

Αθήνα, 18 Μαρτίου 2019

Υποψήφιος διδάκτωρ: Σιμούδης Αιμίλιος-Χρήστος

Επιβλέπων μέλος Δ.Ε.Π.: Κρούπης Χρήστος

Θέμα διδακτορικής διατριβής: Μελέτη της έκφρασης κολλαγόνων και ο ρόλος τους στη κολπική μαρμαρυγή μετά από καρδιοχειρουργική επέμβαση

Η παρούσα διατριβή είναι πρωτότυπη και αφορά την κολπική μαρμαρυγή, μια συνήθης επιπλοκή έπειτα από καρδιοχειρουργική επέμβαση και η οποία συμβάλλει στην νοσηρότητα, θνησιμότητα και στο κόστος της υγειονομικής περίθαλψης [1]. Η κατανόηση των μηχανισμών πίσω από την εμφάνιση της κολπικής μαρμαρυγής δεν είναι πλήρως κατανοητή λόγω ποικίλων παραγόντων όπως, φλεγμονή, τραυματισμός του μυοκαρδίου, οξειδωτικού στρες κ.α, που συμβάλλουν στην διατήρηση σημαντικού αριθμού εμφάνισης περιστατικών μετεγχειρητικής κολπικής μαρμαρυγής. Για την πρόβλεψη και τη διάγνωση της κολπικής μαρμαρυγής έχουν χρησιμοποιηθεί πρωτεϊνικοί δείκτες αλλά και miRNAs ως δείκτες έκφρασης γονιδίων σχετικών με την ανάπτυξη αυτής της αρρυθμίας [2,3,4]. Ωστόσο, το ενδιαφέρον έχει τελευταία στραφεί στα κολλαγόνα, καθώς προηγούμενες μελέτες επισήμαναν την πιθανή τους συμβολή στην κολπική μαρμαρυγή. Έχειδειχθεί ότι στους κόλπους των ασθενών που παρουσιάζουν κολπική μαρμαρυγή η αναλογία έκφρασης του κολλαγόνου τύπου I και III μεταβάλλεται [2]. Επιπλέον το κολλαγόνο τύπου XI(α1) και τύπου V χρησιμεύουν ως καλούπι για τα κολλαγόνα I και III, καθορίζοντας έτσι τις δομικές τους ιδιότητες και το μήκος τους [4]. Αλλαγές στην αναλογία των κολλαγόνων I/III θα μπορούσαν να οφείλονται σε μεταβολές στην έκφραση των XI(α1) και V, γεγονός που θα μπορούσε να συσχετιστεί με την εμφάνιση της κολπικής μαρμαρυγής μετά από καρδιοχειρουργική επέμβαση.

Στόχος της διδακτορικής διατριβής είναι να γίνει ανίχνευση, ποσοτικοποίηση και συσχέτιση των κολλαγόνων I, III, V και XI(α1) σε ασθενείς με ή χωρίς κολπική μαρμαρυγή έπειτα από καρδιοχειρουργική επέμβαση. Για το σκοπό αυτό, μετά από έγγραφη συναίνεση ασθενών προς καρδιοχειρουργική επέμβαση, θα ληφθούν δείγματα κολπικού καρδιακού ιστού στα οποία θα γίνει ανίχνευση, ποσοτικοποίηση των γενικών μεταγράφων αλλά και των ισομορφών (splicing variants) των κολλαγόνων I, III, V, XI(α1) με μεθοδολογίες RT-qPCR που έχουν ήδη αναπτυχθεί από την ερευνητική μας ομάδα [5,6,7]. Στη συνέχεια θα αναπτυχθούν μέθοδοι Western Blot ή Immunohistochemistry (IHC) για την έκφραση των ισομορφών σε πρωτεϊνικό επίπεδο. Τέλος θα γίνει στατιστική ανάλυση των πειραματικών αποτελεσμάτων με κλινικοπαθολογικά δεδομένα των ασθενών.

Το εργαστήριο Κλινικής Βιοχημείας του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου “Αττικών” έχει τα τελευταία χρόνια συμβάλλει ενεργά στο ερευνητικό αυτό έργο παρουσιάζοντας δεδομένα από τη μελέτη της διαφορικής έκφρασης των κολλαγόνων τύπου V και XI(α1) σε καρκίνους και ανθρώπινα αορτικά ανευρύσματα και αναπτύσσοντας τεχνικές απομόνωσης γενετικού υλικού και ποσοτικού προσδιορισμού μεταγράφων

κολλαγόνων, όπως του XI(α1) [5,6,7]. Μέσα από αυτές τις μελέτες, η ερευνητική δουλειά μπορεί να κατευθυνθεί στην κολπική μαρμαρυγή μετά από καρδιοχειρουργική επέμβαση και την συμβολή των κολλαγόνων στη νόσο. Επιπρόσθετα, το εργαστήριο παρέχει την υποδομή για την εκτέλεση των απαραίτητων πειραμάτων για την παρούσα διατριβή καθώς και άλλων διδακτορικών διατριβών αλλά και μοριακών και γενετικών εξετάσεων σε καρδιαγγειακά νοσήματα για διαγνωστικούς σκοπούς.

Βιβλιογραφία:

1. Grammer, J. B., Böhm, J., Dufour, A., Benz, M., Lange, R., & Bauernschmitt, R. (2005). Atrial fibrosis in heart surgery patients. *Basic research in cardiology*, 100(3), 288-294.
2. Turagam, M. K., Mirza, M., Werner, P. H., Sra, J., Kress, D. C., Tajik, A. J., & Jahangir, A. (2016). Circulating biomarkers predictive of postoperative atrial fibrillation. *Cardiology in review*, 24(2), 76.
3. Tsoporis, J. N., Fazio, A., Rizos, I. K., Izhar, S., Proteau, G., Salpeas, V., Rigopoulos, A., Sakadakis, E., Toumpoulis, I. & Parker, T. G. (2018). Increased right atrial appendage apoptosis is associated with differential regulation of candidate MicroRNAs 1 and 133A in patients who developed atrial fibrillation after cardiac surgery. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 121, 25-32.
4. Clauss, S., Sinner, M. F., Kääb, S., & Wakili, R. (2015). The role of MicroRNAs in antiarrhythmic therapy for atrial fibrillation. *Arrhythmia & electrophysiology review*, 4(3), 146.
5. Toumpoulis, I. K., Oxford, J. T., Cowan, D. B., Anagnostopoulos, C. E., Rokkas, C. K., Chamogeorgakis, T. P. & Federman, M. (2009). Differential expression of collagen type V and XI α-1 in human ascending thoracic aortic aneurysms. *The Annals of thoracic surgery*, 88(2), 506-513.
6. Karaglani, M., Toumpoulis, I., Goutas, N., Poupouridou, N., Vlachodimitropoulos, D., Vasilaros, S., Rizos, I. & Kroupis, C. (2015). Development of novel real-time PCR methodology for quantification of *COL11A1* mRNA variants and evaluation in breast cancer tissue specimens. *BMC cancer*, 15(1), 694.
7. Rizou, T., Perlikos, F., Lagiou, M., Karaglani, M., Nikolopoulos, S., Toumpoulis, I. & Kroupis, C. (2018). Development of novel real-time qPCR methodologies for quantification of the *COL11A1* mRNA general and C transcripts and evaluation in lung cancer tissue specimens: *JBUON*, 23(6): 1-12.

Η προτεινόμενη τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή της Διδακτορικής Διατριβής αποτελείται από τους κ.κ:

1. Κρούπης Χρήστος (Επίκουρος Καθηγητής, Τμήμα Κλινικής Βιοχημείας)
2. Τούμπουλης Ιωάννης (Επίκουρος Καθηγητής, Καρδιοχειρουργική Κλινική)
3. Ραλλίδης Λουκιανός (Αναπληρωτής Καθηγητής, 2^η Καρδιολογική Κλινική)

Όλοι εργάζονται στο Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο "Αττικών"

Athens, 18 March 2019

Doctoral candidate: Simoudis Aimilios-Christos

Supervisor: Asst. Prof. Kroupis Christos

PhD dissertation subject: "Study of collagens expression and their role in atrial fibrillation following cardiac surgery"

This thesis proposal is original and concerns atrial fibrillation, a common complication after cardiac surgery which contributes to morbidity, mortality and increase in health care costs [1]. Understanding of the mechanisms behind the onset of atrial fibrillation is not fully understood due to a plethora of factors including, inflammation, myocardial injury, oxidative stress etc., which contribute in the appearance of a high number of post-operative atrial fibrillation cases. For the prediction and diagnosis of atrial fibrillation, various protein markers and miRNAs have been used as markers of gene expression associated with the development of this arrhythmia [2,3,4]. However, interest has recently turned to collagens, as previous studies have highlighted their potential contribution to atrial fibrillation. It has been shown that in patients with atrial fibrillation the ratio of expression of collagen type I and type III changes [2]. In addition, collagen type XI ($\alpha 1$) and type V serve as a mold for collagens I and III, thus determining their structural properties and length [4]. Changes in the collagen I/III ratio could be due to alterations in the expression of XI ($\alpha 1$) and V, which could be associated with the onset of atrial fibrillation after cardiac surgery.

The aim of the dissertation is to detect, quantify and correlate Collagen I, III, V and XI ($\alpha 1$) mRNA expression in patients with or without atrial fibrillation, after cardiac surgery. For this purpose, after obtaining a written informed consent of patients prior to cardiac surgery in collaboration with the Cardiac Surgery University Clinic of our hospital, samples of ventricular heart tissue will be obtained in which detection and quantification of the general transcripts and splicing variants of collagens I, III, V, XI ($\alpha 1$) will be performed, with RT-qPCR methodologies already developed by our research team [5,6,7]. Western Blot or Immunohistochemistry (ICH) methods will then be developed for the expression of the isoforms at the protein level. Finally, a statistical analysis of the experimental results will be made with patients' clinical and pathological data.

The laboratory of Clinical Biochemistry of the General University Hospital "Attikon" has been actively contributing to this research project by presenting data from the study of differential expression of type V and XI ($\alpha 1$) collagen in cancers and human aortic aneurysms and developing techniques for the isolation of DNA/RNA and quantitative determination of collagen transcripts, such as XI ($\alpha 1$) [5,6,7]. Through these studies, more research light can be shed to atrial fibrillation after cardiac surgery and the collagens contribution to the disease.

Bibliography:

1. Grammer, J. B., Böhm, J., Dufour, A., Benz, M., Lange, R., & Bauernschmitt, R. (2005). Atrial fibrosis in heart surgery patients. *Basic research in cardiology*, 100(3), 288-294.
2. Turagam, M. K., Mirza, M., Werner, P. H., Sra, J., Kress, D. C., Tajik, A. J., & Jahangir, A. (2016). Circulating biomarkers predictive of postoperative atrial fibrillation. *Cardiology in review*, 24(2), 76.
3. Tsoporis, J. N., Fazio, A., Rizos, I. K., Izhar, S., Proteau, G., Salpeas, V., Rigopoulos, A., Sakadakis, E., Toumpoulis, I. & Parker, T. G. (2018). Increased right atrial appendage apoptosis is associated with differential regulation of candidate MicroRNAs 1 and 133A in patients who developed atrial fibrillation after cardiac surgery. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 121, 25-32.
4. Clauss, S., Sinner, M. F., Käb, S., & Wakili, R. (2015). The role of MicroRNAs in antiarrhythmic therapy for atrial fibrillation. *Arrhythmia & electrophysiology review*, 4(3), 146.
5. Toumpoulis, I. K., Oxford, J. T., Cowan, D. B., Anagnostopoulos, C. E., Rokkas, C. K., Chamogeorgakis, T. P. & Federman, M. (2009). Differential expression of collagen type V and XI α -1 in human ascending thoracic aortic aneurysms. *The Annals of thoracic surgery*, 88(2), 506-513.
6. Karaglani, M., Toumpoulis, I., Goutas, N., Poumpouridou, N., Vlachodimitropoulos, D., Vasilaros, S., Rizos, I. & Kroupis, C. (2015). Development of novel real-time PCR methodology for quantification of *COL11A1* mRNA variants and evaluation in breast cancer tissue specimens. *BMC cancer*, 15(1), 694.
7. Rizou, T., Perlikos, F., Lagiou, M., Karaglani, M., Nikolopoulos, S., Toumpoulis, I. & Kroupis, C. (2018). Development of novel real-time qPCR methodologies for quantification of the *COL11A1* mRNA general and C transcripts and evaluation in lung cancer tissue specimens: *JBUON*, 23(6): 1-12.

The three-member Advisory Committee of this Ph.D. Dissertation consists of:

1. Asst. Prof. Kroupis Christos, Clinical Biochemistry Dept.
2. Asst. Prof. Toumpoulis Ioannis, Cardiac Surgery Clinic
3. Assoc. Prof. Rallidis Loukianos, 2nd Cardiology Clinic

All are working at “Attikon” University General Hospital