



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

Titolo del progetto

“Studio del potenziale effetto neuroprotettivo di estratti di olio extra vergine di oliva in un modello di malattia di Parkinson in *Drosophila melanogaster*”

TUTOR

Cristina Angeloni - SSD BIOS-07/A Biochimica

Il progressivo incremento della popolazione anziana ha determinato una maggiore incidenza di patologie neurodegenerative, come il morbo di Alzheimer e il morbo di Parkinson, nelle quali l'invecchiamento rappresenta uno dei principali fattori di rischio [1].

In particolare, il Parkinson è il secondo disturbo neurodegenerativo più comune dopo la malattia di Alzheimer, e il suo impatto sanitario, sociale ed economico continuerà a crescere parallelamente all'aumento della longevità della popolazione. Il Parkinson presenta un'eziologia multifattoriale e coinvolge l'interazione tra invecchiamento, suscettibilità genetica e fattori ambientali. La caratteristica patologica cruciale del Parkinson è la precoce e marcata morte dei neuroni dopaminergici, oltre all'accumulo di α -sinucleina, tossica per i neuroni [2]. La patogenesi del Parkinson è piuttosto complessa e, attualmente, i meccanismi più studiati si concentrano sulla disfunzione mitocondriale, lo stress ossidativo, lo squilibrio del Ca^{2+} , l'apoptosi cellulare, la neuroinfiammazione, i disturbi lisosomiali e le alterazioni sinaptiche [3]. Evidenze emergenti suggeriscono, inoltre, che la disbiosi del microbiota intestinale sia funzionalmente collegata a disfunzioni immunitarie del cervello, contribuendo così allo sviluppo della patologia [4]. Attualmente non esiste una cura in grado di arrestare o rallentare la progressione della malattia di Parkinson, ma sono disponibili trattamenti che aiutano esclusivamente ad alleviarne i sintomi. Negli ultimi anni, un'attenzione particolare è stata rivolta al potenziale ruolo della nutrizione nel contrastare/prevenire questa patologia [5] ma, nonostante i progressi della ricerca, permangono numerose incertezze riguardo alla relazione tra malattia di Parkinson e nutrizione, probabilmente legate all'interazione complessa tra fattori genetici e ambientali [6]. Tuttavia, un crescente numero di evidenze scientifiche indica che la correzione di condizioni di malnutrizione, il riequilibrio del microbiota intestinale e l'adozione di un regime alimentare ispirato alla dieta mediterranea possono contribuire a ridurre il rischio di insorgenza del Parkinson e a rallentarne la progressione [6]. In particolare, la dieta mediterranea, caratterizzata da un'elevata assunzione di frutta, verdura, legumi, cereali integrali, pesce e olio extravergine di oliva, ha dimostrato di possedere effetti neuroprotettivi grazie alla sua ricchezza in antiossidanti e composti anti-infiammatori [7]. Oltre al modello alimentare nel suo complesso, alcuni specifici componenti nutrizionali sembrano esercitare un potenziale effetto protettivo. Tra questi, i polifenoli (ad esempio flavonoidi e resveratrolo)[8,9], noti per le loro proprietà antiossidanti e anti-infiammatorie, gli acidi grassi polinsaturi (PUFA), in



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

particolare gli omega-3, che supportano la funzionalità mitocondriale e la plasticità neuronale [10], e il consumo moderato di caffè, associato in diversi studi epidemiologici a una riduzione del rischio di sviluppare PD, probabilmente grazie agli effetti neurostimolanti della caffeina [11].

Queste evidenze suggeriscono che approcci nutrizionali mirati, integrati in strategie di prevenzione primaria e secondaria, potrebbero rappresentare un importante complemento agli interventi farmacologici tradizionali nella gestione della patologia, aprendo la strada a futuri studi clinici volti a definire protocolli dietetici personalizzati.

Obiettivo del progetto e piano formativo

L'obiettivo principale del progetto sarà valutare il potenziale effetto protettivo di specifici estratti di olio extra vergine di oliva (EVOO) nei confronti della malattia di Parkinson, utilizzando *Drosophila melanogaster* come modello sperimentale.

Drosophila melanogaster rappresenta un modello animale di straordinaria rilevanza per la ricerca biomedica, grazie a una combinazione unica di caratteristiche sperimentali e genetiche. Tra i principali vantaggi si annoverano il breve ciclo vitale, l'elevato tasso riproduttivo, la facilità di allevamento in laboratorio e i costi estremamente contenuti. Dal punto di vista genetico, la *Drosophila* condivide con l'uomo una significativa omologia genomica: circa il 75% dei geni umani associati a malattie ha un omologo funzionale nella mosca [12]. Inoltre, è disponibile una vasta gamma di strumenti di manipolazione genetica che consentono l'espressione di geni umani, il silenziamento genico mirato (RNAi) e la generazione di modelli patologici specifici.

Un'altra peculiarità che rende la *Drosophila* particolarmente utile nello studio delle malattie neurodegenerative è il fatto che il suo sistema nervoso, pur essendo relativamente semplice in termini anatomici, presenta una complessità funzionale che riproduce molte caratteristiche fondamentali del sistema nervoso umano, inclusi meccanismi di trasmissione sinaptica, plasticità neuronale e circuiti regolatori [13].

In questo contesto, *Drosophila melanogaster* si configura come un modello estremamente potente per lo studio della patogenesi e dei meccanismi molecolari alla base del morbo di Parkinson e di altre patologie neurodegenerative, oltre che come piattaforma per la sperimentazione di strategie preventive/protettive innovative. Il suo ciclo vitale relativamente breve consente di esplorare più rapidamente questioni complesse legate alla funzione cerebrale e all'invecchiamento rispetto ad altri organismi modello, come i roditori o i primati. Inoltre, il modello della *Drosophila* rientra pienamente nel concetto di implementazione dei principi delle 3R, perché rappresenta una parziale sostituzione dell'uso degli animali a fini scientifici, in quanto, in base all'attuale pensiero scientifico, i moscerini non sono considerate in grado di provare sofferenza.

Il progetto prevederà inizialmente la messa a punto di un modello di Parkinson in *Drosophila melanogaster* caratterizzato da moscerini transgenici esponenti α -sinucleina umana. Una volta messo a punto il modello sperimentale, questo verrà impiegato per studiare il potenziale effetto



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

protettivo di estratti di olio extra vergine di oliva. I moscerini verranno supplementati per l'intero arco della vita con gli estratti, che saranno aggiunti al terreno di crescita, al fine di valutarne gli effetti a lungo termine sulla progressione del fenotipo parkinsoniano. Gli effetti sulla longevità saranno determinati mediante l'analisi della durata massima della vita con l'applicazione *Oasis2* e, a partire dalle curve ottenute, verranno individuati i punti temporali chiave corrispondenti a differenze di mortalità tra i gruppi di controllo e quelli trattati.

In tali punti critici verranno analizzati sia parametri comportamentali sia biochimici.

Per quanto riguarda gli effetti degli estratti sui comportamenti correlati al Parkinson, sarà valutata la coordinazione neuromuscolare tramite climbing assay.

Al fine di chiarire i meccanismi molecolari, saranno analizzati i seguenti parametri biochimici:

- Deposizione di α -sinucleina – valutata mediante western blot e microscopia confocale.
- Infiammazione – valutata mediante RT-PCR di mediatori pro-infiammatori estratti dalle teste delle mosche.

Il percorso formativo previsto consentirà al borsista di acquisire competenze multidisciplinari nell'ambito della biologia molecolare, della genetica e delle neuroscienze sperimentali, con particolare applicazione allo studio delle malattie neurodegenerative.

In dettaglio, il borsista svilupperà le seguenti competenze:

- capacità di allestire e mantenere un modello di *Drosophila melanogaster* transgenica per lo studio del Parkinson;
- gestione di incroci genetici complessi e mantenimento di linee mutanti;
- conoscenza delle potenzialità e dei limiti del modello di *Drosophila* nello studio delle patologie neurodegenerative.
- esecuzione e interpretazione di saggi comportamentali standardizzati (climbing assay per la coordinazione neuromuscolare);
- esecuzione di western blot e microscopia confocale per la valutazione della deposizione di α -sinucleina;
- utilizzo di RT-PCR per l'analisi dell'espressione di geni coinvolti nell'infiammazione;
- analisi e interpretazione dei dati biochimici in relazione al modello di malattia.
- capacità di progettare esperimenti, raccogliere e analizzare dati complessi;
- sviluppo di autonomia critica nell'interpretazione dei risultati;
- familiarità con la letteratura scientifica internazionale relativa al ruolo della nutrizione e dei composti bioattivi nello sviluppo delle malattie neurodegenerative;
- potenziamento delle abilità di comunicazione scientifica (stesura di relazioni, articoli, presentazioni orali e poster).



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

Bibliografia

1. Zhao, M.; Chen, S.-T.; Chen, T.-L.; Tu, S.-Y.; Yeh, C.-T.; Lin, F.-Y.; Lu, H.-C. Intelligent Healthcare System Using Patients Confidential Data Communication in Electrocardiogram Signals. *Front. Aging Neurosci.* **2022**, *14*, 870844, doi:10.3389/fnagi.2022.870844.
2. Pang, S.Y.-Y.; Ho, P.W.-L.; Liu, H.-F.; Leung, C.-T.; Li, L.; Chang, E.E.S.; Ramsden, D.B.; Ho, S.-L. The Interplay of Aging, Genetics and Environmental Factors in the Pathogenesis of Parkinson's Disease. *Transl. Neurodegener.* **2019**, *8*, 23, doi:10.1186/s40035-019-0165-9.
3. Morris, H.R.; Spillantini, M.G.; Sue, C.M.; Williams-Gray, C.H. The Pathogenesis of Parkinson's Disease. *Lancet Lond. Engl.* **2024**, *403*, 293–304, doi:10.1016/S0140-6736(23)01478-2.
4. Vascellari, S.; Palmas, V.; Melis, M.; Pisanu, S.; Cusano, R.; Uva, P.; Perra, D.; Madau, V.; Sarchioto, M.; Oppo, V.; et al. Gut Microbiota and Metabolome Alterations Associated with Parkinson's Disease. *mSystems* **2020**, *5*, e00561-20, doi:10.1128/mSystems.00561-20.
5. Seidl, S.E.; Santiago, J.A.; Bilyk, H.; Potashkin, J.A. The Emerging Role of Nutrition in Parkinson's Disease. *Front. Aging Neurosci.* **2014**, *6*, 36, doi:10.3389/fnagi.2014.00036.
6. Bianchi, V.E.; Rizzi, L.; Somaa, F. The Role of Nutrition on Parkinson's Disease: A Systematic Review. *Nutr. Neurosci.* **2023**, *26*, 605–628, doi:10.1080/1028415X.2022.2073107.
7. Bisaglia, M. Mediterranean Diet and Parkinson's Disease. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *24*, 42, doi:10.3390/ijms24010042.
8. Wu, J.; Tian, Z.; Wang, B.; Liu, J.; Bi, R.; Zhan, N.; Song, D.; He, C.; Zhao, W. Exploring Resveratrol against Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease through Integrating Network Pharmacology, Bioinformatics, and Experimental Validation Strategy in Vitro. *Heliyon* **2024**, *10*, e37908, doi:10.1016/j.heliyon.2024.e37908.
9. Varshney, H.; Siddique, Y.H. Effect of Flavonoids against Parkinson's Disease. *Cent. Nerv. Syst. Agents Med. Chem.* **2024**, *24*, 145–165, doi:10.2174/0118715249264078231214074107.
10. Li, P.; Song, C. Potential Treatment of Parkinson's Disease with Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids. *Nutr. Neurosci.* **2022**, *25*, 180–191, doi:10.1080/1028415X.2020.1735143.
11. Asuku, A.O.; Ayinla, M.T.; Olajide, T.S.; Oyerinde, T.O.; Yusuf, J.A.; Bayo-Olugbami, A.A.; Fajemidagba, G.A. Coffee and Parkinson's Disease. *Prog. Brain Res.* **2024**, *289*, 1–19, doi:10.1016/bs.pbr.2024.06.001.
12. Reiter, L.T.; Potocki, L.; Chien, S.; Gribskov, M.; Bier, E. A Systematic Analysis of Human Disease-Associated Gene Sequences in *Drosophila Melanogaster*. *Genome Res.* **2001**, *11*, 1114–1125, doi:10.1101/gr.169101.
13. McGurk, L.; Berson, A.; Bonini, N.M. *Drosophila* as an In Vivo Model for Human Neurodegenerative Disease. *Genetics* **2015**, *201*, 377–402, doi:10.1534/genetics.115.179457.