση στη φωσφορυλίωση της p38 MAPK. Συμπερασματικά, το levosimendan προστατεύει τα καρδιομυοκτταρα από την ισχαιμία αυξάνοντας την βιωσιμότητά τους. Η προστατευτική αυτή δράση του levosimendan φαίνεται ότι οφείλεται στην ενεργοποίηση των ERK1/2 και της Akt και στην αναστολή της p38 MAPK.

**PROTECTIVE EFFECT OF THE INOTROPIC AGENT
LEVOSIMENDAN IN CARDIOMYOCYTE ISCHEMIA:
THE ROLE OF PROTEIN KINASES**

Makridou Z., Legakis Y., Papadopoulos D., Lazou A.

*Lab of Animal Physiology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki,
Thessaloniki GR 54124*

Levosimendan is a Ca⁺⁺ sensitizer, which is widely used as an inotropic agent in the treatment of heart failure. In addition, it has been shown that levosimendan is a phosphodiesterase inhibitor and a K_{ATP} channel activator. The aim of this study was to examine the effect of levosimendan on the viability of cardiomyocytes during ischemia and on the activation of various signalling protein kinases. The viability of cardiomyocytes was reduced when they were subjected to ischemic conditions as compared with the control while addition of levosimendan prevented the reduction in cardiomyocyte viability. On the other hand, the protective effect of levosimendan was abrogated with the use of the selective protein kinase inhibitors PD98059 (ERK1/2 inhibitor) and LY94002 (PI-3-K inhibitor). Treatment of cardiomyocytes with various concentrations of levosimendan for various times induced the phosphorylation and thus activation of ERK1/2 and Akt while phosphorylation of p38 MAPK was reduced. In conclusion, levosimendan protects cardiomyocytes from ischemia increasing their viability. This protective effect seems to be mediated through the activation of ERK1/2 and Akt and the inhibition of p38 MAPK.

ΦΥΛΕΤΙΚΟΣ ΔΙΜΟΡΦΙΣΜΟΣ ΣΕ ΣΥΓΧΡΟΝΑ ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΚΡΑΝΙΑ

**Μαλούχου-Γκρίμπα Β., Γουρνά Ε., Δρετάκη Ο., Ζορμπά Ε., Καράμπελα Α.,
Κισκήρα Χ., Νικηφόρου Μ., Ντάκου-Ζαμπλάρα Α., Παπαδοπούλου Μ.,
Σκιαδά Β., Χαρίση Δ., και Σ.Κ. Μανώλης**

*Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και
Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 15784 Αθήνα.*

Μια συλλογή αναφοράς σύγχρονων ανθρώπινων σκελετών αποτελεί μια αστείρευτη πηγή πληροφοριών που βρίσκουν εφαρμογή σε πολλά πεδία της σκελετικής βιολογίας, της βιοαρχαιολογίας και της βιολογικής ανθρωπολογίας. Στον Τομέα Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου έχει δημιουργηθεί μια τέτοια συλλογή και αποτελεί το βασικό υλικό εκπόνησης διάφορων μελετών. Στην παρούσα εργασία παρουσιάζουμε τα αποτελέσματα της διερεύνησης του βαθμού φυλετικού διμορφισμού στα κρανία της συλλογής. Μελετήθηκαν 145 κρανία (71 άρρενες και 74 θήλειες) και λήφθηκαν 11 μετρήσεις. Υπολογίστηκε η φυλετική αναλογία για κάθε μια από τις 11 μεταβλητές και συγκρίθηκαν με τέσσερις άλλες σύγχρονες κρανιακές σειρές (Howells, 1971). Από τα αποτελέσματα φαίνεται ότι οι μετρήσεις που εμφανίζουν μεγάλο βαθμό φυλετικού διμορφισμού στα σύγχρονα ελληνικά κρανία είναι οι: Διαζυγωματική διάμετρος (ZYB), η διωτιαία διάμετρος (AUB) και το ύψος μύτης (NLH). Συμπερασματικά, ο βαθμός φυλετικού διμορφισμού είναι σχετικά χαμηλός αφού από 11 μετρήσεις μόνο οι 3 έχουν χαρακτηριστικά μεγάλη αναλογία (1,056-1,060). Αυτή η παρατήρηση ενισχύεται από τη σύγκριση με τους υπόλοιπους σύγχρονους πληθυσμούς οι οποίοι έχουν περισσότερες μετρήσεις με υψηλή αναλογία (π.χ. Berg 4/11, Zalavar 4/11, Norse 4/11 και Egypt 5/11). Ακόμη η Διαζυγωματική διάμετρος (ZYB) και το Ύψος μύτης (NLH) αποτελούν τις δύο μεταβλητές με τον υψηλότερο βαθμό φυλετικού διμορφισμού σε όλους τους πληθυσμούς. Από τους πληθυσμούς αυτούς οι Αιγύπτιοι φαίνεται να έχουν έντονο φυλετικό διμορφισμό.

- Η εργασία επιχορηγήθηκε από το Πρόγραμμα «Καποδίστριας» του ΕΛΚΕ, Πανεπιστήμιο Αθηνών (στον ΣΚΜ).

SEXUAL DIMORPHISM IN MODERN HUMAN GREEK SKULLS

***Malouchou-Grimba V., Gournas E., Dretaki O., Zorba E., Karabela A.,
Kiskira Chr., Nikofoforou M., Dakou-Zamplara A., Papadopoulou M.,
Skiada V., Charissi D., and S.K. Manolis***

*Department of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, National and
Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis, GR 15784 Athens Greece..*

A collection of modern human skeletons constitutes an inexhaustible source of information that finds application in a lot of fields of skeletal biology, bioarchaeology and biological anthropology. In the Department of Animal and Human Physiology has been created such a collection and constitutes the basic material for carrying out various studies. In the present work we present the results of investigation of the degree of sexual dimorphism in the skulls of the Collection. Were studied 145 skulls (71 males and 74 female skulls) and were taken 11 cranial measurements. The sexual dimorphism ratio was calculated for every of the 11 variables and was compared with four other modern cranial series (after Howells, 1971). From the results it appears that the measurements that present high degree of sexual dimorphism in the Modern Greek skulls are: Bizygomatic breadth (ZYB), Auricular breadth (AUB) and Nasal height (NLH). Consequently, the degree of sexual dimorphism is relatively low, because only 3 measurements from 11 have characteristically high ratio (1,056-1,060). This observation is strengthened by the comparison with the remainder modern population samples which have more measurements with high ratios (e.g. Berg 4/11, Zalavar 4/11, Norse 4/11 and Egypt 5/11). Moreover Bizygomatic Breadth (ZYB) and Nasal Height (NLH) constitute the two variables with the higher degree of sexual dimorphism in all the populations. From these reference population samples the Egyptians appear to have the highest sexual dimorphism.

- *This work is funded by the Program "Kapodistrias" of the Special Research Account, National & Kapodistrian University of Athens.*

**ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ, ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΚΑΙ ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΤΟΥ Elk-1
ΣΤΗΝ ΚΥΤΤΑΡΟΦΑΓΙΑ ΤΗΣ *E. coli* ΑΠΟ ΤΑ ΑΙΜΟΚΥΤΤΑΡΑ
ΤΗΣ ΜΥΓΑΣ ΤΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΟΥ**

Μάμαλη Ε., Καποδίστρια Κ., Λαμπροπούλου Μ., Μαρμάρας Β.Ι.

Εργαστήριο Βιολογίας - Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών

Η πρωτεΐνη Elk-1 είναι ένας μεταγραφικός παράγοντας που αλληλεπιδρά με τις MAP κινάσες και συμμετέχει στη νευρωνική διαφοροποίηση (Sharrocks et al 2001), κυτταρικό πολλαπλασιασμό (Sharrocks et al 2002), ογκογένεση (Chai et al 2001) και απόπτωση (Shao et al 1998). Στην παρούσα εργασία θελήσαμε να διερευνήσουμε την ύπαρξη του Elk-1 στα αιμοκύτταρα της μύγας της μεσογείου, να διαπιστώσουμε την κατανομή του και να εξετάσουμε αν συμμετέχει στην κυτταροφαγία της *E. coli* από τα αιμοκύτταρα. Με ανοσοκατακρήμνιση και ανάλυση κατά Western ταυτοποιήσαμε στα αιμοκύτταρα του Elk-1 καθώς και τη φωσφορυλιωμένη μορφή της στη Ser 383 (p^{Ser383}Elk-1). Ακόμη, διαπιστώσαμε ότι ο Elk-1 περιέχει την ETS περιοχή, μια ιδιαίτερα συντηρημένη περιοχή του Elk-1, με την οποία ο μεταγραφικός αυτός παράγοντας προσδένεται στο DNA. Στη συνέχεια, σε συνεστιακό μικροσκόπιο μελετήθηκε η κατανομή του Elk-1 και του p^{Ser383}Elk-1 και βρέθηκε ότι, ενώ ο πρώτος εντοπίζεται στο κυτταρόπλασμα και στον πυρήνα, η δεύτερος βρίσκεται αποκλειστικά στην πυρηνική περιοχή. Τέλος, παρατηρήθηκε ότι κατά την κυτταροφαγία της *E. coli* από τα αιμοκύτταρα επάγεται η φωσφορυλίωση του Elk-1 στη Ser 383, ενώ με κυτταρομετρία ροής διαπιστώθηκε ότι η οσμωτική ένθεση αντισώματος Elk-1 στα κύτταρα επιφέρει σημαντική μείωση της κυτταροφαγίας. Επομένως, η ταυτοποίηση του Elk-1 στη μύγα της μεσογείου μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η πρωτεΐνη Elk-1 είναι φυλογενετικά συντηρημένη και είναι πολύ πιθανό να έχει τον ίδιο βιολογικό ρόλο με αυτόν στα θηλαστικά, λόγω των ιδιαίτερα συντηρημένων μηχανισμών σηματοδότησης που διέπουν τις ενδογενείς ανοσοαποκρίσεις ανάμεσα στις διάφορες ζωικές ομάδες. Ακόμη, τα αποτελέσματά μας συνηγορούν στη συμμετοχή του Elk-1 στη ρύθμιση της κυτταροφαγίας των βακτηρίων από τα αιμοκύτταρα της μύγας της Μεσογείου.

**EXPRESSION, LOCALIZATION AND IMPLICATION OF Elk-1 IN
E. coli PHAGOCYTOSIS IN MEDFLY HEMOCYTES**

Mamali I., Kapodistria K., Lampropoulou M., Marmaras V.J.

Lab of Biology - Dept of Biology, University of Patras

Elk-1 protein is a transcription factor which interacts with MAP kinases and participates in neuronal differentiation (Sharrocks et al 2001), cell proliferation (Sharrocks et al 2002), tumorigenesis (Chai et al 2001) and apoptosis (Shao et al 1998). In this report we explored expression, localization and implication of Elk-1 in *E. coli* phagocytosis in medfly hemocytes. Immunoprecipitation analysis and Western blot showed that Elk-1 as well as p^{Ser383}Elk-1 are expressed in medfly hemocytes (Elk-1-like protein). We also demonstrated that Elk-1-like protein contains the conserved motif Ets, with which it binds to DNA. The distribution of Elk-1 and p^{Ser383}Elk-1 was studied with confocal analysis and the immunofluorescence data demonstrated that p^{Ser383}Elk-1 is rather exclusively localized into the nucleus whereas Elk-1-like protein appears to be localized both in the cytoplasm and in the nucleus. Finally, Elk-1 is phosphorylated in ser 383 in *E. coli* challenged hemocytes and flow cytometry analysis showed that osmotic loading of Elk-1 antibody decreased the uptake of bacteria. The expression of an Elk-1-like protein in medfly strongly support that Elk-1 transcription factor is phylogenetically conserved and is very likely to be biologically relevant with the one in mammals, particularly given the conservation of signaling mechanisms that are present in innate immune responses across different animal groups. The above results strongly support that the expression of Elk-1-like protein is an important determinant of bacteria phagocytosis in the medfly hemocytes.

**ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ Elk-1
ΜΕ ΤΗΝ ΚΙΝΑΣΗ ΕΣΤΙΑΚΗΣ ΠΡΟΣΚΟΛΛΗΣΗΣ (FAK) ΚΑΙ
ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΟΦΑΓΙΑΣ ΣΤΑ ΑΙΜΟΚΥΤΤΑΡΑ ΤΗΣ
ΜΥΓΑΣ ΤΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΟΥ**

Μάμαλη Ε., Καποδίστρια Κ., Λαμπροπούλου Μ., Μαρμάρας Β.Ι.

Εργαστήριο Βιολογίας - Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών

Η κινάση εστιακής προσκόλλησης (FAK) και τα σηματοδοτικά μόρια που ρυθμίζονται από αυτή, όπως οι MAP κινάσες, εμπλέκονται στη διαδικασία της κυτταροφαγίας από τα αιμοκύτταρα των εντόμων (Metheniti et al 2001, Lamprou et al 2007). Σκοπός της εργασίας αυτής ήταν η περαιτέρω μελέτη των σηματοδοτικών μονοπατιών που σχετίζονται με την κυτταροφαγία και του ρόλου τους καθώς και της πιθανής συμμετοχής του μεταγραφικού παράγοντα Elk-1 στη διαδικασία αυτή. Με την τεχνική αποσιώπησης του RNA και ανάλυση κατά Western, δείξαμε ότι όταν παρεμποδίζεται η έκφραση της FAK με FAK dsRNA κατά την κυτταροφαγία βακτηρίων (*E. coli*) ή ελαστικών σφαιριδίων (latex beads) στα αιμοκύτταρα μειώνεται η φωσφορυλίωση του Elk-1 στη Ser 383. Μείωση της φωσφορυλίωσης πραγματοποιείται και ύστερα από επίδραση με αναστολείς των MAP κινασών. Στη συνέχεια με ανοσοκατακρήμνιση και ανάλυση κατά Western, διερευνήσαμε την πιθανή διασύνδεση της FAK ή της p^{Y397}FAK με τον Elk-1 ή τον p^{Ser383}Elk-1 παρουσία ή απουσία *E. coli* και βρέθηκε ότι μόνο η FAK διασυνδέεται με τον Elk-1 ή και τον p^{Ser383}Elk-1. Τέλος ο συνεντοπισμός της FAK με τον p^{Ser383}Elk-1 στην περιοχή του πυρήνα διαπιστώθηκε με ανάλυση σε συνεστιακό μικροσκόπιο. Επομένως συμπεραίνουμε ότι τα μονοπάτια μεταγωγής σήματος FAK/Src και των MAP κινασών σηματοδοτούν μέσω του Elk-1 στο μηχανισμό της κυτταροφαγίας. Ο Elk-1 φαίνεται επίσης να αλληλεπιδρά και να δημιουργεί σύμπλοκο με την FAK κατά την κυτταροφαγία των βακτηρίων στα αιμοκύτταρα της μύγας της Μεσογείου.

**INTERACTION OF Elk-1 TRANSCRIPTION FACTOR WITH FAK
(FOCAL ADHESION KINASE) AND REGULATION OF
PHAGOCYTOSIS IN MEDFLY HEMOCYTES**

Mamali I., Kapodistria K., Lampropoulou M., Marmaras V.J.

Lab of Biology - Dept of Biology, University of Patras

Focal adhesion kinase (FAK) and its downstream signaling targets, MAPKs, are implicated in the process of phagocytosis by insect hemocytes (Metheniti et al 2001; Lamprou et al 2007). The goal of this study was to explore further the signaling pathways underlining the process of phagocytosis and their role as well as the potential regulation of this process by Elk-1 transcription factor. RNA interference and Western blot analysis showed that FAK expression silencing with FAK dsRNA in *E. coli* or latex beads challenged hemocytes decreased the phosphorylation of Elk-1 at ser 383. Decrease of phosphorylation was also observed with pharmacological inhibitors for MAPKs. With co-immunoprecipitation and Western blot analysis we explored the physical association of FAK or p^{Y397}FAK with Elk-1 or p^{ser383}Elk-1, in the presence or absence of *E. coli*, and demonstrated that only FAK is co-immunoprecipitated with Elk-1 or p^{ser383}Elk-1. Confocal analysis confirmed the co-localization of FAK with p^{ser383}Elk-1. Consequently, FAK/Src and MAPKs pathways signal in *E. coli* challenged hemocytes through Elk-1-like protein. Furthermore, Elk-1 interacts and has a physical association with FAK during phagocytosis in medfly hemocytes.

**ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ Elk-1
ΜΕ ΤΗΝ ΚΙΝΑΣΗ ΕΣΤΙΑΚΗΣ ΠΡΟΣΚΟΛΛΗΣΗΣ (FAK) ΚΑΙ ΜΕ
ΤΙΣ ΜΑΡ ΚΙΝΑΣΕΣ ΣΤΑ ΗΚ-2 ΚΥΤΤΑΡΑ**

***Μάμαλη Ε., Κωτσαντής Π., Κατσώρης Π., Λαμπροπούλου Μ.,
Μαρμάρας Β.Ι.***

Εργαστήριο Βιολογίας - Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών

Ο Elk-1 μεταγραφικός παράγοντας αλληλεπιδρά με τις MAP κινάσες και συμμετέχει στη νευρωνική διαφοροποίηση (Sharrocks et al 2001), κυτταρικό πολλαπλασιασμό (Sharrocks et al 2002), ογκογένεση (Chai et al 2001) και απόπτωση (Shao et al 1998). Στην παρούσα εργασία θελήσαμε να διερευνήσουμε την πιθανή διασύνδεση του Elk-1 με την FAK στα επιθηλιακά κύτταρα του εγγύς εσπειραμένου σωληναρίου του ανθρώπινου νευρώνα καθώς και τη ρύθμιση των FAK/Src και MAPKs σηματοδοτικών μονοπατιών από τον μεταγραφικό παράγοντα. Με ανοσοκατακρήμνιση και ανάλυση κατά Western, διερευνήσαμε την πιθανή διασύνδεση της FAK ή της p^{Y397}FAK με τον Elk-1 ή τον p^{Ser383}Elk-1 σε ενεργοποιημένα και μη κύτταρα με 25mM γλυκόζης και βρέθηκε ότι μόνο η FAK διασυνδέεται με τον Elk-1 ή και τον p^{Ser383}Elk-1. Ο συνεντοπισμός της FAK με τον p^{Ser383}Elk-1 επιβεβαιώθηκε με ανάλυση σε συνεστιακό μικροσκόπιο. Στη συνέχεια, με την τεχνική της αποσιώπησης του RNA και ανάλυση κατά Western, δείξαμε ότι όταν παρεμποδίζεται η έκφραση του Elk-1 με Elk-1 siRNAs μειώνεται σημαντικά η φωσφορυλίωση του Elk-1 στη Ser 383 ενώ επίσης επηρεάζονται και τα σηματοδοτικά μόρια των FAK/Src και MAPK μονοπατιών. Επομένως συμπεραίνουμε ότι, ο Elk-1 φαίνεται να αλληλεπιδρά και να δημιουργεί σύμπλοκο με την FAK στα ΗΚ-2 κύτταρα και να ρυθμίζει την έκφραση και τη φωσφορυλίωση των σηματοδοτικών μορίων των FAK/Src και MAPK μονοπατιών.

**Elk-1 TRANSCRIPTION FACTOR ASSOCIATES WITH FAK
(FOCAL ADHESION KINASE) AND INTERACTS WITH MAPKs
IN HK-2 CELLS**

Mamali I., Kotsantis P., Katsoris P., Lampropoulou M., Marmaras V.J.

Lab of Biology - Dept of Biology, University of Patras

Elk-1 transcription factor interacts with MAP kinases and participates in neuronal differentiation (Sharrocks et al 2001), cell proliferation (Sharrocks et al 2002), tumorigenesis (Chai et al 2001) and apoptosis (Shao et al 1998). In this report we explored expression, the potential association of Elk-1 with FAK in human kidney proximal tubular epithelial cells as well as the regulation of FAK/Src and MAPKs signaling pathways by the transcription factor. With co-immunoprecipitation and Western blot analysis we explored the physical association of FAK or p^{Y397}FAK with Elk-1 or p^{ser383}Elk-1, in the presence or absence of 25mM glucose, and demonstrated that only FAK is co-immunoprecipitated with Elk-1 or p^{ser383}Elk-1. Confocal analysis also confirmed the co-localization of FAK with p^{ser383}Elk-1. Furthermore, RNA interference and Western blot analysis showed that Elk-1 expression silencing with Elk-1 siRNAs decreased significantly the phosphorylation of Elk-1 at ser 383 and regulated the signaling molecules of FAK/Src and MAPKs signaling pathways. Consequently, it appears that Elk-1 associates with FAK in HK-2 cells. Furthermore, Elk-1 transcription factor regulates the expression and phosphorylation of signaling molecules of FAK/Src and MAPKs signaling pathways.

ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ ΚΑΙ ΜΕΛΕΤΗ ΑΝΘΡΩΠΙΝΩΝ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ: ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΚΕΣ ΚΑΙ ΔΕΟΝΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ

Μανιάτης Ν., Παναγιάρης Γ.

*ΤΕΙ Αθήνας, Τμήμα Συντήρησης Αρχαιοτήτων και Έργων Τέχνης, Αγίου
Σπυρίδωνος, 12210 Αιγάλεω, Αττική.*

Τα ανθρώπινα υπολείμματα (human remains), είτε ως ανασκαφικά ευρήματα είτε ως μέρος επιστημονικών συλλογών, αποτελούν πολύτιμο μέσο κατανόησης της ιστορικής και βιολογικής εξελικτικής πορείας του ανθρώπου, γεγονός που τα αναδεικνύει σε αναπόσπαστο κομμάτι της πολιτιστικής κληρονομιάς ενός τόπου ή ενός λαού. Ως εκ τούτου η συντήρησή τους έχει στόχο, όχι απλώς τη διάσωση της μορφής τους, αλλά κυρίως την διατήρηση του συνόλου της περιεχόμενης σε αυτά πληροφορίας στο μέλλον. Σύμφωνα με τον ορισμό του συντηρητή, (C.A.C./Code of Ethics, 1989), σκοπός της συντήρησης είναι η μελέτη, καταγραφή, διατήρηση και συντήρηση της πολιτιστικής ταυτότητας των αντικειμένων με την μικρότερη δυνατή επέμβαση σε αυτά. Κύριος στόχος της μελέτης των ανθρώπινων υπολειμμάτων είναι, μεταξύ άλλων, η ανάκτηση πληροφοριών σχετικών με την εξέλιξη του ανθρώπου, την διαφοροποίηση και ανάπτυξή του, τη παλαιοδημογραφία, την παλαιοδιατροφή, την παλαιοπαθολογία, τα ταφικά έθιμα και τη ταφονομία, τις μεθόδους χρονολόγησης. Για την καλύτερη δυνατή εξυπηρέτηση αυτού του στόχου, ο συντηρητής καλείται να σχεδιάσει και υλοποιήσει προγράμματα συντήρησης σε στενή συνεργασία, από τα πρώτα κιόλας στάδια, με ένα πλήθος άλλων εξειδικευμένων επιστημόνων (π.χ. αρχαιολόγων, ιατρών, παλαιοντολόγων, βιολόγων και άλλων). Σε όλα τα στάδια της συνεργασίας αυτής, η επιστημονική κοινότητα είναι υποχρεωμένη να λάβει ειδική μέριμνα για την τήρηση νομικών και ηθικών κανόνων κατά τη διαχείριση, συντήρηση, μελέτη και έκθεση των ανθρώπινων υπολειμμάτων. Στην παρούσα εργασία περιγράφονται χαρακτηριστικά παραδείγματα εργασιών συντήρησης που μπορούν να επηρεάσουν καθοριστικά την επακολουθούσα έρευνα, όπως: (1.) Λανθασμένη μεταχείριση του υλικού κατά τη συλλογή, καταγραφή και μεταφορά, μπορεί να προξενήσει επιμόλυνση, θραύση και ελλιπή τεκμηρίωση, επηρεάζοντας αρνητικά τις μετέπειτα μελέτες χρονολόγησης και βιολογικής ανθρωπολογίας (2) Ανεπιτυχής καθαρισμός και ανάταξη οστεολογικού υλικού εμποδίζει την φυσικοανθρωπολογική έρευνα. (3.) Καθαρισμός οστών με χρήση ανόργανων οξέων, μπορεί να επιφέρει απώλεια ιχνοστοιχείων και αλλαγή της σύστασής τους. (4.) Χρήση στερεωτικών υλικών, μπορεί να δυσχεράνει την παλαιοδιατροφική έρευνα. (5.) Χρήση υλικών οργανικής προέλευσης (π.χ. ρητίνες, κόλλες, βιοκτόνα, κ.λπ.), μπορεί να επηρεάσει τα αποτελέσματα της ραδιοχρονολόγησης. (6.) Έκθεση σε χημικά, υψηλές θερμοκρασίες, ακτινοβολία, κατά την αποθήκευση, έκθεση και μεταφορά, μπορεί να επηρεάσει τη σταθερότητα των βιομορίων. (7.) Λανθασμένη επιλογή υλικών διατήρησης υγρών συλλογών (spirit collections), μπορεί να επηρεάσει τα μορφολογικά, ιστολογικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά των παρασκευασμάτων. Επιπλέον παρουσιάζονται παραδείγματα εργασιών συντήρησης ανθρώπινων υπολειμμάτων τα συμπεράσματα των οποίων μπορούν να συνεισφέρουν πρωτογενές υλικό στην φυσικοανθρωπολογική έρευνα όπως: (1) τεκμηρίωση, φωτογράφιση και σχεδίαση του χώρου ανασκαφής, μπορεί να προσφέρει δεδομένα για μελέτες ταφονομίας. (2) Η εκτίμηση της κατάστασης διατήρησης των σκελετικών ευρημάτων συμβάλλει στη διαγενετική έρευνα.

CONSERVATION AND STUDY OF HUMAN REMAINS: METHODOLOGICAL AND DEONTOLOGICAL APPROACH

Maniatis N., Panagiaris G.

*TEI of Athens, Dept. Of Conservation of Antiquities and Works of Arts, Agiou
Spyridonos, GR-12210, Aegaleo, Attika, Greece.*

Human remains, as archaeological finds or as part of scientific collections, comprise a valuable understanding media for the historical and biological evolution of human kind. This results in their integral inclusion in the cultural heritage of a region or nation. Thereby, their conservation is aiming towards the preservation of their morphology, and most importantly towards the preservation of any informational content within them for the future. According to the Canadian Association of Conservators (Code of Ethics, 1989), “the purpose of conservation is to study, record, retain and restore the culturally significant qualities of the object with the least possible intervention. The main objective of studying human remains is to retrieve information of human evolution, variation and growth, paleodemography, paleodietary and paleopathology, burial customs, taphonomy and dating. To ensure a higher degree of success towards achieving this aim the conservator should plan and execute conservation projects in close collaboration; from the first stages and with a number of other specialised scientists (such as, archaeologists, paleontologists, biologists and others). During all stages of the collaboration the scientific community should take particular care to maintain legal and ethical regulations regarding the management, conservation, study and exhibition of human remains. This study describes characteristic cases of conservation procedures that could affect further research. Such cases are: (1.) Wrong material management during collection, documentation and transportation. This could lead to contamination, fragmentation and incomplete documentation that will negatively affect the further dating and biological anthropology studies. (2.) Unsuccessful cleaning and reassembling of skeletal finds complicates further physical anthropology research (3.) Use of inorganic acids when cleaning bones could cause dilution of trace elements and changes in bone composition. (4.) Use of consolidates could complicate the paleodietary studies. (5.) Use of organic materials (resins, glues, biocides) could affect the results of radiochronology. (6.) Chemical exposure, high temperature and radiation during storage, exhibition and transportation could affect the stability of biomolecules. (7.) Wrong choice of preservation fluid for spirit collections’ specimens, could effect their morphological, histological and biochemical characteristics. In addition to the points already mentioned, human remains’ conservation cases that result in primary data on physical anthropology research will be presented as well. Such cases are: (1.) documentation, photographs and sketches of excavation sites and finds on site which could provide data for taphonomy study. (2.) The assessment of skeletal finds’ preservation status contributes to the diagenesis research.

Η ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΤΗΣ ΠΟΡΩΔΟΥΣ ΥΠΕΡΟΣΤΩΣΗΣ ΣΤΗΝ ΠΡΟΪΣΤΟΡΙΚΗ ΕΛΛΑΔΑ (Μεσολιθική-Εποχή Χαλκού)

Μανώλη Μ.Σ. και Σ.Κ. Μανώλης

*Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό &
Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 157 84 Αθήνα
E-mail: smanol@biol.uoa.gr*

Η πορώδης υπερόστωση είναι μια σκελετική παθολογική εκδήλωση, η οποία έχει καταγραφεί και έχει συζητηθεί έντονα από τις αρχές του 20^{ου} αιώνα από τους ανθρωπολόγους. Συνίσταται στην παρουσία πόρωσης στα βρεγματικά οστά ή/και στην οροφή των οφθαλμικών κογχών (Cribræ Orbitalia), και εμφανίζεται στην μεταβατική περίοδο μεταξύ Μεσολιθικής και Νεολιθικής. Η αρχική εκτίμηση των περισσότερων ερευνητών ήταν ότι πρόκειται για σκελετική αλλοίωση η οποία οφείλονταν σε κάποια γενετική αναιμία (π.χ. θαλασσαιμία). Αργότερα συμπεριλαμβάνοντας στις εκτιμήσεις και την παράμετρο του περιβάλλοντος, υπέθεταν ότι ήταν μια απόκριση του οργανισμού στην πίεση της ελονοσίας (δρεπανοκυτταρική αναιμία). Όμως αυτή η ερμηνεία καταρρίφθηκε σε αρκετές περιπτώσεις όταν ανιχνεύθηκε σε πληθυσμούς στους οποίους η ελονοσία δεν ήταν επικρατής.

Στην μελέτη αυτή παρουσιάζουμε τις συνολικές κατανομές της εμφάνισης της πορώδους υπερόστωσης ανά χρονική περίοδο (Μεσολιθική, Νεολιθική, Πρώιμη εποχή Χαλκού, Μέση εποχή Χαλκού και Ύστερη εποχή Χαλκού) από 20 προϊστορικές θέσεις. Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων προκύπτει ότι η παρουσία της πορώδους υπερόστωσης μειώνεται από την Μεσολιθική (8.000 π.Χ.) προς την Εποχή του Χαλκού (1100 π.Χ.).

Η ερμηνεία που επικρατεί σήμερα σχετικά με την αιτιολογία της πορώδους υπερόστωσης θεωρεί ότι είναι άμεσα συνδεδεμένη με την σιδηροπενική αναιμία (κακή διατροφή), και τις παρασιτικές λοιμώξεις (κακής ποιότητας νερό με διάφορα παράσιτα/ σκώληκες έχοντας ως αποτέλεσμα αιμορραγίες). Έτσι, η παρατηρούμενη μείωση της εμφάνισης της πορώδους υπερόστωσης είναι αναμενόμενη λόγω της καλύτερης υγιεινής και διατροφής που καταγράφεται με την πάροδο του χρόνου από τις αρχαιολογικές ανασκαφές.

- Η έρευνα αυτή επιχορηγήθηκε από το Πρόγραμμα «Καποδίστριας» του Ειδικού Λογαριασμού Έρευνας του Πανεπιστημίου Αθηνών (ΣΚΜ).

THE DISTRIBUTION OF POROTIC HYPEROSTOSIS IN PREHISTORIC GREECE (Mesolithic – Bronze Age)

Manoli M.S., and S.K. Manolis

*Department of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, National &
Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis, GR 15784 Athens
E-mail: smanol@biol.uoa.gr*

Porotic hyperostosis is a skeletal pathological alteration, which has been recorded and discussed intensely by the beginning of the 20th century. It is characterized by the presence of small holes (porous) in the parietal bones and/or in the orbital roofs (Cribra Orbitalia), and is presented for the first time in the transient period between Mesolithic and Neolithic. The initial estimate of most researchers was that it is a skeletal alteration which was owed in certain genetic anaemia (e.g. thalassaemia). Later including in their estimates the parameter of environment, they supposed that was a response in the pressure of malaria (sickle-cell anaemia). However, this interpretation was brought down in enough cases when it was detected in populations in which the malaria was not dominant.

In this study we present the total distributions of the incidence of porotic hyperostosis per time period (Mesolithic, Neolithic, Early Bronze, Middle Bronze and Late Bronze Age periods) from 20 prehistoric sites. From the analysis of results it seems that the presence of porotic hyperostosis is decreased by the Mesolithic period (8.000 B.C.) to the Late Bronze Age period (1100 B.C.). The interpretation that prevails today with regard to the explanation of porotic hyperostosis considers that it is immediately connected with iron deficiency anaemia (bad diet), and some parasitic infections (bad quality water with various parasites/worms that resulting bleedings). Thus, the observed reduction of the incidence of porotic hyperostosis was expected because of the better hygiene and diet that is recorded in the archaeological excavations.

- *This research was funded by the Special Research Account of the University of Athens (SKM).*

**ΒΑΘΜΟΣ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟΤΗΤΑΣ ΣΤΑΘΜΩΝ ΒΑΣΗΣ ΚΙΝΗΤΗΣ
ΤΗΛΕΦΩΝΙΑΣ**

**Μαργαρίτης Α.Χ., Παναγόπουλος Δ., Κέφαλος Π., Χαβδούλα Ε., Σούρδη
Α., Κοκκαλιάρης Κ., Κοτσίδα Π., Σταυροπούλου Ε., Αργύρη, Ε.**

*Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ,
Πανεπιστημιούπολις, Ζωγράφου 15784, Αθήνα,*

Οι άμεσες βιολογικές επιδράσεις των ηλεκτρομαγνητικών πεδίων της μη ιονίζουσας ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας είναι σε κάθε περίπτωση πολύ ηπιότερες από τις αντίστοιχες της ιονίζουσας. Οι ακτινοβολίες αυτές περιλαμβάνουν ηλεκτρομαγνητικά πεδία προερχόμενα από γραμμικές μεταφορές ηλεκτρικής ενέργειας, (κυρίως εκείνες που μεταφέρουν υψηλή τάση), κεραιές ραδιοτηλεοπτικών σταθμών, κινητής τηλεφωνίας, radar, κ.λ.π. , αλλά και από οικιακές ηλεκτρικές και ηλεκτρονικές συσκευές που συχνά χρησιμοποιούνται σε επαφή ή σε μικρή απόσταση με τον ανθρώπινο εγκέφαλο και το ανθρώπινο σώμα εν γένει, (ασύρματα τηλέφωνα, οθόνες τηλεοράσεων και υπολογιστών, φούρνοι μικροκυμάτων, κ.λ.π.). Οφείλουμε κατ' αρχήν να διευκρινίσουμε ότι **δεν υπάρχουν «όρια ασφαλούς έκθεσης»**,. Οι επιτροπές που έχουν θεσπίσει τα όρια, [IRPA, 1988], [ICNIRP, 1998], μιλούν για «κριτήρια έκθεσης», (“exposure criteria”) και πουθενά δεν αποκαλούν τα προτεινόμενα όρια, «όρια ασφαλούς έκθεσης». Τα θεσπισμένα όρια λοιπόν αποτελούν «όρια αποδεκτής έκθεσης». Θα πρέπει επίσης να τονιστεί ότι τα «όρια» στα οποία αναφερόμαστε έχουν θεσπισθεί αυθαίρετα, αφού ακόμη δεν είναι γνωστοί επακριβώς οι μηχανισμοί με τους οποίους επιδρούν τα τεχνητά ηλεκτρομαγνητικά πεδία στα κύτταρα και κατ' επέκταση στους ζωντανούς οργανισμούς και στην υγεία του ανθρώπου γενικότερα. Δεν είναι τυχαίο συνεπώς ότι **διαφορετικές χώρες έχουν θεσπίσει διαφορετικά «όρια αποδεκτής έκθεσης»**, (π.χ. πρώην Σοβιετική Ένωση, Ρωσία, Αυστρία, Κίνα, Ιταλία, Νέα Ζηλανδία και πρόσφατα η Γαλλία και το Βέλγιο). Τα «όρια αποδεκτής έκθεσης» που συστήνονται σύμφωνα πάντα με τους διεθνείς ανεξάρτητους οργανισμούς, IRPA-ICNIRP, για τον γενικό πληθυσμό, είναι για τη συχνότητα των 900MHz, η **τιμή έντασης ηλεκτρομαγνητικού κύματος: 0.45 mW/cm^2 ($= 450 \mu\text{W/cm}^2$)**, για τη συχνότητα των 1800MHz, η τιμή **0.9 mW/cm^2 ($= 900 \mu\text{W/cm}^2$)**, (μέσες τιμές, εντός οποιουδήποτε διαστήματος 6min εντός του 24ώρου), [IRPA, 1988], [ICNIRP, 1998] ή αντίστοιχα 33 και 45 βολτ ανά μέτρο τιμή ηλεκτρικού πεδίου. Ο νέος νόμος 4331/2006 έχει θεσπίσει όρια 30% αυστηρότερα και κατά περίπτωση 40% από τα ανωτέρω. Οι μετρήσεις που έχουμε πραγματοποιήσει σε σπίτια κοντά σε κεραιές (και στην πόλη της Καβάλας), έχουν δείξει ότι οι τιμές είναι μεν κάτω των ελληνικών ορίων αλλά σε μερικές περιπτώσεις είναι πάνω από τα όρια που θέσπισε το Βέλγιο (16-02-2007) και σε όλες τις περιπτώσεις είναι επάνω από τα όρια που ισχύουν στην Αυστρία. Προτείνεται κατά συνέπεια να μειωθούν τα όρια και στη χώρα μας και να επανασχεδιαστεί το δίκτυο κινητής τηλεφωνίας όπως άλλωστε έχει γίνει σε αρκετές άλλες ευρωπαϊκές χώρες. Σχετικά με τα κινητά τηλέφωνα οι έρευνές μας προτείνουν τη χρησιμοποίηση hands free, blue tooth έχοντας το κινητό μακριά από το σώμα ή μέσα σε ειδική θήκη προστασίας.

- *Η έρευνα χρηματοδοτείται από τον Ε.Λ.Κ.Ε. του Ε.Κ.Π.Α.*

HEALTH RISKS FROM MOBILE PHONE BASE STATIONS

*Margaritis L.H., Panagopoulos D., Kefalos P., Chavdoula E., Sourdi A.,
Kokkaliaris C., Kotsila P., Stavropoulou E. and Argyri H.*

*Faculty of Biology, Department of Cell Biology and Biophysics, University of
Athens, Panepistimiopolis, 15784 Zografou, Athens.*

The direct effects of the electromagnetic field of non ionizing radiation are in any case milder to those of the ionizing radiation, known as radioactivity. This radiation derives from various man-made sources including radio and TV stations, radar, mobile telephone and house apparatuses such as microwave oven, TV sets, toasters, hair driers, e.t.c. First we have to mention that in fact **there are no safety levels of radiation**. The committees responsible for setting these levels were talking about “exposure criteria”. Thus various countries have decided to use different safety levels, i.e. Russia, China, Italy, France, Austria and most recently Belgium (Parliament decision of 16-02-2007). The guidelines suggested by the independent international organizations (IRPA, ICNIRP, WHO) include power density of **0.45 mW/cm²** (= **450μW/cm²**), for 900MHz, and **0.9mW/cm²** (= **900μW/cm²**) for 1800MHz. These values correspond to 33 and 45 volts/meter electrical field respectively. The recent Greek law N.4331/2006 calls for 30% reduction at the above exposure limits and in some sensitive areas 40% of the ICNIRP guidelines. Our numerous measurements inside houses in the vicinity of base stations did not show values above the Greek guidelines but were beyond those that exist in other countries. We therefore consider the radiation levels that exist there as potentially dangerous according to some epidemiological studies published so far. In conclusion we suggest that the power of the mobile phone base stations should be reduced to meet more strict and real safety levels and if necessary a rescheduling of the mobile network should be done. Concerning the use of mobile phones they should never been used without the aid of hands free or blue tooth but having the apparatus at least half a metr awy from the body or, preferably inside special shielding case that protects the user from radiation.

- *This work has been supported by the Special Account for Research Grants of the University of Athens to Professor L.H. Margaritis*

**ΔΕΝΔΡΙΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΕΥΑΙΣΘΗΤΟΠΟΙΗΜΕΝΑ ΜΕ ΠΕΠΤΙΔΙΟ
ΤΗΣ ΛΕΪΣΜΑΝΙΑΚΗΣ KMP-11 ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΟΥΝ ΤΟΝ
ΥΠΟΠΛΗΘΥΣΜΟ ΤΩΝ ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΩΝ/ΚΑΤΑΣΤΑΛΤΙΚΩΝ Τ
ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ**

Μαργαρώνη Μ.¹, Αγάλλου Μ.¹, Ντότσικα Ε.¹, Γαϊτανάκη Αικ.², Καραγκούνη Ε.¹

¹ Εργαστήριο Κυτταρικής Ανοσολογίας, Τμήμα Μικροβιολογίας, Ελληνικό Ινστιτούτο
Παστέρ, Βασ. Σοφίας 127, 115 21 Αθήνα, *ekaragouni@pasteur.gr*

² Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Ε.Κ.Π.Α.,
Πανεπιστημιούπολη, Αθήνα 157 84

Η λείσμανίαση είναι μία νόσος, η οποία προκαλείται από τα ενδοκυττάρια παράσιτα του γένους *Leishmania* και ενδημεί σε πολλές περιοχές της γης, μεταξύ των οποίων και οι χώρες της λεκάνης της Μεσογείου. Λόγω της σοβαρότητας της νόσου έχουν γίνει πολλές προσπάθειες ανεύρεσης ενός εμβολίου για την αντιμετώπισή της. Για το σκοπό αυτό έχουν χρησιμοποιηθεί πολλά μόρια του παρασίτου, όπως η μεταλλοπρωτεΐση grb3 και η λιποφωσφογλυκάνη (LPG), η οποία παίζει σημαντικό ρόλο κατά την είσοδο του παρασίτου στα μακροφάγα. Τα τελευταία χρόνια έχει βρεθεί ότι υπεύθυνη για την ανοσογονικότητα του μορίου της λιποφωσφογλυκάνης είναι η κινητοπλαστική μεμβρανική πρωτεΐνη 11 (KMP-11). Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η ικανότητα ενός πεπτιδίου (ακολουθία αμινοξέων 12-31) της πρωτεΐνης αυτής να επάγει προστατευτικές ανοσοαποκρίσεις με απώτερο στόχο τη διερεύνηση της δυνατότητας να χρησιμοποιηθεί η KMP-11 ως εμβόλιο έναντι της λείσμανίασης. Ως όχημα μεταφοράς του πεπτιδίου χρησιμοποιήθηκαν τα δενδριτικά κύτταρα, τα οποία έχουν την ικανότητα να επάγουν πρωτογενείς ανοσολογικές αποκρίσεις ενεργοποιώντας τα T λεμφοκύτταρα. Με ανάλυση κυτταρομετρίας ροής και συνεστιακή μικροσκοπία διαπιστώθηκε ότι το πεπτιδίο ενδοκυτταρώνεται από τα δενδριτικά κύτταρα, υφίσταται σε επεξεργασία και παρουσιάζεται με μόρια του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας τάξης II (MHCII). Ακολούθως, αποδείχθηκε η αναγνώριση επιτόπων της πρωτεΐνης KMP-11 από τα T λεμφοκύτταρα, τα οποία πολλαπλασιάζονται. Η μελέτη των μεταγραφόμενων γονιδίων από τα λεμφοκύτταρα ανοσοποιημένων με το πεπτιδίο 12-31 ποντικών αποκάλυψε ότι δεν μεταγράφονται τα γονίδια των κυτταροκινών IFN- γ και IL-12, οι οποίες είναι χαρακτηριστικές της προστατευτικής T_H1 απόκρισης. Επιπλέον, δεν ανιχνεύτηκαν προϊόντα μεταγραφής του γονιδίου της IL-4, της χαρακτηριστικής κυτταροκίνης της T_H2 απόκρισης, η οποία έχει συνδεθεί με ευαισθησία στη νόσο. Αντίθετα, ανιχνεύτηκαν μεταγραφικά προϊόντα των γονιδίων των IL-10 και TGF- β , οι οποίες συνδέονται με την ύπαρξη ρυθμιστικών/κατασταλτικών λεμφοκυττάρων. Επομένως, η πρωτεΐνη KMP-11 πιθανώς σχετίζεται με μηχανισμούς καταστολής της ανοσοαπόκρισης του ξενιστή από το παράσιτο, ενδεχομένως μέσω της ενεργοποίησης ρυθμιστικών/κατασταλτικών T λεμφοκυττάρων.

- Η εργασία εκτελέστηκε στο ΕΙΠ στα πλαίσια του ΜΔΕ: «Κλινική Βιοχημεία-Μοριακή Διαγνωστική».

**DENDRITIC CELLS PRIMED WITH LEISHMANIA KMP-11
PEPTIDE STIMULATE REGULATORY/SUPPRESSING
SUBPOPULATION OF T CELLS**

Margaroni M.¹, Agallou M.¹, Dotsika E.¹, Gaitanaki C.², Karagouni E.¹

¹*Laboratory of Cellular Immunology, Department of Microbiology, Hellenic Pasteur Institut, 127 Vas. Sofias av. 115 21 Athens, Greece, ekaragouni@pasteur.gr*

²*Department of Animal & Human Physiology, School of Biology, University of Athens, Panepistimioupolis, Athens 157 84*

Leishmaniasis is a complex of diseases caused by the intracellular parasite of the genus *Leishmania*. It is endemic in many areas worldwide, including countries of the Mediterranean basin. Due to the severity of the disease many attempts have been made in order to find a vaccine. Recent ones have focused on the study of major surface antigens, such as the metalloprotease gp63 and the lipophosphoglycan (LPG), which plays important role during the attachment of the *Leishmania* promastigotes to the macrophages. Over the past few years it has been found that the immunogenic properties of LPG are due to a LPG-linked protein, kinetoplastid membrane protein 11 (KMP-11). The aim of this study was to investigate the ability of a specific peptide of KMP-11 (protein sequence 12-31 a.a) to induce protective immunoresponses and subsequently to be used as a potential vaccine against leishmaniasis. For this purpose we have used dendritic cells pulsed with the peptide, since they are capable of producing primary immunoresponse via T-lymphocytes. Using FACS analysis and confocal microscopy we have found that the peptide is endocytosed by dendritic cells and then processed and presented on major histocompatibility complex II (MHCII) molecules. After that it was evidenced that the epitopes of KMP-11 protein are recognised by T cells, leading to T cell proliferation. Moreover, gene transcription studies on lymphocytes from mice, which have been immunized with the 12-31 peptide showed no transcription levels in IFN- γ and IL-12 cytokine genes. These cytokines are characteristic of T_H1 immune response. Furthermore, no transcriptional products of the IL-4 gene were found. IL-4 is characteristic of T_H2 immune response, which is related to susceptibility in leishmaniasis. On the contrary, it was found that both IL-10 and TGF- β genes are transcribed. The above cytokines are related to regulatory/suppressing lymphocyte populations. These results led us to the conclusion that KMP-11 protein may be involved with mechanisms that parasites use in order to avoid host's immunoresponses via regulatory/suppressing T cell subpopulation.

**ΚΑΡΒΟΝΥΛΙΩΣΗ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΤΗΣ ΕΡΥΘΡΟΚΥΤ-
ΤΑΡΙΚΗΣ ΜΕΜΒΡΑΝΗΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ
ΔΙΑΒΗΤΗ ΤΥΠΟΥ II ΜΕ Ή ΧΩΡΙΣ ΔΙΑΒΗΤΙΚΗ
ΑΜΦΙΒΛΗΣΤΡΟΕΙΔΟΠΑΘΕΙΑ**

**Μαργέτης Π.¹, Αντωνέλου Μ.¹, Πετρόπουλος Ι.², Μαργαρίτης Α.Χ.¹,
και Ι. Παπασιδέρη¹**

¹Τομέας Βιολογίας Κυττάρου & Βιοφυσικής Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο
Αθηνών, ²Τομέας Οφθαλμολογίας, Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο της Γενεύης,
Γενεύη, Ελβετία.

Η καρβονυλίωση και το οξειδωτικό στρες αναγνωρίζεται ολοένα και περισσότερο ως η βασική αιτία της χρόνιας βλάβης των ιστών. Στην εργασία αυτή μελετήθηκε η επίδραση του σακχαρώδη διαβήτη τύπου II στην καρβονυλίωση των πρωτεϊνών της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης σε 59 ασθενείς με ή χωρίς διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια με τη μέθοδο της πυκνομέτρησης ανοσοαποτυπωμάτων. Τα επίπεδα καρβονυλιωμένων πρωτεϊνών στις μεμβράνες των ασθενών ήταν σαφώς αυξημένα σε σχέση με τις μεμβράνες των υγιών ατόμων (μάρτυρες). Επίσης, η καρβονυλίωση στις μεμβράνες των ατόμων με διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια είναι μεγαλύτερη από αυτή των ασθενών που πάσχουν μόνο από σακχαρώδη διαβήτη. Η υποκατηγορία των ασθενών με παραγωγική διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια επιδεικνύουν αύξηση στην καρβονυλίωση των πρωτεϊνών σε σύγκριση τόσο με τους ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη όσο και με αυτούς με μη παραγωγική διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια και στατιστικά σημαντική αύξηση σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες, προτείνοντας ένα πιθανό ρόλο της καρβονυλίωσης των πρωτεϊνών της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης ως διαγνωστικό δείκτη της αλλοίωσης των αγγείων. Τα παραπάνω δεδομένα δείχνουν για πρώτη φορά συσχέτιση μεταξύ των μεταβολών των πρωτεϊνών της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης και της κλινικής σοβαρότητας της διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας και έχουν ενδιαφέρον στα πλαίσια της μελέτης των οξειδωτικών βλαβών ως κρίσιμων μεσολαβητών των χρόνιων επιπλοκών του σακχαρώδη διαβήτη.

- Η μελέτη αυτή χρηματοδοτήθηκε από το “Εμπειρικό Ιδρυμα” και τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Παν/μίου Αθηνών προς την Ι. Παπασιδέρη.

**CARBONYL STRESS IN RED BLOOD CELL MEMBRANE
PROTEINS FROM TYPE II DIABETIC PATIENTS WITH OR
WITHOUT DIABETIC RETINOPATHY**

***Margetis P.I.¹, Antonelou M.H.¹, Petropoulos I.K.², Margaritis L.H.¹,
and I.S. Papassideri¹***

¹Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, Athens, Greece, and ²Department of Ophthalmology, University Hospitals of Geneva, Geneva, Switzerland

The role of oxidant/carbonyl stress in the causation of chronic tissue damage is being increasingly recognised. We investigated the effects of diabetes mellitus on the carbonyl stress in red blood cell (RBC) membrane proteins from type 2 diabetic patients (n=59) with or without complications of diabetic retinopathy (DR), by means of immunoblotting and densitometry. Compared to healthy volunteers the membranes in diabetics were characterized by increased levels of carbonylated proteins. The carbonylation in DR membranes was higher compared to group D. The subgroup of patients with proliferative DR exhibited an increase in protein carbonyls, compared to both D and non-proliferative DR cases, and a statistically significant increase compared to controls, suggesting the probable use of membrane carbonylation as a marker for vascular injury. The findings demonstrate for the first time a correlation between the erythrocyte membrane protein alteration and the clinical severity of DR and are of importance in the context of oxidative damage as a mediator of chronic diabetic complications.

- *This study was supported by the “Empirikion Foundation” and the Special Account for Research Grants of the University of Athens to I. S. Papassideri.*

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ BRI2 ΚΑΙ ΤΩΝ ΜΕΤΑΛΛΑΓΩΝ ΤΗΣ ΣΤΟ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟ ΤΗΣ APP. ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΕΝΖΥΜΙΚΗΣ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ BACE ΑΠΟ ΤΗ BRI2.

Μαρούλη Ε., Φωτεινοπούλου Α., Ευθυμιόπουλος Σ.

*Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών,
15784 Πανεπιστημιούπολη, Ιλίσια, Ελλάδα*

Οι οικογενείς άνοιες τύπου Βρετανίας (FBD) και Δανίας (FDD) είναι νευρο-εμφυλιστικές ασθένειες που σχετίζονται με μεταλλάξεις στο γονίδιο της πρωτεΐνης BRI2. Χαρακτηρίζονται από συσσώρευση πεπτιδίων που προέρχονται από τη BRI2 σε εγκεφάλους ασθενών. Αντίστοιχα, η νόσος Alzheimer χαρακτηρίζεται από την παρουσία πλακών αμυλοειδούς, κύριο συστατικό των οποίων είναι το β-αμυλοειδές (Αβ). Το πεπτίδιο αυτό προέρχεται από την πρωτεΐνη APP. Η εναπόθεση των αμυλοειδογενών πεπτιδίων στον εγκέφαλο θεωρείται ότι οδηγεί στη νευρωνική βλάβη που παρατηρείται σε όλες τις παραπάνω άνοιες. Η παρουσία Αβ σε πλάκες εγκεφάλων ασθενών με FDD υποδεικνύει ότι πιθανά η BRI2 αλληλεπιδρά με πρωτεΐνες που συμμετέχουν στο μονοπάτι της αμυλοειδογένεσης του Αβ. Αφού διαπιστώθηκε η αλληλεπίδραση της BRI2 με την APP, πρωτεΐνη-κλειδί στην παραγωγή του Αβ, μελετήθηκε και η επίδραση των μεταλλαγών της BRI2, Danish και British, στο μεταβολισμό της APP. Διαπιστώθηκε ότι τόσο η BRI2 όσο και οι μεταλλαγές της σταθεροποιούν την APP, με τη μεταλλαγή Danish να ασκεί τη μεγαλύτερη επίδραση. Επίσης, βρέθηκε η BRI2 να αλληλεπιδρά με τη BACE, πρωτεΐνη που δρα στην APP κατά το μεταβολικό μονοπάτι παραγωγής του Αβ. Κατά την αλληλεπίδραση αυτή η BRI2 φάνηκε να αποσταθεροποιεί τη BACE και έτσι θεωρήθηκε σκόπιμο να μελετηθεί ο καταβολισμός της BACE παρουσία της BRI2. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκε ο αναστολέας της πρωτεϊνοσύνθεσης κυκλοεξιμίδιο και διαπιστώθηκε ότι η παρουσία της BRI2 οδηγεί σε μείωση της παραγωγής της BACE. Επίσης, με πειράματα που έγιναν με χλωριούχο αμμώνιο, έναν αναστολέα των λυσοσωμικών ενζύμων, η BRI2 βρέθηκε να μην επηρεάζει τη μεταφορά της BACE στα λυσοσώματα. Τέλος, για να εξεταστεί κατά πόσο η BRI2 ασκεί επίδραση στη μεταγραφή της BACE έγινε απομόνωση RNA από κυτταρικά εκχυλίσματα και παρατηρήθηκε μείωση του RNA της BACE παρουσία BRI2. Τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν ότι η πρωτεΐνη BRI2 αποσταθεροποιεί τη BACE μειώνοντας την παραγωγή του mRNA της.

- Αυτή η έρευνα χρηματοδοτήθηκε από τα προγράμματα του υπουργείου Παιδείας «Πυθαγόρας I & II», του Πανεπιστημίου Αθηνών «Κασποδίστριας» και του Εμπειρικού Ιδρύματος.

THE EFFECT OF BRI2 AND ITS MUTATIONS ON APP METABOLISM. REGULATION OF BACE ENZYME ACTIVITY BY BRI2

Marouli E., Fotinopoulou A., Efthimiopoulos S.

Department of Biology, Division of animal and Human Physiology, University of Athens, 157 84 Panepistimiopolis, Ilisia, Greece

Familial British (FBD) and Familial Danish (FDD) dementias are neurodegenerative disorders associated with mutations of the BRI2 gene. They are characterized by accumulation of peptides derived from the BRI2 protein in patients' brains. Accordingly, Alzheimer's disease (AD) is characterized by the presence of amyloid plaques, the main component of which is the amyloid beta peptide (A β), a peptide deriving from the APP protein. A β deposition is believed to lead to neuron damage observed in the dementias mentioned above. The presence of A β in plaques from brains of FDD patients indicates that BRI2 interacts with proteins participating in the amyloidogenic pathway of A β . After the interaction of BRI2 and APP was confirmed, the effect of the Danish and British mutations on APP metabolism was examined. It was found that both BRI2 and its mutations stabilize APP, with the BRI2 Danish mutation having a greater effect on APP metabolism. BRI2 was also found to interact with BACE, a protein acting on APP during the metabolic pathway of A β production. BRI2 seemed to destabilize BACE and therefore it was proposed to study BACE catabolism in the presence of BRI2. For that purpose the inhibitor of protein synthesis cycloheximide was used and it was found that the presence of BRI2 lead to a decrease in BACE protein synthesis. In addition, using ammonium chloride, an inhibitor of lysosomal enzymes activity, it was observed that BRI2 had not a role in the transfer of BACE to the lysosomes. Finally, in order to examine if BRI2 had an effect on BACE transcription, RNA was selected from cell extracts and a decrease of BACE RNA was observed in the presence of BRI2. These results indicate that BRI2 destabilizes BACE by decreasing its mRNA production.

- *This research is funded by the Greek Ministry of Education grants "Pythagoras I & II", the University of Athens grant "Kapodistrias", and the Embirikion Foundation.*

ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΚΑΙ ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΝΕΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ *KLK15* (ΚΑΛΛΙΚΡΕΪΝΗ 15) ΣΕ ΟΓΚΟΥΣ ΠΡΟΣΤΑΤΗ.

**Μαυρίδης Κ.¹, Αυγέρης Μ.Χ.¹, Κουταλέλλης Γ.², Στραβοδήμος Κ.²
και Α. Σκορίλας¹**

¹Τομέας Βιοχημείας και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών
Επιστημών, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη 15701 Αθήνα

²Α' Πανεπιστημιακή Ουρολογική Κλινική, Ιατρική Σχολή Αθηνών, «Λαϊκό»
Νοσοκομείο Αγίου Θωμά 17, 11527 Αθήνα

Το γονίδιο *KLK15* που ανακαλύφθηκε και κλωνοποιήθηκε πρόσφατα, αποτελεί ένα νέο μέλος της οικογένειας των καλλικρεϊνών (*KLKs*), που στον άνθρωπο αριθμεί 15 γονίδια πρωτεασών σερίνης. Μεταβολές της έκφρασης των *KLKs*, συνδέονται με ποικίλες ασθένειες και κυρίως με τον καρκίνο προστάτη, της ωοθήκης και του μαστού. Η καλλικρεϊνη-3 είναι το γνωστό PSA που ήδη αποτελεί τον πλέον χρησιμοποιούμενο μοριακό δείκτη στον καρκίνο του προστάτη.

Σκοπός: Ο στόχος της εργασίας είναι η ανάλυση έκφρασης και η μελέτη της διαφοροδιαγνωστικής αξίας του γονιδίου *KLK15*, σε επίπεδο mRNA, στην καλοήγητη προστατική υπερπλασία (BPH) και στον καρκίνο του προστάτη (CaP).

Υλικά και μέθοδοι: Απομονώθηκε ολικό RNA από 85 συνολικά δείγματα, προστατεκτομών, ασθενών με BPH & CaP. Έγινε έλεγχος ποιότητας του RNA και στη συνέχεια παρασκευάστηκε cDNA με τη μέθοδο της αντίστροφης μεταγραφής. Η μελέτη έκφρασης των μεταγράφων του *KLK15* έγινε με ανάλυση προϊόντων αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) σε πηκτή αγαρόζης. Το γονίδιο *GAPDH* χρησιμοποιήθηκε ως γονίδιο αναφοράς.

Αποτελέσματα: Η ανάλυση των δεδομένων έδειξε στατιστικά σημαντική αύξηση τόσο της συχνότητας όσο και των επιπέδων έκφρασης του γονιδίου *KLK15*, σε επίπεδο mRNA, που κωδικοποιεί την ενεργή μορφή της καλλικρεϊνης-15, καθώς και των εναλλακτικών μεταγράφων στα δείγματα CaP σε σχέση με τα BPH δείγματα.

Συμπεράσματα: Τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι η ανάλυση της έκφρασης του *KLK15* γονιδίου, μπορεί να αποτελέσει έναν ανεξάρτητο μοριακό δείκτη στη διαφοροδιάγνωση του καρκίνου του προστάτη.

- *Ευχαριστίες:* Η παρούσα έρευνα συγχρηματοδοτείται από τη ΓΓΕΤ του Υπουργείου Ανάπτυξης και την Ευρωπαϊκή Ένωση στα πλαίσια του προγράμματος διακρατικής επιστημονικής και τεχνολογικής συνεργασίας Ελλάδας-Καναδά (05NON-EU-118).

EXPRESSION ANALYSIS AND STUDY OF THE NOVEL GENE *KLK15* (KALLIKREIN 15) IN PROSTATE TUMORS

**Mavridis K.¹, Avgeris M.C.¹, Koutalellis G.², Stravodimos K.²,
and A. Scorilas¹**

¹*Department of Biochemistry and Molecular Biology, University of Athens,
Panepistimiopolis, 15701 Athens, Greece*

²*A' Urological University Clinic, Medical School of Athens, "Laiko" Hospital,
Agiou Thoma 17, 11527, Athens, Greece*

KLK15 gene that was discovered and cloned recently, is a new member of the kallikrein family (*KLKs*), which in humans consists of 15 genes encoding for serine proteases. Alterations in the expression of *KLKs* are associated with several diseases, including mainly cancer of the breast, ovarian and prostate. Kallikrein-3 is the already known PSA, which has been approved as the most useful and acceptable biomarker in prostate cancer.

Purpose: The purpose of this study is the expression analysis and study of the differential diagnostic value of the *KLK15*, gene at the mRNA level, in prostate cancer (CaP) and benign prostate hyperplasia (BPH).

Materials and Methods: Total RNA was isolated from 85 CaP and BPH prostatectomy samples. After testing the quality of the RNA, cDNA was produced using the reverse transcriptase method. The study of the expression of the *KLK15* transcripts was made with analysis of the polymerase chain reaction (PCR) products in agarose gel. GAPDH was used as a reporter gene.

Results: The analysis of the data showed a statistically significant increase in frequency and expression levels of the *KLK15* transcripts which encodes for the active isoform of kallikrein-15, as well as of its splice variants, in the CaP compared to the BPH samples.

Conclusions: The results suggest that the analysis of expression of the *KLK15* gene could constitute an independent molecular biomarker for the differential diagnosis in prostate cancer.

- *Acknowledgements:* This study was co-funded from General Secretariat for Research & Technology of Greece as well as from European Union through a Greek-Canadian joint research and technology grant (05NON-EU-118).

**ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΗΣ ΔΙΑΙΤΑΣ ΤΟΥ ΜΕΣΟΠΑΡΑΛΙΑΚΟΥ ΚΑΒΟΥ-
ΡΙΟΥ *Pachygrapsus marmoratus* (FABRICIUS, 1787) ΚΑΙ ΤΟΥ ΠΕΡΙ-
ΠΑΡΑΛΙΑΚΟΥ *Liocarcinus depurator* (LINNAEUS, 1758) ΣΤΗΝ
ΑΝΑΤΟΛΙΚΗ ΜΕΣΟΓΕΙΟ**

Μαυρομάτη Ε., Τζώμος Θ., Κίτσος Μ.-Σ. και Κούκουρας Α.

*Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης,
54124, Θεσσαλονίκη*

Αναλύθηκε το στομαχικό περιεχόμενο 178 ατόμων (91♀♀, 87♂♂) του είδους *Pachygrapsus marmoratus* (Fabricius, 1787) και 290 ατόμων (85♀♀, 205♂♂) του είδους *Liocarcinus depurator* (Linnaeus, 1758). Τα δείγματα συλλέχθηκαν τους μήνες Μάρτιο και Μάιο του 2004, στο Βόρειο Αιγαίο και Κύπρο αντίστοιχα. Η ανάλυση του στομαχικού περιεχομένου του είδους *Pachygrapsus marmoratus* (Fabricius, 1787) αποκάλυψε τις παρακάτω κατηγορίες λειών: Algae, Foraminifera, Porifera, Mollusca (Gastropoda, Bivalvia), Annelida (Polychaeta), Crustacea (Ostracoda, Decapoda Brayura, Amphipoda, Cumacea), Bryozoa και Chordata (Ascidiacea, Pisces). Η ανάλυση του στομαχικού περιεχομένου του είδους *Liocarcinus depurator* (Linnaeus, 1758) αποκάλυψε τις παρακάτω κατηγορίες λειών: Algae, Foraminifera, Porifera, Mollusca (Gastropoda, Bivalvia, Cephalopoda), Nemertea, Annelida (Polychaeta), Crustacea (Decapoda Natantia, Decapoda Brachyura, Amphipoda, Isopoda) Echinodermata (Echinoidea) και Chordata (Pisces). Η σύγκριση της διαίτας των δύο ειδών αποκάλυψε την παρουσία 7 κοινών κατηγοριών λείας. Τα αποτελέσματα της έρευνας αυτής συζητιούνται σε σχέση με τη βιβλιογραφία.

DIET COMPARISON OF THE MIDLITTORAL CRAB *Pachygrapsus marmoratus* (FABRICIUS, 1787) AND CIRCALITTORAL *Liocarcinus depurator* (LINNAEUS, 1758) (DECAPODA, BRACHYURA) IN THE EASTERN MEDITERRANEAN

Mavromati E., Tzomos Th., Kitsos M.-S., Koukouras A.

Department of Zoology, School of Biology, Aristoteleio University of Thessaloniki, 54124, Greece

The stomach content of 178 individuals (91♀♀,87♂♂) of the species *Pachygrapsus marmoratus* (Fabricius, 1787) and 290 individuals (85♀♀, 205♂♂) of the species *Liocarcinus depurator* (Linnaeus, 1758) were analysed. The specimens were collected in March and in May of the year 2004, in north Aegean and Cyprus respectively. The stomach content analysis of the species *Pachygrapsus marmoratus* (Fabricius, 1787) revealed the following prey categories: Algae, Foraminifera, Porifera, Mollusca (Gastropoda, Bivalvia), Annelida (Polychaeta), Crustacea (Ostracoda, Decapoda Brachyura, Amphipoda, Cumacea), Bryozoa και Chordata (Ascidiacea, Pisces). The stomach content analysis of the species *Liocarcinus depurator* (Linnaeus, 1758) revealed the following prey categories: Algae, Foraminifera, Porifera, Mollusca (Gastropoda, Bivalvia, Cephalopoda), Nemertea, Annelida (Polychaeta), Crustacea (Decapoda Natantia, Decapoda Brachyura, Amphipoda, Isopoda) Echinodermata (Echinoidea), Chordata (Pisces). The diet comparison of the two species revealed the presence of 7 common prey categories. The results of this study are compared and discussed in relation to the relevant literature.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ BENZO[α]ΠΥΡΕΝΙΟΥ ΣΕ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΕΠΙΒΙΩΣΗΣ

Μαυροφρύδη Ό., Παπαζαφείρη Π.

*Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και
Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 15784 Αθήνα*

Οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες (PAHs), όπως το βενζο[α]πυρένιο (B[a]P), είναι από τους πιο διαδεδομένους περιβαλλοντικούς ρύπους και πολλά μέλη τους αποτελούν ισχυρά καρκινογόνα. Η δράση τους στο κύτταρο είναι πολυδιάστατη, καθώς μπορούν να προσβάλουν άμεσα το DNA προκαλώντας μεταλλάξεις, να επηρεάσουν τη γονιδιακή έκφραση ή να διαταράξουν την ομοιόσταση ιόντων ασβεστίου. Ανάλογα με τον βαθμό τοξικότητας και την αποτελεσματικότητα των επιδιορθωτικών μηχανισμών, οι PAHs μπορούν να οδηγήσουν είτε σε καρκινογένεση, είτε σε απόπτωση. Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν ανθρώπινα κύτταρα αδenoκαρκινώματος μαστού, MCF-7, με σκοπό τη διερεύνηση της επίδρασης του B[a]P στην έκφραση του παράγοντα HIF-1α και στο μονοπάτι επιβίωσης της Akt, ενώ παράλληλα εξετάστηκε ο ρόλος της ομοιόστασης του Ca²⁺ στο σύστημα αυτό. Τα αποτελέσματά μας έδειξαν ότι το B[a]P προκαλεί κατακερματισμό του DNA. Παράλληλα, παρατηρήθηκε μείωση της ενεργοποιημένης Akt, η οποία, όμως, αναστρέφεται παρουσία του χηλικού παράγοντα BAPTA-AM. Αντίθετα, η εκκένωση των ενδοκυττάρων αποθηκών Ca²⁺ από την θαψιγκαργκίνη (Tg) επάγει το μονοπάτι επιβίωσης της Akt. Όπως και στην περίπτωση της Akt, τα πρωτεϊνικά επίπεδα του HIF-1α ελαττώνονται παρουσία του B[a]P, ενώ δέσμευση του ενδοκυττάρου Ca²⁺ από το BAPTA-AM οδηγεί σε συσσώρευση και ισχυρή φωσφορυλίωση του HIF-1α, η οποία αναστέλλεται μερικώς από το B[a]P και πλήρως από την Tg. Συμπερασματικά, φαίνεται ότι στο συγκεκριμένο σύστημα, το B[a]P δρα προ-αποπτωτικά. Ο μηχανισμός δράσης του πιθανόν εξαρτάται από τη συσσώρευση Ca²⁺ στο κυτταρόπλασμα μέσω εισροής από το εξωκυττάριο περιβάλλον.

- Η εργασία αυτή χρηματοδοτείται από την Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας (ΕΠαν, ΦΠ5)

EFFECT OF BENZO[α]PYRENE ON CELL SURVIVAL MECHANISMS

Mavrofridi O., Papazafiri P.

*Department of Animal and Human Physiology, School of Biology, Faculty of
Sciences, National and Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis GR
15784 Athen*

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), such as benzo[α]pyrene (B[α]P), are ubiquitous environmental pollutants with known or suspected carcinogenic properties. Their action inside the cell is complex, as they can form bulky DNA adducts inducing mutations, alter gene expression or affect calcium homeostasis. According to the toxicity of each compound and efficiency of DNA repair mechanisms, PAHs can either lead to carcinogenesis or apoptosis. In the present study we used human breast adenocarcinoma cells, MCF-7, in order to investigate the effects of B[α]P on Akt activation and HIF-1 α protein expression. In parallel, we tested any possible involvement of Ca²⁺ homeostasis in the mechanism of action of B[α]P. Our results showed that treatment with B[α]P caused DNA fragmentation. This effect was accompanied with a decreased level of phosphorylated Akt, which was inverted in the presence of Ca²⁺ chelator, BAPTA-AM. On the other hand, depletion of intracellular Ca²⁺ stores by thapsigargin (Tg) induced Akt survival pathway. HIF-1 α protein levels, were also decreased by B[α]P, while chelation of intracellular Ca²⁺ led to accumulation and strong phosphorylation of HIF-1 α . This effect was partially and completely inverted by B[α]P and Tg, respectively. In conclusion, it seems that B[α]P acts in a pro-apoptotic manner on our system, through a mechanism that possibly depends on Ca²⁺ influx from the extracellular environment.

- *This work is funded by the General Secretariat of Research and Technology, Athens, Greece (ΕΠΛν, ΦΠ5)*

**ΕΚΦΡΑΣΗ ΑΓΓΕΛΙΟΦΟΡΟΥ RNA (mRNA) ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ
ΤΗΣ ΓΟΝΑΔΟΤΡΟΠΟΥ ΕΚΛΥΤΙΚΗΣ ΟΡΜΟΝΗΣ (GnRH) ΣΤΗΝ
ΑΘΑΝΑΤΗ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΣΕΙΡΑ ΑΝΘΡΩΠΙΝΩΝ ΩΧΡΙΝΟΠΟΙΗ-
ΜΕΝΩΝ ΚΟΚΚΩΔΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ HGL5**

*Μεταλλινού Χ.¹, Ασημακόπουλος Β.¹, Koster F.², Βελέντζα Β.³,
Νικολέττος Ν.¹, Diedrich K.²*

¹*Εργαστήριο Φυσιολογίας, Αναπαραγωγής - Τεχνητής Γονιμοποίησης, Τμήμα
Ιατρικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Αλεξανδρούπολη.*

²*Τμήμα Μαιευτικής-Γυναικολογίας, Πανεπιστήμιο Schleswig-Holstein, Lübeck,
Γερμανία.*

³*Εργαστήριο Βιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης,
Αλεξανδρούπολη*

Το σύστημα GnRH παίζει σημαντικό ρόλο στην φυσιολογία της ανθρώπινης αναπαραγωγής. Η έκφραση και ο ρόλος του GnRH συστήματος στα κοκκώδη κύτταρα της ωοθήκης προκαλεί ερευνητικό ενδιαφέρον καθώς τα κύτταρα αυτά υποστηρίζουν και ρυθμίζουν την ανάπτυξη του ωαρίου. Εξετάσαμε την mRNA έκφραση της GnRH-I και του GnRH υποδοχέα (GnRHR) της, στην ανθρώπινη αθάνατη κυτταρική σειρά ωχρινοποιημένων κοκκωδών κυττάρων, την HGL5. Τα κύτταρα HGL5 καλλιεργήθηκαν με διαφορετικά πρωτόκολλα και ακολούθησε απομόνωση RNA και RT-PCR. Χρησιμοποιήθηκαν δύο ζεύγη εκκινητών για την GnRH-I και πέντε ζεύγη εκκινητών για τον GnRH υποδοχέα. Τα ζεύγη εκκινητών του υποδοχέα κάλυπταν την 989 bp cDNA περιοχή και ειδικότερα στις θέσεις: 79-294; 321-366; 457-655; 468-796; 546-798. Υποφυσιακό cDNA χρησιμοποιήθηκε σαν θετικός μάρτυρας. Η αυθεντικότητα των PCR προϊόντων επιβεβαιώθηκε με DNA αλληλούχιση. GnRH-I mRNA βρέθηκε σε κάθε περίπτωση. PCR προϊόντα με το αναμενόμενο μέγεθος για τον GnRHR βρέθηκαν στα υποφυσιακά κύτταρα όχι όμως και στα HGL5 κύτταρα. Μόνο στην περιοχή 79-294 ανιχνεύθηκαν μετάγραφα. Σύμφωνα με αυτά τα αποτελέσματα η κυτταρική σειρά HGL5 πιθανώς να εκφράζει μια συντετμημένη μορφή του γονιδίου του GnRHR.

**MESSENGER RNA (mRNA) EXPRESSION FOR THE GONADO-
TROPIN RELEASING HORMONE (GNRH) SYSTEM IN THE
IMMORTALIZED HUMAN LUTEAL GRANULOSA CELL LINE
HGL5**

***Metallinou Chr.¹, Asimakopoulos B.¹, Koster F.², Veletza V.³,
Nikolettos N.¹, Diedrich K.²***

¹*Laboratory of Physiology, School of Medicine, Democritus University of Thrace,
Alexandroupolis, Greece*

²*Department of Obstetrics/Gynecology, University of Schleswig-Holstein, Campus
Lübeck, Germany*

³*Laboratory of Biology, School of Medicine, Democritus University of Thrace,
Alexandroupolis, Greece*

GnRH system plays a pivotal role in human reproductive physiology. The expression and role of the GnRH system in ovarian granulosa cells is of special interest since these cells support and regulate the development of the oocyte. We investigated the mRNA expression of GnRH-I, and type-I GnRH receptor (GnRHR) in HGL5, a human luteal granulosa cell line. HGL5 cells were cultured according to various protocols. Total RNA was reverse transcribed into first strand cDNA and with PCR amplification, the expression of the GnRHR and GnRH-I was investigated. Two sets of primers for GnRH-I and five sets of primers for GnRHR were used. The primers for GnRHR covered a 989bp region of the cDNA and located at positions: 79-294; 321-366; 457-655; 468-796; 546-798. cDNA from hypothalamic tissue served as positive control. The authenticity of the PCR products was confirmed by sequencing. GnRH-I mRNA was detected in all cases. PCR products with the expected sizes for GnRHR were detected in hypothalamic but not in HGL5 cells. Only transcripts located in the region 79-294 were found. According to these findings, GnRH-I is expressed in HGL5 cells. HGL5 possibly expresses a truncated form of GnRHR.

**ΣΚΕΛΕΤΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΟΡΦΩΣΕΙΣ ΣΕ ΠΛΗΘΥΣΜΟ ΑΘΕΡΙΝΑΣ,
ATHERINA BOYERI (RISSO, 1810) ΣΤΟ ΛΙΜΑΝΙ ΤΩΝ ΝΕΩΝ
ΜΟΥΔΑΝΙΩΝ, ΧΑΛΚΙΔΙΚΗ**

Μίνος Γ., Πομάκης Ν., Κονζέ Ε.

*Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης, Παράρτημα Ν.
Μουδανιών, Τμήμα Τεχνολογίας Αλιείας και Υδατοκαλλιεργειών, Τ.Θ. 157, Ν.
Μουδανιά 63200.*

Η παρούσα εργασία περιγράφει την εμφάνιση σκελετικών παραμορφώσεων σε πληθυσμό αθερίνας, *Atherina boyeri* στο λιμάνι των Νέων Μουδανιών (40° 14' 20" Β - 23° 16' 44" Α), Χαλκιδική. Τα ψάρια αλιεύτηκαν με απλάδια (μήκους 6 και 12 μ) από Ιανουάριο 2004 μέχρι Απρίλιο 2007. Κατά τη διάρκεια των ετών 2004, 2005 και 2006, εμφανίστηκαν στο δείγμα άτομα με σκελετική παραμόρφωση (συνήθως άνοιξη και καλοκαίρι), με τα υψηλότερα ποσοστά κατά τη διάρκεια του 2005, από τον Απρίλιο μέχρι τον Οκτώβριο (26,6% τον Ιούλιο). Οι παραμορφώσεις ήταν ορατές στο σώμα των ψαριών αμέσως μετά την αλιεία και εμφανίστηκαν επίσης στις ακτινογραφίες που ελήφθησαν, με τη σπονδυλική στήλη των ατόμων να κάμπτεται σε μία ή περισσότερες θέσεις. Δεν υπήρξε καμία άλλη ορατή παραμόρφωση. Οι πιθανοί λόγοι για τέτοιες παραμορφώσεις μπορούν να είναι πολλοί. Πρέπει να λάβουμε υπόψη ότι 1) ο λιμένας στα Νέα Μουδανιά δέχεται μεγάλα εμπορικά πλοία και αλιευτικά σκάφη, 2) οι παρακείμενες ακτές ως πόλος έλξης διακοπών κατακλύζονται από Έλληνες και ξένους τουρίστες με έντονη ρύπανση από τα ξενοδοχεία και 3) ετήσια παρατηρούνται πλημμύρες που οδηγούν τα τοπικά ρέματα να εναποθέτουν στις ακτές λάσπη, λιπάσματα, και φυτοφάρμακα από τις γεωργικές εκμεταλλεύσεις και οικιακά απόβλητα. Οι περισσότεροι από τους ανωτέρω παράγοντες εμφανίζονται κατά τη διάρκεια της άνοιξης και του καλοκαιριού, το οποίο συμπίπτει με την αναπαραγωγική περίοδο των ενηλίκων και της ανάπτυξης των νεαρών ιχθυδίων της αθερίνας. Η ρύπανση των ακτών από αυτές τις χημικές ουσίες μπορεί να θεωρηθεί ως αιτία των σκελετικών παραμορφώσεων. Είναι γνωστό ότι ένα ευρύ φάσμα φυσικών, χημικών και βιολογικών παραγόντων μπορεί να προκαλέσει τις σκελετικές παραμορφώσεις σε διάφορα είδη ψαριών. Για το λόγο αυτό, περαιτέρω έρευνα του φαινομένου πρέπει να πραγματοποιηθεί εστιάζοντας στην ωοτοκία, τα αρχικά αναπτυξιακά στάδια και τη συσσώρευση ρύπων στις γονάδες.

**SKELETAL DEFORMITIES IN NATURAL POPULATIONS OF
SAND SMELT, *ATHERINA BOYERI* (RISSO, 1810) IN NEA
MOUDANIA PORT, CHALKIDIKI**

Minos G., Pomakis N., Konze E.

*Alexander Technological Educational Institute Thessalonikis, Department of
Aquaculture and Fisheries Technology, P.O. Box: 157, 63200, N. Moudania.*

Information is presented on the occurrence of spinal deformities in natural populations of sand smelt, *Atherina boyeri* in the Nea Moudania port (40° 14' 20" N - 23° 16' 44" E), Prefecture of Chalkidiki. Fish were caught with a beach seine net (6 and 12 m length) from January 2004 till April 2007. During 2004, 2005 and 2006, appeared individuals with spinal deformity usually during spring and summer, with the highest percentages during 2005, from April till October (26,6% in July). The deformities were visible on the fish body immediately after catching and also appeared in X-rays, with the spine of the individuals curved in one to a few places from vertical to horizontal angles. There were no other visible deformities. The possible reasons for such deformities may be a lot. We have to take into account that 1) Nea Moudania is an important port for big cargo ships and fishing vessels, 2) the surrounding coasts as a place for vacations for local and foreign tourists are heavily occupied from April till October with an increasing pollution from neighbouring Hotels and 3) floods occur each year leading local streams to deposit mud, pesticides and herbicides from the surrounding agriculture region and household waste waters to the coasts. Most of the above factors appear during spring and summer, which coincides with the spawning and early development periods for sand smelt. The contamination of the coasts from these chemicals might be the cause of the skeletal deformities. It is known that a wide range of physical, chemical and biological factors may cause spinal deformities of various fish species in natural conditions. In rearing conditions of sea bream, most spinal deformities occur during embryonic development, and that the causes could be due to genetic, yolk content, and environmental conditions (temperature, light, mechanical stress, pollution). For this reason, further research of this phenomenon must be conducted concentrating on the spawning and early developmental stages of sand smelt, and the accumulation of pollutants in the gonads.

ΒΙΟΧΗΜΙΚΕΣ ΚΑΙ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΕΣ ΑΠΟΚΡΙΣΕΙΣ ΤΩΝ ΨΑΡΙΩΝ ΚΑΙ ΤΩΝ ΔΙΘΥΡΩΝ ΣΕ ΕΝΑ ΘΕΡΜΟΤΕΡΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ

Μιχαηλίδης Β., Αναπλ. Καθηγητής

Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Α.Π.Θ.

Ο προσδιορισμός των θερμικών ορίων των θαλάσσιων οργανισμών καθίσταται σημαντικός στα πλαίσια μιας γεωγραφικής ανακατανομής των ειδών, λόγω της υπερθέρμανσης του Πλανήτη. Σκοπός των πρόσφατων εργασιών μας είναι ο προσδιορισμός των αποκρίσεων των δίθυρων *Mytilus galloprovincialis* και *Modiolus barbatus* καθώς και των ψαριών στην αύξηση της θερμοκρασίας σε διάφορα επίπεδα κυτταρικής οργάνωσης από το μοριακό επίπεδο έως την συμπεριφορά των ατόμων. Όσον αφορά στις αντιδράσεις συμπεριφοράς των μυδιών μελετήθηκε η διάρκεια ανοίγματος και κλεισίματος των κελυφών. Επιδράσεις στον μεταβολισμό των δίθυρων και ψαριών προσδιορίστηκαν μετρώντας τις δραστηκότητες των γλυκο-λυτικών ενζύμων. Αντιδράσεις σε κυτταρικό επίπεδο προσδιορίστηκαν μελετώντας την έκφραση των πρωτεϊνών του θερμικού πλήμαγτος (Hsps). Αύξηση της θερμοκρασίας από τους 17°C -24°C προκαλεί παράταση του χρόνου κλεισίματος των κελυφών στο δίθυρο *M. galloprovincialis*. Παράλληλα με την συμπεριφορά αυτή παρατηρείται μείωση της δραστηκότητας της PK. Εγκλιματισμός σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες των 26°C προκάλεσαν σημαντικές αυξήσεις στο ποσοστό θνησιμότητας των μυδιών και παράλληλα έκφραση των Hsp 70. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η κρίσιμη θερμοκρασία για το δίθυρο *M. galloprovincialis* είναι ($T_c > 26^\circ\text{C}$) μεγαλύτερη από ότι για το δίθυρο *Modiolus barbatus* ($T_c > 22^\circ\text{C}$) το οποίο ζει στην υποπαραλιακή ζώνη. Μελέτες του πρότυπου μεταβολισμού και του παράγοντα SFG έδειξαν ότι θερμοκρασίες μικρότερες των T_c μπορούν να επηρεάσουν αρνητικά διάφορες φυσιολογικές διαδικασίες υπερλαμβανομένης αυτής της αύξησης των ατόμων. Στα ψάρια η T_c προσδιορίστηκε πάνω από τους 26°C όπως έχουν δείξει τα αποτελέσματα από την έκφραση των Hsp 70 και 90. Επίσης εγκλιματισμός σε θερμοκρασίες υψηλότερες από τους 26°C προκαλεί ενεργοποίηση του αναερόβιου μεταβολισμού σύμφωνα με την αύξηση της δραστηκότητας της L-LDH. Λαμβάνοντας υπόψη τις μεταβολές στην συμπεριφορά των οργανισμών και τις αποκρίσεις τους σε κυτταρικό επίπεδο συμπεραίνουμε ότι εγκλιματισμός των οργανισμών ακόμη και σε θερμοκρασίες μικρότερων των T_c μπορούν να προκαλέσουν σημαντικές αλλαγές στην βιολογία τους και σημαντική μείωση των πληθυσμών.

* Προσκεκλημένος ομιλητής

BIOCHEMICAL AND METABOLIC RESPONSES OF MUSSELS AND FISH TO A WARMER MARINE ENVIRONMENT

*Michaelidis B., Assoc. Prof.**

*Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, Faculty of Science,
School of Biology, University of Thessaloniki, GR-54124 Thessaloniki, Greece.*

The identification of mechanisms of thermal limitation of marine organisms is considered important in the light of possible future shifts in the geographical distribution and in the physiological performance of ectothermic animals associated with global warming. Our recent studies aim to determine the thermal responses of the mussels *Mytilus galloprovincialis* and *Modiolus barbatus* and the fish *Sparus aurata* by integrating information from various levels of biological organization including behaviour, metabolic adjustments and molecular stress responses. Behavioural responses of mussels were determined by examining the effect of warming on valve closure and opening. Metabolic impacts on mussels and fish were assessed by examining the activities of the key glycolytic enzymes and determining the factor SFG. Molecular responses were addressed through the expression of Hsps. *M. galloprovincialis* increased the duration of valve closure by about 6-fold when acclimated to 17-24°C. Such behaviour caused metabolic depression, as indicated by the activity of the key glycolytic enzyme pyruvate kinase (PK). Acclimation to temperatures higher than 26°C caused an increase in mortality of mussels and induced the expression of Hsp72. *M. galloprovincialis* exhibits higher critical temperatures ($T_c > 26^\circ\text{C}$) for the induction of Hsp 70 and Hsp 90 than the mussel *Modiolus barbatus* ($T_c > 22^\circ\text{C}$). Studies on the metabolic pattern and determination of scope for growth (SFG) indicated that even lower levels of ambient temperatures than the T_c affect negatively several physiological processes including growth of animals. In fish, the T_c inducing expression of Hsp 70 and Hsp 90 is about 26°C. Temperatures higher of 26°C cause a shift of aerobic to anaerobic metabolism as indicating by the increased activity of L-LDH. In conclusion, it seems that mussels and fish live close to its acclimation limits and small degree of warming will elicit stress responses at whole organism and molecular levels. Moreover it is concluded that even lower temperatures than those threaten the animals might cause a significant decline in the population.

* *Invited speaker*

**ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΟΓΚΟΚΑΤΑΣΤΑΛΤΙΚΗΣ
ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ CYLD****Μόσιαλος Γ.^{2,1*}**

¹Ινστιτούτο Ανοσολογίας, Ε.ΚΕ.Β.Ε. Αλ. Φλέμιγκ, Αλ. Φλέμιγκ 34, 16672 Βάρη,
²Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Πανεπιστημιούπολη,
54124 Θεσσαλονίκη.

Η οικογενής κυλινδρομάτωση (ΟΚ) είναι μία κληρονομική πάθηση που εκδηλώνεται με τη μορφή πολλαπλών όγκων των απολήξεων του δέρματος οι οποίοι εμφανίζονται συνήθως στα τριχωτά μέρη της κεφαλής και του λαιμού. Οι μεταλλάξεις που προκαλούν την οικογενή κυλινδρομάτωση εντοπίστηκαν στο γονίδιο *cyl1d* που αποτελείται από 20 εξόνια και κωδικοποιεί μία πρωτεΐνη 956 αμινοξέων (CYLD) που παρουσιάζει ομολογία προς ένζυμα αποουβικτινώσης. Η μελέτη ενός μεγάλου αριθμού όγκων από ασθενείς με ΟΚ έδειξε απώλεια ετεροζυγωτίας στο γενετικό τόπο του *cyl1d*. Σε όλες τις περιπτώσεις η απενεργοποίηση αφορούσε το αλληλόμορφο αγρίου τύπου, γεγονός το οποίο καταδεικνύει τον ογκοκατασταλτικό χαρακτήρα του *cyl1d*. Όλες οι μεταλλάξεις που σχετίζονται με την ΟΚ εντοπίστηκαν στα 2/3 του κωδικεύουσας περιοχής του *cyl1d* που βρίσκεται προς το 3' άκρο του γονιδίου και προβλέπεται να προκαλούν καρβοξυτελικές απαλοιφές της πρωτεΐνης CYLD ή να μειώνουν συνολικά την έκφραση της. Ταυτοποιήσαμε τη CYLD σαν μία πρωτεΐνη που αλληλεπιδρά με τη πρωτεΐνη NEMO η οποία είναι απαραίτητη για την ενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα NF-κB. Το αποτέλεσμα αυτό αποτέλεσε μία ένδειξη συμμετοχής της CYLD στη ρύθμιση του μεταγραφικού αυτού παράγοντα. Πειράματα ελέγχου μεταγραφικής ενεργοποίησης και βιοχημικά πειράματα έδειξαν ότι η CYLD δρα σαν αποουβικτινάση η οποία καταστέλλει την ενεργοποίηση του NF-κB από υποδοχείς της οικογένειας του TNF. Η δράση αποουβικτινάσης της CYLD και η ιδιότητα της να καταστέλλει την ενεργοποίηση του NF-κB συσχετίστηκαν με την ογκοκατασταλτική της δράση. Για να μελετηθούν οι ιδιότητες της CYLD in vivo δημιουργήσαμε ποντικούς με απενεργοποιημένο γονίδιο *cyl1d* χρησιμοποιώντας την τεχνική ελεγχόμενης γονιδιακής στόχευσης που βασίζεται στην δράση της ρεκομπινάσης Cre. Ποντικοί με απενεργοποιημένο *cyl1d* σε όλους τους ιστούς (*cyl1d*^{-/-}) είναι λίγο μικρότεροι από αντίστοιχα ζώα αγρίου τύπου και δεν παρουσιάζουν σοβαρά αναπτυξιακά προβλήματα αλλά πεθαίνουν σε σύντομο χρονικό διάστημα μετά τη γέννηση τους από αναπνευστική ανεπάρκεια. Ιστολογική ανάλυση πνευμονικού ιστού από *cyl1d*^{-/-} E18.5 έμβρυα έδειξε ότι οι πνεύμονες είχαν αναπτυχθεί αλλά είχαν χαρακτηριστικά ανώμαλης ωρίμανσης. Απενεργοποίηση του *cyl1d* σε λεμφοκυτταρικούς πληθυσμούς έδειξε ένα σημαντικό ρόλο του γονιδίου αυτού στην ανάπτυξη των T λεμφοκυττάρων και την απόκριση των μακροφάγων σε φλεγμονώδη ερεθίσματα. Οι προαναφερθείσες μελέτες καταδεικνύουν τη πολυπλοκότητα του ρόλου της πρωτεΐνης CYLD στη παθολογία και φυσιολογία των θηλαστικών.

* Προσκεκλημένος ομιλητής

FUNCTIONAL CHARACTERIZATION OF THE CYLINDROMATOSIS TUMOR SUPPRESSOR

Mosialos G.^{2,1*}

¹*Institute of Immunology, Biomedical Sciences Research Center Al Fleming, 34 Al Fleming Str., 16672, Vari,* ²*Department of Biology Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki, Greece*

Familial cylindromatosis (FC) is an inherited syndrome that presents with multiple tumors of skin appendages usually in the hairy areas of the head and neck. The genetic defect that predisposes people to the development of FC was mapped to a gene (*cyld*) that consists of 20 exons and encodes a 956-amino-acid protein (CYLD) with homology to deubiquitinating enzymes. Examination of a large number of tumors from familial cylindromatosis patients showed loss of heterozygosity at the *cyld* locus in the majority of the tumors. In all cases the lost allele was the wild type allele, thus indicating that the cylindromatosis gene is a tumor suppressor gene. All the mutations associated with FC were localized in the 3' two thirds of the coding sequence of *cyld* and they were predicted to cause carboxyl terminal truncations of the encoded polypeptide or compromise the expression of the gene by nonsense-mediated mRNA decay. We identified CYLD in a yeast two-hybrid screen for proteins that interact with the protein NEMO. NEMO plays a central role in the process of activation of the transcription factor NF-kappaB. This finding provided a potential link between CYLD and the process of NF-kappaB activation. We demonstrated that CYLD is a functional deubiquitinating enzyme that inhibits the activation of NF-kappaB by members of the tumor necrosis factors receptor superfamily. The deubiquitinating and NF-kappaB inhibitory activity of CYLD were linked genetically to its tumor suppressing properties. In order to study the functional role of *cyld* in vivo we generated mice with targeted inactivation of *cyld* using a conditional Cre-lox-based strategy. Mice with both alleles of *cyld* inactivated in all tissues (*cyld*^{-/-}) died shortly after birth from apparent respiratory failure. The mice were smaller than wild type littermates, yet they had no major developmental defects. Lung histology demonstrated that the lungs from E18.5 *cyld*^{-/-} embryos appeared to have developed properly but showed signs of immaturity with thicker mesenchyme and saccular septa than the corresponding structures of lungs from wild type E18.5 embryos. Tissue specific inactivation of *cyld* in lymphocytic populations identified a fundamental role of this gene in thymocyte development and macrophage response to inflammatory stimulus. Our experiments have demonstrated a pleiotropic role for *cyld* in mammalian pathophysiology.

* *Invited speaker*

ΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΙ ΚΑΙ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ: ΜΕΤΑ-ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΜΕΛΕΤΩΝ

*Μπάγκος Π.Γ.**

*Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο
Αθηνών, Αθήνα 157 01*

Με την ολοκλήρωση του προγράμματος προσδιορισμού του ανθρώπινου γονιδιώματος, μεγάλο ενδιαφέρον έχει αποκτήσει η μελέτη διαφόρων τύπων γενετικών πολυμορφισμών και η συσχέτιση τους με σοβαρές για τον άνθρωπο ασθένειες. Οι μελέτες γενετικής συσχέτισης, πραγματοποιούνται κατά βάση με τη μεθοδολογία των ασθενών-μαρτύρων και διαιρούνται σε δυο μεγάλες κατηγορίες, αυτές που χρησιμοποιούν υγιείς ασυσχέτιστους μάρτυρες και αυτές οι οποίες χρησιμοποιούν υγιείς συγγενείς. Η μετα-ανάλυση, είναι μια στατιστική μεθοδολογία μέσω της οποίας πραγματοποιείται συγκέντρωση, αξιολόγηση και ανάλυση των αποτελεσμάτων από παρόμοιες μελέτες, με σκοπό την εξαγωγή συνολικών ποσοτικών συμπερασμάτων. Με τη ραγδαία αύξηση τα τελευταία χρόνια των μελετών γενετικής συσχέτισης, και του μεγάλου αριθμού πολυμορφισμών που συσχετίζονται με ασθένειες, είναι αναγκαία πλέον η διεξαγωγή μετα-αναλύσεων. Με την παρούσα εργασία κατ' αρχήν, γίνεται ανασκόπηση των βασικών αρχών και των στατιστικών μεθοδολογιών της μετα-ανάλυσης (μοντέλα σταθερών και τυχαίων επιδράσεων, ετερογένεια, συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης κλπ). Παρουσιάζονται έπειτα, οι ιδιαιτερότητες που παρουσιάζουν οι μετα-αναλύσεις μελετών γενετικής συσχέτισης, τόσο όσον αφορά τις μεθόδους ανάλυσης και τη φύση των δεδομένων (γονότυποι), αλλά και όσον αφορά τα ιδιαίτερα επιδημιολογικά και γενετικά φαινόμενα που επηρεάζουν το αποτέλεσμα (ποιοτικά και ποσοτικά γενετικά χαρακτηριστικά, ανισορροπία σύνδεσης, πληθυσμιακή στρωματοποίηση, συγχιτικοί παράγοντες, αλληλεπιδράσεις γονιδίου-γονιδίου και γονιδίου-περιβάλλοντος κλπ). Όλα τα παραπάνω, θα παρουσιαστούν μέσα από πρόσφατα παραδείγματα μετα-αναλύσεων που έχουμε διεξάγει για ασθένειες όπως η υπέρταση, η σκλήρυνση κατά πλάκας, η στεφανιαία νόσος και το έμφραγμα του μυοκαρδίου. Θα συζητηθούν τέλος, τα προβλήματα των μεθόδων αυτών και τρόποι επίλυσής τους αλλά και πιθανές μελλοντικές κατευθύνσεις που μπορούν να ακολουθηθούν.

* Προσκεκλημένος ομιλητής

GENETIC POLYMORPHISMS AND DISEASES: META-ANALYSIS OF EPIDEMIOLOGICAL STUDIES

Bagos P.G.*

*Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of
Athens, Athens 157 01*

With the completion of the Human Genome Project, an increasing interest has been brought on the study of various types of genetic polymorphisms and their association with various diseases. Genetic association studies, are performed mainly using the case-control design, and are divided to those that use unrelated healthy controls (population-based studies) and to those that use healthy relatives (family-based studies). Meta-analysis is a statistical methodology, with which we can collect, evaluate and analyze data from similar studies, with the aim of providing an overall quantitative measure of the association. With the increasing number of genetic association studies as well as the large number of studied polymorphisms, meta-analysis has become a necessity. In the present work, we initially review the basic principles and statistical methodologies of meta-analysis (fixed-, and random-effects models, heterogeneity, publication bias etc). Afterwards, we present the unique features of meta-analyses of genetic association studies, both having to do with the statistical methods used to analyze the data (genotypes), as well as the epidemiologic and genetic phenomena that affect the analysis (qualitative and quantitative traits, linkage disequilibrium, population stratification, confounding, gene-gene and gene-environment interactions etc). All issues will be discussed using examples from recently performed meta-analyses that we have conducted concerning diseases such as hypertension, multiple sclerosis, coronary artery disease and stroke. Finally, we will discuss problems frequently encountered in meta-analyses and some methods to overcome them, as well as, some possible future directions in the field.

** Invited speaker*

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΙΣΜΕΝΟΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΘΑΝΑΤΟΣ ΣΤΟ
ΤΡΟΦΑΡΙΟ ΤΩΝ ΩΟΘΥΛΑΚΙΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΩΟΓΕΝΕΣΗ ΤΟΥ
ΕΝΤΟΜΟΥ *Adalia bipunctata* (Coleoptera: Coccinellidae)**

*Μπάκου Β.Ε., Νέζης Ι.Π., Στραβοπόδης Δ.Ι., Μαργαρίτης Α.Χ.,
και Παπασιδέρη Ι.Σ.*

*Τομέας Βιολογίας Κυττάρων και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ,
Πανεπιστημιούπολις, Ζωγράφου 15784, Αθήνα, Ελλάδα.*

Στην παρούσα μελέτη περιγράφονται τα χαρακτηριστικά του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου των τροφοκυττάρων στα ωοθυλάκια του κολεόπτερου *Adalia bipunctata*, κατά τη διάρκεια της ωογένεσης, σε διαφορετικές ηλικίες ανάπτυξης του εντόμου. Τα τροφάρια ωοθυλακίων εντόμων ηλικίας 10 και 20 ημερών εμφανίζουν σε μικρό ποσοστό συμπύκνωση χρωματίνης, κατακερματισμό DNA και παρουσία ενεργοποιημένων κασπασών, όπως αποκαλύπτεται μετά από χρώση με DAPI, ακριδίνη, καθώς και με τη χρήση του συνθετικού υποστρώματος ενεργοποιημένων κασπασών Red-VAD-fmk, ενώ στα τροφοκύτταρα δεν εντοπίζονται αυτοφαγικά κυστίδια, όπως φαίνεται μετά από τη χρώση τους με MDC. Αντίθετα τα τροφάρια ωοθυλακίων ενήλικων εντόμων ηλικίας 25 και 30 ημερών εμφανίζουν τα τυπικά χαρακτηριστικά ενός προγράμματος κυτταρικού θανάτου το οποίο περιλαμβάνει κυρίως συμπύκνωση χρωματίνης και κατακερματισμό του DNA, την παρουσία ενεργοποιημένων κασπασών και τον σχηματισμό αυτοφαγικών κυστιδίων. Συμπερασματικά, προτείνουμε ότι κατά τη διάρκεια της ωογένεσης στο έντομο *Adalia bipunctata*, η απόπτωση και ο αυτοφαγικός κυτταρικός θάνατος παρατηρούνται σε έντομα που πλησιάζουν προς το τέλος της αναπαραγωγικής τους περιόδου και λειτουργούν συνεργατικά, με σκοπό την αποτελεσματική εκκαθάριση των εκφυλισμένων τροφοκυττάρων. Η σποραδική εμφάνιση των χαρακτηριστικών του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου στα τροφάρια εντόμων μικρότερης ηλικίας μπορεί να ερμηνευθεί είτε ως τυχαίο γεγονός, είτε ως προσπάθεια του οργανισμού να καταστρέφει κάποια μη λειτουργικά ή εν γένει αναπτυξιακά ανώμαλα, τροφοκύτταρα προκειμένου να εξασφαλίζει την ομαλή ανάπτυξη των ωοθυλακίων.

- *Η παρούσα έρευνα χρηματοδοτήθηκε από το πρόγραμμα ΕΠΕΑΕΚ II στα πλαίσια του έργου «ΠΥΘΑΓΟΡΑΣ II-ΕΝΙΣΧΥΣΗ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΩΝ ΟΜΑΔΩΝ ΣΤΑ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑ» (70/3/7928) με συγχρηματοδότηση 75% από το Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο και 25% από Εθνικούς Πόρους. Η κ. Μπάκου είναι υπότροφος του Ιδρύματος Κρατικών Υποτροφιών (ΙΚΥ).*

**PROGRAMMED CELL DEATH OF THE OVARIAN
TROPHARIUM DURING OOGENESIS IN *Adalia bipunctata*
(Coleoptera: Coccinellidae)**

***Bakou V.E., Nezis I.P., Stravopodis D.J., Margaritis L.H.,
and Papassideri I.S.***

*Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of
Athens, Panepistimiopolis, 15784 Zografou, Athens, Greece.*

In the present study, we thoroughly describe the features of programmed cell death of the ovarian nurse cells cluster, occurring during oogenesis of the ladybeetle *Adalia bipunctata*, at various developmental ages. The follicle tropharium from female adult insects at the ages of 10 and 20 days old seems to exhibit a sporadically activated program of nurse cell death, mainly characterized by chromatin condensation, DNA fragmentation and caspase activation, as shown after staining with DAPI, acridine and Red-VAD-fmk reagents, respectively, whereas there is no evidence of autophagic vacuoles formation, as revealed by the complete absence of MDC staining. On the contrary, the follicle tropharium from female adult insects at the ages of 25 and 30 days old exhibit all the typical programmed cell death morphological features, such as chromatin condensation, DNA fragmentation, caspase activation and autophagic vacuoles generation. Conclusively, we propose that during oogenesis of *Adalia bipunctata*, apoptosis and autophagy operate synergistically, in order to achieve an efficient and rapid clearance of the degenerated nurse cell cluster. The sporadic appearance of cell death incidents during oogenesis of reproductively active insects (ages of 10 and 20 days old) could possibly constitute a regulatory mechanism and a protective physiological process directly involved in the obliteration of the abnormal and generally defective nurse cells in the tropharium, so as to ensure the proper and undistinguishable follicle development.

- *The present study was co-funded by the European Social Fund and National Resources (EPEAEK II-PYTHAGORAS II 70/3/7928) to I. S. Papassideri. V. Bakou also thanks the "Hellenic State Scholarship Foundation" for the award of PhD fellowship.*

**ΠΡΩΤΗ ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΤΟΥ ΛΕΣΣΕΨΙΑΝΟΥ ΜΕΤΑΝΑΣΤΗ
Siganus luridus (Ruppel 1829) ΣΕ ΠΑΡΑΚΤΙΑ ΕΝΔΙΑΙΤΗΜΑΤΑ
ΤΟΥ ΜΕΣΣΗΝΙΑΚΟΥ ΚΟΛΠΟΥ**

Μπαρδαμάσκος Γ.¹, Μεγαλοφώνου Π.²

Τομέας Ζωολογίας - Θαλάσσιας Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό
Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, 157 84, Αθήνα.
E-mail: lavas@otenet.gr¹, pmegalo@biol.uoa.gr²

Από τη διάνοιξη της Διώρυγας του Σουέζ το 1869, εκατοντάδες είδη οργανισμών της Ερυθράς Θάλασσας μετανάστευσαν στην ανατολική Μεσόγειο. Στη μαζική αυτή εισβολή δόθηκε από τον Por (1978) η ονομασία «Λεσσεψιανή Μετανάστευση». Ανάμεσα στα άλλα είδη Λεσσεψιανών μεταναστών, δύο αντιπροσωπεύουν την οικογένεια Siganidae (Osteichthyes): το είδος *Siganus rivulatus* (Forskaal, 1775) και το είδος *Siganus luridus* (Ruppel, 1829). Το *S. luridus* καταγράφηκε για πρώτη φορά στη Μεσόγειο το 1956. Έκτοτε, η περιοχή εξάπλωσής του στην ανατολική Μεσόγειο διευρύνεται συνεχώς προς τα δυτικά και βόρεια ακολουθώντας δύο διαδρομές. Η πρώτη κατά μήκος των ακτών των ασιατικών χωρών της ανατολικής Μεσογείου, της Κύπρου και των νησιών του νότιου Αιγαίου ως τον Πατραϊκό Κόλπο στο Ιόνιο. Η δεύτερη διαδρομή εκτείνεται κατά μήκος των ακτών της Βόρειας Αφρικής ως τη νήσο Linosa στο στενό μεταξύ Σικελίας και Τυνησίας. Από το Δεκέμβριο του 2005 έως και τον Απρίλιο του 2007, 132 άτομα *S. luridus* συλλέχθηκαν με την επιλεκτική μέθοδο της υποβρύχιας αλιείας με ψαροτούφεκο και ελεύθερη κατάδυση από δέκα διαφορετικές παράκτιες τοποθεσίες του Μεσσηνιακού κόλπου σε μηνιαία βάση. Σε κάθε περιοχή και κάθε ημέρα δειγματοληψίας γινόταν μέτρηση της επιφανειακής θερμοκρασίας της θάλασσας και της αλατότητας. Στο εργαστήριο έγιναν μετρήσεις για 15 μορφομετρικούς και 7 μεριστικούς χαρακτήρες. Από τις *in situ* παρατηρήσεις διαπιστώθηκε η παρουσία ατόμων *S. luridus* καθ' όλη τη διάρκεια του έτους. Ο σχετικά μεγάλος αριθμός δειγμάτων που συλλέχθηκαν αποδεικνύει ότι η πρώτη ως τώρα καταγραφή του *S. luridus* στο Μεσσηνιακό Κόλπο δεν είναι ένα τυχαίο γεγονός, αλλά ταυτόχρονα μαρτυρά την ύπαρξη ενός εγκατεστημένου πληθυσμού. Επίσης, οι παρατηρήσεις μας επιβεβαιώνουν την πρόβλεψη του Por (1978) ότι οι Λεσσεψιανοί μετανάστες τείνουν να εξαπλώνονται προς τα βορειοδυτικά στην Ανατολική Μεσόγειο, όσο εξακολουθεί να υφίσταται το φαινόμενο της θέρμανσης του πλανήτη.

**FIRST RECORD OF THE LESSEPSIAN MIGRANT
Siganus luridus (Ruppel, 1829) FROM COASTAL HABITATS
OF MESSINIAKOS GULF (GREECE)**

Bardamaskos G.¹, Megalofonou P.²

*Department of Zoology-Marine Biology, Faculty of Biology, University of Athens,
Panepistimiopolis, 15784, Athens–Greece.*

E-mail :¹lavas@otenet.gr , ²pmegalo@biol.uoa.gr

Since the opening of the Suez Canal in 1869, hundreds of Red Sea species migrated into the eastern Mediterranean. This massive aquatic invasion was given the name of “Lessepsian Migration” by Por (1978). Among other species of Lessepsian migrants, there are two representing Siganidae family (Osteichthyes): *Siganus rivulatus* (Forskaal, 1775) and *Siganus luridus* (Ruppel, 1829). *S. luridus* was recorded for the first time from the eastern Mediterranean Sea in 1956. Since then, its range has expanded to the west and north following two different routes: one along the Mediterranean coast of West Asia, as well as Cyprus and the islands of the southern Aegean Sea, up to Patraikos Gulf in the Ionian Sea. The second route followed the north coast of Africa up to the island of Linosa at the Sicily Strait. A total of 132 specimens of *S. luridus* were selectively collected by spearing and free diving from ten different coastal sites of Messiniakos Gulf, from December 2005 to April 2007 on monthly basis. On every sampling day and site, measurements of surface temperature and salinity were taken. Measurements of 15 morphometric and 7 meristic features were taken in the laboratory. From *in situ* observations, the presence of *S. luridus* was confirmed in coastal sites of Messiniakos Gulf during the whole year. Moreover, because of the significant number of specimens caught, one can draw the conclusion that the presence of *S. luridus* in this area is not a random occurrence but is proof of a well-established population. This also supports the argument of Por (1978) that Lessepsian migrants tend to spread further north and west in the eastern Mediterranean, as long as the global warming effect continues.

**ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗ ΣΤΟ ΡΥΘΜΟ ΑΥΞΗΣΗΣ ΤΩΝ
ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΦΥΚΩΝ *PROROCENTRUM MICANS*
(EHRENBERG) ΚΑΙ *PSEUDO-NITZSCHIA MULTISTRIATA*
(TAKANO) ΣΥΝΑΡΤΗΣΕΙ ΤΗΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΣ**

Μπάτσιου Ο. και Νικολαΐδης Γ.

*Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας,, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης,
54124 Θεσσαλονίκη*

Το δινοφύκος *Prorocentrum micans* και το διάτομο *Pseudo-nitzschia multistriata* αποτελούν σημαντικούς εκπροσώπους του φυτοπλαγκτού στο Θερμαϊκό Κόλπο, καθώς σε διαφορετικές χρονικές περιόδους εκδηλώνουν υψηλά επίπεδα αφθονίας και συμμετέχουν στο σχηματισμό πληθυσμιακών εκρήξεων (blooms). Για τον προσδιορισμό του ρυθμού αύξησης των μονοκύτταρων αυτών φυκών δημιουργήθηκαν κλωνικές καλλιέργειες και μετρήθηκε ο ρυθμός αύξησης σε θερμοκρασίες 15 °C, 20 °C και 25 °C με σταθερή την αλατότητα (36psu), τη διαθέσιμη ένταση (71.5 $\mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$) και τη διάρκεια φωτός (12:12). Ο ρυθμός αύξησης των καλλιεργειών δεν παρουσιάζει σημαντικές διαφορές στις θερμοκρασίες 20 °C και 25 °C και για τους δυο οργανισμούς (*Pseudo-nitzschia multistriata*: $\mu_{20} = 0.24$ διαιρέσεις/ημέρα, *Pseudo-nitzschia multistriata*: $\mu_{25} = 0.22$ διαιρέσεις/ημέρα και *Prorocentrum micans*: $\mu_{20} = 0.17$ διαιρέσεις/ημέρα, *Prorocentrum micans*: $\mu_{25} = 0.16$ διαιρέσεις/ημέρα). Αντίθετα, στους 15 °C παρατηρείται σημαντική μείωση του ρυθμού αύξησης και στα δυο είδη (*Pseudo-nitzschia multistriata* : $\mu_{15} = 0.09$ διαιρέσεις/ημέρα, *Prorocentrum micans*: $\mu_{15} = 0.04$ διαιρέσεις/ημέρα).

**EFFECTS OF TEMPERATURE ON THE GROWTH RATE OF
PROROCENTRUM MICANS (EHRENBERG) AND *PSEUDO-
NITZSCHIA MULTISTRIATA* (TAKANO)**

Batsiou O., and Nikolaidis G.

*Department of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki,
54124 Thessaloniki*

The dinoflagellate *Prorocentrum micans* and the diatom *Pseudo-nitzschia multistriata* consist a major part of the phytoplankton communities in Thermaikos Gulf and often form blooms. Clonal cultures of these species were established in order to examine the growth rate at different temperatures (15 °C, 20 °C and 25 °C) at controlled conditions of salinity (36psu), light intensity (71.5 $\mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and photoperiod (12:12 L:D cycle). No considerable changes on the growth rate of both species were observed on the cultures grown at 20 °C and 25 °C (*Pseudo-nitzschia multistriata*: μ_{20} = 0.24 divisions/day, *Pseudo-nitzschia multistriata* : μ_{25} = 0.22 divisions/day and *Prorocentrum micans*: μ_{20} = 0.17 divisions/day, *Prorocentrum micans*: μ_{25} = 0.16 divisions/day. However, at the temperature of 15 °C a significant decrease was observed on the growth rate of both organisms (*Pseudo-nitzschia multistriata*: μ_{15} = 0.09 divisions/day, *Prorocentrum micans*: μ_{15} = 0.04 division/day).

**ΕΝΖΥΜΙΚΗ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΚΑΤΑΛΑΣΗΣ ΣΤΟ
ΥΔΑΤΟΕΙΔΕΣ ΥΓΡΟ ΚΑΙ ΣΤΟ ΠΛΑΣΜΑ ΚΑΙ ΔΕΙΚΤΕΣ
ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΣΥΝΔΡΟΜΟ
ΑΠΟΦΟΛΙΔΩΣΗΣ / ΓΛΑΥΚΩΜΑ ΑΠΟΦΟΛΙΔΩΣΗΣ**

Μπεφάνη Χ.¹, Κολιάκος Γ.¹, Hamidi Alamdiri Daryoush¹, Κώνστας Α.²

¹Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Τμήμα Ιατρικής Α.Π.Θ Θεσσαλονίκη, 54124.

²Α' Οφθαλμολογική Κλινική, Ιατρικής Α.Π.Θ Θεσσαλονίκη, 54124.

Το σύνδρομο αποφολιδώσης-ΣΑ, μια γενικευμένη διαταραχή της εξωκυττάριας ουσίας, χαρακτηρίζεται από υπερβολική σύνθεση και προοδευτική άθροιση εξωκυττάριου υλικού σε διάφορους οφθαλμικούς ιστούς και συχνά οδηγεί στην ανάπτυξη αποφολιδωτικού γλαυκώματος-ΓΑ. Η παθογένεση και οι μηχανισμοί του ΣΑ και ο μηχανισμός μετάπτωσης από το ΣΑ στο ΓΑ παραμένουν ακόμη άγνωστα. Είναι όμως πλέον γνωστό ότι το οξειδωτικό στρες και τα αντιοξειδωτικά ένζυμα εμπλέκονται σε οφθαλμολογικές παθήσεις σχετιζόμενες με την ηλικία όπως καταρράκτης, εκφυλισμός της ωχρής κηλίδας, γλαύκωμα. Ο σκοπός της παρούσας εργασίας είναι ο προσδιορισμός της δραστηριότητας της καταλάσης, τα επίπεδα του ασκορβικού οξέος και των καρβονυλιωμένων πρωτεϊνών καθώς και της ισορροπίας οξειδωτικών-αντιοξειδωτικών σε υδατοειδές υγρό και πλάσμα 15 ασθενών με ΣΑ, 15 ασθενών με ΓΑ και 20 ασθενών ίδιας ηλικίας χωρίς ΣΑ και ΓΑ. Τα επίπεδα της δραστηριότητας της καταλάσης στο υδατοειδές υγρό και στο πλάσμα, και του ασκορβικού οξέος στο υδατοειδές υγρό είναι μειωμένα στην ομάδα των ασθενών με ΣΑ και στην ομάδα των ασθενών με ΓΑ σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου, ενώ το επίπεδο των καρβονυλιωμένων πρωτεϊνών στο υδατοειδές υγρό είναι αυξημένο στην ομάδα των ασθενών με ΣΑ σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Επίσης, όσον αφορά την ισορροπία μεταξύ οξειδωτικών-αντιοξειδωτικών δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά ανάμεσα στις ομάδες ασθενών με ΣΑ και ελέγχου ενώ παρατηρήθηκε μια σημαντική μετατόπιση της ισορροπίας υπέρ των οξειδωτικών στην ομάδα των ασθενών με ΓΑ σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Συμπερασματικά, τα αποτελέσματά μας παρουσιάζουν ένα πιθανό ρόλο των ελεύθερων ριζών στην παθογένεση του ΣΑ και στην μετάπτωσή του σε ΓΑ.

- Η μελέτη χρηματοδοτείται από το ΕΠΕΑΕΚ «Πυθαγόρας II»

**CATALASE ACTIVITY IN AQUEOUS HUMOR AND IN PLASMA,
AND OXIDATIVE STRESS MARKERS IN PATIENTS WITH
EXFOLIATION SYNDROME AND EXFOLIATIVE GLAUCOMA**

Befani Chr.¹, Hamidi Alamdiri Daryoush¹, Konstas A.², Koliakos G.¹

*¹Laboratory of Biochemical Chemistry, ²Ophthalmological Clinic,
Medical School, Aristotle University of Thessaloniki GR 54124*

Exfoliation syndrome (XFS) is an age related disease characterised by the synthesis and progressive accumulation of a fibrillar extracellular material in many ocular tissues. It is the most common identifiable condition leading to the development of open angle glaucoma (exfoliative glaucoma, XFG) with worse prognosis than primary open angle glaucoma (POAG). The pathogenesis and mechanisms underlying the development of XFS and the subsequent progression from XFS to XFG remain unknown. It is now well known that free radicals and antioxidant enzymes play a role in ageing, and an altered oxidant– antioxidant balance is evident in age-related ocular diseases such as cataracts, age-related macular degeneration (AMD) and glaucoma. The aim of the present study is to measure the catalase activity, the levels of the ascorbic acid and the carbonylated proteins, and also the oxidants-andioxidants balance in the aqueous humor and in the plasma 15 patients with XFS, 15 patients with XFG and 20 patients of same age without XFS and XFG (control group). The catalase activity in the aqueous humor and the plasma, and the level of ascorbic acid in aqueous humor in the patients with XFS and in the patients with XFG were decreased compared with the control group, but the level of the carbonylated proteins in the aqueous humor was increased in the patients with XFS compared with the control group. In addition, the oxidants-andioxidants balance in the aqueous humor remained unchanged in the patients with XFS compared with the control group, but a significant shift of the balance in favour of oxidants was observed in patients with XFG compared with the control group. In conclusion, these findings suggest a role of free radicals in the pathogenesis of XFS and in the development of XFG.

- *The study is granted from the EPEAEK “Pythagoras II”*

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΟΓΚΟΚΑΤΑΣΤΑΛΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΣΥΝΘΕΤΙΚΟΥ ΠΕΠΤΙΔΙΟΥ HB-19

Μπίρμπας Χ.¹, Courty J.² και Κατσώρης Π.¹

¹Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Βιολογίας. ²University Paris 12, Dept. of Biology,
Paris, France.

Το HB-19 είναι ένα συνθετικό πεπτίδιο που προσδένεται στην νουκλεολίνη της κυτταρικής επιφάνειας. Η νουκλεολίνη είναι μια πρωτεΐνη μοριακού βάρους 110 kDa, που απαντάται στον πυρήνα, το κυτταροπλάσμα αλλά και στην επιφάνεια των κυττάρων, συνδεδεμένη με διαμεμβρανικές πρωτεΐνες οπότε και δρά ως υποδοχέας χαμηλής συγγένειας αυξητικών παραγόντων, λιποπρωτεϊνών και ορισμένων ιών. Παρουσιάζει πλήθος λειτουργιών, αλληλεπιδρώντας τόσο με πρωτεΐνες, όσο και με νουκλεϊκά οξέα. Εμπλέκεται, μεταξύ άλλων, στη δομή της χρωματίνης, στη μεταγραφή γονιδίων, στην ωρίμανση του rRNA, στη συγκρότηση των ριβοσωματικών υπομονάδων και στην επικοινωνία κυτταροπλάσματος-πυρήνα. Η νουκλεολίνη της κυτταρικής επιφάνειας αποτελεί μοριακό συνοδό πρωτεϊνών κατά την μεταφορά τους μέσα στο κύτταρο.

Στη συγκεκριμένη εργασία μελετήσαμε την βιολογική δράση του πεπτιδίου HB-19 και βρέθηκε ότι το HB-19 αναστέλλει την *in vitro* δέσμευση των αυξητικών παραγόντων MK (Midkine) και HARP (Heparin Affin Regulator Peptide) στην κυτταρική επιφάνεια. Το πεπτίδιο αυτό αναστέλλει τον *in vitro* πολλαπλασιασμό καρκινικών κυττάρων και αγγειογένεση. Επίσης παρουσιάζει *in vivo* ογκοκατασταλτική δράση και βρέθηκε να αναστέλλει την αγγειογένεση στο σύστημα της χοριοαλλαντοϊδικής μεμβράνης εμβρύου όρνιθας. Συνοψίζοντας τα παραπάνω αποτελέσματα, φαίνεται ότι το HB-19 εμφανίζει βιολογικές δράσεις που το καθιστούν υποψήφιο μόριο για αντινεοπλασματική χρήση.

STUDY OF THE ANTI TUMOR ACTION OF THE SYNTHETIC PEPTIDE HB-19

Birmpas Ch.¹, Courty J.², and Katsoris P.¹

*¹University of Patras, Department of Biology, ²University Paris 12, Dept. of
Biology, Paris, France.*

HB-19 is a synthetic peptide which binds cell surface expressed nucleolin. Nucleolin is a ubiquitous and multifunctional 110 kDa protein interacting with various proteins, DNA and RNA sequences. It is involved, inter alia, in chromatin organization, transcription, rRNA maturation, ribosome assembly and acts as a shuttling protein between cytoplasm and nucleus. Nucleolin is expressed also in the cell surface where it acts as a low affinity receptor of growth factors, lipoproteins and certain viruses. Cell surface expressed nucleolin acts also as a protein chaperone, during the translocation of bind protein through the cell.

In the present work, we investigated the biological actions of the peptide HB-19. Our results suggest that HB-19 inhibits the *in vitro* binding of growth factors MK (Midkine) and HARP (Heparin Affin Regulator Peptide) to the cell surface. HB-19 inhibits the *in vitro* cell proliferation of various cell lines, inhibits cell proliferation and angiogenesis induced by HARP. Furthermore, HB-19 inhibits the *in vivo* tumor growth angiogenesis on the chicken embryo CAM assay. Taken together, these results indicate that HB-19 could constitute an interesting tool for tumor therapy strategy.

**Η ΑΝΤΙΣΤΡΕΨΙΜΟΤΗΤΑ ΣΤΗ ΧΡΗΣΗ ΣΤΕΡΕΩΤΙΚΩΝ ΚΑΙ
ΣΥΓΚΟΛΛΗΤΙΚΩΝ ΜΕΣΩΝ ΣΕ ΑΡΧΑΙΟΛΟΓΙΚΑ ΟΣΤΑ*****Μπογιατζής Σ.Χ., Παναγιωτοπούλου Ε. και Γ. Παναγιάρης****Τμήμα Συντήρησης Αρχαιοτήτων και Έργων Τέχνης, ΤΕΙ Αθήνας,
Αγίου Σπυρίδωνος, 12210 Αιγάλεω.*

Η κατάσταση διατήρησης των αρχαιολογικών οστών διαφέρει σημαντικά ανάλογα με το περιβάλλον ταφής. Στην περίπτωση οστών που έχουν υποστεί φθορά, θεμελιώδες στάδιο των εργασιών συντήρησης είναι η στερέωσή τους, διαδικασία στην οποία λαμβάνεται υπ' όψη το είδος της φθοράς του αντικειμένου που, μεταξύ άλλων, εξαρτάται από τις συνθήκες του ταφικού περιβάλλοντος. Επιτυγχάνουμε αντιστρεπτή στερέωση όταν όλη η ποσότητα του πολυμερικού στερεωτικού/συγκολλητικού μπορεί να αφαιρεθεί με τη χρήση διαλυτών χωρίς να επηρεάζεται η κατάσταση του οστού. Στην παρούσα εργασία παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της μελέτης με φασματοσκοπία FTIR της αντιστρεψιμότητας στη διαδικασία της στερέωσης με πολυακρυλικά και πολυβινυλικά στερεωτικά μέσα. Επιλέχθηκαν δείγματα από εγκαρσίως τετμημένα δοκίμια αρχαιολογικού μηριαίου οστού της Πρωτοβυζαντινής περιόδου (6-7^{ου} αιώνα) από την περιοχή της Κοζάνης τα οποία στερεώθηκαν με εμφύσηση σε διάλυμα δυο ακρυλικών (Paraloid B72 και Primal AC33) και μιας βινυλικής ρητίνης (Mowilith 60) επί δυο εβδομάδες. Η προσρόφηση και διεισδυτικότητα των στερεωτικών μέσων στο οστό ελέγχθηκε με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM). Μια άλλη σειρά οστών στερεώθηκε με εμφύσηση δυο εβδομάδων σε όμοια διαλύματα ακετόνης των ρητινών Paraloid B72, Primal AC33 και Mowilith 60. Ακολούθως, η αφαίρεση του στερεωτικού επιχειρήθηκε με εμφύσηση του στερεωμένου οστού σε καθαρή ακετόνη η οποία επαναδιαλυτοποίησε την προσροφημένη ρητίνη. Η διαπίστωση της αντιστρεψιμότητας έγινε με τη χρήση φασματοσκοπίας FTIR. Λήφθηκαν τρεις σειρές φασμάτων: (α) φάσματα των δειγμάτων λειοτριβημένου οστού (τόσο από το περίστωο, όσο και από το εσωτερικό-σπογγώδες) πριν τη στερέωση και μετά την αφαίρεση του στερεωτικού, (β) φάσματα του στερεού υπολείμματος κατόπιν εξάτμισης της ακετόνης στο διάλυμα που προέκυψε μετά την πρώτη εμφύσηση (στερέωση) των οστών και (γ) φάσματα του στερεού υπολείμματος κατόπιν εξάτμισης της ακετόνης στο διάλυμα που προέκυψε μετά την δεύτερη εμφύσηση των στερεωμένων οστών σε καθαρή ακετόνη με σκοπό την επαναδιαλυτοποίηση (αφαίρεση) των στερεωτικών. Τέλος, πραγματοποιήθηκε σταθμική ποσοτική μελέτη κατά την οποία διαπιστώθηκε ότι στα οστά κατακρατούνται ποσά ρητίνης, κατά μέσο όρο ίσα με 2.32%, 1.38% και 2.60% του βάρους του οστού στην περίπτωση του Paraloid B72, του Primal και του Mowilith αντίστοιχα. Μετά την αφαίρεση του στερεωτικού παρέμεινε στο οστό, αντίστοιχα, το 27%, 43% και 25% της ρητίνης που είχε αρχικά κατακρατηθεί κατά τη στερέωση. Τα ποσοτικά αυτά αποτελέσματα καταδεικνύουν το βαθμό στον οποίο επηρεάζονται τα οστά κατά τη διάρκεια τη διαδικασίας της στερέωσης και με αυτό τον τρόπο υποστηρίζουν τα φασματοσκοπικά δεδομένα. Συμπερασματικά, με σκοπό την αξιοποίηση των αποτελεσμάτων, πρέπει να εκτιμηθεί από τους ερευνητές της βιολογικής ανθρωπολογίας μέχρι ποιου βαθμού αντιστρεψιμότητας είναι επιτρεπτή η διαδικασία της στερέωσης των αρχαιολογικών οστών.

**ON THE REVERSIBILITY OF CONSOLIDANT AND ADHESIVE
BEHAVIOR OF ACRYLIC AND VINYL RESINS ON
ARCHAEOLOGICAL BONE**

Boyatzis S.C., Panagiotopoulou E., and G. Panagiaris

*Department of Conservation of Antiquities and Works of Art, TEI of Athens,
Aghiou Spyridonos, 122 10 Egaleo, Athens,*

The preservation condition of archaeological bone differs according to the various burial environments. Successful consolidation needs to be in accordance to the type of deterioration. In alkaline burial environment the bone becomes brittle and crackled, and typical consolidation techniques suggest the use of polymeric consolidants. Reversible consolidation is achieved when all polymeric consolidant/adhesive is removed with the use of solvents and without affecting the condition of the bone. In the present work we report our results on the reversibility in the use of various acrylic and vinyl consolidants using FTIR spectroscopy. Samples from archaeological femur bones (transversally-cut bone pieces) of proto-Byzantine period (6-7th century) from the burial site in Akrini (area of Kozani, North-Eastern Greece) were selected and accordingly consolidated with immersion in two acrylic (Paraloid B72 and Primal AC33) and a vinyl resin (Mowilith 60) solution for two weeks. The adsorption of consolidants was tested with SEM, where sulphur in alizarin red-S staining dye was detected, providing evidence for adsorption depth.

The consolidated bones were accordingly immersed in acetone so that acrylic and vinyl resins are solubilised and removed. The reversibility of consolidation with immersion of samples in Paraloid B72, Primal AC33 and Mowilith 60 solutions (3% w/w) was thus tested through FTIR spectroscopy. Three series of spectra were recorded:

(a) FTIR spectra of ground bone samples (both outer-periosteum and inner-spongy bone areas) before consolidation and after removal of consolidants were recorded, to check quantities of residual consolidant inside the bone.

(b) To check possible presence of bone traces in the consolidant, FTIR spectra of all three consolidants (after drying of their acetone solutions) after removal of immersed bone were also recorded.

(c) Finally, FTIR spectra of acetone batches used for the removal of consolidants were recorded to detect the presence of consolidant and residual bone in the solvent.

Finally, the qualitative results are supported with quantitative (gravimetric) measurements which reflect the residual weights of consolidants on a number of bone samples. During consolidation it was found that bone samples had increased their weight by 2.32%, 1.38% and 2.60% in the cases of Paraloid B72, Primal AC33 and Mowilith, while after removal of consolidants residual amounts corresponding to 27%, 43% and 25% of their initial adsorbed quantities correspondingly. The above results should be evaluated by biological anthropology researchers in order to infer the desired reversibility limits during the consolidation processes on archaeological bones.

Η ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΜΕΤΑΛΛΑΓΩΝ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ RAS ΣΤΑ ΘΥΡΕΟΕΙΔΙΚΑ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΑ

*Μπούκα Μ.¹, Γούτας Ν.², Βλαχοδημητρόπουλος Δ.², Λάζαρης Α.³,
Γαζούλη Μ.¹*

¹Εργαστήριο Βιολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Αθηνών

²Τμήμα Ιστοπαθολογίας, Ευγενίδειο Νοσοκομείο-Πανεπιστήμιο Αθηνών

³Τμήμα Παθολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ελλάδα

Το σηματοδοτικό μονοπάτι που αποτελείται από τα μόρια RET/PTC(TRK)-RAS-BRAF-MEK-MAP κινάση, μεσολαβεί στη ρύθμιση ενός αριθμού κυτταρικών λειτουργιών που έχουν ως αποτέλεσμα την αύξηση, τον πολλαπλασιασμό και την επιβίωση. Γενετικές μεταλλάξεις σε τέσσερα ογκογονίδια που αναφέρονται ως RAS σημειακές μεταλλάξεις, RET αναδιατάξεις (RET/PTC), NTRK1 αναδιατάξεις (TRK) και BRAF σημειακές μεταλλάξεις, έχουν προσδιορισθεί σε μια πληθώρα ανθρώπινων θυρεοειδικών νεοπλασμάτων. Σε αυτή την προκαταρκτική έρευνα, μελετήθηκαν μεταλλάξεις του KRAS γονιδίου στα κωδικόνια 12 και 13 σε έναν αριθμό δειγμάτων θηλώδους και μυελοειδούς καρκινώματος του θυρεοειδή αδένου. Αναλύθηκαν βιοψίες από 99 δείγματα ασθενών με καρκίνο του θυρεοειδούς, από τα οποία τα 55 ήταν θηλώδη (PTC) και τα 44 μυελοειδή (MTC) καρκινώματα. Συγκεκριμένα, απομονώθηκε DNA από ιστούς παραφίνης, ενώ η παρουσία των μεταλλαγών στα κωδικόνια 12 και 13 του KRAS γονιδίου, ανιχνεύθηκε με τη μέθοδο PCR-RFLP. Η KRAS μεταλλαγή στο κωδικόνιο 12 βρέθηκε στην ετερόζυγη κατάσταση στα 30 από τα 55 δείγματα (54,4%) PTC και σε 18 από τα 44 δείγματα (32,7%), MTC που εξετάστηκαν. Η μεταλλαγή στο κωδικόνιο 13 ανιχνεύθηκε σε ετερόζυγη κατάσταση σε 45 από τα 55 (81,8%) δείγματα PTC και αντίστοιχα σε 42 από τα 44 (76,4%) δείγματα MTC. Η μεταλλαγή στο κωδικόνιο 13 βρέθηκε σε ομόζυγη κατάσταση σε 10 (18,2%) και σε 2 (3,6%) από τα δείγματα PTC και MTC, αντίστοιχα. Αξιοσημείωτο είναι ότι όλα τα δείγματα βρέθηκαν μεταλλαγμένα στο κωδικόνιο 13. Σε πολλές μελέτες αναφέρεται ότι τα γονίδια K-, H-, και N-RAS, ενεργοποιούνται με σχετικά υψηλή συχνότητα στον ανθρώπινο καρκίνο θυρεοειδούς. Συμπερασματικά, τα αποτελέσματά μας, υποδεικνύουν υψηλή συχνότητα των μεταλλαγών του γονιδίου KRAS και στους δύο τύπους θυρεοειδικού καρκινώματος σε Έλληνες ασθενείς.

PREVALENCE OF RAS GENE MUTATION IN THYROID CARCINOMAS

**Bouka M.¹, Goutas N.², Vlachodimitropoulos D.², Lazaris A.³,
Gazouli M.¹**

¹Laboratory of Biology, School of Medicine, University of Athens,

²Histopathology Department, Evgenidion Hospital–University of Athens,

³Department of Pathology, School of Medicine, University of Athens, Greece

The RET/PTC(TRK)-RAS-BRAF-MEK-MAP kinase pathway mediates a number of cellular fates including growth, proliferation and survival in thyroid cells. Genetic alterations in four oncogenes, namely RAS point mutations, RET rearrangements (RET/PTC), NTRK1 rearrangements (TRK) and BRAF point mutations have been identified in various human thyroid neoplasms. In this preliminary study, we analysed mutations of KRAS in codons 12 and 13, in a cohort of papillary (PTC) and medullary thyroid carcinomas (MTC). Thyroid tumors removed from 99 subjects were analyzed, including 55 PTC and 44 MTC tumors. DNA was extracted from paraffin embedded tissues and the presence of mutations at codons 12 and 13 of KRAS, were screened by PCR-RFLP method. KRAS mutation in codon 12 was found in heterozygous condition, in 30 out of the 55 (54.4%) of the PTC and in 18 out of the 44 (32.7%) of the MTC samples tested. Mutation in codon 13 was identified in heterozygous condition in 45 out of 55 (81.8%) PTC and in 42 out of 44 (76.4%) MTC samples. Mutation in codon 13 was found in homozygous condition in 10 (18.2%), and in 2 (3.6%) of the PTC and MTC samples respectively. Interestingly, all the samples were found to be mutated in codon 13. Several investigator have reported that K-, H- and N-RAS genes are activated at a relatively high frequency in human thyroid tumors. Collectively, our results indicate a high prevalence of KRAS mutations in both types of thyroid carcinomas in Greek patients.

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΕΝΤΟΜΟΥ *Bactrocera oleae* :

Α) ΕΛΕΓΧΟΣ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΓΙΑ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΙΚΕΣ ΑΝΑΚΑΤΑΤΑΞΕΙΣ
Β) ΠΟΛΥΤΑΙΝΙΚΟΣ ΠΥΡΗΝΑΣ ΘΗΛΥΚΩΝ ΚΑΙ ΑΡΣΕΝΙΚΩΝ ΑΤΟΜΩΝ

Νάκου Ι., Παπασπυρόπουλος Α., Κουνατίδης Η. Μαυραγάνη-Τσιπίδου Π.

*Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή
Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 54124, Θεσσαλονίκη*

Το δίπτερο έντομο *Bactrocera oleae*, ο κοινός δάκος της ελιάς, θεωρείται το πιο ζημιογόνο για την ελαιοπαραγωγή έντομο, καθώς προκαλεί εκτεταμένες καταστροφές στις καλλιέργειες ελιάς. Η μελέτη του εντόμου αυτού, σε γενετικό επίπεδο, θεωρείται απαραίτητη για την ανάπτυξη μεθόδων, φιλικών προς το περιβάλλον, για τον έλεγχο της εξάπλωσης και την καταπολέμηση του.

Στο πλαίσιο της μελέτης αυτής πραγματοποιήθηκε:

- Έλεγχος φυσικών πληθυσμών του εντόμου *B. oleae* για χρωμοσωματικές ανακατατάξεις (ελλείμματα, διπλασιασμοί, αναστροφές, μετατοπίσεις). Τα πολυταινικά χρωμοσώματα των σιελογόνων αδένων προνύμφης και νύμφης των εντόμων αποτελούν πολύ χρήσιμο εργαλείο γενετικής ανάλυσης. Για το σκοπό αυτό συλλέχθηκαν προσβεβλημένοι ελαιόκαρποι από απομακρυσμένες περιοχές της Ελλάδας (Θέρμη Θεσσαλονίκης, Σάνι Χαλκιδικής, Λέσβος, Αίγιο, Καλαμάτα, Κρήτη) και έγινε μελέτη των πολυταινικών χρωμοσωμάτων των σιελογόνων αδένων στα στάδια προνύμφης και νύμφης του εντόμου. Η έρευνα έδειξε την ύπαρξη διπλασιασμών και την απουσία άλλων χρωμοσωματικών ανακατατάξεων.
- Σύγκριση πολυταινικών πυρήνων μεταξύ θηλυκών και αρσενικών ατόμων. Δεδομένου ότι στο στάδιο μελέτης των πολυταινικών πυρήνων (στάδιο προνύμφης και νύμφης) δεν είναι δυνατή η αναγνώριση του φύλου του εντόμου, πραγματοποιήθηκε σύγχρονη μελέτη μεταφασικών και πολυταινικών πυρήνων για κάθε άτομο. Χρησιμοποιήθηκαν άτομα από τον εργαστηριακό πληθυσμό. Στον πολυταινικό πυρήνα τόσο των θηλυκών όσο και των αρσενικών ατόμων του δάκου, παρατηρήθηκαν πέντε χρωμοσώματα (10 πολυταινικοί βραχίονες), που αντιστοιχούν στα πέντε αυτοσωμικά του μεταφασικού πυρήνα. Τα φυλετικά χρωμοσώματα δεν πολυταινίζονται. Επιβεβαιώθηκε η ύπαρξη μεγαλύτερης και πυκνότερης ετεροχρωματινικής μάζας σε όλους τους πολυταινικούς πυρήνες των θηλυκών ατόμων, που αντιστοιχεί στα XX φυλετικά χρωμοσώματα. Στα αρσενικά άτομα, η ετεροχρωματινική μάζα είναι πολύ μικρότερη και αντιστοιχεί στα XY χρωμοσώματα του μιτωτικού πυρήνα.

GENETICS ON *Bactrocera oleae*:

- A) EVALUATION FOR CHROMOSOMAL REARRANGEMENTS IN NATURAL POPULATIONS
B) POLYTENE NUCLEUS OF FEMALE AND MALE INSECTS**

Nakou I., Papaspyropoulos A., Kounatidis I., Mavragani - Tshipidou P.

*Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology,
Faculty of Science, Aristotle University of Thessaloniki, 54124,
Thessaloniki, Greece*

The insect *Bactrocera oleae* is regarded as the most harmful for the olive fruit cultivations, as it causes severe damages to the olive fruit crops. The accumulation of basic genetic information on this species is thought to be an important tool for the development of new biological control strategies.

In this study:

- Natural populations of *B. oleae* were evaluated for the existence of chromosomal rearrangements (deletions, duplications, reversions, translocations). The polytene chromosomes of the salivary glands of larvae and pupae comprise a very useful tool of genetic analysis. For this purpose, larvae and pupae obtained from field infested crops were collected from five different regions of Greece (Thermi- Thessaloniki, Sani - Chalkidiki, Lesvos, Aigio, Kalamata, Crete) and their salivary gland polytene nuclei were studied. Data showed the existence of duplications and the lack of any other chromosomal rearrangements.
- Comparison of polytene nuclei of female and male insects was accomplished. Taking into account the fact that at the stages where the polytene nuclei of diptera can be studied (stages of larva and pupa), the identification of the sex of the insect is not possible, there has been conducted synchronous study of the metaphase and polytene nuclei for each individual. Larvae and pupae, used in this study, were obtained from the laboratory population. In the polytene nuclei of both the female and the male insects five long chromosomes were observed (10 polytene arms), that correspond to the five autosomes of the mitotic complement. Sex chromosomes are not polytenized. We confirmed the existence of a large and compact heterochromatic mass in all of the polytene nuclei of the female insects, which corresponds to the XX sex chromosomes. In male insects, the heterochromatic mass is far less and corresponds to the XY chromosomes of the mitotic nucleus.

**ΔΙΑΦΟΡΙΚΗ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΤΡΙΧΟΣΤΑΤΙΝΗΣ Α ΣΤΗΝ
ΑΚΕΤΥΛΙΩΣΗ ΤΗΣ ΙΣΤΟΝΗΣ Η4, ΣΤΗΝ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΗΣ
ΙΣΤΟΝΗΣ Η1^ο ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΕΠΑΓΩΓΗ ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ ΣΕ
ΛΕΥΧΑΙΜΙΚΕΣ ΣΕΙΡΕΣ ΑΝΘΡΩΠΟΥ.**

Νινιός Ι.Π., Σέκερη-Παταργιά Κ.Ε. και Θ.Γ. Σουρλίγκα

*Εργαστήριο Βιοχημείας Ιστονών, Ινστιτούτο Βιολογίας, Ε.Κ.Ε.Φ.Ε.
«ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ» 15310 Αγία Παρασκευή, Αττικής*

Η Τριχοστατίνη Α (TSA) είναι ένας ειδικός αναστολέας των τάξεων I και II των αποακετυλασών των ιστονών και ως εκ τούτου προκαλεί τη συσσώρευση ακετυλιώσεων στις ιστόνες του πυρήνα του νουκλεοσώματος, με συνέπεια την ενεργοποίηση της έκφρασης ορισμένων γονιδίων, τα οποία ανάλογα με την φύση των κυττάρων, επάγουν την διαφοροποίηση ή την απόπτωση. Στην ικανότητα της TSA να επάγει απόπτωση οφείλεται και η χρήση της σαν αντικαρκινικό θεραπευτικό μέσο. Προηγούμενες μελέτες του εργαστηρίου μας έδειξαν ότι η TSA επάγει την ακετυλίωση της ιστόνης Η4 και την έκφραση της ιστόνης του συνδέτου DNA, Η1^ο σε λεμφοκύτταρα περιφερικού αίματος ανθρώπου, οδηγώντας παράλληλα τα κύτταρα σε απόπτωση. Στην παρούσα μελέτη, καθοδηγούμενοι από το ενδεχόμενο ύπαρξης διαφορικής απόκρισης στην επίδραση του συγκεκριμένου αναστολέα των αποακετυλασών των ιστονών, η οποία να οφείλεται στον τύπο του κυτταρικού συστήματος, ελέγξαμε την επίδραση της TSA στο βαθμό ακετυλίωσης της ιστόνης Η4 και στην επαγωγή της έκφρασης της ιστόνης Η1^ο σε έξι λευχαιμικές σειρές ανθρώπου (Molt4, NB4, HL60, U937, K562 και Jurkat). Τα αποτελέσματα έδειξαν την ύπαρξη διαφορών μεταξύ των κυτταρικών σειρών τόσο στο βαθμό ακετυλίωσης της Η4 όσο και στα επίπεδα έκφρασης της Η1^ο καθώς επίσης ότι οι διαφορές αυτές συνδέονται με την επαγωγή απόπτωσης μετά από επίδραση της TSA. Σε μελλοντικές μελέτες θα διερευνηθεί ο πιθανός λειτουργικός ρόλος της Η1^ο στην αποπτωτική διαδικασία.

**DIFFERENTIAL EFFECT OF TRICHOSTATIN A IN THE
ACETYLTATION OF HISTONE H4, THE EXPRESSION OF
HISTONE H1^o AND THE INDUCTION OF APOPTOSIS IN HUMAN
LEUKEMIC CELL LINES**

Ninios Y.P., Sekeri-Pataryas K.E., and T.G. Sourlingas

*Laboratory of Histone Biochemistry, Institute of Biology, N.C.S.R.
"DEMOKRITOS" 15310 Aghia Paraskevi, Attiki*

Trichostatin A (TSA) is a specific inhibitor of class I and II histone deacetylases and as such causes the accumulation of nucleosomal histone acetylation. This brings about the activation of certain genes, which, depending on the cell type, may either induce differentiation or apoptosis. The induction of apoptosis is the reason for its use in anticancer regimens. Previous studies from our lab showed that TSA induces histone H4 acetylation and the expression of the DNA linker histone, H1^o in human peripheral blood lymphocytes with along with the concomitant induction of apoptosis. In the present study, we wished to ascertain whether there may be differential responses to the effects of this histone deacetylase inhibitor in different cell types. For this purpose, we examined the effects of TSA on the level of histone H4 acetylation and the induction of histone H1^o expression in six human leukemic cell lines (Molt4, NB4, HL60, U937, K562 and Jurkat). The results showed that there were differential responses to TSA amongst these cell lines, both with respect to the level of histone H4 acetylation and the level of histone H1^o induction, which were also found to be associated with the induction of apoptosis. Future studies will examine the possible functional role of H1^o in the apoptotic process.

Η ΔΟΞΟΡΟΥΒΙΚΙΝΗ ΕΠΑΓΕΙ ΤΗ ΡΕΤΡΟΜΕΤΑΘΕΣΗ ΤΩΝ ΣΤΟΙΧΕΙΩΝ VL30 ΜΕΣΩ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ

*Νουτσόπουλος Δ.¹, Μαρκόπουλος Γ.¹, Κονιστή Σ.¹, Βαρθολομάτος Γ.²
και Θ. Τζαβάρας¹*

¹Εργαστήριο Γενικής Βιολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων.

²Αιματολογικό Εργαστήριο, Μονάδα Μοριακής Βιολογίας, ΙΠΠΝΙ, Ιωάννινα.

Τα στοιχεία VL30 είναι μη αυτόνομα LTR-ρετροτρανσποζόνια παρόντα στο γένομα του επίμουσ και έχουμε αποδείξει ότι η ρετρομετάθεσή τους συσχετίζεται με τον κυτταρικό μετασχηματισμό, έκφραση του οποίου αποτελεί η γενωμική αστάθεια. Τα φάρμακα καρκίνου στοχεύουν στην επαγωγή της γενωμικής αστάθειας για την απόλυση καρκινικών κυττάρων. Σκοπός μας ήταν να μελετηθεί αν η δοξορουβικίνη, ένα ευρύτατα κλινικά χρησιμοποιούμενο αντικαρκινικό φάρμακο, μπορεί να επάξει τη ρετρομετάθεση των στοιχείων VL30. Χρησιμοποιήσαμε ένα EGFP-κυτταρικό μοντέλο μελέτης της ρετρομετάθεσης. Αρχικά, κύτταρα επώαστηκαν με δοξορουβικίνη για 24 ώρες σε εύρος συγκέντρωσης 10nM ως 1μM ακολουθώντας ανάνηψη 3 ημερών. Ανάλυση με FACS έδειξε ότι η συχνότητα ρετρομετάθεσης επάγεται σε ασυνήθιστα υψηλά επίπεδα. Παρομοίως, επώαση κυττάρων σε χαμηλή συγκέντρωση δοξορουβικίνης, 10 ως 80nM, ακολουθούμενη από χρόνο ανάνηψης μικρότερο, 24 ώρες, έδειξε επαγωγή της συχνότητας ρετρομετάθεσης κατά δόσο-εξαρτώμενο τρόπο. Τα γεγονότα ρετρομετάθεσης επιβεβαιώθηκαν με μικροσκοπία UV μέσω EGFP-θετικών κυττάρων, συνοδευόμενα από χαρακτηριστικά κυτταρικού θανάτου. Ακολούθως, επιδράσαμε με 80nM δοξορουβικίνης σε εύρος 3 ως 24 ωρών. Ανάλυση με FACS, μετά από ανάνηψη 3 ημερών, έδειξε επαγωγή της ρετρομετάθεσης κατά χρονο-εξαρτώμενο τρόπο. Τέλος, προεπώασαμε κύτταρα για 2 ώρες με 5 ως 20mM NAC, ένα γενικό αντιοξειδωτικό, ακολουθώντας επώαση με 80nM δοξορουβικίνης για 24 ώρες. Κατόπιν ανάνηψης 24 ωρών, βρέθηκε ότι η NAC αναστέλλει κατά τρόπο δόσο-εξαρτώμενο την επαγόμενη ρετρομετάθεση. Τα αποτελέσματά μας απέδειξαν ότι η δοξορουβικίνη επάγει κατά ειδικό τρόπο τη ρετρομετάθεση των στοιχείων VL30, ενώ η αναστολή της από ένα γενικό αντιοξειδωτικό υποδηλώνει την εμπλοκή του οξειδωτικού στρες στο μηχανισμό ρύθμισης του φαινομένου.

- Συγχρηματοδοτήθηκε από την ΕΕ στα πλαίσια του προγράμματος «Ηράκλειτος» του ΕΠΕΑΕΚ II του 3^{ου} ΚΠΣ του ΥΠΕΠΘ, με χρηματοδότηση από εθνικούς πόρους και το ΕΚΤ.

DOXORUBICIN INDUCES VL30 RETROTRANSPOSITION THROUGH OXIDATIVE STRESS

*Noutsopoulos D.¹, Markopoulos G.¹, Konisti S.¹, Vartholomatos G.²,
and Th. Tzavaras¹*

¹Laboratory of General Biology, Medical School, University of Ioannina.

²Hematology Laboratory, Unit of Molecular Biology, University Hospital of Ioannina.

VL30 elements are non-autonomous LTR-retrotransposons, present in the mouse genome, and we have previously shown that VL30 retrotransposition was correlated with cellular transformation, featured by genomic instability. Anticancer drugs target induction of genomic instability in order to eliminate cancer cells. Aim of this work was to investigate whether doxorubicin, a clinical anticancer drug widely used, can induce VL30 retrotransposition. We have used an EGFP-based cell culture assay for studying VL30 retrotransposition. Initially, cells were incubated with doxorubicin at a concentration range of 10nM to 1µM for 24 hours and recovered for a time period of 3 days. We found that VL30 retrotransposition frequency measured by FACS was induced at unusually high levels. Similarly, at lower concentration range of 10 to 80nM and shorter recovery of 24 hours, treated cells showed induction of retrotransposition frequency in a dose-dependent manner. Retrotransposition events were confirmed with UV microscopy through EGFP-positive cells accompanied by cell death features. Induction of retrotransposition frequency by 80nM doxorubicin was studied in a time course of 3 up to 24 hours. FACS analysis, after a 3 days recovery, showed induction of retrotransposition in a time-dependent manner. Finally, cells were pretreated for 2 hours with 5 to 20mM NAC, a general scavenger of reactive oxygen species, and then incubated with 80nM doxorubicin for 24 hours. After a 24 hours-recovery period, it was found that NAC inhibits doxorubicin-induced retrotransposition in a dose-dependent manner. Our results demonstrate that doxorubicin induces specifically VL30 retrotransposition while the inhibition of retrotransposition frequency by a general anti-oxidant suggests the involvement of oxidative stress in the regulation of retrotransposition.

- *This research was co-funded by the EU in the framework of the program "HERAKLITOS" of the "Operational Program of Education and Initial Vocational Training" of the 3rd Community.*

**ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΝΕΥΡΟΤΟΞΙΚΩΝ ΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ ΤΟΥ ΑΡΓΙΛΙΟΥ
ΣΤΑ ΝΕΥΡΙΚΑ ΚΑΙ ΝΕΥΡΟΓΛΩΙΑΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΜΕΣΩ
ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ N-ΜΕΘΥΛΟ Δ-ΑΣΠΑΡΑΓΙΝΙΚΟ ΟΞΥ**

Nday C.¹, Drysdale A.J.², Platt B.², Σαλίφογλου Α.¹

¹*Εργαστήριο Ανόργανης Χημείας, Τμήμα Χημικών Μηχανικών, Αριστοτέλειο
Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη*

²*School of Medical Sciences, College of Life Sciences and Medicine, University of
Aberdeen, Institute of Medical Sciences, Foresterhill, Aberdeen AB25 2ZD
Scotland, UK.*

Μια από τις πέντε αναγνωρισμένες κατηγορίες υποδοχέων διεγερτικών αμινοξέων είναι και το NMDA (N-μεθυλο Δ-ασπαραγινικό οξύ), το οποίο συνίσταται από χημειοελεγχόμενους διαύλους Ca(II) στην κυτταρική μεμβράνη των νευρώνων και συμμετέχει ενεργά στις διαδικασίες της μνήμης. Ποια όμως θα μπορούσε να είναι η επίδραση μεταλλοτοξινών στη λειτουργία NMDA υποδοχέων στα νευρωνικά κύτταρα; Υψηλά ενδοκυτταρικά επίπεδα Al(III) έχουν πλειοτροπικές επιπτώσεις, συμπεριλαμβανομένης της διατάραξης της ομοιόστασης των ιόντων ασβεστίου που μπορεί να οδηγήσει σε απώλεια ιπποκαμπιαίων κυττάρων και συνεπώς σε εκδήλωση της νόσου Alzheimer. Με βάση το τοξικό δυναμικό του Al(III), έγινε η προσπάθεια να διερευνηθεί αν υπάρχει επιρροή της λειτουργίας των NMDA υποδοχέων με την τοξικότητα του μεταλλοϊόντος Al(III). Στα πλαίσια της ερευνητικής αυτής προσπάθειας, χρησιμοποιήθηκαν νευρωνικές και νευρογλοιακές κυτταροκαλλιέργειες νεογνών ποντικού Prague-Dawley, παρουσία δύο πλήρως φυσικοχημικά χαρακτηρισμένων δυαδικών ενώσεων Al(III) με φυσιολογικούς υποκαταστάτες, το κιτρικό οξύ (C₆H₈O₇) και το κινικό οξύ (C₇H₁₂O₆), αντίστοιχα: K₄[Al(C₆H₄O₇)(C₆H₅O₇)]·4H₂O ή K[Al(C₇H₁₁O₆)₃](OH)·5H₂O σε συγκεντρώσεις των 10 ή 100 ή 500 μM ή συνδυασμό συγκεντρώσεων 10, 100, 500 μM. Πριν και μετά από κάθε συγκέντρωση, τα κύτταρα υποβλήθηκαν σε 15 μM NMDA για 2 λεπτά. Μετά από τις απαραίτητες στατιστικές αναλύσεις, παρατηρήθηκε α) ανταπόκριση πάνω από 60% των νευρωνικών κυττάρων στην πρώτη και δεύτερη δόση του NMDA που χρησιμοποιήθηκε, β) η αναμενόμενη μη ανταπόκριση των νευρογλοιακών κυττάρων, γ) όχι ιδιαίτερη ανταπόκριση των νευρώνων στις συγκεντρώσεις Al(III) κατά τη διάρκεια της μιας ώρας του πειράματος, και δ) οι νευροκαταστροφικές επιπτώσεις του μεταλλοϊόντος Al(III) είναι άμεσα συνδεδεμένες με τη μεγάλη χρονική του έκθεση στο κυτταρικό περιβάλλον.

INVESTIGATION OF NEUROTOXIC EFFECT OF ALUMINIUM (III) ON NEURONAL AND GLIAL CELLS THROUGH N-METHYL D-ASPARTIC ACID RECEPTORS

Nday C.¹, Drysdale A.J.², Platt B.², Salifoglou A.¹

¹*Department of Chemical Engineering, Laboratory of Inorganic Chemistry,
Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki 54124, Greece*

²*School of Medical Sciences, College of Life Sciences and Medicine, University of
Aberdeen, Institute of Medical Sciences, Foresterhill,
Aberdeen AB25 2ZD Scotland, UK.*

N-methyl Δ -aspartic acid (NMDA) is one of the five known stimulating amino acid receptor categories, which consists of chemical regulators of Ca(II) channel on neurocellular membrane by playing an important role in memory process. What kind of metallotoxins effect can be affect on NMDA function of neurons? Elevated intracellular levels of Al have pleiotropic effects including disruption of calcium homeostasis which probably onsets on an Alzheimer Disease. The investigation of the potential biological activity of well characterized Al(III) forms in neuronal and glial cellular environment consists a challenge, because of the neurotoxic potentiality of the metal and the evidence linking Aluminum to A.D. In the context of this research, neuronal and glial cell culture of neonate rat Prague-Dawley were exposed to two novel Al(III) compounds: Aluminium citrate $K_4[Al(C_6H_4O_7)(C_6H_5O_7)] \cdot 4H_2O$ and Aluminium quinate $K[Al(C_7H_{11}O_6)_3](OH) \cdot 5H_2O$ at concentration of a) 10 μM , b) 100 μM , c) 500 μM or d) the combination of 10, 100, 500 μM . Before and after each concentration, we applied 15 μM NMDA for 2 minutes.

After statistic analysis, we found that:

- More than 60% of the neurons respond to the first and the second NMDA application
- There was no response of glial cell, as expected.
- There was no significant response of neurons at Al(III) concentration during the one hour of the experiment
- The neuroapoptotic effect of the metal ion Al(III) is time dependent.

VALAPODYN: ΔΥΝΑΜΙΚΗ ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ ΠΡΟΒΛΕΨΗΣ ΤΩΝ ΣΥΝΘΕΤΩΝ ΕΝΔΟΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΜΟΝΟΠΑΤΙΩΝ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙ- ΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΟΝ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΘΑΝΑΤΟ ΚΑΙ ΤΗΝ ΕΠΙΒΙΩΣΗ

Ντεπόλις Α.¹, Ε. Βαφειαδάκη², Π. Τζάκερς³, Δ.Α. Αρβανίτης², Ο. Κελ-
Μάργκουλις⁴, Ε. Γουϊνγκεντερ⁴, Τ. Βουγιασίνοβιτς⁵, Ντ. Γκρίνμπεργκ⁶, Χ.
Σόρεκ⁶, Ε. Ντε Παύβ³, Τζ. Μπ. Ντυμά Μίλνε Έντουαρντς⁵, Δ. Σανούδου²

¹Εθνικό Ινστιτούτο Υγείας και Ιατρικής Έρευνας, Γκρενόμπλ, Γαλλία, ²Ίδρυμα
Ιατροβιολογικών Ερευνών της Ακαδημίας Αθηνών, Ελλάδα, ³Πανεπιστήμιο της
Λιέγης, Λιέγη, Βέλγιο, ⁴Βιοβάση, Α.Ε., Βολφενμπύτελ, Γερμανία, ⁵ΗΛΙΟΣ, Παρίσι,
Γαλλία, ⁶Εβραϊκό Πανεπιστήμιο Ιερουσολύμων, Ιερουσόλυμα, Ισραήλ

Το VALAPODYN είναι ένα ερευνητικό δίκτυο χρηματοδοτούμενο από την Ευρωπαϊκή Επιτροπή (6^ο Πρόγραμμα Πλαίσιο), το οποίο αναπτύσσει μια πρωτότυπη προσέγγιση βιολογίας συστημάτων. Επικεντρώνεται στην πολυδιάστατη λειτουργική γενωμική σύνθετων βιολογικών διαδικασιών και κυτταρικών δικτύων. Στόχος είναι η δημιουργία μιας πρωτοποριακής προσέγγισης προσομοίωσης της δυναμικής των μοριακών αλληλεπιδρώντων δικτύων (MIN) σε σχέση με τον κυτταρικό θάνατο και την επιβίωση, ώστε να εντοπιστούν νέοι θεραπευτικοί στόχοι για την αντιμετώπιση ανθρώπινων νευρολογικών νόσων. Το όλο εγχείρημα στηρίζεται στη βασική γενωμική έρευνα, η οποία ενσωματώνει στατιστική ανάλυση πραγματικών βιολογικών δεδομένων, για να προσδιορίσει την λειτουργία γονιδίων και πρωτεϊνών. Ειδικές γενωμικές και πρωτεωμικές βάσεις δεδομένων χρησιμοποιούνται για την προσομοίωση των MIN παράλληλα με πλατφόρμες μικροσυστοιχιών και πρωτεωμικής προκειμένου να διερευνηθούν οι αλληλεπιδράσεις πρωτεΐνης-πρωτεΐνης και ρυθμιστικών δικτύων. Αυτό θα βοηθήσει στην ανίχνευση και εκτίμηση βιολογικών στόχων σε σύνθετα ενδοκυτταρικά μονοπάτια, ώστε να θεραπευτούν πολυπαραγοντικές νόσοι. Η δυναμική προσομοίωση αφοσιώνεται στην βιολογία συστημάτων των σύνθετων κυτταρικών μονοπατιών και μεταγραφικών δικτύων. Τα νέα δυναμικά μοντέλα θα εκτιμηθούν δοκιμάζοντας επιλεκτικά φάρμακα στόχους σε πρωτοποριακά *in vivo* και *in vitro* συστήματα προσομοίωσης των παθολογιών του ΚΝΣ. Σε αντίθεση με τις περισσότερες σύγχρονες βιολογικές μεθόδους ανάλυσης δεδομένων, το VALAPODYN αναπτύσσει μια δυναμική και ποσοτική αναλυτική μέθοδο για νέους θεραπευτικούς στόχους δια της δυναμικής προσομοίωσης των MIN. Θα προσφέρει ένα καινοτόμο, υψηλής ακρίβειας *in silico* εργαλείο για την ανίχνευση νέων και αποτελεσματικών θεραπευτικών στόχων πιο γρήγορα, αποτελεσματικά και οικονομικά από ότι είναι ευφικτό σήμερα. (www.valapodyn.eu).

VALAPODYN: VALIDATED PREDICTIVE DYNAMIC MODEL OF COMPLEX INTRACELLULAR PATHWAYS RELATED TO CELL DEATH AND SURVIVAL

***Depaulis A.¹, Vafiadaki E.², Jackers P.³, Arvanitis D.A.², Kel-Margoulis
O.⁴, Wingender E.⁴, Vujasinovic T.⁵, Greenberg D.⁶, Soreq H.⁶,
De Pauw E.³, Dumas Milne Edwards J.B.⁵, Sanoudou D.²***

¹*Institut National de la Sante et de la Recherche Medicale, Grenoble, France,*

²*Foundation for Biomedical Research, Academy of Athens, Athens, Greece,*

³*University of Liege, Liege, Belgium, ⁴Biobase, GmbH, Wolfenbuettel, Germany,*

⁵*HELIOS, Paris, France, ⁶Hebrew University of Jerusalem, Jerusalem, Israel.*

VALAPODYN is a research network funded by the European Commission (6th Framework Program) which is developing an original systems biology approach focused on the development of multidisciplinary functional genomics related to complex biological processes and cellular networks. The aim is to generate an innovative approach to model the dynamics of molecular interaction networks (MIN) in relation to cell death and survival to detect new therapeutic targets to treat human brain diseases. The project consists of fundamental genomics research which is integrating statistical data analysis with real biological data in order to functionally annotate genes and proteins. Specialized genomics and proteomics databases for MIN modeling are being used along with leading microarray and proteomics platform systems to investigate protein-protein interactions and regulation networks. This will help to identify and validate biological targets in complex intracellular pathways to cure multifactorial diseases. Dynamic modeling specifically addresses the systems biology of complex cellular pathways and transcriptional networks. The novel dynamic models will be validated by testing the selected drug targets on innovative *in vivo* and *in vitro* models of CNS pathologies. As opposed to most current biological data analysis methods, VALAPODYN develops a dynamic and quantitative analysis method for new therapeutic targets through MIN dynamic models. It will provide a cutting-edge highly accurate *in silico* tool for identifying novel and effective therapeutic targets in a much faster, more efficient and more economical way than it is possible today. (www.valapodyn.eu).

**ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΚΑΙ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΙΝΟΒΛΑΣΤΩΝ ΑΠΟ
ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΑΜΝΙΑΚΟΥ ΥΓΡΟΥ ΚΑΙ ΠΙΘΑΝΗ ΧΡΗΣΗ ΤΟΥΣ
ΩΣ ΕΝΑ ΣΤΡΩΜΑ ΤΡΟΦΟΔΟΣΙΑΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ
ΕΜΒΡΥΙΚΩΝ ΠΟΛΥΔΥΝΑΜΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ**

*Ντινοπούλου Β.^{1,2}, Στεφανίδης Κ.¹, Αναστασιάδου Β.¹, Κουσουλάκος Σ.²,
Λουτράδης Δ.¹, Αντσακλής Α.¹*

¹ *Εργαστήριο Αναπαραγωγικής Βιολογίας και Αναγεννητικής Ιατρικής, Α Μαιευτική και
Γυναικολογική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών, Νοσοκομείο «Αλεξάνδρα», Ιατρική
Σχολή, Ε.Κ.Πανεπιστήμιο Αθηνών*

² *Τομέας Βιολογίας Κυττάρων & Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών*

Τα εμβρυικά πολυδύναμα κύτταρα είναι συνεχώς αυξανόμενες κυτταρικές σειρές, εμβρυικής καταγωγής, αρχικά απομονωμένες από την εσωτερική κυτταρική μάζα των βλαστοκύστεων. Πρόκειται για αυτοανανεώσιμα κύτταρα (μπορούν να πολλαπλασιαστούν), πολυδύναμα (μπορούν να σχηματίσουν όλους τους κυτταρικούς τύπους που απαντώνται στο σώμα) και θεωρητικά αθάνατα. Ένα στρώμα τροφοδοσίας από εμβρυικούς ινοβλάστες υποστηρίζει την ανάπτυξη των εμβρυικών πολυδυνάμων κυττάρων και αποτρέπει την αυθόρμητη διαφοροποίησή τους κατά την διάρκεια της καλλιέργειας. Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να δημιουργήσουμε ένα πρωτόκολλο καλλιέργειας κυττάρων αμνιακού υγρού και να διαφοροποιήσουμε τα κύτταρα αυτά σε ινοβλάστες ώσπου έπειτα να εναποθέσουμε πάνω τους τα εμβρυικά πολυδύναμα κύτταρα. Αμνιακό υγρό φυγοκεντρήθηκε και το ίζημα μεταφέρθηκε σε flask των 25 cm² όπου καλλιεργήθηκε με το ειδικό καλλιεργητικό υλικό "Stefanidis medium". Έπειτα από 12-14 μέρες έχουμε ινοβλάστες οι οποίοι εξακολουθούν να έχουν φυσιολογικό καρύοτυπο και ανιχνεύθηκαν σε αυτούς ανοσοϊστοχημικά οι δείκτες Vimentin και CD44, γεγονός που μαρτυρά ότι πρόκειται για ινοβλαστικά κύτταρα. Η μετέπειτα εναπόθεση πάνω σε αυτούς εμβρυικών πολυδυνάμων κυττάρων απομονωμένων από βλαστοκύστη και η διατήρηση των μορφολογικών χαρακτηριστικών και των δύο ειδών κυττάρων, μαρτυρά την πιθανή χρήση τους ως ένα ικανό στρώμα τροφοδοσίας, καθαρά ανθρώπινης προέλευσης, και αποτελεί ένα ισχυρό κίνητρο περαιτέρω ερευνών.

**ISOLATION AND CULTURE OF FIBROBLASTS FROM
AMNIOTIC FLUID AND POSSIBLE USE OF THEM AS A FEEDER
LAYER FOR THE GROWTH OF EMBRYONIC STEM (ES) CELLS.**

***Dinopoulou V.^{1,2}, Stefanidis K.¹, Anastasiadou V.¹, Kousoulakos S.²,
Loutradis D.¹, Antsaklis A.¹***

*¹Laboratory of Reproductive Biology and Regenerative Medicine, 1st Dept of Obstetrics
and Gynecology, Athens University Medical School*

²Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens

The Embryonic Stem (ES) cells are continuously growing cell lines of embryonic origin, first isolated from the inner cell mass (ICM) of blastocysts. They are self-renewable cells (they can proliferate), pluripotent (they can form all the types of the cells that there are in a body) and theoretically immortal. A feeder layer from embryonic fibroblasts support ES growth and prevent their spontaneous differentiation during culture. The aim of this study was to create a protocol for culturing the cells of amniotic fluid and differentiate them into fibroblasts in order to grow on them ES cells. Amniotic fluid centrifuged and the sediment transferred at a 25 cm² flask with the culture medium "Stefanidis medium". After 12-14 days we have fibroblasts which maintain normal karyotype and express through immunofluorescence the markers Vimentin and CD44, fact that testifies that we have fibroblast-like cells. The later superposition on them ES cells isolated from the ICM of blastocysts and the maintenance of their morphological characteristics, testifies the possible use of fibroblasts as a capable feeder layer, from human-origin, and opens new perspectives for new studies.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ Τ ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΤΗΝ HIV ΛΟΙΜΩΞΗ ΜΕ ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑ ΡΟΗΣ

Νώση Ε.¹, Ψαρρά Κ.², Καψιμάλη Β.², Τσιτσιλώνη Ο.¹, Παπαστεριάδη Χ.²

¹ Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

² Τμήμα Ανοσολογίας- Ιστοσυμβατότητας, Γ.Ν.Α. «Ο Ευαγγελισμός», Αθήνα

Τα Τ ρυθμιστικά λεμφοκύτταρα (Tregs) αντιπροσωπεύουν ένα μικρό υποπληθυσμό των CD4+ Τ λεμφοκυττάρων, με κατασταλτική /ρυθμιστική δράση, συμπεριλαμβανομένης και της ειδικής έναντι του HIV ανοσιακής απάντησης. Διακρίνονται α) στα εγγενή, προερχόμενα από το θύμο CD4+CD25^{high} Τ ρυθμιστικά λεμφοκύτταρα (naturally -occurring population of CD4+CD25+ Tregs, nTregs) και β) στα επαγόμενα CD4+CD25^{med} Τ ρυθμιστικά λεμφοκύτταρα (induced CD4+CD25+ Tregs, iTregs).

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η ανοσοφαινοτυπική διάκριση των nTregs και των iTregs, ώστε να εκτιμηθεί η συμβολή τους στην απάντηση του ανοσιακού συστήματος έναντι της HIV λοίμωξης.

Υλικά και Μέθοδος: Ο ανοσοφαινότυπος των Tregs στο περιφερικό αίμα από 20 φυσιολογικούς μάρτυρες και 20 ασθενείς HIV(+) αναλύθηκε με τριχρωματική και τετραχρωματική ανάλυση με τη μέθοδο του άμεσου ανοσοφθορισμού και με κυτταρομετρία ροής. Χρησιμοποιήθηκαν συνδυασμοί των παρακάτω αντισωμάτων: CD4, CD25, CD127, CD152, CD45RO, CD45RA, CD103, CD195, anti-FoxP3 και HLADR. Για την ενδοκυττάρια χρώση της πρωτεΐνης FoxP3 και του CD152 χρησιμοποιήθηκε ειδική επεξεργασία των κυττάρων για την αύξηση της διαπερατότητας της μεμβράνης.

Αποτελέσματα: 1) Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντικά αυξημένη έκφραση του FoxP3 και σημαντικά ελαττωμένη έκφραση του CD127 στα nTregs σε σχέση με τα iTregs και τα CD4+CD25⁻ κύτταρα ($p < 0,0001$), 2) Τα nTreg κύτταρα παρουσίασαν αυξημένη έκφραση του HLADR, του CD152 (CTLA-4) και του CD45RO, ενώ παρουσίασαν ελαττωμένη έκφραση του CD45RA σε σχέση με τους άλλους δυο πληθυσμούς ($p < 0,0001$). Τέλος, οι HIV+ ασθενείς παρουσίασαν ελαττωμένο ποσοστό

FoxP3+ nTregs σε σχέση με τα φυσιολογικά άτομα ($p < 0,0001$).

Συμπεράσματα: Η κυτταρομετρία ροής αποτελεί απλή, ταχεία και αποτελεσματική μέθοδο προσδιορισμού των Tregs. Τα ελαττωμένα ποσοστά των nTregs συμβάλλουν πιθανά στην αυξημένη ενεργοποίηση του ανοσιακού συστήματος στην HIV λοίμωξη.

CD4+CD25+ REGULATORY T CELLS IN HIV INFECTION BY FLOW CYTOMETRY

Nossi E.¹, Psarra K.², Kapsimali V.², Tsitsiloni O.¹, Papasteriades Chr.²

¹*Dept. of Biology, National and Kapodistrian University of Athens*

²*Dept. of Immunology and Histocompatibility, Evaggelismos Hospital, Athens*

Regulatory T cells (Tregs) are a minor subpopulation of CD4+ T cells, previously shown to inhibit immune responses directed against numerous pathogens, as well as HIV- specific T cell responses. Tregs are classified into two populations: a) the naturally – occurring population of CD4+CD25^{high} Tregs, nTregs) and b) the induced population of CD4+CD25^{med} Tregs, iTregs).

The aim of this study was to distinguish the nTregs from the iTregs by immunophenotype, in order to estimate their impact on the immune response against HIV infection.

Materials and Methods: Peripheral blood Tregs immunophenotype of 20 HIV–infected and 20 healthy controls has been analyzed by three and four-colour flow cytometry. Direct immunostaining with combinations of the following mAbs [CD4, CD25, CD127, CD152 (CTLA-4), CD45RO, CD45RA, CD103, CD195, HLA-DR and anti- FoxP3] has been used. For the intracellular staining of the functional marker, FoxP3 and CD152, a specific treatment of the cells has been performed so as to increase membrane permeability.

Results: a) A significantly increased expression of FoxP3 and a significantly decreased expression of CD127 was found in nTregs, in comparison to iTregs and CD4+CD25– T cells ($p < 0.0001$), b) nTregs showed a significantly elevated expression of HLADR, CD152 and CD45RO, while they showed a decreased expression of CD45RA as compared with the other two populations ($p < 0.0001$). Finally, the level of FoxP3+ nTregs, detected in HIV-infected individuals, was significantly decreased in comparison to healthy controls ($p < 0.0001$).

Conclusions: Flow Cytometry is a simple, quick and effective technology for the determination of Tregs. Decreased nTregs percentages may contribute to the excessive activation of the immune system in HIV+ patients.

**ΑΚΕΤΥΛΙΩΣΗ ΙΣΤΟΝΩΝ ΚΑΙ ΚΙΡΚΑΔΙΚΟ ΡΟΛΟΙ: ΜΕΛΕΤΗ
ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΤΡΙΧΟΣΤΑΤΙΝΗΣ Α (TSA) ΚΑΙ ΤΗΣ
ΚΟΥΡΚΟΥΜΙΝΗΣ ΣΤΗΝ ΕΚΦΡΑΣΗ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΤΟΥ ΡΟΛΟΓΙΟΥ
ΣΕ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΠΟΝΤΙΚΟΥ ΝΗ3Τ3**

Ξυδούς Μ.¹, Σέκερη-Παταργιά Κ.Ε.¹, Προμπονά Α.² και Τ.Γ. Σουρλίγκα¹

*Εργαστήρια «Βιοχημείας Ιστονών»¹ και «Χρονοβιολογίας»² του Ινστιτούτου
Βιολογίας, Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. «ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ», 15310 Αγία Παρασκευή, Αττικής*

Όλα τα βιολογικά συστήματα μετρούν το χρόνο με κίρκαδικούς (circadian, από το circa dies= περίπου μία μέρα) κύκλους και παράγουν τους ημερήσιους ρυθμούς σε διάφορες λειτουργίες του οργανισμού. Ο κεντρικός μηχανισμός του κίρκαδικού ή αλλιώς βιολογικού ρολογιού των θηλαστικών εδράζεται στον υπερχιασματικό πυρήνα (ΥΧΠ) του εγκεφάλου. Εκτός του ΥΧΠ, λειτουργούν ενδογενείς ταλαντωτές και σε περιφερειακούς ιστούς, ακόμη και σε απομονωμένα κύτταρα. Βασικά στοιχεία του μοριακού μηχανισμού του ρολογιού, τόσο στον κεντρικό όσο και στους περιφερειακούς ταλαντωτές, αποτελούν τα γονίδια *per1*, *per2*, *cry1*, *cry2*, *clock*, *bmall*, *rev-erba*. Στα γονίδια *per1*, *per2* και *cry1* ο βαθμός ακετυλίωσης της ιστόνης H3 στους υποκινητές παρουσιάζει ρυθμικότητα σύμφωνη με τα επίπεδα των mRNAs τους. Αυτό αποτελεί ισχυρότατη ένδειξη για άμεση σχέση ανάμεσα στην ακετυλίωση των ιστονών και τη ρύθμιση του ρολογιού. Στόχος της παρούσας εργασίας αποτελεί η διερεύνηση του κατά πόσον η δράση χημικών ουσιών που τροποποιούν το βαθμό ακετυλίωσης, επηρεάζει την έκφραση γονιδίων των βασικών στοιχείων του ταλαντωτή. Οι ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν είναι η τριχοστατίνη Α (TSA), αναστολέας των αποακετυλασών των ιστονών και η κουρκουμίνη, αναστολέας της ακετυλομεταφοράς των ιστονών, p300. Το σύστημα μελέτης αποτελούν καλλιέργειες αθανατοποιημένων ινοβλαστών ποντικού ΝΗ3Τ3, στα κύτταρα των οποίων συγχρονίστηκε το κίρκαδικό ρολόι με χρήση του κορτικοειδούς δεξαμεθαζόνη. Οι καλλιέργειες συγχρονίζονται εξωγενώς, λόγω απουσίας των ερεθισμάτων από τον ΥΧΠ. Τα αποτελέσματά δείχνουν ότι τα επίπεδα έκφρασης γονιδίων του ρολογιού (*per2*, *cry1*) μεταβάλλονται διαφορετικά με τη χρήση του TSA ή της κουρκουμίνης. Επιπλέον οι μεταβολές αυτές διαφοροποιούνται ανάλογα με τον κίρκαδικό χρόνο εφαρμογής των ουσιών αυτών στην καλλιέργεια.

**HISTONE ACETYLATION AND THE CIRCADIAN CLOCK:
EFFECT OF TRICHOSTATIN A (TSA) AND CURCUMIN ON
CIRCADIAN CLOCK GENE EXPRESSION LEVELS IN MOUSE
NIH3T3 CELL CULTURES**

Xidous M.¹, Sekeri-Pataryas K.E.¹, Prombona A.² and T.G. Sourlingas¹

*Laboratories of “Histone Biochemistry”¹ and “Chronobiology”² of the Institute of
Biology, N.C.S.R “DEMOKRITOS” 15310 Aghia Paraskevi, Attiki*

All biological systems adapt to the solar cycle and time their daily events by circadian (circa dies = about a day) cycles in physiology and behavior. This cycling is regulated by the activity of the biological clock. In mammals, the central pacemaker of the biological clock is located in the suprachiasmatic nucleus (SCN) of the brain. Circadian oscillators are also found in peripheral tissues, even in isolated cells. The fundamental components of the clockwork mechanism, both in the central and in the peripheral oscillators are the *per1*, *per2*, *cry1*, *cry2*, *clock*, *bmal1*, *rev-erba* genes. It is known that the oscillating transcriptional activity of *per1*, *per2* and *cry1* is preceded by the rhythmic acetylation of H3 histones in the promoter regions of these genes. This shows that circadian clock gene function is directly associated with histone acetylation levels. The aim of this study is to investigate how agents that change histone acetylation levels affect the expression levels of clock genes. For this purpose, we utilized two substances known to modify histone acetylation levels, the histone deacetylase inhibitor, trichostatin A (TSA) and curcumin, an inhibitor of the histone acetyltransferase, p300. The cell system used are NIH3T3 cultures (immortalized mouse fibroblasts), after synchronization of their circadian oscillators by the corticoid, dexamethazone. Externally-derived synchronization of each individual cell's rhythmicity is necessary, since the stimuli from the SCN are absent in cell cultures. The results from this work show that TSA or curcumin each differentially affects the expression levels of the *per2* and *cry1* clock genes. Moreover, we observed that circadian timing is important in modulating the effect of TSA or curcumin on clock gene expression levels.

ΝΕΥΡΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ ΑΝΑΛΟΓΩΝ ΣΤΕΡΟΕΙΔΩΝ ΣΕ P19-N ΝΕΥΡΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ

Ξυλούρη Μ., Αυλωνίτης Ν.*, Καλογεροπούλου Θ.* και Παπαζαφείρη Π.

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

**Ινστιτούτο Οργανικής και Φαρμακευτικής Χημείας, Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών*

Τα ενδογενή νευροστεροειδή είναι ισχυροί αλλοστερικοί τροποποιητές του υποδοχέα GABA_A και μέσω ενίσχυσης της λειτουργίας του υποδοχέα, μπορούν να προστατεύσουν τα νευρικά κύτταρα έναντι της αυξημένης ενεργοποίησης του υποδοχέα NMDA, της ισχαιμίας και της τραυματικής εγκεφαλικής βλάβης. Στην παρούσα μελέτη, P19 πολυδύναμα εμβρυϊκά καρκινικά κύτταρα διαφοροποιήθηκαν σε μετα-μιτωτικούς νευρώνες (P19-N) και υποβλήθηκαν σε υπερδιεγερσιμότητα, παρουσία του διεγερτικού αμινοξέος: Ν μέθυλο-D-ασπαρτικό οξύ. Συνθετικά ανάλογα των ενδογενών νευροστεροειδών, αλλοπρεγνανολόνη και δεϋδροεπιανδροστερόνη, ανέστειλαν το διεγερτικό κυτταρικό θάνατο των P19-N νευρώνων, μέσω α) άμεσης ενεργοποίησης της κινάσης PKB/Akt που προάγει την κυτταρική επιβίωση και β) παρέμβασης στο ενδογενές μιτοχονδριακό αποπτωτικό μονοπάτι, διατηρώντας το κυτόχρωμα *c* στα μιτοχόνδρια και την προ-αποπτωτική πρωτεΐνη Bax στο κυτταρόπλασμα. Η αποτελεσματικότητα και η δραστηριότητα αυτών των αναλόγων ήταν αντίστοιχες των ενδογενών νευροστεροειδών αλλοπρεγνανολόνη και δεϋδροεπιανδροστερόνη. Διαπιστώθηκε επίσης ότι οι παραπάνω δράσεις εξαρτώνται από την αλληλεπίδραση των νευροστεροειδών με το σύμπλοκο του υποδοχέα GABA_A, αφού αναστέλλονταν παρουσία του ειδικού ανταγωνιστή της λειτουργίας του υποδοχέα, μικουκουλίνη. Τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν ότι συνθετικά νευροστεροειδή δρώντας στο επίπεδο της κυτταρικής μεμβράνης, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως πιθανοί νευροπροστατευτικοί παράγοντες έναντι της τοξικότητας που προκαλεί η αυξημένη ενεργοποίηση του υποδοχέα NMDA.

- *Η εργασία αυτή χρηματοδοτείται από την Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας (ΠΕΝΕΑ 2001)*

NEUROPROTECTIVE EFFECTS OF STEROID ANALOGUES ON P19-N NEURONS

*Xilouri M., Avlonitis N. *, Calogeropoulou T. *, and Papazafiri P.*

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

** Institute of Organic and Pharmaceutical Chemistry, National Hellenic Research Foundation*

Naturally occurring neurosteroids are potent allosteric modulators of γ -aminobutyric acid_A receptor and through stimulation of receptor function, can protect neuronal cells against N-methyl-D-aspartate receptor over-activation, ischemia and traumatic brain injury. In this study, mouse P19 cells were induced to differentiate into post mitotic neurons and were subjected to excitotoxicity in the presence of N-methyl-D-aspartate. Novel synthetic analogues of the endogenous neurosteroids allopregnanolone and dehydroepiandrostrone, inhibited excitotoxic cell death of P19-N neurons, by directly maintaining the activation of PKB/Akt kinase and interfering with the intrinsic mitochondrial apoptotic pathway, preserving cytochrome *c* in the mitochondria and Bax in the cytoplasm. The efficiency and the potency of these neurosteroids were similar to those of allopregnanolone and dehydroepiandrostrone. Their effects were γ -aminobutyric acid_A receptor mediated, since they were abolished in the presence of bicuculline, an antagonist of receptor's function. These results suggest that synthetic neurosteroids may serve as potent, membrane acting, neuroprotectants against N-methyl-D-aspartate receptor neurotoxicity on neuronal cells.

- *This work is funded by the General Secretariat of Research and Technology, Athens, Greece (PENED, 2001)*

ΜΕΛΕΤΗ ΧΡΩΣΤΙΚΩΝ ΣΕ ΑΝΘΗ ΟΠΩΡΟΦΟΡΩΝ ΔΕΝΤΡΩΝ

Οικονόμου Σ., Ριζοπούλου Σ.

*Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο
Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, 15784, Αθήνα.
E-mail: stamaell@hotmail.com, srhizop@biol.uoa.gr*

Μελετήθηκαν άνθη από δέντρα γιγαρτόκαρπα, μηλιά (*Malus domestica* Borkh) και αχλαδιά (*Pyrus communis* L.) και πυρηνόκαρπα, κερασιά (*Prunus avium* L.) και βερικοκιά (*Prunus armeniaca* L.), την άνοιξη του 2006. Η συλλογή του υλικού πραγματοποιήθηκε στο χωριό Μεταξοχώρι Αγιάς, του νομού Λαρίσης. Οι φυτικοί ιστοί αποξηράνθηκαν σε κλίβανο (θερμοκρασία ~50 °C) και εκχυλίστηκαν χλωροφύλλες (με ακετόνη 80%), χρωστικές που αντανakλούν στο υπεριώδες (U.V.) τμήμα του φάσματος (με αιθανόλη 80%) και ανθοκυανίνες (με μεθανόλη 80% και HCl 1%). Οι μετρήσεις έγιναν σε φωτόμετρα Cary και Hitachi (από 200 έως 700 nm) και με το πρόγραμμα Origin 5.0 Professional εκφράστηκε γραφικά η απορρόφηση σε σχέση με το μήκος κύματος (nm). Τα αποτελέσματα έδειξαν πως τα άνθη εμφανίζουν ένα μέγιστο στο εγγύς υπεριώδες (όπου U.V. χρωστικές) και σε περιοχή >600 nm (όπου ανθοκυανίνες). Προσδιορίστηκε η συσσώρευση της προλίνης και από τα αποτελέσματα προκύπτει πως τα άνθη των οπωροφόρων δέντρων που μελετήθηκαν δεν καταπονούνται από χαμηλές θερμοκρασίες. Φωτογραφήθηκαν τα άνθη στο υπεριώδες μέρος του φάσματος και αναδείχθηκε εικόνα που (πιθανά) είναι αντιληπτή από τα έντομα, αλλά αόρατη για την ανθρώπινη αντίληψη.

- Ευχαριστούμε τον Καθηγητή Φρ. Κολλίση (Διευθυντή Ινστιτούτου Βιολογικών Ερευνών και Βιοτεχνολογίας, Ε.Ι.Ε) για τα φωτόμετρα που μας παρέιχε, τον Δρ. Μ. Δουλγερίδη (Διευθυντή Καλλιτεχνικής Συντήρησης) και τον Π. Ρομπάκη (συντηρητή έργων τέχνης) της Εθνικής Πινακοθήκης, για βοήθεια στη φωτογράφιση ανθών.
- Η παρούσα εργασία διενεργείται στα πλαίσια του έργου Κ.Α. 70/3/8036, το οποίο συγχρηματοδοτείται από το Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο και Εθνικούς Πόρους (ΕΠΕΑΕΚ II) ΠΥΘΑΓΟΡΑΣ II.

A STUDY OF FLOWER PIGMENTS FROM CULTIVATED TREES

Economou S., Rhizopoulou S.

*Department of Botany, Faculty of Biology, National & Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis, 157 84, Athens – Greece.
E-mail: stamaell@hotmail.com, srhizop@biol.uoa.gr*

In this study, the flowers of the apple tree (*Malus domestica* Borkh), of the pear tree (*Pyrus communis* L.), as well as of the cheery tree (*Prunus avium* L.) and the peach tree (*Prunus armeniaca* L.) have been examined, during spring (2006). The collection of the flower material was carried out at the village Metaxohori (Agia) of Larissa. From petals drained in an oven (temperature ~50⁰C), pigments were extracted; chlorophylls (with acetone 80%), U.V. pigments (with ethanol 80%) and anthocyanins (with methanol 80% and HCl 1%). The measurements were carried out by using Cary and Hitachi photometers (200-700 nm) and with the program Origin 5.0 professional they were articulated in graphs of absorbance in relation to the wavelength (nm). The results demonstrate that all the flowers exhibit maxima on the near-ultraviolet (where the U.V. pigments) and at the area over 600 nm, (where the anthocyanins). By using ultraviolet photography, the image of the flowers that might appear to pollinators, is presented.

- *We are grateful to Prof. Fr. Kollisis (Institute of Biological research and Biotechnology, National Hellenic Research Foundation) for help with equipments, to Dr. M. Doulgeridis (Research director of the National Gallery of Greece) and to P. Rompakis for help with the photos of flowers.*
- *This work is part of a project (70/3/8036) co-funded by the European Social Fund and National Resources - (EPEAEK II) PYTHAGORAS II.*

**ΣΥΧΝΟΤΗΤΕΣ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΠΟΥ ΣΥΜΜΕΤΕΧΟΥΝ
ΣΕ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥΣ: Α) ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗΣ DNA ΚΑΙ Β) ΑΠΟΤΟΞΙΚΟ-
ΠΟΙΗΣΗΣ ΧΗΜΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΜΕΣΩ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΤΗΣ
ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΗΣ ΣΕ ΔΕΙΓΜΑ ΕΛΛΗΝΙΚΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ**

Ουρανού Α., Στεφάνου Γ., Δημόπουλος Ν.Α.

*Τομέας Γενετικής, Βιολογίας Κοττάρου και Ανάπτυξης,
Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών*

Τα πολυμορφικά γονίδια XPC και XPD συμμετέχουν στο μηχανισμό επιδιόρθωσης εκτομής νουκλεοτιδίων (NER), που είναι υπεύθυνος για την αποκατάσταση βλαβών που παραμορφώνουν την έλικα του DNA, εξασφαλίζοντας έτσι την ορθή μεταγραφή και αντιγραφή του γονιδιώματος. Το προϊόν του γονιδίου XRCC1 αποτελεί μια πρωτεΐνη-ικρίωμα, που διευκολύνει τις διαδικασίες κατά την επιδιόρθωση εκτομής βάσεων (BER). Ο μηχανισμός αυτός είναι υπεύθυνος για την αποκατάσταση μικρών χημικών αλλαγών σε μεμονωμένες βάσεις, οι οποίες συχνά προκαλούν μεταλλαξιγένεση. Στον ίδιο μηχανισμό, συμμετέχει το γονίδιο hOGG1, το οποίο κωδικοποιεί μία DNA γλυκοσιλάση, που αναγνωρίζει και απομακρύνει την τροποποιημένη βάση 8-oxoguanine. Τα προϊόντα των γονιδίων GSTM1, GSTT1, GSTP1 ανήκουν στην πολυγονιδιακή οικογένεια των S-τρανσφερασών της γλουταθειόνης, συμμετέχουν στη φάση II του μεταβολισμού και αποτοξικοποιούν ηλεκτρόφιλες τοξικές και καρκινογόνες χημικές ενώσεις, καταλύοντας τη σύνδεση τους με τη γλουταθειόνη. Οι πολύμορφισμοί των γονιδίων XPC(Lys939Gln), XPD(Lys751Gln), XRCC1 (Arg194Trp και Arg399Gln), hOGG1(Ser326Cys), GSTP1 (Ile105Val), προκύπτουν από αλλαγή βάσης, ενώ των GSTM1 και GSTT1 από έλλειμμα του γονιδίου. Στην παρούσα εργασία προσδιορίστηκαν οι συχνότητες συγκεκριμένων πολυμορφισμών των προαναφερθέντων γονιδίων σε 30 ενήλικες. Η γονιδιοτύπηση πραγματοποιήθηκε με απομόνωση DNA από ολικό αίμα, ενίσχυση συγκεκριμένων περιοχών των αντίστοιχων γονιδίων με PCR και πέψη των προϊόντων της PCR με κατάλληλα ένζυμα περι-ορισμού σε όλα τα γονίδια εκτός των GSTM1 και GSTT1 για τα οποία δεν απαιτείται πέψη. Τα προϊόντα της PCR και της πέψης αναλύθηκαν ηλεκτροφορητικά. Οι προσδιορισθείσες συχνότητες είναι σύμφωνες με τα βιβλιογραφικά δεδομένα που αφορούν την Καυκάσια φυλή.

**FREQUENCIES OF POLYMORPHIC GENES THAT PARTICIPATE
IN: A) DNA REPAIR MECHANISMS AND B) DETOXIFICATION
MECHANISMS OF CHEMICAL COMPOUNDS THROUGH THE
GLUTATHIONE SYSTEM IN A GREEK POPULATION SAMPLE**

Ouranou D., Stephanou G., Demopoulos N.A.

*Division of Genetics, Cell and Developmental Biology,
Department of Biology, University of Patras*

The XPC and XPD polymorphic genes participate in the nucleotide excision repair pathway (NER) that is responsible for the restoration of the DNA helix distortions, thus ensuring the correct transcription and replication of DNA. The product of the XRCC1 gene is a scaffold protein that facilitates the procedures of the base excision repair pathway (BER). The base excision repair mechanism (BER) is responsible for the restoration of small chemical alterations of bases that trigger mutagenesis. The hOGG1 gene participates in the same mechanism, BER, encoding a DNA glycosylase, which identifies and removes the modified base 8-oxoguanine. The products of the GSTM1, GSTT1, GSTP1 genes are members of the glutathione S-transferase multigene family, participate in phase II metabolism and inactivate toxic and carcinogenic electrophiles by catalyzing their conjugation to GSH. The polymorphisms of the XPC(Lys939Gln), XPD(Lys751Gln), XRCC1 (Arg194Trp and Arg399Gln), hOGG1(Ser326Cys), GSTP1(Ile105Val) genes is the result of one base alteration, while that of GSTM1 and GSTT1 emerge from gene deletion. In the present study we determined the frequencies of one polymorphism of the GSTM1, GSTT1, GSTP1, XPC, XPD, hOGG1 genes and two polymorphisms of the XRCC1 gene in a sample of 30 individuals. Genotyping was performed by isolation of DNA from whole blood, amplification of certain gene regions using the PCR method (GSTM1 and GSTT1) and digestion of the PCR products (GSTP1, XPC, XPD, hOGG1, XRCC1) with the proper restriction enzymes. The PCR and digestion products were analyzed electrophoretically. The calculated frequencies are in accordance with previous studies referring on the Caucasian race.

ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΜΕΤΑΞΥ ΤΩΝ ΔΥΟ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΚΙΝΗΤΗΣ ΤΗΛΕΦΩΝΙΑΣ, GSM-900MHZ ΚΑΙ DCS-1800MHZ

Παναγόπουλος Δ.Ι., Χαβδούλα Ε.Δ. και Α.Χ. Μαργαρίτης

Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών

Τα τελευταία χρόνια μεγάλος αριθμός πειραματικών μελετών, καταδεικνύουν σοβαρές βιολογικές επιδράσεις της παλμικής ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας ραδιοφωνικών συχνοτήτων, (RF), που προέρχεται από τα δύο Ευρωπαϊκά συστήματα κινητής τηλεφωνίας, GSM-900 MHz, (Global System for Mobile telecommunications), και DCS-1800 MHz, (Digital Cellular System), σε διαφορετικά είδη κυττάρων και οργανισμών, (Panagoroulos et al 2004; 2007). Οι δύο τύποι ακτινοβολίας κινητής τηλεφωνίας χρησιμοποιούν διαφορετικές φέρουσες συχνότητες, δίνοντας αντίστοιχα και διαφορετικά φάσματα εκπομπής, ενώ συχνά διαφέρουν και στην τιμή της έντασης, καθώς οι κεραίες GSM έχουν σχεδόν διπλάσια ισχύ εκπομπής από τις αντίστοιχες DCS. Στα πειράματά μας θέλοντας να συγκρίνουμε τη βιολογική δραστηριότητα των δύο τύπων ακτινοβολίας, χρησιμοποιήσαμε το πρότυπο βιολογικό σύστημα της ωογένεσης του εντόμου *Drosophila melanogaster*. Όπως προέκυψε από τα πειράματα και οι δύο τύποι ακτινοβολίας μειώνουν σημαντικά την αναπαραγωγική ικανότητα του εντόμου με μη θερμικό μηχανισμό, όμως η ακτινοβολία του συστήματος GSM (Vodafone, Tim) βρέθηκε να είναι πιο δραστική από την DCS (Cosmote). Η διαφορά αυτή φαίνεται ότι οφείλεται κυρίως στη μεγαλύτερη ένταση πεδίου και λιγότερο στη φέρουσα συχνότητα. Σε προηγούμενα πειράματα του εργαστηρίου μας, έχει βρεθεί ότι η παρατηρούμενη μείωση της αναπαραγωγικής ικανότητας του εντόμου, οφείλεται στην καταστροφή μεγάλου αριθμού ωοθυλακίων κατά τη διάρκεια της ωογένεσης, λόγω επαγόμενου κυτταρικού θανάτου (καταστροφής DNA) στα κύτταρα των ωοθυλακίων. Ο κυτταρικός θάνατος διαπιστώθηκε ότι επάγεται σε όλα τα προβιτελογενετικά και βιτελογενετικά στάδια της ωογένεσης, καθώς και σε όλα τα είδη κυττάρων που αποτελούν τα ωοθυλάκια, (Panagoroulos et al. 2007). Ανάλογες επιδράσεις δεν έχουν παρατηρηθεί από άλλους στρεσογόνους παράγοντες όπως η στέρηση τροφής ή το χημικό στρες, γεγονός που καταδεικνύει τα ηλεκτρομαγνητικά πεδία της κινητής τηλεφωνίας σε πιο σοβαρό παράγοντα στρες σε σχέση με άλλους που είχαν μελετηθεί μέχρι τώρα. Όπως έχουμε εξηγήσει, (Panagoroulos et al. 2007) αντίστοιχα φαινόμενα κυτταρικού θανάτου στα ανθρώπινα εγκεφαλικά κύτταρα κατά τη διάρκεια τηλεφωνικών συνομιλιών είναι σε κάθε περίπτωση πολύ πιθανά και θα μπορούσαν να εξηγήσουν διάφορα συμπτώματα πονοκεφάλων, κόπωσης, αϋπνίας κ.λ.π. που αναφέρονται τα τελευταία χρόνια σαν “μικροκυματικό σύνδρομο”. Βιοφυσική ερμηνεία των παραπάνω επιδράσεων μπορεί να δοθεί από τον μηχανισμό επίδρασης των ηλεκτρομαγνητικών πεδίων στα κύτταρα που έχουμε προτείνει, (Panagoroulos et al. 2002). Σύμφωνα με τη θεωρία αυτή, η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία των κινητών τηλεφώνων είναι δυνατόν να αλληλεπιδρά με τα ηλεκτροευαίσθητα κανάλια των κυτταροπλασματικών μεμβρανών προκαλώντας αντικανονικό άνοιγμα ή κλείσιμό τους, μεταβάλλοντας τις ενδοκυτταρικές συγκεντρώσεις ιόντων και συνακόλουθα την όλη κυτταρική λειτουργία. Επιπλέον, η θεωρία αυτή αποδεικνύει ότι τα παλμικά πεδία είναι πιο δραστικά από τα μη-διακοπτόμενα. Σύμφωνα λοιπόν με τον προταθέντα μηχανισμό, τα πεδία πολύ χαμηλής συχνότητας ELF που περιλαμβάνονται στα σήματα GSM και DCS είναι ικανά να προκαλέσουν τις παρατηρούμενες βιολογικές επιδράσεις.

- Η εργασία αυτή χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Πανεπιστημίου Αθηνών

COMPARISON OF BIOACTIVITY BETWEEN GSM-900MHZ AND DCS-1800MHZ, MOBILE TELEPHONY RADIATION

Panagopoulos D.J., Chavdoula E.D., and L.H. Margaritis

Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens

An increasing number of studies find that pulsed Radio Frequency, (RF), electromagnetic radiation of both systems of digital mobile telephony, established and commonly used in Europe during the last years, GSM 900MHz (Global System for Mobile telecommunications) and DCS 1800MHz (Digital Cellular System), exert intense biological action on different organisms and cells, (Panagopoulos et al 2004; 2007). The two types of cellular telephony radiation use different carrier frequencies and give different frequency spectra, but they usually also differ in intensity, as GSM 900MHz antennas operate at about double the power output than the corresponding DCS 1800MHz ones. In our present experiments, we used a model biological system, the reproductive capacity of *Drosophila melanogaster*, to compare the biological activity between the two systems of cellular mobile telephony radiation. Both types of radiation were found to decrease significantly and non-thermally the insect's reproductive capacity, but GSM 900MHz seems to be even more bioactive than DCS 1800MHz. The difference seems to be dependent mostly on field intensity and less on carrier frequency. Earlier experiments of ours have confirmed that the large decrease in the reproductive capacity of the experimental animal caused by the Mobile Telephony Radiation, is due to elimination of large numbers of egg-chambers during oogenesis, after induced death (DNA fragmentation) of their constituent cells, induced by both types of fields/radiation. Cell death was found to be induced during all developmental stages of early and mid oogenesis and in all kinds of egg chamber cells, phenomena that are not observed to be produced by other stress factors like poor nutrition or chemical stress, therefore suggesting that electromagnetic stress induced by cellular mobile telephony radiations is probably a more intense type of stress than those previously examined. As we have explained (Panagopoulos et al. 2007), similar effects on humans are certainly possible. In this case, induced cell death on a number of brain cells could explain symptoms like headaches, fatigue, sleep disturbances etc, reported as "microwave syndrome". A biophysical explanation of the recorded effects can be given by the mechanism proposed by us, (Panagopoulos et al. 2002), for the action of electromagnetic fields on cells. According to this theory, mobile telephony signals are able to irregularly gate electrosensitive channels on a cell's plasma membrane and therefore disrupt cell function. Additionally, pulsed fields are shown to be more bioactive than continuous ones. Therefore, according to our proposed mechanism, the ELF components of GSM and DCS signals are able to disrupt cell function and possibly produce the above effects.

Panagopoulos D.J., Karabarbounis A. and Margaritis L.H., (2004), Effect of GSM 900MHz Mobile Phone Radiation on the Reproductive Capacity of *Drosophila melanogaster*, *Electromagnetic Biology and Medicine*, 23(1), 29-43.

Panagopoulos DJ, Chavdoula ED, Nezis IP and Margaritis LH, (2007): Cell Death induced by GSM 900MHz and DCS 1800MHz Mobile Telephony Radiation, *Mutation Research*, 626, 69-78.

Panagopoulos D.J., Karabarbounis, A. and Margaritis L.H., (2002), "Mechanism for action of electromagnetic fields on cells", *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 298(1), 95-102.

- *This work was supported by the Special Account for Research Grants of the University of Athens*

ΟΡΓΑΝΩΣΗ ΚΑΙ ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑΚΩΝ ΜΙΚΡΟΝΗΜΑΤΙΩΝ ΑΚΤΙΝΗΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΟΝΤΟΓΕΝΕΣΗ ΤΩΝ ΣΤΟΜΑΤΙΚΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΜΕ ΚΑΤΑΦΡΑΚΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΥΠΟΥ ΑΛΤΗΡΑ

Παντερής Ε.¹, Γαλάτης Β.², Quader Η.³, Αποστολάκος Π.²

¹Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βοτανικής, ΑΠΘ

²Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βοτανικής, ΕΚΠΑ

³Biocenter Klein Flottbek, University of Hamburg

Ο κύριος προσανατολισμός των περιφερειακών μικρονηματίων ακτίνης (MA), στην πρωτοδερμική περιοχή όπου συντελείται η οντογένεση των στοματικών συμπλόκων στα φυτά *Zea mays* και *Triticum turgidum*, είναι κάθετος στον κατά μήκος άξονα του φύλλου. Σε όλες τις κυτταροδιαίρέσεις που λαμβάνουν χώρα, τα περιφερειακά MA αναδιοργανώνονται δυναμικά, εν μέρει ακολουθώντας τα πρότυπα των περιφερειακών μικροσωληνίσκων, χωρίς ωστόσο να συμμετέχουν στον καθορισμό του επιπέδου διαίρεσης. Κατά τη μίτωση, συγκεντρώσεις MA (AF-patches) παρατηρούνται κοντά στους πόλους της ατράκτου σε όλους τους κυτταρικούς τύπους που μελετήθηκαν. Στα πολωμένα μεσοφασικά μητρικά παραστοματικών (ΜΠ) του φυτού *Zea mays*, παρατηρείται ένα καλά οργανωμένο AF-patch στην περιοχή του κυτταρικού τοιχώματος που προεκβάλλει προς το επάγον μητρικό καταφρακτικών. Αυτό παραμένει και στα νεαρά παραστοματικά κύτταρα (ΠΚ). Συγκριτικές παρατηρήσεις μεταξύ των δυο φυτών, καθώς και πειραματικά δεδομένα υποστηρίζουν ότι το AF-patch αυτό δεν σχετίζεται με την καθιέρωση πολικότητας. Ο πιθανός του ρόλος είναι η προστασία του πλασμαλήμματος έναντι τοπικών μηχανικών καταπονήσεων σε θέσεις που προεκβάλλουν τα ΜΠ και ΠΚ.

- Η εργασία αυτή ενισχύθηκε οικονομικά από το Υπουργείο Εθνικής Παιδείας και Θρησκευμάτων και την Ευρωπαϊκή Ένωση (πρόγραμμα Πυθαγόρας Ι).

**ORGANIZATION AND ROLE OF CORTICAL ACTIN FILAMENTS
DURING THE ONTOGENESIS OF STOMATAL COMPLEXES
WITH DUMBELL-SHAPED GUARD CELLS**

Panteris E.¹, Galatis B.², Quader H.³, Apostolakos P.²

¹ *School of Biology, Department of Botany, AUTH*

² *Faculty of Biology, Department of Botany, UOA*

³ *Biocenter Klein Flottbek, University of Hamburg*

In the protodermal area of the plants *Zea mays* and *Triticum turgidum*, where stomatal complex ontogenesis occurs, the cortical actin filaments (AFs) are mainly oriented vertically to the long axis of the leaf. During all the cell divisions that take place, the cortical AFs reorganize dynamically, partially following the patterns of cortical microtubules, not participating in the determination of the division plane. During mitosis, AF aggregations (AF-patches) are observed close to the spindle poles in all the dividing cell types that were studied. In polarized interphase subsidiary cell mother cells (SMCs) of *Zea mays*, a well organized AF-patch is observed under the SMC wall area that bulges towards the inducing guard cell mother cell. This AF-patch also persists in young subsidiary cells (SCs). According to comparative observations between the two plant species, as well as experimental data, it can be supported that this AF-patch is not related with polarization but with the protection of the plasma membrane against local mechanical stresses at the bulging areas of SMCs and SCs.

- *This work was financed by grants from the Hellenic Ministry of National Education and Religious Affairs and the EU (project "Pythagoras" I).*

**ΟΡΓΑΝΩΣΗ ΚΑΙ ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑΚΩΝ
ΜΙΚΡΟΝΗΜΑΤΙΩΝ ΑΚΤΙΝΗΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΜΟΡΦΟΓΕΝΕΣΗ
ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΩΝ ΣΤΟΜΑΤΙΚΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΜΕ
ΚΑΤΑΦΡΑΚΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΥΠΟΥ ΑΛΤΗΡΑ**

Παντερής Ε.¹, Γαλάτης Β.², Quader Η.³, Αποστολάκος Π.²

¹Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βοτανικής, ΑΠΘ

²Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βοτανικής, ΕΚΠΑ

³Biocenter Klein Flottbek, University of Hamburg

Κατά την ανάπτυξη των στοματικών συμπλόκων των φυτών *Zea mays* και *Triticum turgidum*, οργανώνονται τα παρακάτω ιδιαίτερα συστήματα μικρονηματίων ακτίνης (ΜΑ): α) Συναθροίσεις ΜΑ που επενδύουν το κοιλιακό τοίχωμα των νεαρών καταφρακτικών κυττάρων (ΚΚ). β) Ακτινωτές διατάξεις ΜΑ, που επενδύουν τα περικλινή τοιχώματα των ΚΚ και συγκλίνουν στη θέση του στοματικού πόρου. γ) Συναθροίσεις ΜΑ που επενδύουν τα βολβώδη άκρα των ΚΚ. δ) Ένας δακτύλιος ΜΑ στην ακμή των παραστοματικών κυττάρων (ΠΚ) με τα ΚΚ στο φυτό *Zea mays*. Αυτός δεν παρατηρείται σε ΠΚ του φυτού *Triticum turgidum*. Η διαφορά αυτή οφείλεται στο διαφορετικό αναπτυξιακό πρότυπο των ΠΚ στα δυο φυτά. Πειραματικός αποπολυμερισμός των ΜΑ δεν επηρεάζει τη μορφογένεση των στοματικών συμπλόκων, απεμπλέκοντας τα ΜΑ από την παραπάνω διαδικασία. Ο δακτύλιος ΜΑ των ΠΚ του φυτού *Zea mays* φαίνεται να σχετίζεται με την ενίσχυση του πλασμαλήμματος απέναντι σε δυνάμεις που αναπτύσσονται στην ακμή ΚΚ και ΠΚ, ή/και με την τοπική αύξηση των ΠΚ στην παραπάνω περιοχή. Η οργάνωση των ΜΑ είναι όμοια σε ανοιχτά και κλειστά στόματα του φυτού *Zea mays*. Πειραματικός αποπολυμερισμός των μικροσωληνίσκων και των ΜΑ καθώς και σταθεροποίηση των ΜΑ δεν επηρεάζει τη λειτουργία των στομάτων. Συνεπώς, αντίθετα απ' ό,τι συμβαίνει στα ελλειπτικά στόματα, η λειτουργία των στομάτων τύπου αλτήρα δεν φαίνεται να ελέγχεται από τον κυτταροσκελετό.

- Η εργασία αυτή ενισχύθηκε οικονομικά από το Υπουργείο Εθνικής Παιδείας και Θρησκευμάτων και την Ευρωπαϊκή Ένωση (πρόγραμμα Πυθαγόρας Ι).

**ORGANIZATION AND ROLE OF CORTICAL ACTIN FILAMENTS
DURING THE MORPHOGENESIS AND FUNCTION OF
STOMATAL COMPLEXES WITH DUMBELL-SHAPED GUARD
CELLS**

Panteris E.¹, Galatis B.², Quader H.³, Apostolakos P.²

¹*School of Biology, Department of Botany, AUTH*

²*Faculty of Biology, Department of Botany, UOA*

³*Biocenter Klein Flottbek, University of Hamburg*

During the development of stomatal complexes in the plants *Zea mays* and *Triticum turgidum*, the following particular cortical actin filament (AF) arrays are organized: a) AF aggregations that line the ventral wall of young guard cells (GCs). b) Radial AFs that line the GC periclinal walls and converge to the stomatal pore area. c) AF aggregations that line the bulbous GC ends. d) An AF ring at the junction of subsidiary cells (SCs) with the GCs in *Zea mays*. This AF ring is not observed in SCs of *Triticum turgidum*. This difference is due to the different growth pattern of SCs between the two plant species. The experimental disruption of AFs does not affect stomatal complex morphogenesis. Consequently, AFs are not implicated in this process. The AF ring of *Zea mays* SCs seems to be correlated with the reinforcement of the plasma membrane against stresses applied at the junction of GCs and SCs, and/or the local SC growth at the above area. AF organization is similar in open as well as closed stomata of *Zea mays*. Experimental disruption of microtubules and AFs, as well as AF stabilization, does not affect stomatal function. Consequently, oppositely to what occurs in elliptical stomata, the stomatal function with dumbbell-shaped GCs seems not to be controlled by the cytoskeleton.

- *This work was financed by grants from the Hellenic Ministry of National Education and Religious Affairs and the EU (project "Pythagoras" I).*

**ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΗ ΚΑΙ ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ
ΤΩΝ ΤΥΛΩΝ ΣΥΖΕΥΞΗΣ ΤΩΝ ΝΕΡΟΒΑΤΡΑΧΩΝ *Rana epirotica*
ΚΑΙ *Rana ridibunda* ΜΕ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟ
ΣΑΡΩΣΗΣ ΚΑΙ ΟΠΤΙΚΟ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟ.**

Παπαεναγγέλου Ε. και Κυριακοπούλου-Σκλαβούνου Π.

*Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο
Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, ΤΚ 541 24 Θεσσαλονίκη*

Οι τύλοι σύζευξης είναι δευτερεύοντες φυλετικοί χαρακτήρες, που εμφανίζονται κατά την αναπαραγωγική περίοδο και εξαφανίζονται μετά. Φαίνεται ότι διευκολύνουν το αγκάλιασμα του θηλυκού από το αρσενικό κατά το ζευγάρισμα και η επιφανειακή τους δομή παρέχει την απαραίτητη τριβή για τη συγκράτηση του θηλυκού μέσα στο νερό. Είναι δερμικές διογκώσεις που αποτελούνται κυρίως από παχύνσεις της επιδερμίδας και της δερμίδας. Στα περισσότερα είδη οι τύλοι βρίσκονται στους δακτύλους του πρόσθιου μέλους. Τα ζώα που χρησιμοποιήσαμε για την παρούσα μελέτη συλλέχθηκαν κατά την αναπαραγωγική περίοδο και στην ανατομία εμφάνισαν ευμεγέθεις όρχεις με πολυάριθμες δέσμες σπερματοζωαρίων. Στα αρσενικά βατράχια *R. epirotica* και *R. ridibunda* οι τύλοι σύζευξης, που βρίσκονται στην κοιλιακοπλευρική όψη του πρώτου δακτύλου των πρόσθιων μελών, εμφανίστηκαν πλήρως αναπτυγμένοι και καλυμμένοι με μια μαύρη, ισχυρά κερατινοποιημένη επιδερμίδα. Παρατηρήσεις με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) παρείχαν επιπλέον λεπτομέρειες για την εξωτερική μορφολογία των τύλων και συγκεκριμένα για την υψηλά θηλοειδή επιδερμίδα και τους πόρους των αδένων των τύλων. Αυτές οι θηλές ή μικρές προεξοχές είχαν λοφοειδές σχήμα και στα δύο είδη και αποτελούνταν από μικροπροεξοχές, οι οποίες ήταν οργανωμένες σε ομάδες. Η σύγκριση της δομής ανάμεσα στα δύο στενά συγγενικά είδη έδειξε ότι υπάρχει μια διαφορά ως προς τον τρόπο ομαδοποίησης και διάταξης των μικροπροεξοχών. Οι διαφορές αυτές δεν είναι διακριτές με το οπτικό μικροσκόπιο. Οι ιστολογικές τομές των τύλων σύζευξης των ειδών *R. epirotica* και *R. ridibunda* που παρατηρήθηκαν με το οπτικό μικροσκόπιο παρουσίασαν παρόμοια εικόνα. Οι δερμικές και επιδερμικές στοιβάδες ήταν παχυσμένες και υπήρχαν εμφανείς κερατινοποιημένες επιδερμικές θηλές. Οι εκκριτικοί αδένες εμφανίζονταν μεγάλοι με κιονοειδή επιθηλιακά κύτταρα. Τα κύτταρα του αδενικού επιθηλίου ήταν γεμάτα με στρογγυλά εοσινόφιλα εκκριτικά κοκκία.

**COMPARATIVE MORFOLOGICAL AND HISTOLOGICAL STUDY
OF NUPTIAL PADS OF THE WATERFROGS *Rana epeirotica* AND
Rana ridibunda WITH SCANNING ELECTRON MICROSCOPE AND
OPTICAL MICROSCOPE**

Papaevangelou E., and Kyriakopoulou-Sklavounou P.

*Department of Zoology, School of Biology, Faculty of Sciences, Aristotle
University of Thessaloniki, GR-54124 Thessaloniki*

Nuptial pads are male secondary sexual characteristics of anurans that appear prior to the breeding season and disappear afterward. Nuptial pads are thought to facilitate the male's grip on the female during amplexus and the surface structure provides the friction necessary for clasping the smooth body of the female. They are cutaneous swellings that are composed primarily of thickened epidermis and dermis. In most species the pads are located on the digits of the hand. The animals we used for this study were collected during the breeding season and on dissection showed large testes with numerous bundles of sperm. In the male frogs *R. epeirotica* and *R. ridibunda* nuptial pads on the ventrolateral aspect of the first digit of their forelimbs appeared well developed and covered by a black, strongly keratinized epidermis. Observations under the scanning electron microscope (SEM) provided further details on the external morphology of the pad particularly of its highly papillate epidermis and nuptial gland pores. These papillae or small elevations were rounded in both species and consisted of microprocesses, which are organised in groups. The comparison of the structure between those two closely related species showed a difference mainly in the grouping of the microprocesses. In *R. epeirotica* two groups of microprocesses exist in the top of each rounded elevation and the rest of the groups are arranged circularly around these two main groups. On the contrary, in *R. ridibunda* a central group was observed on the top of each elevation and the rest of the groups are arranged in circles round this. These differences are not distinguishable with the optical microscope. The histological sections of nuptial pads of *R. epeirotica* and *R. ridibunda* observed under the optical microscope showed almost a similar picture. The dermal and epidermal layers were thick and keratinized epidermal papillae were prominent. The glands exhibited large acini lined with columnar epithelial cells. The cells of the gland epithelium were filled with rounded eosinophilic secretory granules.

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΞΩΤΕΡΙΚΗΣ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑΣ ΤΩΝ ΔΙΣΚΩΝ
ΠΡΟΣΚΟΛΛΗΣΗΣ ΤΟΥ ΔΕΝΤΡΟΒΙΟΥ ΒΑΤΡΑΧΟΥ *Hyla arborea*
ΜΕ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟ ΣΑΡΩΣΗΣ.**

Παπαευαγγέλου Ε. και Κυριακοπούλου-Σκλαβούνου Π.

*Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο
Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, ΤΚ 541 24 Θεσσαλονίκη*

Ο δεντρόβιος βάτραχος *Hyla arborea* δεν έχει τύλους σύζευξης αλλά εμφανίζει άλλες δερματικές δομές στους δακτύλους, τους δίσκους προσκόλλησης. Οι δίσκοι αυτοί είναι ημισφαιρικές δομές στις κάτω επιφάνειες των ακραίων τμημάτων των δακτύλων. Χρησιμεύουν στην αναρρίχηση και συγκράτηση των ατόμων πάνω στα δέντρα. Η παρατήρηση των δίσκων προσκόλλησης των δακτύλων των πρόσθιων μελών με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης έδειξε ότι έχουν καλοσχηματισμένο περιφερειακό αυλάκι που συνεχίζει κατά μήκος της κοιλιακής επιφάνειας κάθε δακτύλου. Επίσης υπάρχει ένα κεντρικό αυλάκι που σκιαγραφεί την εσωτερική άκρη του δίσκου. Η επιφάνεια κάθε δίσκου προσκόλλησης καλύπτεται με κύτταρα εξαγωνικού σχήματος με βαθιές διαχωριστικές σχισμές. Στα όρια μεταξύ μερικών ομάδων κυττάρων υπάρχουν εμφανείς πόροι βλέννας. Στην ραχιαία πλευρά των άκρων, ακριβώς μετά τους δίσκους προσκόλλησης υπάρχουν μικρά προεξέχοντα υποαρθρικά φυμάτια. Η μελέτη μας έδειξε ότι υπάρχουν διαφορές ως προς τη μορφή και το μέγεθος των δίσκων προσκόλλησης του *H. arborea* σε σύγκριση με άλλα είδη.

**SCANNING ELECTRON MICROSCOPIC STUDY OF SURFACE
MORPHOLOGY OF TOE PADS IN THE TREEFROG *Hyla arborea***

Papaevangelou E., and Kyriakopoulou-Sklavounou P.

*Department of Zoology, School of Biology, Faculty of Sciences, Aristotle
University of Thessaloniki, GR-54124 Thessaloniki*

The tree frog *Hyla arborea* does not have nuptial pads but appears other dermal structures on the digits, the toe pads. The toe pads are hemispherical structures on the ventral surfaces at the tips of their digits. Their function is helping frogs to adhere to surfaces on the trees. Observation of pads of forelimb digits under the scanning electron microscope (SEM) showed that there is a well-defined circumferal groove which demarcates the pad epithelium from normal epidermis and runs some way back along the ventral surface of each digit. There is also a distinct proximal groove delineating the proximal edge of the pad. The pad surface is covered in hexagonal shaped cells with deep separating clefts. Mucous pores are visible at the boundaries between some groups of cells. Proximal to the digital pads are small highly protrusive subarticular tubercles. Our study showed that there are differences as for the shape and the size of toe pads of *H. arborea* in comparison to other species of frogs.

**ΜΕΤΑΛΛΑΞΙΓΕΝΕΣΗ ΚΥΣΤΕΪΝΙΚΗΣ ΣΑΡΩΣΗΣ ΤΟΥ ΔΙΑ-
ΜΕΜΒΡΑΝΙΚΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ 12 ΣΤΗΝ ΔΙΑΠΕΡΑΣΗ ΞΑΝΘΙΝΗΣ
ΥΓΦΟ ΤΗΣ *E. COLI*: ΟΥΣΙΑΣΤΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ Ile432**

Παπακώστας Κ. και Ε. Φριλίγγος

Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων Ιατρική Σχολή, Ιωάννινα 45110

Στο εργαστήριό μας, χρησιμοποιούμε την διαπεράση ξανθίνης YgfO της *E. coli* K-12 ως πρότυπο σύστημα μελέτης των σχέσεων δομής-λειτουργίας για τους μεταφορείς νουκλεοτιδικών βάσεων (πουρινών) της οικογένειας NAT/NCS2, μιας σημαντικής και εξελικτικά συντηρημένης οικογένειας πρωτεϊνών ενεργού μεταφοράς. Συστηματική σημειακή μεταλλαξιγένεση και μεταλλαξιγένεση κυστεϊνικής σάρωσης του τελικού διαμεμβρανικού τμήματος της YgfO (TMS12, κατάλοιπα 419-450) απεκάλυψε ότι η Ile432, στο μέσον του TMS12, είναι ουσιαστικής σημασίας για τον μηχανισμό της συμμεταφοράς ξανθίνης:H⁺. Αντικατάσταση της Ile432 με Phe, Trp ή Glu οδηγεί σε απενεργοποίηση, αντικατάσταση με Met, Gln, ή ακόμη και Leu οδηγεί σε οριακή ενεργότητα (<5% σε σχέση με την φυσικού τύπου διαπεράση), αντικατάσταση με Ala ή Ser αποδίδει σημαντική αλλά μικρή ενεργότητα (10-20%) ενώ, τέλος, μόνον η αντικατάσταση με Asn οδηγεί σε υψηλή ενεργότητα (>60%). Η κινητική ανάλυση δείχνει ότι τα μεταλλάγματα της Ile432 εμφανίζουν υψηλότερη συγγένεια (K_m 1.5-2.6 μ M έναντι 4.5 μ M) και μειωμένη V_{max} σε σχέση με την φυσικού τύπου διαπεράση (I432N, 4.7 έναντι 6.4 $\text{nmol mg}^{-1} \text{min}^{-1}$; I432A και I432S, 0.5 $\text{nmol mg}^{-1} \text{min}^{-1}$; I432L και I432F, 0.1 $\text{nmol mg}^{-1} \text{min}^{-1}$). Επιπροσθέτως, οι αντικαταστάσεις I432A και I432S οδηγούν σε αλλαγές της εξειδίκευσης ως προς την αναγνώριση αναλόγων ξανθίνης, όπως μετρούνται σε πειράματα ανταγωνισμού της πρόσληψης [³H]ξανθίνης. Οι αλλαγές που επιφέρει η I432A είναι κυρίως βελτίωση της αναγνώρισης της 7- και 8-μεθυλοξανθίνης (οι οποίες πρακτικά δεν δεσμεύονται από την φυσικού τύπου YgfO) και μείωση της συγγένειας δέσμευσης της 1-μεθυλο- και 6-θειοξανθίνης. Όμοιες αλλαγές παρατηρούνται και για την αντικατάσταση C433S, στην γειτονική θέση της εγγενούς Cys433. Η επίσης γειτονική, Pro431, που διακόπτει την συνέχεια της α -έλικας στη θέση αυτή, δεν φαίνεται να έχει μείζονα ρόλο, καθώς το μετάλλαγμα P431C εκφράζεται σε υψηλά επίπεδα στη μεμβράνη και είναι πλήρως ενεργό. Η Asn430, ωστόσο, αποτελεί σημαντικό καθοριστή, καθώς η μεν N430T είναι πλήρως ανενεργή, η δε N430C εμφανίζει ενεργότητα, η οποία αναστέλλεται πλήρως από το N-αιθυλομηλεϊμίδιο (NEM), με IC₅₀ 10 μ M. Συνοπτικά, η Ile432 και η αλληλουχία γύρω από αυτήν (ENPI_CAGG) φαίνεται ότι έχει σημαντικό ρόλο στον μηχανισμό της μεταφοράς πουρινών και στο προφίλ εξειδίκευσης.

- Η έρευνα αυτή χρηματοδοτείται εν μέρει από το πρόγραμμα Διακρατικών Συνεργασιών μεταξύ Ελλάδος και χωρών εκτός Ευρώπης «NONEU-05» της Ελληνικής Γενικής Γραμματείας Έρευνας και Τεχνολογίας (Γ.Γ.Ε.Τ.)

**SCANNING ANALYSIS OF TRANSMEMBRANE HELIX 12 IN
THE XANTHINE PERMEASE YGFO OF *E. COLI*: ILE432
IS ESSENTIAL FOR PURINE UPTAKE**

Papakostas K., and S. Frillingos

Lab. of Biological Chemistry, University of Ioannina Medical School, Ioannina 45110

In our laboratory, we use the YgfO xanthine permease from *E. coli* K-12 as a model system for the analysis of structure-function relationships in the ubiquitous family of nucleobases-ascorbate transporters (NAT/NCS2). In this context, systematic Cys-scanning analysis of the last transmembrane segment of YgfO (TMS12; residues 419-450) has revealed that Ile432, located at the approximate middle of TMS12, is essential for the mechanism of purine:H⁺ symport. Extensive site-directed mutagenesis at this position shows that replacement with an aromatic (Phe, Trp) or an acidic residue (Glu) completely abolishes transport, replacement with a small-volume residue (Ala, Ser) results in very low activity (10-20% of wild-type), replacement with Met or Gln yields marginal activity (<5% of wt). Strikingly, replacement of Ile432 with Leu is also detrimental for active xanthine transport, while replacement with Asn yields highly significant rate and level of xanthine uptake. Kinetic analysis reveals that all assayable I432-mutants display slightly better affinities than wt (K_m 1.5-2.6 μ M vs 4.5 μ M) and lower capacities (I432N, V_{max} 4.7 vs 6.4 nmol mg⁻¹ min⁻¹; I432A or S, 1.5 nmol mg⁻¹ min⁻¹). In addition, competitive inhibition analysis with a series of purine-related ligands reveals that I432A confers a change in specificity for substrate recognition, by increasing affinity for 7- and 8-methylxanthine (practically unrecognizable by wt permease) and decreasing affinity for 1-methyl- and 6-thioxanthine. Similar but even more pleiotropic changes were found with mutant I432S. Interestingly, same changes in specificity have been found also for mutant C433S, at the neighboring position of native Cys433 (P. Karatza and S. F., unpublished). The preceding Pro residue, Pro431, which is presumed to introduce a kink in the wt helix, does not appear to play an important role as mutant P431C is highly expressed in the plasma membrane and fully active. On the other hand, Asn430 is an important determinant, as N430T is fully inactive (E. Georgopoulou and S. F., unpublished), while N430C is active but highly sensitive to inactivation by *N*-ethylmaleimide (NEM), with an IC₅₀ of 10 μ M. Overall, Ile432 and the flanking sequence motif (ENP**I**CAGG) of YgfO TMS12 appear to play a role in the mechanism of NAT transport and purine profile recognition.

- *This research is funded in part by the Greek Secretariat for Research and Technology (GSRT) program NONEU-05.*

**Η C→T ΜΕΤΑΛΛΑΞΗ ΣΤΗΝ 3'HS1 ΘΕΣΗ ΣΧΕΤΙΖΕΤΑΙ ΜΕ
ΥΨΗΛΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΤΗΣ HbF ΣΕ ΠΑΣΧΟΝΤΕΣ ΑΠΟ
ΕΝΔΙΑΜΕΣΗ β-ΘΑΛΑΣΣΑΙΜΙΑ**

**Παπαχατζοπούλου Α.¹, Καϊμάκης Π.³, Μενούνος Π.², Pourfarzad F.³,
Ευαγγελάκου Π.¹, Grosveld F.G.³ και Πατρινός Γ.Π.³**

¹ Πανεπιστήμιο Πατρών, Ιατρική Σχολή, Εργ Γενικής Βιολογίας, Ρίο, Πάτρα.

² Σχολή Αξιοματικών Νοσηλευτικής, Ερευνητικό Εργαστήριο, Βύρωνας, Αθήνα.

³ Erasmus University Medical Center, Dep. of Cell Biology & Genetics, Rotterdam, Ολλανδία

Το σύμπλεγμα των γονιδίων της σφαιρίνης β του ανθρώπου περιλαμβάνει πέντε λειτουργικά γονίδια, διατεταγμένα με τη σειρά που εκφράζονται κατά την ανάπτυξη. Ο ειδικός και ιστικός έλεγχος της έκφρασης τους γίνεται από την περιοχή ελέγχου του γενετικού τόπου (LCR), η οποία αποτελείται από πέντε υπερουαίσθητες στην DNaseI θέσεις (HS1-5). Η περιοχή LCR θεωρείται ότι αλληλεπιδρά με τις θέσεις 5'HS-111 και 3'HS1, που βρίσκονται αντίστοιχα στο 5' άκρο και στο 3' άκρο του γενετικού τόπου σχηματίζοντας το Κέντρο Χρωματίνης (CH-Chromatin Hub). Το CH αλληλεπιδρά με τα προς έκφραση γονίδια δημιουργώντας το Ενεργό Κέντρο Χρωματίνης (ACH-Active Chromatin Hub). Σε κάποιους β-θαλασσαιμικούς ασθενείς, η περιοχή LCR απουσιάζει και διαμορφώνεται μια ανενεργός δομή χρωματίνης, που καταλήγει σε μεταγραφικά σιωπηλά γονίδια β-σφαιρίνης. Υπάρχουν ασθενείς που φέρουν μεγάλες ελλείψεις στο 3' άκρο του γενετικού τόπου με ή χωρίς έλλειψη της 3'HS1 θέσης. Η παρουσία της 3'HS1 θέσης και η απουσία του γονιδίου της β-σφαιρίνης οδηγούν σε β-θαλασσαιμία, ενώ η ταυτόχρονη απουσία τους οδηγεί στην εκδήλωση του συνδρόμου HPHH (Hereditary Persistence of Fetal Hemoglobin). Ασθενείς με ενδιάμεση β-θαλασσαιμία είναι φορείς ήπιων μεταλλάξεων στο β-γονίδιο, ή α-θαλασσαιμίας ή HPHH συνδρόμου. Τέλος, υπάρχουν ασθενείς που παρουσιάζουν υψηλά επίπεδα HbF, απουσία HPHH συνδρόμου, και φέρουν μεταλλάξεις που συνδέονται με φαινότυπο βαρείας β - θαλασσαιμίας. Στους ασθενείς αυτούς διερευνήσαμε την ύπαρξη παραλλαγών στις αλληλουχίες των 5'HS-111 και 3'HS1 θέσεων της LCR περιοχής. Εντοπίστηκαν αλλαγές βάσεων στις θέσεις 5' HS-111 και 3'HS1, από G→A και C→T αντίστοιχα. Η C→T στην 3'HS1 θέση οδηγεί στη δημιουργία μιας νέας θέσης πρόσδεσης του ειδικού μεταφραφικού παράγοντα GATA-1. Η παρουσία της GATA-1 θέσης πιθανά να σχετίζεται με την ικανότητα των ασθενών αυτών να παράγουν αυξημένα επίπεδα HbF και να αποτελέσει γενετικό δείκτη σε β-θαλασσαιμικούς ασθενείς, ο οποίος να σχετίζεται με την ικανότητα τους να ανταποκρίνονται σε φαρμακευτική αγωγή επαγωγής της HbF.

A C→T MUTATION IN 3'HS1 CORRELATES WITH HIGH HbF PRODUCTION IN β-THALASSEMIA INTERMEDIA PATIENTS

Papachatzopoulou A.¹, Kaimakis P.², Menounos P.G.³, Pourfarzad F.², Evangelakou P.¹, Grosveld F.G.², and Patrinos G.P.²

¹University of Patras, School of Medicine, Department of General Biology, Patras, Greece. ²Erasmus MC, Faculty of Medicine and Health Sciences, MGC-Department of Cell Biology and Genetics, Rotterdam, The Netherlands.

³Nursing Military Academy, Laboratory of Research, Athens, Greece

The human β-globin locus contains five functional gene copies, arranged in their developmental order of expression. The most important control element is the Locus Control Region (LCR), consisting of five DNaseI hypersensitive sites (HS1-5). LCR is thought to interact with two 5' and 3' distant HSs (HS -111 and 3'HS1) to form a Chromatin Hub (CH) through looping. LCR and the genes interact with the CH to form an active chromatin hub (ACH). Some β-thalassemia patients lack the LCR resulting in transcriptionally silent β-globin genes in an inactive chromatin configuration. There are patients having large deletions at the 3' end of the locus with or without deletion of 3'HS1. Presence of 3'HS1 and absence of the β-globin gene result in β-thalassemia. Deletion of 3'HS1 result in the syndrome of hereditary persistence of fetal hemoglobin (HPFH). There are three types of β-thalassemia intermedia patients, those with mild mutations, those with coexisting α-thalassemia or HPFH and those with high fetal hemoglobin F levels in the absence of HPFH. However a number of patient cannot be explained by such mutations and hence we looked in these patients whether we could find sequence variations in the distant HS -111 and, particularly 3'HS1. We report two novel sequence variations in the DNaseI hypersensitive sites comprising the human β-globin locus chromatin hub (CH), namely HS -111 G→A and 3'HS1 C→T. These variations form a new set of genetic markers. We show that the 3'HS1 C→T variation results in a GATA-1 binding site that correlates with increased fetal hemoglobin production in β-thalassemia intermedia patients. The 3'HS1 C→T marker is potentially useful genetic determinant for β-thalassemia intermedia patients, particularly as a marker for fetal hemoglobin-inducing pharmacological therapeutics.

**ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΔΥΣΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ ΓΛΟΥΤΕΝΗΣ:
ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ ΣΕ ΖΩΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ**

*Πάπιστα Χ.¹, Καζαντζίδου Σ.², Αποστολίδης Π.², Κουρελής Α.¹, Κοντάνα Α.¹,
Γιάγκου Μ.¹*

¹Τομέας Γενετ., Ανάπ. και Μορ. Βιολ., Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ

²ΠΑΣΧΑΛΗΣ ΑΠΟΣΤΟΛΙΔΗΣ Ε.Π.Ε. "NUTRIPET HELLAS" ΒΙ.ΠΕ. Κιλκίς

Η κοιλιοκάκη, ή σύνδρομο δυσαπορρόφησης γλουτένης, είναι ένα αυτοάνοσο νόσημα και χαρακτηρίζεται από φλεγμονή στο βλεννογόνο του λεπτού εντέρου σε γενετικά προδιαθετημένα άτομα. Η φλεγμονή επάγεται από τη γλουτένη, μία οικογένεια πρωτεϊνών που ονομάζονται γλοιαδίνες και περιέχονται σε δημητριακά, όπως το σιτάρι, κριθάρι κ.α.. Στην παθογένεια της κοιλιοκάκης εμπλέκεται, επίσης, η Th1 κυτταρική απόκριση καθώς και αυτοαντισώματα ενάντια στην γλοιαδίνη και την τρανσγλουταμινάση. Οι περισσότερες μελέτες για την κοιλιοκάκη έχουν πραγματοποιηθεί σε δείγματα ανθρώπου, αφού δεν υπάρχει συγκεκριμένο ζωικό πειραματικό μοντέλο. Σκοπός της εργασίας είναι ο προσδιορισμός πειραματικού ζωικού μοντέλου που να προσομοιάζει στην κοιλιοκάκη. Για το λόγο αυτό παρασκευάστηκε ζωοτροφή από την οποία απουσίαζε η γλουτένη και χορηγήθηκε για τουλάχιστον τρεις γενιές σε BALB/c ποντίκια. Η προσθήκη της γλουτένης στη διατροφή των ποντικών για τουλάχιστον 30 ημέρες είχε ως αποτέλεσμα την ανίχνευση IgG αντιγλοιαδινικών αντισωμάτων στον ορό τους. Ιστολογική παρατήρηση στο λεπτό έντερο έδειξε την ύπαρξη κυττάρων φλεγμονής, καθώς και κυττάρων θετικών στην παραγωγή του παράγοντα φλεγμονής Cox2. Αντίθετα, δεν βρέθηκε έντονη έκφραση του παράγοντα Cox1, γεγονός που επιβεβαιώνει αντίστοιχα αποτελέσματα στον άνθρωπο. Η συμβολή της Th1 κυτταρικής απόκρισης στη βλάβη του βλεννογόνου αποδείχθηκε με την ανίχνευση υψηλών επιπέδων IFN γ σε τομές του λεπτού εντέρου. Προκειμένου να επιταχυνθεί ο χρόνος παραγωγής των αυτοαντισωμάτων, ποντίκια ανοσοποιήθηκαν με γαλάκτωμα που περιείχε γλοιαδίνη σε ανοσοενισχυτικό του Freund. Τα αποτελέσματα έδειξαν αυξημένα επίπεδα αντιγλοιαδινικών αντισωμάτων 10 ημέρες μετά την ανοσοποίηση. Συμπερασματικά, η διατροφή των ποντικών απουσία γλουτένης μπορεί να οδηγήσει σε τροποποίηση του ανοσοβιολογικού τους συστήματος τέτοια ώστε η προσθήκη γλουτένης στη δίαιτα να επάγει αυτοάνοσες αντιδράσεις που μοιάζουν με τα χαρακτηριστικά της κοιλιοκάκης.

GLUTEN - SENSITIVE ENTEROPATHY: SIMULATION OF THE DISEASE IN ANIMAL MODEL

***Papista C.¹, Kazantzidou S.², Apostolidis P.², Kourelis A.¹, Kontana A.¹,
Yiangou M.¹***

¹*Dept. Genet., Dev. & Mol. Biol., Sch. Biol., Aristotle Univ. Thes/niki*

²*PASCAL APOSTOLIDIS LTD "NUTRIPET HELLAS" Industrial Area, Kilkis*

Celiac disease, also known as gluten sensitive enteropathy, is an autoimmune disease characterized by the inflammatory disorder of the small bowel in genetically predisposed individuals. The inflammation is induced by gluten, a protein family called gliadins, found in many grains, including wheat, barley, rye and oat. The pathogenesis of celiac disease implicates the T helper 1 (Th1) response, as well as autoantibodies against gliadin and tissue transglutaminase. Most studies on celiac disease have been performed on human samples because of the fact that a specific animal model does not exist. This study was aimed at the determination of the experimental animal model that resembles celiac disease. For this reason we produced gluten-free food that was administered for at least three generations in BALB/c mice. The presence of gluten in the nutrition of mice for at least 30 days resulted in the detection of IgG antibodies against gliadin in their serum. Histological examination of small intestine sections indicated the existence of inflammatory cells, as well as positive cells on the production of the inflammatory mediator Cox2. In contrast, the limited expression of Cox1 confirms the respective results on human. The important role of the Th1 response in the mucosal damage was demonstrated by the detection of high levels of IFN γ in sections of the small intestine. In order to reduce the time for the production of the autoantibodies, mice were immunized with gliadin emulsified in Freund's complete adjuvant. The results showed elevated levels of antibodies against gliadin 10 days post-immunization. In conclusion, the gluten-free nutrition of mice can lead to such an immunomodulation that the addition of gluten in the diet is able to induce autoimmune reactions that resemble the characteristics of celiac disease.

**ΑΛΚΟΟΛΙΚΗ ΖΥΜΩΣΗ ΓΛΕΥΚΟΥΣ ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΓΗΓΕΝΩΝ
ΖΥΜΟΜΥΚΗΤΩΝ ΤΩΝ ΓΕΝΩΝ *METSCHNIKOWIA* ΚΑΙ
*SACCHAROMYCES***

Παραπούλη Μ.¹, Χατζηλουκάς Ε.², Δραΐνας Κ.¹, Περυσινάκης Α.¹

*¹Εργαστήριο Βιοχημείας, Τμήμα Χημείας,, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 451 10
Ιωάννινα, ²Εργαστήριο Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και
Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 451 10 Ιωάννινα.*

Ο γευστικός και αρωματικός χαρακτήρας του οίνου εξαρτάται από τη σύστασή του, η οποία καθορίζεται από την παρουσία ποικίλων χημικών συστατικών σε διάφορες συγκεντρώσεις. Από αυτά άλλα προϋπάρχουν στο γλεύκος, ενώ άλλα σχηματίζονται κατά τη ζύμωσή του, κυρίως από μικροβιακές διεργασίες. Γι' αυτό το λόγο η μικροχλωρίδα των ζυμομυκήτων της αυθόρμητης οινοποίησης κατέχει κυρίαρχο ρόλο στον καθορισμό της γεύσης και του αρώματος των παραγόμενων οίνων. Συνήθως, non-Saccharomyces είδη επικρατούν στα αρχικά στάδια μιας αυθόρμητης οινοποίησης. Αντιθέτως, στα τελευταία στάδια επικρατούν κυρίως τα αλκοολοανθεκτικά στελέχη του είδους *Saccharomyces cerevisiae*. Μολονότι τα στελέχη ζυμών non-Saccharomyces δεν μπορούν να φέρουν σε πέρας την αλκοολική ζύμωση, εντούτοις παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στην ποιότητα του τελικού προϊόντος ενισχύοντας σημαντικά το άρωμα και τη γεύση του παραγόμενου οίνου και διαμορφώνοντας τον τοπικό, ιδιαίτερο χαρακτήρα του. Με βάση τα παραπάνω, οι στόχοι αυτής της εργασίας ήταν η απομόνωση και η ταυτοποίηση γηγενών στελεχών ζυμομυκήτων από γλεύκος της ποικιλίας Ντεμπίνα της οινοποιητικής περιοχής Ζίτσας Ιωαννίνων (Ηπειρος) καθώς και η διαδοχική χρήση δύο εξ αυτών (*Metschnikowia pulcherrima* var. *Zitsae* και *S. cerevisiae* var. *zitsae*) ως καλλιέργειες εκκίνησης. Τα επιθυμητά αρωματικά συστατικά του παραγόμενου Οίνου βρέθηκαν σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις απ' ότι σε πρότυπο Οίνο όπου χρησιμοποιήθηκε εμπορικό μίγμα οινοποίησης ως καλλιέργεια εκκίνησης. Έτσι επιβεβαιώνεται η χρησιμότητα της διαδοχικής χρήσης γηγενών στελεχών ως καλλιεργειών εκκίνησης με σκοπό την παραγωγή οίνων που θα έχουν διακριτούς τοπικούς χαρακτήρες, οι οποίοι θα αντανakλούν τη βιοποικιλότητα της περιοχής από την οποία προέρχονται.

- Χρηματοδότηση: ΠΕΝΕΔ 2003-ΓΤΕΤ

THE EFFECT OF DEBINA GRAPEVINE INDIGENOUS YEAST SPECIES ON WINE QUALITY

Parapouli M.¹, Hatziloukas E.², Drainas C.¹, Periyinakis A.¹

¹ *Biochemistry Lab, Department of Chemistry, University of Ioannina, 45 110 Ioannina, Greece,* ² *Laboratory of Molecular Biology, Department of Biological Applications and Technologies, University of Ioannina, 45110 Ioannina, Greece*

The natural alcoholic fermentation of grape juice and the resulting production of wine is a complex microbiological process, which involves a large number of various yeast species, with differential contribution. Grapes and must from every geographic area possess a characteristic microflora, to which the flavour of every local and/or traditional wine is largely attributed. Non-Saccharomyces yeasts usually dominate in mature grape berries, accounting for 50-75 % of the total yeast population. While non-Saccharomyces species are capable of initiating the fermentation process, and contribute to the formation of wine flavour, Saccharomyces species are necessary for the completion of this process. Despite their inability to achieve complete fermentation, the supporters of natural fermentation have claimed that non-Saccharomyces yeasts enhance wine aroma and flavour.

The aim of this study was to isolate and characterize local strains, indigenous to Debina must from Zitsa (Ioannina, Epirus, Greece) and investigate their impact in the fermentation process. Several different indigenous yeast species were isolated and two of them were selected for further use. A *Metschnikowia pulcherrima* var. *zitsae* (*M. pulcherrima* var. *zitsae*) strain ZY6 and a *Saccharomyces cerevisiae* var. *zitsae* (*S. cerevisiae* var. *zitsae*) strain Z622, were used as starter cultures in a sequential fashion. The produced Debina wine had a richer aromatic bouquet than the one from the same must using a commercial starter culture. These results confirm the concept of utilizing indigenous yeast strains for the production of traditional wines and emphasize the potential of employing *Metschnikowia* species as a starter culture to improve the quality of Debina wine.

**ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΙΚΩΝ ΣΥΝΕΥΡΕΣΕΩΝ
ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΦΑΙΟΦΥΚΗ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *Cystoseira*
ΣΤΙΣ ΑΚΤΕΣ ΤΗΣ ΚΥΠΡΟΥ ΚΑΙ ΤΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ**

***Παρασκευοπούλου Σ., Μαβίδης Μ., Χριστοδούλου Μ., Κίτσος Μ.-Σ.
και Α. Κούκουρας***

*Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης,
τ.κ. 541 24, Θεσσαλονίκη*

Η ποσοτική και ποιοτική σύνθεση των οργανισμικών συνευρέσεων που σχετίζονται με τα φαιοφύκη *Cystoseira schiffneri*, *C. barbata* και *C. zosteroides* μελετήθηκε σε μια περιοχή του βόρειου Αιγαίου (Χαλκιδική) και δύο περιοχές στην Κύπρο (Πάφος και Λατσί) αντίστοιχα. Σε κάθε σταθμό συλλέχθηκαν 5 δείγματα *Cystoseira* συνολικής επιφάνειας 0,2 m² από την ανώτερη υποπαραλιακή ζώνη. Κατά την ανάλυση των δειγμάτων από τις τρεις περιοχές, οι κύριες ταξινομικές ομάδες που προσδιορίστηκαν ήταν: Crustacea (Decapoda και Amphipoda), Mollusca (Gastropoda) και Anellida (Polychaeta). Η ανάλυση και σύνθεση των αποτελεσμάτων έδειξε διαφορές στην ποικιλότητα των συνευρέσεων, ανάλογα με τη ζωογεωγραφική περιοχή (Αιγαίο Πέλαγος - Θάλασσα του Λεβάντε), την εποχή (χειμώνας - καλοκαίρι) αλλά και τη μορφολογία του θαλού κάθε είδους *Cystoseira*. Τα αποτελέσματα συγκρίνονται με τη σχετική βιβλιογραφία και συζητούνται.

**COMPARATIVE STUDY OF THE ORGANISMIC ASSEMBLAGES
ASSOCIATED WITH BROWN ALGAE OF THE GENUS *Cystoseira*
AT THE COASTS OF CYPRUS AND GREECE**

***Paraskevopoulou S., Mavidis M., Christodoulou M., Kitsos M.-S.,
and A. Koukouras***

*Department of Zoology, School of Biology, Aristoteleio University of Thessaloniki,
GR-541 24, Thessaloniki, Greece*

The qualitative and quantitative composition of the organismic assemblages associated with the brown algae *Cystoseira schiffneri*, *C. barbata* and *C. zosteroides* was studied in an area of the north Aegean Sea (Chalkidiki) and two areas of Cyprus (Pafos and Latsi) respectively. In each station 5 samples of *Cystoseira*, with a total surface area of 0.2 m², were collected from the upper infralittoral zone. During the analysis of the samples from the three areas, the main taxa identified were: Crustacea (Decapoda and Amphipoda), Mollusca (Gastropoda) and Anellida (Polychaeta). The analysis and synthesis of our data revealed differences in the biodiversity of the assemblages, related to the zoogeographical area (Aegean Sea - Levantine), the season (winter - summer) and the morphology of each *Cystoseira* species thallus. Our results are compared with the relevant literature and discussed.

ΣΧΕΣΕΙΣ ΜΗΚΟΥΣ – ΒΑΡΟΥΣ ΕΝΔΕΚΑ ΕΜΠΟΡΙΚΩΝ ΕΙΔΩΝ ΨΑΡΙΩΝ ΑΠΟ ΤΙΣ ΕΚΒΟΛΕΣ ΤΟΥ ΠΟΤΑΜΟΥ ΑΞΙΟΥ

Παρλαπάνη Φ. και Γ. Μίνος

Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης, Παράρτημα Ν.
Μουδανιών, Τμήμα Τεχνολογίας Αλιείας και Υδατοκαλλιεργειών, Τ.Θ. 157, Ν.
Μουδανιά 63200.

Οι εκβολές των ποταμών, αποτελούν ένα από τα παραγωγικότερα οικοσυστήματα και ο ποταμός Αξιός είναι από τους μεγαλύτερους στα Βαλκάνια. Το δέλτα του αποτελεί τμήμα ενός ευρύτερου συμπλέγματος υγροτόπων, στο οποίο συμπεριλαμβάνονται οι εκβολές των ποταμών Γαλλικού, Λουδία και Αλιάκμονα. Η εκτίμηση των παραμέτρων της αύξησης και των μοντέλων που τις υπολογίζουν, αποτελούν σημαντικό εργαλείο στην επιστήμη της Ιχθυολογίας. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν οι σχέσεις μήκους-βάρους σε ένδεκα είδη εμπορικών ψαριών από τον Οκτώβριο του 2005 έως τον Απρίλιο του 2006. Στα είδη *Liza aurata*, *Diplodus annularis*, *Platichthys flesus luscus*, *Mugil cephalus*, *Phycis blennoides*, *Scomber scombrus* και *Trachurus picturatus* το βάρος αυξάνει ισομετρικά με το μήκος ($P>0,05$) ενώ στα είδη *Liza saliens*, *Mullus barbatus*, *Zosterisessor ophiocephalus* και *Solea vulgaris* παρατηρείται αλλομετρική αύξηση ($P<0,05$). Το φθινόπωρο (Οκτώβριος-Δεκέμβριος 2005) στα είδη *M. cephalus*, *P. blennoides*, *Z. ophiocephalus*, *S. scombrus* και *D. annularis*, το βάρος αυξάνει ισομετρικά με το μήκος ($P>0,05$) ενώ στα *M. barbatus* και *S. vulgaris* έχουμε αλλομετρική αύξηση ($P<0,05$). Την Άνοιξη του 2006, στα είδη *L. aurata*, *D. annularis*, *P. flesus luscus* και *T. picturatus*, εμφανίζεται ισομετρική αύξηση ($P>0,05$) ενώ στα είδη *L. saliens* και *Z. ophiocephalus*, αλλομετρική αύξηση ($P<0,05$). Κατά την σύγκριση των σχέσεων μήκους-βάρους δύο ειδών (*Z. ophiocephalus* και *D. annularis*) που καταγράφηκαν και τις δύο εποχές (φθινόπωρο-άνοιξη), το πρώτο είδος εμφανίζει στατιστικά σημαντική διαφορά ($P<0,05$) ενώ στο δεύτερο είδος δεν υπάρχει διαφορά μεταξύ των δύο εποχών. Ο σπάρος (*D. annularis*) εμφανίζει ισομετρική αύξηση και τις δύο εποχές ενώ το γοβιός (*Z. ophiocephalus*) εμφανίζει αρνητική αλλομετρική αύξηση την άνοιξη και ισομετρία το φθινόπωρο. Παρατηρήθηκε ότι ο γοβιός είναι πιο εύρωστος το φθινόπωρο ($b=3,09$ έναντι $b=2,54$) ενώ ο σπάρος την άνοιξη ($b=3,17$ έναντι $b=2,94$).

LENGTH – WEIGHT RELATIONSHIPS FOR ELEVEN COMMERCIAL FISH SPECIES FROM AXIOS ESTUARIES

Perlapani F., and G. Minos

*Alexander Technological Educational Institute Thessalonikis, Department of
Aquaculture and Fisheries Technology, P.O. Box: 157, 63200, N. Moudania.*

The estuaries of rivers constitute one of the most productive ecosystems and the river Axios is one of the biggest in the Balkans. Its estuary constitutes part of a wider cluster of wetlands, in which are included the estuaries of Galikos, Loudias and Aliakmonas rivers. The estimation of the growth parameters and models that describes them, constitute important tool in the science of Ichthyology. In the present work were studied the length-weight relationships in eleven commercial fish species from October 2005 until April 2006. In the species of *Liza aurata*, *Diplodus annularis*, *Platichthys flesus luscus*, *Mugil cephalus*, *Phycis blennoides*, *Scomber scombrus* and *Trachurus picturatus* the weight increases isometric with the length ($P>0,05$) while in *Liza saliens*, *Mullus barbatus*, *Zosterisessor ophiocephalus* and *Solea vulgaris* observed allometric growth ($P<0,05$). During the autumn (October-December 2005), in *M. cephalus*, *P. blennoides*, *Z. ophiocephalus*, *S. scombrus* and *D. annularis*, isometric growth appears between weight and length ($P>0,05$) while in *M. barbatus* and *S. vulgaris* we have an allometric growth ($P<0,05$). In spring of 2006, *L. aurata*, *D. annularis*, *P. flesus luscus* and *T. picturatus*, appeared an isometric growth ($P>0,05$) while in *L. saliens* and *Z. ophiocephalus* an allometric growth observed ($P<0,05$). The comparison of the length-weight relations of two species (*Z. ophiocephalus* and *D. annularis*) that were recorded in both seasons (autumn-spring), revealed that the first species presented statistically significant difference ($P<0,05$) while in the second species does not exist any difference between the two seasons. Annular bream (*D. annularis*) presented an isometric growth in both seasons while grass goby (*Z. ophiocephalus*) presented a negative allometric growth in spring and an isometric growth in the autumn. From our results, grass goby is more robust in the autumn ($b=3,09$ instead of $b=2,54$ in spring) while annular bream in spring ($b=3,17$ instead of $b=2,94$ in autumn).

**ΜΕΛΕΤΗ ΕΙΔΩΝ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *ALEXANDRIUM* HALIM
(DINORPHYCEAE) ΑΠΟ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΠΑΡΑΚΤΙΑ ΥΔΑΤΑ**

Πατεράκη Χ. και Νικολαΐδης Γ.

*Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας,, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης,
54124 Θεσσαλονίκη*

Το γένος *Alexandrium* περιλαμβάνει 25 περίπου είδη με ευρεία ανά τον κόσμο εξάπλωση. Από αυτά, 10 είδη έχουν ταυτοποιηθεί ως παραγωγοί ισχυρών τοξινών υπεύθυνων για τροφικές δηλητηριάσεις τύπου PSP (Paralytic Shellfish Poisoning). Η παρουσία του γένους *Alexandrium* στα ελληνικά παράκτια ύδατα ως σήμερα περιορίζεται σε τέσσερα είδη (*A.minutum*, *A.balechii*, *A.insuetum* και *A.taylorii*). Εξ' αυτών, ενδελεχής περιγραφή υφίσταται μόνο για στελέχη του είδους *A.insuetum* από τον Αμβρακικό κόλπο. Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η παρουσίαση, σύμφωνα με την διεθνώς αποδεκτή και ακολουθούμενη μεθοδολογία, στελεχών του είδους *A.taylori* και *A.insuetum* που βρέθηκαν σε δείγματα νερού από τις ακτές Καβάλας (Κόλπος Κεραμωτής) και του Μαλιακού Κόλπου, αντίστοιχα. Ενώ η παρουσία του είδους *A.taylori* είναι σποραδική και η εξάπλωση περιορισμένης έκτασης, το είδος *A.insuetum* φαίνεται να έχει ευρεία εξάπλωση στα ελληνικά παράκτια ύδατα με πληθυσμούς υψηλής αφθονίας.

**STUDY OF SPECIES OF THE GENUS *ALEXANDRIUM* HALIM
(DINOPHYCEAE) FROM GREEK COASTAL WATERS**

Pateraki C., and Nikolaidis G.

*Department of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki,
54124 Thessaloniki*

The genus *Alexandrium* includes approximately 25 species with worldwide distribution. Ten species of them have been identified as producers of strong food poisoning toxins, PSP type (Paralytic Shellfish Poisoning). The occurrence of *Alexandrium* species from greek coastal waters is until now restricted only to four species (*A.minutum*, *A.balechii*, *A.insuetum* and *A.taylorii*), however, a detailed description exists only for strains of *A.insuetum* found in Amvrakikos Bay. The aim of this study is to present a detailed description of the species *A.taylorii* and *A.insuetum* found in water samples from coastal waters of Kavala (Keramoti) and Maliakos Bay, respectively, according to internationally accepted and applied methodology. The presence of *A.taylorii* is sporadic and its spatial distribution is limited, while *A.insuetum* seems to be widely distributed in greek coastal waters reaching high abundances.

ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΙΚΟΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΠΟΥ ΕΠΑΓΕΤΑΙ ΑΠΟ ΤΟ ΚΑΔΜΙΟ ΣΕ ΑΙΜΟΚΥΤΤΑΡΑ ΜΥΔΙΟΥ

Πατετσίνη Ε. και Μ. Καλογιάννη

*Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας Α.Π.Θ.,
Θεσ/νίκη 541 24*

Στην παρούσα ανακοίνωση ερευνήθηκε ο σηματοδοτικός μηχανισμός που επάγεται από το κάδμιο και οδηγεί στην οξειδωση των πρωτεϊνών των κυττάρων της αιμολέμφου του *Mytilus galloprovincialis*. Το κάδμιο είναι ένα τοξικό βαρύ μέταλλο που συσσωρεύεται και αποτελεί έναν από τους κυριότερους ρύπους του υδάτινου περιβάλλοντος. Ήδη δείξαμε ότι η οξειδωση των πρωτεϊνών που επάγεται από το κάδμιο και άλλους ρύπους θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως βιομάρτυρας σε μελέτες βιοπαρακολούθησης της θαλάσσιας ρύπανσης. Η οξειδωση και συγκεκριμένα η καρβονυλίωση των πρωτεϊνών μετρήθηκε με τη χρήση του αντισώματος anti-DNPH και προσδιορίστηκε ο αριθμός των καρβονυλικών ομάδων (-CO-) που σχηματίζονται στα μόρια των πρωτεϊνών. Τα αιμοκύτταρα επώαστηκαν για μία ώρα παρουσία 5 μM CdCl₂ μαζί με ένα από τα παρακάτω υποστρώματα: forskolin, ενεργοποιητή της αδενυλικής κυκλάσης, calyculin αναστολέα του ανταλλάκτη Na⁺-H⁺ (NHE), rotenone, αναστολέα της μεταφοράς ηλεκτρονίων, wortmannin, αναστολέα της κινάσης της φωσφορικής ινσιτόλης (PI3K), DPI αναστολέα της NADPH οξειδάσης, GF αναστολέα όλων των ισομορφών της πρωτεϊνικής κινάσης C (PKC), L-NAME αναστολέα της σύνθεσης του οξειδίου του αζώτου (NO) και της cytochalasin αναστολέα του πολυμερισμού της ακτίνης. Στη συνέχεια μετρήθηκε ο βαθμός της καρβονυλίωσης των πρωτεϊνών. Τα αποτελέσματά μας έδειξαν ότι το κάδμιο επάγει σημαντικά τον σχηματισμό των καρβονυλικών ομάδων στα μόρια των πρωτεϊνών στα αιμοκύτταρα του *Mytilus galloprovincialis*. Στη διαδικασία αυτή συμμετέχουν τα εξής σηματοδοτικά μόρια: οι ελεύθερες ρίζες (ROS), το κυκλικό AMP (cAMP), το οξείδιο του αζώτου (NO), η PKC, η PI3K, ο NHE και ο κυττοσκελετός.

SIGNALING MECHANISM INDUCED BY CADMIUM IN MUSSEL HEMOCYTES

Patetsini E., and M. Kaloyianni

*Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, School of Biology,
Aristotle University, Thessaloniki 541 24*

In the present study the signaling mechanism induced by cadmium (Cd) that leads to protein oxidation in hemocytes of *Mytilus galloprovincialis* was investigated. Cd is a highly toxic substance that accumulates in the marine environment and represents one of the major aquatic pollutants. We have already shown that protein oxidation induced by Cd and other pollutants could be used as a biomarker in biomonitoring studies. Protein oxidation and specifically protein carbonylation was measured by the use of an anti-DPNH antibody and the number of carbonyl groups (-CO-) attached to the protein molecules was quantified. Hemocytes were incubated for 1 hr in the presence of 5 μ M of CdCl₂ together with either forskolin an adenylate cyclase activator, or cariporide a Na⁺-H⁺ exchanger (NHE) inhibitor, or rotenone an electron transfer inhibitor, or wartmanin an inositol phosphate kinase (PI3K) inhibitor, or DPI a NADPH oxidase inhibitor, or GF a protein kinase C (PKC) inhibitor, or L-NAME a nitric oxide synthase inhibitor or cytochalasin D an actin polymerization inhibitor and subsequently protein carbonylation was measured. Our results showed that Cd significantly induces protein carbonylation in hemocytes of *Mytilus galloprovincialis*. In this process the following signaling molecules participate: reactive oxygen species (ROS), cAMP, nitric oxide, PKC, PI3K, NHE and the cytoskeleton.

**ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΙΚΩΝ ΣΥΝΕΥΡΕΣΕΩΝ
ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΟ ΔΗΜΟΣΠΟΓΓΟ *Sarcotragus foetidus*
SCHMIDT, 1862 ΣΤΙΣ ΑΚΤΕΣ ΤΗΣ ΚΥΠΡΟΥ ΚΑΙ ΤΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ**

***Παυλούδη Χ., Μαβίδης Μ., Χριστοδούλου Μ., Κίτσος Μ.-Σ.
και Α. Κούκουρας***

*Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης,
τ.κ. 541 24, Θεσσαλονίκη*

Η ποιοτική και ποσοτική σύνθεση των οργανισμικών συνευρέσεων που σχετίζονται με το σπόγγο *Sarcotragus foetidus* μελετήθηκε εποχιακά σε μια περιοχή του βόρειου Αιγαίου (Χαλκιδική) και μια αντίστοιχη περιοχή στην Κύπρο (Πάφος). Συνολικά μελετήθηκαν 15.760 cm³ σπόγγου που συλλέχθηκαν σε βάθη 10-17 m με αυτόνομη κατάδυση. Οι κύριες ταξινομικές ομάδες που προσδιορίστηκαν ήταν: Crustacea (Decapoda, Amphipoda και Isopoda), Mollusca (Bivalvia και Gastropoda) και Anellida (Polychaeta). Η ανάλυση των αποτελεσμάτων έδειξε σημαντικές διαφορές στη σύνθεση και την αφθονία των συνευρέσεων, τόσο ανάμεσα στις δύο περιοχές μελέτης όσο και εποχιακά σε κάθε περιοχή. Στο βόρειο Αιγαίο η κυρίαρχη ταξινομική ομάδα είναι τα Πολύχαιτα Δακτυλιωτά ενώ στην Κύπρο αυτά αντικαθίστανται από τα Δεκάποδα Έγκρουστα. Τα αποτελέσματα συγκρίνονται με τη σχετική βιβλιογραφία και συζητούνται.

**COMPARATIVE STUDY OF THE ORGANISMIC ASSEMBLAGES
ASSOCIATED WITH THE DEMOSPONGE *Sarcotragus foetidus*
SCHMIDT, 1862 AT THE COASTS OF CYPRUS AND GREECE**

***Pavloudi Ch., Mavidis M., Christodoulou M., Kitsos M.-S.,
and A. Koukouras***

*Department of Zoology, School of Biology, Aristoteleio University of Thessaloniki,
GR-541 24, Thessaloniki, Greece*

The qualitative and quantitative composition of the organismic assemblages associated with the sponge *Sarcotragus foetidus* was studied seasonally in an area of the north Aegean Sea (Chalkidiki) and a corresponding area at Cyprus (Pafos). An overall sponge volume of 15,760 cm³, collected at depths 10-17 m with SCUBA diving, was studied. The main taxa identified were: Crustacea (Decapoda, Amphipoda and Isopoda), Mollusca (Bivalvia and Gastropoda) and Anellida (Polychaeta). Analysis of results revealed significant differences in the composition and abundance of the assemblages, both between the two study areas and seasonally in each area. In the north Aegean Sea the dominant taxon is polychaets while in Cyprus polychaets are replaced by decapods. Our results are compared with the relevant literature and discussed.

**ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΣΤΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΜΕΤΑΞΥ
ΑΡΣΕΝΙΚΩΝ ΚΑΙ ΘΗΛΥΚΩΝ ΑΤΟΜΩΝ, ΜΕ ΑΝΑΛΥΣΗ
ΤΩΝ ΣΤΑΘΕΡΩΝ ΙΣΟΤΟΠΩΝ ΑΝΘΡΑΚΑ ΚΑΙ ΑΖΩΤΟΥ
ΣΕ ΚΟΛΛΑΓΟΝΟ ΟΣΤΩΝ**

Πετροτσά Ε.Ι.¹, Richards Μ.Ρ.^{2,3} και Σ.Κ. Μανώλης¹

¹Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου. Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο
Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 157 84 Αθήνα, Ελλάδα.

²Department of Human Evolution, Max Planck Institute for Evolutionary
Anthropology, Leipzig, Germany.

³Department of Archaeology, University of Durham, Durham, DH1 3LE, U.K.

Σε κολλαγόνο ανθρώπινων οστών έγινε ανάλυση σταθερών ισοτόπων άνθρακα και αζώτου, από τρεις προϊστορικές θέσεις, της Ελλάδας. Η καλή διατήρηση των οστών μας έδωσε τη δυνατότητα να κάνουμε αναγνώριση του φύλου των ατόμων που μελετήθηκαν και να χρησιμοποιήσουμε τις ισοτοπικές αναλογίες για να διερευνήσουμε πιθανές διαφορές στη διατροφή, μεταξύ των δύο φύλων. Καμία από τις ταφές που μελετήθηκαν δε συνοδευόταν από ευρήματα, που να υποδηλώνουν κάποια διαφορά μεταξύ των ατόμων και στους τρεις πληθυσμούς. Τα αποτελέσματα έδειξαν διαφορά μεταξύ αρσενικών και θηλυκών ατόμων στην Αγία Τριάδα, Ηλίας, αλλά καμία διαφορά στα άτομα των άλλων δύο θέσεων. Η διαφορά στη διατροφή, καταδεικνύεται από τις τιμές $\delta^{15}\text{N}$, όπου παρουσιάζουν μεγαλύτερη κατανάλωση ζωϊκής πρωτεΐνης από τα αρσενικά άτομα της κοινότητας. Η μελέτη αυτή ενισχύει τα αρχαιολογικά δεδομένα, που δείχνουν κοινωνικο-οικονομικές διαφορές, που σχετίζονται μερικώς με γεωγραφική θέση που βρίσκεται η Αγία Τριάδα και κατ'επέκταση με την οικονομική εξειδίκευση της κοινότητας, που πιθανότατα αποτελείτο από βοσκούς.

INVESTIGATING GENDER DIFFERENCES IN DIET USING STABLE CARBON AND NITROGEN ISOTOPE ANALYSIS

Petroutsas E.I.¹, Richards M.P.^{2,3}, and S.K. Manolis¹

¹*Department of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, 157 84 Athens - Greece.*

²*Department of Human Evolution, Max Planck Institute for Evolutionary Anthropology, Leipzig, Germany.*

³*Department of Archaeology, University of Durham, Durham, DH1 3LE, U.K.*

Human bone collagen carbon and nitrogen stable isotope ratios were obtained from three Greek Prehistoric sites. The good preservation of the material enable us to identify sex, in the individuals under study and to use the isotopic values in order to investigate gender differences in their diet. None of the burials is associated with distinct grave goods indicating any differences between individuals in all three sites. The results presented differences between males and females in the population of Aghia Triada, Elis and no differences in the other two sites. The $\delta^{15}\text{N}$ values are presenting greater animal protein use by males in Aghia Triada. This study supports the archaeological data for socioeconomic differences, related in part to geographic position and to the presence of economically specialized community, such as shepherds.

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΔΥΟ ΧΕΙΡΙΣΜΩΝ ΤΗΣ ΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ
ΕΔΑΦΟΥΣ ΣΤΙΣ ΑΠΟΔΟΣΕΙΣ ΣΕ ΒΙΟΜΑΖΑ ΚΑΙ ΣΑΚΧΑΡΑ
ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΓΛΥΚΟΥ ΣΟΡΓΟΥ [*Sorghum bicolor* (L.) Moench].**

**Πιστίκη Α., Καμπράνης Α., Κούβελας Α., Μακρή Α., Θεοδωρακοπούλου Α.,
Αγγελόπουλος Κ.**

Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, Ρίον 26500

Στην παρούσα εργασία θα παρουσιασθούν δεδομένα σύγκρισης της επίδρασης δύο χειρισμών της γονιμότητας του εδάφους στις αποδόσεις σε βιομάζα και ζυμώσιμα σάκχαρα καλλιέργειας γλυκού σόργου [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] ποικιλίας Keller. Το γλυκό σόργο είναι μια σχετικά νέα ενεργειακή καλλιέργεια στην Ευρωπαϊκή Ένωση για παραγωγή βιομάζας και βιοαιθανόλης με υψηλούς C4 φωτοσυνθετικούς ρυθμούς και με πολύ καλή προσαρμοστικότητα στα Μεσογειακά οικοσυστήματα. Εφαρμόστηκαν δύο χειρισμοί, ο «συμβατικός» στον οποίο προστέθηκαν ανόργανα λιπάσματα για κάλυψη της καλλιέργειας σε ανόργανα θρεπτικά στοιχεία και ο «βιολογικός» στον οποίο εφαρμόστηκε χλωρή λίπανση και προστέθηκαν οργανική ουσία και πληθυσμοί μικροοργανισμών (μυκόρριζες, συμβιωτικά και μη συμβιωτικά αζωτοδεσμευτικά βακτήρια). Οι μέσες αποδόσεις της καλλιέργειας σε νωπή βιομάζα ήταν $10.601 \pm 96,67 \text{ g/m}^2$ για τον βιολογικό χειρισμό και $10.634 \pm 645,15 \text{ g/m}^2$ για το συμβατικό. Οι αποδόσεις σε ξηρά βιομάζα ήταν $3.959,2 \text{ g/m}^2$ και $3.935,33 \text{ g/m}^2$ αντιστοίχως. Οι αποδόσεις σε σάκχαρα ήταν $491,43 \text{ g/m}^2$ στον συμβατικό και τα $389,61 \text{ g/m}^2$ στον βιολογικό τρόπο καλλιέργειας. Στατιστική ανάλυση (One way ANOVA) των αποτελεσμάτων έδειξε ότι δεν υπάρχει σημαντική διαφορά στις αποδόσεις σε βιομάζα και σάκχαρα μεταξύ των δύο χειρισμών. Αντιθέτως διαφορές διαπιστώθηκαν στους ρυθμούς αύξησης της καλλιέργειας. Οι μέγιστοι ρυθμοί αύξησης της καλλιέργειας ήταν $61,38 \text{ m}^{-2} \text{ day}^{-1}$ για το συμβατικό χειρισμό και $54,29 \text{ m}^{-2} \text{ day}^{-1}$ για το βιολογικό χειρισμό. Διαπιστώθηκαν επίσης διαφορές στην κατανομή της περιεκτικότητας των μεσογονατίων των στελεχών σε σάκχαρα.

EFFECT OF TWO SOIL FERTILITY TREATMENTS ON SWEET SORGHUM [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] BIOMASS AND SUGAR YIELDS

Pistiki A., Kampranis A., Kouvelas A., Theodorakopoulou A., Makri A., Angelopoulos, K.

Department of Biology, University of Patras, Rion 26500

The effect of two soil fertility treatments on sweet sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] cv. Keller biomass and sugar yields was studied. Sweet sorghum is a relative new energy crop in the European Union for biomass and ethanol production, with high C₄ photosynthetic rates and adaptability to Mediterranean environments. Two soil treatments were applied. A “conventional” by addition of inorganic fertilizers to cover the nutritional needs of crop and a “biological” one by applying green manure, organic matter and microorganisms (mycorrhiza, symbiotic and non symbiotic nitrogen fixing bacteria). Fresh biomass yields reached 10.601±96,67 g/m² and 10.634±645,15 g/m² at the conventional and biological treatment respectively. Dry biomass yields reached 3.959,2 g/m² and 3.935,33 g/m². Sugar yields reached 491,43 g/m² and 389,61 g/m² respectively. Statistical analysis (One way ANOVA) showed that there were no significant differences in biomass and sugar yields between the two treatments. In contrast differences were found in crop growth rates. Maximum values of this index were 61,38 m⁻² day⁻¹ and 54,29 m⁻² day⁻¹ at the conventional and biological treatment respectively. Differences in sugar content of stem internodes were also found.

ΤΟ H₂O₂ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ ΡΥΘΜΙΣΗΣ ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΟΦΑΓΙΑΣ *E. coli*, ΑΠΟ ΤΑ ΑΙΜΟΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΕΝΤΟΜΟΥ *C. capitata*

Πουλιλιού Σ., Τσάκας Σ., Λαμπροπούλου Μ., Μαρμάρας Β.Ι.

Εργαστήριο Βιολογίας - Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών

Τα αιμοκύτταρα των εντόμων, όπως και τα πολυμορφοπύρρηνα κύτταρα του αίματος στον άνθρωπο, παράγουν διάφορα μόρια δραστικού οξυγόνου, όπως H₂O₂ και NO, τα οποία ρυθμίζουν την κυτταροφαγία. Στην εργασία αυτή μελετήθηκε η παραγωγή και η συμμετοχή του H₂O₂ στην κυτταροφαγία *E.coli* από τα αιμοκύτταρα του εντόμου *C. capitata*. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν φθορίζοντα μόρια τα οποία οξειδώνονται ειδικά και μετατοπίζουν την καμπύλη φθορισμού τους, όπως DHR (οξειδωση από H₂O₂), HE (οξειδωση από O₂⁻) και DCFH (οξειδωση από NO και H₂O₂). Πειράματα με κυτταρομετρία ροής έδειξαν ότι τα αιμοκύτταρα, παρουσία *E. coli*, παράγουν O₂⁻ και H₂O₂, αλλά καθόλου NO. Ο ενεργός ρόλος του H₂O₂ στη ρύθμιση της κυτταροφαγίας, επιβεβαιώθηκε με τη χρήση εξειδικευμένων αναστολέων για τα ένζυμα του μεταβολισμού του, N-ethylen-maleimide (NEM) για τη NADPH οξειδάση και NaN₃ για την καταλάση. Οι αναστολείς αυτοί μείωσαν ή αύξησαν, αντίστοιχα, την πρόσληψη βακτηρίων από τα αιμοκύτταρα, λόγω της αντίστοιχης μείωσης ή συσσώρευσης του H₂O₂. Ανοσοαποτυπώματα των MAP κινασών, από εκχύλισμα αιμοκυττάρων, μετά από καλλιέργεια, παρουσία των παραπάνω αναστολέων, έδειξαν ότι κατά την κυτταροφαγία *E. coli*, η φωσφορυλίωση κυρίως της JNK και της p38, εξαρτάται από το H₂O₂ ενώ της ERK λιγότερο. Σε πειράματα κυτταρομετρίας ροής, η παρουσία αναστολέων της φωσφορυλίωσης των ERK και JNK δεν προκάλεσαν καμία αλλαγή στην παραγωγή H₂O₂. Αντίθετα, η παρουσία αναστολέα της φωσφορυλίωσης της p38 προκάλεσε μείωση της παραγωγής H₂O₂. Τέλος οι αναστολείς της έκκρισης, SITS και brefeldin μειώνουν την παραγωγή H₂O₂ ακόμη και με την ταυτόχρονη παρουσία *E. coli*. Φαίνεται ότι το H₂O₂ που παράγεται κατά την κυτταροφαγία της *E. coli* και ρυθμίζει την είσοδο των βακτηρίων ελέγχοντας τη φωσφορυλίωση των MAP κινασών. Ταυτόχρονα η παραγωγή του H₂O₂ ελέγχεται από τη φωσφορυλίωση της p38 και την έκκριση.

**THE H₂O₂ AS A MODULATOR OF *E. coli* PHAGOCYTOSIS,
BY THE HEMOCYTES OF THE MEDFLY *C. capitata***

Pouliliou S., Tsakas S., Lampropoulou M., Marmaras V.J.

Laboratory of Biology – Department of Biology, University of Patras

Insect hemocytes and human polymorphonuclear blood cells, as well, produce several reactive oxygen species such as H₂O₂ and NO, which regulate phagocytosis. In the present work, we investigated the production and participation of H₂O₂ in the phagocytosis of *E. coli* by the hemocytes of the insect *C. capitata*. For this purpose, certain fluorescent probes were used, which are specifically oxidized and transfer their fluorescence plot, such as DCFH (oxidized by NO and H₂O₂), DHR (oxidized by H₂O₂) and HE (oxidized by O₂⁻). Flow cytometry analysis revealed the production of O₂⁻ and H₂O₂ by the hemocytes, during phagocytosis of *E. coli*. No production of NO was observed. The active role of H₂O₂ was confirmed with the use of specific enzyme inhibitors of its metabolism, NEM for the NADPH oxidase and NaN₃ for catalase. These inhibitors decreased or enhanced phagocytosis, respectively, due to the reduction or accumulation of H₂O₂. Immunoblot analysis of MAP kinases, from crude extracts of cultured hemocytes in the presence of the above inhibitors, showed that the phosphorylation of JNK and p38 is influenced by H₂O₂, while, the phosphorylation of ERK is influenced in a much lesser degree, during phagocytosis of *E. coli*. On the other hand, flow cytometry experiments showed that inhibition of ERK and JNK phosphorylation did not change H₂O₂ production, at all, while inhibition of p38 phosphorylation reduced H₂O₂ production, during *E. coli* phagocytosis. In addition, the presence of secretion inhibitors, SITS and brefeldin, decreased H₂O₂ production even in the presence of *E. coli*, in a hemocyte culture. Consequently, it is evident that H₂O₂ which is produced by the hemocytes in the presence of *E. coli*, regulates phagocytosis via MAP kinases phosphorylation. At the same time, the production of H₂O₂ is regulated by hemocyte secretion and p38 phosphorylation.

ΒΙΟΑΛΛΟΙΩΣΗ ΕΝΥΔΡΟΥ ΞΥΛΟΥ ΑΠΟ ΤΟΝ ΝΕΟΛΙΘΙΚΟ ΛΙΜΝΑΙΟ ΟΙΚΙΣΜΟ ΤΟΥ ΔΙΣΠΗΛΙΟΥ ΚΑΣΤΟΡΙΑΣ.

Πούρνου Α.¹, Bogomolova E.², Panina L.², Παναγιάρης Γ.¹

¹Τμήμα Συντήρησης Αρχαιοτήτων και Έργων Τέχνης, Τ.Ε.Ι. Αθήνας, Αγ.
Σπυρίδωνος, Αιγάλεω, 12210 Αθήνα.

²Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Βιολογικών και Γεωλογικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο
Αγ. Πετρούπολης, Univeritetskaya emb. 7/9, 199034, St.Petersburg, Russia.

Η βιοαλλοίωση ένυδρων οργανικών υλικών είναι ίσως η κυριότερη αιτία φθοράς τους. Το Τμήμα Συντήρησης Αρχαιοτήτων και Έργων Τέχνης του Τ.Ε.Ι. Αθήνας και το Τμήμα Βιολογίας του Πανεπιστημίου της Αγ. Πετρούπολης, υλοποίησαν διακρατικό ερευνητικό πρόγραμμα που διερεύνησε την βιοαλλοίωση ξύλινων πάσσινων του νεολιθικού λιμναίου οικισμού του Δισπηλίου Καστορίας. Το πρόγραμμα περιελάμβανε απομόνωση και ταυτοποίηση μικροοργανισμών και εντοπισμό των σχηματότυπων φθοράς που είχαν προκαλέσει. Οι καλλιέργειες των μυκήτων έγιναν σε διάφορα θρεπτικά μέσα όπως oat meal agar, Czapek agar, και corn meal agar, επιτρέποντας έτσι να αναπτυχθούν μύκητες που ζουν στον νερό, στον αέρα αλλά και παθογόνοι μύκητες για το ξύλο. Η ταυτοποίηση έγινε με μικροσκοπία φθορισμού και ορατού φωτός. Η μορφολογία του ξύλου εξετάστηκε με ηλεκτρονική μικροσκοπία όπως επίσης με μικροσκοπία ορατού φωτός σε τομές όπου είχε γίνει διπλή χρώση με safranin O και micro-anilin blue. Με βάση τα πρώτα αποτελέσματα, τα είδη που ταυτοποιήθηκαν στην ένυδρη ξυλεία του Δισπηλίου, ήταν κυρίως τυπικοί αντιπρόσωποι μυκήτων εδάφους όπως *Fusarium* spp, *Trichoderma* sp. και *Acremonium* spp. Δεν βρέθηκαν αντιπρόσωποι μυκήτων νερού ή παθογόνων μυκήτων του ξύλου. Επίσης παρατηρήθηκε ανάπτυξη βακτηρίων στα περισσότερα δείγματα. Εν τούτοις, η μορφολογία του ξύλου σε κυτταρικό επίπεδο εμφανίζει σχηματότυπους αλλοίωσης που συνδέονται με μυκητιακή και βακτηριακή προσβολή. Συχνά παρατηρείται εκτεταμένο δίκτυο σπράγγων, διάβρωση κυτταρικών τοιχωμάτων και οπές που έχουν προέλθει από την ενζυματική-λυτική δράση μυκήτων και βακτηρίων. Περαιτέρω έρευνα απαιτείται, έτσι ώστε να διαπιστωθεί κατά πόσο αυτή η βιογενής προσβολή είχε πραγματοποιηθεί στο περιβάλλον ταφής ή μετά την ανασκαφή, έτσι ώστε να ληφθούν τα κατάλληλα μέτρα για την διαφύλαξη της ένυδρης ξυλείας. Επιπλέον θα εξαχθούν συμπεράσματα που θα συμβάλλουν στην κατανόηση των μηχανισμών φθοράς του ξύλου σε υγρά και ένυδρα περιβάλλοντα.

BIODETERIORATION OF WATERLOGGED WOOD FROM THE NEOLITHIC LAKE SETTLEMENT OF DISPILIO, KASTORIA

Pournou A.¹, Bogomolova E.², Panina L.², Panagiariis G.¹

¹Department of Conservation of Antiquities and Works of Art, Technological Educational Institute of Athens, Ag. Spyridonos, Aigaleo, 12210 Athens, Greece.

²Department of Biology, Faculty of Biology and Soil Sciences, St. Petersburg State University, Univeritetskaya emb. 7/9, 199034, St. Petersburg, Russia.

Biodeterioration, is probably the main cause of decay in waterlogged organic materials. The Department of SAET, TEI of Athens, along with the Department of Biology, St Petersburg University, have undertaken a bilateral project that has investigated the biodeterioration of waterlogged wooden posts found at the Neolithic lakeside settlement of Dispilio, Kastoria. The project included isolation and identification of microorganisms and detection of patterns of decay caused by them. Fungi isolation involved the use of different culture media such as oat meal agar, Czapek agar and corn meal agar, in order to allow the growth of water and soil inhabiting fungi as well as wood destroying fungi. Fungi were identified by slide cultures using light and fluorescent microscopy. Wood morphology was examined by electron microscopy and by light microscopy on wood sections counterstained with safranin O and picro-anilin blue. Based on the initial results obtained, the fungal species identified on waterlogged wood from Dispilio, were representative of those typically found in soils such as *Fusarium* spp, *Trichoderma* sp. and *Acremonium* spp. No water inhabitants or wood pathogens were found. Furthermore, abundant bacterial growth was observed in most samples. However, the morphology of the wood at a cellular level showed patterns of decay associated with fungal and bacterial attack. Extended networks of tunnels, erosion of cell wall layers and cavities caused by the lytic activity of bacteria and fungi were frequently observed. Further investigation is needed to determine if this biogenic attack had occurred in the burial environment or after excavation, in order to take the appropriate measures for the preservation of the waterlogged posts. Moreover the conclusions drawn, may contribute to the understanding of deterioration mechanisms in wet and waterlogged environments.

ΜΕΤΑΦΡΑΣΤΙΚΕΣ ΑΠΟΚΡΙΣΕΙΣ ΤΩΝ ΜΥΔΙΩΝ ΣΕ ΡΥΠΑΝΣΗ ΤΟΥ ΘΑΛΑΣΣΙΟΥ ΥΔΑΤΟΣ

Πυθαροπούλου Σ., Κλέτσας Γ., Σταματίου Ε. και Καλπαξής Δ.

Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Τμήμα Ιατρικής, Παν/μιο Πατρών, 26500-Πάτρα

Η ολική μετάφραση ελαττώνεται ως ανταπόκριση σε διάφορα είδη κυτταρικού stress, αφ' ενός για εξοικονόμηση ενέργειας και, αφ' ετέρου για αποφυγή σύνθεσης ανεπιθύμητων πρωτεϊνών. Στις περισσότερες περιπτώσεις, οι οργανισμοί μειώνουν την πρωτεϊνική σύνθεση, αποθηκεύοντας τα ριβοσώματα σε ανενεργή μορφή. Έτσι, ένας αποτελεσματικός τρόπος βιοπαρακολούθησης της ρύπανσης μπορεί να είναι η μέτρηση των πολυσωμάτων, που αποτελούν δείκτη της μεταφραστικής ικανότητας των κυττάρων. Για να ελέγξουμε αυτή την υπόθεση, μύδια του είδους *Mytilus galloprovincialis* τοποθετήθηκαν σε πλαστικά δίκτυα και καταποντίστηκαν σε βάθος 3-10 μ. σε μια καθαρή περιοχή (περιοχή αναφοράς), στο Γαλαξείδι, και δύο σταθμούς βιοπαρακολούθησης στον Πατραϊκό Κόλπο, το Χειμώνα, την Άνοιξη και το Φθινόπωρο του 2006. Μετά από έκθεση ενός μηνός, πρότυποι βιοδείκτες μετρήθηκαν σε κύτταρα του πεπτικού αδένος και των βραγχίων των μυδιών. Επίσης, μετρήθηκαν βαρέα μέταλλα στο περιβάλλον θαλάσσιο ύδωρ και σε ιστούς των μυδιών, καθώς και το ποσοστό των πολυσωμάτων και η ικανότητα των ριβοσωμάτων για έναρξη της πρωτεϊνικής σύνθεσης. Παράγοντες που επηρεάζουν τις μετρήσεις, όπως η ηλικία, η ανάπτυξη και ο αναπαραγωγικός κύκλος, ελήφθησαν υπ' όψη. Τα αποτελέσματά μας υποστηρίζουν την άποψη, ότι η μείωση της ολικής πρωτεϊνικής σύνθεσης αποτελεί σπουδαίο συστατικό της ανταπόκρισης των κυττάρων έναντι του περιβαλλοντικού stress, και μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε προγράμματα βιοπαρακολούθησης. Επίσης, επιβεβαιώνουν προηγούμενες παρατηρήσεις μας ότι ο βαθμός ρύπανσης του Πατραϊκού Κόλπου ποικίλει από θέση σε θέση και εξαρτάται από τις επιδράσεις αγροτικών, αστικών και βιομηχανικών πηγών ρύπανσης. Ωστόσο, σύγκριση των παρόντων με δεδομένα της τελευταίας πενταετίας εισηγείται ότι η ρύπανση του Πατραϊκού Κόλπου υποχωρεί προοδευτικά, όπως δείχνει η μείωση της βιοσυσσώρευσης ρυπαντών στους ιστούς των μυδιών και η εξασθένηση των βιο-αποκρίσεων.

- **Ευχαριστίες:** Η μελέτη αυτή έτυχε επιχορήγησης (MEL2322-2918-2664 BL2202MED POL) στα πλαίσια του προγράμματος UNEP/MAP.

TRANSLATION RESPONSES OF MUSSELS TO SEAWATER POLLUTION

Pytharopoulou S., Kletsas G., Stamatiou I., and Kalpaxis D.L.

Laboratory of Biochemistry, School of Medicine, University of Patras, 26500-Patras, Greece

Global translation is reduced in response to various cellular stresses, both to save energy and to prevent synthesis of unwanted proteins. In most cases, organisms downregulate protein synthesis by storing inactive ribosomes. Therefore, an effective way to reveal responses to pollution stress may be to measure polysomes that serve as an indicator of the translation efficiency status. To test this approach, specimens of *Mytilus galloprovincialis* were placed in bow nets and immersed at 3-10 m depth in a clean coastal region (reference area), Galaxidi, and two marine stations along Gulf of Patras in winter, spring and autumn 2006. After each exposure (1 month), standard biomarkers applied in digestive gland and gill cells were assessed in the caged mussels. In addition, metals in the surrounding waters and mussel tissues as well as polysome content and the efficiency of ribosomes to initiate protein synthesis in digestive gland cells, were estimated. To reduce the intrinsic variability of the biomarker values, factors related to ageing, growth, and reproductive cycle were taken into account. Our results support the notion that downregulation of global protein synthesis is an important component of the cellular stress response and can be exploited to monitor biological effects of pollution. In addition, the data collected confirm previous own observations that the degree of pollution in Gulf of Patras differs between different sites and depends on agricultural, urban and industrial influences. Nevertheless, as suggested by comparison of the present data with those recorded during the last five years, an apparent remission of pollution is observed in Gulf of Patras, depicted as a progressive reduction of pollutant bioaccumulation in mussels along with an attenuation of biomarker responses.

- **Acknowledgements:** *This work was supported by a grant (MEL2322-2918-2664 BL2202MED POL) within the framework of the United Nations Environment Programme/Mediterranean Action Plan.*

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ ΣΠΟΡΟΥ ΚΑΙ ΕΠΟΧΗΣ ΣΠΟΡΑΣ ΣΤΗ ΖΩΤΙΚΟΤΗΤΑ ΦΥΤΕΥΤΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ ΠΕΥΚΗΣ

Ραδόγλου Κ.¹, Φωτέλλη Μ.Ν.^{1,3}, Χαλυβόπουλος Γ.¹, Ευθυμίου Γ.¹ και Ι. Τάκος²

¹ *Ινστιτούτο Δασικών Ερευνών, Εθνικό Ίδρυμα Αγροτικής Έρευνας, Βασιλικά 57006,
Θεσσαλονίκη.*

² *Τμήμα Δασοπονίας, ΤΕΙ Καβάλας, 1^ο χλμ Δράμας – Καλαμπακίου, 66100 Δράμα.*

³ *Παρούσα Δ/ση: Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών,
11855 Αθήνα.*

Η ανάγκη υιοθέτησης ποιοτικού ελέγχου τόσο στο υλικό σποράς όσο και στο φυτευτικό υλικό καθίσταται επιτακτική για την αναβάθμιση της ελληνικής φυτωριακής παραγωγής. Η ποιότητα των παραγόμενων φυταρίων ενδιαφέρει τους αρμόδιους φορείς που παράγουν και διακινούν φυτευτικό υλικό, δεδομένου ότι τα παραγόμενα φυτάρια που χρησιμοποιούνται για αναδασώσεις και βελτίωση αστικού και φυσικού περιβάλλοντος, συχνά παρουσιάζουν σημαντικό ποσοστό αποτυχίας στους χώρους τελικής εγκατάστασής τους. Η παρούσα μελέτη στόχευσε στη σύγκριση της ζωτικότητας φυτευτικού υλικού των ειδών *Pinus nigra*, *P. brutia* και *P. halepensis*, τα οποία χρησιμοποιούνται ευρέως για αναδασώσεις και αστικό πράσινο, υπό την επίδραση συνήθων τακτικών της φυτωριακής πράξης, όπως η διαφορετική διάρκεια αποθήκευσης σπόρου και η εποχή σποράς. Το φυτευτικό υλικό προήλθε από σπόρο που υποβλήθηκε σε αποθήκευση για τρία ή τέσσερα έτη, μετά από εαρινή ή χειμερινή σπορά. Ως δείκτες ζωτικότητας χρησιμοποιήθηκαν μορφολογικές παράμετροι, όπως το ποσοστό φυτρωτικότητας των φυταρίων και το ύψος τους. Παρατηρήθηκε ότι σε όλα τα είδη ο μεγαλύτερος χρόνος αποθήκευσης σπόρου είχε ως αποτέλεσμα τη δραστική μείωση του ποσοστού φυτρωτικότητας, ανεξαρτήτως της εποχής σποράς. Από την παρατεταμένη διάρκεια αποθήκευσης περισσότερο επηρεάστηκε η *P. nigra* ακολουθούμενη από τη *P. halepensis* με τελευταία την *P. brutia*, η οποία και παρουσίασε τα μεγαλύτερα ποσοστά φυτρωτικότητας. Για τα είδη *P. nigra* και *P. brutia*, στα φυτάρια που προήλθαν από σπόρους με τη μικρότερη διάρκεια αποθήκευσης, τα ποσοστά φυτρωτικότητας ήταν υψηλότερα μετά από εαρινή σπορά, σε σύγκριση με τη χειμερινή. Σε κανένα είδος δεν βρέθηκε σημαντική επίδραση του χρόνου αποθήκευσης και της εποχής σποράς στο ύψος των παραγόμενων φυταρίων. Συμπερασματικά, φαίνεται ότι η παρατεταμένη διάρκεια αποθήκευσης σπόρων ειδών Πεύκης μειώνει τη φυτρωτικότητά τους, αλλά δεν έχει καμία επίδραση στο ύψος των παραγόμενων φυταρίων. Ο συνδυασμός μικρότερου χρόνου αποθήκευσης των σπόρων του φυτευτικού υλικού και εαρινής σποράς τους φαίνεται ότι έχει τα καλύτερα αποτελέσματα όσον αφορά στη φυτρωτικότητα των σπόρων. Αντιθέτως, το ύψος των παραγόμενων φυταρίων φαίνεται ότι είναι μάλλον ακατάλληλος δείκτης για την εκτίμηση της ζωτικότητας και επομένως της ποιότητας του φυτευτικού υλικού.

EFFECTS OF SEED STORAGE DURATION AND TIME OF SAWING ON VITALITY OF PINE PLANTING STOCK

Radoglou K.¹, Fotelli M.N.^{1,3}, Halyvopoulos G.¹, Efthimiou G.¹, and I. Takos²

¹Forest Research Institute, Εθνικό National Agricultural Research Foundation, Vasilika 57006, Thessaloniki, Greece.

²School of Forestry, Technological Educational Institute of Kavala, 1st klm Drama - Kalabaki, 66100 Drama, Greece.

³Present Address: Department of Agricultural Biotechnology, Agricultural University of Athens, 11855 Athens, Greece.

The requirement for quality controls over seed and plant stock becomes increasingly important for the enhancement of Greek nurseries production. The quality of the plants produced is of interest for all parties involved in production and trade of planting stock, since the plants used for reforestation and improvement of urban and natural environment often exhibit inadequate growth. The present study aimed at comparing the vitality of planting stock of the pines *Pinus nigra*, *P. brutia* and *P. halepensis*, being widely used for reforestation and urban forestry purposes. Their vitality has been compared under the influence of common nursery practices, such as the varying duration of seed storage and time of saw. The planting stock used in our study originated from seeds subjected to storage for three or four year, after sawing in spring or winter. Morphological parameters, such as the percentage of germination and the height of the plants produced were used as indicators of plant stock vitality. It was observed in all pines that increased storage duration resulted in a dramatic decrease of the percentage of germination, independent of the season of sawing. *P. nigra* was mostly affected by increased storage duration, followed by *P. halepensis* and finally *P. brutia*, which presented the highest germination. In plants of *P. nigra* and *P. brutia* originating from seeds subjected to shorter storage, germination was higher after spring sawing. Neither seed storage duration nor season of sawing had any effect on the height of the produced plants. In conclusion, prolonged seed storage seems to reduce their germination, but has no effect on the height of the plants produced. The combination of shorter seed storage and spring sawing has the best outcome in terms of seed germination. On the contrary, height of the produced plants appears to be a poor indicator of the vitality and thus quality of planting stock.

**ΕΝΑ ΤΑΞΙΔΙ ΣΤΗΝ ΕΞΕΛΙΚΤΙΚΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ
(ΕΡΩΤΗΜΑΤΑ; ΑΝΤΙΦΑΣΕΙΣ; ΜΙΑ ΣΥΓΧΡΟΝΗ ΣΥΝΘΕΣΗ)**

*Ροδάκης Γ.Κ. **

*Τομέας Βιοχημείας και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και
Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, 157 01 Αθήνα.*

Η δημιουργία και η εξέλιξη των οργανισμών είναι συνέχεια της εξέλιξης του σύμπαντος. Η χημική, όπως αποκαλείται, εξέλιξη ξεκίνησε αμέσως μετά τη δημιουργία της γης (~4.6 Gy) ακολουθώντας μια πορεία συνεχούς αύξησης της πολυπλοκότητας των παραγόμενων –αρχικά– και των αναπαραγόμενων –στη συνέχεια– μορίων και μοριακών συμπλεγμάτων, καταλήγοντας μετά από μερικές εκατοντάδες εκατομμύρια χρόνια στην εμφάνιση των πρώτων κυττάρων (~3.8 Gy). Το πέρασμα στην οργανισμική, πλέον, εξέλιξη, παρά τις επανειλημμένες καταστροφές-εξαφανίσεις οργανισμών ή/και τις θεαματικές περιβαλλοντικές αλλαγές, δεν σταμάτησε την εμφάνιση νέων μορφών ζωής με συνεχώς μεγαλύτερη λειτουργική και μορφολογική πολυπλοκότητα: ευκαρυωτική οργάνωση, διαχείριση οξυγόνου, φυλετική αναπαραγωγή, πολυκύτταρη οργάνωση, έκρηξη της Καμβρίου, νοήμων άνθρωπος. Το σενάριο αυτό, ευρέως αποδεκτό σήμερα, οδηγεί σε ένα κρίσιμο ερώτημα: Έχει κατεύθυνση η εξέλιξη; Γιατί και πώς προχωρεί από τα «απλά» στα «σύνθετα»; Με αφετηρία αυτό το ερώτημα, το ταξίδι στην Εξελικτική Βιολογία περνάει από στοιχεία-σταθμούς που τη σκιαγραφούν και την προσδιορίζουν σε θεμελιώδες επίπεδο, διατηρώντας ως σημείο αναφοράς την ισχύουσα επιστημολογική αντίληψη, αλλά και αναγνωρίζοντας την ανάγκη εισαγωγής ενοχλητικών παραδοχών. Στη διαδρομή διασταυρώνεται με τη Μοριακή Βιολογία (και όχι μόνο) της οποίας τα πρόσφατα επιτεύγματα επικαιροποιούν το αρχικό ερώτημα. Έτσι, η σύνθεση και η γενίκευση, απαλλαγμένες από αναγωγιστικές κακοτοπιές, αναδεικνύονται σε εργαλείο για την κατανόηση του πριν, του τώρα, και γιατί όχι, του αύριο.

- *Με οικονομική υποστήριξη από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας (ΕΛΚΕ) του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.*
- *(*) Προσκεκλημένος ομιλητής*

**A JOURNEY IN THE EVOLUTIONARY BIOLOGY
(QUESTIONS? CONTRADICTIONS? A MODERN SYNTHESIS)**

Rodakis G.C.*

*Department of Biochemistry and Molecular Biology, National and Kapodistrian
University of Athens, Panepistimioupolis, 157 01 Athens*

The creation and the evolution of life is a consequence of the evolution of the Cosmos. The so-called chemical evolution started with the formation of the planet (~4.6 Gy) and was characterized with a steadily increase in complexity of the produced –and later of the reproduced– molecules, culminating in the appearance of the protocell (~3.8 Gy). The organismic evolution, that followed, lead to the increased morphological and functional complexity, such as the eukaryotic nucleus and cell, aerobic respiration, sexual reproduction, multicellular organisms, and the emergence of mind with the human conscience at its pinnacle. This widely accepted scenario leads to several uneasy questions, such as if there is a direction in evolution (i.e., a drive from simpler to more complicated entities). This question may serve as a starting point for the quest to understand the path of evolution. The path goes through most disciplines of sciences, most notably molecular biology, but also the humanities. Its main characteristic is that it is always governed by the principles of scientific knowledge. The resulting synthesis provides a solid foundation for the interpretation of the past and for the preparation for the future.

- *Funded by the Special Account for Research Grants (“EAKE”) of the National and Kapodistrian University of Athens.*
- *(*) Invited speaker*

**ΒΙΟΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ ΑΠΟΡΡΙΠΤΟΜΕΝΩΝ ΑΣΠΟΝΔΥΛΩΝ ΤΗΣ
ΠΑΡΑΚΤΙΑΣ ΑΛΙΕΙΑΣ ΣΤΙΣ ΑΚΤΕΣ ΤΗΣ ΚΥΠΡΟΥ: ΜΙΑ
ΠΡΟΚΑΤΑΡΚΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ**

***Ρούσου Μ., Χριστοδούλου Μ., Φρυγανιώτης Κ., Δαμιανίδης Π.,
Βουλτσιάδου Ε., Χιντήρογλου Χ.***

Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α. Π. Θ., 54124 Θεσσαλονίκη

Η επίδραση των απορριπτόμενων της εμπορικής αλιείας στη δομή και τη δυναμική των βενθικών κοινοτήτων είναι μια παράμετρος που θα πρέπει να λαμβάνεται σοβαρά υπόψη κατά το σχεδιασμό της διαχείρισης των παράκτιων οικοσυστημάτων. Η μέχρι σήμερα έρευνα για τα απορριπτόμενα αλιεύματα αφορά αποκλειστικά την αλιεία μέσης και μεγάλης κλίμακας.

Στην παρούσα εργασία εξετάζεται η βιοποικιλότητα των απορριπτόμενων θαλάσσιων ασπόνδυλων οργανισμών από τα δίχτυα των σκαφών παράκτιας αλιείας μικρής κλίμακας, για πρώτη φορά στην περιοχή της ανατολικής λεκάνης της Μεσογείου. Οι δειγματοληψίες που έγιναν σε 8 περιοχές της Κύπρου αποκάλυψαν την παρουσία 582 ατόμων ασπόνδυλων που ταξινομήθηκαν σε 72 είδη. Το μεγαλύτερο ποσοστό των ειδών (40,28%) ήταν Mollusca και ακολουθούσαν τα Crustacea (19,44%) και Echinodermata (19,44%). Με μικρότερη αφθονία ειδών εμφανίζονταν τα Porifera (9,72%), Tunicata (5,56%), Cnidaria (2,78%), Brachiopoda (1,39%), και Annelida (1,39%). Από άποψη αφθονίας των ατόμων κυρίαρχα ήταν τα Crustacea (38,32%) και τα Mollusca (37,63%). Μεταξύ των ειδών των ομάδων αυτών τα πιο άφθονα ήταν τα γαστερόποδα *Hexaplex trunculus* και *Conus mediterraneus* και τα ανόμουρα *Dardanus calidus* και *Paguristes oculatus*. Η μέση τιμή της βιομάζας των απορριπτόμενων ασπόνδυλων ήταν $100,656 \pm 85,020$ g ($0,935$ g- $421,372$ g).

Η πλούσια ποικιλότητα των ασπόνδυλων που βρέθηκε και η διαπίστωση ότι αυτά μεταφέρονται κατά τη διάρκεια της διαλογής των αλιευμάτων μακριά από την περιοχή συλλογής τους θέτει προβληματισμούς σχετικά με τις επιπτώσεις που μπορεί να προκύψουν από τις δραστηριότητες της παράκτιας αλιείας μικρής κλίμακας και καθιστά αναγκαία τη συνέχιση της έρευνας στον τομέα αυτό.

BIODIVERSITY OF INVERTEBRATE DISCARDS IN COASTAL FISHERIES OF CYPRUS: A PRELIMINARY SURVEY

***Rousou M., Christodoulou M., Fryganiotis K., Damianidis P.,
Voultsiadou E., Chintiroglou Ch.***

Department of Zoology, School of Biology, AUTH, 541 24, Thessaloniki

The impact of discards in commercial fishing on the structure and dynamics of benthic communities should be considered when planning marine conservation measures. However, the non commercial invertebrate discards in small-scale coastal fisheries have not been studied worldwide.

Herein, the diversity of invertebrates discarded from coastal fishing nets is examined for the first time in the Eastern Mediterranean. Samplings carried out in 8 sites on the coasts of Cyprus revealed 582 specimens classified into 72 species. Mollusca was the dominant group in species richness (40.28% of the total species number), followed by Crustacea (19.44%), Echinodermata (19.44%), Porifera (9.72%), Tunicata (5.56%), Cnidaria (2.78%), Brachiopoda (1.39%), and Annelida (1.39%). In terms of abundance, Crustacea (38.32%) and Mollusca (37.63%) dominated. The most abundant species were the sea shells *Hexaplex trunculus* and *Conus mediterraneus* and the hermit crabs *Dardanus calidus* and *Paguristes oculatus*. The mean biomass value of the discarded invertebrates was estimated at 100.656 ± 85.020 g (0.935g-421.372g). The highly diverse invertebrate discards found and the fact that they are discarded far from their collection site, after a sorting process on the boat, shows that further research is needed on their qualitative and quantitative composition and the impact of this biotic transportation on the coastal environment.

**ΕΠΟΧΙΚΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΩΝ *ABRAMIS
BRAMA* (LINNAEUS, 1758) ΚΑΙ *CARASSIUS GIBELIO* (BLOCH,
1782) ΑΠΟ ΤΗ ΛΙΜΝΗ ΒΟΛΒΗ**

Σαλβαρίνα Ι.Χ., Μπόμπορη Δ.Χ. *, Μιχαλούδη Ε.

Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Ζωολογίας,
Εργαστήριο Ιχθυολογίας, Θ. 134, 541 24, Θεσσαλονίκη
* e-mail: bobori@bio.auth.gr

Κατά την περίοδο καλοκαίρι 2005 – άνοιξη 2006 μελετήθηκε σε εποχική βάση η διατροφή δυο ειδών ψαριών από τη λίμνη Βόλβη, της λεστιάς *Abramis brama* (Linnaeus, 1758) και της πεταλούδας *Carassius gibelio* (Bloch, 1782), με σκοπό τη διερεύνηση πιθανών εποχικών μεταβολών στη σύσταση της διαίτας των συγκεκριμένων ειδών. Συνολικά εξετάστηκαν 207 ενήλικα άτομα του είδους *A. brama* (ολικό μήκος TL: 17,5-44,0 cm) και 144 του *C. gibelio* (TL: 12,9-32,3 cm). Ο δείκτης κενότητας στο σύνολο των γαστρεντερικών σωλήνων που εξετάστηκαν υπολογίστηκε σε 58,9% και 65,4% για το *A. brama* και *C. gibelio* αντίστοιχα. Ο βαθμός πληρότητας και στα δύο είδη εμφάνισε τη χαμηλότερη τιμή το χειμώνα και την υψηλότερη το φθινόπωρο, διαφέροντας σημαντικά (ANOVA, F= 4,43, D.F.=3, P<0,005) ανάμεσα στο φθινόπωρο και το χειμώνα για το *A. brama*. Γενικώς, η μεταβολή του βαθμού πληρότητας ήταν αντίστροφη αυτής του δείκτη κενότητας. Η κατά βάρος σύνθεση (%W) της διατροφής και των δύο ειδών διέφερε σε κάθε εποχή. Το *A. brama* έδειξε ιδιαίτερη προτίμηση στα Chironomidae το καλοκαίρι και την άνοιξη (ώς 75%), ενώ τα θρύμματα συμμετείχαν στη διατροφή του σε ποσοστό ως και 71% το χειμώνα και το φθινόπωρο. Τέλος, στη διατροφή του *C. gibelio* το καλοκαίρι και το φθινόπωρο συμμετείχαν με μεγαλύτερα ποσοστά τα θρύμματα (ώς 84%), ενώ το χειμώνα και την άνοιξη το ζωοπλαγκτό (ώς 71%).

**SEASONAL PATTERNS IN THE DIET OF *ABRAMIS BRAMA*
(LINNAEUS, 1758) AND *CARASSIUS GIBELIO* (BLOCH, 1782)
FROM LAKE VOLVI**

Salvarina I.C., Bobori D.C. *, Michaloudi E.

*Aristotle University of Thessaloniki, School of Biology, Dept. of Zoology, Lab. of
Ichthyology, UPBox 134, 541 24, Thessaloniki, Greece;*

**email: bobori@bio.auth.gr*

The diet of two fish species, bream *Abramis brama* (Linnaeus, 1758) and Prussian carp *Carassius gibelio* (Bloch, 1782), from Lake Volvi were studied on a seasonal basis, during the period summer 2005- spring 2006. A total of 207 adult specimens of *A. brama* (total length TL: 17.5-44.0 cm) and 144 adult specimens of *C. gibelio* (TL: 12.9-32.3 cm) were examined. The vacuity index of all the gastrointestinal canals was estimated at 58.9% for *A. brama* and 65.4% for *C. gibelio*. The fullness index for both species was minimum in winter and maximum in autumn. The mean fullness index differed significantly (ANOVA, F= 4.43, D.F.=3, P<0.005), between autumn and winter for the species *A. brama*. Generally, the seasonal fullness index fluctuation was opposite to that recorded for the vacuity index. Diet composition, in terms of weight (%W), differed seasonally for both species. Chironomidae were consumed mostly in summer and spring (up to 75%) by *A. brama*, while detritus contributed to its diet up to 71% in winter and autumn. Finally, *C. gibelio* showed a preference to zooplankton (up to 71%) during winter and spring, while detritus was mostly found in its diet (up to 84%) in summer and autumn.

ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΑΛΛΑΓΕΣ ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ DFNA5 ΣΕ ΣΥΝΑΡΤΗΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΗΛΙΚΙΑ ΤΟΥ ΔΟΤΗ

Σαλπέα Π., Σέκερη-Παταργιά Κ.Ε. και Τ.Γ. Σουρλίγκα

*Εργαστήριο Βιοχημείας Ιστονών, Ινστιτούτο Βιολογίας, Ε.Κ.Ε.Φ.Ε.
«ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ» 15310 Αγία Παρασκευή, Αττικής*

Επιγενετικές αλλαγές της χρωματίνης περιλαμβάνουν ακετυλίωση, μεθυλίωση, φωσφορυλίωση ιστονών, DNA μεθυλίωση, καθώς και ATP-εξαρτώμενες αλλαγές της δομής της χρωματίνης, επηρεάζοντας τη γονιδιακή έκφραση κατά την ανάπτυξη και τη γήρανση. Η παρούσα μελέτη επικεντρώνεται στις τροποποιήσεις των ιστονών ηλικιοεξαρτώμενων γονιδίων. Στα πειράματα χρησιμοποιήθηκαν μονοκύτταρα από δότες διαφόρων ηλικιών (νεογέννητα, νέοι, ηλικιωμένοι) τα οποία διαφοροποιήθηκαν *in vitro* σε δενδριτικά κύτταρα. Ανάλυση γονιδιακής έκφρασης με μικροσυστοιχίες έδειξε ότι το *dfna5* (deafness autosomal dominant 5) είναι ένα γονίδιο του οποίου η έκφραση αλλάζει τόσο κατά τη διαφοροποίηση των μονοκυττάρων προς δενδριτικά κύτταρα, όσο και μεταξύ των διαφορετικών ηλικιακών ομάδων. Με βάση αυτά τα αποτελέσματα, αλλά και με το δεδομένο ότι το γονίδιο αυτό εκφράζεται στον κοχλία των εμβρύων και όχι σε ενήλικα ποντίκια, καταλήγουμε στο ότι η έκφραση του *dfna5* συνδέεται τόσο με την ανάπτυξη όσο και με τη γήρανση. Τα αποτελέσματα των μικροσυστοιχείων επιβεβαιώθηκαν και με τη μέτρηση των επιπέδων έκφρασης καθώς και με το ρυθμό μεταγραφής του γονιδίου αυτού. Στην συνέχεια προχωρήσαμε σε πειράματα ανοσοκατακρήμνισης χρωματίνης με σκοπό την ανίχνευση επιγενετικών αλλαγών. Τα αποτελέσματα έδειξαν υψηλότερα επίπεδα ακετυλίωσης των ιστονών στα δενδριτικά κύτταρα σε σύγκριση με τα μονοκύτταρα, ενώ δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφόρων ηλικιών. Ωστόσο, τα αποτελέσματα της μεθυλίωσης των ιστονών έδειξαν ηλικιοεξαρτώμενες διαφορές. Ο συνδυασμός των συμπερασμάτων από αυτές τις πειραματικές προσεγγίσεις δείχνουν ότι επιγενετικές αλλαγές της χρωματίνης παίζουν ρόλο στον εξαρτώμενο από την ηλικία τρόπο έκφρασης του γονιδίου αυτού. Μελλοντικές μελέτες θα δείξουν αν επιγενετικές αλλαγές σε ευρύτερες αναροϊκές και καταροϊκές περιοχές γύρω από το *dfna5* γονίδιο μπορούν να επηρεάσουν την έκφρασή του.

EPIGENETIC CHANGES OF THE DFNA5 GENE REGION AS A FUNCTION OF DONOR AGE

Salpea P., Sekeri-Pataryas K.E., and T.G. Sourlingas

*Laboratory of Histone Biochemistry, Institute of Biology, N.C.S.R.
"DEMOKRITOS", 15310 Aghia Paraskevi, Attiki*

Epigenetics includes the study of stable chromatin structural alterations such as histone acetylation, methylation and phosphorylation, DNA methylation and ATP-dependent structural modifications of chromatin, which affect gene expression during cell development, differentiation and aging. The focus of this study is to investigate changes in histone modifications that may occur in specific age-related gene targets during differentiation as a function of donor age. The system used were isolated monocytes from different donor age groups (cord blood, young, elderly) induced to differentiate *in vitro* into dendritic cells. Microarray gene expression analysis, showed that *dfna5* (deafness autosomal dominant 5) gene expression levels changed during differentiation and also amongst the different age groups. This finding, coupled with the fact that this gene was observed to be expressed in fetal, but not in adult, mouse cochlea, strongly indicated an association of this gene's expression levels with development and aging. So as to verify the microarray results, we checked the expression levels of *dfna5* and its transcription rate. The results from the microarray analysis were verified by the quantitation of this gene's expression levels and transcription rate. We then proceeded to investigate the possible epigenetic changes that may occur in the *dfna5* gene region using ChIP analysis. We found increased histone acetylation in the dendritic cells as compared to the monocytes, but no age-related differences. On the other hand, age-related differences were found in the histone methylation levels. The conclusions drawn from the results obtained from these experimental approaches indicate that chromatin epigenetic changes play a role in the age-dependent manner in which this gene is expressed. Future studies will include the analysis of a greater area of the chromatin regions surrounding the *dfna5* gene so as to ascertain whether further upstream and downstream chromatin remodeling events influence its expression levels.

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΡΟΘΥΜΟΣΙΝΗΣ α ΚΑΙ ΤΟΥ ΑΝΟΣΟ-
ΔΡΑΣΤΙΚΟΥ ΤΗΣ ΠΕΠΤΙΔΙΟΥ ΣΤΙΣ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΕΣ
ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ ΤΩΝ ΟΥΔΕΤΕΡΟΦΙΛΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ
ΚΑΡΚΙΝΟ**

**Σαμαρά Π.¹, Ιωάννου Κ.¹, Βασιλόπουλος Σ.¹, Καρδάρα Ε.²,
Μάντζαρης Ι.², Αρδαβάνης Α.², Σκοπελίτη Μ.¹, Τσιτσιλώνη Ο.¹**

¹Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ

²Α' Παθολογικό-Ογκολογικό Τμήμα Νοσοκομείου Αθηνών «Άγιος Σάββας»

Η Προθυμοσίνη α (ΠροΤα) είναι ένα πολυπεπτίδιο 109 αμινοξέων που αρχικά απομονώθηκε από θύμο αδένες και παρουσιάζει αξιοσημείωτη *in vitro* ανοσοενισχυτική δράση σε μονοπύρηνες ασθενών με καρκίνο. Στην παρούσα μελέτη, εξετάσαμε τη δράση της ΠροΤα και του ανοσοδραστικού της πεπτιδίου ΠροΤα(100-109), στις αντιμικροβιακές λειτουργίες ουδετερόφιλων καρκινοπαθών. Συγκεκριμένα, ουδετερόφιλα από περιφερικό αίμα ασθενών με καρκίνο του μαστού, απομονώθηκαν μετά από φυγοκέντρηση σε κλίση Ficoll-raque και λύση των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Ακολούθως, τα ουδετερόφιλα ενεργοποιήθηκαν με την ΠροΤα ή το πεπτίδιο ΠροΤα(100-109) και μετά από επώαση 90 λεπτών, προσδιορίστηκε η φαγοκυτταρική τους ικανότητα και η ενδοκυτταρική παραγωγή υπεροξειδίου του υδρογόνου με τις δοκιμασίες της ενσωμάτωσης σωματιδίων zymosan και αναγωγής του κυανού του τετραζολίου, αντίστοιχα. Τα αποτελέσματά μας έδειξαν ότι η ενεργοποίηση ουδετερόφιλων με ΠροΤα ή ΠροΤα(100-109) αύξησε σημαντικά τη φαγοκυττάρωση και ενίσχυσε την αναπνευστική έκρηξη ουδετερόφιλων ασθενών με καρκίνο του μαστού. Συμπερασματικά, η εργασία μας παρουσιάζει δεδομένα που υποστηρίζουν ότι, εκτός από τις γνωστές της ανοσορυθμιστικές δράσεις σε κύτταρα του ειδικού σκέλους της ανοσίας, η ΠροΤα, όπως και το ανοσοδραστικό της πεπτίδιο ΠροΤα(100-109), ενισχύουν τις αντιμικροβιακές ιδιότητες των ουδετερόφιλων ασθενών με καρκίνο. Τα αποτελέσματά αυτά, ίσως, μελλοντικά βοηθήσουν στην εισαγωγή της ΠροΤα ή του πεπτιδίου ΠροΤα(100-109) σε κλινικά πρωτόκολλα με στόχο την ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος καρκινοπαθών, οι οποίοι λόγω της νόσου είναι ευάλωτοι σε ευκαιριακές λοιμώξεις.

- Χρηματοδότηση: Ειδικός Λογαριασμός Κονδυλίων Έρευνας, Πανεπιστήμιο Αθηνών

EFFECT OF PROTHYMOSIN α AND ITS IMMUNOREACTIVE PEPTIDE ON NEUTROPHILS' ANTIMICROBIAL FUNCTIONS ISOLATED FROM CANCER PATIENTS

Samara P.¹, Ioannou K.¹, Vasilopoulos S.¹, Kardara E.², Mantzaris I.², Ardavanis A.², Skopeliti M.¹, Tsitsilonis O.¹

¹Department of Animal & Human Physiology, Faculty of Biology, University of Athens, ²1st Department of Pathology-Oncology, «St. Savvas» Cancer Hospital, Athens

Prothymosin α (ProT α) is a polypeptide of 109 amino acids initially isolated from thymus gland, presenting distinct in vitro immunoenhancing activity on cancer patients' mononuclear cells. In the present study, we examined the effect of ProT α and its immunoreactive peptide ProT α (100-109) on the antimicrobial properties of neutrophils deriving from cancer patients. Specifically, neutrophils from breast cancer patients were isolated after peripheral blood centrifugation over Ficoll gradient and subsequent hypotonic red blood cell lysis. Neutrophils were activated with ProT α and ProT α (100-109) for 90 minutes. After incubation, their phagocytic capacity and intracellular hydrogen peroxide production were determined by zymosan particle incorporation and nitroblue tetrazolium reduction assays, respectively. Our results show that when neutrophils, isolated from breast cancer patients, are activated with ProT α and ProT α (100-109), they present significantly increased phagocytosis and enhanced respiratory burst. In conclusion, besides the established immunoregulatory activity of ProT α on cells of adaptive immunity, our study presents data supporting an additional action of ProT α and its immunoreactive fragment ProT α (100-109) in augmenting the antimicrobial properties of cancer patient-derived neutrophils. These findings are considered important taking under consideration that cancer patients are susceptible to opportunistic infections and may eventually be used for the introduction of ProT α or ProT α (100-109) in anticancer clinical protocols.

- *Funding: Special Account for Research Grants, University of Athens*

ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΩΝ ΥΠΟΜΟΝΑΔΩΝ ΤΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ ΑΝΑΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗΣ ΤΗΣ ΧΡΩΜΑΤΙΝΗΣ NURF

*Σαμουρκασίδης Π., Γεωργούλια Π., Γαλάνης Α.
και Ρ. Σανδαλτζόπουλος.*

*Εργαστήριο Γονιδιακής Έκφρασης, Μοριακής Διαγνωστικής και Σύγχρονων
Θεραπευτικών Μέσων, Τμήμα Μοριακής Βιολογίας & Γενετικής, Δ.Π.Θ.*

Ο παράγοντας αναδιαμόρφωσης της χρωματίνης NURF (Nucleosome Remodeling Factor) της *Drosophila* δαπανά ATP και αναδιατάσσει νουκλεοσώματα με σημαντικές συνέπειες στη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης. Αποτελείται από 4 στοιχειομετρικές υπομονάδες μεταξύ των οποίων περιλαμβάνονται η πρωτεΐνη ISWI που έχει ενεργότητα ATPάσης και ο NURF301 που φέρει πληθώρα χαρακτηριστικών μοτίβων που απαντώνται σε παράγοντες που ρυθμίζουν τη δομή της χρωματίνης (επικράτειες Bromodomain, 3 PHD-fingers, HMGA, DDT, WAC, WAKZ). Είναι ιδιαίτερα μεγάλης σημασίας η αναγνώριση πρωτεϊνών που αλληλεπιδρούν με τον παράγοντα NURF προκειμένου να αποκαλυφθεί ο τρόπος στόχευσής του σε συγκεκριμένους γονιδιακούς τόπους καθώς και ο τρόπος ρύθμισης της δράσης του. Με συνδυασμό μεθόδων χρωματογραφίας και ανοσοκατακρήμνιση απομονώσαμε μία υποστοιχειομετρική μονάδα του NURF από εκχυλίσματα εμβρύων *Drosophila*. Το γονίδιο που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη αυτή κλωνοποιήθηκε. Βρέθηκε να σχηματίζει σύμπλοκο με άλλη μία πρωτεΐνη του εμβρύου, πολύ μικρότερου μεγέθους. Το σύμπλοκο διαθέτει δράση ακετυλοτρανσφεράσης. Προκαταρκτική ανάλυση με μικροσκοπία συνεστίασης δείχνει ότι σε πρώιμα στάδια της εμβρυικής ανάπτυξης το διμερές μπορεί να εντοπίζεται στον πυρήνα του κυττάρου. Αναλύσαμε βιοχημικά την αλληλεπίδραση των πρωτεϊνών αυτών με *in vitro* ανασυσταμένη χρωματίνη σε ακινητοποιημένο DNA. Τα πειράματα αυτά κατέδειξαν ότι πιθανώς στη ρύθμιση της λειτουργίας των υποστοιχειομετρικών υπομονάδων του NURF ενέχεται η μετα-μεταμεταφραστική τους τροποποίηση. Οι πρωτεΐνες που αλληλεπιδρούν με τον παράγοντα NURF έχουν υπερεκφραστεί σε βακτήρια και έχουν απομονωθεί σε διαλυτή μορφή. Πρόσφατα έχουμε αρχίσει πειράματα κρυστάλλωσης προκειμένου να λυθεί η δομή τους με κρυσταλλογραφία.

**BIOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF REGULATORY
SUBUNITS OF THE NUCLEOSOME REMODELING FACTOR
(NURF)**

Samourkasidis P., Georgoulia P., Galanis A, and R. Sandaltzopoulos

*Laboratory of Gene Expression, Molecular Diagnostics and Modern Therapeutics,,
Department of Molecular Biology and Genetics, Democritus University of Thrace*

The *Drosophila* chromatin remodeling factor NURF (Nucleosome Remodeling Factor) rearranges the architecture of nucleosomes at the expense of ATP, with tremendous consequences for the regulation of gene expression. NURF is composed of 4 stoichiometric subunits, including the ATPase protein ISWI and NURF301 which possesses a number of motifs (PHD-fingers, Bromodomain, HMGA, DDT, WAC and WAKZ domains) characteristic of proteins involved in regulation of chromatin structure. In order to reveal the mechanisms that regulate NURF's function and chromatin localization it is essential to identify and characterize any NURF-interacting proteins. Utilizing a combination of chromatographic and immunoprecipitation methods, a substoichiometric subunit of NURF was isolated from *Drosophila* embryo extracts. The gene coding for this protein was identified. This protein interacts, in turn, with a much smaller protein and form a complex that possesses acetyltransferase activity. Preliminary confocal microscopy analysis indicates that in early *Drosophila* embryos, this complex may be located in the nucleus. We analysed the interaction of these proteins with *in vitro* reconstituted chromatin on immobilised DNA. These experiments showed that the NURF-interacting proteins may also interact with chromatin. In addition, pilot experiments show that posttranslational protein modifications may be important for their function. Both proteins were overexpressed in bacteria and soluble proteins have been purified. Recently we have begun a series of efforts to crystallize these proteins in order to study their 3-D structure.

ΑΠΟΚΡΥΠΤΟΓΡΑΦΩΝΤΑΣ ΤΟΥΣ ΜΟΡΙΑΚΟΥΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥΣ ΠΟΥ ΕΜΠΛΕΚΟΝΤΑΙ ΣΤΗ ΜΥΟΠΑΘΕΙΑ ΜΕ ΡΑΒΔΙΑ

*Δέσποινα Σανούδου, PhD FACMG**
Ερευνήτρια Γ'

*Τμήμα Μοριακής Βιολογίας, Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών όπως Ακαδημίας
Αθηνών*

Η μυοπάθεια με ραβία (MMP), η πιο κοινή μη-δυστροφική συγγενής μυοπάθεια, είναι μία βαριάς μορφής νευρομυϊκή πάθηση, κλινικά, ιστολογικά και γενετικά ετερόμορφη, χωρίς αποτελεσματική θεραπεία διαθέσιμη μέχρι σήμερα. Χαρακτηρίζεται από μυϊκή αδυναμία και παρουσία ραβδίων όπως πάσχουσες μυϊκές ίνες. Παρόλο που μία ποικιλία μεταλλάξεων έχουν εντοπιστεί όπως ασθενείς με MMP, οι μηχανισμοί παθογένεσης δεν έχουν ακόμα διαλευκανθεί. Χρησιμοποιώντας κατεψυγμένο σκελετικό μυϊκό ιστό από 12 ασθενείς και 21 φυσιολογικά άτομα παρόμοιας ηλικίας και φύλου, πραγματοποιήσαμε πειράματα σε μικροσυστοιχίες όπως Affymetrix, προκειμένου ν' αξιολογήσουμε την έκφραση 12.000 γονιδίων. Εκτενής βιοπληροφορική ανάλυση αποκάλυψε στατιστικά σημαντικές αλλαγές σε γονίδια σχετιζόμενα με μεταβολισμό, ίνωση και ομοιοστάση ασβεστίου. Είναι σημαντικό ότι πολλαπλά γονίδια σχετιζόμενα με μυογένεση έδειξαν υπερέκφραση, ενώ υπήρχαν ενδεικτικά στοιχεία αυξημένου κυτταρικού πολλαπλασιασμού αλλά και μειωμένης διαφοροποίησης. Επιπλέον, οι μελέτες όπως, ανέδειξαν μία νέα υποκατηγορία ασθενών, με διαφορετική έκφραση μιτοχονδριακών, δομικών, και μεταγραφικών γονιδίων. Παρόλο που κλινικά οι αντίστοιχοι ασθενείς είχαν καταταχτεί στην κατηγορία «τυπικής μορφής MMP», τα περιστατικά αυτά φαίνεται να ανήκουν σε μία ξεχωριστή παθοφυσιολογική κατηγορία, με ιδιαίτερα ιστολογικά χαρακτηριστικά, κι όπως ανακαλύψαμε με μοναδικά προφίλ γονιδιακής έκφρασης. Μέσω περαιτέρω αναλύσεων οδηγηθήκαμε στο συμπέρασμα ότι αυτή η νέα κατηγορία ασθενών χαρακτηρίζεται από μία πιο σταθερή μορφή όπως MMP, με καλύτερη πρόγνωση. Ο λεπτομερής προσδιορισμός των μοριακών αλλαγών κάθε υποομάδας MMP, όπως αυτή που περιγράφουμε, θα οδηγήσει στην καλύτερη πρόγνωση κι αντιμετώπιση αυτών των ασθενών, αναδεικνύοντας τελικά νέους αποτελεσματικούς θεραπευτικούς στόχους.

* Προσκεκλημένη ομιλήτρια

DECIPHERING THE PATHOGENETIC MECHANISMS IN NEMALINE MYOPATHY

Despina Sanoudou, PhD FACMG*
Assistant Professor level

*Molecular Biology Division, Foundation for Biomedical Research of the Academy
of Athens*

NM, the most common non-dystrophic congenital myopathy, is a variably severe neuromuscular disorder, clinically, histologically and genetically heterogeneous, with no effective treatment available to date. It is characterized by muscle weakness and the presence of rod-shaped structures in affected muscle fibers. Although mutations in a number of genes have been identified in NM patients, the pathogenetic mechanisms leading to the disease phenotype are poorly understood. Using fresh-frozen tissue from 12 NM patients and 21 unaffected normal controls matched for age, gender and surgical/autopsy nature, we performed whole genome expression profiling screening for ~12,000 transcripts (U95Av2 Affymetrix arrays). Extensive bioinformatical analysis showed significant gene expression changes suggestive of decreased glucose and glycogen metabolism, increased fibrosis, and calcium homeostasis aberrations. Importantly, an increased number of myogenic precursor cells (satellite cells) was detected, together with evidence for increased cell proliferation and decreased differentiation. Furthermore, we identified of a novel disease sub-group, presenting with differential expression in mitochondrial-, structural-, and transcription-related genes. Although clinically classified as typical NM, these cases share a unique pathophysiological state, distinct histological characteristics, and are characterized by distinct patterns of gene expression. Additionally, they appear to have a more stable form of the disease with a more favorable prognosis. Determination of the specific molecular differences in NM subgroups, such as the one identified through our study, may eventually lead to improved prognostic determinations and treatment of these patients. Finally, understanding and manipulating these processes in the future could be of therapeutic value to NM patients.

** Invited speaker*

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ Τ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΤΗΝ ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΗ ΑΠΑΝΤΗΣΗ ΣΤΟ ΣΥΖΕΥΓΜΕΝΟ ΠΝΕΥΜΟΝΙΟΚΟΚΚΙΚΟ ΕΜΒΟΛΙΟ

Σουλάνδρου Α.¹, Ορθόπουλος Γ.¹, Πιπέρη Χ.², Θεοδωρίδου Μ.¹, Σπούλον Β.¹

¹ *1^η Παιδιατρική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών, Νοσοκομείο Παιδών «Αγία Σοφία»*

² *Τομέας Βιολογικής Χημείας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Αθηνών*

Το 7-δύναμο συζευγμένο με την πρωτεΐνη CRM₁₉₇ πνευμονιοκοκκικό εμβόλιο, (PCV), παρουσιάζει βελτιωμένη αντιγονικότητα σε σχέση με το 23δύναμο πολυσακχαριδικό σκεύασμα λόγω της συμμετοχής των Τ λεμφοκυττάρων στην ανοσολογική απάντηση. Μελετήθηκε η συμμετοχή των Τ λεμφοκυττάρων μετά την χορήγηση 1 δόσης Prevenar, (Wyeth Lederle Vaccines), σε 10 υγιείς ενήλικες, (5 άρρενες), ηλικίας 22-30 ετών. Συγκεκριμένα αξιολογήθηκε με ELISPOT και ELISA η παραγωγή ιντερφερόνης-γ, (IFN-γ), από διεγερμένα με CRM₁₉₇ μονοπύρηνα, (PBMCs), 10, 20 και 30 ημέρες μετά τον εμβολιασμό και συσχετίστηκε με την ποσότητα και την ποιότητα, (avidity), των παραγομένων αντισωμάτων. Μετά από 48ωρη επώαση των PBMCs με 4μg/ml CRM₁₉₇, που απετέλεσαν τις βέλτιστες συνθήκες διέγερσης, η μέση γεωμετρική συγκέντρωση, (GMC), έκκρισης IFN-γ στις 10, 20 και 30 ημέρες ήταν 97pg/ml, 73pg/ml και 103pg/ml αντίστοιχα. Η ποσότητα της IFN-γ, σχετιζότο με το μέγεθος της ανοσολογικής απάντησης έναντι των οροτύπων 9V και 23F [(r=0,895, p=0,05), (r=0,825, p=0,05), αντίστοιχα], ενώ αντίστοιχη συσχέτιση δεν βρέθηκε για τους οροτύπους 6B, 14 και 19F. Παρατηρήθηκε συσχέτιση της έκκρισης IFN-γ με την συγγένεια των παραγομένων αντισωμάτων έναντι των οροτύπων 14 και 19F, [(r=0,960, p=0,05), (r=0,906, p=0,05), αντίστοιχα], αλλά όχι για τους οροτύπους 6B, 9V και 23F. Η διέγερση των Τ λεμφοκυττάρων μετά από PCV μπορεί να μελετηθεί με ELISPOT και σχετίζεται με το μέγεθος και την ποιότητα της ανοσολογικής απάντησης.

THE ROLE OF T CELLS IN THE IMMUNOLOGICAL RESPONSE OF HEALTHY ADULTS TO THE PNEUMOCOCCAL CONJUGATE VACCINE

Soulandrou A.¹, Orthopoulos G.¹, Piperi C.², Theodoridou M.¹, Spoulou V.¹

¹ *1st Clinic of Paediatrics, University of Athens, Children's Hospital "Aghia Sophia"*

² *Department of Biological Chemistry, School of Medicine, University of Athens*

The 7-valent CRM₁₉₇ conjugate pneumococcal vaccine, (PCV), has improved immunogenicity as compared with the 23-valent pneumococcal polysaccharide formulation, because of the participation of T cells in the immunological response. We have studied the role of T cells in 10 healthy adults, (5 men), aged 22-30, after receiving 1 dose of Prevenar, (Wyeth Lederle Vaccines). The production of interferon- γ , (IFN- γ), by stimulated with CRM₁₉₇ mononuclear cells, (PBMCs), 10, 20 and 30 days after vaccinations, was studied by ELISPOT and ELISA and associated with the quantity and quality, (avidity), of the produced antibodies. After incubation of PBMCs with 4 μ g/ml CRM₁₉₇ for 48h, which were the optimal stimulation conditions, the geometric mean concentration, (GMC), of IFN- γ 10, 20 and 30 days after vaccination was 97pg/ml, 73pg/ml, 103pg/ml, respectively. The IFN- γ concentration can be correlated with the magnitude of immunological response against serotypes 9V and 23F, [(r=0,895, p=0,05), (r=0,825, p=0,05), respectively], whereas no correlation was found for serotypes 6B, 14 and 19F. We have observed correlation between the IFN- γ production and the avidity of produced antibodies against serotypes PS 14 and 9F, [(r=0,960, p=0,05), (r=0,906, p=0,05), respectively]. The stimulation of T cells after PCV can be studied by ELISPOT and can be related to the magnitude and quality of the immunological response.

ΠΡΑΚΤΙΚΕΣ ΧΡΗΣΗΣ ΤΗΣ ΘΑΛΑΣΣΙΑΣ ΒΙΟΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΒΑ ΑΙΓΑΙΟΥ: ΜΙΑ ΘΕΩΡΗΤΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

Σουλάντζου Α., Σιαμαντζιούρας Α. και Α. Τρούμπης

*Εργαστήριο Διαχείρισης Βιοποικιλότητας, Τμήμα Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο
Αιγαίου, Λόφος Πανεπιστημίου, 811 00 Μυτιλήνη*

Σημαντικές αξίες της βιολογικής ποικιλότητας, σε επίπεδο είδους και οικοσυστήματος, εστιάζονται στα οφέλη και τις υπηρεσίες που η φύση παρέχει στον άνθρωπο. Ειδικότερα, η καταγραφή της θαλάσσιας βιοποικιλότητας στα νησιά του Βορειοανατολικού Αιγαίου μπορεί να συμβάλλει στη διερεύνηση των οικοσυστημικών αγαθών και υπηρεσιών τους. Συγκεκριμένες πρακτικές χρήσης της θαλάσσιας βιοποικιλότητας αναφέρονται, κυρίως, (α) στην παροχή φυσικών ουσιών με βιοενεργά συστατικά που είναι χρήσιμα στη φαρμακευτική βιομηχανία & (β) στην εφαρμογή βιολογικών δεικτών για την αποτίμηση της οικολογικής ποιότητας ενός θαλάσσιου οικοσυστήματος. Ενδεχόμενη αξιοποίηση των θαλάσσιων βιολογικών πόρων, με τη δημιουργία καινοτόμων οικονομικών και επιχειρηματικών δράσεων, μπορεί να συμβάλλει στην προστασία και διατήρηση της θαλάσσιας βιοποικιλότητας στο ΒΑ Αιγαίο.

IMPLEMENTATION OF MARINE BIODIVERSITY ON THE ISLANDS OF THE NORTHEAST AEGEAN: A REVIEW

Soulantzou D., Siamantziouras A., and A. Troumbis

*Biodiversity Conservation Laboratory, Department of Environment, University of
the Aegean, University Hill, GR-811 00 Mytilene*

Important values of biological diversity at the species and ecosystem level focus on benefits and services that the nature provides to humans. Specially, the recording of marine biodiversity on the islands of the Northeast Aegean could play an important role to the exploration of ecosystem goods and services. Certain implementations of marine biodiversity refer to, mainly: (a) an important source of natural substances with bioactive components that are of interest to the pharmaceutical industry & (b) a predictable tool of bio-indicators for characterising the ecological integrity of a marine ecosystem over time. Potential exploitation of marine biotic sources, with the creation of innovative economic and business actions, may contribute to the conservation of marine biodiversity to the Northeast Aegean.

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΚΙΝΗ-
ΤΗΣ ΤΗΛΕΦΩΝΙΑΣ: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΣΕ ΚΥΤΤΑ-
ΡΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΚΑΙ ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟΤΗΤΑΣ ΣΕ
ΚΑΤΟΙΚΟΥΣ ΤΗΣ ΠΟΛΗΣ ΤΗΣ ΚΑΒΑΛΑΣ ΜΕΤΑ ΑΠΟ
ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΚΕΡΑΙΑΣ ΒΑΣΗΣ**

***Σούρδη Α., Χαβδούλα Ε., Παναγόπουλος Δ. Τρουγκάκος Ι.
και Α.Χ. Μαργαρίτης***

*Τομέας Βιολογίας Κυττάρου & Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό &
Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, Αθήνα 15784*

Οι βιολογικές επιδράσεις των τεχνητών ηλεκτρομαγνητικών πεδίων (μη ιονίζουσα ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία) είναι ένα θέμα που απασχολεί έντονα την επιστημονική κοινότητα αλλά και το ευρύ κοινό τις τελευταίες δεκαετίες, καθώς συσσωρεύονται ολοένα και περισσότερες ενδείξεις και αποδείξεις για βλαβερές συνέπειες από τη λεγόμενη “ηλεκτρομαγνητική ρύπανση”. Τα ηλεκτρομαγνητικά πεδία που είναι στενά συνδεδεμένα με την κινητή τηλεφωνία κατακλύζουν το περιβάλλον το οποίο ήδη περικλείει ένα ευρύ φάσμα ηλεκτρομαγνητικών συχνοτήτων. Στο εργαστήριο μελετήσαμε την επίδραση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας σε ανθρώπινους εμβρυϊκούς ινοβλάστες με υψηλό δυναμικό και συγκεκριμένα την κυτταρική σειρά IMR90. Ως πηγή ακτινοβολίας χρησιμοποιήθηκε κινητό τηλέφωνο, διαφορετικές κάρτες και αντίστοιχες φέρουσες συχνότητες 900MHz και 1800MHz. Σκοπός υπήρξε η αντίχρευση και η συγκριτική αξιολόγηση των επιπέδων έκφρασης πρωτεϊνών HSP27 προερχομένων από ακτινοβολούμενα και μη κύτταρα σε συνθήκες ακτινοβολίας κινητών τηλεφώνων GSM και DCS στις παραπάνω συχνότητες. Διαπιστώθηκε συσχέτιση μεταξύ της έντασης της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας των δειγμάτων και της έκφρασης του γονιδίου HSP27 και μελετώνται οι πιθανές επιπτώσεις αυτού του φαινομένου στο κύτταρο και κατά συνέπεια στον ανθρώπινο οργανισμό. Προσπαθήσαμε να ανάγουμε τις τιμές της έντασης που δέχτηκαν τα δείγματα μας στο εργαστήριο με τις τιμές έντασης που δέχονται κάτοικοι που διαμένουν πλησίον σταθμών βάσης κινητής τηλεφωνίας. Συγκεκριμένα επιτόπια αυτογία και μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν σε οικίες πλησίον κεραίας κινητής τηλεφωνίας που είναι εγκατεστημένη σε 4-όροφη πολυκατοικία της οδού Βόλου 21 στην Καβάλα κατόπιν αιτήματος κατοίκων της περιοχής τον Αύγουστο του 2006 και διαπιστώθηκε ότι οι τιμές που καταγράφηκαν ήταν εντός των ορίων που έχει θεσπίσει η Πολιτεία (νόμος 4331/2006) αλλά είναι επάνω από τα όρια που ισχύουν σε άλλες χώρες. Θεωρούμε κατά συνέπεια ότι η εν λόγω κεραία ενέχει δυνητικά κινδύνους υγείας για τους μόνιμως διαμένοντες (24 ώρες το 24ωρο) στις πλησίον ευρισκόμενες πολυκατοικίες.

- *Η έρευνα αυτή χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Πανεπιστημίου Αθηνών προς τον καθηγητή Α.Χ. Μαργαρίτη*

**EFFECTS OF GSM AND DCS MOBILE PHONE RADIATION:
EXPERIMENTAL DATA ON CELL CULTURES AND HEALTH
RISK ASSESSMENT UPON THE PEOPLE LIVING IN THE
VICINITY OF A BASE STATION IN THE CITY OF KAVALA**

Sourdi A., Habdoula E., Panagopoulos D., Trougakos J., Margaritis L.H.

Faculty of Biology, Department of Cell Biology and Biophysics, University of Athens, Panepistimiopolis, 15784 Zografou, Athens.

The biological effects of electromagnetic fields have seriously concerned the scientific community and the public as well in the past decades as more and more evidence has accumulated about the hazardous consequences of electromagnetic pollution. The electromagnetic fields that are strongly related to mobile telecommunication are widely spread in the environment which already consists of an enormous spectrum of electromagnetic frequencies. We studied the effects of electromagnetic fields in human embryonic high dynamic fibroblast cells and specifically the cell line IMR90 with carrier frequencies of 900MHz and 1800MHz. We tried to determine the expression level of HSP27 protein and evaluate them among exposed and sham exposed cell groups under two different electromagnetic fields GSM and DCS. The results showed a direct relationship between the electromagnetic field dose and the HSP27 gene expression diminution for reasons that are under further investigation. In an attempt to correlate the cell culture radiation exposure conditions with the base antenna radiation emission that affects the nearby living individuals, we did detailed measurements, following request from citizens of Kavala city in Northeastern Greece. We found electromagnetic field values well below the established by the Greek law N.4331/2006 but higher than the permissible limits existing in several other countries. On the basis of the still controversial scientific data that, however according to our work are pointing towards harmful effects of this radiation even at very low levels, we consider the existence of the antenna operating at Bolos st, nr 21 in Kavala, as potentially harmful for the nearby living citizens. We therefore call the authorities to take actions in providing less radiation within houses from mobile phone masts.

- *This work has been supported by the Special Account for Research Grants of the University of Athens to Professor L.H. Margaritis.*

ΜΟΡΙΑΚΗ ΚΛΩΝΟΠΟΙΗΣΗ, ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΜΕΛΕΤΗ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΜΙΑΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ ΣΤΟ ΕΝΤΟΜΟ *SESAMIA NONAGRIOIDES* (LEF.)

Σπηλιωτόπουλος Α.¹, Γκουβίτσας Θ.¹, Φαντινού Α.² και Α. Κούρτη¹

¹Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας, Τομέας Βιοχημείας, Ενζυμικής Τεχνολογίας,
Μικροβιολογίας και Μοριακής Βιολογίας. ²Εργαστήριο Οικολογίας και Προστασίας
Περιβάλλοντος

Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιερά Οδός 75, 118 55 Αθήνα, e-mail: akourti@aua.gr

Στην εργασία αυτή απομονώσαμε ένα cDNA κλώνο από λιπώδη ιστό του εντόμου *Sesamia nonagrioides* (Lef.) που αφορούσε μια πρωτεΐνη αποθήκευσης (*SnoSPI*). Το cDNA για το *SnoSPI* (2403 bp) κωδικοποιεί για μια πρωτεΐνη 751 αμινοξέων με μοριακή μάζα 88.3 kDa και υπολογισμένο ισοηλεκτρικό σημείο pI = 8.72. Η πρωτεΐνη εμφανίζει πεπτίδια σηματοδότες από 16 αμινοξέα στο N-άκρο και περιέχει συντηρημένα πρότυπα ακολουθιών (signature) που είναι κοινά σε πρωτεΐνες προνυμφών των εντόμων. Ανάλυση πολλαπλής στοίχισης αποκάλυψε ότι η *SnoSPI* είναι όμοια με τον πρόδρομο καταστολέα της βασικής ορμόνης νεότητας (*TniSP2*) της *Trichoplusia ni* (71% identity) και άλλες μετρίως πλούσιες σε μεθειονίνη εξαμερίνες. Σύμφωνα με τη φυλογενετική ανάλυση και την αμινοξική σύγκριση φάνηκε, ότι η *SnoSPI* ανήκει στην υποοικογένεια των μετρίως πλουσίων σε μεθειονίνη εξαμερινών πρωτεϊνών (3.7% μεθειονίνη, 11% αρωματικά αμινοξέα). Για να εξετάσουμε την επίδραση της ορμόνης νεότητας στο *SnoSPI* γονίδιο, έγινε τοπική εφαρμογή methoprene (ανάλογο της ορμόνης νεότητας) σε κεφάλια προνυμφών πέμπτου σταδίου και φάνηκε ότι η ορμόνη το επηρεάζει στο μεταγραφικό στάδιο. Μελετήσαμε επίσης τη μορφή έκφρασης της *SnoSPI* σε διάφορα αναπτυξιακά στάδια στο λιπώδη ιστό διαπαουσών και μη διαπαουσών προνυμφών του εντόμου, με τη μέθοδο του ημιποσοτικού RT-PCR και του Real-Time PCR. Σε συνθήκες μεγάλης ημέρας (μη διάπαυση), η συγκέντρωση του *SnoSPI* φάνηκε να είναι σε υψηλά επίπεδα κατά τη διάρκεια του τελευταίου σταδίου των προνυμφών και αυξήθηκε σταδιακά κατά το στάδιο της νύμφης. Πολύ χαμηλά επίπεδα αυτού του mRNA ανιχνεύτηκαν σε προνύμφες που είχαν προετοιμαστεί να εισέλθουν σε διάπαυση (συνθήκες μικρής ημέρας), αλλά το mRNA αυξήθηκε δραματικά σε προνύμφες οι οποίες ήταν σε διάπαυση, όσο και σε εκείνες οι οποίες τερμάτιζαν τη διάπαυση. Αυτά τα αποτελέσματα υποστηρίζουν την υπόθεση ότι η *S. nonagrioides*, συγκεντρώνει αυτές τις πρωτεΐνες σαν απόθεμα κατά τη διάρκεια της προνυμφικής ανάπτυξης, για επακόλουθη χρήση στο στάδιο της νύμφης και του ακμαίου.

- Η έρευνα αυτή χρηματοδοτήθηκε από το πρόγραμμα ΕΠΕΑΕΚ II στα πλαίσια του έργου «ΠΥΘΑΓΟΡΑΣ II-ΕΝΙΣΧΥΣΗ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΩΝ ΟΜΑΔΩΝ ΣΤΑ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑ με χρηματοδότηση 75% από το Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο και 25% από Εθνικούς πόρους.

**CLONING AND CHARACTERIZATION OF A cDNA ENCODING
ONE HEXAMERIN STORAGE PROTEIN, AND ITS EXPRESSION
IN RESPONSE TO DIAPAUSE IN THE CORN STALK BORER,
*SESAMIA NONAGRIOIDES***

Spyliotopoulos A.¹, Gkouvitsas T.¹, Fantinou A.², and A. Kourti¹

*¹Department of Agricultural Biotechnology, ²Department of Plant Production,
Agricultural University of Athens, Iera Odos 75, 11855, Athens, Greece.
Tel.: +30-210-5294615, e-mail: akourti@aua.gr*

We isolated and sequenced a cDNA clone corresponding to a storage protein (*SnoSPI*) from the corn stalk borer *Sesamia nonagrioides* (Lef.). The cDNA for *SnoSPI* (2403 bp) code for 751 residue protein with predicted molecular mass of 88.3 kDa and calculated isoelectric point pI = 8.72. Signal peptide of 16 amino acids is present at the N-terminus and the protein contained conserved insect larval storage protein signature sequence patterns. Multiple alignment analysis of the amino acid sequence revealed that *SnoSPI* is most similar to the basic juvenile hormone-suppressible protein 2 precursor (*TniSP2*) from *Trichoplusia ni* (71% identity) and other moderately methionine-rich hexamers. According to both phylogenetic analyses and the criteria of amino acid composition, *SnoSPI* belongs to the subfamily of moderately methionine-rich storage proteins (3.7% methionine, 11% aromatic amino acid). Treatment with the juvenile hormone analog, methoprene, after head ligation of larvae, is found to suppress the level of *SnoSPI* gene, indicating hormonal effects at the transcriptional level. We also examined developmental profiles of *SnoSPI* expression in fat body from diapausing and non-diapausing larvae by semi-quantitative and Real-Time PCR assays. In non diapause conditions the abundance of *SnoSPI* was found in high levels during the last larval stage and decreased gradually during the pupal stage. Very low levels of this mRNA was detected in the larvae that were preparing to enter diapause, but mRNA dramatically increases in those that were in diapause as well as in those that terminate diapause.

- *The project is co-funded by European Social Fund (75%) & National Resources (25%) - O.P. "EDUCATION" II.*

Η ΑΛΚΑΛΩΣΗ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΕΙ ΤΑ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΙΚΑ ΜΟΝΟΠΑΤΙΑ ΤΩΝ MAP ΚΙΝΑΣΩΝ ΣΤΑ Η9c2 ΚΥΤΤΑΡΑ

*Σταθοπούλου Κ. *, Γαϊτανάκη Κ. και Ι. Μπέης*

*Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ,
Πανεπιστημιούπολη 157 84, Αθήνα*

Η αύξηση του ενδοκυτταρικού pH επηρεάζει λειτουργίες των καρδιακών κυττάρων όπως η σύσπαση και η πρωτεϊνοσύνθεση. Σε προηγούμενες μελέτες είχαμε δείξει ότι, στους Η9c2 καρδιακούς μυοβλάστες, η αλκάλωση (pH 8,5) ενεργοποιεί τόσο τις JNKs όσο και τις ERKs και ότι, μέσω των JNKs, αυξάνονται τα επίπεδα φωσφορυλίωσης του μεταγραφικού παράγοντα c-Jun και της αντι-αποπτωτικής πρωτεΐνης Bcl-2. Διευρύνοντας αυτή τη μελέτη, παρατηρήσαμε ότι η αλκάλωση προκάλεσε επίσης την άμεση αλλά παροδική αύξηση της φωσφορυλίωσης και του τρίτου καθιερωμένου μέλους της οικογένειας αυτής, p38-MAPK. Παράλληλα, επώαση με το αλκαλικό θρεπτικό μέσο οδήγησε και στη φωσφορυλίωση της κινάσης MSK1, ενώ το πρότυπο αυτής της απόκρισης ήταν παρόμοιο με αυτό της ενεργοποίησης της p38-MAPK. Τόσο ο SB203580 (ειδικός αναστολέας της p38-MAPK) όσο και ο PD98059 (αναστολέας ενεργοποίησης των ERKs) ανέστειλαν σημαντικά την επαγόμενη από την αλκάλωση φωσφορυλίωση της MSK1. Τα παραπάνω αποτελέσματα δείχνουν ότι η αλκάλωση επάγει και τα τρία σηματοδοτικά μονοπάτια των MAP Κινάσων, τα οποία ρυθμίζουν τη δράση τόσο μεταγραφικών παραγόντων όσο και κυτταροπλασματικών πρωτεϊνών, σημαντικών για τη φυσιολογική λειτουργία των κυττάρων. Ίδιαίτερης σημασίας είναι το εύρημά μας ότι τα μονοπάτια των ERKs και της p38-MAPK συγκλίνουν στο επίπεδο της MSK1, ένα αποτέλεσμα που υποδηλώνει ότι αυτά τα δύο μονοπάτια ελέγχουν από κοινού τις ίδιες κυτταρικές λειτουργίες.

- Η έρευνα αυτή χρηματοδοτήθηκε από τον ΕΛΚΕ του ΕΚΠΑ και το πρόγραμμα Πυθαγόρας Ι (70/3/7399).
- Η κ. Σταθοπούλου είναι υπότροφος του Ι.Κ.Υ.

ALKALOSIS ACTIVATES THE MAPK SIGNALLING PATHWAYS IN THE H9c2 CELLS

Stathopoulou K. *, Gaitanaki C., and I. Beis

*Department of Animal and Human Physiology, School of Biology, University of
Athens, Panepistimioupolis 157 84*

Increases in the intracellular pH value affect cardiac cell functions, such as contractility and protein synthesis. In our previous studies we had shown that, in H9c2 cardiac myoblasts, alkalosis (pH 8.5) activates both JNKs and ERKs and that, through JNKs, the phosphorylation levels of the transcription factor c-Jun and the anti-apoptotic protein Bcl-2 are increased. By expanding this study, we observed that alkalosis also induces, immediately but transiently, the phosphorylation of the third well established member of this family, p38-MAPK. In parallel, incubation with the alkaline medium promoted the phosphorylation of the kinase MSK1 and the pattern of this response was similar to the activation pattern of p38-MAPK. The alkalosis-induced MSK1 phosphorylation was inhibited by both SB203580 (a p38-MAPK specific inhibitor) and PD98059 (an inhibitor of ERKs activation). The above-mentioned results demonstrate that alkalosis induces all three MAPK signalling pathways, which regulate the activity of transcription factors and cytoplasmic proteins that are significant for the normal function of cells. Of great importance is also our finding that the ERKs and p38-MAPK pathways converge at the level of MSK1, a result indicating that these two pathways mutually control the same cellular functions.

- *This study was funded by the Special Research Account of the University of Athens and the Pythagoras I grant (70/3/7399).*
- *Ms Stathopoulou is a recipient of a State Scholarships Foundation fellowship.*

**ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΩΝ
ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΠΟΥ ΕΜΠΛΕΚΟΝΤΑΙ ΣΤΗ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΤΟΥ
ΣΧΙΣΙΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΠΥΡΗΝΑ ΣΤΟ ΡΟΔΑΚΙΝΟ (*Prunus persica*)**

Τάνη Ε.¹, Πολύδωρος Α.¹, Τσαντάρης Α.Σ.^{1,2}

¹Ινστιτούτο Αγροβιοτεχνολογίας (ΙΝ.Α), ΕΚΕΤΑ, 6^ο χλμ. Χαριλάου-Θέρμης, 57001,
Θεσσαλονίκη

²Τμήμα Γενετικής και Βελτίωσης Φυτών, Α.Π.Θ., 54006, Θεσσαλονίκη

Η καλλιέργεια συμπύρηνων ποικιλιών ροδάκινου (*Prunus persica*) είναι σημαντική τόσο για την παραγωγή νωπών φρούτων όσο και για την κονσερβοποιία. Το πρόβλημα του σχισίματος του πυρήνα, το οποίο αναφέρεται στο άνοιγμα του κουκουτσιού κατά μήκος της ραφής του και στο άνοιγμα του φρούτου, οδηγεί στη μείωση της ποιότητας των κονσερβοποιημένων φρούτων. Με σκοπό την κατανόηση των μοριακών μηχανισμών που οδηγούν στο σχίσιμο του πυρήνα στο ροδάκινο κλωνοποιήσαμε και χαρακτηρίσαμε τα γονίδια *PPERFUL* και *PPERSHP* τα οποία είναι ομόλογα των γονιδίων *FRUITFULL* (*FUL*) και *SHATTERPROOF* (*SHP*) αντίστοιχα τα οποία κωδικοποιούν Α- και C-τύπου MADS-box παράγοντες μεταγραφής. Τα γονίδια αυτά προέρχονται από το φυτό μοντέλο της αραβίδοψης και εμπλέκονται στο άνοιγμα του λοβού της. Η εύρεση ομοιοτήτων μεταξύ του περικάρπιου του ροδάκινου και του λοβού της αραβίδοψης μας επέτρεψαν να μεταφέρουμε τις γνώσεις από την ανάπτυξη του καρπού της αραβίδοψης σε μία οικονομικά σημαντική καλλιέργεια. Επιπρόσθετα έγινε απομόνωση και χαρακτηρισμός των CDE-τύπου MADS box γονιδίων, συγκεκριμένα των *PPERAG*, *PPERSTK*, *PPERSEPI*, *PPERSEP3* και *PPERFBP9*, τα οποία είναι ομόλογα των γονιδίων *AGAMOUS* (*AG*), *SEEDSTICK* (*STK*), *SEPALLATA* (*SEP*) από την αραβίδοψη και *FPB9* από την πετούνια τα οποία αλληλεπιδρούν με τα γονίδια *FUL* και *SHP*. Τέλος γίνονται πειράματα για την απομόνωση και χαρακτηρισμό γονιδίων που δρουν σε μεταγενέστερα στάδια από τα *PPERFUL* και *PPERSHP*. Ο έλεγχος της έκφρασης των γονιδίων αυτών στα στάδια της σκλήρυνσης του πυρήνα θα μας δώσει μια ολοκληρωμένη εικόνα όσον αφορά στα γονίδια που εμπλέκονται στην εμφάνιση του σχισίματος του πυρήνα με σκοπό την δημιουργία νέων ανθεκτικών ποικιλιών για την αντιμετώπιση του προβλήματος και το σχεδιασμό μοριακών δεικτών για την παρακολούθηση του προβλήματος κατά την ανάπτυξη του καρπού.

**CHARACTERIZATION AND EXPRESSION ANALYSIS OF GENES
INVOLVED IN SPLIT-PIT FORMATION IN PEACH (*Prunus
persica*)**

Tani E.¹, Polidoros A.N.¹, Tsaftaris A.S.^{1,2}

¹*Institute of Agrobiotechnology (IN.A.), CERTH, 6th km Charilaou-Thermis Road,
Thermi GR-570 01, Greece*

²*Department of Genetics and Plant Breeding, AUTH, Thessaloniki, GR-540 06.*

Peach cultivation of clingstone varieties is important for Greek agriculture and canning industry. The occurrence of split-pit formation—the opening of the pit and sometimes splitting of the fruit—causes deterioration of canned fruit quality. The frequency of split-pit formation is influenced by genetic and environmental factors. To elucidate the molecular mechanisms underlying split-pit formation in peach, we cloned and characterized the *PPERFUL* and *PPERSHP* genes that are homologues to the genes *FRUITFULL* (*FUL*) and *SHATTERPROOF* (*SHP*), respectively, and encode an A- and a C-type MADS-box transcription factors. The genes mentioned above derived from *Arabidopsis thaliana* and are involved in fruit splitting (pod shattering). Similarities between the valves of Arabidopsis and peach pericarp allowed us to transfer the knowledge obtained about fruit development from a model plant to an economically important crop. Additionally, we have cloned and characterized members of CDE-type MADS-box genes, namely *PPERAG*, *PPERSTK*, *PPERSEPI*, *PPERSEP3* and *PPERFBP9* that are homologous to *AGAMOUS* (*AG*), *SEEDSTICK* (*STK*) and *SEPALLATA* (*SEP*) genes from arabidopsis and *FLORAL BINDING PROTEIN 9* (*FBP9*) from petunia, and interact with *FUL* and *SHP*. Finally, experiments are under way for the isolation and characterization of genes that act downstream of *PPERFUL* and *PPERSHP*. The detection of differences in the expression of each gene during pit hardening would enable us to unravel the molecular mechanisms causing pit hardening and help breeding for resistant varieties to pit opening as well as design molecular markers for monitoring split-pit formation during fruit development.

**ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΤΥΠΟ ΓΛΥΚΟΣΥΛΙΩΣΗΣ ΤΗΣ α 1-
ΟΞΙΝΗΣ ΓΛΥΚΟΠΡΩΤΕΪΝΗΣ ΣΤΟ ΜΥΕΛΟ ΤΩΝ ΟΣΤΩΝ
ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΚΑΙ ΑΡΘΡΙΤΙΚΩΝ ΕΠΙΜΥΩΝ**

Τέστα Θ. και Γιάγκου Μ.

Τομ. Γεν., Ανάπτ. & Μορ. Βιολ., Τμ. Βιολογίας, ΑΠΘ

Η πειραματική αρθρίτιδα (ΠΑ) επάγεται σε επίμυς με χορήγηση ανοσοενισχυτικού του Freund. Αποτελεί μία κατάσταση χρόνιας φλεγμονής, η οποία συνοδεύεται και από την αύξηση της συγκέντρωσης των πρωτεϊνών οξειάς φάσης (APPs) καθώς και από αλλαγές στο πρότυπο της γλυκοσυλίωσής τους. Η α 1-όξινη γλυκοπρωτεΐνη (AGP) είναι μία από τις κύριες APPs και παράγεται τόσο από το ήπαρ όσο και κύτταρα του αίματος. Σε πειράματά μας, βρέθηκε ότι η τοπική παραγωγή της AGP στην άρθρωση και ο τύπος γλυκοσυλίωσής της πιθανά να συμμετέχουν στην παθογένεια της νόσου. Ιστοπαθολογική ανάλυση έδειξε την πιθανή μετανάστευση κυττάρων του μυελού των οστών στην άρθρωση των ΠΑ επίμυων. Διερευνήθηκε κατά πόσο τα κύτταρα του μυελού των οστών παράγουν AGP καθώς και ο τύπος γλυκοσυλίωσής της τόσο στο μυελό των οστών όσο και στο αίμα στα διάφορα στάδια ανάπτυξης της ΠΑ. Στο αίμα δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά στον αριθμό των κυττάρων. Αντίθετα, στο μυελό των οστών παρατηρήθηκε σημαντική μείωση τόσο του συνολικού αριθμού όσο και των κοκκιοκυττάρων στα πρώτα στάδια της νόσου και πριν από την εμφάνιση φλεγμονής στις αρθρώσεις. Ανάλυση κατά Western έδειξε αύξηση των επιπέδων της AGP στα κύτταρα του αίματος και το πλάσμα καθώς και στα μυελοκύτταρα παρά τη μείωση του αριθμού τους. Ακόμη περισσότερο, τα αποτελέσματά μας έδειξαν διαφορετικό πρότυπο γλυκοσυλίωσης της AGP στα κύτταρα του μυελού των οστών σε σχέση με τα κύτταρα του αίματος. Ταυτόχρονα, τα κοκκιοκύτταρα του μυελού των οστών παρουσίασαν διαφορετικό πρότυπο γλυκοσυλίωσης σε σχέση με τα υπόλοιπα κύτταρα του μυελού. Στο πλάσμα και τα κύτταρα του αίματος κυριάρχησε η 44 KDa AGP, ενώ δεν ανιχνεύθηκε στο μυελό των οστών. Τα κοκκιοκύτταρα του μυελού των οστών παρήγαγαν περίπου ισόποσα τους διάφορους τύπους γλυκοσυλίωσης. Όλα τα παραπάνω δείχνουν ότι είναι πολύ πιθανό τα μυελοκύτταρα να μεταναστεύουν στην άρθρωση στα πρώτα στάδια ανάπτυξης της αρθρίτιδας και να προκαλούν, μέσω της AGP που παράγουν, την ανάπτυξη φλεγμονής.

**DETECTION AND GLYCOSYLATION PATTERN OF α 1-ACID
GLYCOPROTEIN IN BONE MARROW OF NORMAL AND
ARTHRITIC RATS**

Testa Th., and Yiangou M.

*Dept. of Genetics, Development & Molecular Biology, School of Biology,
Aristotle University of Thessaloniki*

Adjuvant arthritis (AA), induced in rats by FCA, resembles rheumatoid arthritis of man. Is characterized by chronic inflammation, accompanied by increased acute phase protein production and changes in their glycosylation profile. AGP is a major acute phase protein produced in liver and blood cells. In previous studies, we found that local production of AGP in arthritic joints and its type of glycosylation may be involved in the pathogenesis of AA. Histopathological analysis revealed that bone marrow cells (BM) may migrate in arthritic synovium. We investigated whether BM cells produce AGP as well as its type of glycosylation in BM and blood during various stages of AA. There was no substantial difference in the number of blood cells. In the contrary, the number of BM cells was significantly reduced at the early stages of AA development. Western blot analysis revealed increased levels of AGP in blood cells and plasma as well as in myelocytes despite the reduction of their number. In addition, our results revealed a different pattern of glycosylation in myelocytes compared to that of blood cells. BM granulocytes presented a glycosylation profile that differed from that of other BM cells. 44 kDa AGP dominated in plasma and blood cells but was not detected in BM. Furthermore, various types of glycosylation were equally produced in BM granulocytes. All the above data indicate that myelocytes may migrate in the joints and lead to inflammation by producing AGP.

ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΑΠΟ ΤΗΝ ΕΚΘΕΣΗ ΣΕ ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΗ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ

Τριανταφυλλίδης Κ.

*Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ.
E-mail: triant@bio.auth.gr*

Στη Θεσσαλονίκη υπάρχουν περίπου 300 νόμιμες κεραιές κινητής τηλεφωνίας. Μόνο όμως στο “Πάρκο Κεραιών” του Χορτιάτη είναι εγκατεστημένες 100 περίπου κεραιές ραδιοηλεκτρονικών σταθμών και εταιρειών κινητής τηλεφωνίας. Η παρουσία των κεραιών στο “Πάρκο Κεραιών” αποτελεί μόνιμη κατάσταση, παρά το γεγονός ότι υπήρξαν αποφάσεις από την τοπική αυτοδιοίκηση για τη διασπορά τους. Το γεγονός αυτό προκαλεί ανησυχία στους κατοίκους, διότι καθημερινά είναι εκτεθειμένοι σε ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία (ΗΑ) υψηλότερη του ανώτατου επιτρεπόμενου ορίου. Οι ανησυχίες αυτές στηρίζονται σε πληθώρα μελετών που δίνουν σαφέστατες ενδείξεις ότι έκθεση σε ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία προκαλεί βιολογικές επιπτώσεις, όπως:

1) Οι ΗΑ προκαλούν στο DNA το ίδιο είδος μεταλλάξεων (βλαβών) που προκαλούν οι ιοντίζουσες ακτινοβολίες. Η μη επιδιόρθωση των βλαβών του DNA, είναι γνωστό, ότι ενδέχεται να οδηγήσει σε καρκινογένεση. 2) Η έκθεση κυττάρων σε ΗΑ οδηγεί στη δημιουργία μικροπυρήνων. Το γεγονός αυτό υποδεικνύει ότι η ΗΑ έχει γενετοξικές βλαπτικές επιπτώσεις. 3) Έκθεση σε ΗΑ χαλαρώνει τον αιματο-εγκεφαλικό φραγμό και αυξάνει τη διαπερατότητα σε πρωτεΐνες. 4) Η έκθεση σε ΗΑ μειώνει τη γονιμότητα. 5) Η χρήση κινητού τηλεφώνου άνω των 10 ετών αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης καλοήθους όγκου στο ακουστικό νεύρο, καθώς και δημιουργίας γλοιώματος στην πλευρά του κεφαλιού στην οποία κρατάμε την τηλεφωνική συσκευή.

Διαπιστώθηκε, επίσης, συσχέτιση ανάμεσα στους φορείς χρηματοδότησης και τα δημοσιευόμενα αποτελέσματα.

Πρόταση. Η εφαρμογή της αρχής της “συνετούς αποφυγής” έκθεσης σε οποιαδήποτε μορφή ακτινοβολίας κρίνεται αναγκαία. Ιδιαίτερη φροντίδα πρέπει να δοθεί σε άτομα που σκοπεύουν να τεκνοποιήσουν, σε έγκυες και σε παιδιά ηλικίας μέχρι 16 ετών.

BIOLOGICAL EFFECTS FROM ELECTROMAGNETIC RADIATION

Triantaphyllidis C.

*Department of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology,
Aristotle University of Thessaloniki, GR 54 124, Thessaloniki, Greece,
E-mail: triant@bio.auth.gr*

There are approximately 300 mobile telephone antennas of various telecommunications companies in the city of Thessaloniki. However, only in the “Antenna Park” of the mountain Chortiatis in Greece almost 100 TV, FM-radio and mobile telephone antennas exist. This is a permanent situation, although there were decisions from the local authorities to distribute the antennas in various places around the city. Experimental data have shown that the level of electromagnetic radiation (ELF or radiofrequency non-ionizing radiation) in the villages of Chortiatis and Panorama is quite higher in comparison with the permitted level of electromagnetic radiation according to the Greek law. Radiofrequency non-ionizing radiation has been reported to produce a number of biological effects on biomolecules, cells and whole organisms, such as: 1) ELF generates single and double DNA strand breaks, as it was well known for ionizing radiation. This could result in the development of cancer. 2) ELF had genotoxic effects on various human cell lines. 3) ELF relaxes the blood-brain barrier, and thus various proteins could enter to the brain. 4) ELF exposure reduces the fertility of animals and men. 5) An increased risk of acoustic neuroma is associated with an extended use of mobile phone for at least 10 years’, as well as an increased risk of glioma in the site that we keep the mobile phone. The interpretation of results from studies of health effects of radiofrequency radiation should take sponsorship into account.

Conclusions: In view of the continuous development of telecommunications – and of cell phone technology in particular – it is recommended to apply a precaution approach. Particular care should be taken from those who intend to have a child, pregnant women and children under the 16 years old.

**ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΠΑΤΡΟΤΗΤΑΣ ΣΤΟ ΧΕΡΣΑΙΟ ΣΑΛΙΓΚΑΡΙ *HELIX ASPERSA* ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΜΙΚΡΟΔΟΥΡΥΦΟΡΙΚΟΥ DNA
ΠΡΟΚΑΤΑΡΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ**

Τριανταφυλλίδης Α.¹, Μαντενούδη Ο.¹, Γαρεφαλάκη Μ.-Ε.² και Α. Στάικου²

¹Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, ²Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Τ.Κ. 54124 Θεσσαλονίκη

Το χερσαίο πνευμονοφόρο σαλιγκάρι *Helix aspersa* έχει ιδιαίτερη οικονομική σημασία ως εκτρεφόμενο είδος σε πολλές χώρες του κόσμου και για το λόγο αυτό η βιολογία και η συμπεριφορά αναπαραγωγής του αποτελούν αντικείμενο εκτεταμένων μελετών τα τελευταία χρόνια. Το *Helix aspersa* είναι ταυτόχρονα ερμαφρόδιτο, υποχρεωτικά ετερογονιμοποιούμενο είδος. Παρόλο που υπάρχει η δυνατότητα αυτογονιμοποίησης, αυτή δεν έχει παρατηρηθεί ποτέ. Η αναπαραγωγική συμπεριφορά του *Helix aspersa* περιλαμβάνει μερικά χαρακτηριστικά όπως α) η μακροχρόνια αποθήκευση σπέρματος, β) η πολλαπλή σύζευξη, γ) η ρίψη ακοντίου (dart shooting) και δ) η πέψη σπέρματος. Οι πολλαπλές συζεύξεις οι οποίες παρατηρούνται στη διάρκεια μίας αναπαραγωγικής περιόδου έχουν ως αποτέλεσμα τις περισσότερες φορές την πολλαπλή πατρότητα των απογόνων μίας ωαπόθεσης. Οι παράγοντες που επηρεάζουν την πατρότητα στο *Helix aspersa* είναι η επιτυχημένη ρίψη του ακοντίου, ο χρόνος πριν από την 1^η σύζευξη, ο χρόνος μεταξύ των συζεύξεων και η σειρά των συζεύξεων από την οποία εξαρτάται και η δραστηριότητα των σπερματοζώων που είναι ήδη αποθηκευμένα στη σπερματοθήκη.

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν ωαποθέσεις στις οποίες ο κάθε γεννήτορας διασταυρώθηκε με 2 ή 3 συντρόφους. Από το σύνολο των απογόνων της κάθε ωαπόθεσης επιλέχθηκε ένα τυχαίο δείγμα 30 έως 50 ατόμων. Ο προσδιορισμός της πατρότητας των απογόνων που προέκυψαν από τις πολλαπλές διασταυρώσεις έγινε με τη χρήση μικροδορυφορικών τόπων.

PATERNITY PRIORITY ESTIMATION IN *HELIX ASPERSA* USING MICROSATELLITE DNA PRELIMINARY RESULTS

Triantaphyllidis A.¹, Mantenoudi O.¹, Garefalaki M.-E.², and A. Staikou²

*¹Department of Genetics, Development and Molecular Biology, ²Department of
Zoology, School of Biology, Aristotle University T.K. 54124 Thessaloniki*

The land snail *Helix aspersa* has a significant economic value as this species is the primer target of heliciculture in many countries around the world. Thus, the reproductive biology and reproductive behaviour of the species is the main subject of extensive studies. *Helix aspersa* is a simultaneously hermaphroditic snail which means that the reproductive organs of both sexes are present and functional in the same individual throughout most of its life. Even though self-fertilization is potential, only cross fertilization has been observed in this species. The reproductive behaviour of *Helix aspersa* includes certain features such as a) long-term sperm storage, b) multiple matings, c) dart shooting and d) sperm digestion. Multiple matings observed during a reproductive season result in multiple paternity of offspring. Factors that influence the paternity of offspring in *Helix aspersa* are the success of dart shooting, the time before first mating, the time between matings and the order of matings. The order of matings influences the activity of spermatozoa that are already stored in the spermatheca. In the present study a number of egg clutches coming from snails with multiple matings (2 or 3 partners) were analyzed using microsatellite loci in order to determine the paternity of offspring. From each egg clutch a random sample comprised of 30 to 50 newly hatched snails was selected for paternity analysis.

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΨΑΡΙΩΝ ΤΗΣ ΛΙΜΝΗΣ ΔΟΪΡΑΝΗΣ

Τριανταφυλλίδης Α., Μπόμπορη Δ., Κολιαμήτρα Χ.

Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσ/νίκης. 54124, Θεσσαλονίκη

Η ανάλυση της γενετικής ποικιλότητας των ειδών αποτελεί σημαντικό βήμα για την κατανόηση των μηχανισμών που εμπλέκονται στην προσαρμογή και εξέλιξη των ειδών. Επιπρόσθετα, τα τελευταία χρόνια η μελέτη του πολυμορφισμού του DNA μπορεί να δώσει ένα αξιόπιστο, βασισμένο στο DNA ταξινομικό σύστημα, αφού μια μικρού μεγέθους ακολουθία είναι ικανή να αποτελέσει 'barcode', μοναδικό για το κάθε είδος. Το DNA barcoding έχει ήδη εφαρμοστεί σε πουλιά της Βόρειας Αμερικής, ψάρια της Αυστραλίας και πιο πρόσφατα, σε τροπικά λεπιδόπτερα. Με βάση τη μεθοδολογία που ακολουθήθηκε στις παραπάνω έρευνες, πραγματοποιήθηκε DNA barcoding γενετική ανάλυση σε 13 είδη ψαριών που αλιεύθηκαν την περίοδο 2006-2007 από τη λίμνη Δοϊράνη και τα εισρέοντα σε αυτήν ρέματα. Πιο συγκεκριμένα μελετήθηκε περιοχή μιτοχονδριακού DNA μεγέθους 655bp της υπομονάδας I της οξειδάσης του κυτοχρώματος c (*cox1*). Η γενετική ανάλυση πραγματοποιήθηκε σε 117 συνολικά άτομα, στα αποτελέσματα της οποίας εφαρμόστηκε περαιτέρω φυλογενετική ανάλυση. Ο μέσος όρος των αποστάσεων κατά τον Kimura (K2P) με ταξινομήση είδους, οικογένειας και τάξης είναι 0,41%, 14,9% και 15,6% αντίστοιχα. Η διερεύνηση της συγκεκριμένης περιοχής του μιτοχονδριακού DNA ανοίγει δρόμους για πιο εφαρμοσμένους σκοπούς, όπως η σωστή διαχείριση των γενετικών αποθεμάτων των ειδών και ο ακριβής έλεγχος της εμπορικής νοθείας, θέτοντας σε πλήρη εφαρμογή όλους τους στόχους του DNA barcoding και επιπρόσθετα, επιτρέποντας την εξέταση των ειδών σε φυλογενετικό επίπεδο.

- *Μέρος αυτής της δουλειάς χρηματοδοτήθηκε από το Μουσείο Γουλανδρή Φυσικής Ιστορίας και το Ελληνικό Κέντρο Βιοτόπων - Υγροτόπων στα πλαίσια του ευρύτερου προγράμματος «Ιχθυολογική διερεύνηση της Λίμνης Δοϊράνης»*

DNA BARCODING FISH SPECIES IN LAKE DOIRANI

Triantafyllidis A., Bobori D., Koliamitra Ch.

School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki. 54124, Thessaloniki

Genetic diversity analyses of species constitute important steps in understanding the mechanisms involved in the adaptation and evolution of the animal species. Furthermore, DNA polymorphism analysis has recently proven to be a reliable, DNA-based taxonomic system, since a single gene sequence can serve as 'barcode', sufficient to differentiate all, or at least the vast majority of, animal species. DNA barcoding has already been applied in North American birds, Australian fish and most recently in tropical Lepidoptera. Based on the methodology that was followed in these studies, in the present study DNA barcoding was carried out in 13 fish species from Lake Doirani (Northern Greece) that were fished in the period of 2006-2007 from the lake Doirani and its pouring streams. Particularly, a 655bp region of the mitochondrial cytochrome oxidase subunit I (*coxI*) was studied. The genetic analysis was carried out in 117 individuals, the results of which were used for further phylogenetic analysis. Average within species, -family and -order Kimura two parameter (K2P) distances were 0.41%, 14.9% and 15.6% respectively. Research on this specific region of mitochondrial DNA reveals new approaches on more applied aims such as the sustainable management of species and prevention of trade falsification, placing in full implementation all the objectives of DNA barcoding and additionally allowing the phylogenetic study of species.

- *Part of this work was funded by the Goulandris Natural History Museum and the Greek Biotope/Wetland Centre in the framework of the Project "Ichthyologic Research of Lake Doirani"*

**ΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΣΤΟΥΣ ΦΥΣΙΚΟΥΣ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥΣ
ΤΣΙΠΟΥΡΑΣ ΑΠΟ ΤΗΝ ΑΠΕΛΕΥΘΕΡΩΣΗ
ΚΑΛΛΙΕΡΓΟΥΜΕΝΩΝ ΑΤΟΜΩΝ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ**

Τριανταφυλλίδης Α.¹, Καραϊσκού Ν.¹, Λεονάρδος Ι.², Αμπατζόπουλος Θ.Ι.¹

¹Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης & Μοριακής Βιολογίας,
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 54124 Θεσσαλονίκη,

²Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Η τσιπούρα (*Sparus aurata*) έχει ευρεία εξάπλωση στις ακτές του Ατλαντικού και της Μεσογείου. Αποτελεί ένα από τα πιο σημαντικά είδη για τις θαλάσσιες υδατοκαλλιέργειες και την αλιεία στη Μεσόγειο με ετήσια παραγωγή πάνω από 100.000 μετρικούς τόνους. Τόσο όμως οι επιστήμονες όσο και το κοινό έχουν εκφράσει την ανησυχία τους για τις επιπτώσεις των υδατοκαλλιεργειών σε φυσικούς πληθυσμούς και στη βιοποικιλότητα. Τα προβλήματα σχετίζονται με την εισαγωγή στους φυσικούς πληθυσμούς τσιπούρας ιχθυδίων που προέρχονται από τυχαίες απελευθερώσεις ατόμων ιχθυοκαλλιεργειών ή μεταφορά ατόμων με σκοπό την ενδυνάμωση φυσικών πληθυσμών. Το πιθανό αποτέλεσμα των εκροών αυτών είναι η μείωση των άγριων πληθυσμών λόγω ανταγωνισμού για φυσικούς πόρους καθώς και η εμφάνιση υβριδίων με μειωμένη προσαρμοστικότητα εξαιτίας της απώλειας γονιδίων που έχουν προσαρμοστεί στις τοπικές περιβαλλοντικές συνθήκες. Οι επιπτώσεις των υδατοκαλλιεργειών της τσιπούρας στους άγριους ελληνικούς πληθυσμούς δεν έχουν μελετηθεί. Για το λόγο αυτό, πραγματοποιήθηκε ανάλυση επτά μικροδορυφορικών δεικτών DNA σε επτά άγριους και σε έναν καλλιεργούμενο πληθυσμό τσιπούρας από το Αιγαίο και το Ιόνιο πέλαγος. Επίσης προστέθηκαν αποτελέσματα από προηγούμενη ανάλυση δύο άγριων και δύο καλλιεργούμενων πληθυσμών. Οι τιμές ετεροζυγωτίας βρέθηκαν να είναι υψηλές για άγριους και καλλιεργούμενους πληθυσμούς. Όμως τα επίπεδα διαφοροποίησης των πληθυσμών είναι χαμηλά, δυσχεραίνοντας τον εντοπισμό δεικτών που θα ήταν δυνατό να χρησιμοποιηθούν για την ιχνηλάτηση των καλλιεργούμενων ατόμων. Η μελλοντική μελέτη των πληθυσμών πρέπει να στραφεί σε λειτουργικά γονίδια που συμβάλλουν στην επιτυχή καλλιέργεια του είδους.

- Η εργασία αυτή χρηματοδοτήθηκε στα πλαίσια του προγράμματος «ΠΥΘΑΓΟΡΑΣ II» (ΕΠΕΑΕΚ II του 3^{ου} Κοινοτικού Πλαισίου Στήριξης του ΥΠ.Ε.Π.Θ.)

THE GENETIC IMPACT OF STOCKING AND CULTURED ESCAPEES OF SEA BREAM ON ITS WILD POPULATIONS

Triantafyllidis A.¹, Karaiscou N.¹, Leonardos J.², Abatzopoulos T.J.¹

¹School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, 54124, Greece,

²Dept of Biological Applications and Technology, University of Ioannina, Greece

The gilthead sea bream (*Sparus aurata*) is widely distributed in the north-eastern Atlantic waters and the Mediterranean Sea. It is one of the most important species in Mediterranean marine aquaculture and fisheries with a yearly production of more than 100,000 metric tonnes. Many scientists along with public institutions have expressed their concerns on the threat that aquaculture poses to biodiversity due to detrimental impacts on wild populations and the ecosystem. These problems arise from the accidental release and deliberate stocking of cultured individuals and their subsequent admixture with the wild populations. The result of these practices is the potential decrease of wild populations due to competition for local resources as well as the production of hybrids with reduced survival and reproduction success (fitness) due to the loss of locally adapted genotypes.

Little is known concerning the effects of sea bream culture on Greek wild populations. For this reason, seven microsatellite loci were analyzed in seven wild and one cultured population from the Aegean and Ionian Seas. Data from previous research into two wild and two cultured populations were also added to the analysis. High levels of genetic variability were revealed in all wild and cultured populations. However, levels of differentiation among populations are very low, hindering identification of escapees. Future work should include analysis of functional genes that are related to the domestication process.

- *This research was funded by the program "Pythagoras II" of the Operational Program for Education and Initial Vocational Training of the Hellenic Ministry of Education under the 3rd Community Support Framework and the European Social Fund.*

ΟΡΓΑΝΩΣΗ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΣΩΛΗΝΙΣΚΩΝ ΚΑΤΑ ΤΟΝ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΚΥΚΛΟ ΤΟΥ ΧΛΩΡΟΦΥΚΟΥΣ *ULVA LACTUCA*

Τσαγκαμίλης Π., και Κατσαρός Χ.

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 157 84

Στην εργασία αυτή μελετήθηκε για πρώτη φορά με ανοσοφθορισμό σωληνίνης και χρώση του DNA με Hoechst 33258 η οργάνωση του κυτταροσκελετού των μικροσωληνίσκων (ΜΣ) σε μεσοφασικά και διαιρούμενα βλαστητικά κύτταρα του Χλωροφύκου *Ulva lactuca*. Τα κύτταρα αυτά φέρουν έναν εντυπωσιακό χλωροπλάστη, ο οποίος καταλαμβάνει το μεγαλύτερο τμήμα του κυττάρου, ενώ το κυτόπλασμα περιορίζεται στο αντίθετο άκρο, όπου εντοπίζεται και ο πυρήνας. Στα μεσοφασικά κύτταρα αποκαλύφθηκε ένας εντυπωσιακός περιφερειακός κυταροσκελετός από έντονα φθορίζουσες δέσμες ΜΣ, ο οποίος φαίνεται να αποκλίνει από ένα περιφερειακό σημείο κοντά στον πυρήνα και περιβάλλει το χλωροπλάστη. Κατά την πρόφαση το σχήμα του πυρήνα από σφαιρικό μετατρέπεται σε επιμηκυμένο ατρακτοειδές, και η χρωματίνη εμφανίζει έντονη συμπύκνωση. Ο άξονας του πυρήνα συνήθως είναι κάθετος προς τον μεγάλο άξονα του χλωροπλάστη. Οι ΜΣ σχηματίζουν έντονα φθορίζουσες δέσμες που περιβάλλουν τον ατρακτοειδή πυρήνα και συγκλίνουν στους πόλους του. Στη μετάφαση τα χρωμοσώματα σχηματίζουν μια σαφή μεταφασική πλάκα, ενώ παράλληλα δημιουργείται η άτρακτος, η οποία αποτελείται από σχετικά παχιές δέσμες ΜΣ που αποκλίνουν από τους πόλους. Κατά την ανάφαση τα θυγατρικά χρωμοσώματα απομακρύνονται βαθμιαία και η άτρακτος επιμηκύνεται, λαμβάνοντας το μέγιστο μήκος της κατά την τελόφαση. Ο άξονας της ατράκτου είναι παράλληλος με τον μεγάλο άξονα του χλωροπλάστη. Στην τελόφαση η εικόνα της ατράκτου παραμένει περίπου ίδια με την ανάφαση, ενώ η χρωματίνη εμφανίζει βαθμιαία αποσυμπύκνωση. Κατά την κυτοκίνηση η άτρακτος αποδιοργανώνεται και οι πυρήνες πλησιάζουν αρκετά μεταξύ τους. Είναι αξιοσημείωτο ότι το περιφερειακό σύστημα ΜΣ παραμένει σε όλη τη διάρκεια της μίτωσης.

- Η εργασία αυτή πραγματοποιήθηκε με οικονομική ενίσχυση από τα προγράμματα «Καποδίστριας» (Πανεπιστήμιο Αθηνών), «Πυθαγόρας Ι» (Υπουργείο Εθνικής Παιδείας και Θρησκευμάτων) και ΠΕΝΕΔ (Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας, Υπουργείο Ανάπτυξης).

MICROTUBULE ORGANIZATION DURING THE CELL CYCLE OF THE GREEN ALGA *ULVA LACTUCA*

Tsagakamilis P., and Katsaros C.

University of Athens, Faculty of Biology, Department of Botany, Athens 157 84

The organization of microtubules (MTs) in vegetative interphase and dividing cells of the green alga *Ulva lactuca* was studied for the first time using tubulin immunofluorescence and DNA staining with Hoechst 33258. A large chloroplast occupies the major part of the cell, while the cytoplasm is limited at the opposite side, where the nucleus is also located. Interphase cells bear an impressive cortical MT cytoskeleton consisting of intensely fluorescing MT bundles which radiate from a cortical site close to the nucleus and surround the chloroplast. At prophase the nuclear shape transforms from spherical to elongate, spindle-like and the chromatin appears strongly condensed. The axis of the elongated nucleus is perpendicular to the long axis of the chloroplast. Densely fluorescent bundles of MTs surround the nucleus, converging to its poles. During metaphase the chromosomes are aligned at the metaphase plate, and a spindle is formed, consisting of thick MT bundles diverging from the poles. During anaphase the chromosomes move gradually apart and the spindle is elongated, gaining its higher length at telophase. The spindle axis is now parallel to the long axis of the chloroplast. At telophase the spindle is similar to that of anaphase and the chromosomes are gradually uncondensed. During cytokinesis the spindle disappears and the daughter nuclei approach each other. It is noteworthy that the cortical MT system is retained during the whole cell cycle.

- *This work was financed by grants from the University of Athens (project "Kapodistrias"), from the Hellenic Ministry of National Education and Religious Affairs and the EU, in the frames of the Operational Programme for Education and Initial Vocational Training (O.P. "Education", project "Pythagoras"), and the General Secretariat of Research and Technology, Ministry of Development.*

**ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΗΣ ΑΠΟΔΟΣΗΣ ΤΩΝ ΑΛΓΟΡΙΘΜΩΝ
ΠΡΟΓΝΩΣΗΣ ΔΟΜΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΜΕ ΤΟ ΜΕΓΕΘΟΣ
ΤΟΥ ΣΥΝΟΛΟΥ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗΣ**

Τσαούσης Γ.Ν., Μπάγκος Π.Γ. και Χαμόδρακας Σ.Ι.

*Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο
Αθηνών, Αθήνα 157 01*

Είναι πλέον σαφές, ότι η πρόοδος στον προσδιορισμό δομών μεμβρανικών πρωτεϊνών ακολουθεί εκθετικό ρυθμό αύξησης παρόμοιο με αυτόν των υδατοδιαλυτών πρωτεϊνών. Για να διερευνήσουμε τον αντίκτυπο αυτού του γεγονότος στην απόδοση των αλγορίθμων πρόγνωσης διαμεμβρανικών τμημάτων για α-ελικοειδείς διαμεμβρανικές πρωτεΐνες και διαμεμβρανικά β-βαρέλια, προχωρήσαμε σε μία προοπτική έρευνα με βάση ιστορικά στοιχεία. Για αυτό το λόγο εκπαιδέυσαμε μοντέλα HMMs (Hidden Markov Models) με διαφορετικού μεγέθους σύνολα εκπαίδευσης. Για την ανάλυση, χρησιμοποιήσαμε το μη γραμμικό μοντέλο του von Bertalanffy ή εναλλακτικά ένα απλό γραμμικό μοντέλο. Παρατηρούμε ότι οι υπάρχοντες αλγόριθμοι που χρησιμοποιούνται στην πρόγνωση της τοπολογίας των α-ελικοειδών διαμεμβρανικών πρωτεϊνών αποδίδουν ελάχιστα καλύτερα από τους αντίστοιχους για τα διαμεμβρανικά β-βαρέλια (88% έναντι 87%). Στο ίδιο πλαίσιο, μία μετα-ανάλυση της απόδοσης των αλγορίθμων πρόγνωσης δευτεροταγούς δομής υποδεικνύει ότι οι υπάρχουσες τεχνικές δεν μπορούν να βελτιωθούν περαιτέρω με το να προσθέτουμε περισσότερες μη ομόλογες ακολουθίες στα σύνολα εκπαίδευσης. Με αυτό τον τρόπο, το ανώτατο όριο για την πρόγνωση δευτεροταγούς δομής υπολογίζεται στο 70% των σωστά προσδιορισμένων αμινοξικών καταλοίπων για τις τεχνικές που χρησιμοποιούν απλές ακολουθίες και 80% για αυτές που βασίζονται σε πολλαπλές στοιχίσεις. Επιπρόσθετα, τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης δείχνουν ότι οι υπάρχοντες αλγόριθμοι πρόγνωσης έχουν φτάσει σε μέγιστο σημείο απόδοσης. Επομένως, είναι αναγκαίο να στραφούμε σε νέες μεθοδολογίες για την κατασκευή αλγορίθμων με μεγαλύτερη απόδοση. Τέλος, επισημαίνουμε διαφορές στους ρυθμούς αύξησης της απόδοσης στην περίπτωση των σφαιρικών υδατοδιαλυτών πρωτεϊνών, των α-ελικοειδών διαμεμβρανικών πρωτεϊνών και των διαμεμβρανικών β-βαρελίων σε σχέση με το μέγεθος του συνόλου εκπαίδευσης και συζητούνται προοπτικές για μελλοντικές μελέτες.

CORRELATION OF THE PERFORMANCE OF PROTEIN STRUCTURE PREDICTION ALGORITHMS WITH THE SIZE OF THE TRAINING SET

Tsaousis G.N., Bagos P.G., and Hamodrakas S.J.

*Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of
Athens, Athens 157 01*

It is now evident, that the progress in the determination of membrane protein structure, grows exponentially, with approximately the same growth rate as that of the water-soluble proteins. In order to investigate the effect of this fact on the performance of the predictive algorithms for both alpha-helical and beta-barrel membrane proteins, we conducted a prospective study based in historical records. For this reason, we trained separate HMMs with different sized training sets and evaluated their performance on topology prediction for the two classes of transmembrane proteins. For model fitting we used either the non-linear model of von Bertalanffy or alternatively a linear regression model. We show that the existing top-scoring predictive algorithms of transmembrane segments of alpha-helical membrane proteins perform slightly better than those of beta-barrel outer membrane proteins (88% compared to 87%). With the same rationale, a meta-analysis of the performance of the secondary structure prediction algorithms indicates that existing algorithmic techniques cannot be further improved by just adding more non-homologous sequences to the training sets. This way, the upper limit for the secondary structure prediction is estimated to be no more than 70% and 80% of correctly predicted residues for single sequence based methods and multiple sequence alignment based ones, respectively. Furthermore, the results of this study suggest that we have reached a plateau, after which the predictive performance will not be further improved. Therefore, we should concentrate our efforts on utilizing new techniques for the development of even better scoring predictors. Differences in the estimated rates for water-soluble proteins, alpha-helical and beta-barrel membrane proteins with respect to the size of the training set used are highlighted, and potential implications for future studies are discussed.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΠΑΡΑΣΙΤΙΣΜΟΥ ΣΤΗΝ ΑΝΑΓΕΝΝΗΣΗ ΤΗΣ ΟΥΡΑΣ ΣΤΟ ΣΙΛΙΒΟΥΤΙ (*PODARCIS ERHARDII*)

Τσάση Γ.¹, Σίμου Χ.¹, Παφίλης Π.^{1,2}, Foufopoulos J.³ και Ε.Α. Βαλάκος¹

¹Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και
Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, 157-84, Αθήνα

²Τομέας Διαχείρισης Οικοσυστημάτων, Τμήμα Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο
Αιγαίου, Λόφος Πανεπιστημίου, 81-100, Μυτιλήνη

³School of Natural Resource and Environment, University of Michigan, Dana Hall
440 Church str. Ann Arbor 48199-1041 USA

Η κομμένη ουρά αναγεννάται άμεσα μετά την αυτοτομία καθώς η σημασία του συγκεκριμένου μέλους στην συνολική αρμοστικότητα του ζώου είναι εξαιρετικά σημαντική (αποθήκευση ενέργειας, επικουρικό όργανο κίνησης, κοινωνικό status). Η αναγέννηση αποτελεί πολύπλοκη και ενεργειοβόρα διαδικασία που πραγματοποιείται σε βάρος άλλων βασικών φυσιολογικών διεργασιών (π.χ. αναπαραγωγή, ανοσολογική απόκριση σε λοιμογόνους παράγοντες). Είναι γνωστό ότι διάφορες παράμετροι επηρεάζουν την ταχύτητα και την αποδοτικότητα της αναγέννησης (π.χ. ηλικία, τροφική διαθεσιμότητα, εγκυμοσύνη). Ένας από τους κυριότερους παράγοντες που επιδρούν στον μηχανισμό επανασηματισμού των ιστών είναι και ο παρασιτισμός. Στην παρούσα εργασία μελετήσαμε την επίδραση των αιμοπαρασίτων του γένους *Haepatozoon* στην αναγέννηση της ουράς στη σαύρα *P.erhardii*. Χρησιμοποιήθηκαν αποκλειστικά αρσενικά άτομα που υφίστανται τις ίδιες κλιματικές συνθήκες καθώς προέρχονται από το ίδιο νησιωτικό σύμπλεγμα (Νάξος και περιφερειακές βραχονησίδες) αλλά διαφοροποιούνται ως προς τη φυλογενετική τους ιστορία (απομονωμένοι πληθυσμοί με επακόλουθη διακοπή της γονιδιακής ροής για μεγάλο χρονικό διάστημα) και το παρασιτικό φορτίο (λόγω της παρουσίας ή όχι πληθυσμών κατσικών). Το μήκος της αναγεννώμενης ουράς καταγράφονταν σε εβδομαδιαία βάση ενώ ταυτοποιήθηκε εργαστηριακά η διαφορά στην ποσότητα παρασίτων. Ο ρυθμός αναγέννησης δεν παρουσίασε καμία διαφορά μεταξύ των μελετούμενων πληθυσμών. Η σημαντικότητα του μηχανισμού υπογραμμίζεται από το γεγονός ότι παρουσιάζεται συντηρητικός σε μεταβολές ανεξάρτητα από την επίδραση εσωτερικών (φυλογενετική ιστορία) και εξωτερικών (παρασιτικό φορτίο) παραγόντων .

- Η παρούσα μελέτη χρηματοδοτείται από το ΠΕΝΕΔ 03 (03ΕΔ 112) και από τον ΠΥΘΑΓΟΡΑ II του ΕΠΕΑΕΚ II από το Υπουργείο Παιδείας και την ΕΕ.

THE IMPACT OF PARASITISM ON CAUDAL REGENERATION IN THE AEGEAN WALL LIZARD (*PODARCIS ERHARDII*)

Tsasi G.¹, Simou Ch.¹, Pafilis P.^{1,2}, Foufopoulos J.³, and E.D. Valakos¹

¹ *Department of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimioupolis GR 15784, Athens*

² *Section of Biodiversity Conservation, Department of Environmental Studies, University of the Aegean, University Hill, 81100 Mytilini.*

³ *School of Natural resource and Environment, University of Michigan, Dana Hall 440 Church str. Ann Arbor 48199-1041 USA.*

Tail autotomy is one of the more efficient antipredator mechanisms in lizards. The significance of the tail in the overall fitness of the lizard is crucial and has a severe impact on many important functions (energy store, movement, social status). Hence regeneration occurs rapidly. Nonetheless it deprives energy from other substantial processes such as reproduction or immune response since it is a complex and energy-consuming mechanism. It is well known that regeneration's effectiveness and rate are influenced by many factors (e.g. age, food availability, pregnancy). Another important parameter which thoroughly affects regeneration is the parasitism. In the present study we tried to estimate the effect of some haemoparasites (*Haepatozoon*) on the reconstruction of tail tissues in *P. erhardii*. We used exclusively males (in order to eliminate biases deriving from gravid females) which are sharing identical climate conditions since they come from the same insular complex (Naxos and surrounding islets). On the other hand they have different phylogenetic history (isolated populations with no gene flow between them for sufficient time periods) and parasite load (due to the presence or absence of goats). The length of the regenerated tail was recorded weekly while the parasite load was identified in the lab. We failed to detect any difference in the regeneration rate among studied populations. The importance of the mechanism is underscored by the fact that it remains conservative and it is not subjected to alterations due to inner (phylogenetic history) or external (parasite load) factors.

- *The present work is supported by PENED 03 (03ED112) and PYTHAGORAS II from EPEAEK II, Hellenic Ministry of Education and EE.*

Η ΠΡΩΤΕΪΝΗ BRI2 ΟΜΟΔΙΜΕΡΙΖΕΤΑΙ ΜΕ ΤΗ ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΔΙΣΟΥΛΦΙΔΙΚΩΝ ΔΕΣΜΩΝ

Τσαχάκη Μ., Μελαχροινού Κ., Τόλη Ν., Ευθυμιόπουλος Σ.

*Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Πανεπιστήμιο Αθηνών,
15784 - Πανεπιστήμιοπολη, Ιλίσια, Ελλάδα*

Οι οικογενείς άνοιες Βρετανικού και Δανέζικου τύπου είναι δύο σπάνιες νευροεκφυλιστικές νόσοι, η εμφάνιση των οποίων σχετίζεται με δύο μεταλλαγμένες μορφές της πρωτεΐνης BRI2. Η πρωτεόλυση της μεταλλαγμένης BRI2, οδηγεί στην απελευθέρωση πρωτεολυτικών θραυσμάτων, τα οποία είναι αμιλοειδογενή και συσσωρεύονται ως πλάκες στους εγκεφάλους των ασθενών. Η φυσιολογική λειτουργία της BRI2 παραμένει άγνωστη. Για να μελετήσουμε τη λειτουργία της πρωτεΐνης εξετάσαμε την πιθανότητα να δημιουργεί ομοδιμερή. Με πειράματα ανοσοκατακρήμνισης διαφορετικά επιτοπικά σημασμένων BRI2 πρωτεϊνών βρέθηκε ότι αυτές έχουν την ικανότητα να ομοδιμερίζονται. Η διαμεμβρανική ακολουθία της BRI2 περιλαμβάνει ένα μοτίβο GXXXG, το οποίο έχει δείχθει ότι συμμετέχει στον ομοδιμερισμό πολλών πρωτεϊνών. Μετάλλαξη των συντηρημένων αμινοξέων γλυκίνης (G) σε λευκίνη δεν επηρέασε τον ομοδιμερισμό της BRI2. Τα αποτελέσματα αυτά υποδηλώνουν ότι το GXXXG μοτίβο δεν συμμετέχει στον ομοδιμερισμό της πρωτεΐνης. Το μόριο της BRI2 περιέχει, επίσης, μονό αριθμό κυστεϊνικών καταλοίπων, γεγονός που σημαίνει ότι πιθανά υπάρχει ένα ελεύθερο κυστεϊνικό κατάλοιπο, που θα μπορούσε να διαμεσολαβεί τη σύνδεση δύο μορίων BRI2. Για να εξεταστεί κατά πόσο αμινοξέα κυστεΐνης εμπλέκονται στον ομοδιμερισμό της BRI2 κυτταρικά εκχυλίσματα αναλύθηκαν σε πήκτωμα ακρυλαμίδης σε αναγωγικές και μη αναγωγικές συνθήκες. Παρατηρήσαμε μονομερή, διμερή και ολιγομερή της BRI2 σε μη αναγωγικές συνθήκες (απουσία β-μερκαπτοαιθανόλης) και μονομερή της σε αναγωγικές συνθήκες. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι τα ομοδιμερή της BRI2 συγκρατούνται μέσω δισουλφιδικών δεσμών που αναπτύσσονται μεταξύ κυστεϊνών. Τέλος, διερευνήσαμε αν τα ομοδιμερή της BRI2 υπάρχουν *in vivo*. Ανάλυση σε εκχυλίσματα εγκεφάλου ποντικών έδειξε την παρουσία μονομερών και διμερών της πρωτεΐνης σε μη αναγωγικές συνθήκες, και την παρουσία μονομερών σε αναγωγικές συνθήκες. Συμπερασματικά, η πρωτεΐνη BRI2 ομοδιμερίζεται στα κύτταρα, και, επιπλέον, υπάρχει ως ομοδιμερές *in vivo*. Δισουλφιδικοί δεσμοί και όχι το μοτίβο GXXXG, συμμετέχουν στο σχηματισμό διμερών.

- *Αυτή η έρευνα χρηματοδοτήθηκε από το πρόγραμμα του υπουργείου Παιδείας «Πυθαγόρας Ι».*

THE BRI2 PROTEIN FORMS HOMODIMERS WITH THE CONTRIBUTION OF DISULFIDE BONDS

Tsachaki M., Melachroinou C., Toli D., Efthimiopoulos S.

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

Familial British and Danish dementias are two rare neurodegenerative diseases, which are related to two mutated forms of the BRI2 protein. Processing of mutated BRI2 releases proteolytic fragments which are amyloidogenic and accumulate forming plaques in the patients' brains. To provide evidence about the physiological function of BRI2, we examined whether it can form homodimers. Immunoprecipitation experiments of differentially tagged BRI2 proteins showed that these proteins are able to homodimerize. The transmembrane sequence of BRI2 contains a GXXXG motif, which has been shown to participate in the homodimerization of many proteins. Mutation of the conserved glycines of the GXXXG motif to leucine did not affect BRI2 homodimerization. Therefore, according to our experiments, the GXXXG motif does not seem to be involved in the homodimerization of BRI2. The molecule of BRI2 also contains an odd number of cysteine residues, which means that there is possibly a free cysteine residue which could mediate the linkage between two BRI2 molecules. In order to examine whether the cysteine residues are involved in the homodimerization of BRI2, cell extracts were analyzed under reducing and non-reducing conditions. We observed monomers, dimers and oligomers of BRI2 under non-reducing conditions (in the absence of β -mercaptoethanol) and BRI2 monomers under reducing conditions. These results indicate that the BRI2 homodimers are held together by disulfide bonds formed between cysteine residues. Finally, we examined whether BRI2 homodimers exist *in vivo*. Analysis of extracts from mouse brains showed the existence of monomers and dimers of the protein. Therefore, the BRI2 protein homodimerizes in cells and also exists as a homodimer *in vivo*. The dimers are held together by intermolecular disulfide bonds, but the GXXXG motif is not involved in the formation of dimers.

- *This research is funded by the Greek Ministry of Education grants "Pythagoras I".*

**Η ΚΥΣΤΕΪΝΗ ΣΤΗΝ ΘΕΣΗ 89 ΚΑΙ ΜΗ ΟΜΟΙΟΠΟΛΙΚΕΣ
ΑΛΛΗΛΕ-ΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΣΥΜΜΕΤΕΧΟΥΝ ΣΤΟΝ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟ
ΟΜΟΔΙΜΕΡΩΝ ΤΗΣ BRI2 ΠΟΥ ΕΚΦΡΑΖΟΝΤΑΙ ΣΤΗΝ
ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑ**

Τσαχάκη Μ., Μελαχροινού Κ., Κυραργόρη Β., Ευθυμιόπουλος Σ.

*Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Πανεπιστήμιο Αθηνών,
15784 - Πανεπιστήμιοπολης, Ιλίσια, Ελλάδα*

Η BRI2 είναι μια τύπου II διαμεμβρανική πρωτεΐνη μεταλλάξεις της οποίας συνδέονται με τις νευροεκφυλιστικές νόσους: οικογενή άνοια βρετανικού και την οικογενή άνοια δανέζικου τύπου. Οι μεταλλαγμένες μορφές της BRI2 πρωτεολύονται από τη φουρίνη και απελευθερώνουν τα πεπτιδία ABη και ADη, αντίστοιχα, τα οποία δημιουργούν αμυλοειδείς πλάκες στους εγκεφάλους των ασθενών. Στην παρούσα εργασία, θελήσαμε, καταρχήν, να εντοπίσουμε το (ή τα) υπεύθυνο κυστεϊνικό κατάλοιπο, που συμμετέχει στη δημιουργία ομοδιμερών BRI2 που παρατηρήθηκαν σε προηγούμενες μελέτες μας. Η BRI2 διαθέτει στην εξοκυτταροπλασματική της περιοχή πέντε κυστεϊνικά κατάλοιπα, εκ των οποίων τα τέσσερα πιστεύεται ότι δημιουργούν ενδομοριακούς δισουλφιδικούς δεσμούς. Για αυτό το λόγο, έγινε αντικατάσταση της κυστεΐνης 89, που θεωρητικά ήταν η μόνη διαθέσιμη σε ολανίνη. Σε αυτή την περίπτωση η ανάλυση με ανοσοστύπωμα εκχυλισμάτων κυττάρων που εξέφραζαν την μεταλλαγμένη BRI2 σε μη αναγωγικές συνθήκες, αποκάλυψε την ύπαρξη μόνο μονομερών της BRI2. Η ανάλυση με ανοσοστύπωμα εκχυλισμάτων κυττάρων που εξέφραζαν την φυσικού τύπου πρωτεΐνη σε μη αναγωγικές συνθήκες έδειξε, όπως αναμενόταν, τόσο ομοδιμερή όσο και μονομερή. Παρόλα αυτά, πειράματα ανοσοκατακρήμισης έδειξαν ότι η μετάλλαξη της κυστεΐνης 89 δεν επηρέαζε τον ομοδιμερισμό της. Τα αποτελέσματα αυτά υποδηλώνουν ότι τα ομοδιμερή συγκρατώνται και μέσω μη ομοιοπολικών αλληλεπιδράσεων. Για να εντοπίσουμε το υποκυτταρικό διαμέρισμα στο οποίο δημιουργούνται τα διμερή, επώασαμε τα κύτταρα με το αντιδραστήριο Brefeldin A, το οποίο προκαλεί αναδιοργάνωση των μεμβρανών του Golgi με το ενδοπλασματικό δίκτυο. Διμερή παρατηρήθηκαν είτε παρουσία είτε απουσία του αντιδραστηρίου, κάτι που υποδηλώνει ότι τα ομοδιμερή δημιουργούνται στο ΕΔ, σύντομα μετά τη δημιουργία της BRI2. Πολλές πρωτεΐνες και ιδιαίτερα διαμεμβρανικοί υποδοχείς εκδηλώνουν την λειτουργία τους μέσω ομοδιμερισμού ή ακόμα και πολυμερισμού τους στην κυτταρική επιφάνεια. Με πειράματα βιοτυνλίωσης, δείχθηκε ότι ομοδιμερή και πολυμερή της BRI2 εμφανίζονται στην κυτταρική επιφάνεια. Από τα παραπάνω συμπεραίνουμε ότι η κυστεΐνη 89 συμμετέχει στον ομοδιμερισμό της BRI2, και ότι τα ομοδιμερή συγκρατώνται επιπλέον, και από μη ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις. Επίσης, τα ομοδιμερή δημιουργούνται στο ΕΔ και εμφανίζονται κατόπιν στην κυτταρική επιφάνεια.

- Αυτή η έρευνα χρηματοδοτήθηκε από το πρόγραμμα του υπουργείου Παιδείας «Πυθαγόρας II».

CYSTEINE AT POSITION 89 AND NON-COVALENT INTER-ACTIONS PARTICIPATE IN THE HOMODIMERIZATION OF BRI2 PROTEIN THAT ARE EXPRESSED IN THE CELL SURFACE

Tsachaki M., Melaxrinou K., Kyrargyri V., Efthimiopoulos S.

Department of Animal and Human Physiology, Faculty of Biology, National & Kapodistrian University of Athens, 157 84 Panepistimiopolis, Ilisia, Athens, Greece.

Mutations in BRI2 protein, a type II transmembrane protein, are genetically linked with two rare autosomal dominant neurodegenerative disorders: Familiar British Dementia (FBD) and Familiar Danish Dementia (FDD). Processing of the mutated forms of BRI2 by the proprotein convertase, furin, results in the secretion of the peptides ABri and ADan, respectively, that accumulate in amyloid deposits in the brains of patients. In this study we wanted to identify the cysteine residue(s) that is in the formation of BRI2 dimers observed in our previous studies. BRI2 contains 5 cysteines in its extracellular domain, the 4 of which are believed to be involved in the formation of intermolecular disulfide bonds. For this reason, we mutated cysteine 89 that theoretically was the only one available to alanine. Western blot analysis of extracts of cells expressing mutated BRI2 under non-reducing conditions revealed only the presence of BRI2 monomers. In contrast, western blot analysis of extracts of cells expressing wild type BRI2 under non-reducing conditions showed, as expected, both homodimers and monomers. However, immunoprecipitation experiments showed that mutation of cysteine 89 to alanine did not affect BRI2 homodimerization. These results indicate that the dimers are held together also via non-covalent interactions. In order to identify the subcellular compartment in which the dimers are formed, cells were treated with Brefeldin A, which rearranges Golgi membranes into the ER. We observed dimers either in the presence or in the absence of this drug, which indicates that homodimers are formed in the ER, soon after BRI2 protein translation. Many proteins and especially the transmembrane receptors exert their function through homodimerization or oligomerization or even polymerization at the cell surface. Biotinylation experiments showed that BRI2 homodimers and oligomers appear at the cell surface. From the above, we conclude that cysteine 89 participates in the homodimerization of BRI2 and homodimers are linked with covalent and non-covalent interactions. Also, the homodimers are created in the ER and appear later at the cell surface.

- *This research is funded by the Greek Ministry of Education grants "Pythagoras II".*

**Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΓΛΥΚΟ-
ΚΟΡΤΙΚΟΕΙΔΩΝ ΣΤΙΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΕΣ ΜΑΘΗΣΗΣ-ΜΝΗΜΗΣ
ΚΑΤΑ ΤΗ ΝΕΟΓΝΙΚΗ ΗΛΙΚΙΑ ΤΟΥ ΕΠΙΜΥ**

Τσιάρλη Μ., Σταματάκης Α., Παναγιωταρόπουλος Θ., Στυλιανοπούλου Φ.

Εργ. Βιολογίας-Βιοχημείας Τμήμα Νοσηλευτικής, Παν/μιο Αθηνών

Ο βασικός ρόλος των εγκεφαλικών υποδοχέων γλυκοκορτικοειδών, GR και MR, στις διαδικασίες μάθησης-μνήμης του ενήλικα έχει αναδειχθεί από πολυάριθμες μελέτες. Για τη διερεύνηση του ρόλου των υποδοχέων αυτών στις διαδικασίες μάθησης-μνήμης κατά την πρώιμη ανάπτυξη του επίμυ, ζώα υποβλήθηκαν κατά τις μεταγεννητικές ημέρες 10-13 σε μια συμπεριφορική δοκιμασία με τη χρήση ενός λαβυρίνθου σχήματος T και τη μητρική επαφή ως ανταμοιβή. Αμέσως μετά την τελευταία δοκιμασία εκπαίδευσης την 13 ημέρα, χορηγήθηκε στα ζώα μέσα την κοιλία του εγκεφάλου είτε επιλεκτικός ανταγωνιστής υποδοχέων GR (mifepristone) είτε επιλεκτικός ανταγωνιστής MR (spironolactone) είτε έκδοχο (ομάδα ελέγχου). Στη συνέχεια, ελέγχθηκε η μεσοπρόθεσμη μνήμη, 2 ώρες μετά το τέλος της τελευταίας δοκιμασίας μάθησης, αφαιρώντας το εξωτερικό ερέθισμα της μητέρας. Η αναστολή των υποδοχέων GR είχε ως αποτέλεσμα να παρουσιάσουν ελλειμματική ανάκληση της μαθημένης πληροφορίας κατά τη δοκιμασία ελέγχου της μεσοπρόθεσμης μνήμης. Τα ζώα αυτά εμφάνισαν αφενός αυξημένο χρόνο παραμονής στο βραχίονα έναρξης ενώ μικρότερο στο βραχίονα στόχο, κι αφετέρου διένυσαν μεγαλύτερη απόσταση στο βραχίονα έναρξης ενώ μικρότερη στο βραχίονα στόχο τόσο σε σχέση με τα ζώα που είχαν λάβει έκδοχο όσο και με αυτά που είχαν λάβει ανταγωνιστή MR. Τα αποτελέσματα μας δείχνουν ότι κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης, οι εγκεφαλικοί υποδοχείς GR είναι απαραίτητοι για την επιτυχή παγίωση και ανάκληση χωρικής πληροφορίας. Ανοσοϊστοχημικός προσδιορισμός των GR 24 ώρες μετά την τελευταία δοκιμασία εκπαίδευσης έδειξε ότι στον ιπόκαμπο, την εγκεφαλική δομή που παίζει ρόλο στην έκδηλη μνήμη, υπήρξε μείωση του αριθμού τους στις περιοχές CA1 και DG, ως αποτέλεσμα της χορήγησης ανταγωνιστή GR, επιβεβαιώνοντας ότι οι πυρηνικές δράσεις των GR είναι απαραίτητες για τη χωρική μνήμη.

**THE ROLE OF BRAIN GLUCOCORTICOID RECEPTORS IN
LEARNING AND MEMORY DURING NEONATAL
DEVELOPMENT OF THE RAT**

Tsiarli M., Stamatakis A., Panagiotaropoulos T., Stylianopoulou F.

Biology-Biochemistry Lab, Faculty of Nursing, Univ. of Athens

The important role of brain glucocorticoid receptors GR and MR, in adult learning and memory is well documented. In order to investigate the role of these receptors in learning and memory during early development of the rat, we subjected rat pups during post-natal days 10-13 to a behavioral test using a T-maze and contact with the mother as a reward. Immediately following the last training trial on post-natal day 13, pups were injected intracerebroventricularly with a selective antagonist of either GR (mifepristone) or MR (spironolactone), or vehicle. Two hours after the injection, pups were subjected to a memory trial in which the stimulus of the mother was removed. Blocking of GRs resulted in impaired recall: Pups injected with mifepristone spent more time and covered a greater distance at the start compartment of the maze and less in the target arm, compared to those injected with vehicle or the MR antagonist. Our results show that, as is the case in the adult, during development brain GRs are necessary for successful consolidation and recall of spatial information. Immunohistochemical determination of GRs 24 hours after the last training trial showed that administration of the GR antagonist resulted in decreased numbers of nuclear GRs in the CA1 and DG areas of the hippocampus, the brain area intimately involved in explicit memory. These findings complement our behavioral data and clearly document that the nuclear actions of GRs are necessary for spatial memory.

**ΔΥΣΔΙΑΣΤΑΤΑ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΑ ΟΙΚΟΛΟΓΙΚΩΝ
ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΚΑΙ Η ΧΡΗΣΗ ΤΟΥΣ ΣΤΟΝ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟ
ΘΑΛΑΣΣΙΩΝ ΠΡΟΣΤΑΤΕΥΟΜΕΝΩΝ ΠΕΡΙΟΧΩΝ**

Τσίκληρας Α. & Στεργίου Κ.Ι.

*Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θ
134, 541 24, Θεσσαλονίκη, Email: atsik@bio.auth.gr*

Οι παραδοσιακές προσεγγίσεις αλιευτικής διαχείρισης είναι ανεπαρκείς για να εξασφαλιστεί η μελλοντική βιωσιμότητα της θαλάσσιας αλιείας. Έτσι, οι επιστήμονες πλέον συγκλίνουν στη διαχείριση σε επίπεδο οικοσυστήματος η οποία σχετίζεται με τις θαλάσσιες προστατευόμενες περιοχές. Πράγματι, ο αριθμός των δημοσιευμένων εργασιών για τις θαλάσσιες προστατευόμενες περιοχές και τη διαχείριση του οικοσυστήματος, αυξήθηκε εκθετικά από το 1990. Ο σχεδιασμός των προστατευόμενων περιοχών (αριθμός, μέγεθος, περιοχή, σχήμα, κόστος, δυνητικά οφέλη) προϋποθέτει καλή γνώση των χαρακτηριστικών των οργανισμών, του ενδιαίτημά τους και της δομής και λειτουργίας του οικοσυστήματος. Παρόλο που τα οικολογικά χαρακτηριστικά των ψαριών (και των θαλάσσιων οργανισμών στο σύνολό τους) παρουσιάζουν πολυσύνθετα πρότυπα, μπορούν ωστόσο να απεικονιστούν με σχετικά απλά δυσδιάστατα διαγράμματα σε σχέση με το βάθος, την απόσταση από την ακτή ή σε σχέση με ωκεανογραφικές δομές (Zeller D & Pauly P, 2001, *Fish and Fisheries*, 2: 344-355). Στην εργασία αυτή παρουσιάζεται η χρησιμότητα της δυσδιάστατης απεικόνισης χρησιμοποιώντας τη φρίσσα (*Sardinella aurita*) στο βόρειο Αιγαίο ως παράδειγμα. Η απεικόνιση των οικολογικών χαρακτηριστικών των ψαριών έχει ως κυριότερο στόχο να αναδείξει, μέσα από τη στρατηγική των ψαριών, τη σύνδεση μεταξύ της παράκτιας ζώνης και της ανοιχτής θάλασσας. Έτσι, αποτελεί τη βάση για την αλιευτική διαχείριση σε επίπεδο οικοσυστήματος. Τέλος, τα δυσδιάστατα διαγράμματα αποτελούν έναν τρόπο κατανόησης των γενικών πρότυπων συμπεριφοράς των οργανισμών σε σχέση με τον κύκλο ζωής και το ενδιαίτημα τους που είναι εύκολα αντιληπτός στο ευρύ κοινό και στους εμπλεκόμενους στη διαχείριση (π.χ. αρχές, ψαράδες).

LIFE HISTORY VISUALIZATION PLOTS AND THEIR USE IN THE DESIGN OF MARINE PROTECTED AREAS

Tsikliras A.C., and Stergiou K.I.

*Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, UP
Box 134, 541 24, Thessaloniki, Email: atsik@bio.auth.gr*

The traditional fisheries management schemes have failed to prevent stock overexploitation and to ensure future sustainability of marine fisheries. Today, fisheries scientists are focused on the ecosystem-based management through the use of marine protected areas. Indeed, the number of published articles on marine protected areas and ecosystem-based management increased exponentially since 1990. A prerequisite in marine protected area design (number, size, area, shape, cost, potential benefits) is the knowledge of the ecological characteristics and behaviour of the marine organisms and their habitat as well as of the ecosystem structure and functioning. Although the ecological characteristics of fishes (and of the marine organisms in general) are complex, they can be expressed using relatively simple two-dimensional plots (visualization plots) with depth and distance from shore or even in relation to oceanographic structures (Zeller D & Pauly P, 2001, *Fish and Fisheries*, 2: 344-355). In this work, we present the utility of visualization plots with round sardinella (*Sardinella aurita*) in northern Aegean Sea as a case study. Visualization plots use the life history strategy of the stocks in order to reveal the coastal zone-open sea coupling which forms the foundation for the ecosystem based fisheries management. Finally, visualization plots are the means to easily get the ecological characteristics of marine organisms and their interrelationship with habitat and life cycle across to the public and those involved with fisheries management (e.g. authorities, fishers).

ΤΟ ΠΡΟΒΛΗΜΑ ΕΠΙΛΟΓΗΣ ΒΙΟΚΤΟΝΟΥ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΟΣΩΡΙΝΗ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΕΝΥΔΡΟΥ ΑΡΧΑΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΞΥΛΟΥ

Τσιπρόφτης Α.¹, Πούρνου Α.²

¹ *ΑΒ' Εφορεία Προϊστορικών και Κλασικών Αρχαιοτήτων, Κύπρου 68, Τ.Κ. 46100,
Ηγουμενίτσα, τηλ. 2665029177*

² *Τμήμα Συντήρησης Αρχαιοτήτων και Έργων Τέχνης, Τ.Ε.Ι. Αθήνας, Αγ.
Σπυρίδωνος 122210, Αιγάλεω, Αθήνα.*

Η προσωρινή αποθήκευση είναι ένα από τα πρώτα ζητήματα που πρέπει να αντιμετωπιστούν κατά τη συντήρηση του ένυδρου αρχαιολογικού ξύλου. Από τη στιγμή που το ξύλο απομακρύνεται από το ταφικό του περιβάλλον, και μέχρι να ξεκινήσει η συντήρησή του, πρέπει να ληφθούν άμεσα μέτρα, ώστε το υλικό να διατηρηθεί στην καλύτερη δυνατή κατάσταση. Το ένυδρο αρχαιολογικό ξύλο μετά την αποκάλυψη του απειλείται αφενός από την απώλεια της περιεχόμενης υγρασίας του, και αφετέρου από την αποικοδομητική δράση διαφόρων μικροοργανισμών. Μία μέθοδος προσωρινής αποθήκευσης, πρέπει να εξασφαλίζει την προστασία του ξύλου και από τους δύο αυτούς παράγοντες.

Η παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε ώστε να προσδιοριστεί μία λύση κατάλληλη για την περίπτωση της ένυδρης ξυλείας που ανακαλύφθηκε κατά την ανασκαφή στο Νεολιθικό λιμναίο οικισμό στην περιοχή Δισπηλιού του νομού Καστοριάς. Σαν πρακτικότερη μέθοδος αποθήκευσης κρίθηκε ο ψεκασμός των αντικειμένων με κάποιο βιοκτόνο διάλυμα και στη συνέχεια η περιτύλιξή τους σε πλαστική μεμβράνη. Ωστόσο, η επιλογή του κατάλληλου βιοκτόνου είναι σημαντικός παράγοντας για την αποτελεσματικότητα της μεθόδου και αποτέλεσε τον κύριο στόχο αυτής της εργασίας. Επειδή η δράση των ξυλοσηπτικών μυκήτων θεωρείται πιο ραγδαία από αυτή των αντίστοιχων βακτηρίων, η εργασία επικεντρώθηκε στην αντιμετώπιση της μυκητιακής αλλοίωσης που απειλεί το ένυδρο ξύλο κατά την αποθήκευσή του.

Στην πειραματική διαδικασία χρησιμοποιήθηκαν δοκίμια ένυδρου προϊστορικού ξύλου από το Δισπηλιό και εξετάστηκε συγκριτικά η βιοστατική ικανότητα πέντε βιοκτόνων διαλυμάτων σε διάφορες συγκεντρώσεις. Οι βιοκτόνες ουσίες που δοκιμάστηκαν είναι: το σορβικό κάλιο, το βενζοϊκό νάτριο, το μείγμα βορικού οξέος και βόρακα (σε αναλογία 7:3), ένα μείγμα ισοθειαζολονών (Preventol D6), και η ορθοφαινυλική φαινόλη.

Τα πρώτα αποτελέσματα, για περίοδο τεσσάρων εβδομάδων, έδειξαν ότι ο ψεκασμός των δοκιμίων με διάλυμα ορθοφαινυλικής φαινόλης σε συγκέντρωση 0,125% κ.ό. ανέστειλε αποτελεσματικά την ανάπτυξη μυκήτων.

Περαιτέρω έρευνα απαιτείται για να μελετηθεί η δράση της ορθοφαινυλικής φαινόλης σε παθογόνα για το ξύλο είδη μυκήτων, και η συμβατότητα της με υλικά και μεθόδους συντήρησης.

THE PROBLEM OF CHOOSING A BIOCIDES FOR THE PASSIVE STORAGE OF WATERLOGGED ARCHAEOLOGICAL WOOD

Tsiproftis A.¹, Pournou A.²

¹32nd Ephorate of Prehistoric and Classic Antiquities, Kyprou 68, 46100, Igoumenitsa, Greece.

² Department of Conservation of Antiquities and Works of Art, Technological Educational Institute of Athens, Ag. Spyridonos, Aigaleo, 12210, Athens, Greece.

Passive storage is one of the first issues needed to be regarded in the conservation of archaeological waterlogged wood. As soon as the wood is been removed from its burial environment, and until the conservation treatment begins, immediate actions are necessary in order to preserve it at the best possible condition. Waterlogged archaeological wood after exposure is threatened by the loss of its moisture content, and by the decomposing activity of several microorganisms. These are the two main factors that an adequate storage method should address in order to protect waterlogged wood. This project was implemented in order to define an appropriate solution for the case of the waterlogged archaeological wood that was found during the excavations of the Neolithic lakeside settlement at Dispilio, Kastoria. Spraying the wood with a biocide solution, and wrapping it with a plastic membrane was considered as the most functional storage method, for this case. However, the choice of the appropriate biocide determines the efficacy of the method, and thus it was the central aim of this project. Furthermore as fungal attack is considered to be more rapid compared to bacterial attack this project was focused on the prevention of fungal degradation that threatens waterlogged wood in storage. The experimental procedure involved prehistoric waterlogged wood samples from the Dispilio site and five biocides in several concentrations each, in order to examine comparatively their biostatic ability. The biocides tested were: potassium sorbate, sodium benzoate, boric acid and borax mixture (in a 7:3 proportion), a mixture of isothiazolones (Preventol D6), and orthophenyl phenol. The first results, after a four-week period, showed that spraying the samples with a solution of orthophenyl phenol in a concentration of 0,125% v/v had effectively inhibited the fungal growth. Further research is needed in order to determine the activity of orthophenyl phenol against wood-degrading fungi, as well as its compatibility with conservation materials and methods.

**ΚΑΘΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΝΩΤΕΡΩΝ ΘΕΡΜΙΚΩΝ ΟΡΙΩΝ
ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ HSP ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ
ΤΟΥ *SPARUS AURATA* (ΤΣΙΠΟΥΡΑ)**

Φειδάντσης Κ., Λάζου Α. & Μιχαηλίδης Β.

*Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή
Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη,
GR-54006, Ελλάδα*

Η θερμοκρασία είναι ο σημαντικότερος αβιοτικός παράγοντας που αντιμετωπίζουν οι εξώθερμοι οργανισμοί καθώς επιδρά σε πολλές βιολογικές διεργασίες. Στα πλαίσια της υπερθέρμασης των ωκεανών λόγω της αύξησης της μέσης παγκόσμιας θερμοκρασίας του Πλανήτη μας, καθίσταται αναγκαίος ο προσδιορισμός των θερμικών ορίων των ψαριών τόσο σε κυτταρικό επίπεδο όσο και σε επίπεδο οργανισμού. Σε κυτταρικό επίπεδο η έκφραση των Hsp παίζει ένα «κρυοπροστατευτικό ρόλο» και προσδιορίζει τα ανώτερα θερμικά όρια ανοχής των κυττάρων. Σκοπός της συγκεκριμένης εργασίας είναι ο προσδιορισμός των επιπέδων έκφρασης των Hsp σε ιστούς (καρδιά, λευκός μυς, ερυθρός μυς και ήπαρ) του *Sparus aurata* μετά από εγκλιματισμό των ψαριών σε διάφορες θερμοκρασίες. Ψάρια εγκλιματίστηκαν σε δεξαμενές με θερμοκρασία 18°C, 22 °C, 24°C, 26°C και 28°C για 10 ημέρες. Την 1^η, 5^η και 10^η ημέρα άτομα απομακρύνονταν από τις δεξαμενές, γινόταν λήψη των ιστών, και στη συνέχεια προσδιορισμός των Hsp με ανοσοσύτωση. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, φαίνεται ότι θερμοκρασίες υψηλότερες των 22°C προκαλούν αντιδράσεις στρες στους ιστούς των ψαριών. Το συμπέρασμα αυτό συνάγεται από το γεγονός ότι σε όλους του ιστούς που εξετάστηκαν η έκφραση των Hsp70 και 90 αυξήθηκε κατά τον εγκλιματισμό των ψαριών σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες των 22°C. Σε θερμοκρασίες πάνω των 24°C, τα επίπεδα των Hsp παρέμεναν υψηλότερα από αυτά των μαρτύρων. Επίσης σημαντική θνησιμότητα των ατόμων παρατηρήθηκε κατά τον εγκλιματισμό τους σε θερμοκρασία 28°C. Λαμβάνοντας υπόψη τις διακυμάνσεις της θερμοκρασίας της θάλασσας στον Ελλαδικό χώρο (9°C-26°C) μπορούμε να συμπεράνουμε ότι περαιτέρω αύξηση της θερμοκρασίας της θάλασσας μπορεί να έχει σημαντικές επιπτώσεις στην φυσιολογία των ψαριών.

**DETERMINATION OF THE UPPER THERMAL LIMITS
INDUCING EXPRESSION OF HSPTS IN THE TISSUES OF *SPARUS
AURATA* (GILT HEAD SEA BREAM)**

Feidantsis K., Lazou A., & Michaelidis B.

*Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, Faculty of Biology,
School of Exact Science, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki,
GR-54006*

Temperature is the most important abiotic stress factor that the ectothermic organisms face. It affects the biological processes at all organization levels, from the whole organism, to tissue, cell and molecular processes. The determination of the fishes' thermal limits from cellular to organism level is necessary due to the oceans' warming, related to the increase of the mean temperature. At the cellular level, the expression of Hsps plays a "cryoprotective role" and may determine the upper thermal limits of cell tolerance. The aim of this work is to determine the expression of Hsps in four tissues (heart, white muscle, red muscle and liver) of *Sparus aurata* at different acclimation temperatures.

Adult fish were separated in four groups and maintained in tanks at 18°C, 22°C, 24°C, 26°C and 28°C respectively for 10 days. On the 1st, 5th and 10th day, fish were drawn out, tissues were dissected and the expression levels of Hsps were determined by immunoblotting.

According to the obtained results, it seems that temperatures over 22°C cause a stressful response in fish tissues. The latter conclusion is supported by the fact that the expression of Hsp70 and 90 was increased during acclimation of fish to temperatures higher than 22°C. At temperatures exceeding 24°C, the levels of Hsps remained higher compared with the controls. Significant increase in fish mortality was observed during acclimation to 28°C. Taking into consideration the annual fluctuations of the sea temperature in Hellenic Seas (9°C -26°C), we can conclude that further increase in the temperature of the sea will impact on several physiological processes in fishes.

DNA BARCODES ΣΤΗ ΔΙΑΚΡΙΣΗ ΤΩΝ ΜΕΛΩΝ ΤΗΣ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ LABIATAE

Φραντζέζος Γ., Βλαχονάσιος Κ.Ε. και Καρούσου Ρ.

*Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης,
54124 Θεσσαλονίκη*

Το DNA barcoding είναι μία τεχνική, η οποία χρησιμοποιείται για τη διάκριση ειδών οργανισμών με τη χρήση μικρών αλληλουχιών DNA από μία συγκεκριμένη και προσυμφωνημένη θέση στο γένωμα. Το barcoding επιτρέπει στους βοτανικούς να αναγνωρίσουν φυτικά είδη και παρέχει εκτενή αντίληψη του προτύπου της γενετικής διαφοροποίησης στο βασίλειο των φυτών. Η παρούσα έρευνα εξετάζει την αποτελεσματικότητα της μεθόδου στη διάκριση στενά συγγενικών ειδών. Για το λόγο αυτό, συλλέχθηκε φυτικό υλικό από 7 είδη – όλα μέλη της οικογένειας των Labiatae – από τρεις διαφορετικές τοποθεσίες του Όρους Πηλίου (ΚΑ Ελλάδα). Τα είδη που συλλέχθηκαν ανήκουν σε διαφορετικές υποοικογένειες, tribus, γένη και sectiones. Απομονώθηκε DNA από τα αποξηραμένα τους δείγματα, τα οποία είναι κατατεθειμένα στο ΤΑΥ. Η μη κωδική πλαστιδιακή περιοχή trnH-psbA και η εσωτερικά μεταγραφόμενη περιοχή (ITS) του ριβοσωμικού DNA, χρησιμοποιήθηκαν όπως περιγράφηκε από τους Kress *et al.* (2005). Τα αρχικά αποτελέσματα δείχνουν ότι η χρήση των δυο περιοχών διακρίνει τα είδη στο επίπεδο της υποοικογένειας.

Αναφορά:

Kress WJ., Wurdack KJ., Zimmer EA., Weigt LA., and Janzen DH. (2005). Use of DNA barcodes to identify flowering plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 102:8369-74.

DNA BARCODES IN DISTINGUISHING MEMBERS OF THE LABIATAE FAMILY

Frantzezos G., Vlachonasios K.E., and Karousou R.

*School of Biology, Department of Botany, Aristotle University of Thessaloniki,
54124 Thessaloniki*

DNA barcoding is a technique used for distinguishing species of organisms using a short DNA sequence from standard and agreed-upon position in the genome. The barcoding allows botanists to do groundbreaking identification of species and provides a comprehensive understanding of the patterning of genetic diversity in the plant kingdom. The present study aims to examine the effectiveness of the method in distinguishing closely related species. Thus, plant material of 7 species, all members of the Labiatae family, was collected from three different localities of Mt. Pelion (EC Greece). The taxa collected belong to different subfamilies, tribes, genera and sections. DNA was isolated from their dried specimens deposited in TAU. The non-coding plastid region trnH-psbA and the internal transcribed spacer (ITS) of ribosomal DNA were used as described by Kress *et al.* (2005). Preliminary results show that the two pairs of primers could distinguish species at the subfamilial level.

Reference:

Kress WJ., Wurdack KJ., Zimmer EA., Weigt LA., and Janzen DH. (2005). Use of DNA barcodes to identify flowering plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 102:8369-74.

**ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΤΟΥ ¹³C ΙΣΟΤΟΠΟΥ ΥΠΟ-
ΔΕΙΚΝΟΥΝ ΕΝΙΣΧΥΣΗ ΤΟΥ ΙΣΟΖΥΓΙΟΥ ΑΝΘΡΑΚΑ ΤΟΥ
ΨΥΧΑΝΘΟΥΣ *LOTUS JAPONICUS* ΜΕΣΩ ΣΥΜΒΙΩΣΗΣ ΜΕ ΤΟ
ΑΖΩΤΟΔΕΣΜΕΥΤΙΚΟ ΒΑΚΤΗΡΙΟ *MESORHIZOBIUM LOTI***

Φωτέλλη Μ.Ν., Κατινάκης Π. και Εμ. Φλεμετάκης

*Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιερά Οδός
75, 11855 Αθήνα.*

Η πιθανή συνεισφορά συμβιωτικών αζωτοδεσμευτικών βακτηρίων στο ισοζύγιο άνθρακα μολυσμένων με αυτά ψυχανθών έχει ελάχιστα μελετηθεί έως σήμερα. Στην παρούσα έρευνα εξετάστηκαν οι διαφορές στη φυσική ισοτοπική σύσταση άνθρακα μεταξύ φυτών *Lotus japonicus* μολυσμένων ή μη με το βακτήριο *Mesorhizobium loti*. Ακόμη, πραγματοποιήθηκε σήμανση του ριζικού συστήματος των φυτών, κατόπιν απομόνωσης από το υπέργειο τμήμα τους, με ανθρακικά ιόντα φέροντα το ¹³C ισότοπο, ώστε να συγκριθεί η πιθανή πρόσληψη ¹³CO₂ μεταξύ φυτών μολυσμένων ή μη, τα οποία κατ' αντιστοιχία φέρουν ή μη φυμάτια. Οι πειραματικές αυτές προσεγγίσεις αποτελούν μια πρώτη προσπάθεια προσδιορισμού της συνεισφοράς άνθρακα προερχόμενου απευθείας από φυμάτια μολυσμένων ριζών στο ισοζύγιο άνθρακα του *L. japonicus*. Στα φυμάτια, η δέσμευση CO₂ ελλείπει φωτός γίνεται μέσω του ενζύμου PEPC, που χαρακτηρίζεται από μικρή διάκριση κατά του ισότοπου ¹³C. Συνεπώς, λόγω της ύπαρξης φυματίων τα μολυσμένα φυτά, σε σύγκριση με τα μη μολυσμένα, εμφάνισαν ιστούς περισσότερο εμπλουτισμένους σε ¹³C. Ακόμη, η σήμανση με ¹³C μέσω του ριζικού συστήματος των φυτών έδειξε σημαντική πρόσληψη ανθρακικών ιόντων από τα φυμάτια των μολυσμένων φυτών και μεταφορά στα υπέργεια τμήματά τους. Συνεπώς, παρατηρήθηκε υψηλή ενσωμάτωση άνθρακα προερχόμενου από τα φυμάτια στη βιομάζα των μολυσμένων φυτών. Αντιθέτως, η ανταπόκριση των μη μολυσμένων φυτών στη σήμανση με ¹³C ήταν μικρότερη. Με τη μελέτη αυτή παρουσιάζονται ορισμένες πρώτες πειραματικές ενδείξεις αξιοσημείωτης συνεισφοράς αζωτοδεσμευτικών συμβιωτικών βακτηρίων στο ισοζύγιο άνθρακα του φυτού. Επόμενος ερευνητικός στόχος είναι ο προσδιορισμός των συγκεκριμένων μεταβολιτών που συμμετέχουν στη μεταφορά άνθρακα από τα φυμάτια προς τα μη συμβιωτικά όργανα του φυτού.

- Το έργο πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια του προγράμματος Πυθαγόρας συγχρηματοδοτούμενου από το Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο (ΕΚΤ) κατά 75% και από Εθνικούς Πόρους κατά 25%.

**SYMBIOSIS WITH THE N-FIXING *MESORHIZOBIUM LOTI*
ENHANCES THE CARBON BUDGET OF *LOTUS JAPONICUS* AS
INDICATED BY ¹³C TRACING APPROACHES**

Fotelli M.N., Katinakis P., and Em. Flemetakis

*Department of Agricultural Biotechnology, Agricultural University of Athens, Iera
Odos 75, 11855 Athens, Greece.*

The contribution of symbiotic nitrogen fixing bacteria to the carbon balance of nodulated legumes may be decisive for their carbon balance. However, this topic has received little attention up to date. Within the present study, we tested the differences in the natural carbon isotopic signature between *L. japonicus* plants inoculated or not by *Mesorhizobium loti*. Moreover, a ¹³C-pulse labelling experiment was conducted by providing ¹³C-labelled carbonate to the root system of the plants, after safely excluding any contamination of the upper plant, in order to compare the uptake of ¹³CO₂ between inoculated and non-inoculated plants, characterized by the presence or not of nodules, respectively. By means of these ¹³C-tracing approaches a first attempt was made to identify the contribution of carbon originating directly from nodulated roots to the carbon economy of *L. japonicus*. In nodules, dark CO₂ fixation is enabled by PEPC, characterised by low discrimination against ¹³C. Therefore, the development of nodules in inoculated plants resulted in the higher enrichment of their tissues in ¹³C, compared to the non-inoculated plants. Moreover, ¹³C-labelling through the root system of the plants revealed that a substantial amount of carbonate was taken up by the nodules of inoculated plants and transferred to hypergeous plant parts. This resulted in a high incorporation of carbon originating from nodulated roots into total plant biomass of the inoculated plants. On the contrary, the respective response of non-inoculated plants to ¹³C-labeling was considerably weaker. Some first experimental evidence is provided about the appreciable contribution of N-fixing symbiotic bacteria to the carbon budget of the plant. Future studies will target at identifying the specific metabolites involved in carbon transport from the nodules to non-symbiotic plant organs.

- *This work was been conducted within the Pythagoras-II project co-funded by the European Social Funds (75%) and by National Resources (25%).*

**Ο ΕΠΑΝΑΛΑΜΒΑΝΟΜΕΝΟΣ ΠΕΝΤΑΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΚΟΣ
ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΣ (ΤΑΑΑΑ)n ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΗΣ
ΦΥΛΟΔΕΣΜΕΥΤΙΚΗΣ ΣΦΑΙΡΙΝΗΣ (SHBG) ΚΑΙ ΤΑ ΕΠΙΠΕΔΑ
ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ ΣΤΟΝ ΟΡΡΟ ΚΑΙ ΤΟ ΩΘΟΥΛΑΚΙΚΟ ΥΓΡΟ ΣΕ
ΓΥΝΑΙΚΕΣ ΣΤΙΣ ΟΠΟΙΕΣ ΕΧΕΙ ΓΙΝΕΙ ΠΡΟΚΛΗΣΗ
ΩΘΟΥΛΑΚΙΟΡΡΗΞΙΑΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗ
ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ (IVF).**

**Χατζή Ε.², Σακάλογλου Π.¹, Λάζαρος Α.², Γαλίδη Α.¹, Καπόνης Α.²,
Ζικόπουλος Κ.², Ξήτα Ν.³, Μπούμπα Ι.¹, Γεωργίου Ι.^{1,2}.**

¹Εργαστήριο Γενετικής της Ανθρώπινης Αναπαραγωγής, ²Μονάδα Γενετικής &
Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής, ³Ενδοκρινολογική Κλινική, Ιατρική σχολή,
Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα 45110

Προσφάτως, ταυτοποιήθηκε ένας πεντανουκλεοτιδικός πολυμορφισμός (ΤΑΑΑΑ)n με 6-11 επαναλήψεις στο 5' άκρο της περιοχής του υποκινητή του γονιδίου της φυλοδεσμευτικής σφαιρίνης SHBG, μιας ομοδιμερούς γλυκοπρωτεΐνης, που δεσμεύει με υψηλή εκλεκτικότητα ανδρογόνα αλλά και οιστρογόνα. Πρόκειται για έναν λειτουργικό πολυμορφισμό, που αποδείχτηκε ότι ρυθμίζει την έκφραση του γονιδίου της πρωτεΐνης. Σκοπός της μελέτης είναι η διερεύνηση της πιθανής συσχέτισης του πολυμορφισμού (ΤΑΑΑΑ)n του γονιδίου της SHBG με τα επίπεδα της SHBG στο πλάσμα και το ωοθυλακικό υγρό μετά από πρόκληση ωοθυλακιορρηξίας. Το γενωμικό DNA εξήχθη από περιφερικά λευκοκύτταρα, ακολούθησε εκλεκτική ενίσχυση του με τη μέθοδο της PCR. Τα ενισχυμένα προϊόντα διαχωρίστηκαν με ηλεκτροφόρηση σε πηκτική πολυακρυλαμίδιου 10% κι ακολούθησε χρώση με νιτρικό άργυρο. Η συγκέντρωση της SHBG στο πλάσμα και στο ωοθυλακικό υγρό προσδιορίστηκε με την μέθοδο της ELISA. Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στα επίπεδα της SHBG στον ορρό, στον αριθμό των ωαρίων, που συλλέχθηκαν και στον αριθμό των ώριμων ωοκυττάρων ανάμεσα στις γυναίκες με μικρό και μεγάλο αριθμό επαναλήψεων του πολυμορφισμού (ΤΑΑΑΑ)n. Αντίθετα, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στα επίπεδα της SHBG στο ωοθυλακικό υγρό και τους γονότυπους του (ΤΑΑΑΑ)n ($P < 0.005$). Από τα αποτελέσματα προκύπτει ότι η SHBG που εκφράζεται στα ωοθυλάκια σχετίζεται με τον αριθμό των επαναλήψεων του πολυμορφισμού (ΤΑΑΑΑ)n στον υποκινητή του γονιδίου της. Ως αποτέλεσμα, τα επίπεδα της SHBG στο ωοθυλακικό υγρό σχετίζονται με το γονότυπο του (ΤΑΑΑΑ)n και πιθανόν να επηρεάζουν την ανάπτυξη των ωοθυλακίων.

**SEX HORMONE-BINDING GENE (TAAAA)_n POLYMORPHISM
AND PROTEIN LEVEL IN SERUM AND FOLLICULAR FLUID
IN WOMEN UNDERGOING CONTROLLED OVARIAN
STIMULATION FOR IVF**

***Hatzi E.², Sakaloglou P.¹, Lazaros L.², Galidi A.¹, Kaponis A.²,
Zikopoulos K.², Xita N.³, Bouba I.¹, Georgiou I.^{1,2}***

*¹Laboratory of Genetics and Human Reproduction,² Department of Genetics and
Assisted Reproduction Unit,³ Division of Endocrinology, Medical School,
University of Ioannina, Ioannina 45110*

Recently, a (TAAAA)_n pentanucleotide repeat polymorphism at the 5' boundary of the human SHBG gene promoter containing 6-11 repeats has been described. Sex Hormone-Binding Globulin (SHBG) is a plasma homodimeric glycoprotein that binds androgens and estrogens with high affinity and regulates the biological activities of male and female sex steroids. The (TAAAA)_n has been reported to influence its transcriptional activity in vitro. The aim of this study was to investigate the possible association of the (TAAAA)_n polymorphism of the SHBG gene with the SHBG levels in plasma and in follicular fluids during ovulation induction for IVF. Genomic DNA was isolated from peripheral blood leukocytes with conventional method. Amplification of the TAAAA repeat region within the Alu sequence in the SHBG promoter was accomplished using PCR. Amplified products were separated on 10% PAGE followed by silver staining, and the number of individual alleles was determined. The serum and the follicular fluid SHBG levels were determined using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). No significant differences in serum SHBG level, number of oocytes retrieved and number of mature oocytes were observed between women with short and long repeats. There was a statistically significant correlation between follicular fluid SHBG levels and (TAAAA)_n genotypes (P<0.005). Our results demonstrate that follicular fluid SHBG is associated with the (TAAAA)_n polymorphic sequence and genotypes with short or long repeats. As a consequence intra follicular SHBG levels are associated with (TAAAA)_n genotypes and may have an effect on the course of follicular development.

ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΕΣ ΚΑΙ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΒΙΟΓΕΝΕΣΗ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΩΝ *microRNA*

*Χατζηγεωργίου Α.**

*Department of Genetics and Department of Computer & Information Science,
University of Pennsylvania, U.S.A.*

Τα *microRNAs* (*miRNAs*) είναι μη κωδικά RNA, περίπου 22 νουκλεοτιδίων, τα οποία ρυθμίζουν την έκφραση γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες μέσω της καταστολής της μετάφρασης ή/και της αποικοδόμησης του mRNA. Είναι γνωστό ότι ρυθμίζουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και τον κυτταρικό θάνατο ενώ έχει βρεθεί ότι η έκφραση συγκεκριμένων συνδυασμών *miRNA* μπορεί να αποτελέσει παράγοντα διάκρισης υποτύπων καρκίνου ή πρόβλεψης της βιολογικής και κλινικής συμπεριφοράς ενός συγκεκριμένου υποτύπου. Ετσι, η κατανόηση της λειτουργίας των *miRNA* μπορεί να οδηγήσει σε νέες θεραπευτικές στρατηγικές για την αντιμετώπιση του καρκίνου.

Τα τελευταία χρόνια, ο συνδυασμός υπολογιστικών και πειραματικών προσεγγίσεων έχει παίξει σημαντικό ρόλο στην αναγνώριση νέων *microRNAs* καθώς και στην ανάλυση των λειτουργιών τους. Εχουμε αναπτύξει αρκετά εργαλεία για την ανάλυση της οργάνωσης του γενόματος και την λειτουργία των *microRNAs* (*DIANA-microT*, *TarBase*, and *miRGen*) καθώς και ένα «ανιχνευτή» γονιδίων *microRNA*. Πρόσφατα, επεκτείναμε την έρευνα στα επεξεργασμένα (*edited*) *miRNAs* στο εγκέφαλο. Επίσης, διερευνούμε τον ρόλο των SNPs που υπάρχουν στα γονίδια-στόχους των *miRNA*.

* Προσκεκλημένη ομιλήτρια

**COMPUTATIONAL AND EXPERIMENTAL APPROACHES FOR
microRNA BIOGENESIS AND FUNCTION**

*Hatzigeorgiou A.**

*Department of Genetics and Department of Computer & Information Science,
University of Pennsylvania, U.S.A.*

MicroRNAs (miRNAs) are ~22 nucleotide non-coding RNA, which regulate expression of protein-coding genes through translation repression and/or degradation of mRNA. They are known to regulate cell proliferation and death and it has been found that miRNA expression signatures can distinguish cancer subtypes or predict biological and clinical behaviour within the same cancer type. The understanding of miRNA function is likely to lead to novel therapeutically treatment of cancer.

Combined computational/experimental approaches have played a significant role during recent years in the identification of novel microRNAs (miRNAs), as well as in the analysis of their function. We have developed several tools for analyzing the genomic organization and function of miRNAs (DIANA-microT, TarBase, and miRGen) and a microRNA gene finder. Recently we have supported research on edited miRNAs in brain and investigated the role of SNPs within miRNA targets.

** Invited speaker*

**ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΚΑΙ ΕΝΤΟΠΙΣΜΟΣ ΑΛΛΕΡΓΙΟΓΟΝΩΝ
ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΣΕ ΚΑΡΠΟΥΣ ΜΕ ΑΝΟΣΟ-ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΟ
ΑΠΟΤΥΠΩΜΑ (IMMUNO-TISSUE PRINTING -ITP) ΚΑΙ
ΑΝΑΛΥΣΗ ΚΑΤΑ WESTERN.**

Χατζησάββα Κ.¹, Marzban G.², Βλαχονάσιος Κ.¹ και Laimer M.²

¹Εργαστήριο Βοτανικής, Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη, Ελλάδα και ²Plant Biotechnology Unit, IAM, Department of Biotechnology, BOKU, Vienna, Austria

Η σημασία των καρπών στην ανθρώπινη διατροφή είναι αδιαμφισβήτητη. Κατά συνέπεια, οι καρποί που περιέχουν αλλεργιογόνες πρωτεΐνες αποτελούν ένα πολύ σημαντικό και ενδιαφέρον πεδίο έρευνας. Σύμφωνα με τους κανόνες του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας τέσσερα κύρια αλλεργιογόνα έχουν απομονωθεί από τον καρπό του μήλου, όπως το Mal d 1, το Mal d 2, το Mal d 3 και το Mal d 4 (1). Το μήλο έχει επιλεχθεί και χρησιμοποιείται ως πρότυπο, λόγω της έκφρασης δύο ειδών αλλεργιογόνων πρωτεϊνών: α) τα αλλεργιογόνα που σχετίζονται με τη γύρη, όπως το Mal d 1, το Mal d 4 και το Mal d 2 και β) τα πραγματικά αλλεργιογόνα των τροφών, όπως το Mal d 3 (2). Η ικανότητα των πολυκλωνικών αντισωμάτων να αντιδρούν διασταυρούμενα με παρόμοια αλλεργιογόνα όπως έχει βρεθεί στο μήλο, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση και τον εντοπισμό αλλεργιογόνων πρωτεϊνών στους καρπούς (3). Για την ανίχνευση και τον εντοπισμό ομόλογων αλλεργιογόνων των Mal d 1, Mal d 2, Mal d 3 και Mal d 4 στους ιστούς δεκαέξι διαφορετικών καρπών πραγματοποιήθηκαν ανοσο-ιστολογικά αποτυπώματα (ITP) και ανάλυση κατά Western. Συγκρίνοντας τα αποτελέσματα των ITPs και της ανάλυσης κατά Western μπορούμε να αντλήσουμε πιο ακριβείς πληροφορίες για την παρουσία ή απουσία αλλεργιογόνων. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι οι καρποί που προέρχονται από συγγενή είδη της οικογένειας *Rosaceae*, όπως βερίκοκο, ροδάκινο, δαμάσκηνο και φράουλα αντιδρούν παρόμοια στα αντισώματα για τα ίδια αντιγόνα. Επιπλέον παρόμοιες πρωτεΐνες μπορούν να εντοπιστούν σε μη συγγενικά είδη, γεγονός το οποίο επαληθεύει την καθολικότητα των αλλεργιογόνων πρωτεϊνών στα φυτά.

**DETECTION AND LOCALIZATION OF MAJOR FRUIT
ALLERGENS WITH IMMUNO-TISSUE PRINTING (ITP) AND
WESTERN BLOTTING**

Chatzisavva K.¹, Marzban G.², Laimer M.², and Vlachonasios K.¹

¹*Laboratory of Botany, Department of Botany, School of Biology, Faculty of Sciences, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki, Greece and*
²*Plant Biotechnology Unit, Department of Biotechnology, BOKU, Vienna Austria*

The importance of the fruits in human diet is unquestionable, so that fruits containing allergenic proteins present a very important and interesting field of research. So far, four main apple allergens have been reported named according to the rules of the World Health Organization. These are Mal d 1, Mal d 2, Mal d 3 and Mal d 4. Apple is chosen as a model, due to expression of two kinds of allergen molecules: first, pollen-related allergens like Mal d 1, Mal d 4 and Mal d 2 and second, real food allergen like Mal d 3. The ability of polyclonal antibodies to cross-react with allergens found in apple, could be used to detect and localize fruit allergens in other fruits. Immuno-tissue prints (ITPs) assays and Western blots were developed in 16 different fruits in order to localize and detect major allergens in the fruit tissues. By comparing the results from the ITPs and Western blots we can derive more precise information on the presence/absence of allergens. The results showed, that the most related fruits and particularly fruits belonging to close related species like apricot, peach, plum and strawberry (Rosaceae family), express a similar repertoire of antigens. Further similar proteins could be detected in fruits of non-related species, which reconfirm the universality of fruit allergenic protein expression in plants.

ΧΗΜΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ ΣΤΑ ΠΕΤΑΛΑ ΤΟΥ *Asphodelus ramosus* L.

Χειμόνα Χ.¹, Καριώτη Α.², Σκαλτσά Ε.², Ριζοπούλου Σ.¹

¹ Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη 157 84, Αθήνα

² Τομέας Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη 157 71, Αθήνα

Ο ασφόδελος που αναφέρεται σε κείμενα κλασικά (Σαπφώ, Ησίοδος, Πλούταρχος), ήταν τροφή για τις ψυχές που διερχόμενες από τη Στύγα έφθαναν σε λειμώνια ασφοδέλων (Όμηρος, 6ος π.Χ. αι.) και είχε πολλές θεραπευτικές δυνάμεις σύμφωνα με τον Διοσκουρίδη (1ος μ.Χ. αι.). Ο ασφόδελος που στόλιζε τον «κάτω κόσμο», μιας που στην αρχαιότητα τα άνθη του συνδέθηκαν συμβολικά με τον ωχρό θάνατο, εξακολουθεί να ανθίζει στην Αττική μεταξύ Φεβρουαρίου και Μαρτίου. Στην εργασία αυτή μελετήθηκαν τα υπόλευκα άνθη του *Asphodelus ramosus* L., για την ανεύρεση χημικών ουσιών στα πέταλα. Έγινε διαχωρισμός χημικών ουσιών με χρήση μεθόδων χρωματογραφίας (VLC, TLC, HPLC, στήλες μοριακού αποκλεισμού με μέσο Silica gel 9385 ή Sephadex LH-20) και ταυτοποίηση με NMR και GC-MS. Βρέθηκαν: λουτεολίνη, χλωρογενικό οξύ, καφεϊκό οξύ, π-υδροξυ-βενζοϊκό οξύ, σάκχαρα (π.χ. γλυκόζη), χλωροφύλλη-α και αρκετές άλλες ουσίες, παράγωγα λιπαρών οξέων, υδρογονανθράκων, αλδευδών. Τα αποτελέσματά μας συμφωνούν με τη βιβλιογραφία ως προς την ύπαρξη φλαβονοειδών (π.χ. λουτεολίνη) και την υψηλή συγκέντρωση σακχάρων στο νέκταρ (1,8-3,5 mg). Επίσης, σημειώνεται ότι στην επιφάνεια των υπόλευκων πετάλων υπάρχουν γραμμικά σχέδια, χρωματισμού καφέ-μοβ (με γυμνό οφθαλμό). Ωστόσο, η μοναδική χρωστική που προσδιορίστηκε στη περιοχή αυτή είναι η χλωροφύλλη-α, εκεί όπου είχε ήδη παρατηρηθεί η ύπαρξη στομάτων (σύμφωνα με προηγούμενα αποτελέσματα της ερευνητικής μας ομάδας).

- Η παρούσα εργασία διενεργείται στα πλαίσια έργου (Κ.Α. 70/3/8036), το οποίο συγχρηματοδοτείται από το Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο και Εθνικούς Πόρους (ΕΠΕΑΕΚ II) ΠΥΘΑΓΟΡΑΣ II.

**A STUDY ON CHEMICAL SUBSTANCES IN PETALS OF
Asphodelus ramosus L.**

Chimona Ch.¹, Karioti A.², Skaltsa H.², Rhizopoulou S.¹

¹ *University of Athens, Faculty of Biology, Department of Botany,
Panepistimioupoli, Athens, 157 84*

² *University of Athens, School of Pharmacy, Department of Pharmacognosy
and Chemistry of Natural Products, Athens, 157 71*

Asphodel is referred into the classical literature (Sapfo, Hesiodus, Plutarch) as food for souls, which (passing by Styga) arrived at asphodel lea (Homer, 6th B.C. ct.); also, it exhibits several pharmaceutical properties according to Dioscorides (1st A.C. ct.). The flowering stalk carries several off-white flowers that expand between February and March. The flowers that decorated the world of Dead, being symbolically connected to pale death in anciently, are still blossoming in early spring, in Athens University campus. The flowers of *Asphodelus ramosus* (L.) were collected in order to investigate chemical substances in their petals, by using chromatography methods (VLC, TLC, HPLC, molecular blockade columns with medium silica gel 9385 or Sephadex LH-20). The identification was made by using NMR and GC-MS. We found luteolin, chlorogenic acid, caffeic acid, π -hydroxy-benzoic acid, soluble sugars (e.g. glycoze) and chlorophyll- α , and other substances derived from lipid acids, carbohydrates, aldehydes. Our results are in agreement with published work on the presence of flavonoids (e.g. luteolin) and the elevated concentration of soluble sugars in the nectar (1.8-3.5 mg). It has to be noted that in the center of the off-white petals of *Asphodelus ramosus* some visible, linear brown-purple patterns exist. Therein, chlorophyll- α was determined; in the same area the presence of stomata was detected, according to earlier results of our research group.

- *The research is a part of the project 70/3/8036 that is co-funded by the European Social Fund and National Resources – (EPEAEK II) PYTHAGORAS II.*

**Η ΠΑΝΙΔΑ ΤΩΝ ΑΜΦΙΠΟΔΩΝ (CRUSTACEA, PERACARIDA)
ΤΟΥ ΑΙΓΑΙΟΥ ΚΑΙ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΑΥΤΕΣ ΤΩΝ ΓΕΙΤΟΝΙΚΩΝ
ΠΕΡΙΟΧΩΝ**

*Χριστοδούλου Μ.¹, Συρανίδου Ε.¹, Τζώμος Θ.¹, Θωμόπουλος Γ.²
και Κούκουρας Α.¹*

*¹Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ²Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και
Μοριακής Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τ.Κ. 541 24,
Θεσσαλονίκη*

Στην παρούσα μελέτη δίνεται μια λίστα των Αμφιπόδων της Μεσογείου και της Μαύρης Θάλασσας καθώς και η διανομή τους στις περιοχές αυτές. Τα δεδομένα που επεξεργάστηκαν σ' αυτή την έρευνα πάρθηκαν από τη βάση δεδομένων για την Ελληνική βιοποικιλότητα. Αυτή η βάση δεδομένων δημιουργήθηκε στο Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης στα πλαίσια του ερευνητικού προγράμματος ΕΠΕΑΚ ΙΙ (Πυθαγόρας ΙΙ). Η βάση δεδομένων ονομάζεται "Ελληνική Βιοποικιλότητα" και είναι προσπελάσιμη στην ακόλουθη διαδικτυακή διεύθυνση: <http://155.207.8.122:8080>.

Στο Αιγαίο Πέλαγος καταγράφηκαν 321 είδη αμφιπόδων ενώ συνολικά σε όλη τη Μεσόγειο καταγράφηκαν 572 είδη αμφιπόδων. Από τα είδη που βρέθηκαν στο Αιγαίο 51 συμπεριλαμβάνονται στα πελαγικά αμφίποδα (Hyperiididae) και τα υπόλοιπα 270 είδη στα βενθικά αμφίποδα (Caprellidea, Gammaridea, Ingolfiellidea). Το υψηλότερο ποσοστό ειδών βρέθηκε στη δυτική λεκάνη της Μεσογείου (92,5 %). Στην Κεντρική Μεσόγειο και στην Αδριατική θάλασσα βρέθηκαν 50,0 % και 46,5 % αντίστοιχα, από το σύνολο των γνωστών ειδών της Μεσογείου και της Μαύρης Θάλασσας. Επιπρόσθετα, στη Θάλασσα του Λεβάντε και στη Μαύρη Θάλασσα βρέθηκαν 44,4 % και 15,7 %, αντίστοιχα, ενώ στο Αιγαίο Πέλαγος βρέθηκαν 56,1 % από το σύνολο των γνωστών ειδών της Μεσογείου και της Μαύρης Θάλασσας. Ο υψηλός αριθμός ειδών που βρέθηκε στο Αιγαίο μπορεί να αποδοθεί στην πιο άμεση επικοινωνία με τη δυτική λεκάνη της Μεσογείου αλλά και στην υψηλή ποικιλότητα των ενδιαιτημάτων του. Επίσης, σύμφωνα με τα αποτελέσματα φαίνεται ότι ο αριθμός των ειδών των αμφιπόδων μειώνεται από τη δυτική προς την ανατολική Μεσόγειο.

**THE AMPHIPOD (CRUSTACEA, PERACARIDA) FAUNA OF THE
AEGEAN SEA AND COMPARISON WITH THOSE OF THE
NEIGHBOURING AREAS**

***Christodoulou M.¹, Syranidou E.¹, Tzomos Th.¹, Thomopoulos G.²,
and Koukouras A.¹***

*¹Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of
Thessaloniki, P.C. 541 24 Thessaloniki, e-mail: magchris@bio.auth.gr*

*²Department of Genetics, Development and Molecular, Biology School of
Biology, Aristotle University of Thessaloniki, P.C. 541 24 Thessaloniki*

A checklist of the Mediterranean and Black Sea amphipods, as well as their distribution in the Mediterranean areas and the Black Sea is presented. The data used in this research were obtained from a data base for Greek Biodiversity. This database was created in the Aristotle University of Thessaloniki as a part of EPEAK II (Pythagoras II). The database is called "Greek Biodiversity" and is available in the following internet address: <http://155.207.8.122:8080>

Three hundred twenty one amphipods species are recorder from the Aegean Sea while in all the Mediterranean Sea a total of 572 amphipods species is recorded. From the total number of amphipods species found in the Aegean Sea 51 are included in the pelagic amphipods (Hyperiididae) and 270 in the benthic amphipods (Caprellidea, Gammaridea, Ingolfiellidea). The highest recorded species number of amphipods is found in the western basin of the Mediterranean Sea (92.5 %), while in the Central Mediterranean and the Adriatic Seas 50.0 % and 46.5 %, respectively, of the known Mediterranean-Black Sea species is found. Additionally, in the Levantine Basin and the Black Sea 44.4 % and 15.7 %, respectively, of the known Mediterranean-Black Sea species is found. Finally, in the Aegean Sea 56.1 % of the known Mediterranean-Black Sea is found. The high species number in the Aegean Sea could be attributed to its more direct communication with the western basin and its high habitat variability. Also, according to the considered data it seems that the number of amphipods species decreases from the western towards the eastern Mediterranean Sea.

**Η ΠΑΝΙΔΑ ΤΩΝ ΑΝΘΟΖΩΩΝ (HEXACORALLIA, OCTO-
CORALIA) ΤΟΥ ΑΙΓΑΙΟΥ ΚΑΙ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΑΥΤΕΣ ΤΩΝ
ΓΕΙΤΟΝΙΚΩΝ ΠΕΡΙΟΧΩΝ.**

Χριστοδούλου Μ., Μουρίκη Δ., Τζώμος Θ., Γκούτνερ Β. και Κούκουρας Α.

*Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης,
Τ.Κ. 541 24, Θεσσαλονίκη, e-mail: magchris@bio.auth.gr*

Στην παρούσα μελέτη δίνεται μια λίστα των Ανθοζώων της Μεσογείου και της Μαύρης Θάλασσας καθώς και η διανομή τους στις περιοχές αυτές. Τα δεδομένα που επεξεργάστηκαν σ' αυτή την έρευνα πάρθηκαν από τη βάση δεδομένων για την Ελληνική βιοποικιλότητα. Αυτή η βάση δεδομένων δημιουργήθηκε στο Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης στα πλαίσια του ερευνητικού προγράμματος ΕΠΕΑΚ II (Πυθαγόρας II). Η βάση δεδομένων ονομάζεται "Ελληνική Βιοποικιλότητα" και είναι προσπελάσιμη στην ακόλουθη διαδικτυακή διεύθυνση: <http://155.207.8.122:8080>.

Στο Αιγαίο Πέλαγος καταγράφηκαν 84 είδη ανθοζώων ενώ συνολικά σε όλη τη Μεσόγειο καταγράφηκαν 120 είδη αμφιπόδων. Από τα είδη που βρέθηκαν στο Αιγαίο 58 συμπεριλαμβάνονται στα Hexacorallia και τα υπόλοιπα 26 είδη στα Octacoralia. Το υψηλότερο ποσοστό ειδών βρέθηκε στη δυτική λεκάνη της Μεσογείου (92,5 %). Στην Κεντρική Μεσόγειο και στην Αδριατική θάλασσα βρέθηκαν 48,3 % και 53,3 % αντίστοιχα, από το σύνολο των γνωστών ειδών της Μεσογείου και της Μαύρης Θάλασσας. Επιπρόσθετα, στη Θάλασσα του Λεβάντε και στη Μαύρη Θάλασσα βρέθηκαν 31,7 % και 5,8 %, αντίστοιχα, ενώ στο Αιγαίο Πέλαγος βρέθηκαν 70,0 % από το σύνολο των γνωστών ειδών της Μεσογείου και της Μαύρης Θάλασσας. Ο υψηλός αριθμός ειδών που βρέθηκε στο Αιγαίο μπορεί να αποδοθεί στην πιο άμεση επικοινωνία με τη δυτική λεκάνη της Μεσογείου αλλά και στην υψηλή ποικιλότητα των ενδιαιτημάτων του. Επίσης, σύμφωνα με τα αποτελέσματα φαίνεται ότι ο αριθμός των ειδών των ανθοζώων μειώνεται από τη δυτική προς την ανατολική Μεσόγειο.

**THE ANTHOZOAN (HEXACORALLIA, OCTOCORALIA) FAUNA
OF THE AEGEAN SEA AND COMPARISON WITH THOSE OF
THE NEIGHBOURING AREAS**

Christodoulou, M., Mouriki D., Tzomos Th., Goutner V., and Koukouras A.

*Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki,
P.C. 541 24 Thessaloniki, e-mail: magchris@bio.auth.gr*

A checklist of the Mediterranean and Black Sea anthozoans, as well as their distribution in the Mediterranean areas and the Black Sea is presented. The data used in this research were obtained from a data base about the biodiversity of Greece. This database was created in the Aristotle University of Thessaloniki as a part of a research program EPEAK II (Pythagoras II). The database is called "Greek Biodiversity" and is available in the following internet address: <http://155.207.8.122:8080>.

Eighty four anthozoan species are recorder from the Aegean Sea while in all the Mediterranean Sea a total of 120 anthozoan species is recorded. From the total number of anthozoan species found in the Aegean Sea 58 are included in the Hexacorallia and 26 in the Octacoralia. The highest recorded species number of anthozoans is found in the western basin of the Mediterranean Sea (92.5 %), while in the Central Mediterranean and the Adriatic Seas 48.3 % and 53.3 %, respectively, of the known Mediterranean-Black Sea species is found. Additionally, in the Levantine Basin and the Black Sea 31.7 % and 5.8 %, respectively, of the known Mediterranean-Black Sea species is found. Finally, in the Aegean Sea 70.0 % of the known Mediterranean-Black Sea is found. The high species number in the Aegean Sea could be attributed to its more direct communication with the western basin and its high habitat variability. Also, according to the considered data it seems that the number of anthozoan species decreases from the western Mediterranean towards the eastern Mediterranean Sea.

**ΒΙΟΡΟΦΗΣΗ ΒΑΡΕΩΝ ΜΕΤΑΛΛΩΝ (Cu, Pb) ΣΕ ΑΝΑΓΕΝ-
ΝΗΣΙΜΗ, ΣΥΝΕΧΟΥΣ ΡΟΗΣ ΣΤΗΛΗ ΤΟΥ ΜΑΚΡΟΦΥΚΟΥΣ
*Cystoseira***

**Χριστοφορίδης Α.¹, Λαζαρίδου Α.¹, Ορφανίδης Σ.², Μητρόπουλος Α.¹,
Καργιώτης Ε.¹**

¹Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα (ΤΕΙ) Καβάλας, Τμήμα Τεχνολογίας Πετρελαίου
και Φυσικού Αερίου, 65 404 Άγιος Λουκάς, Καβάλα

²Εθνικό Ίδρυμα Αγροτικής Έρευνας (ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε), Ινστιτούτο Αλιευτικής Έρευνας, 64
007 Νέα Πέραμος, Καβάλα,

Μελετήθηκε η βιορόφηση χαλκού και μόλυβδου σε αναγεννήσιμη, συνεχούς ροής στήλη γεμάτη με ξηρή βιομάζα του γηγενούς είδους *Cystoseira crinitophylla*. Χρησιμοποιήθηκαν βασικά διαλύματα 50 ppm χαλκού (CuCl₂) και 50 ppm μόλυβδου [Pb(NO₃)₂], τα οποία διαπερνούσαν στήλη με 4g ξηρής βιομάζας *Cystoseira*. Πριν από κάθε πείραμα πραγματοποιούνταν αναγέννηση της βιομάζας με 0,1 M HNO₃ για να απομακρυνθούν οι φυσικές συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων του φύκους. Στη διαδικασία αυτή μετρήθηκε μείωση της ξηρής βιομάζας κατά 36.8 μέχρι 40.8%. Η βιορόφηση της *Cystoseira* μπορεί να περιγραφεί σε τρεις διαδοχικές φάσεις με 90-100% (Α), 20-90% (Β) και <20% (Γ) βιορόφηση μετάλλου. Η βιορόφηση του χαλκού στη φάση Α επηρεάστηκε από το pH του διαλύματος και ήταν 37.5 και 50 mg/g αρχικής βιομάζας σε pH 2.6 και 4.5, αντίστοιχα. Η βιορόφηση του μόλυβδου στη φάση Α επηρεάστηκε από το pH του διαλύματος και ήταν 87.5 και 150 mg/g αρχικής βιομάζας σε pH 2.6 και 4.5, αντίστοιχα. Τριάντα έξι συνεχόμενοι κύκλοι βιορόφησης-εκρόφησης 50ppm χαλκού και 50ppm μόλυβδου, σε διαφορετικές διατάξεις για το κάθε μέταλλο, δεν έδειξαν κάποιο σημείο κόπωσης του υλικού.

Λέξεις κλειδιά: μακροφύκη, βαρέα μέταλλα, βιορόφηση, pH

BIOSORPTION OF HEAVY METALS (Cu, Pb) IN A CONTINUOUS -FLOW AND REGENERABLE *Cystoseira* COLUMN

Christoforidis A.¹, Lazaridou A.¹, Orfanidis S.², Mitropoulos A.¹, Kargiotis E.¹

*¹Technological Educational Institution, Department of Petroleum Technology &
Natural Gas, 554 04 Kavala, Greece*

*²National Agricultural Research Foundation, Fisheries Research Institute, 64007
N. Peramos, Kavala, Greece*

Copper and lead biosorption process by *Cystoseira crinitophylla* dry biomass was studied in a continuous regenerable column configuration. A standard solution of 50 ppm copper (CuCl₂) and 50 ppm lead [Pb(NO₃)₂] concentration was passed through 4g *Cystoseira* dry biomass. Biomass regeneration carried out in 0.1 M HNO₃ before any use to remove naturally absorbed heavy metals reduces algal biomass by 36.8 to 40.8%. *Cystoseira* biomass biosorption can be described in three successive phases with 90-100% (A), 20-90% (B) and <20% (C) heavy metal biosorption. The copper biosorption capacity of the biomass at phase A was influenced by pH and was 37.5 and 50 mg/g initial biomass in pH 2.6 and 4.5, respectively. The lead biosorption capacity of the biomass at phase A was influenced by pH and was 87.5 and 150 mg/g initial biomass in pH 2.6 and 4.5, respectively. Thirteen six consecutive biosorption - desorption cycles of 50ppm copper and 50 ppm lead dilution, in different for each metal configurations, did not show any sign of material exhaustion.

Keywords: seaweeds, heavy metals, biosorption, pH

ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΟΥ ΚΝΣ, ΠΛΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΧΟΛΙΝΕΡΓΙΚΗ ΝΕΥΡΟΔΙΑΒΙΒΑΣΗ

*Ψαρροπούλου Κ.**

*Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών & Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων,
Ιωάννινα, 45110.*

Η νευρική δραστηριότητα του νεογνικού εγκεφάλου επηρεάζει την ανάπτυξη του. Ακραίες μορφές ενεργοποίησης ή ελλειψή της μπορεί να επηρεάσουν την φυσιολογική ωρίμανση σε βαθμό που να είναι πειραματικά ή κλινικά ανιχνεύσιμος στην ενήλικη ζωή. Η επιληψία, μιά δυσλειτουργία του εγκεφάλου, που προκαλείται από την διάδοση κυμάτων υπερσυγχρονισμένων διεγερτικών δυναμικών, εκδηλώνεται κατά την βρεφική ή παιδική ηλικία και ορισμένοι τύποι επιληψίας (επιληπτικά σύνδρομα) σχετίζονται με γνωσιακές δυσλειτουργίες στην μετέπειτα ζωή. Τα πειραματικά μοντέλα επιληψίας επιτρέπουν να μελετήσουμε τον ρόλο της υπερσύγχρονης νευρωνικής δραστηριότητας στην ανάπτυξη του εγκεφάλου, μέσω της σύγκρισης μιάς σειράς λειτουργικών ή ανατομικών δεικτών σε φυσιολογικά ή «επιληπτικά» πειραματόζωα ίδιας ηλικίας. Οι χολινεργικοί υποδοχείς του ΚΝΣ ενέχονται στις γνωσιακές διεργασίες και έχουν ανιχνευθεί αλλαγές στον αριθμό ή τις ιδιότητές τους σε ορισμένες μορφές άνοιας. Η εργασία της ομάδας μου εστιάζεται στα μακροπρόθεσμα αποτελέσματα των επιληπτικών σπασμών που συμβαίνουν κατά την ανάπτυξη πάνω στους χολινεργικούς υποδοχείς του μουσκαρινικού υποτύπου. Οι σπασμοί προκλήθηκαν με την χορήγηση του ανταγωνιστή των GABA_A υποδοχέων πεντυλενετετραζόλης (PTZ). Διαπιστώσαμε αρχικά (1) την λειτουργική παρέκκλιση, μέσω καταγραφής ηλεκτροφυσιολογικών δυναμικών σε τομές ιπποκάμπου *in vitro*. Στην συνέχεια, (2) διερευνήσαμε τους κυτταρικούς μηχανισμούς αυτών των αλλαγών, και κατόπιν (3) συγκρίναμε συμπεριφορικά ενήλικες αρουραίους που είχαν ενεθεί με PTZ με φυσιολογικούς, με τις δοκιμασίες του (i) ανοικτού πεδίου, (ii) της αναγνώρισης αντικειμένου και (iii) της προσομοίωσης καταθλιπτικής συμπεριφοράς. Σε δύο από τους τομείς της ερευνάς μας (2, 3), διακρίναμε και διαφορές που σχετίζονται με το φύλο. Τα ευρήματά μας θα συμβάλουν στην κατανόηση των κυτταρικών μηχανισμών με τους οποίους οι επιληπτικοί σπασμοί κατά την πρώιμη ζωή, επιδρούν στην ανάπτυξη του εγκεφάλου, αλλά και στον συσχετισμό αυτών των αλλαγών με την συμπεριφορά. Ελπίζουμε επίσης να αποκαλύψουμε κάποιους από τους μηχανισμούς που ενέχονται στην σχέση λειτουργίας-πλαστικότητας του ΚΝΣ.

- Υποστηρίχθηκε οικονομικά εν μέρει από το ΥΠΕΠΘ – Πυθαγόρας II

* Προσκεκλημένη ομιλήτρια

IMMATURE BRAIN PLASTICITY AND CHOLINERGIC RECEPTORS

*Psarropoulou C.**

Department of Biological Applications and Technologies, University of Ioannina, Ioannina, 45110, Greece

Immature brain neuronal activity influences the course of its development. Extreme patterns of activation or lack of activation may cause such aberrations from normal brain maturation that can be experimentally or clinically detected in the adult brain. Epilepsy, a brain disorder caused by the propagation of brain waves of highly synchronized excitatory potentials is manifested in infancy or childhood and certain epileptic syndromes are associated with cognitive deficits in adulthood. Experimental epilepsy models provide thus a means by which to study the impact of overly synchronized CNS neuronal activity in brain development. This is done by comparing a variety of functional or anatomical indices in naive versus “epileptic” age-matched animals. Brain cholinergic receptors are involved in cognitive processes, and changes in their numbers or properties have been detected in dementias. My work focuses on the long term effects of early life seizures, caused by the administration of pentylenetetrazol (PTZ), a GABA_A receptor antagonist, in adult brain cholinergic (muscarinic subtype) receptors. Along with my collaborators and students, we first (1) established that such changes occur by recording electrophysiological potentials in vitro in rat brain slices. We then (2) investigated the cellular mechanisms of the observed effects. Thirdly, we (3) tested for differences in the behavior of adult PTZ-conditioned rats by using specific tests such as open field activity, object recognition and “depressive-like behavior”. In two of the three axes of our research (2, 3), where we also differentiated between male and female conditioned animals, we detected gender associated differences. Our findings will contribute to understanding the effects of early life seizures on the basic (cellular) level of adult brain function and also to linking such changes to behavior. By doing so, we also hope to unravel some of the mechanisms that underlie the activity-dependent immature brain plasticity.

- *Supported in part by the Greek Ministry of Education – Pithagoras II*

** Invited speaker*

**ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΣΕ
ΣΧΟΛΕΙΑ ΚΑΙ ΚΑΤΟΙΚΙΕΣ ΠΛΗΣΙΟΝ ΣΤΑΘΜΩΝ ΒΑΣΗΣ
ΚΙΝΗΤΗΣ ΤΗΛΕΦΩΝΙΑΣ – ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟΤΗΤΑΣ**

**Κέφαλος Π.Σ., Κοκκαλιάρης Κ.Α., Κοτσίδα Π., Σταυροπούλου Ε., Αργύρη
Ε., Σούρδη Α., Χαβδούλα Ε., Παναγόπουλος Δ. και Α.Χ. Μαργαρίτης**

*Τομέας Βιολογίας Κυττάρου & Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό &
Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, Αθήνα 15784*

Τις τελευταίες δεκαετίες έντονο είναι το επιστημονικό ενδιαφέρον αλλά και η ανησυχία των κατοίκων για τις πιθανές επιπτώσεις της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας που εκπέμπεται τόσο από συσκευές όσο και από τους σταθμούς βάσης κινητής τηλεφωνίας. Η Διεθνής Επιτροπή Προστασίας από τη Μη Ιονίζουσα Ακτινοβολία, (ICNIRP), σε συνεργασία με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας, (WHO), και την Διεθνή Επιτροπή Προστασίας από την Ακτινοβολία, IRPA, πρότειναν το 1998 όρια “αποδεκτής” έκθεσης του πληθυσμού σε ηλεκτρομαγνητικά πεδία, ώστε κάθε χώρα να διαμορφώσει τα δικά της όρια.. Πρέπει να τονιστεί ότι διαφορετικές χώρες έχουν θεσπίσει διαφορετικά “όρια ασφαλείας”. Η ερευνητική μας ομάδα πραγματοποίησε μετρήσεις έντασης της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας σε κατοικίες και σχολικά συγκροτήματα κοντά σε σταθμούς βάσης στο λεκανοπέδιο της Αττικής, αλλά και εκτός αυτού, π.χ. Καβάλα, με εξειδικευμένα όργανα. Διαπιστώθηκε πως ανάλογα με την απόσταση από την κεραία αλλά και τον προσανατολισμό του «λοβού εκπομπής» σε σχέση με τα σημεία μέτρησης υπήρχαν τιμές ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας μέχρι και 6,5 βολτ ανά μέτρο εντός των οικιών και μέχρι 3,5 βολτ ανά μέτρο εντός σχολικών αιθουσών. Οι τιμές αυτές αν και ευρίσκονται εντός των «ορίων αποδεκτής έκθεσης» που έχει θεσπίσει το ελληνικό κράτος (νόμος 4331/2006) εντούτοις ευρίσκονται στα όρια ή και επάνω από εκείνα που έχουν θεσπίσει άλλες χώρες ή πόλεις (π.χ. Παρίσι, Σάλτςμπουργκ, Ιταλία, Ρωσία, Κίνα). Επειδή πολυάριθμες επιδημιολογικές μελέτες μεταξύ των οποίων και οι (Abdel-Rassoul G. et al, 2006, Neurotoxicology, Hardell L. et al 2007, Am J Ind Med. Mar;50(3):234, Pickl S, 2005, MMW Fortschr Med. 2005 Nov 24;147(47):14 Stang et al, 2001 Epidemiology, 12(1), 7-12., Auvinen et al, 2002 Epidemiology, 13, 365-369, Hardell et al, 2002, Eur. J. Cancer Prev., 11, 377-386) έχουν καταδείξει συμπτώματα του **συνδρόμου των μικροκυμάτων** (Oberfeld G., et al, 2004, Kos Int. Conf), δηλ. διαταραχή μνήμης, συγκέντρωσης, ύπνου, εξάντληση, πονοκέφαλοι (Hutter et al 2006, Occup Environ Med.;63(5):307-13), ιδιαίτερα σε άτομα που διαμένουν σε κοντινή απόσταση από σταθμούς βάσης (Santini R. et al. 2002 Pathol Biol (Paris). 50(6):369-73). Για τους λόγους αυτούς θεωρούμε τα επίπεδα αυτά της ακτινοβολίας δυνητικά επικίνδυνα για όσους κατοίκους ακτινοβολούνται πολλές ώρες την ημέρα και πολύ περισσότερο για τα παιδιά στα σχολεία. Προτείνεται κατά συνέπεια η Πολιτεία να μεριμνήσει για την αυστηρή τήρηση των όρων περιβαλλοντικών επιπτώσεων, σύμφωνα και με πρόσφατη Υπουργική απόφαση, λαμβάνοντας υπ’ όψη τα αναφερθέντα βιβλιογραφικά στοιχεία αλλά και τις μαρτυρίες κατοίκων που ζουν κοντά σε κεραίες.

- Η έρευνα αυτή χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας του Πανεπιστημίου Αθηνών προς τον καθηγητή Α.Χ. Μαργαρίτη

ELECTROMAGNETIC RADIATION MEASUREMENTS IN SCHOOLS AND HOUSES NEAR MOBILE TELEPHONY BASE STATIONS – HEALTH RISK ESTIMATION

**Kefalos P. S., Kokkaliaris K. D., Kotsila P., Stavropoulou E., Argyri E.,
Sourdi A., Chavdoula E., Panagopoulos D., Margaritis L. H.**

*Faculty of Biology, Department of Cell Biology and Biophysics, University
of Athens, Panepistimiopolis, 15784 Zografou, Athens.*

Over the last decades, there has been a great scientific interest and much anxiety of citizens about possible effects of electromagnetic radiation, which is transmitted by mobile devices and mobile telephony base stations. The *International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection (ICNIRP)*, in co-operation with the *World Health Organization (WHO)* and the *International Radiation Protection Association (IRPA)*, proposed in 1998 the so-called ‘acceptable’ limits of people’s exposure to electromagnetic fields, so that each country can define its own limits. However, it is noticed that different countries have applied different ‘safety limits’. This work was carried out in order to measure electromagnetic radiation in houses and school complexes near base stations inside the county of Attica and out of it as well, e.g. in the city of Kavala, with the help of specialized instruments. It was realized that according to the distance between the antenna and the measurement points and the orientation of its ‘transmission lobe(s)’ the values of electromagnetic radiation were reaching up to 6,5V/m inside some houses and up to 3,5V/m in some classrooms. Although these values fall within the so-called ‘acceptable exposure limits’ that Greece has enacted (law 4331/2006), they are still over the limits that some other countries or cities have enacted (e.g. Paris, Salzburg, Italy, Russia, China, Belgium). Since a lot of epidemiologic studies (*Abdel-Rassoul G. et al, 2006, Neurotoxicology, Hardell L. et al 2007, Am J Ind Med.;50(3):234, Pickl S, 2005, MMW Fortschr Med. 2005 Nov 24;147(47):14, Stang et al, 2001, ”, Epidemiology, 12(1), 7-12, Auvinen et al, 2002, Epidemiology, 13, 365-369, Hardell et al, 2002 Eur. J. Cancer Prev., 11, 377-386.*) have revealed symptoms of the **syndrome of microwaves** (*Oberfeld G., et al, 2004, Kos Int. Conf*), such as memory, concentration and sleep disturbance, fatigue and headaches (*Hutter et al 2006 Occup Environ Med. 63(5):307-13*), particularly in persons who live up to 300 meters away from base stations (*Santini R. et al. 2002 Pathol Biol (Paris). 50(6):369-73*), we consider these levels of radiation as potentially dangerous for the citizens, and especially for children in schools, who are exposed for many hours a day. It is proposed that the government should take care of the strict observance of the rules of the environmental effects, according to a recent ministerial decision, taking seriously into consideration the reported bibliography and the evidences of the citizens who live near base stations.

- *This work has been supported by the Special Account for Research Grants of the University of Athens to Professor L.H. Margaritis.*

Η ΠΡΟΟΔΕΥΤΙΚΗ ΑΠΩΛΕΙΑ ΙΠΠΟΚΑΜΠΙΑΙΩΝ ΚΥΤΤΑΡΟ- ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ ΑΠΟ ΚΡΥΣΤΑΛΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ ΜΕΤΑΛΛΟ- ΙΟΝΤΩΝ ΩΣ ΑΙΤΙΑ ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΚΩΝ ΑΣΘΕΝΕΙΩΝ ΤΥΠΟΥ ALZHEIMER

Christiane Nday,¹ A. J. Drysdale,² B. Platt,² Α.Σαλίφογλου¹

*¹Εργαστήριο Ανόργανης Χημείας, Τμήμα Χημικών Μηχανικών, Αριστοτέλειο
Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη. ²School of Medical
Sciences, College of Life Sciences and Medicine, University of Aberdeen, Institute
of Medical Sciences, Foresterhill, Aberdeen AB25 2ZD Scotland, UK.*

Η νόσος Alzheimer (N.A.) είναι μια νευροεκφυλιστική ασθένεια του κεντρικού νευρικού συστήματος (ΚΝΣ) που χαρακτηρίζεται από την ύπαρξη γεροντικών πλακών και νευροϊνιδιακών συμπλεγμάτων. Στην ανάπτυξη της νόσου Alzheimer συμβάλλουν διάφοροι γενετικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες. Στους γενετικούς παράγοντες έχουν βρεθεί διάφορες μεταλλάξεις στα γονίδια της Πρόδρομης Αμυλοειδούς Πρωτεΐνης (APP) και της Πρεσενιλίνης 1,2 ενώ στους περιβαλλοντικούς παράγοντες κατατάσσονται οι μεταλλοτοξίνες, όπως το αργίλιο (Al(III)). Με βάση το νευροτοξικό δυναμικό της μεταλλοτοξίνης και τον συσχετισμό της με τη Ν.Α. αναδύεται ως σημαντική ερευνητική πρόκληση, η διερεύνηση της βιολογικής δράσης φυσικοχημικά πλήρως χαρακτηρισμένων μορφών Al(III) στο κυτταρικό περιβάλλον νευρωνικών και νευρογλοιακών κυττάρων. Στα πλαίσια της ερευνητικής αυτής προσπάθειας, νευρωνικές και νευρογλοιακές κυτταροκαλλιέργειες νεογνών ποντικού Prague-Dawley εκτέθηκαν στις εξής δύο πρωτότυπες κρυσταλλικές ενώσεις του Al(III): $K_4[Al(C_6H_4O_7)(C_6H_5O_7)] \cdot 4H_2O$ και $K[Al(C_7H_{11}O_6)_3](OH) \cdot 5H_2O$ σε συγκεντρώσεις των i) 10 μM , ii) 100 μM ή iii) 500 μM σε θρεπτικά διαλύματα HBS για χρονικό διάστημα 30 λεπτών ή MEM για χρονικό διάστημα 24 ωρών. Μετά από τις απαραίτητες στατιστικές αναλύσεις, προέκυψαν τα εξής ευρήματα: α) όσο μεγαλύτερη είναι η χρονική έκθεση των κυττάρων στο μεταλλοϊόν, τόσο περισσότερο καταστροφικές είναι οι επιπτώσεις στα κύτταρα, β) η καταστροφή που επιφέρει το αργίλιο στα κύτταρα συνδυάζεται άμεσα με τον υποκατάστατη που συνδέεται με το μεταλλοϊόν και άρα με το είδος του Al(III) που αλληλεπιδρά με τον μοριακό στόχο, γ) στις υψηλές συγκεντρώσεις παρατηρούνται οι μεγαλύτερες νευροκαταστροφές. Συλλογικά, αναδεικνύεται η άμεση συσχέτιση του είδους και των φυσικοχημικών ιδιοτήτων του Al(III) που αλληλεπιδρά με τον βιολογικό στόχο σε μοριακό επίπεδο και των νευροτοξικών αποτελεσμάτων της επενέργειας του παραπάνω μεταλλοϊόντος.

**PROGRESSIVE LOSS OF HIPPOCAMPAL CELL CULTURE BY
METAL IONS COMPOUNDS AS A CAUSE OF THE NEUROL-
OGICAL DISEASES LIKE ALZHEIMER**

Christiane Nday,¹ A. J. Drysdale,² B. Platt,² A. Salifoglou¹

*¹Department of Chemical Engineering, Laboratory of Inorganic Chemistry,
Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki 54124, Greece. ²School of
Medical Sciences, College of Life Sciences and Medicine, University of Aberdeen,
Institute of Medical Sciences, Foresterhill, Aberdeen AB25 2ZD Scotland, UK.*

Alzheimer Disease (A.D.) is a central nervous system neurodegenerative disease, which is characterized by the presence of senile plaques and neurofibrillary tangles. The involved genetic and environmental factors in the development of A.D. include various mutations on Amyloid Precursor Protein (APP) and Presenilin 1,2 genes, and numerous metallotoxins like Aluminum (Al(III)). The investigation of the potential biological activity of well characterized Al(III) forms in neuronal and glial cellular environment consists a challenge, because of the neurotoxic potentiality of the metal and the evidence linking Aluminum to A.D. In the context of this research, neuronal and glial cell cultures of neonate rat Prague-Dawley were exposed to two novel Al(III) compounds, aluminium quinate ($K_4[Al(C_6H_4O_7)(C_6H_5O_7)] \cdot 4H_2O$) and aluminium citrate ($K[Al(C_7H_{11}O_6)_3](OH) \cdot 5H_2O$). The concentrations were i) 10 μ M, ii) 100 μ M or iii) 500 μ M in Hepes Buffer Solution for an incubation of 30 minutes or in full medium MEM for an incubation of 24 hours. After statistical analyses, we found that: a) longer exposition time causes more catastrophic effects on both cell lines, b) the loss of the cell line caused by Al is linked directly with the kind of the ligands which bind the metal ion, so also with the kind of Al(III), which interacts with the molecular target, c) higher concentrations of Al lead to greater loss of neurons and glia. Finally, we demonstrate the strong correlation between the kind of the compound and the chemistry of Al(III) which interacts with biological targets in molecular level and its neurotoxic effects.

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΑΓΡΙΟΧΟΙΡΟΥ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

*Αλεξανδρή Π¹, Τριανταφυλλίδης Α¹, Χατζηνίκος Ε³, Παπαγεωργίου Ν²,
Αμπατζόπουλος ΘΓ¹, Τριανταφυλλίδης Κ^{1*}*

¹Τμήμα Βιολογίας, ²Τμήμα Δασολογίας & Φυσικού Περιβάλλοντος
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη
³Δ' Κυνηγετική Ομοσπονδία Στερεάς Ελλάδος
Φωκίωνος 8 & Ερμού, 10563, Αθήνα

* Τηλ: 2310998309, Fax: 2310998374, e-mail: triant@bio.auth.gr

Ο αγριόχοιρος (*Sus scrofa*) είναι ένα από τα πιο σημαντικά θηράματα της Ελλάδας. Τα τελευταία χρόνια παρατηρείται μεγάλη διακύμανση στο πληθυσμιακά μεγέθη του καθώς και στη γεωγραφική του κατανομή. Στα πλαίσια της διαχείρισης του είδους, οι κυνηγητικές οργανώσεις κατά το παρελθόν πραγματοποίησαν προσπάθειες επανεισαγωγής, χρησιμοποιώντας ζώα μεγαλωμένα σε αιχμαλωσία ή προερχόμενα από άγριους πληθυσμούς διάφορων περιοχών της χώρας. Επιπλέον, οικόσιτοι χοίροι εκτρέφονται μέσα στα όρια της γεωγραφικής εξάπλωσης του αγριόχοιρου αυξάνοντας τον κίνδυνο γενετικής διεύθυνσης στους άγριους πληθυσμούς. Μέχρι σήμερα δεν έχει δοθεί ιδιαίτερη σημασία στις επιπτώσεις που έχει η συγκεκριμένη πρακτική για την επιβίωση των άγριων πληθυσμών, ενώ λίγα είναι γνωστά για τα γενετικά χαρακτηριστικά του ελληνικού αγριόχοιρου. Στα πλαίσια μιας ολοκληρωμένης διαχείρισης του είδους οι γενετικές πληροφορίες που αφορούν τους πληθυσμούς και τα άτομα που εμπλέκονται στις επανεισαγωγές έχουν πολύ μεγάλη σημασία. Οι στόχοι της παρούσας μελέτης είναι: α) η εκτίμηση της γενετικής ποικιλότητας στους πληθυσμούς του ελληνικού αγριόχοιρου, β) ο καθορισμός της γενετικής του δομής, γ) η διατύπωση προτάσεων για τη διαχείριση του.

Για το σκοπό αυτό συλλέχθηκαν δείγματα από πολλές περιοχές της γεωγραφικής εξάπλωσης του αγριόχοιρου στην Ελλάδα και έγινε ανάλυση πέντε μικροδορυφορικών δεικτών. Προκειμένου να ταυτοποιηθεί η προέλευση των δειγμάτων, αναλύθηκε και η μιτοχονδριακή περιοχή της D-loop σε 129 αυτόχθονα, απελευθερωθέντα και οικόσιτα άτομα. Η μελέτη είναι σε εξέλιξη με την ανάλυση επιπλέον DNA δεικτών με σκοπό να διατυπωθούν κατάλληλα διαχειριστικά μέτρα για τον ελληνικό αγριόχοιρο.

Η μελέτη υποστηρίχθηκε από την Δ' Κυνηγετική Ομοσπονδία Στερεάς Ελλάδας.

GENETIC IDENTIFICATION OF WILD BOAR IN GREECE

*Alexandri P¹, Triantafyllidis A¹, Chatzinikos E³, Papageorgiou N²,
Abatzopoulos TJ¹, Triantaphyllidis C^{1*}*

*¹School of Biology ²School of Forestry and Natural Environment,
AUTH, 54124, Thessaloniki, Macedonia, Greece*

*³4th Hunting Federation of Sterea Ellada,
Fokionos 8 & Ermou, 10563, Athens, Greece*

**Tel: 2310998309, Fax: 2310998374, e-mail: triant@bio.auth.gr*

Wild boar (*Sus scrofa*) is one of the most important games in Greece. During the last years great variations in the population size and the geographical distribution of the species were observed. In order to ensure the species conservation, hunting federations have undertaken restocking efforts using animals bred in captivity or collected in the wild from various parts of the country. Furthermore, domestic pigs and/or hybrids are reared in the natural habitats of the wild boar, raising the danger of possible introgression of domestic pig genes in the genetic pool of wild boars. At this time no particular attention has been paid to the possible consequences for the autochthonous groups, while little is known about the genetic characteristics of Greek wild boar. For adequate conservation policies, genetic information regarding the populations and the individuals involved in the restocking is of major importance. The aims of this study are to: i) evaluate the genetic variability of the Greek wild boar, ii) define its genetic structure, and iii) formulate conservation guidelines.

Samples have been collected from geographical regions across the species distribution in Greece and genotyped by PCR amplification of five microsatellite loci. In order to identify the possible origin of the samples, the D-loop region of the mitochondrial DNA was analyzed in 129 native, introduced and domestic pigs. This study will be continued with the analysis of additional molecular markers in order to establish a conservation and management policy for Greek wild boar based on genetic data.

This study is financed by the 4th Hunting Federation of Sterea Hellas, Greece.

**ΜΟΡΙΑΚΟΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ T-DNA ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΑΤΩΝ ΤΟΥ
ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟΥ ΠΡΟΣΑΡΜΟΣΤΗ *AtYAF9a* ΣΤΟ *Arabidopsis
thaliana*.**

Ζαχαράκη Β. και Βλαχονάσιος Κ.Ε.

*Εργαστήριο Βοτανικής, Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών
Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη*

Η ακετυλίωση των ιστονών και τα σύμπλοκα που συμμετέχουν στη διαδικασία αυτή συνδέονται άμεσα με τη ρύθμιση της δομής της χρωματίνης και την έκφραση των γονιδίων. Ένα τέτοιο σύμπλοκο είναι και το NuA4, το οποίο χαρακτηρίστηκε αρχικά στη ζύμη και συμμετέχει άμεσα στην ακετυλίωση της ιστόνης H4 και λιγότερο της H2A. Το σύμπλοκο NuA4 αποτελείται από 12 πρωτεΐνες μεταξύ των οποίων είναι η ακετυλοτρανσφεράση των ιστονών ESA1 και η συνεργαζόμενη πρωτεΐνη YAF9. Ο βιολογικός ρόλος του YAF9 στα φυτά δεν είναι ακόμη γνωστός. Το γονιδίωμα του *Arabidopsis thaliana* κωδικοποιεί δύο πρωτεΐνες, τις *AtYAF9a* (At5g45600) και *AtYAF9b* (At2g18000). Τα πολυπεπτιδία των *AtYAF9a* και *AtYAF9b* έχουν μοριακό βάρος 30,2 και 22,9 kDA αντίστοιχα και φέρουν 50% ομοιότητα σε επίπεδο αμινοξικής ακολουθίας. Και οι δύο πρωτεΐνες δείχνουν μεγάλη ομοιότητα στις περιοχές YEATS και A-box με τις ομόλογες πρωτεΐνες της ζύμης, του ανθρώπου και της *drosophila*. Μεταλλάγματα στο *YAF9a* απομονώθηκαν από τη συλλογή των μεταλλάγματων του Ινστιτούτου SALK. Το μετάλλαγμα *yaf9a-1* έχει μια ένθεση T-DNA στο τέταρτο εξώνιο ενώ στο μετάλλαγμα *yaf9a-2* η ένθεση του T-DNA βρίσκεται στο δεύτερο ιντρόνιο. RT-PCR ανάλυση σε ομοζύγωτα μεταλλάγματα *yaf9a-1* επιβεβαίωσε την απουσία mRNA του γονιδίου *YAF9a*. Οι αρχικές φαινοτυπικές παρατηρήσεις δείχνουν ότι το *YAF9a* είναι απαραίτητο για την κανονική ανάπτυξη του *Arabidopsis thaliana*.

**MOLECULAR CHARACTERIZATION OF T-DNA MUTANTS OF
TRANSCRIPTIONAL CO-ACTIVATOR *AtYAF9a* IN *Arabidopsis
thaliana*.**

Zacharaki V. and Vlachonasios K.E.

*Laboratory of Botany, Department of Botany, School of Biology, Faculty of
Sciences, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki*

Histone acetylation and complexes associated with this process are directly involved in higher-order chromatin structure and gene expression. Among these, the NuA4 complex, first characterized in yeast, is directly involved in the acetylation of histone H4 and less in the histone H2a. The NuA4 complex is composed by 12 proteins, among which are the histone acetyltransferase ESA1 and the associated protein YAF9. The biological role of *YAF9* gene in plants is still unknown. *Arabidopsis thaliana* genome encodes two proteins, the *AtYAF9a* (At5g45600) and the *AtYAF9b* (At2g18000). The deduced *AtYAF9a* and *AtYAF9b* polypeptides have predicted molecular weights of 30,2 and 22,9 kDA respectively and share 50% amino acid sequence identity. Both proteins display great similarities with those of yeast, human and drosophila homologs in YEATS and A-box domains. Plants bearing a disruption mutation of the *AtYAF9a* were identified by screening the SALK mutants collection. Two mutations were identified, the first allele, *yaf9a-1* contains a T-DNA insertion in the forth exon and the second allele, *yaf9a-2* contains a T-DNA insertion in the second intron. RT-PCR analysis of homozygous *yaf9a-1* confirmed the absence of full-length *YAF9a* transcript. Preliminary phenotypic analysis of *yaf9a-1* plants suggests that *YAF9a* is essential for plant growth and development.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥ ΔΡΑΣΗΣ ΑΙΘΕΡΙΚΩΝ ΦΩΣΦΟΛΙΠΙΔΙΩΝ ΜΕ ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

Καρακώστα Α., Ξυλούρη Μ., Παπαζαφείρη Π.

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

Τα αιθερικά φωσφολιπίδια (AELs) είναι συνθετικά ανάλογα φωσφολιπιδίων τα οποία ενσωματώνονται στην πλασματική μεμβράνη καρκινικών κυττάρων και την αποδιοργανώνουν, με αποτέλεσμα τη διαταραχή σηματοδοτικών μονοπατιών που σχετίζονται με την κυτταρική επιβίωση. Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν καρκινικά κύτταρα (A431 κύτταρα), στα οποία διερευνήθηκε: 1) η επίδραση μιλτεφοσίνης (HePC) στους δύο κυτταρικούς δείκτες επιβίωσης p-Akt και HIF-1α, 2) η πιθανή σύνδεση του HIF-1α με το μονοπάτι της Akt και, 3) ο ρόλος του ασβεστίου. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η HePC μειώνει τα επίπεδα της p-Akt, τόσο παρουσία όσο και απουσία ορού. Μείωση των επιπέδων της p-Akt παρατηρήθηκαν και παρουσία του Bapta-AM σε αντίθεση με το EGTA όπου παρατηρήθηκαν αυξήσεις των επιπέδων της p-Akt. Παράλληλα βρέθηκε πως η HePC προκαλεί μια μαζική και παρατεταμένη εισροή ιόντων ασβεστίου μέσα στο κύτταρο. Συνεπώς είναι πιθανό, η παρατηρούμενη αναστολή της p-Akt να οφείλεται στην εισροή ασβεστίου μέσα στα κύτταρα. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι παρουσία της HePC, διαπιστώθηκαν αξιοσημείωτες αυξήσεις των επιπέδων του HIF-1α. Οι μεταβολές του HIF-1α που βρέθηκαν παρουσία των EGTA και Bapta-AM, εμφάνισαν όμοιο πρότυπο με το αντίστοιχο των επιπέδων της p-Akt. Επιπλέον, παρουσία του αναστολέα της PI3K κινάσης, wortmannin, παρατηρήθηκε μείωση των επιπέδων του HIF-1α, γεγονός που υποδηλώνει πιθανή σύνδεσή του με το μονοπάτι της PI3K/Akt. Τέλος, σημαντικό ρόλο στην έκφραση των επιπέδων του HIF-1α, φαίνεται να διαδραματίζει και η διαθεσιμότητα των αυξητικών παραγόντων, γεγονός το οποίο ενισχύει την υπόθεση σύνδεσης της έκφρασης του HIF-1α με το μονοπάτι της Akt.

*Η εργασία αυτή χρηματοδοτείται από την Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας
(ΕΠΑν, ΥΒ39)*

INVESTIGATION OF THE MECHANISM OF ACTION OF ANTITUMOR ETHER PHOSPHOLIPIDS

Karacosta L., Xilouri M., Papazafiri P.

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

Antitumor ether phospholipids are unnatural compounds which are directly absorbed into the membranes of cancer cells, resulting in the disturbance of various signaling pathways that promote cell survival. In the present study, human carcinoma A431 cells were used in order to investigate: 1) the effect of the ether phospholipid miltefosine (HePC) on p-Akt and HIF-1 α which regulate cell survival, 2) the possible connection of HIF-1 α with the Akt survival pathway and 3) the effect of calcium on these survival pathways. The results indicated that HePC decreases Akt phosphorylation in both serum containing and serum free medium. Reduced levels of p-Akt were also observed in the presence of the calcium chelator Bapta-AM. On the contrary, EGTA seemed to elevate p-Akt levels. Moreover, we found that HePC causes a massive and long term Ca²⁺ influx. Thus, it is possible that the Ca²⁺ influx caused by HePC, is what actually inhibits Akt phosphorylation. Surprisingly, HIF-1 α levels were greatly increased in the presence of HePC. HIF-1 α response to calcium chelators Bapta-AM and EGTA, were similar to those of p-Akt. In addition, we found that PI3K kinase inhibitor wortmannin, causes a decrease of HIF-1 α protein levels, a finding that strongly suggests a connection with the PI3K/Akt kinase pathway. Finally, it seems that growth factors play an important role in the expression of HIF-1 α , firmly indicating the possible relation between HIF-1 α and the Akt survival pathway.

*This work is funded by the General Secretariat of Research and Technology, Athens,
Greece (EIIAv, YB39)*

ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΚΑΙ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΒΕΝΘΙΚΩΝ ΒΙΟΤΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ ΣΕ ΠΟΤΑΜΟΥΣ ΕΛΛΗΝΙΚΩΝ ΝΗΣΙΩΝ

Κουβαρντά Θ., Κ.Χ. Γκρίτζαλης & Ν.Θ. Σκουλικίδης

*Ελληνικό Κέντρο Θαλασσιών Ερευνών – Ινστιτούτο Εσωτερικών Υδάτων
46, 7 χλμ Αθηνών – Σουνίου, 190 13 Ανάβυσσος*

Οι βενθικοί βιοτικοί δείκτες αποτελούν τις βασικές παραμέτρους προσδιορισμού της οικολογικής ποιότητας των ποταμών. Βασίζονται σε είδη της βενθικής πανίδας, στις ιδιότητές τους (ευαισθησία στη ρύπανση, κύκλοι ζωής, κ.ά.) καθώς και στα οικολογικά χαρακτηριστικά τους. Οι βιοτικοί δείκτες χρησιμοποιούνται και εφαρμόζονται στην Ελλάδα τα τελευταία 20 χρόνια.

Στα πλαίσια του ευρωπαϊκού προγράμματος STAR (www.eu-star.at, “Standardisation of river classifications: Framework method for calibrating different biological survey results against ecological quality classifications to be developed for the Water Framework Directive”, EVK1-2001-00034), πραγματοποιήθηκαν κατά την καλοκαιρινή περίοδο δειγματοληψίες σε έξι νησιά του Αιγαίου και στην Κρήτη σε λεκάνες απορροής μικρού μεγέθους, πυριτικού και ασβεστολιθικού υποστρώματος αντίστοιχα, σύμφωνα με το σύστημα A της Ευρωπαϊκής Οδηγίας 2000/60 για την ποιότητα των υδάτων. Σε κάθε σταθμό εφαρμόστηκε η μεθοδολογία AQEM (www.aqem.de), που έχει πολυενδιαιτημικό χαρακτήρα (multihabitat approach).

Συγκεκριμένα, συλλέχθηκαν δείγματα από τους ποταμούς Γαδουρά στη Ρόδο, Εγγαρές στη Νάξο, Τσίγκο και Αμπελικό στη Λέσβο, Μανωλάτες στη Σάμο, Γριά Βάθρα στη Σαμοθράκη και Άπτερα στην Κρήτη.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, η μεγαλύτερη αφθονία ειδών παρατηρήθηκε στο σταθμό Άπτερα, ενώ η μικρότερη στο σταθμό Γριά Βάθρα. Ο μεγαλύτερος αριθμός ειδών εμφανίστηκε στο Γαδουρά, ενώ ο μικρότερος στις Μανωλάτες. Αναφορικά με τους σαπροβιτικούς δείκτες, αυτοί δεν υπολογίστηκαν γενικώς λόγω της καθαρότητας των νερών και επομένως της απουσίας των μικροοργανισμών που τους καθορίζουν. Από αυτούς, μόνο ο “Zelinka & Marvan” και ο “Dutch Saprobic Index” εμφάνισαν στα Άπτερα κάποιες πολύ χαμηλές τιμές. Ο δείκτης “DSFI (Danish Stream Fauna Index)” δεν υπολογίστηκε σε τρεις σταθμούς (Γαδουράς, Εγγαρές, Γριά Βάθρα) λόγω της απουσίας δεδομένων κατάλληλων για τον υπολογισμό του, ενώ για τον ίδιο λόγο δεν υπολογίστηκε ο “German Fauna Index” στην πλειοψηφία των σταθμών.

Από τους δείκτες ποικιλότητας (Diversity Indices) εφαρμόστηκαν οι “Simpson”, “Shannon-Wiener” καθώς και ο “Margalef”. Τέλος, αποτελέσματα έδωσαν και οι δείκτες “BMWP (Biological Monitoring Working Party)”, “ASPT (Average Score per Taxon)”, “BMWP (Spanish version)”, “BBI (Belgium Biotic Index)”, “IBE (Indice Biotico Estesso)” και “IBE Aqem” που είναι μια τροποποιημένη έκδοση του “IBE” που αναπτύχθηκε στα πλαίσια του Ευρωπαϊκού προγράμματος AQEM.

Ο αντιπροσωπευτικότερος δείκτης σε σχέση με τη φυσικοχημική κατάσταση των νερών είναι ο “BMWP (Spanish version)”. Σύμφωνα με αυτόν, η ποιότητα των σταθμών χαρακτηρίζεται από καλή ως άριστη. Οι δείκτες “IBE”, “IBE Aqem”, “ASPT” και “Evenness” παρουσιάζουν ομοιομορφία αλλά υποβαθμίζουν την ποιότητα των σταθμών.

APPLICATION AND COMPARISON OF VARIOUS BENTHIC BIOTIC INDICES IN RIVERS OF GREEK ISLANDS

Kouvarda, Th., K. C. Gritzalis & N. Th. Skoulikidis

*Hellenic Centre for Marine Research – Institute of Inland Waters
46, 7 km Athens – Sounio Av., 190 13 Anavissos*

Benthic biotic indices comprise the basic parameters for the determination of the ecological quality of rivers. They depend on macroinvertebrate species, their features (pollution sensitivity, life circles, etc.), as well as their ecological characteristics. They have been used and applied in Greece in the last twenty years.

In the framework of the European project STAR (www.eu-star.at, “Standardisation of river classifications: Framework method for calibrating different biological survey results against ecological quality classifications to be developed for the Water Framework Directive”, EVK1-2001-00034), sampling cruises took place on six Aegean Islands and Crete during the summer period. Samples were collected from small river basins of silicate and carbonate substrate respectively, according to the system A of the Water Framework Directive. The multihabitat methodology of AQEM (www.aqem.de) was applied in every site.

Specifically, samples were collected from the rivers Gadouras in Rhodes, Eggares in Naxos, Tsigkos and Ampeliko in Lesvos, Manolates in Samos, Gria Vathra in Samothraki and Aptera in Crete.

According to the results, higher species abundance was observed in Aptera, while the lowest value was recorded in Gria Vathra. Gadouras and Manolates exhibited the highest and lowest number of taxa, respectively.

Saprobial Indices were not calculated in general due to the purity of waters and therefore the lack of organisms that specify them. Low values of “Zelinka & Marvan” and “Dutch Saprobic Index” were recorded only in Aptera. “DSFI (Danish Stream Fauna Index)” was not calculated in three sites (Gadouras, Eggares, Gria Vathra), due to the lack of appropriate data. For the same reason, “German Fauna Index” was not estimated in the majority of sites.

Regarding Diversity Indices, “Simpson” and “Shannon-Wiener”, as well as “Margalef” index were implemented. Finally, “BMWP (Biological Monitoring Working Party)”, “ASPT (Average Score per Taxon)”, “BMWP (Spanish version)”, “BBI (Belgium Biotic Index)”, “IBE (Indice Biotico Estesso)” and “IBE Aqem”, which is a modified version of IBE that was developed in the framework of the European project AQEM, were also applied.

According to “BMWP (Spanish version)”, which is the most representative index in relation to the physico-chemical status of waters, the sites are classified to “good” and “high” quality classes. “IBE”, “IBE Aqem”, “ASPT” and “Evenness” indices present homogeneity, however they degrade the quality status of the sites.

EYPETHPIO

(INDEX)

A

Amawi K., 94,

B

Bogomolova E., 344,

C

Courtot M., 68,

Courty J., 282,

D

Davi F., 78,

Dawn H. Catino, 37,

De Pauw E., 297,

Del Monte F., 25,

Depaulis A., 297,

Diedrich K., 264,

Drysdale A.J., 295, 427,

Dumas Milne Edwards J.B., 297,

F

Foufopoulos J., 390,

Freilich S., 68,

G

Garbuglia A.-R., 62,

Ghia P., 78,

Goldovsky L., 68,

Greenberg D., 297,

Grosveld F.G., 322,

Guo-Chang Fan, 25,

H

Hamidi Alamdiri D., 280,

J

Jackers P., 297,

Jobst R., 88,

K

Kel-Margoulis O., 297,

Kimberly N. Gregory,

25,

Koster F., 264,

L

Laimer M., 412,

M

Marzban G., 412,

McCann M.C., 74,

Mitton B.A., 25,

Murray F., 78,

N

Nday C., 295, 427,

O

Østvold A.C., 94,

P

Panina L., 344,

Penning B., 74,

Platt B., 295, 427,

Portner H.-O., 18,

Pourfarzad F., 322,

Probert L., 186,

Q

Quader H., 312, 314,

R

Richards M.P., 338,
Rosenquist R., 78,
Rost T.L., 6,

S

Soreq H., 297,
Suchentrunk F., 190,

V

Vujasinovic T., 297,

W

Wingender E., 297,

A

Αγάλλου Μ., 2, 252,
Αγγελή Ι.Κ., 4, 42, 72,
Αγγελόπουλος Κ., 174, 234, 340,
Αδαμάκης Σ. Ι-Δ., 6,
Ακουμιανάκη Ι., 58,
Αλατζάς Α., 8
Αλεξανδρή Π. , 428
Αλεξανδρίδης Ν., 10,
Αλεξοπούλου Σ., 124,
Αλεπόρου-Μαρίνου Β., 94,
Αμπατζόπουλος Θ.Ι., 220, 384, 428,
Αναγνωστόπουλος Α., 78, 80,
Αναστασάκης Δ., 12,
Αναστασιάδου Β., 298,
Αναστασιάδου Χ., 14,
Ανδριοπούλου Α., 16, 70,
Ανέστης Α., 18,
Αντσακλής Α., 298,
Αντωνέλου Μ., 200, 254,
Αντωνοπούλου Ε., 44, 82, 128, 156,
210,
Αποστολάκος Π., 222, 312, 314,
Αποστολίδης Α.Π., 50,
Αποστολίδης Π., 324,
Αποστολίδου Μ., 20,
Αραμπατζή Η., 22,
Αρβανίτης Δ.Α., 24, 36, 296,
Αργύρη Ε., 250, 424,
Αρδαβάνης Α., 358,
Αρμπή Μ., 26,
Αρναούτης Α.Β., 228,
Αρσενάκης Μ., 232,
Ασημακόπουλος Β., 66,
Ασημακόπουλος Β., 264,
Αυγέρης Μ.Χ., 258,
Αυλωνίτης Ν., 304,

B

Βαλάκος Ε.Δ., 118, 170, 390,
Βάννα Β.Γ., 28, 30,
Βαρδάκα Ε., 154,
Βαρθολομάτος Γ., 292,
Βασάρα Ε., 32, 88,
Βασιλείου Χ., 22,
Βασιλόπουλος Σ., 34, 122, 358,
Βαφειαδάκη Ε., 24, 36, 296,
Βαφειίδης Δ., 206,
Βελέντζα Β., 264,
Βελέντζα Μ., 58,
Βελέντζας Π.Δ., 38,
Βέρρας Σ., 162,
Βλαχογιάννης Β.Ι., 102,
Βλαχοδημητρόπουλος Δ., 286,
Βλαχονάσιος Κ.Ε., 40, 412, 404, 430,
Βουζούνης Π., 106,
Βουλτσιάδου Ε., 178, 206, 352,
Βραζέλη Π., 220,
Βώκου Δ., 98,

Γ

Γαζούλη Μ., 286,
Γαϊτανάκη Αικ., 4, 42, 72, 158, 252,
372,
Γαλάνης Α., 56, 360,
Γαλάρης Δ., 92,
Γαλάτης Β., 222, 312, 314,
Γαλίδη Α., 408,
Γαπκιάδη Ι., 44,
Γαρεφαλάκη Μ.-Ε., 380,
Γαροφαλάκης Γ., 46,
Γερμανάς Γ.Β., 172,
Γεωργαντά Ε.-Μ., 48,
Γεωργιάδης Α., 50,
Γεωργιάδης Γ., 88,

Γεωργίου Ι., 408,
Γεωργούλης Αν., 94,
Γεωργούλια Π., 52, 360,
Γεωργούση Ζ., 48, 216,
Γιάγκου Μ., 54, 132, 166, 176, 324,
376,
Γιανισλής Γ., 66,
Γιαννακάκης Α., 56,
Γιαννάκη Ε., 132,
Γιαννικόπουλος Ν., 58,
Γκανούλη Μ., 60,
Γκίκας Δ., 64,
Γκιάκα Θ., 66,
Γκιώκας Σ., 170,
Γκουβίτσας Θ., 168, 184, 370,
Γκούο-Τσανγκ Φαν, 24,
Γκούτνερ Β., 418,
Γκριτζαλής Κ., 16, 70, 144, 434,
Γλυκός Ν.Μ., 52,
Γουργού Ε., 72,
Γουρνά Ε., 238,
Γούσια Ε., 148,
Γούτας Ν., 286,

Δ

Δαμιανίδης Π., 178, 180, 352,
Δάρας Γ., 74,
Δαρζέντας Ν., 68, 76, 78, 80,
Δασενάκη Μ., 58,
Δασενάκης Μ., 58,
Δελγιώργη Ε.-Σ., 82, 84,
Δελής Κ., 86, 218,
Δερμιτζάκη Χ., 88,
Δερμιτζάκης Ε., 88,
Δημητριάδης Β.Κ., 120,
Δημόπουλος Ν.Α., 308,
Διαλλινάς Γ., 90,
Δολαψάκης Ν., 90,
Δούλιας Π.-Θ., 92,

Δούμας Μ., 182,
Δραΐνας Κ., 326,
Δρετάκη Ο., 238,
Δρόσος Γ., 94,

Ε

Ελευθερίου Π.Ε., 6,
Ελευσινιώτη Α.Α., 114,
Εμμανουήλ Μ., 186,
Εμμανουηλίδου Α., 96,
Ευαγγελάκου Π., 322,
Ευθυμίου Σ., 256, 392, 394,
Ευθυμίου Γ., 348,

Ζ

Ζαλαχώρας Ι., 98,
Ζαμπούνης Α.Γ., 100,
Ζαχαράκη Β., 430
Ζαφειροπούλου Κ., 102,
Ζενέτου Α., 226,
Ζηνέλης Σ.Α., 104,
Ζήνωνος Ε., 132,
Ζησιμόπουλος Α., 106,
Ζικόπουλος Κ., 408,
Ζίφα Α., 116, 136,
Ζολώτα Ζ., 108,
Ζορμπά Ε., 238,
Ζωγραφίδης Α., 110,

Η

Ηλιάδης Χ., 116,

Θ

Θεοδοσίου Ε., 112,
Θεοδοσίου Θ., 68,
Θεοδωρακοπούλου Α., 340,
Θεοδωρίδου Μ., 198, 364,

Θεοδωροπούλου Μ.Κ., 114,
Θεοτόκης Π., 116, 136,
Θεοφιλίδης Γ., 22, 98, 126, 188, 210,
Θεράπη Π., 118,
Θεσσαλού-Λεγάκη Μ., 226,
Θυφρονίτης Γ., 124,
Θωμόπουλος Γ., 134, 416,

I

Ιτζιου Αικ., 120,
Ιωάννου Κ., 34, 122, 358,

K

Καβροχωριανού Α., 124,
Καγιαβά Α., 126,
Καζαντζίδου Σ., 324,
Καϊμάκης Π., 322,
Καϊτετζίδου Ε., 44, 128,
Κακαγή Κ., 130,
Κακαγιάννη Μ., 132,
Καλαμπούκας Σ., 134,
Καλογεροπούλου Θ., 304,
Καλογιαννη Μ., 120, 108, 208, 214,
334
Καλπαξής Δ.Α., 172, 346,
Κάλφα Η., 122,
Καμινάρη Α., 116, 136,
Καμπάς Κ., 182,
Καμπούρογλου Β., 138,
Καμπουρομύτη Γ., 66,
Καμπράνης Α., 340,
Καναβάρος Π., 92,
Καποδίστρια Κ., 240, 242,
Καπόλας Γ., 110,
Καπώνης Α., 408,
Καραγκούνη Α.Δ., 228,
Καραγκούνη Ε., 2, 194, 252,
Καραϊσκού Ν., 50, 384,

Καρακώστα Λ., 432
Καραμάνος Θ., 140,
Καράμπελα Α., 238,
Καραμπίνα Σ., 102,
Καραμπουρνιώτης Γ., 218,
Καραντώνη Ε., 112, 142,
Καραούζας Ι., 144,
Καρβελά Α., 130,
Καργιώτης Ε., 420,
Καρδάρα Ε., 358,
Καρενά Α., 146,
Καρέτσου Ζ., 96,
Καριώτη Α., 414,
Καρμέζη Μ., 148,
Καρναούρη Α.Χ., 150,
Καρούσου Ρ., 404,
Καστρίτης Π.Α., 152,
Κατεργάρη Σ.Α., 66,
Κατινάκης Π., 86, 406,
Κατούνα Α., 124,
Κατσαντώνη Ε., 94,
Κατσαρός Χ., 386,
Κατσιάπη Μ., 154,
Κατσικάτσου Μ., 148,
Κατσώρης Π., 102, 244, 282,
Καφάς Π., 106,
Καψιμάλη Β., 300,
Κέλλυ Τ., 156,
Κεφαλάς Π., 32,
Κεφαλογιάννη Ε., 158,
Κέφαλος Π., 250, 424,
Κισκήρα Χ., 238,
Κίτσος Μ.-Σ., 260, 328, 336,
Κίττας Χρ., 94,
Κλαδίσκος Ν., 160, 192,
Κλέτσας Γ., 346,
Κοκκαλιάρης Κ.Δ., 162, 250, 424,
Κολαϊτη Ρ.-Μ., 164,
Κολιάκος Γ., 108, 208, 214, 280,

Κολιαμήτρα Χ., 382,
Κολίσης Φ., 112,
Κολοβός Π., 134,
Κοντζέ Ε., 266,
Κονιστή Σ., 292,
Κοντάνα Α., 166, 324,
Κοντογιαννάτος Δ., 168,
Κοντρογιάννη-Κωνσταντοπούλου
Αικ., 24, 36,
Κορμάς Κ., 154,
Κοτσάκης Ε.Α., 228,
Κοτσακιάζη Π., 170,
Κοτσίλα Π., 250, 424,
Κουβαρντά Θ., 70, 144, 434,
Κούβελα Α.Χ., 172,
Κούβελος Α., 174, 340,
Κουγιανού-Κουτσούκου Σ., 164,
Κούκουρας Α., 260, 328, 336, 416,
418, 134,
Κουλούκουσα Μ., 94,
Κουνατίδης Η., 288,
Κουρελής Α., 132, 176, 324,
Κουρεπίνη Μ., 178, 180,
Κουρκούνη Ε., 44,
Κουρτζέλης Ι., 182,
Κούρτη Α., 168, 184, 370,
Κουσέρας Θ., 148,
Κουσουλάκος Σ., 298,
Κουταλέλλης Γ., 258,
Κούτλας Ε., 88,
Κουτρολός Μ., 186,
Κουτσιμπέλα Κ., 188,
Κουτσογιαννούλη Ε., 190,
Κουτσοδήμου Μ., 16, 70,
Κουτσοκέρα Α., 160, 192,
Κουτσώνη Ο., 194,
Κρασιά Ε.Γ., 24, 36,
Κρέη Γ., 128, 196, 198,
Κρέη-Favre L., 128,

Κριεμπάρδης Α., 200,
Κυδωνοπούλου Κ., 202,
Κυραργύρη Β., 394,
Κυριακοπούλου-Σκλαβούνου Π.,
160, 192, 316, 318,
Κυριατζής Γ., 106,
Κυρμιτζόγλου Ι., 204,
Κυροδήμου Μ., 206,
Κωνσταντινίδης Δ., 208,
Κωνσταντινίδου Α., 210,
Κώνστας Α., 280,
Κωσταρίδης Π., 212,
Κωστίδου Ε., 214,
Κωτσαντής Π., 244,

Λ

Λάζαρης Α., 286,
Λαζαρίδου Α., 420,
Λαζαρίδου Μ., 148,
Λάζαρος Λ., 408,
Λάζου Α., 156, 236, 402,
Λαμπαδά Α., 134,
Λάμπρης Ι., 182,
Λαμπροπούλου Μ., 26, 240, 242, 244,
342,
Λανίτης Ε., 56,
Λαουτάρης Ν., 80,
Λασθιωτάκη Ε., 164,
Λεγάκης Γ., 236,
Λεγάκης Α., 16,
Λεονάρδος Ι., 14, 220, 384,
Λεοντιάδης Α.Ι., 216,
Λιακόπουλος Γ., 218,
Λιάσκο Ρ., 220,
Λιβανός Π., 222,
Λιτοπούλου-Τζανετάκη Ε., 132, 176,
Λίτου Ζ., 224,
Λουϊζίδου Π., 226,
Λουμπουρδής Ν., 160, 192,

Λουτράδης Δ., 298,
Λυμπεροπούλου Δ.Σ., 228,

M

Μαβίδης Μ., 134, 328, 336,
Μάγρας Ι.Ν., 230,
Μαΐδου Σ., 232,
Μακρή Α., 234, 340,
Μακρίδου Ζ., 236,
Μαλέα Α., 112, 142,
Μαλούχου-Γκρίμπα Β., 238,
Μάμαλη Ε., 240, 242, 244,
Μαμούρης Ζ., 116, 136, 190,
Μανιάτης Ν., 246,
Μαντενούδη Ο., 380,
Μάντζαρης Ι., 358,
Μανώλη Μ.Σ., 248,
Μανώλης Σ.Κ., 28, 30, 238, 248, 338,
Μαργαρίτης Λ.Χ., 38, 162, 200, 250,
254, 274, 310, 368, 424,
Μαργαρώνη Μ., 252,
Μαργέτης Π., 254,
Μαριδάκη Ε., 116,
Μαρίνος Ε., 94,
Μαρκόπουλος Γ., 292,
Μαρμάρας Β.Ι., 26, 240, 242, 244,
342,
Μαρούλη Ε., 256,
Μαστρή Μ., 42,
Μαυραγάνη-Τσιπίδου Π., 288,
Μαυρίδης Κ., 258,
Μαυρομάτη Ε., 260,
Μαυροφρύδη Ο., 262,
Μεγαλοφώνου Π., 276,
Μελαχροινού Κ., 392, 394,
Μενούνος Π., 322,
Μεταλλινού Χ., 264,
Μηλιώνη Δ., 110,
Μηλούσης Α., 66,

Μητρόπουλος Α., 420,
Μητρούλης Ι., 182,
Μίνος Γ., 130, 266, 330,
Μιχαηλίδης Β., 18, 202, 268, 402,
Μιχαήλ-Κλεφτούρη Κ., 88,
Μιχαλούδη Ε., 84, 354,
Μόσιαλος Γ., 270,
Μουρίκη Δ., 418,
Μουστάκα-Γούνη Μ., 84, 154,
Μούτου Κ., 190,
Μπάγκος Π.Γ., 114, 150, 224, 272,
388,
Μπάκου Β.Ε., 274,
Μπαλατσός Ν. Α.Α., 12,
Μπαμπατζιμοπούλου Μ., 32,
Μπαρδαμάσκος Γ., 276,
Μπαρώνα Φ., 212,
Μπάτσιου Ο., 278,
Μπέης Ι., 4, 42, 72, 158, 372,
Μπέλεση Χ., 78, 80,
Μπεφάνη Χ., 280,
Μπίρμπας Χ., 282,
Μπίτα Θ., 102,
Μπογιατζής Σ.Χ., 284,
Μπόμπορη Δ., 148, 382, 354,
Μπουζιάνη Χ., 88,
Μπούκα Μ., 286,
Μπουκουβάλα Ε., 198,
Μπούμπα Ι., 408,

N

Νάκου Ι., 288,
Νέζης Ι.Π., 38, 274,
Νικηφόρου Μ., 238,
Νικολαΐδης Γ., 60, 278, 332,
Νικολαΐδου Α., 58, 138,
Νικολέττος Ν., 66, 264,
Νικολόπουλος Δ., 218,

Νινιός Ι.Π., 290,
Νουτσόπουλος Δ., 292,
Ντάκου-Ζαμπλάρα Α., 238,
Ντάλλα Β., 32,
Ντανγκάκη Ν., 56,
Ντινοπούλου Β., 298,
Ντότσικα Ε., 2, 194, 252,
Νώση Ε., 300,

Ξ

Ξαπλαντέρη Μ., 172,
Ξήτα Ν., 408,
Ξυδούς Μ., 302,
Ξυλούρη Μ., 304, 432,

Ο

Οικονομίδου Β.Α., 140, 224,
Οικονόμου Σ., 306,
Οικονόμου-Petersen Ε., 200,
Οικονόμου-Αμίλλη Α., 90,
Ορθόπουλος Γ., 364,
Ορφανίδης Σ., 420,
Ουζούνης Χ., 68, 76, 78, 80,
Ουρανού Δ., 308,

Π

Παναγιάρης Γ., 112, 142, 246, 284,
344,
Παναγιωταρόπουλος Θ., 396,
Παναγιωτοπούλου Ε., 284,
Παναγιόπουλος Δ., 162, 250, 310, 368,
424
Παναγούτσος Σ., 182,
Πάνου Η., 156,
Παντελής Ε., 312, 314,
Παπαγεωργίου Ν., 428,
Παπαδημητρίου Χ., 166,
Παπαδόπουλος Δ., 236,
Παπαδοπούλου Μ., 238,

Παπαευαγγέλου Ε., 316, 318,
Παπαευθυμίου Χ., 22, 188, 210,
Παπαζαφείρη Π., 262, 304, 432,
Παπακωνσταντίνου Μ.-Π., 216,
Παπακώστας Κ., 320,
Παπαμαρκάκη Θ., 96,
Παπανδρέου Ν., 140, 152, 224,
Παπασιδέρη Ι., 38, 200, 254, 274,
Παπασπυρόπουλος Α., 288,
Παπαστεριάδη Χ., 300,
Παπαχατζοπούλου Α., 322,
Παπιγγιώτη Ο., 220,
Πάπιστα Χ., 324,
Παπλωματάς Ε., 100,
Παραπούλη Μ., 326,
Παρασκευοπούλου Σ., 328,
Παρασκευοπούλου Τ., 182,
Παρδάλης Β., 106,
Παρλαπάνη Φ., 330,
Παρμενοπούλου Β., 106,
Πασαδάκης Π., 182,
Παταργιάς Θ., 94,
Πατεράκη Χ., 332,
Πατετσίνη Ε., 334,
Πατρινός Γ.Π., 322,
Παυλούδη Χ., 336,
Παφίλης Π., 118, 170, 390,
Περάκη Β., 212,
Περυσινάκης Α., 326,
Πετανίδης Σ., 182,
Πετρίδου Μ., 148,
Πετρική Ο., 148,
Πετρόπουλος Ι., 254,
Πετρουτσά Ε.Ι., 338,
Πετσιάβα Ε., 116,
Πιπέρη Χ., 364,
Πιστική Α., 234, 340,
Πολύδωρος Α., 374,

Πομάκης Ν., 266,
Πουλιλιού Σ., 342,
Πουρνάρας Σ., 136,
Πούρνου Α., 112, 344, 400,
Προμπονά Α., 302,
Προμπονάς Β.Ι., 204,
Πυθαροπούλου Σ., 346,
Πυροβέτση Α., 190,
Πώρρα Μ., 148,

P

Ραδόγλου Κ., 348,
Ράπτη Σ., 112,
Ραφαήλ Σ., 182,
Ρήγας Σ., 74,
Ριζοπούλου Σ., 46, 64, 306, 414,
Ρίτης Κ., 182,
Ροδάκης Γ.Κ., 350,
Ρούλιας Α., 232,
Ρούσου Μ., 352,

Σ

Σακάλογλου Π., 408,
Σαλβαρίνα Ι.Χ., 354,
Σαλίφογλου Α., 294, 426,
Σαλίχος Λ., 62,
Σαλπέα Π., 356,
Σαμαρά Π., 34, 122, 358,
Σαμαράς Π., 166,
Σαμουρκασιδής Π., 360,
Σανδαλτζόπουλος Ρ., 50, 56, 360,
Σανούδου Δ., 24, 36, 296, 362,
Σαρρής Μ., 216,
Σέκερη_Παταργιά Κ.Ε., 290, 302,
356,
Σιαμαντζιούρας Α., 366,
Σιβροπούλου Α., 232,
Σίμου Χ., 118, 390,
Σκαλτσά Ε., 218, 414,

Σκέλλα Α., 118,
Σκιαδά Β., 238,
Σκοπελίτη Μ., 34, 122, 358,
Σκορίλας, Α., 258,
Σκουλικίδης Ν., 16, 434
Σουλάνδρου Α., 364,
Σουλάντζου Δ., 366,
Σούρδη Α., 250, 368, 424,
Σούρδης Ι., 62
Σουρλίγκα Θ.Γ., 290, 302, 356,
Σπηλιωτόπουλος Α., 370,
Σπούλου Β., 364,
Σταθόπουλος Κ., 12, 116, 136,
Σταθοπούλου Κ., 372,
Στάικου Α., 18, 20, 202, 380,
Σταματάκης Α., 396,
Σταματελάτου Β., 178, 180,
Σταμάτης Κ., 116, 136, 190,
Σταματίου Ε., 346,
Σταματοπούλος Κ., 78, 80,
Σταμούλης Κ., 200,
Σταυροπούλου Ε., 250, 424,
Στεργίου Κ.Ι., 398,
Στεριώτη Α., 82,
Στεφανίδης Κ., 298,
Στεφάνου Γ., 308,
Στραβοδήμος Κ., 258,
Στραβοπόδης Δ.Ι., 38, 274,
Στυλιανοπούλου Φ., 396,
Συρανίδου Ε., 416,

T

Τάκος Ι., 348,
Τάνη Ε., 374,
Τέστα Θ., 376,
Τζαβάρας Θ., 292,
Τζανετάκης Ν., 132, 176,
Τζώμος Θ., 260, 416, 418,
Τόλη Ν., 392,

Τριανταφυλλίδης Α., 380, 382, 384, 428
Τριανταφυλλίδης Κ., 378, 428
Τρουγκάκος Ι., 368,
Τρούμπης Α., 366,
Τρούσσα Α., 66,
Τσαγκαμίλης Π., 386,
Τσαγκόζης Π., 194,
Τσάκας Σ., 26, 342,
Τσαούσης Γ.Ν., 388,
Τσάση Γ., 390,
Τσαυτάρης Α., 76, 78, 80, 100, 374,
Τσαχάκη Μ., 392, 394,
Τσέκου Α., 182,
Τσέλιος Θ., 186,
Τσιάρλη Μ., 396,
Τσίκληρας Α., 398,
Τσιπρόφτης Α., 400,
Τσίπτσιος Ι., 88,
Τσιτσιλώνη Ο., 34, 122, 124, 300, 358,

Φ

Φαντινού Α., 370,
Φάσσας Α., 80,
Φασσέας Κ., 74,
Φειδάντσης Κ., 402,
Φλεμετάκης Εμ., 86, 406,
Φουντούλη Α., 8,
Φραντζέζος Γ., 404,
Φριλίγγος Ε., 146, 320,
Φρυγανιώτης Κ., 10, 178, 180, 352,
Φωτεινοπούλου Α., 256,

Φωτέλλη Μ.Ν., 348, 406,

Χ

Χαβάκη Σ., 94,
Χαβδούλα Ε., 162, 250, 310, 368, 424,
Χαλυβόπουλος Γ., 348,
Χαμόδρακας, Σ.Ι., 114, 140, 150, 152, 224, 388,
Χαραλαμπίδης Κ., 110,
Χαραλάμπους Σ., 124, 186,
Χαρίση Δ., 238,
Χατζή Ε., 408,
Χατζηαντωνίου Σ., 32,
Χατζηγεωργίου Α., 410,
Χατζηδημητρίου Α., 68, 78, 80,
Χατζηλουκάς Ε., 326,
Χατζηνικολάου Σ., 226,
Χατζηνίκος Ε., 428,
Χατζησάββα Κ., 412,
Χατζηφώτης Σ., 44,
Χατζόπουλος Π., 74,
Χειμών Χ., 414,
Χιντήρογλου Χ., 10, 178, 180, 352,
Χρηστάκου Ε., 116,
Χριστοδούλου Μ., 416, 418, 328, 336, 352,
Χριστοφορίδης Α., 420,
Χριστοφορίδης Χ., 174,

Ψ

Ψαρχά Κ., 300,
Ψαρροπούλου Κ., 422,