



ΙΟΝΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΤΜΗΜΑ ΞΕΝΩΝ ΓΛΩΣΣΩΝ, ΜΕΤΑΦΡΑΣΗΣ ΚΑΙ ΔΙΕΡΜΗΝΕΙΑΣ

**Μετάφραση και σχολιασμός του άρθρου « Hypoglycemia, Hyperglycemia and
Astaxanthin: An *in Vitro* Alzheimer's Disease Model»**

**Ονοματεπώνυμο
ΧΑΙΡΕΤΑΚΗ ΑΝΤΩΝΙΑ**

Ξ2013082

**Επιβλέποντες καθηγητές
ΚΕΡΑΜΙΔΑΣ ΣΩΤΗΡΙΟΣ
ΛΙΒΑΣ ΣΩΤΗΡΙΟΣ**

Πόλη, 2021

Περιεχόμενα	
Περιεχόμενα.....	2
1.Εισαγωγή	3
2.Πρωτότυπο.....	4
3.Μετάφρασμα.....	17
4.Κειμενική Ανάλυση	31
5.Επί μέρους σχόλια	32
5.1.Ορολογία.....	32
5.2.Όροι με Πολλαπλές αποδόσεις στα Ελληνικά	32
5.3.Ακρωνύμια.....	33
5.4.Έλλειψη Ισοδυναμίας Πάνω από το Επίπεδο της Λέξης	34
5.5.Συμφράσεις.....	34
5.6. Ιδιωματικές Εκφράσεις.....	35
5.7. Διατήρηση του Περιεχομένου, αλλά όχι της Μορφής.....	35
5.8.Παράφραση	36
6.Επίλογος.....	39
7.Γλωσσάριο	40
Βιβλιογραφία	44

1.Εισαγωγή

Η παρούσα εργασία εκπονείται στα πλαίσια της πτυχιακής του τμήματος Ξένων Γλωσσών, Μετάφρασης και Διερμηνείας του Ιονίου Πανεπιστημίου για το ακαδημαϊκό έτος 2020-2021. Το θέμα της εργασίας είναι η μετάφραση και ο σχολιασμός του άρθρου “Hypoglycemia, Hyperglycemia and Astaxanthin: An *in Vitro* Alzheimer’s Disease Model” .Πρόκειται για ένα άρθρο το οποίο μελετά μια πιθανή σύνδεση ανάμεσα στη νόσο Αλτσχάιμερ και το διαβήτη. Η μελέτη αυτή είναι διαθέσιμη για το κοινό στο διαδίκτυο (<https://www.scirp.org/journal/paperinformation.aspx?paperid=97872>).

Τα αποτελέσματα της μελέτης αναφορικά με τη σχέση που υπάρχει μεταξύ της νόσου Αλτσχάιμερ και του διαβήτη είναι εντυπωσιακά. Επιπρόσθετα, το ενδιαφέρον του άρθρου άπτεται της σοβαρότητας του θέματος. Πιο συγκεκριμένα, τόσο η νόσος Αλτσχάιμερ όσο και ο διαβήτης αποτελούν ασθένειες οι οποίες πλήττουν μεγάλο μέρος του πληθυσμού και οι οποίες ακόμα μελετούνται τόσο ως προς τις επιπτώσεις τους όσο και ως προς τους παράγοντες που τις γεννούν.

Ο τρόπος γραφής του άρθρου είναι επιστημονικός, περιλαμβάνει πλήθος ορολογιών ουσιών και διαδικασιών ωστόσο είναι απλό και κατανοητό. Το κείμενο εμφανίζει ορισμένες δυσκολίες για τον μέσο αναγνώστη που αφορούν κυρίως τους όρους που χρησιμοποιούνται, ωστόσο είναι κατάλληλο για ειδικούς στον τομέα της υγείας που μελετούν το συγκεκριμένο θέμα.

2.Πρωτότυπο

Abstract

Alzheimer's Disease is projected to increase to 30 million people in the next 30 years and the rate of diabetes mellitus is projected to rise also. Hyperglycemia is commonly observed in patients with diabetes mellitus, and hypoglycemia is a common consequence due to insulin therapy. Previous research has shown a potential link between Alzheimer's disease and diabetes. This study sought to determine if Astaxanthin (ATX) could prevent mitochondrial dysfunction from the compounded effects of amyloid β ($A\beta$) plaque and hypoglycemia or hyperglycemia. Growth patterns, ATP production, and ROS generation were examined in 2 μ M, 5 μ M, 25 μ M (hypoglycemic groups), 2 mM, 5 mM (normal groups), and 25 mM glucose (hyperglycemic group), and then treated with or without ATX or $A\beta$. When hypoglycemia groups and the hyperglycemia group were treated with ATX, their growth patterns were either comparable to control or increased. ATX and $A\beta$ treated cells demonstrated increased growth patterns over cells treated with $A\beta$ alone. $A\beta$ alone treated groups overall had significantly less growth than controls ($p < 0.05$). Hypoglycemic groups produced overall low levels of ATP, and the hyperglycemia group produced high levels of ATP. Cells cultured with $A\beta$ demonstrated low levels of average fluorescence generated by ROS production as determined by MitoSox assay while ATX groups actually produced higher to normal levels of ROS. Cells grown in the presence of $A\beta$ and ATX generally produced more ROS than just $A\beta$ groups. Thus, hypoglycemia and hyperglycemia do appear to compound the effects of $A\beta$ on hippocampal cells. ATX treatment demonstrated promise with increased cellular growth, which promoted usage of ATP by the cell and ROS production. This growth was present even in the presence of $A\beta$, suggesting that ATX is able to overcome the negative effects of $A\beta$.

1. Introduction

Alzheimer's Disease (AD) is a neurodegenerative disease involving the progressive loss of memory and mental function that affects approximately 5.8 million people in the United States in 2019 [1]. Despite the prevalence of this disease, few treatment options are available, and no cure exists [2]. A hallmark of AD is the presence of

amyloid beta peptide ($A\beta$) deposition in the brain [3]. $A\beta$ peptides are known to increase reactive oxygen species (ROS) production [4] [5] [6]. $A\beta_{1-42}$ has also been shown to enhance insulin receptor substrate phosphorylation, which an antioxidant known as astaxanthin was able to reduce and to reverse the cognitive and memory deficits caused by amyloidogenic effects in the hippocampus [7]. $A\beta$ increases the number of mitochondria with mutated mtDNA, contributing to higher oxidative stress [8] [9] [10].

ROS are produced from the partial reduction of O_2 at the end of the electron transport chain. When O_2 is only partially reduced, it produces reactive oxygen species, such as superoxide anion, hydrogen peroxide, and a hydroxyl radical, that change the structure of proteins, lipids, and nucleic acids and lead to cell death [5] [11].

ROS production may vary due to the presence of high blood glucose levels (hyperglycemia), typical of Diabetes Mellitus (DM). DM is a risk factor for Alzheimer's Disease; connecting diabetes-related mechanisms to actual AD pathology [12] [13]. Interestingly, hypoglycemia and hyperglycemia have been shown to cause an increase in ROS production and cognitive dysfunction [14] [15]. The signaling pathways triggering hyperglycemia also play a part in DM symptoms by increasing ROS, oxidative stress, and cellular death and necroptosis [16] [17] [18]. Hypoglycemia in type 1 diabetes damages working and long-term memory as a result of oxidative stress [19]. Hyperglycemia is a major contributor to ROS production and other damage in type 2 diabetes [20].

Astaxanthin (ATX) is a carotenoid produced by aquatic microorganisms that is then ingested into marine wildlife, including salmon, shrimp, lobster, and crayfish. ATX can cross the blood-brain barrier and scavenge ROS in the brain [21]. ATX does accumulate in the hippocampus 4 and 8 hours after a single dose and increases over time [22]. ATX has also been shown to be neuroprotective against $A\beta_{1-42}$ -mediated toxicity in PC-12 neuronal cells and against hypoglycemic conditions [14] [23]. Under normal blood glucose levels, ATX was found to ameliorate the mitochondrial dysfunction caused by $A\beta$ [14]. This paper looks at the effectiveness of ATX in reducing oxidative stress in neurons as determined by ROS and ATP production under hypoglycemic and hyperglycemic conditions.

2. Materials and Methods

2.1. Cell Culture

A mouse hippocampal cell line (NE-4C) was purchased from ATCC (CRL-2925), along with Eagle's Minimum Essential Medium (EMEM) and Fetal Bovine Serum Albumin (FBS). The EMEM was supplemented with Pen Strep at a concentration of 0.99% to reduce microbial growth. Once the cells were thawed, the EMEM and Pen Strep medium was mixed with FBS to a final concentration of 15%. This total 20 mL medium was prepared and warmed in a 37°C water bath. Warm EMEM/FBS medium was then added drop-by-drop to the cell solution in a 1/10 dilution and mixed. Cells were then spun down at 1K for 5 minutes, and the supernatant was removed, and warm EMEM/FBS medium was added to the cell pellet in a 1/8 dilution and mixed. The cells were incubated at 37°C, and the medium was changed every two to three days. Once the desired cell population was reached, the cells were split and frozen in a -80°C freezer.

2.2. Neuronal Differentiation

For the ATP and MitoSOX assays, the cells were thawed and then differentiated. Neuronal differentiation was accomplished using retinoic acid (RA) at a concentration of 10^{-7} M for 24 hours [24], then cells were washed in warm PBS at 37°C. During the 24-hour retinoic acid exposure, the cells were grown in the EMEM/FBS medium in an incubator at 37°C. After 24 hours, the cells were washed with warm PBS at 37°C and challenged based on their conditional groups, either G, GA β , GATX, or GA β ATX for 2 μ M, 5 μ M, 25 μ M, 2 mM, 5 mM, and 25 mM glucose groups. The cultures were exposed to the group condition outlined above for 24 hours, washed with PBS at 37°C, and then, either a luciferase assay or MitoSOX assay was performed.

For the GA β or GA β ATX conditional groups, A β ₁₋₄₂ was obtained from Sigma Aldrich and was then dissolved in sterile DMSO to make a 0.5 mM stock solution. Cells in the GA β and GA β ATX groups were incubated with a concentration of 2 μ M A β ₁₋₄₂ for 24 hours. Astaxanthin was also obtained from Sigma Aldrich and dissolved in sterile DMSO to make a 0.1 μ M stock solution. Cells were then incubated with ATX at a concentration of 10 nM for 24 hours. Cells in the GATX and GA β ATX groups were incubated with a concentration of 10 nM ATX for 24 hours.

2.3. ATP Luciferase Assay

Cells for this assay were grown in Eppendorf tubes. Under hypoglycemic conditions, only two challenges were performed due to the results obtained from controls. Based on the exposure groups, the cells were incubated with their specific glucose and/or treatment exposure, 2 μ M of A β ₁₋₄₂, or 10 nM ATX for 24 hours. Glucose challenge and glucose with ATX exposure groups were tested. This was due to the very small luminescence of the groups compared to ATP concentrations. Intracellular ATP in the cells of the different exposure groups were measured utilizing Firefly Lantern Extract from Sigma-Aldrich and ATP hydrate from Sigma-Aldrich. 100 μ l experimental and control samples were boiled for 3 minutes at above 95°C. Samples were then removed from the boiling water and cooled briefly, and the boiled sample was transferred to the scintillation vials. This solution was then diluted with 1 mL double deionized water.

To each of these vials, Firefly Lantern Extract was added. After the addition of the luciferase, the samples were capped and mixed and stood in the dark for five minutes. Measurements were performed using a scintillation counter with 1-minute readings on a wide band setting. Known concentrations of ATP were used for a standard curve to help calculate the ATP concentration in each sample. ATP concentrations were then plotted using this standard curve to determine differences between the different experimental groups.

2.4. MitoSOX Assay

Cells for this assay were cultured on cover slips within petri dishes. Cells were exposed to RA at 10⁻⁷ M for 24 hours for cellular differentiation. The RA was added into the EMEM/FBS medium. After the 24 hour-incubation period, the cells were washed with warmed PBS at 37°C. Based on the exposure groups, the cells were incubated with their specific glucose and/or treatment exposure group condition, 2 μ M of A β ₁₋₄₂, or 10 nM ATX for 24 hours. Before the end of the cell exposure period was over, the 5 mM MitoSOX stock solution was made from vials obtained from Thermo Fisher Scientific. At the end of the exposure period, cells were washed with warmed PBS at 37°C and incubated at 37°C with a 5 μ M MitoSOX solution for 10 minutes. Cells were then removed from the incubator and washed three times with warmed PBS at 37°C, and then suspended in warmed PBS. Cells were then imaged using a fluorescent microscope. Obtained pictures were analyzed via Image Pro 6. Once images were taken, the cover slips were prepped and mounted on slides.

2.5. Data Analysis

Data was collected and analyzed using Image Pro 6 to obtain mean fluorescence values for the entire image, and three-point region analysis was performed on the brightest regions. Alterations in glucose and varied chemical challenges were compared by one-way analysis of variance. A p-value of $p < 0.05$ was considered statistically significant.

3. Results

Cell growth, ATP production, and ROS production were measured and analyzed for significant changes between the control and experimental groups. The following presents the results of the four groups under hypoglycemic and hyperglycemic conditions (G, GATX, $\text{GA}\beta$, and $\text{GATXA}\beta$) in 2 μM , 5 μM , 25 μM , 2 mM, 5 mM and 25 mM glucose.

3.1. Cell Growth

Cell growth was assessed based on the percentage of the total coverslip coverage. These coverslips appeared sheet-like in growth. Cell growth was not significantly different among the different glucose groups ([Figure 1\(a\)](#)), but cell growth was decreased among groups treated with $\text{A}\beta$ ([Figure 1\(b\)](#)). The $\text{A}\beta$ and ATX group grew better than the $\text{A}\beta$ group, but still showed growth difficulties compared to the control (glucose) and glucose ATX groups.

3.2. ATP Assay—Hypoglycemia

A Luciferase firefly assay was used to measure ATP output after growth. The 2 μM , 5 μM , and 25 μM glucose exposure groups had lower ATP concentrations than the zero ATP concentration standards, and the values were corrected to zero. Cells challenged with glucose demonstrated significantly different ATP output values. The hypoglycemic exposure groups, 2 μM G, 5 μM G, and 25 μM G demonstrated very low levels of ATP production when compared to the normal glucose concentrations of 2 mM G and 5 mM G.

3.3. ATP Assay—Hyperglycemia

When comparing the ATP production of the glucose-only groups, the 25 mM glucose group produced more ATP than the 5 mM group. The 25 mM glucose group produced

242.7% more ATP than the 5 mM group. The 25 mM glucose group with ATX produced 255.8% more ATP than the 5 mM group. The 25 mM glucose group with A β produced 391.5% more ATP than the normal glucose group, the highest increase among the four test groups (control, GATX, GA β , and GATXA β). Finally, the 25 mM groups treated with A β and ATX demonstrated high ATP levels, but the levels of ATP production fell between the 25 mM GATX and the 25 mM GA β groups. Among the 5 mM G groups, the 5 mM control group produced the most ATP. Among the 25 mM G groups, the 25 mM GA β group produced the most ATP.

3.4. MitoSOX Assay—Hypoglycemia

Cells were imaged on a fluorescent light microscope at 5x intensity. High output of fluorescence indicated high stress and high ROS output. All cells are expected to fluoresce because any cell undergoing cellular respiration produces a small fraction of ROS through the process, but this assay identified cells producing abnormally high or low amounts of ROS. Some of the lowest levels of glucose produced the most fluorescence, indicating the most ROS production, indicating high stress. 2 μ M G produced the greatest amount of fluorescence. When compared to the normal glucose group 5 mM G, the only groups showing a significant difference were the 5 μ M G and 25 μ M glucose concentrations.

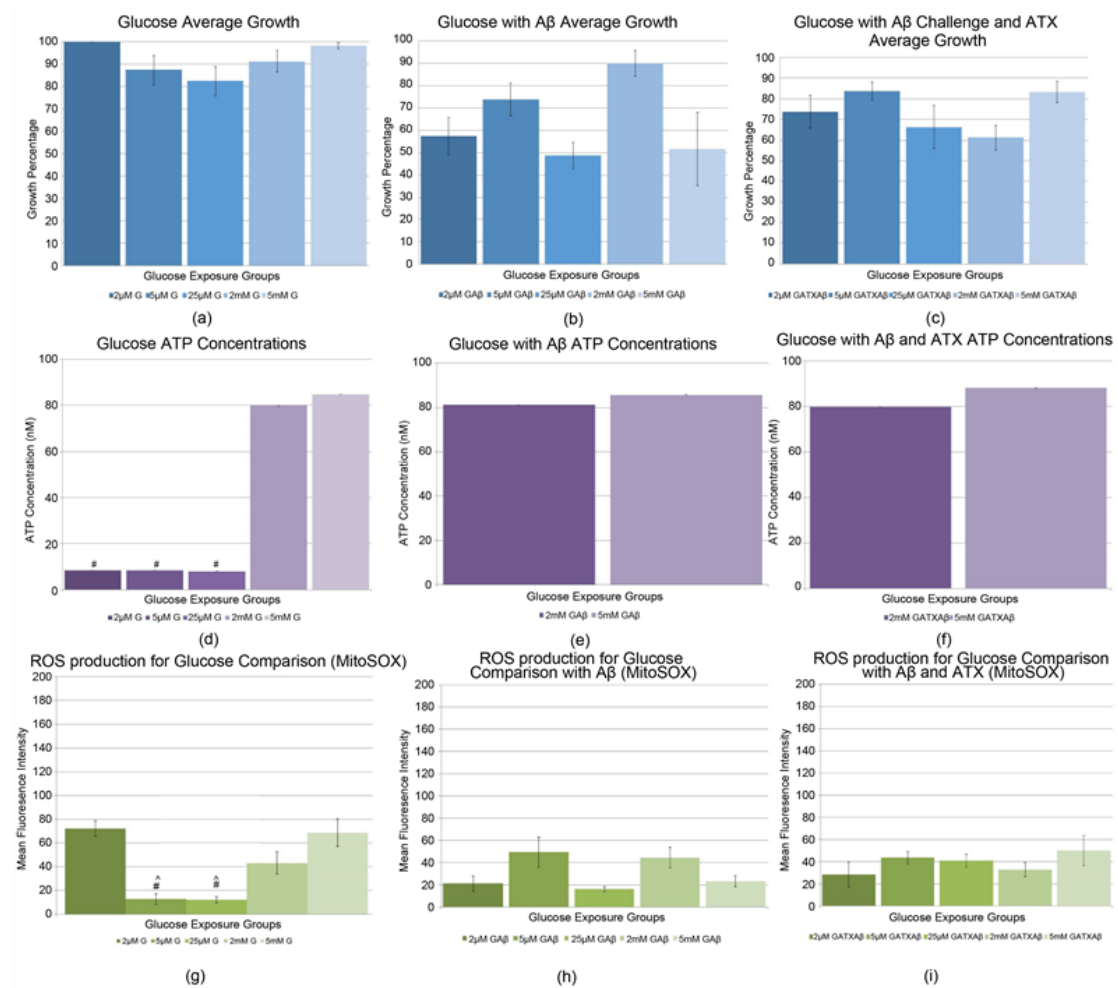


Figure 1. Cells challenged in hypoglycemia glucose concentrations demonstrate altered growth. (a) Cells exposed to different glucose concentrations did not show significant difference in growth. The 2 μ M and 5 mM G groups grew the best, while the 5 μ M G, 2 mM G and 25 μ M G demonstrated poor growth. (b) Cells exposed to A β exhibited decreased growth, and the 2 mM GA β group grew the best. The 2 μ M GA β group demonstrated slightly decreased growth compared to the 2 mM GA β group, while the 25 μ M GA β and 5 mM GA β demonstrated notable decreases in growth. (c) Cells exposed to ATX grew well and showed statistical differences in growth. Cell exposed to both A β and ATX, exhibited increased growth for all glucose concentrations. The 2 μ M GATXA β , 25 μ M GATXA β , 5 μ M GATXA β , and 2 mM GATXA β demonstrated decreased growth compared to the 5 μ M group. (d) Hypoglycemia groups demonstrated very low levels of ATP concentration compared to the 2 mM G and 5 mM G groups. For the GA β , GATX, and GATXA β groups, only 2 mM and 5 mM groups produced ATP concentrations high enough to be measured. (e) The 2 mM GA β groups showed decreased ATP concentrations compared to the 5 mM GA β group. (f) The 2 mM

GATXA β group demonstrated lower ATP concentration than the 5 mM GATXA β . (g) For ROS production, the 25 μ M G and 5 μ M groups demonstrated significant decrease in fluorescence compared to the 2 μ M G group, which is the lowest glucose concentration and produced the most ROS. (h) All GA β demonstrated decreased ROS production and were compared to 5 μ M GA β due to its low to normal levels of ROS production. The most significant decreases were seen for the 2 μ M GA β and 25 μ M GA β , and the 2 mM group demonstrated a slight decrease. (i) A β and ATX Group demonstrated lower levels of fluorescence and ROS output across all glucose concentrations. None of the groups were statistically different. 2 μ M GATXA β and 2 mM GATXA β had the lowest ROS production. *indicates $p < 0.05$ when compared with the control (5 mM). #indicates $p < 0.01$ when compared with the control. ~ indicates $p < 0.05$ when compared to 2 μ M. ^indicates $p < 0.01$ when compared to 2 μ M.

These results indicate that cell growth, ATP production, and ROS production was different among the different glucose groups. We also explored the other extreme of glucose concentration: hyperglycemia or high blood glucose. The following results come from treating the four experimental groups (G, GATX, GA β , and GATXA β) with 5 mM and 25 mM glucose levels.

3.5. MitoSOX Assay—Hyperglycemia

ROS production was determined by conducting MitoSOX (ROS) assays and measuring mean fluorescence ([Figure 2](#)). ROS production was different for groups with different glucose concentrations, A β and/or ATX. The hyperglycemic

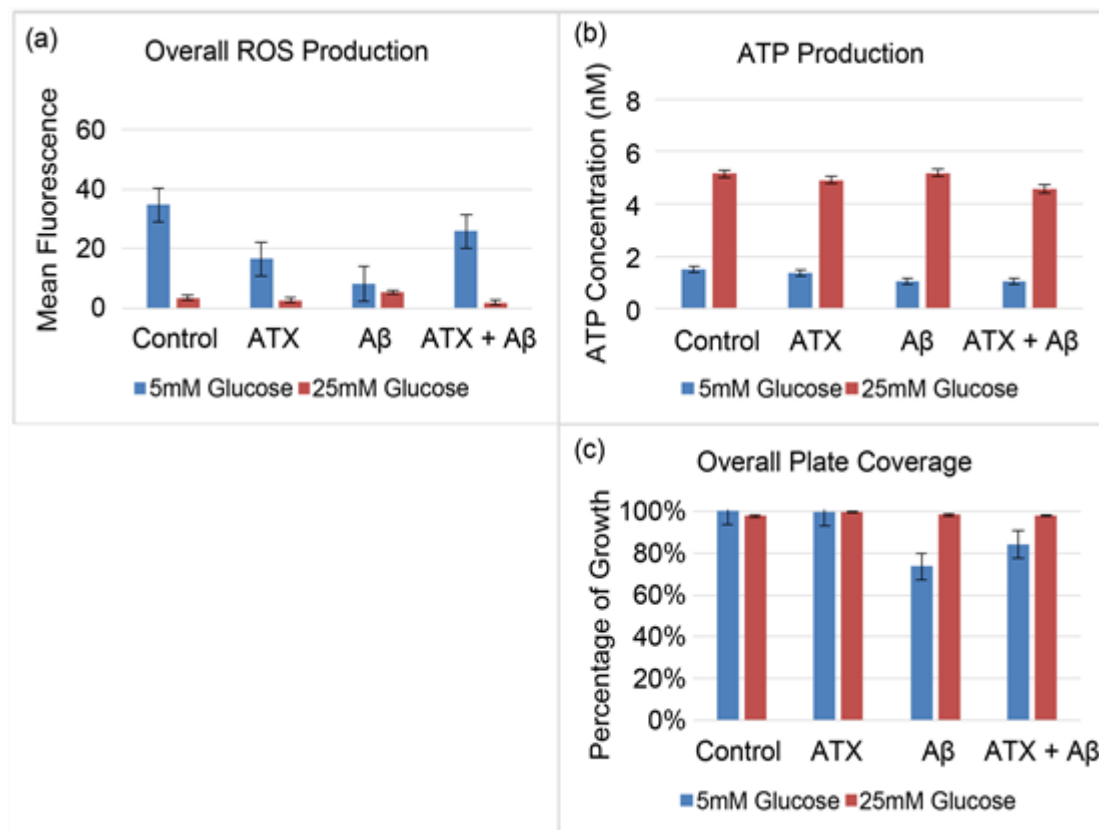


Figure 2. (a) Groups exposed to hyperglycemic concentrations produced higher ATP concentrations. The 25 mM G produced more ATP than the 5 mM G. The hyperglycemia group exposed to ATX produced high ATP concentrations. Hyperglycemia groups exposed to A β produced very high levels of ATP, as the 25 mM group produced 391.5% more ATP than the 5 mM group. Hyperglycemia groups exposed to both A β and ATX produced lower levels of ATP. Bars indicate standard error for each condition. ● indicates the 25 mM treatment is significant from its corresponding 5 mM equivalent. ▲ indicates that the 25 mM ATX was significantly different than the 5 mM ATX treatment. (b) ROS production was greatly decreased in the 25 mM glucose group. The 5 mM control group produced more ROS than the 25 mM control group. ROS production was significantly decreased in the 25 mM GATX group compared to the 5 mM GATX group. ROS production was slightly decreased in the 25 mM GA β group compared to the 5 mM GA β group. ROS production was greatly decreased in the 25 mM GATXA β group compared to the 5 mM GATXA β group. (c) Overall plate coverage varied between the two experimental groups. The hyperglycemic control group grew less than its 5 mM counterpart. The 25 mM GATX group did not grow significantly more than its 5 mM counterpart. The 25 mM GA β and GA β ATX groups both grew significantly more than the 5 mM GA β and GA β ATX

groups. * indicates the 25 mM treatment is significant from its corresponding 5 mM equivalent.

group produced 89.6% less ROS than the normal glucose group (Figure 2(b)). The 25 mM glucose group treated with ATX produced significantly less ROS than the 5 mM ATX group. The 25 mM glucose group treated with A β produced 34.4% less ROS than the 5 mM A β group. The 25 mM glucose group treated with ATX and A β produced 91.9% less ROS than the 5 mM ATX and A β group, but this difference was not statistically significant.

Among the 5 mM glucose groups, the control group produced the most ROS, and there was a significant reduction in ROS production observed in the 5 mM GA β compared to the 5 mM control ($p < 0.05$). Among the 25 mM glucose groups, the A β group produced the most ROS, followed closely by the control group. Overall, the 25 mM glucose groups produced less ROS than the 5 mM glucose groups.

4. Discussion

This paper sought to explore if astaxanthin could prevent mitochondrial dysfunction, observed through mitochondrial ROS output, and cell viability as observed through ATP production and cell growth. Under hypoglycemic conditions with A β treatment, cells produced very low ATP concentrations, had increased ROS production, and decreased cell growth. Introduction of astaxanthin in the GA β ATX group indicated that ATX may prolong neural cell viability under these conditions.

The results varied among the three hypoglycemia groups (2 μ M, 5 μ M, 25 μ M). In the severe hypoglycemia 2 μ M glucose exposure group, the cells exposed to A β exhibited decreased growth and decreased fluorescence in the MitoSOX assay. The cells therefore exhibited decreased ROS production, mirroring typical cell responses to A β . When exposed to A β , cells demonstrated increased mitochondrial dysfunction observed by high levels of ROS production. Cells also typically showed decreased cellular function with lower cell growth and low ATP production. When the 2 μ M glucose exposure group was exposed to both A β and ATX, cell growth increased as did mean average fluorescence compared to the 2 μ M GA β group. This indicates that the cells are likely not dead but may be in the process of dying, so ATX may help to prolong neuronal cell viability in the presence of A β . ATP assays were not conducted for GA β

or GA β ATX groups, as G and GATX groups produced very low ATP levels at 2 μ M. This indicates that when glucose levels are exceedingly low, the cell is producing very low levels of ATP, possibly the bare minimum amount of ATP required for cell function.

In the 5 μ M glucose exposure group, cell growth and ATP production were very similar to the 2 μ M exposure group. The 5 μ M GATX grew the best and produced the highest mean fluorescence average in the MitoSOX assay among the different glucose ATX groups. Abnormally high or low ROS levels indicate cell stress, but the levels observed among the 5 μ M glucose groups indicate that the cells are flourishing and likely had more functional mitochondria to produce normal ATP levels. Similar to the 2 μ M GA β exposure groups, the 5 μ M GA β challenged group again demonstrated the lowest growth of all the 5 μ M groups. The 5 μ M GA β demonstrated increased mean fluorescent levels compared to the 2 μ M GA β indicating a cell stress response to cell A β . The 5 μ M GA β ATX group exhibited both increased growth and mean fluorescence levels. This increase in mean fluorescence and hence ROS production was likely due to normal ATP production as opposed to cell stress.

The 25 μ M glucose exposed group, similar to the other two hyperglycemia groups, grew the least and produced very little fluorescence. This decrease in fluorescence may be the result of decreased growth or increased cell death. The 25 μ M G group exhibited the least growth when compared to lower glucose concentrations (2 μ M and 5 μ M) as well as very low ATP concentration and ROS production. The 25 μ M GA β ATX did however grow and produced low to normal fluorescence, showing that among the three hypoglycemic conditions, the addition of ATX to A β -exposed groups protected against ROS production and promoted cell growth.

The other two glucose groups (2 mM and 5 mM) grew well except for the 2 mM GA β ATX group which exhibited the lowest ATP concentration and fluorescence production (indicating the cells were viable and using the ATP produced). The 5 mM GA β ATX group demonstrate increased growth, increased ATP and normal mean fluorescence levels. The 2 mM GATX group grew the best among the 2 mM groups and provided normal ATP concentration and fluorescence production totals. The 5 mM GATX group exhibited decreased growth with slightly increased ATP concentration and low fluorescence production. The 5 mM GATX cells were therefore able to produce

more ATP and hence more ROS, but the ATX group did not display a decrease in mitochondrial dysfunction compared to glucose exposed. The 2 mM GA β group grew and produced the most ATP and fluorescence among the 2 mM groups, indicating the presence of cell stress after being exposed to A β . The ATP production indicated that the cells were making ATP, which would increase ROS production, but the cells did not appear to be using this ATP. The ATP that was produced but was not used may be stored in vesicles, a question that should be explored in future studies. The 5 mM GA β group exhibited the lowest growth, ATP concentration, and ROS production of the 5 mM groups.

The hyperglycemic groups demonstrated increased cell growth and ATP production due to increased availability of glucose, but this availability also contributes to increased ROS. Among the 5 mM glucose groups, the 5 mM GA β group exhibited the least growth and the lowest ROS production, along with low ATP concentrations. The low ROS production may relate to the lower rate of ATP production, and the low ATP and ROS levels indicate the cells had died or were dying when the Luciferase and MitoSOX assays were performed. Among the 5 mM glucose groups, the 5 mM GA β ATX group ROS output was not statistically different from the 5 mM glucose control. This indicates that the mitochondria in the 5 mM GA β ATX groups were functioning similar to the control, leading us to conclude that ATX can protect the neuronal cells from A β stress and mitochondrial dysfunction. The ATP concentration ranged 1 μ M - 80 μ M for sample.

The 25 mM hyperglycemic groups exhibited similar growth. The 25 mM GA β and 25 mM GATX groups exhibited the most growth, and the 25 mM GA β produced more ROS than the other groups, but the difference between the two groups was not statistically significant. ROS production was very low, and 25 mM groups produced more ATP than the 5 mM groups consistent with greater amount of glucose available for the cells to use. Despite this difference between glucose groups, none of the 25 mM glucose groups exhibited significant differences in ATP compared to one another.

5. Conclusions

The purpose of this paper was to demonstrate an in vitro model for Alzheimer's Disease could be used to investigate the effects of blood sugar concentration on the ability of Astaxanthin to function as an antioxidant. When examining both hypoglycemic and

hyperglycemic conditions, we noted that during the hypoglycemic part of this study, a combination of A β and hypoglycemia together cause an increase in ROS production, likely by increasing mitochondrial dysfunction. While ATX may aid in reducing ROS production and increasing growth of cells, its effects did not largely vary among glucose concentrations. Among the GA β ATX groups, the cells grew and produced ROS. An additional study may be required to explore the number of cells responsible for ROS production. Cell counts and cells assays will need to be performed. Our laboratory will proceed with cell death assays to test if cells are viable. The hyperglycemic part of this study indicated that ATX does bear neuroprotective effects against A β and can improve mitochondrial function.

Our laboratory has therefore demonstrated Astaxanthin's ability to promote cell growth in vitro in hypoglycemic, normal glucose, and hyperglycemic solutions as well as when challenged by A β . The data presented in this study therefore supports ATX's role in promoting cell growth in both normal, DM (hypoglycemia and hyperglycemia), and AD (A β) disease states. This data also supports recent rat model studies demonstrating the neuroprotective effects of ATX. ATX has been shown to promote adult hippocampal neurogenesis in the hippocampus in a concentration-dependent manner and to increase spatial memory in mouse models [25]. ATX has been shown to reduce inflammation and reduce cognitive deficiency in diabetic mice [26]. ATX had been shown to be neuroprotective against hippocampal insulin resistance, a consideration for DM patients. Our study therefore supports previous research in the field calling for further investigation into the use of ATX as a potential treatment for Alzheimer's Disease.

3.Μετάφρασμα

Σύνοψη

Η νόσος Αλτσχάιμερ προβλέπεται να αυξηθεί σε 30 εκατομμύρια άτομα τα επόμενα 30 χρόνια και το ποσοστό του σακχαρώδη διαβήτη προβλέπεται επίσης να αυξηθεί. Η υπεργλυκαιμία παρατηρείται συνήθως σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη και η υπογλυκαιμία είναι μια συχνή συνέπεια λόγω της θεραπείας με ινσουλίνη. Προηγούμενες έρευνες έχουν δείξει μια πιθανή σχέση μεταξύ της νόσου Αλτσχάιμερ και του διαβήτη. Αυτή η μελέτη επεδίωξε να καθορίσει εάν η ασταξανθίνη (ATX) θα μπορούσε να αποτρέψει τη μιτοχονδριακή δυσλειτουργία από τις σύνθετες επιπτώσεις της πλάκας αμυλοειδούς β (Αβ) και της υπογλυκαιμίας ή της υπεργλυκαιμίας. Τα πρότυπα ανάπτυξης, η παραγωγή ATP και η παραγωγή ROS εξετάστηκαν σε 2 μM, 5 μM, 25 μM (υπογλυκαιμικές ομάδες), 2 μM, 5 μM (φυσιολογικές ομάδες) και 25 μM γλυκόζης (υπεργλυκαιμική ομάδα) και στη συνέχεια υποβλήθηκαν σε θεραπεία με ή χωρίς ATX ή Αβ. Όταν οι ομάδες υπογλυκαιμίας και η ομάδα υπεργλυκαιμίας υποβλήθηκαν σε θεραπεία με ATX, τα πρότυπα ανάπτυξής τους ήταν είτε συγκρίσιμα με τον έλεγχο είτε αυξημένα. Τα κύτταρα που έλαβαν θεραπεία με ATX και Αβ επέδειξαν αυξημένα πρότυπα ανάπτυξης σε σχέση με τα κύτταρα που έλαβαν θεραπεία μόνο με Αβ. Οι ομάδες που έλαβαν θεραπεία μόνο με Αβ είχαν συνολικά σημαντικά μικρότερη ανάπτυξη από ό,τι οι ομάδες ελέγχου ($p < 0,05$). Οι υπογλυκαιμικές ομάδες παρήγαγαν συνολικά χαμηλά επίπεδα ATP, ενώ η ομάδα υπεργλυκαιμίας παρήγαγε υψηλά επίπεδα ATP. Τα κύτταρα που καλλιεργήθηκαν με Αβ παρουσίασαν χαμηλά επίπεδα μέσου φθορισμού που παράγονται από την παραγωγή ROS, όπως προσδιορίστηκε με τη δοκιμασία MitoSox, ενώ οι ομάδες ATX παρήγαγαν στην πραγματικότητα υψηλότερα έως φυσιολογικά επίπεδα ROS. Τα κύτταρα που καλλιεργήθηκαν παρουσία Αβ και ATX παρήγαγαν γενικά περισσότερες ROS από ό,τι οι ομάδες μόνο Αβ. Έτσι, η υπογλυκαιμία και η υπεργλυκαιμία φαίνεται να επιτείνουν τις επιδράσεις της Αβ στα κύτταρα του ιππόκαμπου. Η θεραπεία με ATX έδειξε πολλά υποσχόμενη με αυξημένη κυτταρική ανάπτυξη, η οποία προώθησε τη χρήση του ATP από το κύτταρο και την παραγωγή ROS. Αυτή η ανάπτυξη ήταν παρούσα ακόμη και παρουσία Αβ, γεγονός που υποδηλώνει ότι η ATX είναι σε θέση να ξεπεράσει τις αρνητικές επιδράσεις του Αβ.

1.Εισαγωγή

Η νόσος του Alzheimer (NA) είναι μια νευροεκφυλιστική νόσος που συνεπάγεται την προοδευτική απώλεια της μνήμης και των νοητικών λειτουργιών και επηρεάζει περίπου 5,8 εκατομμύρια άτομα στις Ηνωμένες Πολιτείες το 2019 [1]. Παρά τον επιπολασμό αυτής της νόσου, είναι διαθέσιμες λίγες θεραπευτικές επιλογές και δεν υπάρχει θεραπεία [2]. Χαρακτηριστικό γνώρισμα της NA είναι η παρουσία εναπόθεσης πεπτιδίου αμυλοειδούς βήτα (Αβ) στον εγκέφαλο [3]. Τα πεπτίδια Αβ είναι γνωστό ότι αυξάνουν την παραγωγή δραστικών ειδών οξυγόνου (ROS) [4] [5] [6]. Το Αβ1-42 έχει επίσης αποδειχθεί ότι ενισχύει τη φωσφορυλίωση του υποστρώματος του υποδοχέα ινσουλίνης, την οποία ένα αντιοξειδωτικό γνωστό ως ασταξανθίνη ήταν σε θέση να μειώσει και να αντιστρέψει τα γνωστικά ελλείμματα και τα ελλείμματα μνήμης που προκαλούνται από τις αμυλοειδογόνες επιδράσεις στον ιπόκαμπο [7]. Το Αβ αυξάνει τον αριθμό των μιτοχondρίων με μεταλλαγμένο mtDNA, συμβάλλοντας σε υψηλότερο οξειδωτικό στρες [8] [9] [10].

Οι ROS παράγονται από τη μερική αναγωγή του O₂ στο τέλος της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων. Όταν το O₂ ανάγεται μόνο εν μέρει, παράγει αντιδραστικά είδη οξυγόνου, όπως το ανιόν υπεροξειδίου, το υπεροξείδιο του υδρογόνου και μια ρίζα υδροξυλίου, τα οποία αλλάζουν τη δομή των πρωτεϊνών, των λιπιδίων και των νουκλεϊκών οξέων και οδηγούν στον κυτταρικό θάνατο [5] [11].

Η παραγωγή ROS μπορεί να ποικίλλει λόγω της παρουσίας υψηλών επιπέδων γλυκόζης στο αίμα (υπεργλυκαιμία), χαρακτηριστικό του Σακχαρώδη Διαβήτη (ΣΔ). Ο ΣΔ αποτελεί παράγοντα κινδύνου για τη νόσο Alzheimer- συνδέοντας μηχανισμούς που σχετίζονται με τον διαβήτη με την πραγματική παθολογία του ΣΔ [12] [13]. Είναι ενδιαφέρον ότι η υπογλυκαιμία και η υπεργλυκαιμία έχει αποδειχθεί ότι προκαλούν αύξηση της παραγωγής ROS και γνωστική δυσλειτουργία [14] [15]. Τα σηματοδοτικά μονοπάτια που πυροδοτούν την υπεργλυκαιμία παίζουν επίσης ρόλο στα συμπτώματα της NA αυξάνοντας τις ROS, το οξειδωτικό στρες και τον κυτταρικό θάνατο και τη νεκρόπτωση [16] [17] [18]. Η υπογλυκαιμία στον διαβήτη τύπου 1 βλάπτει την εργαζόμενη και τη μακροπρόθεσμη μνήμη ως αποτέλεσμα του οξειδωτικού στρες [19]. Η υπεργλυκαιμία συμβάλλει σημαντικά στην παραγωγή ROS και σε άλλες βλάβες στον διαβήτη τύπου 2 [20].

Η ασταξανθίνη (ATX) είναι ένα καροτενοειδές που παράγεται από υδρόβιους μικροοργανισμούς και στη συνέχεια προσλαμβάνεται από θαλάσσια άγρια ζώα,

συμπεριλαμβανομένων του σολομού, των γαρίδων, του αστακού και των καραβίδων. Η ATX μπορεί να διασχίσει τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό και να απομακρύνει τις ROS στον εγκέφαλο [21]. Το ATX συσσωρεύεται στον ιππόκαμπο 4 και 8 ώρες μετά από μια εφάπαξ δόση και αυξάνεται με την πάροδο του χρόνου [22]. Το ATX έχει επίσης αποδειχθεί ότι είναι νευροπροστατευτικό έναντι της τοξικότητας που προκαλείται από το Aβ1-42 σε νευρωνικά κύτταρα PC-12 και έναντι υπογλυκαιμικών καταστάσεων [14] [23]. Υπό φυσιολογικά επίπεδα γλυκόζης στο αίμα, η ATX βρέθηκε να βελτιώνει τη μιτοχονδριακή δυσλειτουργία που προκαλείται από το Aβ [14]. Η παρούσα εργασία εξετάζει την αποτελεσματικότητα της ATX στη μείωση του οξειδωτικού στρες στους νευρώνες, όπως προσδιορίζεται από την παραγωγή ROS και ATP υπό υπογλυκαιμικές και υπεργλυκαιμικές συνθήκες.

2.Υλικά και Μέθοδοι

2.1.Κυτταρική Καλλιέργεια

Μια σειρά κυττάρων ιπποκάμπου ποντικού (NE-4C) αγοράστηκε από την ATCC (CRL-2925), μαζί με ελάχιστο απαραίτητο μέσο Eagle's Minimum Essential Medium (EMEM) και εμβρυϊκή αλβουμίνη ορού βοοειδών (FBS). Το EMEM συμπληρώθηκε με Pen Strep σε συγκέντρωση 0,99% για τη μείωση της μικροβιακής ανάπτυξης. Μόλις τα κύτταρα αποψύχθηκαν, το μέσο EMEM και Pen Strep αναμίχθηκε με FBS σε τελική συγκέντρωση 15%. Αυτό το συνολικό μέσο των 20 mL παρασκευάστηκε και θερμάνθηκε σε υδατόλουτρο 37°C. Το θερμό μέσο EMEM/FBS προστέθηκε στη συνέχεια σταγόνα-σταγόνα στο διάλυμα των κυττάρων σε αραιώση 1/10 και αναμείχθηκε. Στη συνέχεια, τα κύτταρα περιστράφηκαν στους 1K για 5 λεπτά, το υπερκείμενο απομακρύνθηκε και το θερμό μέσο EMEM/FBS προστέθηκε στο κυτταρικό σφαιρίδιο σε αραιώση 1/8 και αναμείχθηκε. Τα κύτταρα επώαστηκαν στους 37°C και το μέσο άλλαζε κάθε δύο έως τρεις ημέρες. Μόλις επιτυγχανόταν ο επιθυμητός κυτταρικός πληθυσμός, τα κύτταρα χωρίζονταν και καταψύχονταν σε καταψύκτη -80°C.

2.2.Νευρωνική Διαφοροποίηση

Για τις δοκιμασίες ATP και MitoSOX, τα κύτταρα αποψύχθηκαν και στη συνέχεια διαφοροποιήθηκαν. Η νευρωνική διαφοροποίηση επιτεύχθηκε με τη χρήση ρετινοϊκού οξέος (RA) σε συγκέντρωση 10^{-7} M για 24 ώρες [24], στη συνέχεια τα κύτταρα

πλύθηκαν σε ζεστό PBS στους 37°C. Κατά τη διάρκεια της 24ωρης έκθεσης σε ρετινοϊκό οξύ, τα κύτταρα αναπτύσσονταν σε μέσο EMEM/FBS σε επωαστήρα στους 37°C. Μετά από 24 ώρες, τα κύτταρα πλύθηκαν με ζεστό PBS στους 37°C και προκλήθηκαν με βάση τις ομάδες υπό συνθήκη, είτε G, GAβ, GATX, είτε GAβATX για τις ομάδες 2 μM, 5 μM, 25 μM, 2 mM, 5 mM και 25 mM γλυκόζης. Οι καλλιέργειες εκτέθηκαν στη συνθήκη της ομάδας που περιγράφηκε παραπάνω για 24 ώρες, πλύθηκαν με PBS στους 37°C και στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε είτε δοκιμασία λουσιφεράσης είτε δοκιμασία MitoSOX.

Για τις ομάδες υπό συνθήκη GAβ ή GAβATX, το Aβ1-42 ελήφθη από τη Sigma Aldrich και στη συνέχεια διαλύθηκε σε αποστειρωμένο DMSO για να παρασκευαστεί διάλυμα αποθέματος 0,5 mM. Τα κύτταρα στις ομάδες GAβ και GAβATX επώαστηκαν με συγκέντρωση 2 μM Aβ1-42 για 24 ώρες. Η ασταξανθίνη ελήφθη επίσης από τη Sigma Aldrich και διαλύθηκε σε αποστειρωμένο DMSO για να παρασκευαστεί ένα διάλυμα αποθέματος 0,1 μM. Στη συνέχεια, τα κύτταρα επώαστηκαν με ATX σε συγκέντρωση 10 nM για 24 ώρες. Τα κύτταρα στις ομάδες GATX και GAβATX επώαστηκαν με συγκέντρωση 10 nM ATX για 24 ώρες.

2.3.Δοκιμή Λουσιφεράσης ATP

Τα κύτταρα για τη δοκιμή αυτή αναπτύχθηκαν σε σωληνάρια Eppendorf. Σε συνθήκες υπογλυκαιμίας, πραγματοποιήθηκαν μόνο δύο προκλήσεις λόγω των αποτελεσμάτων που προέκυψαν από τους ελέγχους. Με βάση τις ομάδες έκθεσης, τα κύτταρα επώαστηκαν με τη συγκεκριμένη έκθεση στη γλυκόζη ή/και τη θεραπεία τους, 2 μM Aβ1-42 ή 10 nM ATX για 24 ώρες. Εξετάστηκαν οι ομάδες πρόκλησης με γλυκόζη και οι ομάδες έκθεσης σε γλυκόζη με ATX. Αυτό οφειλόταν στην πολύ μικρή φωταύγεια των ομάδων σε σύγκριση με τις συγκεντρώσεις ATP. Το ενδοκυττάριο ATP στα κύτταρα των διαφόρων ομάδων έκθεσης μετρήθηκε χρησιμοποιώντας εκχύλισμα Firefly Lantern Extract της Sigma-Aldrich και ένυδρο ATP της Sigma-Aldrich. 100 μl πειραματικών δειγμάτων και δειγμάτων ελέγχου βράστηκαν για 3 λεπτά σε θερμοκρασία άνω των 95°C. Στη συνέχεια, τα δείγματα απομακρύνθηκαν από το νερό βρασμού και ψύχθηκαν για λίγο και το βρασμένο δείγμα μεταφέρθηκε στα φιαλίδια σπινθηρισμού. Το διάλυμα αυτό αραιώθηκε στη συνέχεια με 1 mL διπλά απιονισμένου νερού.

Σε καθένα από αυτά τα φιαλίδια προστέθηκε εκχύλισμα φανού Firefly. Μετά την προσθήκη της λουσιφεράσης, τα δείγματα καλύφθηκαν και αναμείχθηκαν και έμειναν στο σκοτάδι για πέντε λεπτά. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση μετρητή σπινθηρισμού με μετρήσεις 1 λεπτού σε ρύθμιση ευρείας ζώνης. Χρησιμοποιήθηκαν γνωστές συγκεντρώσεις ATP για μια πρότυπη καμπύλη που βοήθησε στον υπολογισμό της συγκέντρωσης ATP σε κάθε δείγμα. Οι συγκεντρώσεις ATP απεικονίστηκαν στη συνέχεια με τη χρήση αυτής της πρότυπης καμπύλης για τον προσδιορισμό των διαφορών μεταξύ των διαφόρων πειραματικών ομάδων.

2.4. Δοκιμασία MitoSOX

Τα κύτταρα για τη δοκιμή αυτή καλλιεργήθηκαν σε καλυπτήρια μέσα σε τρυβλία Petri. Τα κύτταρα εκτέθηκαν σε RA σε 10^{-7} M για 24 ώρες για κυτταρική διαφοροποίηση. Το RA προστέθηκε στο μέσο EMEM/FBS. Μετά την περίοδο επώασης των 24 ωρών, τα κύτταρα πλύθηκαν με θερμαινόμενο PBS στους 37°C . Με βάση τις ομάδες έκθεσης, τα κύτταρα επώαστηκαν με τη συγκεκριμένη συνθήκη της ομάδας έκθεσης στη γλυκόζη ή/και τη θεραπεία τους, 2 μM A β 1-42 ή 10 nM ATX για 24 ώρες. Πριν από το τέλος της περιόδου έκθεσης των κυττάρων ολοκληρώθηκε η παρασκευή του αποθέματος διαλύματος 5 mM MitoSOX από φιαλίδια που αποκτήθηκαν από την Thermo Fisher Scientific. Στο τέλος της περιόδου έκθεσης, τα κύτταρα πλύθηκαν με θερμαινόμενο PBS στους 37°C και επώαστηκαν στους 37°C με διάλυμα 5 μM MitoSOX για 10 λεπτά. Στη συνέχεια, τα κύτταρα απομακρύνθηκαν από τον επωαστήρα και πλύθηκαν τρεις φορές με θερμαινόμενο PBS στους 37°C και στη συνέχεια αιωρήθηκαν σε θερμαινόμενο PBS. Στη συνέχεια, τα κύτταρα απεικονίστηκαν με τη χρήση μικροσκοπίου φθορισμού. Οι ληφθείσες εικόνες αναλύθηκαν μέσω του Image Pro 6. Αφού λήφθηκαν οι εικόνες, τα καλυπτήρια προετοιμάστηκαν και τοποθετήθηκαν σε αντικειμενοφόρους πλάκες.

2.5. Ανάλυση Δεδομένων

Τα δεδομένα συλλέχθηκαν και αναλύθηκαν με τη χρήση του Image Pro 6 για να ληφθούν οι μέσες τιμές φθορισμού για ολόκληρη την εικόνα και πραγματοποιήθηκε ανάλυση περιοχών τριών σημείων στις πιο φωτεινές περιοχές. Οι μεταβολές στη γλυκόζη και στις ποικίλες χημικές προκλήσεις συγκρίθηκαν με ανάλυση διακύμανσης μιας κατεύθυνσης. Μια τιμή $p < 0,05$ θεωρήθηκε στατιστικά σημαντική.

3.Αποτελέσματα

Η κυτταρική ανάπτυξη, η παραγωγή ATP και η παραγωγή ROS μετρήθηκαν και αναλύθηκαν για σημαντικές μεταβολές μεταξύ της ομάδας ελέγχου και της πειραματικής ομάδας. Στη συνέχεια παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των τεσσάρων ομάδων υπό υπογλυκαιμικές και υπεργλυκαιμικές συνθήκες (G, GATX, GAβ και GATXAβ) σε 2 μ M, 5 μ M, 25 μ M, 2 mM, 5 mM και 25 mM γλυκόζης.

3.1.Κυτταρική Ανάπτυξη

Η ανάπτυξη των κυττάρων εκτιμήθηκε με βάση το ποσοστό της συνολικής κάλυψης του coverlip. Τα εν λόγω καλυπτήρια εμφανίζονταν σε μορφή φύλλου ως προς την ανάπτυξη. Η ανάπτυξη των κυττάρων δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ των διαφόρων ομάδων γλυκόζης (Εικόνα 1(α)), αλλά η ανάπτυξη των κυττάρων μειώθηκε μεταξύ των ομάδων που υποβλήθηκαν σε επεξεργασία με Αβ (Εικόνα 1(β)). Η ομάδα Αβ και ΑΤΧ αναπτύχθηκε καλύτερα από την ομάδα Αβ, αλλά εξακολουθούσε να παρουσιάζει δυσκολίες ανάπτυξης σε σύγκριση με τις ομάδες ελέγχου (γλυκόζη) και γλυκόζης ΑΤΧ.

3.2.Δοκιμασία ATP-Υπογλυκαιμία

Για τη μέτρηση της παραγωγής ATP μετά την ανάπτυξη χρησιμοποιήθηκε η δοκιμασία Luciferase firefly. Οι ομάδες έκθεσης σε γλυκόζη 2 μ M, 5 μ M και 25 μ M είχαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις ATP από τα πρότυπα μηδενικής συγκέντρωσης ATP και οι τιμές διορθώθηκαν στο μηδέν. Τα κύτταρα που δοκιμαστήκαν με γλυκόζη επέδειξαν σημαντικά διαφορετικές τιμές παραγωγής ATP. Οι ομάδες έκθεσης σε υπογλυκαιμία, 2 μ M G, 5 μ M G και 25 μ M G επέδειξαν πολύ χαμηλά επίπεδα παραγωγής ATP σε σύγκριση με τις κανονικές συγκεντρώσεις γλυκόζης 2 μ M G και 5 μ M G.

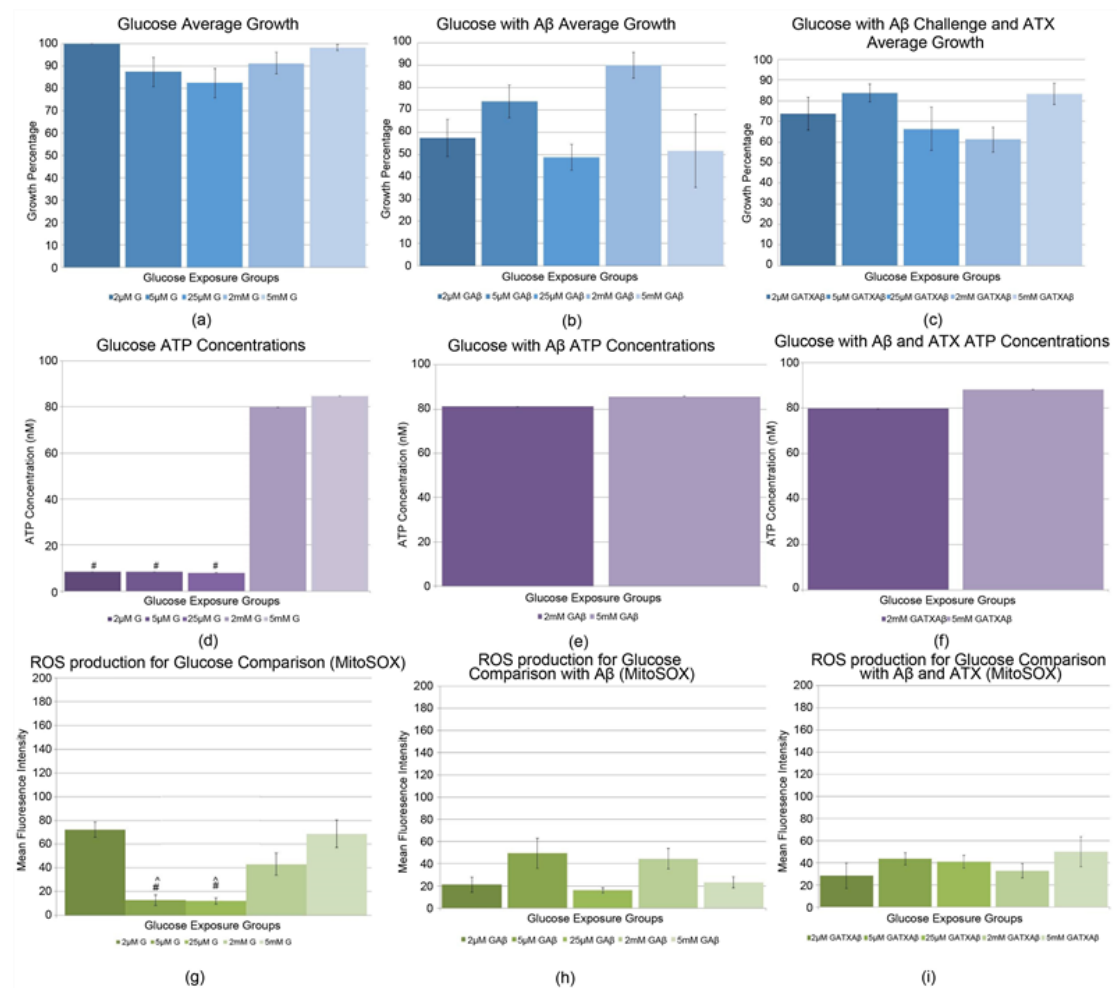
3.3.Δοκιμασία ATP-Υπεργλυκαιμία

Κατά τη σύγκριση της παραγωγής ATP των ομάδων που παράγουν μόνο γλυκόζη, η ομάδα των 25 mM γλυκόζης παρήγαγε περισσότερο ATP από την ομάδα των 5 mM. Η ομάδα των 25 mM γλυκόζης παρήγαγε 242,7% περισσότερο ATP από την ομάδα των 5 mM. Η ομάδα 25 mM γλυκόζης με ΑΤΧ παρήγαγε 255,8% περισσότερο ATP από την ομάδα 5 mM. Η ομάδα 25 mM γλυκόζης με ΑΒ παρήγαγε 391,5% περισσότερο ATP από την ομάδα κανονικής γλυκόζης, την υψηλότερη αύξηση μεταξύ των

τεσσάρων ομάδων δοκιμής (έλεγχος, GATX, GAβ και GATXAβ). Τέλος, οι ομάδες 25 mM που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με Αβ και ΑΤΧ επέδειξαν υψηλά επίπεδα ΑΤΡ, αλλά τα επίπεδα παραγωγής ΑΤΡ μειώθηκαν μεταξύ των ομάδων 25 mM GATX και 25 mM GAβ. Μεταξύ των ομάδων 5 mM G, η ομάδα ελέγχου 5 mM παρήγαγε το περισσότερο ΑΤΡ. Μεταξύ των ομάδων 25 mM G, η ομάδα 25 mM G Αβ παρήγαγε το περισσότερο ΑΤΡ.

3.4.Δοκιμασία MitoSOX-Υπογλυκαιμία

Τα κύτταρα απεικονίστηκαν σε μικροσκόπιο φθορισμού σε ένταση 5x. Η υψηλή παραγωγή φθορισμού υποδείκνυε υψηλό στρες και υψηλή παραγωγή ROS. Όλα τα κύτταρα αναμένεται να φθορίζουν επειδή κάθε κύτταρο που υποβάλλεται σε κυτταρική αναπνοή παράγει ένα μικρό κλάσμα ROS μέσω της διαδικασίας, αλλά αυτή η δοκιμασία εντόπισε κύτταρα που παράγουν ασυνήθιστα υψηλές ή χαμηλές ποσότητες ROS. Ορισμένα από τα χαμηλότερα επίπεδα γλυκόζης παρήγαγαν τον μεγαλύτερο φθορισμό, υποδεικνύοντας την μεγαλύτερη παραγωγή ROS, γεγονός που υποδηλώνει υψηλό στρες. Τα 2 μM G παρήγαγαν τη μεγαλύτερη ποσότητα φθορισμού. Σε σύγκριση με την ομάδα της κανονικής γλυκόζης 5 mM G, οι μόνες ομάδες που παρουσίασαν σημαντική διαφορά ήταν οι συγκεντρώσεις 5 μM G και 25 μM γλυκόζης.



Εικόνα 1. Τα κύτταρα που υποβάλλονται σε υπογλυκαιμικές συγκεντρώσεις γλυκόζης παρουσιάζουν αλλοιωμένη ανάπτυξη. (α) Τα κύτταρα που εκτέθηκαν σε διαφορετικές συγκεντρώσεις γλυκόζης δεν παρουσίασαν σημαντική διαφορά στην ανάπτυξη. Οι ομάδες των 2 μ M και 5 mM G αναπτύχθηκαν καλύτερα, ενώ οι ομάδες των 5 μ M G, 2 mM G και 25 μ M G παρουσίασαν φτωχή ανάπτυξη. (β) Τα κύτταρα που εκτέθηκαν σε A β παρουσίασαν μειωμένη ανάπτυξη, ενώ η ομάδα 2 mM GA β αναπτύχθηκε καλύτερα. Η ομάδα 2 μ M GA β επέδειξε ελαφρώς μειωμένη ανάπτυξη σε σύγκριση με την ομάδα 2 mM GA β , ενώ οι ομάδες 25 μ M GA β και 5 mM GA β επέδειξαν αξιοσημείωτη μείωση της ανάπτυξης. (γ) Τα κύτταρα που εκτέθηκαν σε ATX αναπτύχθηκαν καλά και παρουσίασαν στατιστικές διαφορές στην ανάπτυξη. Τα κύτταρα που εκτέθηκαν τόσο σε A β όσο και σε ATX, παρουσίασαν αυξημένη ανάπτυξη για όλες τις συγκεντρώσεις γλυκόζης. Οι ομάδες 2 μ M GATXA β , 25 μ M GATXA β , 5 μ M GATXA β και 2 mM GATXA β επέδειξαν μειωμένη ανάπτυξη σε σύγκριση με την ομάδα των 5 μ M. (δ) Οι ομάδες υπογλυκαιμίας επέδειξαν πολύ χαμηλά επίπεδα συγκέντρωσης ATP σε σύγκριση με τις ομάδες 2 μ M G και 5 μ M G.

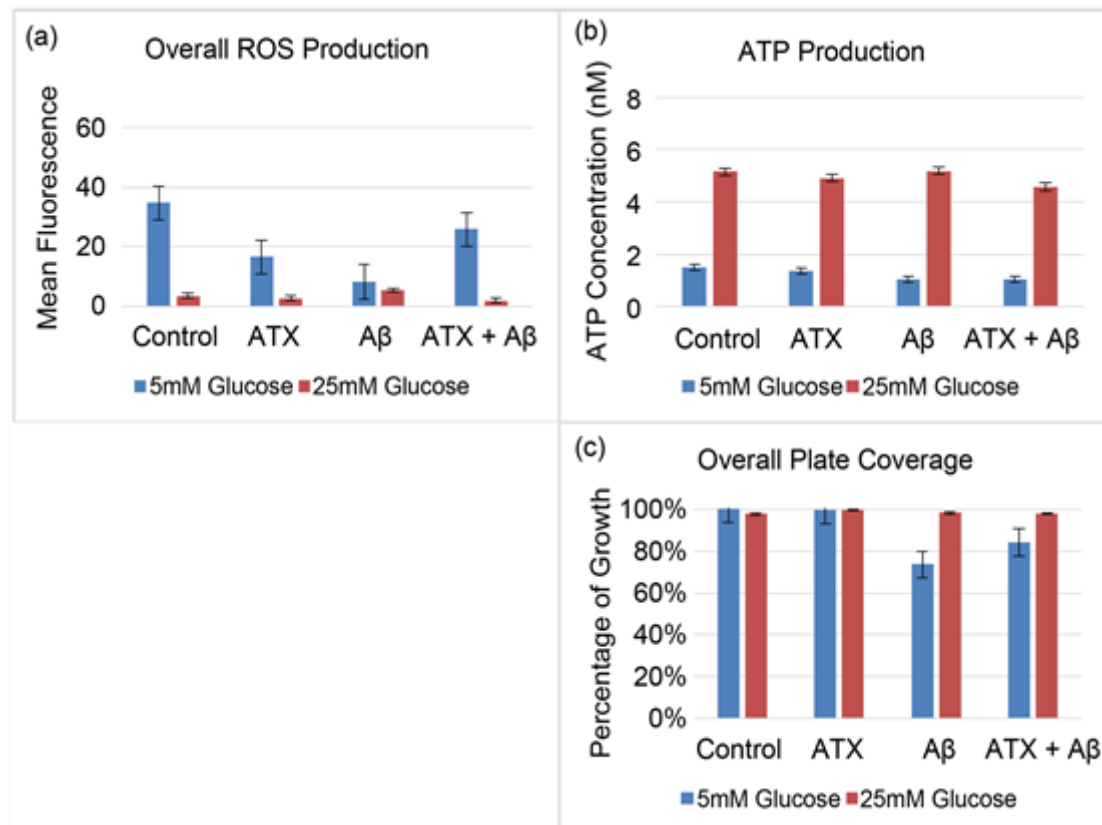
Για τις ομάδες GAβ, GATX και GATXAβ, μόνο οι ομάδες 2 mM και 5 mM παρήγαγαν συγκεντρώσεις ATP αρκετά υψηλές ώστε να μπορούν να μετρηθούν. (ε) Οι ομάδες 2 mM GAβ παρουσίασαν μειωμένες συγκεντρώσεις ATP σε σύγκριση με την ομάδα 5 mM GAβ. (στ) Η ομάδα 2 mM GATXAβ παρουσίασε χαμηλότερη συγκέντρωση ATP από την ομάδα 5 mM GATXAβ. (ζ) Για την παραγωγή ROS, οι ομάδες 25 μM G και 5 μM G επέδειξαν σημαντική μείωση του φθορισμού σε σύγκριση με την ομάδα 2 μM G, η οποία είναι η χαμηλότερη συγκέντρωση γλυκόζης και παρήγαγε τις περισσότερες ROS. (η) Όλες οι ομάδες GAβ επέδειξαν μειωμένη παραγωγή ROS και συγκρίθηκαν με τις ομάδες 5 μM GAβ λόγω των χαμηλών έως φυσιολογικών επιπέδων παραγωγής ROS. Οι πιο σημαντικές μειώσεις παρατηρήθηκαν για τις ομάδες 2 μM GAβ και 25 μM GAβ, ενώ η ομάδα των 2 mM παρουσίασε μικρή μείωση. (ι) Η ομάδα Aβ και ATX επέδειξε χαμηλότερα επίπεδα φθορισμού και παραγωγής ROS σε όλες τις συγκεντρώσεις γλυκόζης. Καμία από τις ομάδες δεν διέφερε στατιστικά. Οι ομάδες 2 μM GATXAβ και 2 mM GATXAβ είχαν τη χαμηλότερη παραγωγή ROS. *υποδηλώνει $p < 0,05$ σε σύγκριση με τον έλεγχο (5 mM). #υποδηλώνει $p < 0,01$ σε σύγκριση με τον έλεγχο. ~ υποδεικνύει $p < 0,05$ σε σύγκριση με τα 2 μM. ^υποδηλώνει $p < 0,01$ σε σύγκριση με 2 μM.

Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι η κυτταρική ανάπτυξη, η παραγωγή ATP και η παραγωγή ROS ήταν διαφορετικές μεταξύ των διαφόρων ομάδων γλυκόζης. Διερευνήσαμε επίσης το άλλο άκρο της συγκέντρωσης γλυκόζης: υπεργλυκαιμία ή υψηλή γλυκόζη αίματος. Τα ακόλουθα αποτελέσματα προέρχονται από τη θεραπεία των τεσσάρων πειραματικών ομάδων (G, GATX, GAβ και GATXAβ) με επίπεδα γλυκόζης 5 mM και 25 mM.

3.5.Δοκιμασία MitoSOX-Υπεργλυκαιμία

Η παραγωγή ROS προσδιορίστηκε με τη διεξαγωγή δοκιμών MitoSOX (ROS) και τη μέτρηση του μέσου φθορισμού (Εικόνα 2). Η παραγωγή ROS ήταν διαφορετική για τις ομάδες με διαφορετικές συγκεντρώσεις γλυκόζης, Aβ και/ή ATX. Η υπεργλυκαιμική ομάδα παρήγαγε 89,6% λιγότερες ROS από την ομάδα φυσιολογικής γλυκόζης (Σχήμα 2(β)). Η ομάδα 25 mM γλυκόζης που υποβλήθηκε σε θεραπεία με ATX παρήγαγε σημαντικά λιγότερες ROS από την ομάδα 5 mM ATX. Η ομάδα 25 mM γλυκόζης που υποβλήθηκε σε θεραπεία με Aβ παρήγαγε 34,4% λιγότερες ROS από την ομάδα 5 mM Aβ. Η ομάδα 25 mM γλυκόζης που υποβλήθηκε σε θεραπεία με ATX και Aβ παρήγαγε 91,9% λιγότερες ROS από την ομάδα 5 mM ATX και Aβ, αλλά η διαφορά αυτή δεν ήταν στατιστικά σημαντική.

Μεταξύ των ομάδων 5 mM γλυκόζης, η ομάδα ελέγχου παρήγαγε τις περισσότερες ROS και παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της παραγωγής ROS στην ομάδα 5 mM AAB σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου 5 mM ($p < 0,05$). Μεταξύ των ομάδων γλυκόζης 25 mM, η ομάδα ABβ παρήγαγε τις περισσότερες ROS, ακολουθούμενη στενά από την ομάδα ελέγχου. Συνολικά, οι ομάδες γλυκόζης 25 mM παρήγαγαν λιγότερες ROS από τις ομάδες γλυκόζης 5 mM.



Εικόνα 2. (α) Οι ομάδες που εκτέθηκαν σε υπεργλυκαιμικές συγκεντρώσεις παρήγαγαν υψηλότερες συγκεντρώσεις ATP. Το 25 mM G παρήγαγε περισσότερο ATP από το 5 mM G. Η ομάδα υπεργλυκαιμίας που εκτέθηκε σε ATX παρήγαγε υψηλές συγκεντρώσεις ATP. Οι ομάδες υπεργλυκαιμίας που εκτέθηκαν σε AB παρήγαγαν πολύ υψηλά επίπεδα ATP, καθώς η ομάδα των 25 mM παρήγαγε 391,5% περισσότερο ATP από την ομάδα των 5 mM. Οι ομάδες υπεργλυκαιμίας που εκτέθηκαν τόσο στην Aβ όσο και στην ATX παρήγαγαν χαμηλότερα επίπεδα ATP. Οι ράβδοι υποδεικνύουν το τυπικό σφάλμα για κάθε συνθήκη. *υποδεικνύει ότι η θεραπεία των 25 mM είναι σημαντική από την αντίστοιχη θεραπεία των 5 mM. *υποδεικνύει ότι η θεραπεία των 25 mM ATX διέφερε σημαντικά από τη θεραπεία των 5 mM ATX. (β) Η παραγωγή ROS μειώθηκε σημαντικά στην ομάδα με 25 mM γλυκόζης. Η ομάδα ελέγχου 5 mM παρήγαγε περισσότερες ROS από την ομάδα

ελέγχου 25 mM. Η παραγωγή ROS μειώθηκε σημαντικά στην ομάδα 25 mM GATX σε σύγκριση με την ομάδα 5 mM GATX. Η παραγωγή ROS ήταν ελαφρώς μειωμένη στην ομάδα 25 mM GAβ σε σύγκριση με την ομάδα 5 mM GAβ. Η παραγωγή ROS μειώθηκε σημαντικά στην ομάδα 25 mM GATXAβ σε σύγκριση με την ομάδα 5 mM GATXAβ. (γ) Η συνολική κάλυψη της πλάκας διέφερε μεταξύ των δύο πειραματικών ομάδων. Η ομάδα ελέγχου με υπεργλυκαιμία αναπτύχθηκε λιγότερο από την αντίστοιχη ομάδα των 5 mM. Η ομάδα των 25 mM GATX δεν αναπτύχθηκε σημαντικά περισσότερο από την αντίστοιχη ομάδα των 5 mM. Οι ομάδες των 25 mM GAβ και GAβATX αναπτύχθηκαν και οι δύο σημαντικά περισσότερο από τις ομάδες των 5 mM GAβ και GAβATX. *υποδεικνύει ότι η θεραπεία των 25 mM είναι σημαντική από την αντίστοιχη των 5 mM.

4.Συζήτηση

Η παρούσα εργασία προσπάθησε να διερευνήσει αν η ασταξανθίνη θα μπορούσε να αποτρέψει τη μιτοχονδριακή δυσλειτουργία, που παρατηρείται μέσω της παραγωγής μιτοχονδριακών ROS, και την κυτταρική βιωσιμότητα, όπως παρατηρείται μέσω της παραγωγής ATP και της κυτταρικής ανάπτυξης. Υπό υπογλυκαιμικές συνθήκες με θεραπεία Αβ, τα κύτταρα παρήγαγαν πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις ATP, είχαν αυξημένη παραγωγή ROS και μειωμένη κυτταρική ανάπτυξη. Η εισαγωγή ασταξανθίνης στην ομάδα GAβATX έδειξε ότι η ATX μπορεί να παρατείνει τη βιωσιμότητα των νευρικών κυττάρων υπό αυτές τις συνθήκες.

Τα αποτελέσματα διέφεραν μεταξύ των τριών ομάδων υπογλυκαιμίας (2 μ M, 5 μ M, 25 μ M). Στην ομάδα σοβαρής υπογλυκαιμίας 2 μ M έκθεσης σε γλυκόζη, τα κύτταρα που εκτέθηκαν σε Αβ παρουσίασαν μειωμένη ανάπτυξη και μειωμένο φθορισμό στη δοκιμασία MitoSOX. Συνεπώς, τα κύτταρα παρουσίασαν μειωμένη παραγωγή ROS, αντικατοπτρίζοντας τις τυπικές αποκρίσεις των κυττάρων στην Αβ. Όταν εκτέθηκαν σε Αβ, τα κύτταρα παρουσίασαν αυξημένη μιτοχονδριακή δυσλειτουργία που παρατηρήθηκε από υψηλά επίπεδα παραγωγής ROS. Τα κύτταρα έδειξαν επίσης τυπικά μειωμένη κυτταρική λειτουργία με χαμηλότερη κυτταρική ανάπτυξη και χαμηλή παραγωγή ATP. Όταν η ομάδα έκθεσης σε γλυκόζη 2 μ M εκτέθηκε τόσο σε Αβ όσο και σε ATX, η κυτταρική ανάπτυξη αυξήθηκε, όπως και ο μέσος μέσος φθορισμός σε σύγκριση με την ομάδα 2 μ M GAβ. Αυτό υποδηλώνει ότι τα κύτταρα πιθανώς δεν είναι νεκρά αλλά μπορεί να βρίσκονται σε διαδικασία θανάτου, οπότε η ATX μπορεί να βοηθήσει στην παράταση της βιωσιμότητας των νευρικών κυττάρων παρουσία Αβ. Οι αναλύσεις ATP δεν πραγματοποιήθηκαν για τις ομάδες GAβ ή GAβATX, καθώς οι ομάδες G και GATX παρήγαγαν πολύ χαμηλά επίπεδα ATP στα 2 μ M. Αυτό δείχνει ότι όταν τα επίπεδα γλυκόζης είναι εξαιρετικά χαμηλά, το κύτταρο παράγει πολύ χαμηλά επίπεδα ATP, ενδεχομένως την ελάχιστη ποσότητα ATP που απαιτείται για την κυτταρική λειτουργία.

Στην ομάδα έκθεσης σε γλυκόζη 5 μM , η κυτταρική ανάπτυξη και η παραγωγή ATP ήταν πολύ παρόμοιες με την ομάδα έκθεσης σε γλυκόζη 2 μM . Η ομάδα GATX των 5 μM αναπτύχθηκε καλύτερα και παρήγαγε τον υψηλότερο μέσο όρο φθορισμού στη δοκιμασία MitoSOX μεταξύ των διαφόρων ομάδων γλυκόζης ATX. Τα ασυνήθιστα υψηλά ή χαμηλά επίπεδα ROS υποδηλώνουν κυτταρικό στρες, αλλά τα επίπεδα που παρατηρήθηκαν μεταξύ των ομάδων γλυκόζης 5 μM υποδηλώνουν ότι τα κύτταρα ευδοκιμούν και πιθανότατα είχαν περισσότερα λειτουργικά μιτοχόνδρια για την παραγωγή φυσιολογικών επιπέδων ATP. Παρόμοια με τις ομάδες έκθεσης σε 2 μM GAB, η ομάδα που υποβλήθηκε σε 5 μM GAB επέδειξε και πάλι τη χαμηλότερη ανάπτυξη από όλες τις ομάδες των 5 μM . Η ομάδα των 5 μM GAB επέδειξε αυξημένα μέσα επίπεδα φθορισμού σε σύγκριση με την ομάδα των 2 μM GAB, υποδεικνύοντας μια απόκριση του κυττάρου στο στρες του κυττάρου Αβ. Η ομάδα των 5 μM GABATX παρουσίασε τόσο αυξημένη ανάπτυξη όσο και μέσο επίπεδο φθορισμού. Αυτή η αύξηση του μέσου φθορισμού και, συνεπώς, της παραγωγής ROS οφειλόταν πιθανότατα στη φυσιολογική παραγωγή ATP σε αντίθεση με το κυτταρικό στρες.

Η ομάδα που εκτέθηκε σε γλυκόζη 25 μM , παρόμοια με τις άλλες δύο ομάδες υπεργλυκαιμίας, αναπτύχθηκε λιγότερο και παρήγαγε πολύ λίγο φθορισμό. Αυτή η μείωση του φθορισμού μπορεί να είναι αποτέλεσμα μειωμένης ανάπτυξης ή αυξημένου κυτταρικού θανάτου. Η ομάδα των 25 μM G παρουσίασε τη μικρότερη ανάπτυξη σε σύγκριση με τις χαμηλότερες συγκεντρώσεις γλυκόζης (2 μM και 5 μM), καθώς και πολύ χαμηλή συγκέντρωση ATP και παραγωγή ROS. Η ομάδα των 25 μM GABATX ωστόσο αναπτύχθηκε και παρήγαγε χαμηλό έως φυσιολογικό φθορισμό, γεγονός που δείχνει ότι μεταξύ των τριών υπογλυκαιμικών συνθηκών, η προσθήκη ATX στις ομάδες που εκτέθηκαν σε Αβ προστάτευσε από την παραγωγή ROS και προώθησε την ανάπτυξη των κυττάρων.

Οι άλλες δύο ομάδες γλυκόζης (2 mM και 5 mM) αναπτύχθηκαν καλά, εκτός από την ομάδα 2 mM GABATX, η οποία παρουσίασε τη χαμηλότερη συγκέντρωση ATP και παραγωγή φθορισμού (υποδεικνύοντας ότι τα κύτταρα ήταν βιώσιμα και χρησιμοποιούσαν το παραγόμενο ATP). Η ομάδα 5 mM GABATX παρουσίασε αυξημένη ανάπτυξη, αυξημένο ATP και φυσιολογικά μέσα επίπεδα φθορισμού. Η ομάδα 2 mM GATX αναπτύχθηκε καλύτερα μεταξύ των ομάδων των 2 mM και παρείχε φυσιολογική συγκέντρωση ATP και φυσιολογικά σύνολα παραγωγής φθορισμού. Η ομάδα 5 mM GATX παρουσίασε μειωμένη ανάπτυξη με ελαφρώς αυξημένη συγκέντρωση ATP και χαμηλή παραγωγή φθορισμού. Επομένως, τα κύτταρα 5 mM GATX ήταν σε θέση να παράγουν περισσότερο ATP και συνεπώς περισσότερες ROS, αλλά η ομάδα ATX δεν εμφάνισε μείωση της μιτοχονδριακής δυσλειτουργίας σε σύγκριση με την ομάδα που εκτέθηκε στη γλυκόζη. Η ομάδα 2 mM GAB μεγάλωσε και παρήγαγε το περισσότερο ATP και φθορισμό μεταξύ των ομάδων 2 mM, υποδεικνύοντας την παρουσία κυτταρικού στρες μετά την έκθεση σε Αβ. Η παραγωγή ATP έδειξε ότι τα κύτταρα παρήγαγαν ATP, το οποίο θα αύξανε την παραγωγή ROS, αλλά τα κύτταρα δεν φαίνεται να χρησιμοποιούν αυτό το ATP. Το ATP που παρήχθη αλλά δεν χρησιμοποιήθηκε μπορεί να αποθηκεύεται σε κυστίδια, ένα ερώτημα που θα

πρέπει να διερευνηθεί σε μελλοντικές μελέτες. Η ομάδα των 5 mM GAB παρουσίασε τη χαμηλότερη ανάπτυξη, συγκέντρωση ATP και παραγωγή ROS από τις ομάδες των 5 mM.

Οι υπεργλυκαιμικές ομάδες επέδειξαν αυξημένη κυτταρική ανάπτυξη και παραγωγή ATP λόγω της αυξημένης διαθεσιμότητας γλυκόζης, αλλά η διαθεσιμότητα αυτή συμβάλλει επίσης στην αύξηση των ROS. Μεταξύ των ομάδων γλυκόζης 5 mM, η ομάδα 5 mM GAB παρουσίασε τη μικρότερη ανάπτυξη και τη χαμηλότερη παραγωγή ROS, μαζί με χαμηλές συγκεντρώσεις ATP. Η χαμηλή παραγωγή ROS μπορεί να σχετίζεται με τον χαμηλότερο ρυθμό παραγωγής ATP και τα χαμηλά επίπεδα ATP και ROS υποδεικνύουν ότι τα κύτταρα είχαν πεθάνει ή πέθαιναν όταν πραγματοποιήθηκαν οι δοκιμασίες Luciferase και MitoSOX. Μεταξύ των ομάδων 5 mM γλυκόζης, η παραγωγή ROS της ομάδας 5 mM GABATX δεν διέφερε στατιστικά από την ομάδα ελέγχου 5 mM γλυκόζης. Αυτό δείχνει ότι τα μιτοχόνδρια στις ομάδες 5 mM GABATX λειτουργούσαν παρόμοια με τον έλεγχο, γεγονός που μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η ATX μπορεί να προστατεύσει τα νευρωνικά κύτταρα από το στρες Αβ και τη μιτοχονδριακή δυσλειτουργία. Η συγκέντρωση ATP κυμαινόταν από 1 μ M - 80 μ M για το δείγμα.

Οι υπεργλυκαιμικές ομάδες των 25 mM παρουσίασαν παρόμοια ανάπτυξη. Οι ομάδες 25 mM GAB και 25 mM GATX παρουσίασαν τη μεγαλύτερη ανάπτυξη και η ομάδα 25 mM GAB παρήγαγε περισσότερες ROS από τις άλλες ομάδες, αλλά η διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων δεν ήταν στατιστικά σημαντική. Η παραγωγή ROS ήταν πολύ χαμηλή και οι ομάδες των 25 mM παρήγαγαν περισσότερο ATP από τις ομάδες των 5 mM, γεγονός που συνάδει με μεγαλύτερη ποσότητα γλυκόζης που ήταν διαθέσιμη για χρήση από τα κύτταρα. Παρά αυτή τη διαφορά μεταξύ των ομάδων γλυκόζης, καμία από τις ομάδες γλυκόζης 25 mM δεν παρουσίασε σημαντικές διαφορές στο ATP σε σύγκριση μεταξύ τους.

5.Συμπεράσματα

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να καταδείξει ότι ένα *in vitro* μοντέλο για τη νόσο Αλτσχάιμερ μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη διερεύνηση των επιπτώσεων της συγκέντρωσης σακχάρου στο αίμα στην ικανότητα της ασταξανθίνης να λειτουργεί ως αντιοξειδωτικό. Κατά την εξέταση τόσο των υπογλυκαιμικών όσο και των υπεργλυκαιμικών συνθηκών, παρατηρήσαμε ότι κατά το υπογλυκαιμικό μέρος αυτής της μελέτης, ο συνδυασμός του Αβ και της υπογλυκαιμίας μαζί προκαλούν αύξηση της παραγωγής ROS, πιθανότατα μέσω της αύξησης της μιτοχονδριακής δυσλειτουργίας. Ενώ η ATX μπορεί να βοηθήσει στη μείωση της παραγωγής ROS και στην αύξηση της ανάπτυξης των κυττάρων, τα αποτελέσματά της δεν διέφεραν σε μεγάλο βαθμό μεταξύ των συγκεντρώσεων γλυκόζης. Μεταξύ των ομάδων GABATX, τα κύτταρα αναπτύχθηκαν και παρήγαγαν ROS. Ενδέχεται να απαιτείται πρόσθετη μελέτη για τη διερεύνηση του αριθμού των κυττάρων που ευθύνονται για την παραγωγή ROS. Θα πρέπει να πραγματοποιηθούν μετρήσεις κυττάρων και δοκιμασίες κυττάρων. Το εργαστήριό μας θα προχωρήσει σε δοκιμασίες κυτταρικού θανάτου για να ελέγξει αν

τα κύτταρα είναι βιώσιμα. Το υπεργλυκαιμικό μέρος αυτής της μελέτης έδειξε ότι η ATX φέρει νευροπροστατευτικές επιδράσεις έναντι του Αβ και μπορεί να βελτιώσει τη μιτοχονδριακή λειτουργία.

Συνεπώς, το εργαστήριό μας απέδειξε την ικανότητα της ασταξανθίνης να προάγει την ανάπτυξη των κυττάρων *in vitro* σε υπογλυκαιμικά, κανονικά γλυκόζης και υπεργλυκαιμικά διαλύματα, καθώς και όταν προκαλείται από Αβ. Συνεπώς, τα δεδομένα που παρουσιάζονται σε αυτή τη μελέτη υποστηρίζουν το ρόλο της ATX στην προώθηση της κυτταρικής ανάπτυξης τόσο σε φυσιολογικές καταστάσεις νόσου, DM (υπογλυκαιμία και υπεργλυκαιμία), όσο και σε καταστάσεις νόσου AD (Αβ). Τα δεδομένα αυτά υποστηρίζουν επίσης πρόσφατες μελέτες σε μοντέλα αρουραίων που καταδεικνύουν τις νευροπροστατευτικές επιδράσεις της ATX. Η ATX έχει αποδειχθεί ότι προάγει τη νευρογένεση του ενήλικου ιππόκαμπου στον ιππόκαμπο με τρόπο εξαρτώμενο από τη συγκέντρωση και ότι αυξάνει τη χωρική μνήμη σε μοντέλα ποντικών [25]. Η ATX έχει αποδειχθεί ότι μειώνει τη φλεγμονή και μειώνει τη γνωστική ανεπάρκεια σε διαβητικά ποντίκια [26]. Η ATX είχε αποδειχθεί ότι είναι νευροπροστατευτική έναντι της αντίστασης στην ινσουλίνη του ιππόκαμπου, μια σκέψη για τους ασθενείς με DM. Συνεπώς, η μελέτη μας υποστηρίζει προηγούμενες έρευνες στον τομέα που απαιτούν περαιτέρω διερεύνηση της χρήσης της ATX ως πιθανής θεραπείας για τη νόσο του Alzheimer.

4.Κειμενική Ανάλυση

Η συγκεκριμένη εργασία πραγματεύεται τη μετάφραση ειδικού ερευνητικού κειμένου με γλώσσα-πηγή την αγγλική και γλώσσα-στόχο την ελληνική. Πρόκειται για άρθρο το οποίο συντάχθηκε το 2019 και δημοσιεύτηκε στο περιοδικό *Advances in Alzheimer's Disease*. Το θέμα του κειμένου-πηγή είναι η μελέτη πιθανής σύνδεσης ανάμεσα στη νόσο Alzheimer και το διαβήτη. Το συγκεκριμένο κείμενο περιλαμβάνει αρκετή ιατρική ορολογία, εμπεριέχει ονομασίες ουσιών και διαδικασιών. Επιπλέον, το συγκεκριμένο κείμενο είναι ειδικό, πληροφοριακό και περιγραφικό, επομένως κρίνεται αναγκαίο να διατηρηθεί το περιεχόμενο και η έκφραση ώστε το μετάφρασμα να διατηρήσει το σκοπό του πρωτότυπου (Reiss & Vermeer, 2014). Το πρωτότυπο έχει ως στόχο να πληροφορήσει τον αναγνώστη αναφορικά με τη σύνδεση που μπορεί να υπάρχει μεταξύ της νόσου Alzheimer και του διαβήτη. Επιπλέον, το πρωτότυπο αποσκοπεί στην παρουσίαση της πειραματικής διαδικασίας που έλαβε χώρα κατά την έρευνα και των αποτελεσμάτων που προέκυψαν.

Το ύφος του κειμένου είναι άμεσο με λογικά επιχειρήματα ενώ ο λόγος βασίζεται στην αντικειμενικότητα, δεν κουράζει τον αναγνώστη με περιττές πληροφορίες διατηρώντας την εγκυρότητα των όσων παρουσιάζονται στο πειραματικό στάδιο. Στο πρωτότυπο κείμενο εντοπίζεται εκτεταμένη χρήση παθητικής φωνής η οποία υποδηλώνει αντικειμενικότητα, όπως οι εκφράσεις “Alzheimer’s Disease is projected”, “Hyperglycemia is commonly observed”, “Αβ peptides are known”, “ROS are produced”, “Cells for this assay were cultured”, “All cells are expected”. Στην ελληνική γλώσσα η παθητική φωνή υποδηλώνει επίσης αντικειμενικότητα και γι’ αυτό το λόγο διατηρήθηκε στο μετάφρασμα. Ακόμα, δείγμα αντικειμενικότητας στην ελληνική γλώσσα είναι και τα ουσιαστικά οπότε ορισμένες αγγλικές ρηματικές φράσεις αποδόθηκαν στα ελληνικά με χρήση ουσιαστικών.

Το συγκεκριμένο απόσπασμα ξεκινά με ανάλυση της νόσου Alzheimer αναλύοντας τον τρόπο που δρα η εναπόθεση του αμυλοειδούς πεπτιδίου Αβ αυξάνοντας την παραγωγή αντιδραστικών ειδών οξυγόνου ROS καταλήγοντας στη σύνδεση με την υπεργλυκαιμία και τον Σακχαρώδη Διαβήτη. Εν συνεχεία ακολουθεί πλήρης ανάλυση της μεθοδολογίας που έλαβε χώρα για την υλοποίηση του πειραματικού μέρους και καταλήγει με την παρουσίαση των αποτελεσμάτων του πειράματος. Επομένως, το κείμενο απευθύνεται σε ειδικούς που ερευνούν το συγκεκριμένο θέμα ενώ δεν θεωρείται εύκολο προς ανάγνωση για τον απλό αναγνώστη εξαιτίας της ορολογίας που

περιλαμβάνει και της παρουσίασης ειδικευμένης μεθοδολογίας διεξαγωγής πειράματος.

Το κείμενο έχει συνταχθεί από φυσικούς ομιλητές της αγγλικής γλώσσας και τα προβλήματα που αναδείχθηκαν κατά τη διαδικασία της μετάφρασης δεν ήταν και υψηλής δυσκολίας. Συγκεκριμένα, τα προβλήματα αφορούν την απόδοση της ορολογίας του πρωτότυπου, τους όρους με πολλαπλές αποδόσεις, τα ακρωνύμια, την έλλειψη ισοδυναμίας πάνω από το επίπεδο της λέξης και συγκεκριμένα συμφράσεις και η διατήρηση του περιεχομένου αλλά όχι της μορφής και τέλος την παράφραση.

5.Επί μέρους σχόλια

5.1.Ορολογία

Στη μετάφραση πολύ συχνά συναντάται το φαινόμενο της ύπαρξης συγκεκριμένης ορολογίας στο κείμενο-πηγή, το οποίο ανήκει σε ένα συγκεκριμένο είδος κειμένου και κατά τη διαδικασία της μετάφρασης πρέπει να αποδοθεί στη γλώσσα-στόχο (Cabre, 1998). Το συγκεκριμένο κείμενο που μελετάται ανήκει στον κλάδο της ιατρικής και έχει ως στόχο να πληροφορήσει συγκεκριμένη ομάδα αναγνωστών όπως αναφέρθηκε και στην κειμενική ανάλυση. Η ορολογία που χρησιμοποιείται είναι τόσο απλή όσο και σύνθετη. Στην ενότητα Γλωσσάρι παρουσιάζονται εκτενώς όλοι οι όροι μαζί με την απόδοσή τους, ωστόσο θα αναφερθούν ενδεικτικά ορισμένες ορολογίες, απλές και σύνθετες. Απλοί όροι είναι ο **“Astaxanthin”** που μπορεί να αποδοθεί στα ελληνικά ως **«ασταξανθίνη»**, ο **“glucose”** που αποδίδεται ως **«γλυκόζη»**, ο **“proteins, lipids and nucleic acids”** που αποδίδονται ως **«πρωτεΐνες, λιπίδια και νουκλεϊκά οξέα»**. Πιο σύνθετη ορολογία εμφανίζεται στις εκφράσεις **“ATP production”, “ROS generation”, “MitoSOX assay”, “amyloid beta peptide”, “mutated mtDNA”** κλπ. Για τη σύνθετη ορολογία χρησιμοποιήθηκε ως συμβουλευτικό εργαλείο βάσεις ιατρικής ορολογίας καθώς και ειδικά λεξικά ιατρικής και μικροβιολογίας. Επιπλέον, εξαιτίας του επιστημονικού ύφους του κειμένου οι αποδόσεις ορισμένων σύνθετων όρων διατήρησαν την πρωτότυπη μορφή τους καθώς δεν υπάρχει επαρκής απόδοσή τους στην ελληνική (π.χ. MitoSOX, ATP, Firefly Lantern, Sigma-Aldrich κλπ.)

5.2.Όροι με Πολλαπλές αποδόσεις στα Ελληνικά

Αναφορικά με το κομμάτι της ορολογίας, δεν εμφανίστηκαν σημαντικά προβλήματα όρου με πολλαπλές αποδόσεις. Ουσιαστικά, μόνο η σύνθετοι ορολογία αποτέλεσε

πρόκληση, όπως αναλύθηκε και πιο πάνω για την οποία επικουρικά χρησιμοποιήθηκε Αγγλοελληνικό λεξικό Βιολογικών και Χημικών όρων.

Η λέξη “**involving**” επιδέχεται πλήθος αποδόσεων, ωστόσο βάση του γενικού πλαισίου του άρθρου η καλύτερη απόδοση σύμφωνα με τη ροή του λόγου είναι η λέξη «**συνεπάγεται**». Η λέξη “**solution**” μπορεί να μεταφραστεί ως «λύση» (ενός προβλήματος) και ως «διάλυμα». Λόγω του αντικειμένου που πραγματεύεται το άρθρο η σωστή απόδοση της λέξης είναι «**διάλυμα**». Η λέξη “**cells**” επίσης έχει πλήθος αποδόσεων, ωστόσο βάση της θεματολογίας και του γενικού νοήματος η σωστή απόδοση είναι «**κύτταρα**». Η λέξη “**identified**” μπορεί να αποδοθεί ως *αναγνώρισε* ή *ταυτοποίησε* ή *προσδιόρισε*. Ωστόσο, στο συγκεκριμένο κείμενο πιο κατάλληλη θεωρείται η απόδοση «**εντόπισε**». Η λέξη “**challenged**” μπορεί να αποδοθεί με πολλές όπως *αμφισβητήθηκε* ή *προκλήθηκε*. Στη φράση “the 5 μ M GAb challenged group” μεταφράζεται ως «η ομάδα που **υποβλήθηκε** σε 5 μ M GAb», ενώ στην έκφραση “as well as when **challenged** by Ab.” αποδίδεται ως «καθώς και όταν **προκαλείται** από Ab». Επομένως, γίνεται κατανοητό ότι για τη συγκεκριμένη λέξη επιλέγεται η καλύτερη απόδοση βάση του νοήματος και της σχέσης της με τις υπόλοιπες λέξεις αναφορικά με την σαφή απόδοση του νοήματος. Η λέξη “**determined**” μπορεί να αποδοθεί ως καθορίστηκε ή προσδιορίστηκε. Εξαιτίας του επιστημονικού και άμεσου ύφους του άρθρου επιλέγεται η απόδοση ως «**προσδιορίστηκε**».

Σε ένα γενικό πλαίσιο η απόδοση του κειμένου έγινε με παρουσία του ισοδύναμου όρου στη γλώσσα-στόχο παρέχοντας σαφήνεια και διαφάνειας τη μετάφραση (Κελάνδριας, 2007).

5.3.Ακρωνύμια

Το πρωτότυπο κείμενο περιέχει ορισμένα ακρωνύμια τα οποία κυρίως αφορούν ιατρικές ορολογίες και τα ακρωνύμια αυτά αποτελούν διεθνή ορολογία για την ιατρική οπότε, βάση και του επιστημονικού ύφους του άρθρου διατηρούνται ως έχουν στην μετάφραση. Ορισμένα από αυτά όπως τα FBS, EMEM, DM και το AD χρησιμοποιούνται προς χάριν συντομίας και εξοικονόμησης χρόνου. Για τη σωστή απόδοση αυτών των ακρωνυμίων χρησιμοποιήθηκε βοηθητικά Αγγλοελληνικό λεξικό Βιολογικών και Χημικών όρων. Ενδεικτικά τα ακρωνύμια είναι:

- ATX: Ασταξανθίνη
- Ab: Αμυλοειδές πεπτίδιο β

- ROS: Αντιδραστικά είδη οξυγόνου
- O₂:Οξυγόνο
- ATCC:
- EMEM: Θρεπτικό υλικό ελάχιστων τροφικών απαιτήσεων Eagle/
Eagle's Minimum Essential Medium
- FBS: εμβρυϊκή αλβουμίνη ορού βοοειδών
- RA: Ρετινοϊκό οξύ
- PBS:Αλατούχο φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα
- DMSO: Διμεθυλοσουλφοξείδιο
- DM: Diabetes Mellitus - ΣΔ: Σακχαρώδης Διαβήτης
- AD: Alzheimer's Disease - NA: Νόσος Alzheimer

5.4.Έλλειψη Ισοδυναμίας Πάνω από το Επίπεδο της Λέξης

Σε όλες τις γλώσσες οι λέξεις συνδυάζονται ώστε να δημιουργούν δομές. Οι λέξεις αυτές πρέπει να συνδυάζονται με τέτοιο τρόπο ώστε να συνθέτουν ένα νόημα. Η σύνθεση του νοήματος ορίζεται από περιορισμούς που φέρει η γλώσσα. Ωστόσο, πάνω από το επίπεδο της λέξης παρατηρούνται επαναλαμβανόμενα μοτίβα παρά κανόνες. Στη διαδικασία της μετάφρασης η δυσκολία εντοπίζεται στην απόδοση αυτών των μοτίβων. ο μεταφραστής καλείται να επιλέξει την κατά λέξη απόδοση της λέξης ή την ελεύθερη μετάφραση προς χάριν καλύτερης απόδοσης του κειμένου-πηγή (Baker, 1992).

Στο άρθρο που μελετάται η έλλειψη ισοδυναμίας πάνω από το επίπεδο της λέξης εντοπίζεται στη λέξη **“sheet-like”** η οποία δεν μπορεί να αποδοθεί με κατά λέξη μετάφραση. Αντί αυτού επιλέγεται η περιφραστική απόδοση της λέξης ως **«σε μορφή φύλλου»**.

5.5.Συμφράσεις

Ως συμφράσεις ορίζεται η τάση ορισμένων λέξεων να συνυπάρχουν σε μια γλώσσα. Η συνύπαρξη των λέξεων για την υλοποίηση συμφάσεων δεν σχετίζεται με την νοηματική σχέση των λέξεων. Με άλλα λόγια δυο συνώνυμες λέξεις δεν είναι δυνατόν να συνυπάρχουν πάντα με την ίδια λέξη προκειμένου να δημιουργήσουν συμφράσεις (Baker, 1992).

Η έκφραση “stock solution” ως αυτολεξεί μετάφραση προκύπτει απόθεμα λύσης, κάτι το οποίο δεν βοηθά στο νόημα, ωστόσο οι δυο αυτές λέξεις δημιουργούν μια σύμφραση η οποία αποδίδεται ως «απόθεμα διαλύματος».

5.6. Ιδιωματικές Εκφράσεις

Ιδιωματικές εκφράσεις ή ιδιωτισμοί ορίζονται οι σταθερές ενώσεις λέξεων για τις οποίες ισχύουν οι μορφοσυντακτικοί, συνταγματικοί και σημασιολογικοί κανόνες των ελεύθερων ενώσεων λέξεων. Το συγκεκριμένο άρθρο που μελετάται δεν περιλαμβάνει ιδιωματικές εκφράσεις.

5.7. Διατήρηση του Περιεχομένου, αλλά όχι της Μορφής

Η μετάφραση ως διαδικασία περιλαμβάνει τη μεταφορά μηνύματος από τη γλώσσα-πηγή στη γλώσσα-στόχο. Ωστόσο, όπως αναφέρθηκε και πιο πάνω, ο μεταφραστής καλείται να αντιμετωπίσει πλήθος προβλημάτων κατά τη διεξαγωγή της μετάφρασης. Ένα από αυτά τα προβλήματα είναι η έλλειψη ισοδυναμίας σε επίπεδο της μορφής. Εξαιτίας των διαφορετικών δομών που εμφανίζουν οι γλώσσες πολλές φορές καθίσταται δύσκολο κατά τη μεταφορά του μηνύματος του πρωτότυπου να διατηρηθεί η μορφή του. Ουσιαστικά, παρατηρείται διατήρηση του περιεχομένου αλλά όχι της μορφής. Τα στοιχεία της μορφής ξεπερνούν το κείμενο συνθέτοντας μια καλλιτεχνική έκφραση που είναι ιδιαίτερη και μπορεί να αποδοθεί στη γλώσσα-στόχο μ ανάλογες μορφές έκφρασης. Επομένως, η λειτουργία έκφρασης σε μια γλώσσα πρέπει να φέρει ανάλογη μορφή στη μετάφραση ώστε να θεωρηθεί πραγματικά ισοδύναμη με το πρωτότυπο (Reiss & Vermeer, 2014). Σύμφωνα με τη κατά λέξη μετάφραση εξαιτίας της πιστότητας και της στείρας μετάφρασης είναι δυνατόν να διατηρηθεί η μορφή του πρωτότυπου ωστόσο να μην συμπεριληφθούν στοιχεία του περιεχομένου. Σε αντίθετη περίπτωση, η ελεύθερη μετάφραση απομακρύνεται από την πρωτότυπη μορφή του μηνύματος και με κάθε μέσο επιτυγχάνει τη μεταφορά του νοήματος. Καθώς το άρθρο που μελετάται αποσκοπεί στην πληροφόρηση η ελεύθερη μετάφραση θεωρείται κατάλληλη για ορισμένες εκφράσεις ώστε να μην χαθούν στοιχεία από το περιεχόμενο.

Συγκεκριμένα, η έκφραση “**the cognitive and memory deficits**” δεν είναι εφικτό να μεταφραστεί διατηρώντας αυτούσια τη μορφή της, αντί αυτού μέσω της ελεύθερης μετάφρασης αποδίδεται ως «**τα γνωστικά ελλείμματα και τα ελλείμματα μνήμης**» συμπληρώνοντας το νόημα επακριβώς όπως το πρωτότυπο. Επίσης, η έκφραση “**connecting diabetes-related mechanisms to actual AD pathology**” δεν είναι δυνατόν

να μεταφραστεί αυτούσια διατηρώντας την πρωτότυπη μορφή της καθώς δεν θα υπήρχε νοηματική συνοχή. Αντιθέτως μεταφράζεται ελεύθερα σε «**συνδέοντας μηχανισμούς που σχετίζονται με τον διαβήτη με την πραγματική παθολογία του ΣΔ**». Μια ακόμα έκφραση που δεν μπορεί να διατηρήσει την πρωτότυπη μορφή της κατά τη διαδικασία της μετάφρασης είναι “ **to be neuroprotective against Aβ₁₋₄₂-mediated toxicity in PC-12**” η οποία αποδίδεται ως «**είναι νευροπροστατευτικό έναντι της τοξικότητας που προκαλείται από το Aβ₁₋₄₂ σε νευρωνικά κύτταρα PC-12**». Επιπλέον, η φράση, “**only two challenges were performed due to the results obtained from controls**” αποδίδεται ως «**πραγματοποιήθηκαν μόνο δύο προκλήσεις λόγω των αποτελεσμάτων που προέκυψαν από τους ελέγχους**». Ακόμα, η φράση “**and then, either a luciferase assay or MitoSOX assay was performed**.” αποδόθηκε ως «**στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε είτε δοκιμασία λουσιφεράσης είτε δοκιμασία MitoSOX**». Η φράση “**Glucose challenge and glucose with ATX exposure groups were tested**” αποδίδεται ως «**Εξετάστηκαν οι ομάδες πρόκλησης με γλυκόζη και οι ομάδες έκθεσης σε γλυκόζη με ATX**». Μια ακόμα φράση που διατηρείται το περιεχόμενο αλλά όχι η μορφή της είναι “**After the 24 hour-incubation period,**” η οποία αποδίδεται ως «**Μετά την περίοδο επώασης των 24 ωρών**». Επιπλέον, η φράση . “**Before the end of the cell exposure period was over, the 5 mM MitoSOX stock solution was made from vials obtained from Thermo Fisher Scientific**”, αποδίδεται ως «**Πριν από το τέλος της περιόδου έκθεσης των κυττάρων ολοκληρώθηκε η παρασκευή του αποθέματος διαλύματος 5 mM MitoSOX από φιαλίδια που αποκτήθηκαν από την Thermo Fisher Scientific**». Επιπρόσθετα, η φράση “**and three-point region analysis was performed on the brightest regions**” αποδίδεται ως «**πραγματοποιήθηκε ανάλυση περιοχών τριών σημείων στις πιο φωτεινές περιοχές**». Μια ακόμα φράση στην οποία διατηρείται το περιεχόμενο αλλά όχι η μορφή είναι “**A Luciferase firefly assay was used to measure ATP output after growth**” η οποία αποδίδεται ως «**Για τη μέτρηση της παραγωγής ATP μετά την ανάπτυξη χρησιμοποιήθηκε η δοκιμασία Luciferase firefly**».

5.8.Παράφραση

Στη μεταφραστική διαδικασία ο μεταφραστής συχνά χρησιμοποιεί τη μέθοδο της παράφρασης προκειμένου να αποδώσει όσο το δυνατόν καλύτερα το πρωτότυπο κείμενο στη γλώσσα-στόχο στις περιπτώσεις όπου συναντάται έλλειψη ισοδυναμίας σε επίπεδο μορφής και λέξης. Η παράφραση αποτελεί την έκφραση μια φράσης ή μιας

λέξεις με διαφορετικά λόγια. Σε ένα κείμενο η παράφραση μπορεί να χρησιμεύσει ως επεξήγηση, διευκρίνιση, καθορισμός, μεταφορά ή αναδιοργάνωση. Όταν ένα κείμενο υπόκειται σε παράφραση αλλάζει η λεξικοποίηση κάνοντας το νόημα ταυτόχρονα ίδιο και διαφορετικό από το πρωτότυπο. Παράφραση μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε περιπτώσεις όπου υπάρχει πολιτισμικό κενό ανάμεσα στη γλώσσα-πηγή και τη γλώσσα-στόχο ή σε περιπτώσεις όπου το πρωτότυπο πραγματεύεται ένα συγκεκριμένο θέμα το οποίο είναι γνωστό στη γλώσσα-στόχο ωστόσο δεν έχει πραγματοποιηθεί απλή λεξικοποίηση. Ακόμα παράφραση μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την απόδοση μιας λέξης από τη γλώσσα-πηγή στη γλώσσα-στόχο προκειμένου να γίνει κατανοητού από το ευρύ κοινό. Ακόμα η παράφραση μπορεί να χρησιμοποιηθεί προκειμένου να αποφευχθεί η επανάληψη που μπορεί να καταστήσει το κείμενο βαρετό. Βασική προϋπόθεση είναι να επιτρέπει το πρωτότυπο κείμενο την παράφραση χωρίς να αλλοιώνεται το νόημά του (Danielsson, 2007).

Η έκφραση **“ATX and Aβ treated cells demonstrated increased growth patterns over cells treated with Aβ alone”** μέσω παράφρασης αποδόθηκε ως **«Τα κύτταρα που έλαβαν θεραπεία με ATX και Aβ επέδειξαν αυξημένα πρότυπα ανάπτυξης σε σχέση με τα κύτταρα που έλαβαν θεραπεία μόνο με Aβ»**. Επιπλέον, η έκφραση **“Aβ alone treated groups overall had significantly less growth than controls (p < 0.05)”** παραφράστηκε ως **«Οι ομάδες που έλαβαν θεραπεία μόνο με Aβ είχαν συνολικά σημαντικά μικρότερη ανάπτυξη από ό,τι οι ομάδες ελέγχου (p < 0,05)»**. Ακόμα, η φράση **“suggesting that ATX is able to overcome the negative effects of Aβ.”**, με χρήση της μεθόδου παράφρασης αποδίδεται ως **«γεγονός που υποδηλώνει ότι η ATX είναι σε θέση να ξεπεράσει τις αρνητικές επιδράσεις του Aβ»**. Επιπλέον η φράση **“few treatment options are available, and no cure exists”**, παραφράζεται ως **«είναι διαθέσιμες λίγες θεραπευτικές επιλογές και δεν υπάρχει θεραπεία»**. Η φράση **“connecting diabetes-related mechanisms to actual AD pathology”** παραφράζεται ως **«συνδέοντας μηχανισμούς που σχετίζονται με τον διαβήτη με την πραγματική παθολογία του ΣΔ»**. Η φράση **“Hyperglycemia is a major contributor to ROS production and other damage in type 2 diabetes”** παραφράζεται ως **«Η υπεργλυκαιμία συμβάλλει σημαντικά στην παραγωγή ROS και σε άλλες βλάβες στον διαβήτη τύπου 2»**. μια ακόμα φράση που υποβλήθηκε σε παράφραση είναι **“Once the desired cell population was reached”**, η οποία αποδίδεται ως **«Μόλις επιτυγχανόταν ο επιθυμητός κυτταρικός πληθυσμός»**. Ακόμα, η φράση **“and then,**

either a luciferase assay or MitoSOX assay was performed.” Παραφράστηκε και αποδόθηκε ως «στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε είτε δοκιμασία λουσιφεράσης είτε δοκιμασία MitoSOX». Επιπρόσθετα, η φράση “**but still showed growth difficulties compared to the control (glucose) and glucose ATX groups**” παραφράζεται ως εξής «αλλά εξακολουθούσε να παρουσιάζει δυσκολίες ανάπτυξης σε σύγκριση με τις ομάδες ελέγχου (γλυκόζη) και γλυκόζης ATX».

6.Επίλογος

Από την ανωτέρω ανάλυση προκύπτει ότι η μετάφραση του συγκεκριμένου άρθρου είχε μέτρια δυσκολία και χρειάστηκε να αφιερωθεί πολύς χρόνος κυρίως για τον προσδιορισμό και την απόδοση της ειδικής ορολογίας. Ωστόσο, ως διαδικασία αποδείχτηκε ιδιαιτέρως ενδιαφέρουσα και επιμορφωτική. Μέσα από τη συγκεκριμένη εργασία, αποσαφηνίστηκαν οι αρχές της μετάφρασης τις οποίες κατόρθωσα να εφαρμόσω σε όλη την έκταση της εργασίας.

7.Γλωσσάριο

Όρος στο Κείμενο-Πηγή	Όρος στο Κείμενο-Στόχος	Πηγή	Διαφορετικές αποδόσεις	Επιλογή συγκεκριμένης απόδοσης
Alzheimer's Disease	νόσος Αλτσχάιμερ	(Ehrlich, et al., 2021)		
Hyperglycemia	υπεργλυκαιμία	(Ehrlich, et al., 2021)		
Hypoglycemia	υπογλυκαιμία	(Ehrlich, et al., 2021)		
Insulin therapy	θεραπεία με ινσουλίνη	(Ehrlich, et al., 2021)		
Astaxanthin(ATX)	ασταξανθίνη (ATX)	(Ehrlich, et al., 2021)		
Mitochondrial dysfunction	μιτοχονδριακή δυσλειτουργία	(Ehrlich, et al., 2021)		
Amyloid β plaque	πλάκας αμυλοειδούς β	(Ehrlich, et al., 2021)		
Growth patterns	πρότυπα ανάπτυξης	(Ehrlich, et al., 2021)		
ATP production	παραγωγή ATP	(Ehrlich, et al., 2021)		
ROS generation	παραγωγή ROS	(Ehrlich, et al., 2021)		
Glucose	Γλυκόζη	(Ehrlich, et al., 2021)		
Cell	Κύτταρο	(Ehrlich, et al., 2021)	κελί	Καταλληλότερη λόγω νοήματος
Average fluorescence	Μέσος φθορισμός	(Ehrlich, et al., 2021)		
MitoSOX assay	Διαδικασία MitoSOX	(Ehrlich, et al., 2021)		
Hippocampal cells	κύτταρα του ιππόκαμπου	(Ehrlich, et al., 2021)		
Amyloid beta peptide	Πεπτίδιο αμυλοειδούς β	(Ehrlich, et al., 2021)		
Reactive oxygen species (ROS)	Δραστικά είδη οξυγόνου	(Ehrlich, et al., 2021)		
Insulin receptor substrate phosphorylation	φωσφορυλίωση του υποστρώματος του υποδοχέα ινσουλίνης	(Ehrlich, et al., 2021)		
Amyloidogenic effects in the hippocampus	αμυλοειδογόνες επιδράσεις στον ιππόκαμπο	(Ehrlich, et al., 2021)		
Mitochondria	Μιτοχόνδρια	(Ehrlich, et al., 2021)		
Mutated mtDNA	Μεταλλαγμένο DNA	(Ehrlich, et al., 2021)		

Oxidative stress	Οξειδωτικό στρες	(Ehrlich, et al., 2021)		
Reduction of O ₂	Αναγωγή του οξυγόνου	(Ehrlich, et al., 2021)		
Electron transport chain	Αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων	(Ehrlich, et al., 2021)		
Superoxide anion	Ανιόν υπεροξειδίου	(Ehrlich, et al., 2021)		
Hydrogen peroxide	Υπεροξείδιο του υδρογόνου	(Ehrlich, et al., 2021)		
Hydroxyl radical	Ρίζα υδροξυλίου	(Ehrlich, et al., 2021)		
Proteins	Πρωτεΐνες	(Ehrlich, et al., 2021)		
Lipids	Λιπίδια	(Ehrlich, et al., 2021)		
Nucleic acid	Νουκλεϊκά οξέα	(Ehrlich, et al., 2021)		
Diabetes Mellitus	Σακχαρώδης διαβήτης	(Ehrlich, et al., 2021)		
Cognitive dysfunction	Γνωστική δυσλειτουργία	(Ehrlich, et al., 2021)		
Cellular death	Κυτταρικός θάνατος	(Ehrlich, et al., 2021)		
Necroptosis	Νεκρόπτωση	(Ehrlich, et al., 2021)		
Working and long-term memory	Εργαζόμενη και μακροπρόθεσμη μνήμη	(Ehrlich, et al., 2021)		
Carotenoid	Κερατενοειδές	(Ehrlich, et al., 2021)		
Aquatic microorganisms	Υδρόβιοι μικροοργανισμοί	(Ehrlich, et al., 2021)		
Blood-brain barrier	Αιματοεγκεφαλικό ς φραγμός	(Ehrlich, et al., 2021)		
Neuroprotective	Νευροπροστατευτικό	(Ehrlich, et al., 2021)		
Neuronal cells	Νευρωνικά κύτταρα	(Ehrlich, et al., 2021)		
Mouse hippocampal cell line	σειρά κυττάρων ιπποκάμπου ποντικού	(Ehrlich, et al., 2021)		
Eagle's Minimum Essential Medium	Θρεπτικό υλικό ελάχιστων τροφικών απαιτήσεων Eagle	(Ehrlich, et al., 2021)		

Fetal Bovine Serum Albumin	εμβρυϊκή αλβουμίνη ορού βοοειδών	(Ehrlich, et al., 2021)		
Microbial growth	μικροβιακής ανάπτυξης	(Ehrlich, et al., 2021)		
Medium	μέσο	(Ehrlich, et al., 2021)		
Cell solution	Διάλυμα κυττάρων	(Ehrlich, et al., 2021)		
Cell population	Κυτταρικός πληθυσμός	(Ehrlich, et al., 2021)		
Neuronal differentiation	νευρωνική διαφοροποίηση	(Ehrlich, et al., 2021)		
Retinoic acid	Ρετινοϊκό οξύ	(Ehrlich, et al., 2021)		
Incubator	Επωαστήρας	(Ehrlich, et al., 2021)		
Luciferase assay	Δοκιμασία λουσιφεράσης	(Ehrlich, et al., 2021)		
Sterile	Αποστειρωμένο	(Ehrlich, et al., 2021)		
Stock solution	Απόθεμα διαλύματος	(Ehrlich, et al., 2021)		
Eppendorf tubes	Σωληνάρια Eppendorf	(Ehrlich, et al., 2021)		
Luminescence	Φωταύγεια	(Ehrlich, et al., 2021)		
Intracellular	Ενδοκυττάριο	(Ehrlich, et al., 2021)		
Firefly Lantern Extract	Εκχύλισμα Firefly Lantern	(Ehrlich, et al., 2021)		
Scintillation vials	φιαλίδια σπινθηρισμού	(Ehrlich, et al., 2021)		
Deionized water	Απιονισμένο νερό	(Ehrlich, et al., 2021)		
Samples	Δείγματα	(Ehrlich, et al., 2021)		
Scintillation counter	Μετρητής σπινθηρισμού	(Ehrlich, et al., 2021)		
Wide band setting	Ρύθμιση ευρείας ζώνης	(Ehrlich, et al., 2021)		
Standard curve	Πρότυπη καμπύλη	(Ehrlich, et al., 2021)		
cover slips	Καλυπτήρια	(Ehrlich, et al., 2021)		
petri dishes	Τριβλία petri	(Ehrlich, et al., 2021)		
cellular differentiation	Κυτταρική διαφοροποίηση	(Ehrlich, et al., 2021)		

fluorescent microscope	Μικροσκόπιο φθορισμού	(Ehrlich, et al., 2021)		
Mean fluorescence values	Μέσες τιμές φθορισμού	(Ehrlich, et al., 2021)		
one-way analysis of variance	Ανάλυση διακύμανση μιας κατεύθυνσης	(Ehrlich, et al., 2021)		
Cell growth	Κυτταρική ανάπτυξη	(Ehrlich, et al., 2021)		
sheet-like	Σε μορφή φύλλου	(Ehrlich, et al., 2021)	Σαν φύλο	Καταλληλότερη λόγω επίσημου ύφους του άρθρου
Luciferase firefly assay	Δοκιμασία Lusiferase firefly	(Ehrlich, et al., 2021)		
fluorescent light microscope	Μικροσκόπιο φθορισμού	(Ehrlich, et al., 2021)		
cellular respiration	Κυτταρική αναπνοή	(Ehrlich, et al., 2021)		
concentration	Συγκέντρωση	(Stavropoulos & Hornby, 2007)		
In vitro model	μοντέλο in vitro	(Stavropoulos & Hornby, 2007)		
Involving	Συνεπάγεται	(Stavropoulos & Hornby, 2007)	Περιλαμβάνει Σχετίζεται Συμμετέχει Αφορά	Καταλληλότερη λόγω ύφους και περιεχόμενου του άρθρου
solution	Διάλυμα	(Stavropoulos & Hornby, 2007)	λύση	Καταλληλότερη λόγω νοήματος
Identified	Εντόπισε	(Stavropoulos & Hornby, 2007)	Αναγνώρισε προσδιόρισε	Καταλληλότερη λόγω ύφους και περιεχόμενου του άρθρου
Challenged	Υποβλήθηκε/προκ αλείται	(Stavropoulos & Hornby, 2007)	Αμφισβήτησε Διεκδίκησε	Καταλληλότερη λόγω ύφους, νοήματος και περιεχόμενου του άρθρου
determined	προσδιορίστηκε	(Stavropoulos & Hornby, 2007)	Καθορίστηκε Ορίστηκε Αποφασίστηκε	Καταλληλότερη λόγω ύφους, νοήματος και περιεχόμενου του άρθρου

Βιβλιογραφία

Baker, M., 1992. *In Other Words*. London: Routledge.

Cabre, M., 1998. *Terminology: Theory, Methods and Applications*. trans. J.A. De Cesaris επιμ. Amsterdam and Philadelphia: John Benjamins.

Danielsson, P., 2007. *In other words: Using paraphrases in Translation*. Birmingham: University of Birmingham.

Ehrlich, A., Schroeder, C., Ehrlich, L. & Schroede K., 2021. *Medical Terminology for Health Professions*. 9 επιμ. s.l.:Cengage Learning.

Reiss, K. & Vermeer, H., 2014. *Towards a General Theory of Translational Action*. London: Routledge.

Stavropoulos, D. & Hornby, A., 2007. *Oxford English-Greek Learner's Dictionary*. Oxford: Oxford University press.

Κελάνδριας, Π., 2007. *Η Μετάφραση των Οικονομικών Κειμένων*. Αθήνα: Διάλογος.