



Εφαρμογή μεθόδου RNA sequencing στην προκλινική έρευνα

Διερεύνηση της καρδιοπροστατευτικής δράσης της εμπαγλιφλοζίνης σε υγιείς μύες σε διακριτούς κυτταρικούς πληθυσμούς

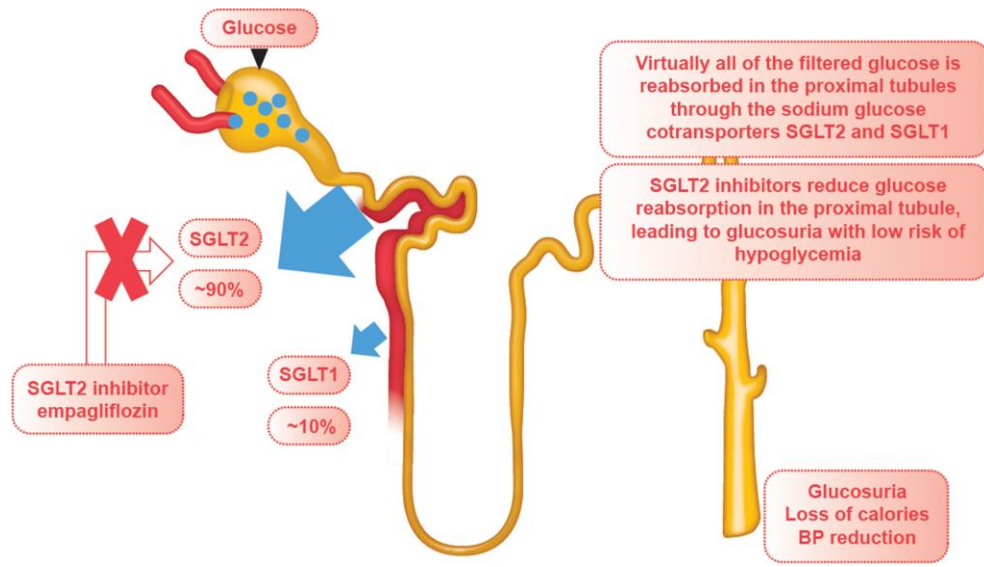
Ανδρεάδου Ιωάννα

Καθηγήτρια Φαρμακολογίας

Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

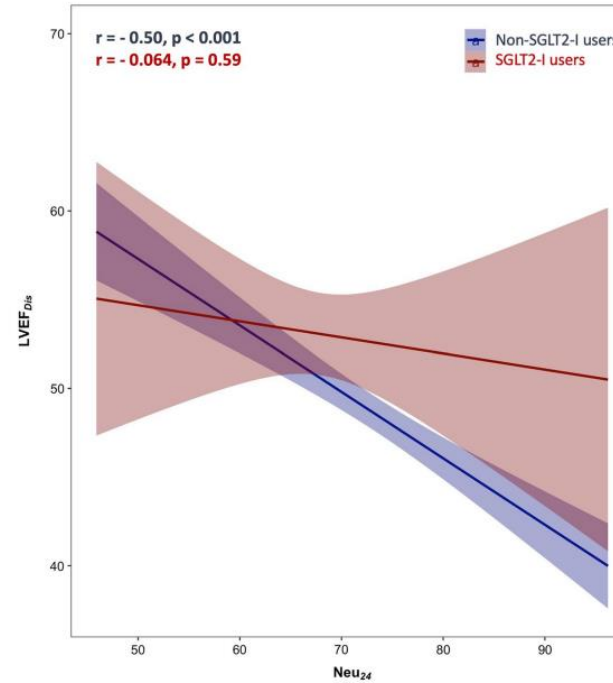


Οι αναστολείς SGLT-2 αποτελούν τη νεότερη κατηγορία αντιδιαβητικών φαρμάκων και έχουν τεκμηριωμένες καρδιοπροστατευτικές επιδράσεις ανεξάρτητα από την παρουσία διαβήτη



Butler J. et al., *Eur J Heart Fail*, 2017 Nov;19(11):1390-1400.

- ✓ Η εμπαγλιφλοζίνη έχει λάβει έγκριση για την καρδιακή ανεπάρκεια (άγνωστος μηχανισμός δράσης)
- ✓ Η έκταση του εμφράγματος σχετίζεται με τη ανάπτυξη καρδιακής ανεπάρκειας



Paolisso P. et al., *Cardiovasc Diabetol*. 2022 May 15;21(1):77.

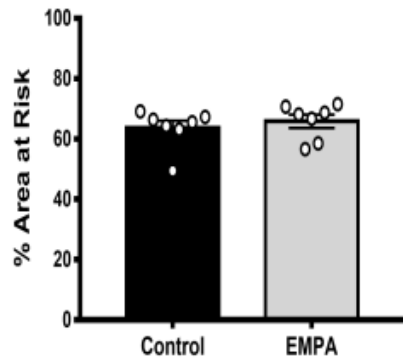
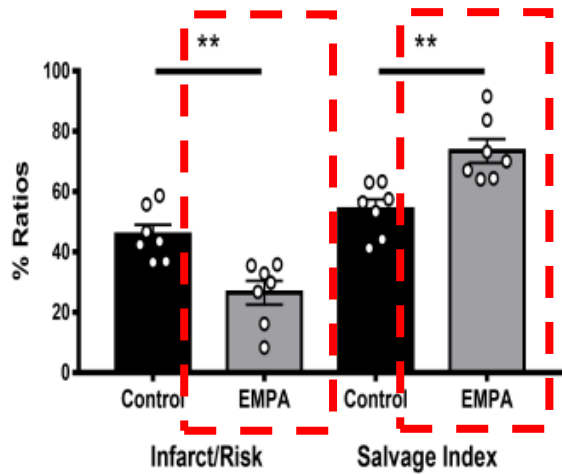
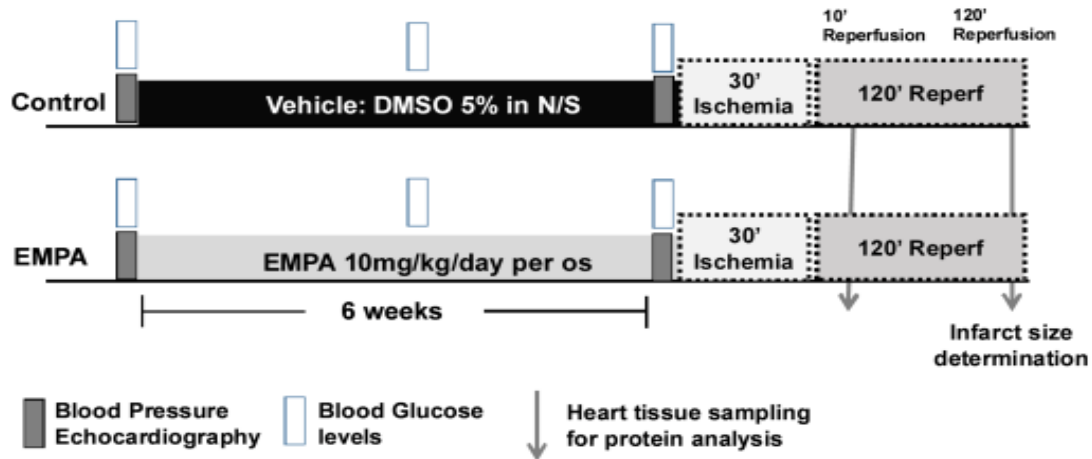
- ✓ Πρόσφατη κλινική μελέτη παρατήρησης υπέδειξε ότι η χρήση των SGLT-2 αναστολέων από διαβητικούς ασθενείς που υπέστησαν οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου σχετίζεται με μειωμένη έκταση του εμφράγματος και μειωμένη φλεγμονώδη απόκριση ανεξάρτητα από τον γλυκαιμικό έλεγχο.

Το εργαστήριό μας διερευνά σε προκλινικό επίπεδο τους πλειοτροπικούς μηχανισμούς δράσης των SGLT-2 αναστολέων έναντι της βλάβης ισχαιμίας και επαναιμάτωσης με σκοπό να ερμηνεύσει τα θετικά αποτελέσματα των κλινικών μελετών

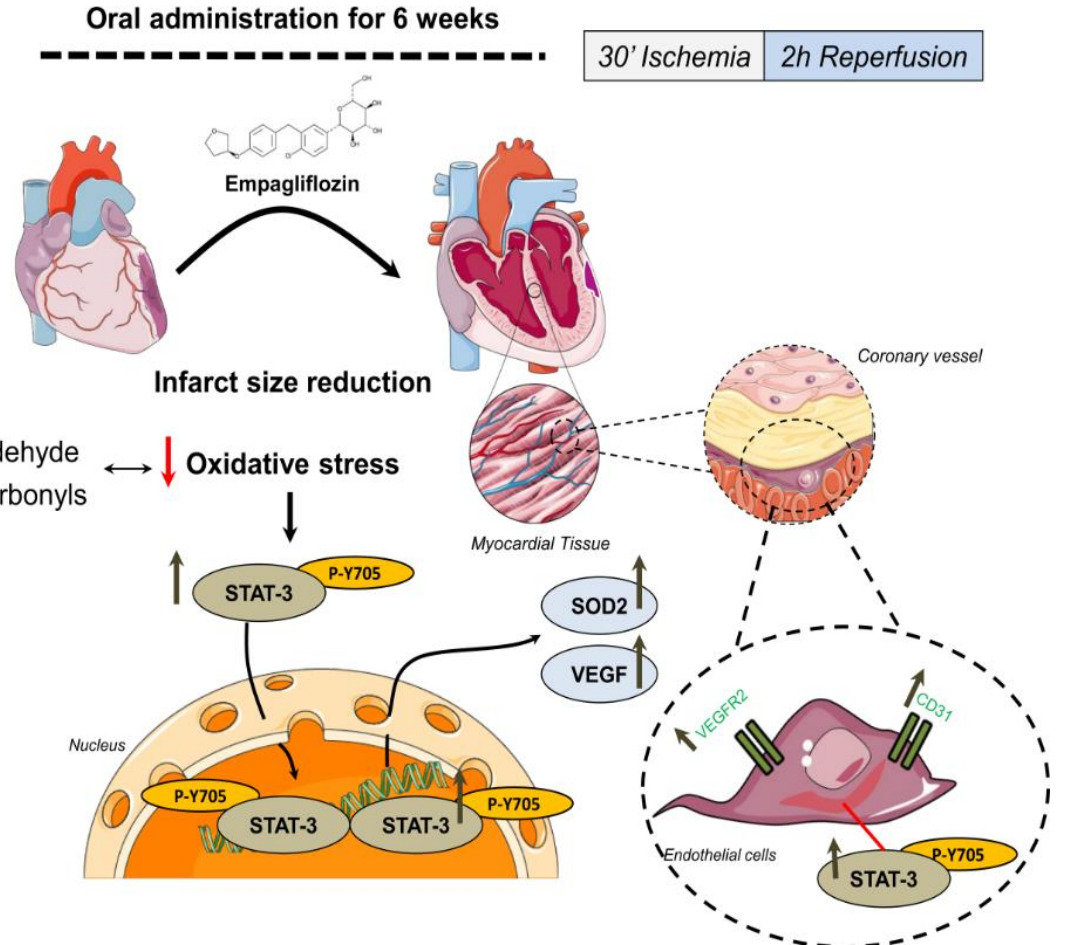
Andreadou I. et al., *Front Physiol*. 2017 Dec 19;8:1077
 Andreadou I. et al., *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2020 Jul 1;1866(7):165770
 Nikolaou PE et al., *Antioxid Redox Signal*. 2021 Mar 1;34(7):551-571
 Nikolaou PE, et al., *Basic Res Cardiol*. 2022 May 17;117(1):27



Η EMPA μειώνει το μέγεθος του εμφράγματος σε υγιείς μύες μετά από χρόνια χορήγηση



Non diabetic mice



Το ενδιαφέρον εύρημα της μελέτης ήταν ότι η EMPA βελτιώνει την επιβίωση των ενδοθηλιακών κυττάρων in vivo στην αρχή της επαναιμάτωσης



Στόχοι της νέας μελέτης

Ερωτήματα που ανακύπτουν:

- Μπορεί η εμπαγλιφλοζίνη να επιδρά σε διαφορετικούς κυτταρικούς πληθυσμούς με διαφορετικό τρόπο ώστε να επάγει την καρδιοπροστασία;

Στόχοι:

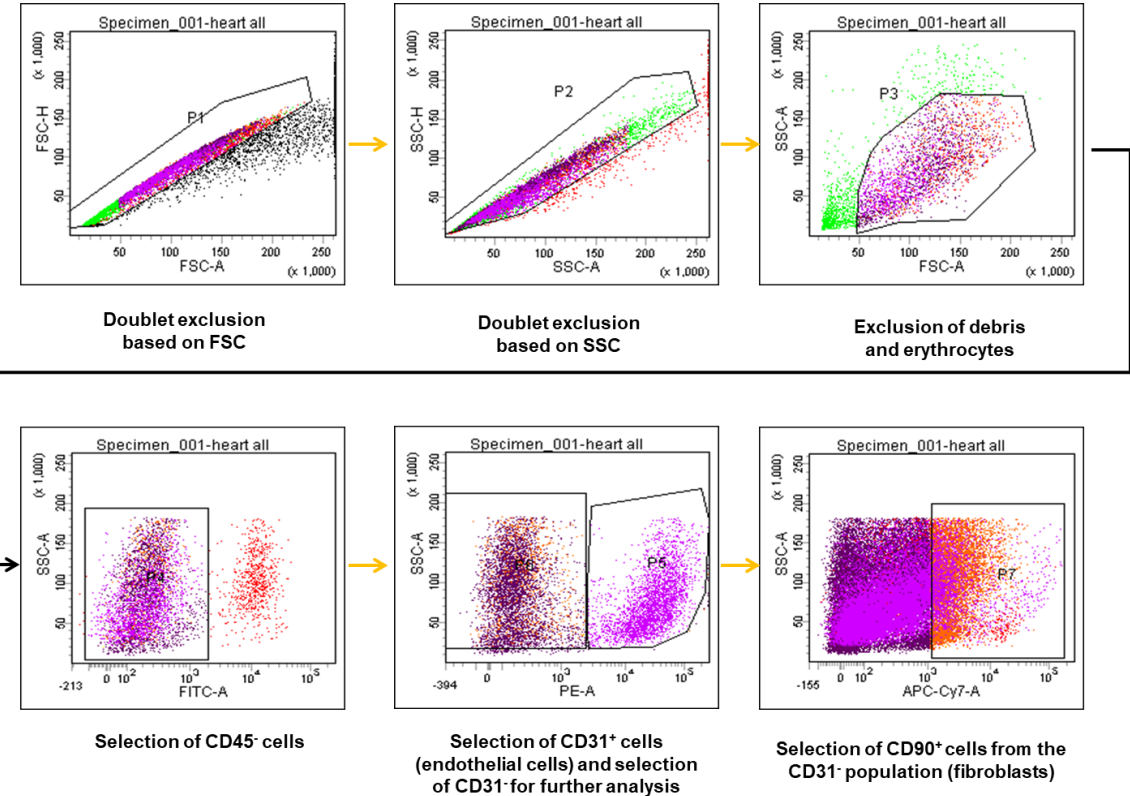
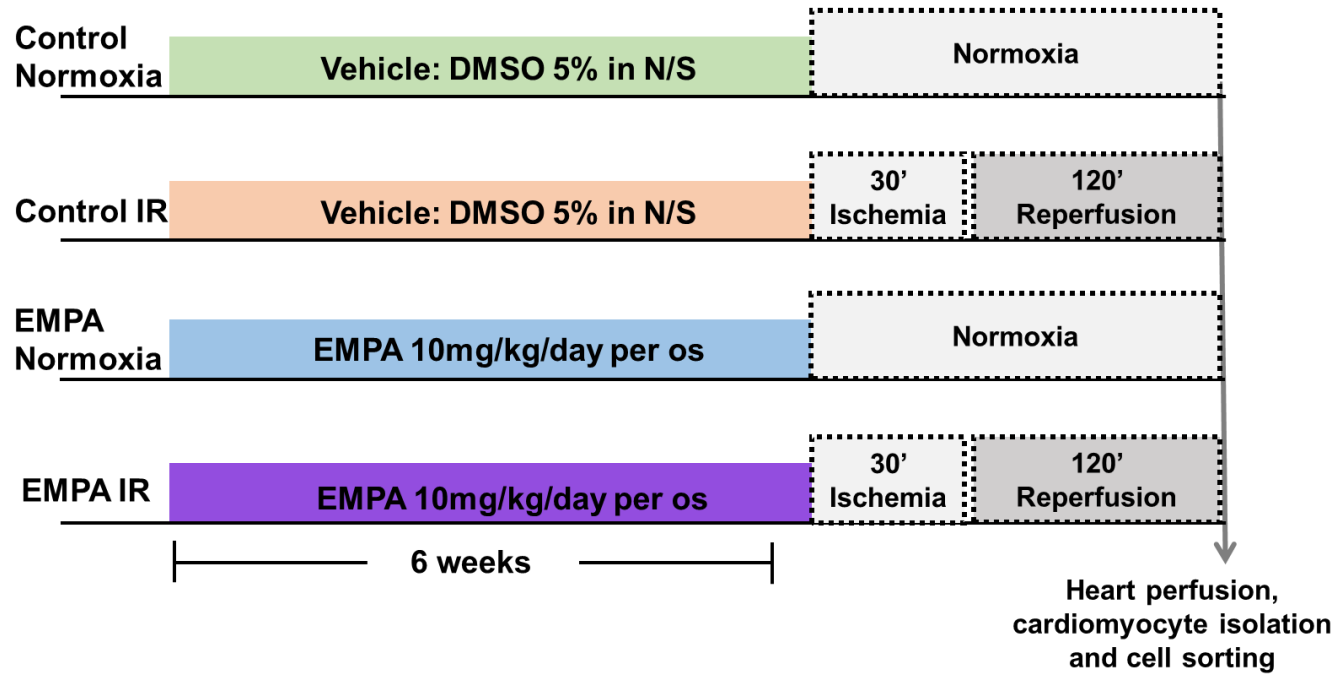
- ✓ Χαρακτηρισμός των σηματοδοτικών οδών που σχετίζονται με την καρδιοπροστατευτική δράση της EMPA σε τρεις διαφορετικούς διακριτούς πληθυσμούς –καρδιομυοκύτταρα-ενδοθηλιακά κύτταρα και ινοβλάστες.
- ✓ Αποκάλυψη των μοριακών στόχων του φαρμάκων δεδομένου ότι ο SGLT-2 δεν εκφράζεται στο μυοκάρδιο



Πειραματικό πρωτόκολλο

Πειραματικό πρωτόκολλο in vivo

Διαχωρισμός των κυτταρικών πληθυσμών (cell sorting)



Απομόνωση RNA

n=12 μύες χρησιμοποιήθηκαν ανά ομάδα και n=2 δείγματα από κάθε κυτταρικό πληθυσμό ενώθηκαν ώστε να παραχθεί επαρκής ποσότητα RNA για την ανάλυση

1. Καθοδήγηση στη βελτιστοποίηση της τεχνικής για την παραγωγή αξιοποιήσιμων δειγμάτων
2. Η μελέτη του μεταγραφώματος (3' mRNA sequencing)



Αποτελέσματα: Γονίδια και σηματοδοτικές οδοί που σχετίζονται με τη δράση της ΕΜΠΑ στους διακριτούς κυτταρικούς πληθυσμούς

IR_Control vs IR_EMPA

Η ΕΜΠΑ φαίνεται να:

1. Επηρεάζει τη μεταγραφή γονιδίων που βρίσκονται στην οδό TGFβ-SMAD μονοπάτι και μεταλλοπρωτεϊνάσες στα ενδοθηλιακά κύτταρα.

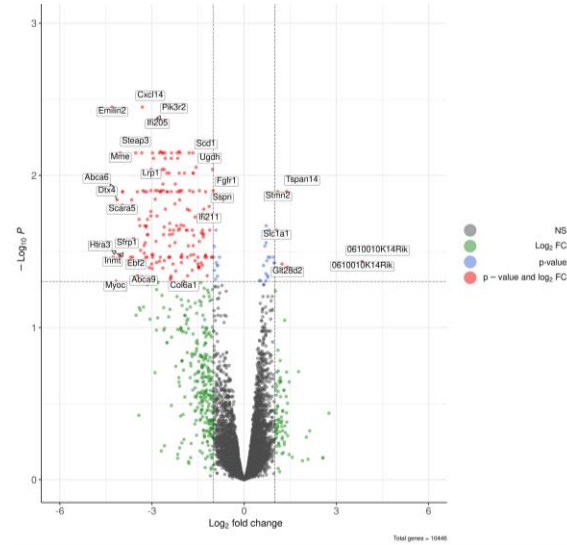
2. Επιδρά στη μεταγραφή γονιδίων του μεταβολισμού των μιτοχονδρίων στα καρδιομυοκύτταρα

Συμπεράσματα

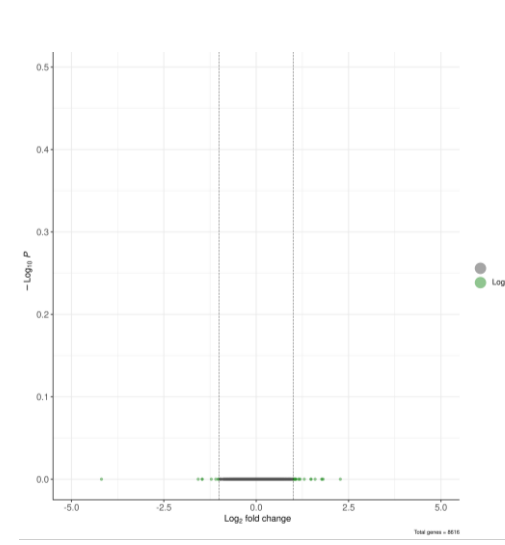
Η εφαρμογή του RNA sequencing στην προκλινική μας έρευνα

- ✓ Αναδεικνύει τον καρδιοπροστατευτικό μηχανισμό της εμπαγλιφλοζίνης
- ✓ Αποκαλύπτει τη διαφορά στη δράση της σε διακριτούς κυτταρικούς πληθυσμούς
- ✓ Παρέχει νέους στόχους- σηματοδοτικές οδούς καρδιοπροστασίας

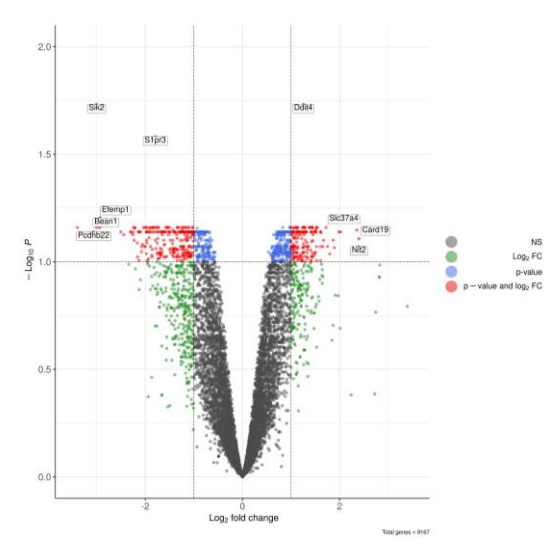
Ενδοθηλιακά κύτταρα



Ινοβλάστες



Καρδιομυοκύτταρα



Ευχαριστίες



Εργαστήριο Φαρμακολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής ΕΚΠΑ

Νάγια Νικολάου
Νίκος Μυλωνάς
Αναστάσιος Γεωργούλης
Παναγιώτης Εφεντάκης



DIANA-Lab – Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας & Ελληνικό Ινστιτούτο Pasteur

Diana Lab

Prof. Άρτεμις Χατζηγεωργίου
Μάριος Μιλιώτης



pMedGR

PMEDGR: Center of New Biotechnologies & Precision Medicine

Παντελής Χατζής
Μενέλαος Μανωλούκος