

## Formulár ZK - Záverečná karta projektu

Riešiteľ: Doc. MUDr. Jaromír Horecký, DrSc.	Evidenčné číslo projektu: APVV-21-022004
Názov projektu: Regeneračné bioinžinierstvo v liečbe neurodegeneratívnych porúch mozgu	

Na ktorých pracoviskách bol projekt riešený:	Centrum chirurgickej patofyziológie a tkanivového inžinierstva, SZU, Bratislava
	Farmakobiochemické laboratórium, Lekárska Fakulta UK, Bratislava
	Centrálne laboratórium NMR, Slovenská Technická Univerzita, Bratislava
Ktoré zahraničné pracoviská spolupracovali pri riešení (názov, štát):	

Udelené patenty alebo podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory vychádzajúce z výsledkov projektu:	Minimálne invazívna metóda 3-cievnej oklúzie mozgu ako model vaskulárnej demencie u potkanov. (Úžitkový vzor)
	Včasná neinvazívna <i>in vivo</i> diagnostika ischemického poškodenia mozgu meraním statických a kinetických parametrov <sup>31</sup> P MR spektroskopie. (Úžitkový vzor)
Publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu (uved'te i publikácie prijaté do tlače alebo pripravované):  <i>Uvádzajte maximálne päť najvýznamnejších publikácií.</i>	Effect of transient ischemia on rat brain energy metabolism assessed <i>in vivo</i> by <sup>31</sup> P MRS and <i>in vitro</i> by mitochondrial OXPHOS. Horecký et al. Biochim Biophys Acta – Bioenergetics, Suppl S , 178-179, 2006
	Preventive and therapeutic effects of coenzyme Q <sub>10</sub> on brain mitochondrial dysfunction in rats exposed to acute ischemia-reperfusion injury. Horecký et al. 7 <sup>th</sup> International Conference on Vitamins, Nutrition and Diagnostics, Abstract 114-116, Prague 2007
	Coenzyme Q <sub>10</sub> supplementation in mitochondrial Alzheimer's disease (Experimental model) Horecký et al. In: Mitochondrial Medicine (Ed. A Gvozdjaková), Chapter 18: 335-337, Springer 2008
	Minimally invasive surgical approach for three-vessel occlusion as a model of vascular dementia in the rat – Brain bioenergetics assay. Horecký et al. Journal of Neurological Sciences, 2008 (in press)
	Brain bioenergetics, endogenous antioxidant, and immune response during lifespan in rats. Horecký et al. Mechanisms of Ageing and Development, 2008 (pripravované do tlače)
V čom vidíte uplatnenie výsledkov tohto projektu:	Klinika : včasná <i>in vivo</i> <sup>31</sup> P MRS diagnostika ischemického poškodenia mozgu. Výskum: riešiť hlavný problém ischemie mozgu - revaskularizáciu

Podpisom záverečnej karty riešiteľ vyjadruje svoj súhlas ku zverejneniu údajov v nej uvedených.

Podpis riešiteľa: .....

Dátum 23.7. 2008

## Charakteristika výsledkov

Evidenčné číslo: APVV-21-022004

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu (max. 20 riadkov) - slovensky:

Normálna funkcia mozgu závisí od energie vyprodukovanej v mitochondriách. Dysfunkcia mitochondrií spôsobená oxidačným stresom sa pokladá za hlavnú príčinu degenerácie mozgových buniek a starnutia. Cieľom nášho experimentálneho sledovania bolo posúdiť úlohu bioenergetických procesov v patogenéze starnutia a ischemického poškodenia mozgu. Pre potreby štúdia vplyvu dočasnej a trvalej ischemie mozgu potkanov Wistar sme vyvinuli originálny minimálne invazívny model oklúzie ľavej spoločnej karotickej artérie a truncus brachiocephalicus, z ktorého odstupuje pravá spoločná karotída a pravá vertebrálna artéria. Bioenergetické procesy mozgu sme sledovali *in vivo* pomocou <sup>31</sup>P magnetickej rezonančnej spektroskopie (MRS) a *in vitro* polarografickou analýzou oxidačnej fosforylácie (OXPHOS) izolovaných mitochondrií mozgu. Výsledky sme porovnávali s imunitnou odpoveďou ako aj s preventívnou perorálnou suplementáciou antioxidantov koenzym Q<sub>10</sub> + α-tocopherol a s terapeutickou intracerebroventrikulárnou transplantáciou kmeňových buniek CD133 z ľudskej pupočníkovej krvi.

Vekom a ischemiou spôsobený pokles produkcie ATP v mitochondriách a vzostup hladiny TNF-α v našich štúdiách upozorňuje na prítomnosť oxidačného stresu, ktorý môže mať počas reperfúzie ešte výraznejší škodlivý vplyv na degeneráciu mitochondrií a nervových buniek. Preventívna *per os* suplementácia koenzymom Q<sub>10</sub> (CoQ<sub>10</sub>) pred ischemiou nebola efektívna, avšak suplementácia počas reperfúzie mala priaznivý vplyv na spotrebu kyslíka (QO<sub>2</sub>S<sub>3</sub>) a produkciu ATP v mitochondriách mozgu (p<0.05). Bioenergetická expresia mozgu 22-mesačných, chronicky (5 mesiacov) hypoperfundovaných potkanov meraná po troch týždňoch od intracerebroventrikulárnej transplantácie 250 000 CD133 kmeňových buniek sa neodlišovala od expresie u kontrolných 22-mesačných hypoperfundovaných potkanov bez transplantácie CD133. Predpokladáme, že z hľadiska regenerácie mitochondrií a nervových buniek je potrebný oveľa dlhší čas pre adekvátnu migráciu a proliferáciu transplantovaných kmeňových buniek, aby sa to prejavilo v energetickom metabolizme mozgu. Experimenty v tomto smere pokračujú.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu (max. 20 riadkov) - anglicky:

The brain is particularly dependent on mitochondrial energy supply to maintain normal function. Oxidative stress and subsequent impairment of mitochondrial function is implicated in the neurodegenerative process and ageing. The aim of our study was to evaluate the role of bioenergetics in the pathogenesis of ageing and of ischemic brain disorders. To study the effect of transient or permanent brain ischemia in Wistar rats, we developed original minimally-invasive model for occlusion of left common carotid artery and brachiocephalic trunk (including both the right common carotid and right vertebral arteries). Brain bioenergetics were determined *in vivo* by <sup>31</sup>P magnetic resonance spectroscopy (MRS) and *in vitro* by polarographic analysis of mitochondrial oxidative phosphorylation (OXPHOS). Results were compared with the immune response as well as with both the preventive *per os* supplementation of antioxidants CoQ<sub>10</sub> + α-tocopherol and therapeutic intracerebroventricular transplantation of human umbilical cord blood stem cells CD133.

Age- and ischemia-related decreased mitochondrial ATP production and increased level of TNF-α detected in our studies suggest higher levels of oxidative stress which is likely to result in further damaging effects on mitochondrial and neuronal brain degeneration during reperfusion. Preventive *per os* supplementation with coenzyme Q<sub>10</sub> (CoQ<sub>10</sub>) + α-tocopherol was ineffective, however, when supplemented during the reperfusion, there was pronounced significant (p<0.05) positive effect concerning the QO<sub>2</sub>S<sub>3</sub> respiration and ATP production in brain mitochondria. Expression of the brain bioenergetics in the 22-months old chronically (5-months) hypoperfused rats measured after three weeks from the moment of intracerebroventricular transplantation of 250.000 CD133 cells was not found to be different when compared to the control 22-months old hypoperfused rats without CD133 transplantation. We suppose that, from the aspect of mitochondrial and neuronal regeneration, more prolonged time is necessary for the adequate migration and proliferation of transplanted stem cells in the brain. This is the aim of our next experiments.

**Podpis riešiteľa:** .....