

Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **51 –0397–07**

IP3 receptory, ich modulácia a funkcia za normálnych a patologických podmienok

Zodpovedný riešiteľ **doc. Ing. Oľga Križanová, DrSc.**

Príjemca

Ústav molekulárnej fyziológie a genetiky SAV

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

1. Ústav molekulárnej fyziológie a genetiky SAV, Bratislava
2. Virologický ústav SAV, Bratislava
- 3.
- 4.
- 5.

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

1. Katedra fyziológie, Lekárska fakulta, Masarykova univerzita, Brno, Česká republika - Prof. Marie Nováková, PhD.
- 2.
- 3.

Udelené patenty/podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory, ktoré sú výsledkami projektu

1. žiadne
- 2.
- 3.

Najvýznamnejšie publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu – uveďte aj publikácie prijaté do tlače

1. Uranyl acetate modulates gene expression and protein levels of the type 2, but not type 1 inositol 1,4,5-trisphosphate receptors in mouse kidney. Gen Physiol Biophys 27; 187-193, 2008
2. Kopacek J, Ondrias K, Sedlakova B, Tomaskova J, Zahradnikova L, Sedlak J, Sulova Z, Zahradnikova A, Pastorek J, Krizanova O. Type 2 IP3 receptors are involved in uranyl acetate induced apoptosis in HEK 293 cells. Toxicology 262, 73-79, 2009
3. Lencesova L., Sirova M., Csaderova L., Laukova M., Sulova Z., Kvetnansky R., Krizanova O. Changes and role of adrenoceptors in PC12 cells after phenylephrine administration and

apoptosis induction. *Neurochemistry International*, 57, 884 – 892, 2010

4. Novakova M., Sedlakova B., Sirova M., Fialova K., Krizanova O. Haloperidol increases expression of the inositol 1,4,5-trisphosphate receptors in rat cardiac atria, but not in ventricles. *Gen Physiol Biophys* 29, 381-389, 2010

5. Ondrias K., Lencesova L., Sirova M., Labudova M., Pastorekova S., Kopacek J., Krizanova O. Apoptosis induced clustering of IP3R1 in nuclei of nondifferentiated PC12 cells. *J. Cell Physiol*, 2011, in press

Uplatnenie výsledkov projektu

Získané výsledky prispievajú k posunu poznatkov o modulácii IP3 receptorov za normálnych a patologických podmienok. Tieto výsledky môžu mať potenciálny význam pri kardiovaskulárnych a onkologických ochoreniach, ako aj v toxikológii.

CHARAKTERISTIKA VÝSLEDKOV

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v slovenskom jazyku (max. 20 riadkov)

Hypoxia je stav nedostatočného prísunu kyslíka do tkanív, resp. buniek. Jednou so skorých odpovedí na hypoxický stimul je zvýšenie vnútrobunkového vápnika. V našich experimentoch sme použili ako induktor chemickej hypoxie dimetyloxalyl glycín (DMOG) a zistili sme, že expresia IP3 receptorov sa vplyvom DMOG zvyšuje časovo-závislým spôsobom.

Toxicita uránu je dobre známym fenoménom. K toxicite uránu môže prispievať aj zvýšená koncentrácia vápnika. Ukázali sme, že UA zvyšoval IP3R1 aj IP3R2 koncentračne-závislým spôsobom, a to nielen na úrovni mRNA, ale aj na úrovni proteínu. Expozícia UA tiež zvyšovala expresiu proapoptického faktora – kaspázy 3, za súčasného zníženia vnútrobunkového pH a zvýšenia vnútrobunkového vápnika. Apoptóza bola indukovaná v bunkách, kde IP3R2 boli zvýšené. Všetky tieto výsledky naznačujú, že u HEK 293 buniek sú IP3R2 zahrnuté v procese apoptózy, čo môže prispievať k nefrotoxicite UA.

Je známe, že IP3 receptory participujú pri procese apoptózy. My sme sa zamerali na štúdium IP3 receptorov v nediferencovaných (ND) PC12 pri krátkodobej apoptóze (3 hodiny po vyvolaní apoptózy), ktorá zvýšila mRNA a tiež hladiny proteínov IP3 receptora typu 1. Inhibítory uvoľňovania vápnika cez IP3 receptory – 2-aminoethoxydiphenyl borate (2-APB) a xestospongín – úplne zabránili zvýšeniu mRNA pre proapoptické faktory kaspázu 3 a Bax. Indukcia apoptózy nielen zvyšovala hladiny IP3R1 proteínu, ale tiež vytvárala zhluky tohto receptora v jadre. Keďže IP3 indukované uvoľnenie vápnika z jadra bolo pri apoptóze nižšie ako v kontrolných bunkách, predpokladáme, že translokácia a zhlukovanie IP3 receptorov je kompenzačný mechanizmus, ktorým bunka prestavuje vápnikové toky pri apoptóze.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v anglickom jazyku (max. 20 riadkov)

Hypoxia is a state of insufficient oxygen supply of tissues or cell respectively. The increase of intracellular calcium is one of the early responses to hypoxic stimulus. In our experiments, we used dimethyloxalyl glycine (DMOG) as an inducer of chemical type of hypoxia and we have found that expression of IP3 receptors is upregulated by DMOG in a time-dependent manner. Uranium (UA) toxicity is a well known phenomenon. Intracellular calcium can also contribute to the uranium toxicity. We have shown that UA elevated IP3R1 and IP3R2 in a concentration dependent manner not only on the level of mRNA, but also on the protein level. Exposure to UA also elevated expression of the proapoptotic factor – caspase 3 – accompanied by decrease in intracellular pH and increase of the intracellular calcium. Apoptosis was induced in the cells where IP3R2 was upregulated. These results imply that IP3R2 participate in the process of apoptosis in HEK 293 cells, which may also contribute to the nephrotoxicity of UA.

It is generally accepted that IP3 receptors participate in the process of apoptosis. We focused on modulation of the IP3 receptors in nondifferentiated (ND) PC12 cells during short-term apoptosis (3 hours after apoptosis stimulus), which elevated levels of mRNA and protein of

IP3 receptor type 1. Inhibitors of calcium release through IP3 receptors – 2-aminoethoxydiphenyl borate (2-APB) and xestospongin- prevented elevation of mRNA of proapoptotic factors caspase 3 and Bax. Induction of apoptosis not only caused elevated levels of IP3R1 protein, but also caused an aggregation of this receptor in the cell nucleus. Since IP3 induced calcium release in the nucleus was in apoptotic cells lower compared to control cells, we assume that translocation and aggregation of IP3 receptors might be a compensation mechanism for rebuilding calcium fluxes.

Svojím podpisom potvrdzujem, že údaje uvedené v záverečnej karte sú pravdivé a úplné a súhlasím s ich zverejnením.

Zodpovedný riešiteľ

doc. Ing. Oľga Križanová, DrSc.

V Bratislave 25. 01. 2011

Štatutárny zástupca príjemcu

doc. ing. Oľga Križanová, DrSc.

V Bratislave 25. 01. 2011

.....
podpis zodpovedného riešiteľa

.....
podpis štatutárneho zástupcu príjemcu