

Πασχάλης-Θωμάς Δούλιας, Ph.D.
Βιογραφικό Σημείωμα

Σεπτέμβριος 2023

Θέση: Μόνιμος Επίκουρος Καθηγητής Βιοχημείας

Διεύθυνση Εργασίας:

Εργαστήριο Βιοχημείας, Χ3-106δ
Τομέας Οργανικής Χημείας και Βιοχημείας
Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων
Ιωάννινα, 45110
Tel: (26510) 08248
e-mail: paschalisdoulias@uoi.gr

Συνεργαζόμενο μέλος του Ινστιτούτου Βιοεπιστημών, Ερευνητικό Κέντρο Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Σπουδές

1993-1998: Πτυχίο Χημείας, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

1999-2005: Διδακτορική Διατριβή, Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Στρατιωτική Θητεία

2004-2005: Δωδεκάμηνη θητεία στον Στρατό Ξηράς

Μεταδιδακτορική Έρευνα

2005-2006: Μεταδιδακτορική έρευνα με υποτροφία (Post-Doctoral fellowship) στο Εργαστήριο Ανατομίας-Ιστολογίας και Εμβρυολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων υπό την επίβλεψη του Καθηγητή Παναγιώτη Καναβάρου.

2007-2011: Μεταδιδακτορική έρευνα με υποτροφία (Post-Doctoral fellowship) από το National Institutes of Health (NIH) στο Εργαστήριο του Καθηγητή Harry Ischiropoulos, The Children's Hospital of Philadelphia Research Institute and The University of Pennsylvania (UPenn), Philadelphia, PA

2011-2014: Ερευνητικός συνεργάτης (Research Associate) στο Εργαστήριο του Καθηγητή Harry Ischiropoulos, The Children's Hospital of Philadelphia Research Institute and The University of Pennsylvania (UPenn), Philadelphia, PA

Επαγγελματική Εξέλιξη

2014-2017: Instructor of Pediatrics, Perelman School of Medicine, University of Pennsylvania, Philadelphia, PA

2017-2019: Assistant Professor of Pediatrics, Perelman School of Medicine, University of Pennsylvania, Philadelphia, PA

2019-2023: Επίκουρος Καθηγητής Βιοχημείας επί θητεία, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Διδακτική και Εκπαιδευτική Εμπειρία

1. Αυτοδύναμη Διδασκαλία στην Ελλάδα (2019-Σήμερα)

Πρόγραμμα Προπτυχιακών Σπουδών Τμήματος Χημείας

A. Υποχρεωτικά Μαθήματα και Εργαστήρια

Βιοχημεία I

Βιοχημεία II

Εργαστήριο Βιοχημείας

Πτυχιακή Εργασία

B. Κατ'επιλογήν υποχρεωτικά Μαθήματα και Εργαστήρια

Βιοχημεία III: *Η ρύθμιση και ολοκλήρωση του μεταβολισμού. Από τη χημεία στην παθοφυσιολογία.* (Συντονιστής Μαθήματος)

Βιολογικές μεμβράνες και μεταγωγή σήματος (Συμμετοχή στην διδασκαλία)

Προχωρημένο Εργαστήριο Βιοχημείας (Συμμετοχή στην διδασκαλία)

Γ. Μεταπτυχιακά Μαθήματα

Προχωρημένη Βιοχημεία- Επίκαιρα Θέματα Βιοχημείας, *Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών (ΠΜΣ) Τμήματος Χημείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων.* (Συντονιστής Μαθήματος)

Βιολογικές Μεμβράνες: Δομή, Οργάνωση και Λειτουργίες. Βιοσηματοδότηση, *Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών (ΠΜΣ) Τμήματος Χημείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων.* (Συμμετοχή στην Διδασκαλία)

Εργαστήριο Βιοχημείας I & II

Θέματα Μοριακής και Κυτταρικής Βιολογίας, *ΔΔΠΜΣ «Μοριακή-Κυτταρική Βιολογία και Βιοτεχνολογία», Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων.* (Συμμετοχή στην Διδασκαλία)

Λειτουργική Ανάλυση Γονιδίων. *ΔΔΠΜΣ «Μοριακή-Κυτταρική Βιολογία και Βιοτεχνολογία», Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων.* (Συμμετοχή στην Διδασκαλία)

2. Επικουρικό και Εκπαιδευτικό Έργο στην Ελλάδα πριν τη λήψη Διδακτορικού

1999-2003: Επίβλεψη των εργαστηριακών ασκήσεων των μαθημάτων «Γενική Χημεία», «Βιοχημεία I», «Βιοχημεία II» για τους φοιτητές της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

2000-2001: Επίβλεψη των εργαστηριακών ασκήσεων του μαθήματος «Βιοχημεία I» του Προγράμματος Σπουδών Επιλογής (ΠΣΕ) Βιοχημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

2000-2001: Επίβλεψη των εργαστηριακών ασκήσεων του μαθήματος επιλογής «Βιοχημεία των Ελευθέρων Ριζών» των φοιτητών της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

2002: Επίβλεψη του Εργαστηριακού μέρους της πτυχιακής εργασίας της φοιτήτριας Μαρίας Μελίδου του Προγράμματος Σπουδών Επιλογής (ΠΣΕ) Βιοχημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Αυτοδύναμη Διδασκαλία στις ΗΠΑ (2007-2019)

1. Εργαστηριακή Εκπαίδευση Υποψήφιων Διδασκτόρων

2007-2011: Εκπαίδευση και επίβλεψη του εργαστηριακού μέρους της Διδακτορικής Διατριβής της Jennifer L Greene, Biochemistry and Molecular Biophysics graduate group, University of Pennsylvania. Τίτλος Διατριβής «**The structural proteomics of S-Nitrosylation: From global identification to elucidating protein function through structural bioinformatics**»

2009-2015: Εκπαίδευση και επίβλεψη του Εργαστηριακού μέρους της Διδακτορικής Διατριβής του Karthik Raju, Neuroscience graduate group, University of Pennsylvania. Τίτλος Διατριβής «**Regulation of the Glutamate/Glutamine cycle by nitric oxide in the central nervous system**»

2. Εργαστηριακή Εκπαίδευση Μεταπτυχιακών Φοιτητών

Επίβλεψη της τρίμηνης ερευνητικής ερευνας (rotation project) της Lisa Bottalico, PhD candidate Pharmacology Graduate Group, University of Pennsylvania (2011)

Επίβλεψη της τρίμηνης εργαστηριακής έρευνας (rotation project) της Maria Fasolino, PhD candidate Neuroscience graduate group, University of Pennsylvania (2012)

Επίβλεψη της τρίμηνης εργαστηριακής ερευνας (Rotation project) του Wade Mayes, PhD candidate, Neuroscience graduate group, University of Pennsylvania (2012)

Επίβλεψη της τρίμηνης εργαστηριακής ερευνας (Rotation project) της Madhu Yennawar, PhD candidate, Pharmacology graduate group, University of Pennsylvania (2014)

Επίβλεψη της ερευνητικής μελέτης του προπτυχιακού φοιτητή Kent Nakamoto στα πλαίσια του προγράμματος CHOP Research Institute Scholar Summer Program (CRISSP) για το έτος 2016. Η μελέτη απέσπασε το βραβείο «Εξαιρετικής αναρτημένης ανακοίνωσης στη Βασική Έρευνα» (Outstanding Basic Poster)

Επιβλέπων Ολοκληρωμένων Μεταπτυχιακών Διατριβών

2021-2023: Χρήστος Γκουγκούσης, Θέμα «Πρωτεωμικός χαρακτηρισμός καρδιομυοκυττάρων προερχόμενα από εμβρυονικά βλαστικά κύτταρα ανθρώπου. Ο ρόλος της σηματοδότησης του NO», ΔΔΠΜΣ «Μοριακή-Κυτταρική Βιολογία και Βιοτεχνολογία», Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Επιβλέπων Μεταπτυχιακών φοιτητών

2022- Μαρία Συμεωνίδου, Θέμα «Ανάπτυξη και αξιολόγηση μεθόδων για τον χημειοεκλεκτικό εμπλουτισμό νιτροζυλιωμένων πρωτεϊνών σε βιολογικά δείγματα», ΔΔΠΜΣ «Μοριακή-Κυτταρική Βιολογία και Βιοτεχνολογία», Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων. *Η διατριβή βρίσκεται στο στάδιο της συγγραφής*

2022- Μαρία Λυδία Ζορζομπόκου, Θέμα «Δομή και λειτουργία νιτροζυλιωμένων πρωτεϊνών στα μιτοχόνδρια», Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών Τμήματος Χημείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

2023- Ελένη Ιορδανίδου, Θέμα «Ανάπτυξη και αξιολόγηση μεθόδων για τον χημειοεκλεκτικό εμπλουτισμό ακετυλιωμένων πρωτεϊνών σε βιολογικά δείγματα», Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών Τμήματος Χημείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Μέλος Συμβουλευτικών και Εξεταστικών Επιτροπών

Ολοκληρωμένες

Μέλος της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής (Scholarly Oversight Committee, SOC) της ειδικευόμενης ιατρού Νεογνολογίας Laura C Sillers, MD (2017-2019).

Μέλος της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής της υποψήφιας διδάκτορα του Τμήματος Χημείας Στυλιανής Παπαδάκη (2019- 2020)

Μέλος της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής της υποψήφιας διδάκτορα του Τμήματος Χημείας Σοφίας Σιδηροπούλου (2019-2020)

Μέλος της τριμελούς εξεταστικής επιτροπής του μεταπτυχιακού φοιτητή Τμήματος Χημείας, Στυλιανού Παπαδόπουλου

Μέλος της Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής του Υποψήφιου Διδάκτορα Τμήματος Χημείας, Επαμεινώνδα Τσαγκογιάννη

Εν εξελίξει

Μέλος της Τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής του υποψηφίου διδάκτορα Τμήματος Ιατρικής Γεώργιου-Συμεών Ναδάλη, θέμα «SUMO-εξαρτώμενος ποιοτικός έλεγχος πρωτεϊνών της μιτωτικής ατράκτου»

Μέλος της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής του Υποψήφιου Διδάκτορα Τμήματος Χημείας, Στυλιανού Παπαδόπουλου, θέμα «Χωρο-χρονικά χαρακτηριστικά και μοριακοί μηχανισμοί που κυριαρχούν στην εγκατάσταση, εξέλιξη και διάδοση της οξείας πνευμονικής βλάβης»

Βραβεία

2002 Βραβείο προφορικής ανακοίνωσης στο 3ο Συνέδριο της Ελληνικής Εταιρίας Ελευθέρων Ριζών και Οξειδωτικού Στρες (2002)

2002 Βραβείο Προφορικής Ανακοίνωσης στο 54ο Συνέδριο της Ελληνικής Εταιρείας Βιοχημείας και Μοριακής Βιολογίας (2002)

2005 Post-doctoral fellowship co-funded by the European Union and the Hellenic Ministry of Education

2007 Post-doctoral fellowship funded by the National Institutes of Health (NIH)

2011 Finalist of the 2011 CHOP Distinguished Research Trainee Award.

2013 New Investigator award, "Formation and Signaling by NO and Related Reactive Nitrogen Oxides" Gordon Research Conference, Ventura, CA

2013 Top ten finalists for Vilcek Prize for Creative Promise in Biomedical Science

2015 W.W. Smith Charitable Foundation Award for Heart Disease Research

Μέλος Διοικητικών Επιτροπών

2023- : FEBS Education Ambassador representing the Hellenic Society of Biochemistry and Molecular Biology

2020- : Μέλος της Ειδικής Διατμηματικής Επιτροπής του ΔΔΠΜΣ «Μοριακή-Κυτταρική Βιολογία και Βιοτεχνολογία», Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

2020-2022: Μέλος της Επιτροπής Μεταπτυχιακών Σπουδών Τμήματος Χημείας

2016-2019: Τακτικό μέλος της Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC)

Διπλώματα Ευρεσιτεχνίας

Compositions and methods of the treatment of fatty acid metabolism disorders». International Application Number PCT/US2014048564

Επιστημονικές και Επαγγελματικές Εταιρίες

Ένωση Ελλήνων Χημικών

Ελληνική Εταιρεία Ελευθέρων Ριζών και Οξειδωτικού Στρες

Ελληνική Εταιρεία Βιοχημείας και Μοριακής Βιολογίας

Ελληνική Εταιρία Αθηροσκλήρωσης
Member of the European Society for Free Radical Research
Member of the F1000 Faculty Society, Bioinorganic Chemistry Section.

Member of Editorial Boards

2023- : Frontiers of Physiology, Metabolic Physiology

Guest Editor

Special Issue "Research on Fatty Acid Oxidation and Fatty Acid Oxidation Disorders" in Biomolecules

Reviewer

Ad hoc reviewer for:

American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism

Biochemical Journal

Biochimica et Biophysica Acta (BBA) General Subjects

Biochimie

Biomarkers

BMC Cardiovascular Disorders

FEBS letters

Free Radical Biology and Medicine

Free Radical Research

Frontiers in Cellular Biochemistry

Frontiers in Oncology

International Journal of Molecular Sciences

Journal of Lipids Research

Metabolites

Nitric Oxide

Nutrients

The Journal of Biological Chemistry

The Journal of Proteomics

PLOS One

PLOS Pathogens

Proteomics

Grant Reviewer

The American Heart Association

The General Secretariat of Research and Technology

Hellenic Foundation for Research and Innovation

Invited speaker in meetings

Meeting of the Society for Free Radical Research-Europe: Redox Biology and Micronutrients: From signaling to translation and back. Istanbul, Turkey, September 7-11, 2011

First International Conference on S-nitrosylation in Oncology and Immunology. Dijon, France, February 2-3, 2012

The 4th Beijing International Conference of Neurology 2014, Beijing China, April 12-13, 2014

The International Network for Fatty Acid Oxidation Research and Management (INFORM). Boston, MA, USA May 15-19 2016

Nitric Oxide Gordon Research Conference, Reactive Nitrogen Signaling: Mechanism to Medicine. Ventura Beach, California February 19-24, 2017

Regulation of Fatty Acids Oxidation. Translating Mechanistic insights Into Therapeutics". Malcolm Feist Cardiovascular Diseases seminar series, Center for Cardiovascular Diseases and Sciences (CCDS), LSU Health Sciences Center. Shreveport, Louisiana, December, 2017

The International Network for Fatty Acid Oxidation Research and Management (INFORM). Athens, Greece, September 2-3, 2018.

Meeting of the Society For Free Radical Research (SFRR)-India, "Role and Management of Oxidative Stress in Human Disease", Mumbai, India, February 12-15, 2020.

The 11th International Meeting on Nitric Oxide in Chemistry, Biology and Therapeutic Applications. Chicago, IL, USA, May 10-13, 2020.

The 71st National Conference of Hellenic Society of Biochemistry & Molecular Biology, Athens, Greece, November 26-28, 2021.

Nitric Oxide Gordon Research Conference, Molecular Mechanisms of Nitric Oxide Signaling in Health and Disease. Ventura Beach, California February 12-17, 2023

Publications

Peer reviewed:

1. Doulias PT, Barbouti A, Galaris D, Ischiropoulos H (2001) SIN-1-induced DNA damage in isolated human peripheral blood lymphocytes as assessed by single cell gel electrophoresis (comet assay). *Free Radic Biol Med* 30: 679-685

2. Tselepis A, Doulias PT, Lourida E, Glantzounis G, Tsimoyiannis E, Galaris D (2001). Trimetazidine protects low-density lipoproteins from oxidation and cultured cells exposed to H₂O₂ from DNA damage. *Free Radic Biol Med* 30: 1357-136
3. Barbouti A, Doulias PT, Zhu BZ, Frei B, Galaris D (2001) Intracellular iron, but not copper, plays a critical role in hydrogen peroxide-induced DNA damage. *Free Radic Biol Med* 31: 490-498
4. Barbouti A, Doulias PT, Nousis L, Tenopoulou M, Galaris D (2002) DNA damage and apoptosis in hydrogen peroxide-exposed Jurkat cells: Bolus addition versus continuous generation of H₂O₂. *Free Radic Biol Med* 33: 691-702
5. Doulias PT, Christoforidis S, Brunk UT, Galaris D (2003) Endosomal and lysosomal effects of desferrioxamine: Protection of HeLa cells from hydrogen peroxide-induced DNA damage and induction of cell-cycle arrest. *Free Radic Biol Med* 35: 719-728
6. Doulias PT, Nousis L, Zhu BZ, Frei B, Galaris D (2005) Protection by tropolones against H₂O₂- induced DNA damage and apoptosis in cultured Jurkat cells. *Free Radic Res* 39: 125-135
7. Tenopoulou M, Doulias PT, Barbouti A, Brunk U, Galaris D (2005) Role of compartmentalized redox-active iron in hydrogen peroxide-induced DNA damage and apoptosis. *Biochem J* 387: 703-710
8. Nousis L, Doulias PT, Aligiannis N, Bazios D, Agalias A, Galaris D, Mitakou S (2005) DNA protecting and genotoxic effects of olive oil related components in cells exposed to hydrogen peroxide. *Free Radic Res* 39: 787-795
9. Doulias PT, Kotoglou P, Tenopoulou M, Keramisanou D, Tzavaras T, Brunk U, Galaris D, Angelidis C (2007) Involvement of heat shock protein-70 in the mechanism of hydrogen peroxide-induced DNA damage: The role of lysosomes and iron. *Free Radic Biol Med* 42: 567-577
10. Tenopoulou M, Kurz T, Doulias PT, Galaris D, Brunk UT (2007) Does the calcein-AM method assay the total cellular 'labile iron pool' or only a fraction of it? *Biochem J* 403: 261-266
11. Doulias PT, Vlachou C, Boudouri C, Kanavaros P, Siamopoulos KC, Galaris D (2008) Flow cytometric estimation of 'labile iron pool' in human white blood cells reveals a positive association with ageing. *Free Radic Res* 42: 253-259
12. Doulias PT, Greene JL, Greco TM, Margarita Tenopoulou, Seeholzer SH, Dunbrack RL, Ischiropoulos H (2010) Structural profiling of endogenous S-nitrosocysteine residues reveals unique features that accommodate diverse mechanisms for protein S-nitrosylation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 107: 16958-16963.
13. Yang Z, Wang ZE, Doulias PT, Wei W, Ischiropoulos H, Locksley RM, Liu L (2010) Lymphocyte development requires S-nitrosoglutathione reductase. *J Immunol*. 185: 6664-6669
14. Lee RJ, Xiong G, Kofonow JM, Chen B, Lysenko A, Jiang P, Abraham V, Doghramji L, Adappa ND, Palmer JN, Kennedy DW, Beauchamp GK, Doulias PT, Ischiropoulos H, Kreindler JL, Reed DR, Cohen NA (2012) T2R38 taste receptor polymorphisms underlie susceptibility to upper respiratory infection. *J Clin Invest*. 122: 4145-4159
15. Thomson L, Tenopoulou M, Lightfoot R, Tsika E, Parastatidis I, Martinez M, Greco TM, Doulias PT, Wu Y, Tang WH, Hazen SL, Ischiropoulos H (2012).

Immunoglobulins against Tyrosine Nitrated Epitopes in Coronary Artery Disease. *Circulation* 126:2392-2401

16. Doulias PT, Tenopoulou M, Greene JL, Raju K, Ischiropoulos H (2013). Nitric oxide regulates mitochondrial fatty acid metabolism through reversible protein S-nitrosylation. *Science Sig.*, 6:rs 1-7
17. Doulias PT, Tenopoulou M, Raju K, Spruce LA, Seeholzer SH, Ischiropoulos H (2013). Site specific identification of endogenous S-nitrosocysteine proteomes. *J Proteomics* 92: 195-203
18. Lee YI, Giovinazzo D, Kang HC, Lee Y, Jeong JS, Doulias PT, Xie Z, Hu J, Ghasemi M, Ischiropoulos H, Qian J, Zhu H, Blackshaw S, Dawson VL, Dawson TM. (2013). Protein microarray characterization of the S-nitrosoproteome. *Mol Cell Proteomics* 13: 63-72 PMID: 24105792
19. Henard CA, Tapscott T, Crawford MA, Husain M, Doulias PT, Porwollik S, Liu L, McClelland M, Ischiropoulos H, Vázquez-Torres A. (2014). The 4-cysteine zinc-finger motif of the RNA polymerase regulator DksA serves as a thiol switch for sensing oxidative and nitrosative stress. *Mol Microbiol.* 91:790-804.
20. Jaeckle Santos LJ, Li C, Doulias PT, Ischiropoulos H, Worthen GS, Simmons RA. (2014). Neutralizing Th2 inflammation in neonatal islets prevents β -cell failure in adult IUGR rats. *Diabetes* 63: 1672-1684
21. Zamani P, Rawat D, Shiva-Kumar P, Geraci S, Bhuvra R, Konda P, Doulias PT, Ischiropoulos H, Townsend RR, Margulies KB, Cappola TP, Poole DC, Chirinos JA. (2014). The Effect of Inorganic Nitrate on Exercise Capacity in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction. *Circulation* 131: 371-380
22. Tenopoulou M, Chen J, Bastin J, Bennett MJ, Ischiropoulos H, Doulias PT* (2015). Strategies for correcting very long chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency. *J. Biol. Chem.* 290: 10486-10494 * Corresponding author
23. Raju K, Doulias PT, Evans P, Krizman EN, Jackson JG, Horyn O, Daikhin Y, Nissim I, Yudkoff M, Nissim I, Sharp KA, Robinson MB, Ischiropoulos H. (2015). Regulation of brain glutamate metabolism by nitric oxide and S-nitrosylation. *Science Sig.*, 8:ra68 PMID: 26152695
24. Irie T, Sips PY, Kai S, Kida K, Ikeda K, Hirai S, Moazzami K, Jiramongkolchai P, Bloch DB, Doulias PT, Armoundas AA, Kaneki M, Ischiropoulos H, Kranias E, Bloch KD, Stamler J, Ichinose F. (2015). S-Nitrosylation of Calcium-Handling Proteins in Cardiac Adrenergic Signaling and Hypertrophy. *Circ Res.* 117: 793-803
25. Zamani P, French B, Brandimarto JA, Doulias PT, Javaheri A, Chirinos JA, Margulies KB, Townsend RR, Sweitzer NK, Fang JC, Ischiropoulos H, Cappola TP. (2016). Effect of Heart Failure With Preserved Ejection Fraction on Nitric Oxide Metabolites. *Am J Cardiol.* 118: 1855-1860
26. Chirinos JA, Akers SR, Trieu L, Ischiropoulos H, Doulias PT, Tariq A, Vassim I, Koppula MR, Syed AA, Soto-Calderon H, Townsend RR, Cappola TP, Margulies KB, Zamani P. (2016). Heart Failure, Left Ventricular Remodeling, and Circulating Nitric Oxide Metabolites. *J Am Heart Assoc.* 5: e004133
27. Zamani P, Tan VX, Soto-Calderon H, Beraun M, Brandimarto J, Trieu L, Varakantam S, Doulias PT, Townsend RR, Chittams J, Margulies KB, Cappola TP, Poole DC, Ischiropoulos H, Chirinos JA. (2016). Pharmacokinetics and

Pharmacodynamics of Inorganic Nitrate in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction. *Circ Res.* [Epub ahead of print]

28. Chen F, Wang Y, Rafikov R, Haigh S, Zhi WB, Kumar S, Doulias PT, Rafikova O, Pillich H, Chakraborty T, Lucas R, Verin AV, Catravas JD, She JX, Black SM, Fulton D Jr (2017). RhoA S-nitrosylation as a regulatory mechanism influencing endothelial barrier function in response to G⁺-bacterial toxins. *Biochem Pharmacol.* 127: 34-45
29. Lin W, Vann DR, Doulias PT, Wang T, Landesberg G, Li X, Ricciotti E, Scalia R, He M, Hand NJ, Daniel J. Rader DJ (2017). Hepatic *SLC39A8*/ZIP8 regulates whole-body manganese homeostasis and the activity of Mn-dependent enzymes. *J Clin Invest.* 127: 2407-2417
30. Urbano R., Karlinsey J.E. , Stephen J. Libby S.J., Doulias PT, Harry Ischiropoulos H., Helen I. Warheit-Niemi H.I., Liggitt D.H., Alexander R. Horswill A.R., Ferric C. Fang F.C. (2018). Host Nitric Oxide Disrupts Microbial Cell-to-Cell Communication to Inhibit Staphylococcal Virulence. *Cell Host and Microbe* 23:594-606
31. Guan D, Xiong Y, Borck PC, Jang C, Doulias PT, Papazyan R, Fang B, Jiang C, Zhang Y, Briggs ER, Hu W, Steger D, Ischiropoulos H, Rabinowitz JD, Lazar MA (2018). Diet-Induced Circadian Enhancer Remodeling Synchronizes Opposing Hepatic Lipid Metabolic Processes. *Cell* 174: 831-842
32. Frawley ER, Karlinsey JE, Singhal A, Libby SJ, Doulias PT, Ischiropoulos H, Fang FC (2018). Nitric Oxide Disrupts Zinc Homeostasis in *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium. *MBio.* 9: pii: e01040-18.
33. Doulias PT, Tenopoulou M, Nakamoto K, Berrios K, Zura G, Li C, Faust M, Yakovishina V, Evans P, Tan L, Bennett MJ, Snyder NW, Quinn WJ 3rd, Baur JA, Atochin DN, Huang PL, Ischiropoulos H (2018). Oral nitrite restores age-dependent phenotypes in eNOS-null mice. *JCI Insight.* 3. pii: 122156
34. Doulias PT, Gould NS (2018). Analysis of Cysteine Post Translational Modifications Using Organic Mercury Resin. *Curr Protoc Protein Sci.* 94:e69
35. Elshenawy S, Pinney SE, Stuart T, Doulias PT, Zura G, Parry S, Elovitz MA, Bennett MJ, Bansal A, Strauss JF III, Ischiropoulos H, Simmons RA (2020). The Metabolomic Signature of the Placenta in Spontaneous Preterm Birth. *Int J Mol Sci.* 21:1043
36. Vartika Mishra V, Diane B. Re DB, Le Verche V, Alvarez MJ, Alessandro Vasciaveo A, Jacquier A, Doulias PT, Greco TM, Nizzardo M, Papadimitriou D, Nagata T, Rinchetti P, Perez-Torres E, Politi K, Ikiz B, Clare K, Than ME, Corti S, Ischiropoulos H, Lotti F, Califano A, Przedborski S (2020). Systematic elucidation of neuron-astrocyte interaction in ALS using multi-modal integrated bioinformatics. *Nat. Commun.* 11: 5579-5598
37. Umanah GKE, Ghasemi M, Yin X, Chang M, Kim JW, Zhang J, Ma E, Scarffe LA, Lee YI, Chen R, Tangella K, McNamara A, Abalde-Atristain L, Dar MA, Bennett S, Cortes M, Andrabi SA, Doulias PT, Ischiropoulos H, Dawson TM, Dawson VL. (2020). AMPA Receptor Surface Expression Is Regulated by S-Nitrosylation of Thorase and Transnitrosylation of NSF. *Cell Rep.* 33:108329
38. Ramick MG, Kirkman DL, Stock JM, Muth BJ, Farquhar WB, Chirinos JA, Doulias PT, Ischiropoulos H, Edwards DG. (2021). The effect of dietary nitrate on exercise

capacity in chronic kidney disease: a randomized controlled pilot study *Nitric Oxide - Biology and Chemistry* 106: 17-23

39. Doulias PT, Nakamura T, Scott H, McKercher SR, Sultan A, Deal A, Albertolle M, Ischiropoulos H, Lipton SA (2021). TCA cycle metabolic compromise due to an aberrant S-nitrosoproteome in HIV-associated neurocognitive disorder with methamphetamine use. *J Neurovirol* *J Neurovirol.* 27: 379
40. Zamani P, Proto EA, Wilson N, Fazelinia H, Ding H, Spruce LA, Davila A Jr, Hanff TC, Mazurek JA, Prenner SB, Desjardins B, Margulies KB, Kelly DP, Arany Z, Doulias PT, Elrod JW, Allen ME, McCormack SE, Schur GM, D'Aquila K, Kumar D, Thakuri D, Prabhakaran K, Langham MC, Poole DC, Seeholzer SH, Reddy R, Ischiropoulos H, Chirinos JA. (2021). Multimodality assessment of heart failure with preserved ejection fraction skeletal muscle reveals differences in the machinery of energy fuel metabolism. *ESC Heart Fail* 8: 2698-2712
41. Doulias PT*, Tenopoulou M, Zakopoulos I, Ischiropoulos H. (2021). Organic mercury solid phase chemoselective capture for proteomic identification of S-nitrosated proteins and peptides. *Nitric Oxide* 117: 1-6 *Corresponding author
42. Lau B, Fazelinia H, Mohanty I, Raimo S, Tenopoulou M, Doulias PT, Ischiropoulos H. (2021). Endogenous S-nitrosocysteine proteomic inventories identify a core of proteins in heart metabolic pathways. *Redox Biol* 47: 102153
43. Khare S, Kim LC, Lobel G, Doulias PT, Ischiropoulos H, Nissim I, Keith B, Simon MC. (2021) ASS1 and ASL suppress growth in clear cell renal cell carcinoma via altered nitrogen metabolism. *Cancer Metab* 9: 40.
44. Doulias PT, Yang H, Andreyev AY, Dolatabadi N, Scott H, K Raspur C, Patel PR, Nakamura T, Tannenbaum SR, Ischiropoulos H, Lipton SA. (2023). S-Nitrosylation-mediated dysfunction of TCA cycle enzymes in synucleinopathy studied in postmortem human brains and hiPSC-derived neurons. *Cell Chem Biol* 30: 965-975

Peer reviewed reviews:

1. Raju K, Doulias PT, Tenopoulou M, Greene JL, Ischiropoulos H (2012) Strategies and Tools to Explore Protein S-Nitrosylation *BBA-General Subjects* 1820: 684-688
2. Doulias PT; Raju K; Greene JL; Tenopoulou M; Ischiropoulos H (2012). Mass spectrometry-based identification of S-nitrosocysteine in vivo using organic mercury assisted enrichment. *Methods* 62: 165-170.
3. Gould N, Doulias PT, Tenopoulou M, Raju K, Ischiropoulos H (2013). Regulation of protein function and signaling by reversible cysteine S-nitrosylation. *Journal of Biological Chemistry minireview series on "Redox Sensing and Signaling"* 288: 26473-26479
4. Tenopoulou M, Doulias PT (2020). Nitric oxide in the regulation of metabolism *F1000Research Volume 9, Article number 1190*

Book Chapters

1. P.-T. Doulias, M. Tenopoulou, D. Galaris and S. Christoforidis The Role of Lysosomal Iron in H₂O₂-induced DNA Damage (2003), p 61-66. Meeting of the Society

for Free Radical Research - European Section "Free Radicals and Oxidative Stress: Chemistry, Biochemistry and Pathophysiological Implications", edited by D. Galaris and published by Monduzzi Editore International Proceedings Division

2. M. Tenopoulou, P.-T. Doulias and D. Galaris (2008) Molecular mechanisms of H₂O₂-induced DNA damage. The action of desferrioxamine. Chapter 16 in "Chemistry and molecular aspects of drug design and action", edited by E. A. Rekkas, P. N. Kourounakis and published by CRC Press, Taylor & Francis Group

Abstracts and posters in meetings

1. Galaris D., Barbouti A., Doulias PT, and Panagiotidis M. Hydrogen peroxide- and peroxynitrite-induced DNA damage in mammalian cells as measured by the comet assay. In, SFRR-Europe Summer Meeting: Antioxidants, Adaptation, Aging. Dresden, Germany July 2-5, 1999 p.68.

2. Galaris D., Barbouti A., and Doulias PT Oxidative stress-induced DNA damage as assessed by Single Cell Gel Electrophoresis (comet assay). In, Free Radicals, Nitric Oxide and Antioxidants in Health and Disease, Antalya, Turkey, September 18-24, 1999 p.16.

3. Galaris D, Barbouti A, and Doulias PT Hydrogen peroxide- and peroxynitrite-induced DNA damage in mammalian cells as assessed by comet assay. In, European Conference on Biomedical Research and Peace. Signal Transduction in mammalian Cells: Basic Concepts and Clinical Significance, Paralimni, Cyprus, October 17-21, 1999 p. 7

4. Koufaki M, Calogeropoulou T, Detsi A, Roditis A, Kourounakis A, Tsiakitzis K, Kourounakis P, Doulias PT, Galaris D. Synthesis and biological evaluation of novel antioxidants. In, Meeting of the Society for Free Radical Research-Europe, Liverpool, July, 19-22, 2000 p.75

5. Zhu B-Z, Barbouti A, Doulias PT, Frei B, Galaris D. Intracellular iron but not copper, plays a critical role in hydrogen peroxide-induced DNA damage. Oxygen Club of California 2001, World Congress, Santa Barbara, California, March 7-10, 2001

6. Galaris D, Doulias PT, and Barbouti A. On the molecular mechanism(s) of DNA damage and apoptosis in cultured cells exposed to hydrogen peroxide. In, Second International Meeting on Free Radicals in Health and Disease. The role of oxidants and antioxidants in the regulation of chronic diseases. Istanbul, May 8-12, 2002 L-3.

7. Doulias PT, Christoforidis S, Galaris D. Intracellular iron and its role in H₂O₂-induced DNA damage and apoptosis. In, 54th Meeting of Hellenic Society of Biochemistry and Molecular Biology. Ioannina, Greece, October 25-27, 2002, p 70-74.

8. Zhu B.-Z., Doulias PT, Nouis L., Frei B., Galaris D. Protection by tropolones against H₂O₂-induced DNA damage and apoptosis in cultured Jurkat cells. In, 9th Annual Meeting of the Oxygen Society, November 20-24 2002, San Antonio, USA.

9. Tenopoulou M., Doulias PT and Galaris D. Molecular mechanisms of H₂O₂-induced DNA damage: the action of desferrioxamine. In, 9th Conference in Advanced Medical Chemistry "Pharmacology in the 21st century". April 18-20, 2003. Thessaloniki, Greece.

10. Christoforidis S., Doulias P.T., Tenopoulou M. and Galaris D. Molecular mechanisms of H₂O₂-induced DNA damage: The action of desferrioxamine. In, Meeting

of the Society for Free Radical Research-Europe, Ioannina, Greece, June, 26-29, 2003 p 32.

11. Melidou M., Doulias PT, Nousis L., Riganakos K. and Galaris D. Protective effects of flavonoids in H₂O₂-exposed cells: a structure activity relationship. In, Meeting of the Society for Free Radical Research-Europe, Ioannina, Greece, June, 26-29, 2003 p 55.

12. Nousis L., Doulias PT, Zhu B.-Z., Frei B. and D. Galaris. Protection by tropolones against H₂O₂-induced DNA damage and apoptosis in cultured Jurkat cells. In, Meeting of the Society for Free Radical Research-Europe, Ioannina, Greece, June, 26-29, 2003, p 56.

13. Tenopoulou M., Doulias PT and Galaris D. The role of intracellular iron compartmentalization in H₂O₂-induced DNA damage. In, 55th Meeting of Hellenic Society of Biochemistry and Molecular Biology. Athens, Greece, November 13-15, 2003, p 670-674.

14. Nousis L., Doulias PT, Aligiannis N, Bazios D, Agalias A, Mitakou S, Galaris D (2004) DNA protecting effects of olive oil related components in cells exposed to low levels of oxidative stress. 45th International Conference on the Bioscience of Lipids, Ioannina, Greece

15. Zhu BZ, Melidou M, Doulias PT, Wei H, Tenopoulou M, Frei B, Galaris D (2004) Flavonoids protect against hydrogen peroxide-induced cellular DNA damage: The role of iron chelation. Society for Free Radical Biology and Medicine, St. Thomas, Virgin Islands, USA

16. Doulias PT, Tenopoulou M. and Galaris D. The role of iron on the molecular mechanisms of H₂O₂-induced DNA damage. In, International Free Radical Summer School: Biomarkers of oxidative stress and responses. September 30-October 6 2006, Spetses Island, Greece

17. Doulias PT, Tenopoulou M, Greene JL, Raju K, Ischiropoulos H. Nitric oxide regulates mitochondrial fatty acid metabolism through reversible protein S-nitrosylation. In, Gordon-Kenan Research Seminar: Probing the Thiol proteome. July 28-29 2012, Bates College Lewiston, ME

18. Doulias PT, Tenopoulou M, Greene JL, Raju K, Ischiropoulos H. Nitric oxide regulates mitochondrial fatty acid metabolism through reversible protein S-nitrosylation. In, "Thiol-Based Redox Regulation & Signaling" Gordon Research Conference. July 29th August 3rd, 2012, Bates College Lewiston, ME

19. Doulias PT, Tenopoulou M, Raju K, Ischiropoulos H. Site specific identification of endogenous S-nitrosoproteomes. In, "Formation and Signaling by NO and Related Reactive Nitrogen Oxides" Gordon Research Conference February 17-22, 2013, Ventura, CA. This study was awarded as one of the top 10 poster presentations.

20. Tenopoulou M, Doulias PT, Ischiropoulos H. Nitric oxide regulates mitochondrial fatty acid metabolism through reversible protein S-nitrosylation. In, "Formation and Signaling by NO and Related Reactive Nitrogen Oxides" Gordon Research Conference February 17-22, 2013, Ventura, CA. This study was awarded as one of the top 10 poster presentations.

21. Massa M, Doulias PT, Ischiropoulos H, Gow A. Identification And Evaluation Of Differentially Modified S-Nitrosocystine Residues In Nitric Oxide Synthetase-2 And S-Nitrosogluthione Reductase Knock-Out Mice-A Proteomics-Based Approach. ANIMAL

MODELS OF ASTHMA, A2699-A2699, American Thoracic Society, May, 2013, Philadelphia, PA

22. Tenopoulou M, Ischiropoulos H, Doulias PT. Novel therapeutic strategies towards the improvement of VLCAD deficiency. In, "Nitric Oxide Signaling and Therapeutics" Gordon Research Conference February 15-20, 2015, Ventura, CA.

23. Trieu L, Zamani P, Doulias PT, Rawat D, Shiva Kumar P, Bhuva R, Vadde N, Dunde A, Soto-Calderon H, Tariq A, Javaheri A, Haines P, Ischiropoulos H, Akers S, Chirinos Medina J. Plasma Levels of Nitric Oxide Metabolites are lower in HFpEF subjects compared to HFrEF and hypertensives. American College of Cardiology, March 2015, San Diego, CA

24. Trieu L, Zamani P, Tran V, Soto-Calderon H, Beraun M, Brandimarto JA, Varakantam S, Paschalis-Thomas Doulias PT, Townsend RR, Chittams J, Margulies KB, Cappola TP, Poole DC, Ischiropoulos H, Chirinos JA. Inorganic Nitrate Does Not Worsen Physical Activity. Journal of Cardiac Failure 22(8): S67. Proceedings of the 20th Annual Scientific Meeting of The Heart Failure Society of America (HSFA), September 2016, Gaylord Palms, FL

25. Doulias PT, Tenopoulou M, Zura G, Nakamoto K, Faust M, Li L, Ischiropoulos H: Bioactive nitric oxide for metabolic syndrome. Cell Symposia: Metabolic Disease Therapies, Oct 2017, San Diego, CA.

26. Oh CK, Dolatabadi N, Soldner F, Jaenisch R, McClatchy DB, Diedrich JK, Yates JR 3rd, Ambasudhan R, Doulias PT, Ischiropoulos H, T Nakamura T, Lipton SA. S-Nitrosylation of PINK1 (PINK-SNO) attenuates PINK1/Parkin-dependent mitophagy in hiPSC-derived neuron models of Parkinson's Disease (PD): Toward assessment of the S-nitrosproteome in human PD in an unbiased manner by mass spectrometry. In 10th International Conference on the Biology, Chemistry and Therapeutic Applications of Nitric Oxide, September 2018, Oxford, UK

27. Doulias PT, Tenopoulou M, Nakamoto K, Berrios K, Zura G, Li C, Faust M, Yakovishina V, Evans P, Tan L, Bennett MJ, Snyder NW, Quinn WJ 3rd, Baur JA, Atochin DN, Huang PL, Ischiropoulos H. Restoration of age-dependent phenotypes by nitrite reveals a regulatory role for endothelial nitric oxide synthase/nitric oxide signaling in metabolic syndrome. In 10th International Conference on the Biology, Chemistry and Therapeutic Applications of Nitric Oxide, September 2018, Oxford, UK

28. Tenopoulou M, Ischiropoulos H, Doulias PT. Novel therapeutics for fatty acid oxidation disorders. The 71st National Conference of Hellenic Society of Biochemistry & Molecular Biology, Athens, Greece, November 26-28, 2021

29. Gkougkousis C, Markou M, Murphy C, Doulias PT. Cardiomyocytes derived from differentiated embryonic stem cells as a model to study metabolism and nitric oxide signaling. The 72nd National Conference of Hellenic Society of Biochemistry & Molecular Biology, Patras, Greece, December 2-4, 2022

Research Support (Active)

Project BIOMED-20 (MIS 5047236), Action "Reinforcement of the Research and Innovation Infrastructure Operational Programme "Competitiveness, Entrepreneurship and Innovation" (NSRF 2014-2020). Co-financed by Greece and the EU (European Regional Development Fund).

Research Support (Completed)

1. W.W. Smith Charitable Trust Medical Award for Heart Disease Research. The goal of this project is to test novel therapeutics towards very long chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency
2. Sanofi Innovation Award. Co-Investigator. The goal of this project is to develop therapeutics towards inherited mitochondrial fatty acid oxidation disorders.

Ερευνητικά Ενδιαφέροντα

Τα ερευνητικά ενδιαφέροντα μου περιλαμβάνουν θέματα Βασικής και Κλινικής Έρευνας εστιάζοντας στις ακόλουθες θεματικές ενότητες.

Βασική Έρευνα

Στη διερεύνηση των μορικών μηχανισμών ρύθμισης του βιοχημικού μονοπατιού της μιτοχονδριακής οξειδωσης των λιπαρών οξέων (β-οξειδωση). Το μονοπάτι αυτό αποτελεί την κύρια οδό του καταβολισμού των λιπαρών οξέων στα κύτταρα των θηλαστικών. Η β-οξειδωση χρησιμοποιεί λιπαρά οξέα μακράς, μέσης και βραχείας αλυσίδας ως υπόστρωμα για την παραγωγή ακέτυλο συνενζύμου A (acetyl-CoA) και αναγωγικών ισοδυνάμων τα οποία αποτελούν την κινητήρια δύναμη της αναπνευστικής αλυσίδας.

Ο καρδιακός μυς κάτω από φυσιολογικές συνθήκες αντλεί περίπου το 70% των μορίων ATP που απαιτούνται για την συσταλτική δραστηριότητα, την ιονική ρύθμιση και άλλες σημαντικές λειτουργίες από την β-οξειδωση λιπαρών οξέων μακράς αλυσίδας. Επίσης, η παραγωγή ενέργειας στους σκελετικούς μύες κατά τη διάρκεια της άσκησης εξασφαλίζεται από τον καταβολισμό των λιπαρών οξέων. Τέλος, η απόκριση του οργανισμού στο μεταβολικό στρες που προκαλεί η σύντομη νηστεία (fasting) οδηγεί στην αύξηση του ρυθμού της β-οξειδωσης στο ήπαρ. Στις συνθήκες αυτές, το ακέτυλο συνένζυμο-A που παράγεται στο ήπαρ χρησιμοποιείται α. στον κύκλο του Krebs για την κάλυψη των μεταβολικών αναγκών του ήπατος, β. στην αναγέννηση του γλυκογόνου και γ. μετατρέπεται ενζυμικά σε κετονικά σώματα. Τα κετονικά σώματα εκκρίνονται στην κυκλοφορία και χρησιμοποιούνται για την παραγωγή ATP στον εγκέφαλο και τους νεφρούς δύο όργανα που δεν έχουν την ικανότητα παραγωγής ATP μέσω της β-οξειδωσης. Κατά συνέπεια η ενεργειακή τους ομοιοστασία σε συνθήκες χαμηλών επιπέδων γλυκόζης εξαρτάται σχεδόν αποκλειστικά από την ηπατική β-οξειδωση.

Παρά τη φυσιολογική σημασία της β-οξειδωσης οι μοριακοί μηχανισμοί ρύθμισης του μονοπατιού αυτού παραμένουν εν πολλοίς άγνωστοι.

Η υπόθεση μου είναι ότι **οι ανάγκες για παραγωγή ATP ενεργοποιούν σηματοδοτικά μονοπάτια τα οποία συγκλίνουν στα ένζυμα της β-οξειδωσης ρυθμίζοντας την ενεργότητα τους μέσω μεταμεταφραστικών τροποποιήσεων (posttranslational modifications).**

Για τη μελέτη της υπόθεσης αυτής έχουν επιλεγεί μια σειρά γενετικά τροποποιημένων ποντικών στα οποία συγκεκριμένες σηματοδοτικές πορείες έχουν διαταραχθεί. Αποτέλεσμα αυτού είναι να εμφανίζουν φαινοτυπικές αλλαγές οι οποίες

υποδηλώνουν μειωμένη δραστηριότητα του μονοπατιού της β-οξειδωσης. Οι αλλαγές αυτές είναι εντονότερες σε συνθήκες μεταβολικού στρες ή σωματικής καταπόνησης.

Τέτοια μοντέλα είναι τα ποντίκια που δεν εκφράζουν τις μιτοχονδριακές πρωτεΐνες sirtuin 3 (Sirt3) και sirtuin 5 (Sirt 5) αντίστοιχα. Η Sirt3 αποτελεί την κύρια απο-ακετυλάση (de-acetylase) των μιτοχονδρίων και η γενετική απαλοιφή της οδηγεί σε υπερακετυλίωση των μιτοχονδριακών πρωτεϊνών περιλαμβανομένων των ενζύμων της β-οξειδωσης. Η Sirt5 αποτελεί το κύριο ένζυμο που καταλύει την απο-σαξινυλίωση καταλοίπων λυσίνης στα μιτοχόνδρια. Η σαξινυλίωση (succinylation) προκύπτει από την ομοιοπολική σύνδεση ηλεκτρικού οξέως με το αζώτο της παράπλευρης αλυσίδας της λυσίνης. Η γενετική απαλοιφή της Sirt5 οδηγεί στην αύξηση των επιπέδων σαξινυλίωσης στα μιτοχόνδρια. Επίσης, δημοσιευμένες μελέτες μου δείχνουν πως ποντίκια που δεν εκφράζουν το ένζυμο endothelial nitric oxide synthase (eNOS) παρουσιάζουν χαμηλότερα επίπεδα μονοξειδίου του αζώτου (NO) και μειωμένη νιτροσυλίωση των κυστεϊνών (S-nitrosylation) συμπεριλαμβανομένων των ενζύμων της β-οξειδωσης. Βιοχημικά, η νιτροσυλίωση είναι η μεταμεταφραστική τροποποίηση καταλοίπων κυστεϊνης από το μονοξείδιο του αζώτου. Τα παραπάνω πειραματικά μοντέλα είναι άμεσα διαθέσιμα.

Επιπλέον, δημιουργήσαμε ένα μοντέλο ποντικού στο οποίο το κατάλειπο κυστεϊνης στη θέση 238 της πρωτεΐνης very long chain acyl-CoA dehydrogenase (VLCAD) έχει αντικατασταθεί με αλανίνη. Η VLCAD είναι το πρώτο ένζυμο στο μονοπάτι της β-οξειδωσης. Δημοσιευμένα πειράματα μας αποδεικνύουν ότι η κυστεϊνη στη θέση 238 είναι αναγκαία για τη ρύθμιση της ενζυμικής δράσης από το μονοξείδιο του αζώτου (NO) μέσω επιλεκτικής και αντιστρεπτής νιτροσυλίωσης. Το μοντέλο αυτό είναι άμεσα διαθέσιμο και αποτελεί σημαντικό εργαλείο για μηχανιστικές μελέτες και πιθανές θεραπευτικές προσεγγίσεις.

Τέλος, για την μελέτη των επιπτώσεων των μεταμεταφραστικών τροποποιήσεων στην ενζυμική δραστηριότητα θα χρησιμοποιηθούν κυτταρικά μοντέλα και η τεχνική των σημειακών μεταλλάξεων (site directed mutagenesis).

Για τις μελέτες που περιγράφηκαν παραπάνω θα χρησιμοποιηθούν αναλυτικές και βιοχημικές πειραματικές μεθόδους. Επιπλέον, για τον φαινοτυπικό, πρωτεομικό και μεταβολικό χαρακτηρισμό των πειραματικών μοντέλων έχουν αναπτυχθεί και χρησιμοποιηθεί οι κατάλληλες προσεγγίσεις. Η τεχνογνωσία και υλικοτεχνική υποδομή υπάρχουν κυρίως στο Πανεπιστήμιο της Πενσυλβάνια (University of Pennsylvania) και το Νοσοκομείο Παιδών της Φιλαδέλφειας (CHOP). Το δίκτυο των συνεργατών μου στα Ιδρύματα αυτά μου παρέχει απρόσκοπτη πρόσβαση σε τεχνολογίες αιχμής καθώς και την επιστημονική τεχνογνωσία που απαιτούνται.

Κλινική Έρευνα

Η θεματική ενότητα αυτή εστιάζει στις διαταραχές της β-οξειδωσης (β-oxidation disorders). Πρόκειται για γενετικές ασθένειες του μεταβολισμού που προκαλούνται από κληρονομούμενες μεταλλάξεις των γονιδίων που κωδικοποιούν τα ένζυμα ή τους μεταφορείς της β-οξειδωσης. Αποτέλεσμα των μεταλλάξεων είναι η μειωμένη δραστηριότητα της πρωτεΐνης. Οι διαταραχές της β-οξειδωσης έχουν κλινικά συμπτώματα στον καρδιακό μύ, το ήπαρ και τους σκελετικούς μύες. Τα συμπτώματα επάγονται ή επιδεινώνονται από το καταβολικό στρες όπως η έλλειψη γλυκόζης (νηστεία), η σωματική άσκηση, η έκθεση στο κρύο και οι ιικές μολύνσεις.

Είναι γεγονός ότι οι διαταραχές της β-οξειδωσης επηρεάζουν σημαντικά την ποιότητα ζωής των ασθενών και σε ορισμένες περιπτώσεις (ιδιαίτερα ο φαινότυπος στον καρδιακό μύ) είναι επικίνδυνες για τη ζωή τους. Για τον λόγο αυτό ο έλεγχος των νεογνών για την ύπαρξη διαταραχών της β-οξειδωσης είναι υποχρεωτικός σε αρκετές χώρες.

Δυστυχώς, δεν υπάρχει διαθέσιμη θεραπεία έναντι των διαταραχών της β-οξειδωσης. Τα υπάρχοντα θεραπευτικά πρωτόκολλα στοχεύουν στην πρόληψη των συμπτωμάτων μέσω της ειδικής διατροφής και την αποφυγή κάθε μορφής καταβολικού στρες. Παρά τις προφυλάξεις ορισμένοι ασθενείς εκδηλώνουν συμπτώματα και σε πολλές περιπτώσεις η μεταφορά τους στο νοσοκομείο είναι αναγκαία.

Η κατανόηση των μηχανισμών που οδηγούν στις διαταραχές της β-οξειδωσης είναι ένας ερευνητικός τομέας που παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Η κατανόηση των μηχανισμών αυτών θα συνδράμει αποφασιστικά την κλινική έρευνα για την ανάπτυξη νέων θεραπευτικών μεθόδων.

Πρόσφατα, δημοσιεύσαμε τα αποτελέσματα μιας μελέτης στο έγκριτο περιοδικό *Journal of Biological Chemistry (JBC)*. Η μελέτη αυτή έδειξε ότι η χορήγηση βιοενεργού NO σε κύτταρα ασθενών με κλινικά διεγνωσμένη ανεπάρκεια της VLCAD (VLCAD deficiency) αύξησε την ενζυματική της ενεργότητα παρουσία των παθολογικών μεταλλάξεων. Τα ιδιαίτερα ενθαρρυντικά αποτελέσματα της συγκεκριμένης μελέτης πυροδότησαν το ενδιαφέρον μας για το σχεδιασμό νέων θεραπευτικών προσεγγίσεων και πειραματικών μοντέλων. Οι τρέχουσες ερευνητικές δραστηριότητες σε αυτή τη θεματική ενότητα επικεντρώνονται στα ακόλουθα: 1. *Στη δημιουργία πειραματικών μοντέλων τα οποία εμφανίζουν βιοχημικά και κλινικά χαρακτηριστικά των ανθρώπων με διαταραχές της β-οξειδωσης* 2. *Στον σχεδιασμό νέων βιοδραστικών μορίων τα οποία θα διορθώνουν την ενζυμική αναπάρκεια και θα αποκαθιστούν τη μεταβολική δραστηριότητα σε παθολογικές καταστάσεις.*

Μια σειρά πειραμάτων πραγματοποιήθηκε σε γενετικά τροποποιημένα ποντίκια με ανεπάρκεια της VLCAD στον καρδιακό μύ (cardiac specific VLCAD deficiency). Τα ποντίκια αυτά αναπτύσσουν χρόνια καρδιοπάθεια και παρουσιάζουν αυξημένη ευαισθησία στη χαμηλή θερμοκρασία και την νηστεία. Παρατηρήθηκε ότι η φαρμακολογική χορήγηση βιοενεργού NO αποτρέπει την καρδιακή παθολογία, αυξάνει τον ρυθμό οξειδωσης των λιπαρών οξέων και την ειδική δραστηριότητα της VLCAD.

Σε συνεργασία με τον Καθηγητή Harry Ischiropoulos στο Πανεπιστήμιο της Πενσυλβάνια συνθέσαμε ένα μόριο το οποίο έχει τα εξής χαρακτηριστικά. Μεταβολίζεται στα μιτοχόνδρια παρέχοντας βιοενεργό NO, ακετυλο συνένζυμο Α και αναπληρωτικά υποστρώματα για τον κύκλο του Krebs. Το μόριο αυτό χορηγείται ήδη σε ποντίκια με ανεπάρκεια της καρδιακής VLCAD και θα εξεταστούν οι επιπτώσεις στην ενζυμική ανεπάρκεια, την μεταβολική δραστηριότητα και την κλινική εικόνα των ζώων σε φυσιολογικές συνθήκες και σε συνθήκες καταβολικού στρες.

Τα πολυδύναμα βλαστικά κύτταρα (human induced pluripotent stem cells, hiPSCs) και η στόχευση γονιδίων με την CRISPR/Cas9 τεχνολογία αποτελούν μοναδικά εργαλεία για την μοντελοποίηση ανθρωπίνων ασθενιών, την ανακάλυψη φαρμάκων και την επεξεργασία του γονιδιώματος. Εκμεταλλευόμενος αυτές τις πρωτοποριακές τεχνολογίες έχω σχεδιάσει και τα εξής πειραματικά μοντέλα. 1. *VLCAD-deficient human hepatocytes and cardiomyocytes* ξεκινώντας από VLCAD-deficient ινοβλάστες του δέρματος για τη δημιουργία hiPSCs. Στη συνέχεια τα κύτταρα αυτά θα διαφοροποιηθούν σε ηπατοκύτταρα και καρδικά κύτταρα. 2. *Knock-in VLCAD-deficient mice*. Θα

χρησιμοποιηθεί η τεχνολογία CRISPR/Ca9 προκειμένου να επεξεργασθεί το γονίδιο της ανθρώπινης VLCAD και να εισαχθεί η ομοζυγωτική σημειακή μετάλλαξη G222R/G222R. Στους ανθρώπους η μετάλλαξη αυτή μειώνει τα επίπεδα της VLCAD και την ενζυματική δραστηριότητα της. Οι ασθενείς παρουσιάζουν κλινικά συμπτώματα στην καρδιά και το ήπαρ. Το γονίδιο θα μεταφερθεί με ιική επιμόλυνση σε cardiac specific VLCAD KO ποντίκια. Η χρήση των μοντέλων αυτών θα επιτρέψει για πρώτη φορά μηχανιστικές μελέτες σε συνθήκες που προσομοιάζουν απόλυτα την ανθρώπινη ασθένεια. Επιπλέον, τα μονέλα αυτά επιτρέπουν την δοκιμή φαρμακολογικών παραγόντων όπως το μόριο που περιγράφηκε παραπάνω και πιθανά άλλων που θα συντεθούν στο μέλλον.

Εκτός από τα παιδιατρικά μεταβολικά νοσήματα, αλλαγές στην ικανότητα των κυττάρων να οξειδώνουν λιπαρά οξέα έχουν αναφερθεί και σε άλλες παθολογικές καταστάσεις. Η μη αλκοολική ηπατική στεάτωση (non alcoholic fatty liver disease, NAFLD) είναι μια ιδιαίτερα διαδεδομένη μεταβολική διαταραχή που προκαλείται από την υπερβολική συσσώρευση τριγλυκεριδίων στα ηπατοκύτταρα. Ο πιο διαδεδομένος τύπος NAFLD είναι η απλή στεάτωση η οποία αντιπροσωπεύει μια σχετικά ήπια κατάσταση ηπατικής βλάβης. Παρά το γεγονός ότι η NAFLD επηρεάζει σχεδόν το 30% του ενήλικου πληθυσμού στις Ηνωμένες Πολιτείες, οι μοριακοί μηχανισμοί που οδηγούν σε αυτή της δεν έχουν διευκρινιστεί ακόμα. Μελέτες σε γενετικά τροποποιημένα πειραματόζωα δείχνουν ότι η έλλειψη πρωτεϊνών του μονοπατιού της β-οξειδωσης οδηγεί στην ανάπτυξη ηπατικής στεάτωσης. Στόχος είναι η πραγματοποίηση μελετών που θα διερευνήσουν την εμπλοκή της β-οξειδωσης στην παθογένεση της NAFLD. Η γνώση της ασθένειας σε μοριακό επίπεδο θα διευκολύνει το σχεδιασμό και την εφαρμογή θεραπευτικών παρεμβάσεων οι οποίες θα στοχεύουν την αναστροφή της ηπατικής στεάτωσης.

Κληρονομικές και επίκτητες καρδιοπάθειες συνήθως καταλήγουν σε καρδιακή ανεπάρκεια. Μελέτες σε ανθρώπους και πειραματόζωα προτείνουν ότι στην καρδιακή ανεπάρκεια η μεταβολική δραστηριότητα στην καρδιά μετατοπίζεται από την κύρια ενεργιακή πηγή που είναι η οξείδωση των λιπαρών οξέων στην γλυκόλυση και την οξείδωση της γλυκόζης. Στόχος είναι η πραγματοποίηση μηχανιστικών και ματαφραστικών (translational) μελετών οι οποίες θα αποκαλύψουν τους λόγους που οδηγούν στο μεταβολικό επαναπρογραμματισμό και την ανάπτυξη θεραπευτικών προσεγγίσεων που θα προλαμβάνουν ή θα διορθώνουν τις μεταβολικές διαταραχές.