

Θέμα διδακτορικής διατριβής: Μεταφραστική αξία της m6A RNA μεθυλίωσης στην αθηροσκληρωτική καρδιαγγειακή νόσο.

Υποψήφια διδάκτωρ: Ελένη Μανέτα

Τριμελής συμβουλευτική επιτροπή:

Κίμων Σταματελόπουλος (επιβλέπων)

Κωνσταντίνος Στέλλος

Αλέξανδρος Μπριασούλης

Περίληψη πρωτοκόλλου

Εισαγωγή: Η μεθυλίωση του RNA στην N6 θέση της αδεΐνης (m6A) αποτελεί την πιο συχνή και διατηρημένη εσωτερική χημική τροποποίηση του ευκαρυωτικού RNA και όσον αφορά το mRNA ελέγχει πολλαπλά στάδια του μεταβολισμού του, όπως το μάτισμα, την έξοδο από τον πυρήνα, τη μετάφραση, τη σταθερότητα και την αποδόμηση του μορίου, ρυθμίζοντας την γονιδιακή έκφραση. Η προσθήκη της μεθυλομάδας επιτελείται από ένα σύμπλοκο μεθυλτρανσφεράσης, το οποίο συγκροτείται κυρίως από τις πρωτεΐνες METTL3, METTL14 και WTAP. Στη συνέχεια υπάρχουν πρωτεΐνες, οι οποίες αναγνωρίζουν και προσδένονται στις μεθυλιωμένες θέσεις του mRNA, διαδραματίζοντας σημαντικό ρόλο στην επεξεργασία του. Τέλος υπάρχουν ένζυμα (FTO και ALKBH5), τα οποία είναι υπεύθυνα για την απομάκρυνση των μεθυλομάδων. Μελέτες έχουν δείξει ότι η μεθυλίωση του RNA κατέχει σημαντικό ρόλο τόσο στη ρύθμιση φυσιολογικών βιολογικών λειτουργιών του κυττάρου όσο και στην παθοβιολογία και ανάπτυξη διαφόρων νοσημάτων του ανθρώπινου οργανισμού, όπως καρκίνος και νευροαναπτυξιακές διαταραχές. Σημαντικός φαίνεται από πειραματικά δεδομένα να είναι ο ρόλος της μεθυλίωσης και στην αθηροσκληρωτική καρδιαγγειακή νόσο, όπου επηρεάζει τη λειτουργία των μακροφάγων, των ενδοθηλιακών και λειών μυϊκών κυττάρων. Δεδομένου ότι η αθηροσκληρωτική καρδιαγγειακή νόσος παραμένει η πρώτη αιτία θνητότητας παγκοσμίως, χρειάζονται νέα δεδομένα από μεταφραστική έρευνα, η οποία θα εκτιμήσει τη σχέση της RNA μεθυλίωσης με την αθηρωματική νόσο στον άνθρωπο.

Σκοπός: Να διερευνηθεί η σχέση της m6A μεθυλίωσης του RNA και της έκφρασης των πρωτεϊνών METTL3, METTL14, WTAP με την παρουσία παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου, με την ύπαρξη και έκταση της πρώιμης και κλινικά έκδηλης αθηροσκληρωτικής νόσου καθώς και με τον εκτιμώμενο καρδιαγγειακό κίνδυνο, όπως αυτός καθορίζεται από τις κατευθυντήριες οδηγίες της Ευρωπαϊκής Καρδιολογικής Εταιρίας για την πρόληψη της καρδιαγγειακής νόσου.

Πληθυσμός: Στην μελέτη θα συμπεριληφθούν συνολικά 500 ασθενείς. Ο πληθυσμός θα διαιρεθεί σε 3 υποομάδες: Ασθενείς με οξύ στεφανιαίο σύνδρομο (ΟΣΣ) (n=100), ασθενείς με σταθερή στεφανιαία νόσο (ΣΝ) (n=100) και άτομα χωρίς καρδιαγγειακή νόσο (n=300).

Μέθοδοι: Πρόκειται για μια συγχρονικού τύπου μελέτη. Όλοι οι συμμετέχοντες θα δίνουν λεπτομερές ιστορικό και θα υποβάλλονται σε κλινική εξέταση, ηλεκτροκαρδιογράφημα, αιμοληψία για βιοχημικές εξετάσεις και απομόνωση του RNA των μονοκυττάρων του περιφερικού αίματος για μέτρηση των επιπέδων της m6A RNA μεθυλίωσης και των επιπέδων έκφρασης των πρωτεϊνών METTL3, METTL14, WTAP. Μη παρεμβατικοί δείκτες αγγειακής

γήρανσης, όπως η ταχύτητα του σφυγμικού κύματος (PWV) καρωτίδων-μηριαίων, δείκτες ανακλώμενων κυμάτων αορτής, δείκτες υποκλινικής αθηροσκλήρωσης όπως το πάχος του έσω-μέσου χιτώνα (IMT) καρωτίδων και μηριαίων αρτηριών, η ύπαρξη αθηρωματικών πλακών καθώς και ο σφυροβραχιόνιος δείκτης θα αξιολογηθούν.

PhD Thesis: Translational value of m6A RNA methylation in atherosclerotic cardiovascular disease.

PhD Candidate: Eleni Maneta

PhD three-member advisory committee:

Kimón Stamatelopoulós (Supervisor)

Konstantínos Stellos

Alexandros Briasoulis

Abstract

Background: N6-methyladenosine (m6A) RNA methylation is the most prevalent, preserved internal RNA modification in eukaryotic cells. As far as mRNA is concerned, it controls multiple stages of RNA metabolism, such as splicing, nuclear export, translation, stability and degradation, contributing to regulation of gene expression. Responsible for the transfer of the methyl group is the methyltransferase complex, which is mainly comprised of METTL3, METTL14 and WTAP proteins (writers). M6A-binding proteins (readers) recognize and specifically bind to m6A affecting the fate of the RNA molecule and finally demethylases (FTO and ALKBH5) (erasers) are responsible for removing the methyl group. Studies have shown that m6A RNA methylation plays an important role in regulation of many cellular functions as well as in occurrence and development of various human diseases, such as cancer and neurodevelopmental disorders. According to predominantly experimental data, m6A RNA methylation seems to be involved in atherosclerotic cardiovascular disease, by affecting the function of macrophages, endothelial and vascular smooth muscle cells. Considering that atherosclerotic cardiovascular disease remains the leading cause of death worldwide, there is need of new data derived from translational research, which will evaluate the relationship of RNA methylation with atherosclerosis in humans.

Aim: To investigate the relationship of m6A RNA methylation levels as well as METTL3, METTL14 and WTAP expression levels with the presence of cardiovascular risk factors, presence and extent of subclinical and clinically overt atherosclerosis as well as estimated cardiovascular risk, according to ESC guidelines on cardiovascular disease prevention.

Population: In this study 500 patients will be enrolled. The population will be divided into 3 subgroups: Patients with acute coronary syndrome (ACS) (n=100), patients with stable coronary artery disease (CAD) (n=100) and patients without cardiovascular disease (n=300).

Methods: This is a cross-sectional study. Patients' evaluation will include a complete medical history, physical examination, biochemistry test and blood samples for measurement of m6A RNA methylation levels as well as METTL3, METTL14 and WTAP expression levels. Non-

invasive markers of vascular ageing including carotid-femoral pulse wave velocity (PWV), arterial wave reflections and markers of subclinical atherosclerosis including measurement of intima-media thickness of carotid and femoral arteries, presence of atherosclerotic plaques as well as ankle-brachial index will be assessed.