



JAARGANG 2017, NUMMER 1 (JULI)

Wie zeker van de zomervakantie zullen genieten zijn Emile Clappaert (Biologie) en Hannah Walgrave (Biochemie & Biotechnologie), de laureaten van de PDL-Masterprijzen voor het academiejaar 2016–2017. Vooraleer ze té diep in de vakantiestemming geraakten, vroegen we hen hun onderzoek samen te vatten.

### De watervlo als model in kankeronderzoek? - door Emile Clappaert



Emile Clappaert

Mijn masterthesis was al vroeg in mijn opleiding een sluitstuk waar ik met grote verwachtingen naartoe werkte. Een mooi afgewerkte en uitgebreide studie van een interessant onderwerp is voor mij één van de belangrijkste opdrachten als wetenschapper. Het onderwerp betrof het nagaan van het potentieel van de watervlo *Daphnia magna* als modelorganisme in kankeronderzoek. Metastase, de migratie van kankercellen doorheen het lichaam, staat nog steeds gelijk met een lage overlevingskans. Tijdens metastase zullen kankercellen de ori-

ginele tumor verlaten en via de bloedvaten door het lichaam migreren naar nieuwe plaatsen in het lichaam waar ze nieuwe tumoren kunnen vormen. Het is dan ook van het grootste belang om de mechanismen te bestuderen die metastase in de hand werken. Een belangrijke stap tijdens metastase is de transitie van de stevig verankerde epitheliale kankercellen naar ongebonden, beweeglijke mesenchymale kankercellen. Deze transitie wordt de epitheliale-naar-mesenchymale transitie (EMT) genoemd en is een biologisch, geconserveerd en omkeerbaar proces. In meercellige organismen komt EMT onder normale omstandigheden voor tijdens de embryonale ontwikkeling waarbij cellen van het embryo naar hun correcte plaats in het lichaam moeten migreren en in het herorganiseren van cellen rond een wonde om deze vervolgens te dichten. Tijdens metastase wordt dit proces misbruikt door kankercellen en kan het worden geactiveerd door een hele reeks signalen zoals groeifactoren, hypoxie en toxines.

Tot op heden zijn *in vivo* experimenten op EMT schaars en werd het gros van het onderzoek uitgevoerd *in vitro* met cellijnen. Omdat een goed modelorganisme voor EMT nog steeds ontbreekt, introduceerden we in het labo de watervlo *Daphnia*

*magna* als een ongewerveld *in vivo* model om EMT te bestuderen. Dit zoetwaterschaaldier wordt al decennialang gebruikt in ecologisch onderzoek en veroverde recent ook zijn plaats in het biomedische veld. De voordelen van *Daphnia*, zoals hun korte levenscyclus, vele nakomelingen, asexuele voortplanting en het ontbreken van ethische beperkingen, maken het gebruik ervan interessant in *high-throughput* onderzoek.

Twee experimenten werden opgezet in een poging om EMT te induceren in *Daphnia*. Een eerste behandeling behelsde de blootstelling van de organismen aan hypoxie (lage zuurstofwaarden). In de tweede behandeling werden de watervlooien blootgesteld aan *Microcystis aeruginosa*. Dit zijn ééncellige algen die microcystine produceren, een krachtig toxine waarvan *in vitro* experimenten reeds EMT konden aantonen. Vervolgens werd via kwantitatieve PCR de wijziging in genexpressie van gekende hypoxie en EMT-merkgenen geanalyseerd in zowel de darm als in volledige watervlooien op verschillende tijdstippen verspreid over meerdere weken. We vonden echter geen duidelijke trends in beide behandelingen die wijzen op het voorkomen van EMT. Om die reden introduceren we de hypothese dat *Daphnia*, aangezien het ook in een natuurlijke omgeving met deze twee stressoren (hypoxie en *Microcystis*) in contact komt, een beschermingsmechanisme heeft ontwikkeld tegen de schadelijke effecten van beide stressoren. Verder onderzoek zou de waargenomen veranderingen in het genexpressieniveau kunnen verklaren.

*Daphnia magna*

Ten laatste voerden we ook een kleinschalig experiment uit om de invloed van hypoxie op de samenstelling van de darmbacteriën te onderzoeken. Darmbacteriën zijn vandaag een 'hot topic' in de geneeskunde en we wilden nagaan of het microbioom mogelijk een rol speelde in de waargenomen bescherming tegen hypoxie in *Daphnia*. Na twee weken werd er een duidelijke verschuiving waargenomen in de soortensamenstelling. Een grootschalige studie op langere termijn is vereist om meer significante resultaten te bekomen. Hoewel er uit mijn masterthesis nog geen significante resultaten naar voor kwamen, kon er toch worden geconcludeerd dat *Daphnia magna* zeker een rol kan spelen in toekomstig biomedisch onderzoek.

### Onderzoek naar het therapeutisch potentieel van microRNA-132 in de ziekte van Alzheimer - door Hannah Walgrave

De ziekte van Alzheimer is een neurodegeneratieve ziekte waaraan ongeveer 47 miljoen mensen lijden. Het is de meest voorkomende vorm van dementie die verantwoordelijk is voor 60–80% van de gevallen. Tot op heden is er geen geneesmiddel of behandeling voorhanden. Twee karakteristieke letsels in de hersenen van Alzheimerpatiënten zijn de aanwezigheid van A $\beta$ -plaques en chemisch gemodificeerde Tau-kluwens. De accumulatie van deze twee eiwitten in de hersenen, samen met andere mechanismen, zoals ontstekingsreacties, leiden tot het afsterven van hersencellen en zo tot de typische Alzheimerpathologie.

MicroRNA's zijn kleine RNA-moleculen die belangrijk zijn voor nagenoeg alle aspecten van celbiologie. Voorafgaand onderzoek heeft aangetoond dat de microRNA-profielen in de hersenen van Alzheimerpatiënten veranderen met de progressie van de ziekte, wat suggereert dat microRNA's een rol spelen in pathologie van de ziekte van Alzheimer. Van speciaal belang is microRNA-132 (miR-132), waarvan de hoeveelheid consistent en robuust vermindert in Alzheimerpatiënten en dat een rol speelt in vele cellulaire processen die bij de ziekte van Alzheimer ook aangetast zijn. De miR-132-niveaus in de hersenen van Alzheimerpatiënten herstellen is daarom een mogelijke strategie in de bestrijding tegen de ziekte.

Om dit te onderzoeken heb ik miR-132 via de neus in de hersenen van een muizenmodel voor de ziekte van Alzheimer gebracht. Deze manier van toedienen laat toe om op een niet-invasieve manier de hersenen te bereiken, zonder dat de bloed-hersenbarrière moet overgestoken worden. Om de intranasale administratie van een synthetisch miR-132 te optimaliseren, werden verschillende kleinere experimenten opgesteld waarin drie parameters gevalideerd werden: de drager waarin miR-132 werd opgelost, de incubatietijd en de dosis. Een succesvolle intranasale administratie van miR-132 naar de hippocampus bleek mogelijk door het op te lossen in een cyclodextraanoplossing en met een incubatietijd van 1 uur. Een verdere functionele validatie van deze methode werd uitgevoerd om te kijken of het herstel van de miR-132-niveaus ook

functionele effecten had op de Alzheimerpathologie. De resultaten toonden een significante vermindering van één mogelijke Tau-modificatie en van de  $A\beta$ -niveaus aan. Dit onderzoek bevestigt de belangrijke rol van miR-132 in Alzheimerpathologie en suggereert dat het herstellen van de miR-132-niveaus in de hersenen via intranasale toediening een klinisch relevante strategie kan zijn om de Alzheimerpathologie te verbeteren. ■



Hannah Walgrave

