

Όνομα διδάκτορα: Ηλιόπουλος Δημήτριος

Ονόματα τριμελούς: 1. (Επιβλέπων)Μουρούζης Ιορδάνης 2. Πάντος Κωνσταντίνος 3. Τυλιγάδα

Τίτλος διατριβής: Μελέτη της τριωδοθυρονίνης και νανοφορέων αυτής ως νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις για την ενδογενή αναγέννηση του μυοκαρδίου μετά από καρδιακή βλάβη

Περίληψη της διατριβής:

Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας, η καρδιακή ανεπάρκεια είναι η κύρια αιτία θανάτου στις βιομηχανικές χώρες. Υπολογίζεται ότι υπάρχουν περίπου 17,3 εκατομμύρια θάνατοι ετησίως λόγω καρδιαγγειακών παθήσεων, που αντιπροσωπεύουν το 30% όλων των θανάτων παγκοσμίως. Η αναγέννηση της ανθρώπινης καρδιάς είναι μια από τις πιο κρίσιμες κλινικές ανάγκες σε παγκόσμιο επίπεδο που δεν έχει βρεθεί κατάλληλη θεραπεία ακόμα. Μία από τις πρωταρχικές αιτίες των μυοκαρδιοπαθειών είναι η απώλεια και/ή βλάβη των καρδιακών μυϊκών κυττάρων, που ονομάζονται καρδιομυοκύτταρα (CMs). Προκειμένου να αναπληρωθούν τα χαμένα/κατεστραμμένα κύτταρα, απαιτείται μια κατάλληλη πηγή ως θεραπευτική προσέγγιση αντικατάστασης των κυττάρων. Υπάρχει μια ενδογενής αναγεννητική διαδικασία στην καρδιά των ενήλικων που βασίζεται κυρίως στα Πρόδρομα Καρδιακά Κύτταρα (CPC) που μπορούν να οδηγήσουν στη δημιουργία νέων CMs. Ωστόσο, αυτή η διαδικασία είναι περιορισμένη. Έτσι, η εύρεση νέων προσεγγίσεων για την εκκίνηση ενός προγράμματος πολλαπλασιασμού των CM είναι ένας σημαντικός θεραπευτικός στόχος που θα μπορούσε να έχει τεράστιο αντίκτυπο στη θεραπεία της καρδιακής ανεπάρκειας. Επιπλέον, προκλινικά και κλινικά στοιχεία υποδηλώνουν ότι η σηματοδότηση των θυρεοειδικών ορμονών είναι βασικός ρυθμιστής των διεργασιών καρδιακής αποκατάστασης/αναγέννησης μετά από τραυματισμό. Αποδεικτικά στοιχεία υποδηλώνουν ότι η αλληλεπίδραση μεταξύ της έκφρασης του υποδοχέα α1 (TRα1) της θυρεοειδικής ορμόνης και του συνδέτη του (T3) ελέγχει τη διαδικασία αναγέννησης στην τραυματισμένη καρδιά μέσω της ρύθμισης της αποδιαφοροποίησης, του πολλαπλασιασμού και της επαναδιαφοροποίησης των ενήλικων CMs. Μια πρόσφατη κλινική μελέτη έδειξε για πρώτη φορά σε ανθρώπους με έμφραγμα του μυοκαρδίου ότι η θεραπεία με υψηλή δόση T3 στην οξεία φάση αποτρέπει την διάταση των καρδιακών κοιλοτήτων και μπορεί επίσης να προκαλέσει καθυστερημένη αναγεννητική απόκριση που οδηγεί σε μείωση του εμφράκτου. Παρόλα αυτά τα έμμεσα στοιχεία, η επίδραση της θεραπείας με T3 στον πολλαπλασιασμό των υπαρχόντων καρδιομυοκυττάρων ή CPC μετά από τραυματισμό δεν έχει ακόμη διερευνηθεί. Έτσι, οι κύριοι στόχοι αυτού του έργου είναι 1. η διερεύνηση του ρόλου της σηματοδότησης της θυρεοειδικής ορμόνης στην αναγέννηση CM και 2. η καθιέρωση νέων θεραπευτικών προσεγγίσεων βασισμένων στη σηματοδότηση θυρεοειδικών ορμονών ικανών να επάγουν ενδογενή καρδιακή αναγέννηση.

Για να επιτευχθεί το παραπάνω, θα χρησιμοποιήσουμε ένα καθιερωμένο και καλά χαρακτηρισμένο διαγονίδιο μοντέλο μυών BAC Tbx5<sup>CreERT2/CreERT2</sup> για ανίχνευση της παρουσία καρδιακών κυττάρων που έχουν υπερενεργοποιήσει το μεταγραφικό παράγοντα Tbx5 μετά από τραυματισμό του μυοκαρδίου (MI). Η ενεργοποίηση του Tbx5 είναι ένας σημαντικός δείκτης της ενδογενούς καρδιακής αναγέννησης. Θα προκαλέσουμε καρδιακή βλάβη μέσω καθιερωμένων μοντέλων μυοκαρδιοπάθειας με χορήγηση ισοπροτερενόλης ή δοξορουβικίνης. Θα πραγματοποιήσουμε δοσο-εξαρτώμενες και χρονο-εξαρτώμενες μελέτες χορήγησης T3 μετά από καρδιακή βλάβη σε διαγονιδιακά ποντίκια Tbx5<sup>Cre</sup>R26R<sup>eYFP/eYFP</sup> για να καθορίσουμε τη σωστή δόση της T3 και τη διάρκεια της θεραπείας προκειμένου να προκληθεί πολλαπλασιασμός και/ή διαφοροποίηση CPC in vivo. Θα δοκιμάσουμε επίσης τις επιδράσεις λειτουργικών νανοσωματιδίων (NPs)- φορέων T3 σε

πρόδρομα κύτταρα CM in vivo μετά από καρδιακή βλάβη. Τα NP-φορείς T3 θα αναπτυχθούν προκειμένου να στοχεύσουν συγκεκριμένα τραυματισμένα CM και πρόδρομα κύτταρα CM και να μπορούν να απελευθερώσουν T3 μέσα στα κύτταρα παρουσία αυξημένου οξειδωτικού στρες. Η διερεύνηση των μηχανισμών που εμπλέκονται στη ρύθμιση της αναγέννησης CM μέσω της σηματοδότησης TH θα μπορούσε να έχει σημαντικές κλινικές επιπτώσεις σχετικά με την ανάπτυξη νέων θεραπειών με στόχο την ενίσχυση της ενδογενούς καρδιακής αναγέννησης.

Phd Name: Dimitrios Iliopoulos

Supervisors committee: 1.Mourouzis Iordanis 2.Pantos Konstantinos 3.Tiligada Aikaterini

PHD Title: Thyroid Hormone and T3-loaded Nanoparticles as novel therapeutic approaches based on endogenous cardiomyocyte regenerative response after cardiac injury

PHD abstract:

According to the World Health Organisation, heart failure is the major cause of death in industrialised countries with an estimated 17.3 million deaths per year due to cardiovascular disease, representing 30% of all global deaths. Human heart regeneration is one of the most critical unmet clinical needs at a global level. One of the primary causes of cardiomyopathies is the loss and/or damage of heart muscle cells, termed cardiomyocytes (CMs). In order to replenish the lost/damaged cells, an appropriate source is needed as a cell-replacement therapeutic approach. An endogenous regenerative process exists in the adult heart mainly based on Cardiac Precursor Cells (CPCs) which can give rise to CMs. However, this process is limited. Thus, finding novel approaches to prime a resident CM proliferation program is a major therapeutic goal that could have a huge impact in the treatment of heart failure. In addition, pre-clinical and clinical evidence suggests that thyroid hormone signaling is a key regulator of cardiac repair/regeneration processes after injury. Strong evidence suggests that the interplay between thyroid hormone receptor  $\alpha 1$  (TR $\alpha 1$ ) expression and its ligand (T3) controls the process of regeneration in the injured heart via regulation of dedifferentiation, proliferation and redifferentiation of adult CMs. A recent clinical study showed for the first time in humans with myocardial infarction that acute high dose T3 treatment prevents cardiac dilatation and may also induce a delayed regenerative response that results in infarct reduction. Despite this indirect evidence, the effect of T3 treatment on the proliferation of existing cardiomyocytes or CPCs after injury has not been addressed yet. Thus, the main objectives of this project are 1. to investigate the role of the thyroid hormone signaling in CM replenishments, and 2. to establish novel therapeutic approaches based on thyroid hormone signaling able to induce endogenous heart regeneration.

To this goal, we shall employ an established and well-characterised BAC Tbx5<sup>CreERT2/CreERT2</sup> transgene for adult and embryonic heart lineage-tracing model, assessing the presence of cardiac cells that have over-activated Tbx5 following myocardial injury (MI), with markers shown to be expressed in early cardiovascular precursors. We will induce cardiac injury via well-established models of cardiomyopathy by isoproterenol or doxorubicin administration. We will perform dose- and time-dependent studies of T3 administration after cardiac injury in Tbx5<sup>CreR26R<sup>eYFP</sup>/eYFP</sup> transgenic mice to define the proper dose of T3 and duration of treatment to induce CM precursor proliferation and/or differentiation in vivo. We will also test the effects of functionalized T3-loaded nanoparticles (NPs) in CM precursor cells in vivo after cardiac injury. T3-loaded NPs will be developed in order to specifically target injured CMs and CM precursor cells and be able to release T3 inside the cells in the presence of increased oxidative stress. The investigation of mechanisms that are involved in the regulation of CM regeneration through TH signalling could have important clinical implications concerning the development of novel treatments for priming endogenous cardiac regenerative processes.