

Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu **PAPVV-0677-12****Etiopatogenéza neurodegeneratívnych ochorení: význam posttranskripčnej úpravy RNA pre vznik a progresiu sporadických tauopatií a Alzheimerovej choroby**Zodpovedný riešiteľ **doc. RNDr. Peter Filipčík, CSc.**Príjemca **Neuroimunologický ústav SAV****Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený**

1. Neuroimunologický ústav SAV
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

- 1.
- 2.
- 3.

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

- 1.
- 2.
- 3.

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

1. Filipčík P, Cente M, Zilka N, Smolek T, Hanes J, Kucerak J, Opattova A, Kovacech B, Novak M.: Intraneuronal accumulation of misfolded tau protein induces overexpression of Hsp27 in activated astrocytes. Biochim Biophys Acta-Molecular Basis of Disease 2015 Jul; 1852(7): 1219-29. IF=5.158
2. Mravec B, Lejavova K, Vargovic P, Ondicova K, Horvathova L, Novak P, Manz G, Filipčík P, Novak M, Kvetnansky R.: Tauopathy in transgenic (SHR72) rats impairs function of central

noradrenergic system and promotes neuroinflammation. J Neuroinflammation. 2016 Jan 20;13(1):15. doi: 10.1186/s12974-016-0482-1. IF=4.667

3.

Bohácsová M, Filipčík P, Opattová A, Valáriková J, Quevedo-Diaz M, Škultéty L, Novák M, Sekeyová Z.: Survival of rat cerebrocortical neurons after rickettsial infection. In Microbes and Infection, 2015, vol. 17, no. 11-12, p. 845-849. ISSN 1286-4579. IF=2.6

4.

Opattova A, Cente M, Novak M, Filipcik P.: The ubiquitin proteasome system as a potential therapeutic target for treatment of neurodegenerative diseases. Gen Physiol Biophys. 2015 Oct;34(4):337-52. IF=1.173

5.

Smolek T, Madari A, Farbakova J, Kandrak O, Jadhav S, Cente M, Brezovakova V, Novak M, Zilka N.: Tau hyperphosphorylation in synaptosomes and neuroinflammation are associated with canine cognitive impairment. J Comp Neurol. 2016 Mar 1;524(4):874-95. doi: 10.1002/cne.23877. Epub 2015 Aug 27. IF=3.331

Uplatnenie výsledkov projektu

Výsledky projektu budú uplatnené predovšetkým v základnom výskume neurodegeneračných chorôb, ale niektoré majú potenciál aj praktického využitia.

Získané experimentálne výsledky naznačujú, že aj napriek tomu, že počiatočná "in silico" analýza ľudských dát (z jedincov netrpících Alzheimerovou chorobou) existenciu alternatívneho konca tau proteínu neindikovala, je tento fragment v mozgu pacientov s Alzheimerovou chorobou prítomný. Naše experimentálne dáta je ešte potrebné verifikovať hmotnostnou spektrometriou a sekvenovaním skupiny proteínov, ktoré sme získali z imunoprecipitovaných preparátov ľudského mozgu. Ak sa nám podarí priamo potvrdiť prítomnosť predpokladaného alternatívneho C-konca molekuly tau proteínu (ktorý môže hrať významnú funkciu v etiopatogenéze tauopatií a Alzheimerovej choroby), bude to silným impulzom pre ďalšie štúdie, vedúce k vysvetleniu agregácie tau proteínu a ďalších neuropatogenických procesov.

Ďalšie uplatnenie výsledkov projektu je v oblasti skorej detekcie procesu neurodegenerácie indukovanej patologickým tau proteínom. Definovali sme panel miRNA, ktorý obsahuje sondy v procese neuropatogenézy signifikantne disregulovaných miRNA. Tento panel môže slúžiť ako biomarker. Najzaujímavejšie však je, že niektoré miRNA signifikantne korelujú s hladinami tau proteínu fosforylovaného na epitopoch asociovaných s Alzheimerovou chorobou. Bioinformatické mapovanie týchto miRNA na ľudské gény nám otvára významnú cestu pre určenie konkrétnych signálnych dráh, pozmenených v procese neuropatogenézy, k návrhu nových terapeutických cieľov a špecifických biomarkerov.

Bezprostredným presahom do praxe je poriadanie konferencie "Biologická liečba v teórii a praxi". S podporou APVV a Slovenskej imunologickej spoločnosti sme ju úspešne organizovali tri roky po sebe. V tejto nastúpenej tradícii chceme pokračovať, a už teraz pracujeme na programe ďalšieho ročníka.

CHARAKTERISTIKA VÝSLEDKOV

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

V riešení projektu sme testovali hypotézu, že alternatívna úprava C-konca molekuly tau proteínu je významná pre patologický „zvrät“ tau proteínu („gain of toxic function“) a narušenie tau proteostázy, ktoré sa prejaví agregáciou tau, stratou jeho fyziologickej funkcie, čo vyústi do nástupu neurodegeneračných procesov vedúcich k narušeniu bunkového cytoskeletonu, k strate synaptickej konektivity neurónu a nakoniec k neuronálnej smrti. Naše výsledky silne naznačujú, že subpopulácia tau proteínov obsahuje alternatívny C-koniec molekuly, tak ako sme predikovali vo svojej východiskovej hypotéze. Frakcia imunoprecipitovaného tau z mozgu pacientov s Alzheimerovou chorobou reaguje s antisérom pripraveným proti

hypotetickému C-koncu molekuly tau. Definitívne potvrdenie očakávame po spektrometrickej analýze tejto skupiny proteínov. Dalším významným výsledkom je zadefinovanie panelu malých nekódujúcich RNA (miRNA), ktoré sú deregulované v procese neurofibrilárnej degenerácie. Signifikantne zmenené hladiny sme detegovali v CNS, ale aj v periférnej krvi. Niektoré z nich (tie, ktoré boli deregulované v plazme) môžu poslúžiť ako biomarkery pre proces neurodegenerácie. Niektoré sú sekvenčne homológne s ľudskými, čím umožňujú transláciu dát na ľudský organizmus a definovanie signálnych dráh deregulovaných u pacientov trpiacich tauopatiami a Alzheimerovou chorobou. Našli sme niekoľko miRNA, ktoré v animálnom modeli signifikantne korelujú s množstvom tau proteínu hyperfosforylovaného na epitopoch typických pre Alzheimerovu chorobu. Výsledky týchto experimentov ukazujú veľmi jasne na ďalšiu stratégiu experimentálneho postupu, ktorý bude zameraný na objasnenie regulačných funkcií miRNA v tkanive CNS a ich odraz v plazme.

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

In the project we tested the hypothesis that alternative rearrangements of C-terminus of tau protein is important for pathological "twist" of tau ("gain of toxic function") and disruption of tau proteostasis, resulting to aggregation of tau, the loss of its function which can result in neurodegenerative changes such as disruption of the cell cytoskeleton, the loss of synaptic connectivity of neurons and ultimately to neuronal death. Our results strongly suggest that a subpopulation of the tau proteins comprises the alternative C-terminus of the molecule, as we predicted in the original hypothesis. The fraction immunoprecipitated tau from the brain of Alzheimer's patients interacts with antisera, which was prepared against the C-terminus of a hypothetical molecule of tau. Definitive confirmation is expected after spectrometric analysis of the proteins. Another important result of the project is determination of a panel of small non-coding RNAs (miRNAs) that are deregulated in the process of neurodegeneration. Significantly changed levels of miRNA were detected in the CNS but also in the peripheral blood. Some of these miRNAs (that were deregulated in plasma) can serve as a convenient biomarker for neurodegeneration. Some of them share high sequence homology with human miRNA, which allows for translation of the data to the humans. Using this strategy we can define deregulated signaling pathways in patients suffering from Alzheimer's disease and tauopathies. Strikingly, some of the deregulated miRNAs significantly correlated with the amount of hyperphosphorylated tau protein epitopes typical of Alzheimer's disease. These results pointed clearly to the further experimental strategy, which will focus on the clarification of the regulatory functions of miRNAs in CNS and how this is mirrored in the plasma.

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

Zodpovedný riešiteľ

doc. RNDr. Peter Filipčík, CSc.

V Bratislave 27. 09. 2016

Štatutárny zástupca príjemcu

prof. MVDr. Michal Novák, DrSc, Dr.h.c

V Bratislave 27. 09. 2016

.....
podpis zodpovedného riešiteľa

.....
podpis štatutárneho zástupcu príjemcu