

Her følger en kort beskrivelse af de 13 ph.d.-projekter. Ansøgere opfordres til at kontakte de respektive hovedvejledere med henblik på yderligere oplysninger og udarbejdelse af projektbeskrivelser.

Projekt 1: Propagerede vaskulære responser i mesenterielle arterioler: intra og intercellulær signalering

*Hovedvejleder: Professor Niels-Henrik Holstein Rathlou
Medicinsk Fysiologisk Institut, KU
(niels@mfi.ku.dk)*

Vaskulære propagerede responser (VPR) spiller en vigtig rolle for koordineringen af mikrocirkulationen i et givet organ. På trods af at VPR har været kendt i mere end 20 år, er såvel propageringsvejen(e), som selve de intra- og intercellulære signaleringsmekanismer forsat ikke afklarede. Projektet vil belyse, hvorvidt det propagerede signal passerer via endotelet eller de glatte muskelceller, og hvorvidt gap junctions spiller en rolle i propageringsmekanismen. Desuden vil projektet forsøge at belyse de intra- og intercellulære signaleringsmekanismer. Den intracellulære Ca^{2+} koncentration spiller en central rolle i excitations-kontraktions koblingen i vaskulære glatte muskelceller, og vi vil derfor fokusere på Ca^{2+} influxen; herunder rollen af T-type spændingsafhængige Ca^{2+} kanaler. Desuden vil vi teste om et regenerativt Ca^{2+} respons via det endoplasmatiske retikulum er involveret i signalpropageringen, ligesom den modulerende effekt af calciumafhængige kalium- og chloridkanaler på udbredelsen af VPR vil blive undersøgt. Projektet vil bidrage med ny viden om mikrocirkulationens regulering.

Projekt 2: Nyrebeskyttende mekanismer af melanocortin behandling ved SIRS induceret akut nyresvigt

*Hovedvejleder: Lektor Thomas Jonassen
Farmakologisk Institut, KU
(thomas.jonassen@farmakol.ku.dk)*

Akut nyresvigt (ARF) er en alvorlig komplikation til systemisk inflammatorisk respons syndrom (SIRS) sekundært til stressinducerede traumer f.eks. store kirurgiske indgreb. Risikoen for at udvikle ARF efter større kardiovaskulære operative indgreb er ca. 7 gange forøget hos patienter med en 50% forhøjelse af den præoperative serumkreatinin, hvilket f.eks. i forbindelse med thorakal aorta-aneurysme kirurgi øger sandsynligheden for postoperativ dialyse til 25-30%.

Dyreforsøg har vist, at administration af lipopolysaccharid (LPS) og derved induktion af SIRS, hos dyr med eksisterende moderat nyreinsufficiens, er associeret med et markant inflammatorisk respons i nyretubuli, som ikke ses ved LPS behandling hos dyr med normal nyrefunktion.

α MSH (Melanocyt Stimulerende Hormon) beskytter via melanocortin type 1 receptor (MCR1) stimulation mod udvikling af ARF i dyremodeller på iskæmi-induceret nyresvigt og for nyligt har forsøg med en MCR1 analog, AP214, vist at stoffet kan revertere sepsis-induceret ARF in en musemodel med gramnegativ bakteriel sepsis.

Formålet med ph.d.-projektet er yderligere at studere predisponerende faktorer for udviklingen af SIRS induceret ARF ved moderat nedsat nyrefunktion, herunder at studere den nyreprotektive mekanisme af MCR receptor stimulering. Til dette formål benyttes et integreret patofysiologisk approach, hvor nyrefunktionsstudier i intakte modeller på ARF og SIRS kombineres med immunhistokemiske metoder og studier af signaltransduktion i isolerede nyretubuli. Projektet medfinansieres af Action Pharma.

Projekt 3: Vaskulære effekter af uræmi

*Hovedvejleder: Professor Lars Bo Nielsen
Klinisk Biokemi, Rigshospitalet*

larsbo@rh.dk

Patienter med kronisk nyrefunktionsnedsættelse har en markant øget risiko for hjerte-karsygdom. Vi har etableret en musemodel med moderat nyrefunktionsnedsættelse og hyperkolesterolæmi. Studier af musemodellen har vist, at nyrefunktionsnedsættelse accelererer aterosklerose-udviklingen i aorta 6-10 gange. Nyresygdom er en frygtet komplikation til diabetes, og diabetes er en hyppig årsag til uræmi. Hos patienter med uræmi øges risikoen for hjertekarsygdom 2-3 gange ved samtidig forekomst af diabetes.

Vi ønsker at engagere en ph.d.studerende til at etablere en musemodel med både uræmi og diabetes. Vi vil inducere uræmi ved partiel fjernelse af nyrevæv og efterfølgende diabetes ved at injicere streptozotocin. Modellen vil kunne anvendes til at afgøre, om diabetes øger udviklingen af uræmisk aterosklerose og dannelse af vaskulære calcifikationer. Ydermere ønsker vi at foretage funktionelle undersøgelser af karvæggen ved hjælp af myografi-studier.

Projekt 4: Studier af apolipoprotein M i nye genmodificerede musemodeller

Hovedvejleder: Professor Lars Bo Nielsen

Klinisk Biokemi, Rigshospitalet

larsbo@rh.dk

Apolipoprotein (apo) M er et nyopdaget protein inden for high density lipoproteiner (HDL). ApoM produceres i nyre og lever. Dets funktion er ukendt. Vi har for nyligt genereret (1) to linier af transgene mus der overudtrykker human apoM således at plasma apoM koncentrationen er øget enten 2 eller 10 gange (2) mus med en induceret deletion i det endogene apoM gen (apoM knock-out mus) og (3) mus der udtrykker et muteret humant apoM protein. Det endogene apoM protein cirkulerer med dets signalpeptid intakt. Det muterede apoM secernerer uden signalpeptidet. Præliminære undersøgelser tyder på, at deletion af signalpeptidet blokerer inkorporeringen af apoM i HDL. Vi ønsker at engagere en ph.d.-studerende til at deltage i undersøgelser af apoM's rolle i relation til plasma lipoproteinmetabolismen, udvikling af aterosklerose og nyrens funktion, ved hjælp af disse nye musemodeller.

Projekt 5: Modulation af hjertets hERG kaliumkanaler som muligt nyt antiarytmisk princip

Hovedvejleder: Professor Søren-Peter Olesen

Medicinsk Fysiologisk Institut, KU

spo@mfi.ku.dk

Studiets sigte er at afklare om farmakologisk eller fysiologisk aktivering af én af hjertets kalium kanal undertyper kaldet hERG kanalen kan have anti-arytmisk effekt.

Afslutningen af hjertets aktionspotentiale skyldes primært aktiveringen af to specifikke kalium-selektive ionkanaler i hjertet, KCNQ1 og hERG1 kanalerne. Loss-of-function mutationer i disse kanaler eller farmakologisk blokade leder til et forlænget aktionspotentiale samt øget risiko for arytmie. Vi har udviklet stoffer, som aktiverer hERG1 kanalen, og fundet at disse stoffer stabiliserer hjertets aktionspotentiale ved at modulere repolariserings- og postrepolariserings-fasen.

For at kunne afklare om en åbning af hERG1 (eller KCNQ1) kanaler vil virke anti-arytmisk skal princippet testes i en række funktionelle modeller, der afspejler hvorledes en sådan ionkanalmodulation vil påvirke excitabiliteten af hjertet under normale og proarytmiske forhold. Effekten på aktionspotentialets form og udbredning, samt effekten på kontraktiliteten af en farmakologisk eller fysiologisk hERG1 kanal åbning, vil blive undersøgt på isolerede kardiomyocytter, papillærmuskler eller strips af hjertemuskelvæv fra dyr, på tværsnit af isoleret hjertemuskelvæv, i isolerede hjerter opsat i Langendorff set-up, og i *in vivo* forsøg med måling af EKG på dyr.

Projekt 6: Calcium-aktiverede kaliumkanaler i hjertet

*Hovedvejleder: Professor Søren-Peter Olesen
Medicinsk Fysiologisk Institut, KU
spo@mfi.ku.dk*

Projektets formål er at afklare betydningen af Ca-aktiverede K kanaler i hjertet, herunder molekylær funktion, lokalisering samt rolle ved hjerteiskæmi og arytmi.

Ca-aktiverede K kanaler åbnes ved en stigning i den intracellulære Ca^{2+} koncentration, og der findes to familier af Ca-aktiverede K kanaler – SK og BK kanaler. I hjertet findes SK kanaler i cellemembranen hvorimod BK kanalerne er lokaliseret i mitokondriernes indermembran. Aktivisering af mitokondriernes BK kanaler reducerer deres Ca-loading og har en beskyttende effekt mod iskæmi.

I ph.d.-studiet indgår en række mulige delprojekter (1) RT-PCR bestemmelse af den BK kanal splice variant der findes i hjertet (2) bestemmelse af om ilttensionen påvirker aktiviteten af BK kanalen og af andre kardielle K kanaler (3) undersøgelse af, hvorvidt hjertet kan beskyttes mod iskæmi ved administration af nye selektive og potente BK kanal åbnende kemiske stoffer (4) targeting og immunolokalisering af SK og BK kanaler i hjertet samt (5) funktionelle studier.

Projekt 7: Renale vaskulære ionkanaler: Fysiologi og patofysiologi

*Hovedvejleder: Lektor Max Salomonsson
Medicinsk Fysiologisk Institut
(maxsalomon@mfi.ku.dk)*

Hypertension spiller en vigtig rolle for forekomsten af sygdomme såsom slagtilfælde, akut myokardieinfarkt, og hjerte- og nyreinsufficiens. Kroppens salt- og vandbalance har stor betydning for reguleringen af blodtrykket og nyrens rolle i hypertensionens patogenese belyses af transplantationsforsøg. Ved hypertension er den renale vaskulære resistens forøget. I reguleringen af den renale arterioleonus spiller de glatte muskelcellers $[Ca^{2+}]_i$ en afgørende rolle. $[Ca^{2+}]_i$ styres i høj grad af Ca^{2+} entry via spændingsfølsomme Ca^{2+} kanaler, og membranpotentialer er derfor af stor betydning. Potentialer styres af plasmamembranens ion-permeabilitet og her spiller K^+ -ionen en stor rolle. Der findes 4 hovedtyper (K_{Ca} , K_v , K_{ir} og K_{ATP}) af vaskulære K^+ -kanaler. Undersøgelser viser, at funktionen af alle disse kanaler er forandret ved hypertension. Vi vil undersøge betydningen af K^+ kanaler for den renale hæmodynamik ved, under K^+ kanalblokade og stimulering, at måle det renale blod flow *in vivo* i normo- og hypertensive rotter. Betydningen af K^+ kanaler for den endothelinducerede renale vasodilatation undersøges også. Vi vil endvidere gennemføre kompletterende målinger af $[Ca^{2+}]_i$ i isolerede renale kar *in vitro*. For at undersøge ekspressionen af K^+ kanaler i det renale kartræ på proteinniveau vil vi bruge immunohistokemi.

Projekt 8: Kan blødning ved akut levertraume stoppes med NN1731, en ny generation af hæmostatiske midler?

*Hovedvejleder: Professor Niels Henry Secher
Anæstesi- og intensivafdelingen, Rigshospitalet
(nhsecher@rh.dk)*

Traumer kan være forbundet med omfattende blødning og det er ofte vanskeligt eller umuligt at gennemføre genoplivning ved administration af blod eller plasmaekspandere, der i sig selv har en hæmmende virkning på blodkoagulationen. Det er derfor af interesse, om traumatisk blødning kan hæmmes eller standses ved administration af f.eks. koagulationsfaktor VII, og ikke mindst i hvilken udstrækning virkningen afhænger af sammensætningen af den valgte resuscitationsvæske, pH og temperatur. Dette ph.d.-projekt vil gennemføre en systematisk evaluering af effekten af faktor VII i forbindelse med de almindeligt anvendte resuscitationsvæsker under eksperimentelt

induceret levertraume hos grise. Foruden evaluering af blødningens omfang måles regionale blodflow og specielt gennemblødningen og oxygeneringen af hjernen med henblik på at undgå udvikling af såkaldt irreversibelt shock. Det forventes, at den strategi for administration af væsker, der viser sig mest hensigtsmæssig, til få umiddelbar betydning for traumebehandling, for hvilken der af etiske grunde ikke kan gennemføres kontrollerede undersøgelser. Projektet medfinansieres af Novo Nordisk A/S.

Projekt 9: Genetiske og molekulære mekanismer bag arytmogen højre ventrikel kardiomyopati og pludselig uventet arytmidød

*Hovedvejleder: Overlæge Jesper Hastrup Svendsen
Kardiologisk Laboratorium, Rigshospitalet
(hastrup@rh.dk)*

Studiets sigte er at afklare genetiske og molekulære mekanismer bag arytmogen højre ventrikel kardiomyopati (ARVC) og pludselig uventet arytmidød. Sygdommen ARVC er en sjælden hjertemuskelsygdom, der primært rammer højre hjertekammer. Histologisk påvises typisk fedtceller og fibrose mellem kardiomyocytterne. Disse forandringer anses for at give substrat til de ventrikulære takyarytmier, der kendetegner sygdommen. Sygdommen kan ofte debutere med pludselig uventet arytmidød. Standardbehandlingen består i dag af implanterbar defibrillator (ICD).

Sygdommens ætiologi er ukendt, men ofte ses familiær forekomst. Arvegangen er overvejende autosomal dominant med varierende penetrans og ekspressivitet (visende sig ved forskellige sværhedsgrader og forskellig debutalder). Sygdommen opfattes i dag som en celleadhæsionssygdom, idet der er påvist sygdomsfremkaldende mutationer i gener, der koder for desmosom-proteiner

Patienterne identificeres fra Rigshospitalets Hjertecenter. Vi planlægger at inkludere ca. 60 patienter. Projektet åbner endvidere mulighed for undersøgelse af patienternes familiemedlemmer. Vi vil identificere og beskrive gener, der er associeret til ARVC i en dansk patientpopulation og beskrive de genetiske og molekulære mekanismer for udviklingen af sygdommen. De molekulær-genetiske undersøgelser vil foregå dels på Serum Institutet og dels på Laboratorium for Molekylær Kardiologi, Rigshospitalet. Fra DNA, ekstraheret fra leukocyt-kerner, vil vi undersøge for mutationer og polymorfier i en række gener, der er involveret i hjertets elektriske og strukturelle opbygning. De foreløbige kandidatgener er plakophilin (*PKP2*), plakoglobin, desmoplakin (*DSP*) og ryanodinreceptoren (*RyR2*). Fænotypisk præsentation og arvemønster sammenholdes med genetisk information. Forekomst af ventrikulære takyarytmier og ICD-terapi (oplysningerne er lagret i patienternes ICD) vil sammenholdes med patienternes øvrige kliniske, parakliniske og genetiske data.

Projekt 10: Atrieflimren hos unge: en genetisk sygdom?

*Hovedvejleder: Overlæge Jesper Hastrup Svendsen
Kardiologisk Laboratorium, Rigshospitalet
(hastrup@rh.dk)*

Atrieflimren (AF) er den hyppigste hjerterytmeforstyrrelse i den vestlige verden og sygdommens hyppighed er stigende. Sygdommen er forbundet med en række forskellige komplikationer og med fordoblet total mortalitet sammenlignet med baggrundsbefolkningen.

Projektets formål er at undersøge forekomsten af polymorfier og egentlige mutationer i gener af betydning for hjertets impuls-udbredning blandt unge patienter med AF. Viden om dette vil give øget forståelse af sygdommens mekanisme og muligvis forbedre mulighederne for prognostisering og behandling af den enkelte patient. Det antages, at yngre patienter med atrieflimren ikke har

betydende co-morbiditet af sygdomme der vides at disponere til atrieflimren. Man vil derfor have en højere grad af sandsynlighed for at påvise arvelige årsager i en population af yngre individer. Unge patienter med atrieflimren (<40 år) rekrutteres fra de Københavnske sygehuse og Universitshospitalet i Lund. I studiet vil følgende blive undersøgt følgende:

- Genkomplekset som styrer kaliumtransporten over membranen i aktionspotentialets plateaufase (dvs. KCNQ1, KCNH2 (HERG) og KCNE1-3 samt KCNE5).
- Genet som koder for den dominerende natriumstrøm (SCN5A)
- Andre gener, der er relevante for arytmisygdomme (Ankyrin 2, connexiner, GIRK1 og GIRK4, angiotensinogen og angiotensin converting enzyme).

Projekt 11: Udvikling af nanopartikler til imaging af aterosklerose og vulnerable plaques

Hovedvejleder: Professor Erling Falk

Klinisk Institut, Skejby Sygehus

(erling.falk@ki.au.dk)

Aterosklerose er den hyppigste årsag til død og svær invaliditet. Årsagerne er velkendte og effektiv behandling eksisterer. Problemet er at finde de patienter, der har behov for behandling, hvilket nu skulle være muligt takket være den seneste udvikling af imaging- og nanoteknologien. Subklinisk aterosklerose kan påvises ved MR, CT, PET, SPECT og ultralyd, men det er vanskeligt at påvise såkaldte vulnerable plaques, som er årsagen til de fleste hjerte- og slagtilfælde. Disse er kendetegnet ved høj inflammatorisk aktivitet ledsaget af bindevævsdannelse og angiogenese.

Ph.d.-projektets formål er at udvikle non-invasive metoder til påvisning af sygdomsaktivitet og vulnerable plaques. Vi vil udnytte det forhold, at 5 nydannede kar er utætte og tillader eksudation af nanopartikler. Nanopartikler kan dels være carrier for et usædvanligt stort antal kontrastmolekyler, dels målrettes til akkumulering i vulnerable plaques, hvorved signalstøjforholdet øges dramatisk. Med henblik på at finde egnede ligander for kontrastretention i aterosklerotiske plaques vil vi følge et velbeskrevet eksempel fra neuroforskningen. De mest lovende kontraststoffer til påvisning af amyloide plaques i hjernen ved Alzheimer's sygdom er således fundet på basis af erfaringer opnået ved farvning af amyloid i histologiske snit. Vi vil på samme måde screene kendte farvestoffer og små molekyler med henblik på at finde ligander med høj affinitet til vulnerable plaquekomponenter i fryse- og paraffinsnit fra vulnerable plaques. Plaques fra såvel mus som mennesker vil blive undersøgt. Lovende ligander vil blive koblet til paramagnetiske nanopartikler og testet i hyperkolesterolemiske apoE^{-/-} mus med avanceret aterosklerose under anvendelse af en 7T microMR-skanner dedikeret til imaging af små gnavere. Projektet medfinansieres af iNANO Centret.

Projekt 12: Udvikling af præklinisk dyremodel for human aterosklerose

Hovedvejleder: Professor Erling Falk

Klinisk Institut, Skejby Sygehus

(erling.falk@ki.au.dk)

Genmanipulerede mus med hyperkolesterolemie er idag de mest anvendte dyr til udforskning af aterogene mekanismer samt screening for og afprøvning af stoffer med formodet anti-aterogen effekt. Der eksisterer imidlertid ingen velegnede dyremodeller til præklinisk testning af potentielle lægemidler og medicinsk udstyr til påvisning og behandling af aterosklerose, såsom kontraststoffer (imaging), katetre, balloner, stents etc. Specielt savnes en dyremodel med "human-like" aterosklerose i klinisk relevante kargebeter. Det normale slagtesvin vejer i moden alder >200 kg og er således uhåndterligt og for stort til at kunne undersøges i kliniske skannere. Størrelsesmæssigt vil en minigris være særdeles velegnet, men ingen kendt minigris udvikler "human-like" aterosklerose på normalt foder. Projektet har til hensigt at udvikle en brugbar model i Göttingen minigris ved at kombinere kolesterolfodring med lokale traumer i koronar-, hals- og bækkenpulsårer samt aorta: transluminal kateter-baseret intervention med højtryksballon,

tilbagetrækning af lavtryksballon (fjernelse af endotelet), venegraft i carotis communis, krave af kunststof omkring carotis communis, ligering af carotis og lokal røntgenbestråling. Udvikling af aterosklerose og plaquetype vil blive fulgt ved hjælp af imaging (ultralyd af halspulsårene, intracoronar ultralyd, MRI og MDCT og evt. PET og SPECT). Resultatet vil blive sammenlignet med forekomst, udbredning og type af aterosklerose påvist ved postmortel patoanatomisk undersøgelse af dyrene. Medfinansieres af Göttingen Minipigs.

Projekt 13: Farmakologisk behandling af endotelcelle dysfunktion

*Hovedvejleder: Professor Ulf Simonsen
Farmakologisk Institut, AU
(us@farm.au.dk)*

Kardiovaskulære risikofaktorer som hypertension, højt kolesteroltal og diabetes er associeret med endothelcelle dysfunktion, hvor øget oxidativt stress spiller en vigtig rolle. I undersøgelser af endothelcelle signaltransduktion har vi fundet, at en type calciumaktiverede kaliumkanaler med intermediær konduktans har betydning for frisætning af nitrogenoxid (NO). Hypotesen, der ønskes undersøgt, er om åbning af calciumaktiverede kaliumkanaler og medfølgende hyperpolarisering kan mindske oxidativt stress og forbedre endothelfunktionen. Herunder om komponenter fra olivenolie har denne effekt. Virkningen af ny gruppe kaliumkanalåbnere og aktive komponenter fra olivenolie undersøges på endothelceller ved at måle vasodilatation, proliferation, apoptose og relation til NO-koncentration og oxidativt stress. In vivo undersøges flow-medieret arteriel vasodilatation hos patienter med kardiovaskulære risikofaktorer med brachial ultralyd. Projektet kan belyse nye aspekter af endothelcelle dysfunktion fra det molekylære niveau til det integrative niveau hos patienter med kardiovaskulære risikofaktorer. Projektet er støttet af Hjerteforeningen og forventes medfinansieret af NeuroSearch.