

Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-15-0613**

Štúdium funkčných bio-implantátov a kmeňových buniek pre regeneráciu CNS

Zodpovedný riešiteľ **MVDr. Dasa Cizkova, DrSc.**

Príjemca **Neuroimunologický ústav SAV**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Neuroimunologický ústav SAV
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

-Univ. Lille, Inserm, U-1192 - Laboratoire Protéomique, Réponse Inflammatoire et Spectrométrie de Masse-PRISM, Lille F-59000, France.

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

Pripravujeme patentovú prihlášku pre kondicionané médium získane z adultných kmeňových buniek.

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

Knihy:

ABC01 Cizkova, Dasa – Murgoci, Adriana-Natalia - Kresakova, Lenka- Vdoviakova, Katarína, Cizek, Milan– Smolek, Tomas–Cubinková, Veronika– Jusal Quanico, Fournier, Isabelle and Salzet, Michel. Understanding Molecular Pathology along Injured Spinal Cord Axis: Moving Frontiers toward Effective Neuroprotection and Regeneration. Essentials Of Spinal Cord Injury. Ed. Yannis Dionyssiotis 1. vyd. - Rijeka : InTech, 2017. ISBN: 978-953-51-5575-1, s. 34-55 [1,05AH]. 21 strán, 1 autorský hárok

ABC02 Therapeutic Strategies to Spinal Cord Injury. Book chapter: Reprinted from: Int. J. Mol. Sci. 2018, 19, 3200, doi:10.3390/ijms19103200 . Dasa Cizkova, Veronika Cubinkova, Tomas Smolek, Adriana-Natalia Murgoci, Jan Danko, Katarina Vdoviakova, Filip Humenik, Milan Cizek, Jusal Quanico, Isabelle Fournier and Michel Salzet. Localized Intrathecal Delivery of Mesenchymal Stromal Cells Conditioned Medium Improves Functional Recovery in a Rat Model of Spinal Cord Injury. Reprinted from: Int. J. Mol. Sci. 2018, 19, 870, doi:10.3390/ijms19030870 .

Články ADC:

1. Vikartovska, Z., Kuricova, M., Farbakova, J., Liptak, T., Mudronova, D., Humenik, F., Madari, A., Maloveska, M., Sykova, E., Cizkova, D. Stem cell conditioned medium treatment for canine spinal cord injury: Pilot feasibility study (2020) International Journal of Molecular Sciences, 21 (14), art. no. 5129, pp. 1-21. DOI: 10.3390/ijms21145129 (IF 4,21) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7404210/>

2. Murgoci, A.-N., Cardon, T., Aboulouard, S., Duhamel, M., Fournier, I., Cizkova, D., Salzet, M. Reference and Ghost Proteins Identification in Rat C6 Glioma Extracellular

- Vesicles(2020) *iScience*, 23 (5), art. no. 101045, DOI: 10.1016/j.isci.2020.101045
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7182720/>
3. Kafka, J., Lukacova, N., Sulla, I., Maloveska, M., Vikartovska, Z., Cizkova, D. Hypothermia in the course of acute traumatic spinal cord injury (2020) *Acta neurobiologiae experimentalis*, 80 (2), pp. 172-178. (IF 1,54)
[file:///C:/Users/dasa.cizkova/Downloads/ane_8016%20\(6\).pdf](file:///C:/Users/dasa.cizkova/Downloads/ane_8016%20(6).pdf)
4. Murgoci, A.-N., Baciak, L., Cubinkova, V., Smolek, T., Tvrdek, T., Juranek, I., Kafka, J., Cizkova, D. Diffusion Tensor Imaging: Tool for Tracking Injured Spinal Cord Fibres in Rat (2020) *Neurochemical Research*, 45 (1), pp. 180-187. DOI: 10.1007/s11064-019-02801-9 (IF 2,79)
<https://link.springer.com/article/10.1007/s11064-019-02801-9>
5. Cizkova, D., Murgoci, A.-N., Cubinkova, V., Humenik, F., Mojzisova, Z., Maloveska, M., Cizek, M., Fournier, I., Salzet, M. Spinal Cord Injury: Animal Models, Imaging Tools and the Treatment Strategies (2020) *Neurochemical Research*, 45 (1), pp. 134-143. DOI: 10.1007/s11064-019-02800-w (IF 2,79)
<https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11064-019-02800-w#ethics>
6. Murgoci, A.-N., Duhamel, M., Raffo-Romero, A., Mallah, K., Aboulouard, S., Lefebvre, C., Kobeissy, F., Fournier, I., Zilkova, M., Maderova, D., Cizek, M., Cizkova, D., Salzet, M. Location of neonatal microglia drives small extracellular vesicles content and biological functions in vitro (2020) *Journal of Extracellular Vesicles*, 9 (1), art. no. 1727637. DOI: 10.1080/20013078.2020.1727637 (IF 14,976)
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7049881/>
7. Humenik, F., Cizkova, D., Cikos, S., Luptakova, L., Madari, A., Mudronova, D., Kuricova, M., Farbakova, J., Spirkova, A., Petrovova, E., Cente, M., Mojzisova, Z., Aboulouard, S., Murgoci, A.-N., Fournier, I., Salzet, M. Canine bone marrow-derived mesenchymal stem cells: Genomics, proteomics and functional analyses of paracrine factors (2019) *Molecular and Cellular Proteomics*, 18 (9), pp. 1824-1835. DOI: 10.1074/mcp.RA119.001507 (IF 4,82)
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6731083/pdf/zjw1824.pdf>
8. Quanicco, J., Hauberg-Lotte, L., Devaux, S., Laouby, Z., Meriaux, C., Raffo-Romero, A., Rose, M., Westerheide, L., Vehmeyer, J., Rodet, F., Maass, P., Cizkova, D., Zilka, N., Cubinkova, V., Fournier, I., Salzet, M. 3D MALDI mass spectrometry imaging reveals specific localization of long-chain acylcarnitines within a 10-day time window of spinal cord injury (2018) *Scientific Reports*, 8 (1), art. no. 16083, (IF 4,12)
DOI: 10.1038/s41598-018-34518-0
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6208337/>
9. Duhamel, M., Rose, M., Rodet, F., Murgoci, A.N., Zografidou, L., Régnier-Vigouroux, A., Abeele, F.V., Kobeissy, F., Nataf, S., Pays, L., Wisztorski, M., Cizkova, D., Fournier, I., Salzet, M. Paclitaxel Treatment and Proprotein Convertase 1/3 (PC1/3) Knockdown in Macrophages is a Promising Antiglioma Strategy as Revealed by Proteomics and Cytotoxicity Studies (2018) *Molecular and Cellular Proteomics*, 17 (6), pp. 1126-1143.. DOI: 10.1074/mcp.RA117.000443 (IF 5,23)
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5986247/>
10. Murgoci, A.-N., Cizkova, D., Majerova, P., Petrovova, E., Medvecky, L., Fournier, I., Salzet, M. Brain-Cortex Microglia-Derived Exosomes: Nanoparticles for Glioma Therapy (2018) *ChemPhysChem*, 19 (10), pp. 1205-1214. DOI: 10.1002/cphc.201701198 (IF 2,94)
<https://chemistry-europe.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/cphc.201701198>
11. Szekiova, E., Slovinska, L., Blasko, J., Plsikova, J., Cizkova, D. The neuroprotective effect of rat adipose tissue-derived mesenchymal stem cell-conditioned medium on cortical neurons using an in vitro model of SCI inflammation (2018) *Neurological Research*, 40 (4), pp. 258-267. DOI: 10.1080/01616412.2018.1432266 (IF 1,44)
<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/01616412.2018.1432266>
12. Cizkova, D., Cubinkova, V., Smolek, T., Murgoci, A.-N., Danko, J., Vdoviakova, K., Humenik, F., Cizek, M., Quanicco, J., Fournier, I., Salzet, M. Localized intrathecal delivery of mesenchymal stromal cells conditioned medium improves functional recovery in a rat model of spinal cord injury (2018) *International Journal of Molecular Sciences*, 19 (3), art. no. 870, DOI: 10.3390/ijms19030870 (IF 3,68)
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5877731/>
13. Devaux, S., Cizkova, D., Mallah, K., Karnoub, M.A., Laouby, Z., Kobeissy, F., Blasko, J.,

Nataf, S., Pays, L., Meriaux, C., Fournier, I., Salzet, M. RhoA inhibitor treatment at acute phase of spinal cord injury may induce neurite outgrowth and synaptogenesis (2017) *Molecular and Cellular Proteomics*, 16 (8), pp. 1394-1415. DOI: 10.1074/mcp.M116.064881 (IF 4,83)

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5546194/>

14. Blaško, J., Szekiova, E., Slovinska, L., Kafka, J., Cizkova, D.

Axonal outgrowth stimulation after alginate/mesenchymal stem cell therapy in injured rat spinal cord (2017) *Acta Neurobiologiae Experimentalis*, 77 (4), pp. 337-350. DOI: 10.21307/ane-2017-066 (IF 1,63)

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29369299/>

15. Devaux, S., Cizkova, D., Quanico, J., Franck, J., Nataf, S., Pays, L., Hauberg-Lotte, L., Maass, P., Kobarg, J.H., Kobeissy, F., Mériaux, C., Wisztorski, M., Slovinska, L., Blasko, J., Cigankova, V., Fournier, I., Salzet, M. Proteomic analysis of the spatio-temporal based molecular kinetics of acute spinal cord injury identifies a Time-and segment-specific window for effective tissue repair (2016) *Molecular and Cellular Proteomics*, 15 (8), pp. 2641-2670. DOI: 10.1074/mcp.M115.057794 (IF 4,83)

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4974342/>

Medzinárodný vedecký záujem o našu publikovanú prácu (Humenik, F., a kol. Canine bone marrow-derived mesenchymal stem cells: Genomics, proteomics and functional analyses of paracrine factors (2019) *Molecular and Cellular Proteomics*, 18 (9), pp. 1824-1835) sa premietol do zverejnenia : najzaujímavejších prác v *Journal News ASBMB (Journal of Biological Chemistry or Molecular & Cellular Proteomics) Today: November 2019: Using stem cells in veterinary medicine)*

AEG Abstrakty vedeckých prác v zahraničných karentovaných časopisoch

1. MURGOCI, Adriana - Natalia - MALLAH, Khalil - ABOULOUARD, Soulaïmane -

FOURNIER, Isabelle - SALZET, Michel - ČÍŽKOVÁ, Dáša. Function of microglia and the exosomes content are influenced by the origin of cells. In *Journal of Neurochemistry*. ISSN 0022-3042, 2019, vol. 150, suppl. 1, p. 5. (4.828 - IF2019).

2. CUBINKOVÁ, Veronika - MURGOCI, Adriana - Natalia - SMOLEK, Tomáš - BACIAK, L. - ČÍŽKOVÁ, Dáša. Evaluation of spinal cord injury in rat model using diffusion tensor imaging. In *Journal of Neurochemistry*. ISSN 0022-3042, 2019, vol. 150, suppl. 1, p. 5. (4.828 - IF2019).

3. Dasa Cizkova, Veronika Cubinkova, Monika Zilkova, Stephanie Devaux, Adriana-Natalia Murgoci, Zuzana Mojziso,va, Michel Salzet. Immune profile following acute spinal cord injury. *Eur. J. Immunol.* 2019. 49 (Suppl. 4): 1–75 Abstracts DOI: 10.1002/eji.201970500 (4.695 - IF2019).

Prednášky:

1. ČÍŽKOVÁ, Dáša - MURGOCI, Adriana - Natalia - CUBÍNKOVÁ, Veronika - DANKO, Ján - HUMENÍK, Filip - MOJŽIŠOVÁ, Zuzana - MALOVESKÁ, Marcela - KREŠÁKOVÁ, Lenka - VDOVIÁKOVÁ, Katarína - TELEKY, Jana. Isolation of enriched microglia from rat neocortex. In *Morphology. International Congress of Slovak Anatomical Society and Lojda Symposium on Histochemistry. Morphology 2019, 5 - 7 September, 2019, High tatras, Slovak Republic : Conference programme and abstracts of the 45th International congress of Slovak Anatomical society and 56th Lojda symposium of Histochemistry. 1. vyd. - Košice : UPJŠ, 2019. ISBN 978-80-8152-758-6, s. 30.*

2. ČÍŽKOVÁ, Dáša - CUBÍNKOVÁ, Veronika - MURGOCI, Adriana - Natalia - SMOLEK, Tomáš - HUMENÍK, Filip - MOJŽIŠOVÁ, Zuzana - FARBÁKOVÁ, Jana - MALOVESKÁ, Marcela - ČÍŽEK, Milan. Spinal cord injury: roads to treatment. In *Advances in experimental neuroimmunology. konferencia. Advances in experimental neuroimmunology 2019, May 22-24, 2019, Smolenice Castle, Slovakia. 1. vyd. - Dunajská Lužná : AH05, 2019. ISBN 978-80-971357-8-2, s. 1*

3. Dasa Cizkova, Veronika Cubinkova, Tomas Smolek, Adriana-Natalia Murgoci, Jan Danko, Filip Humenik, Milan Cizek, Jusal Quanico, Isabelle Fournier and Michel Salzet. Intrathecal delivery of conditioned media from MSC: promising treatment for spinal cord injury FENS Forum 2018. Berlin, Germany, 7-11, July, 2018.

4. ČÍŽKOVÁ, Dáša - MURGOCI, Adriana - Natalia - ČÍŽEK, Milan - CUBINKOVÁ, Veronika - SMOLEK, Tomáš - PETROVOVÁ, Eva - KAFKA, Jozef - MALOVESKÁ, Marcela - QUANICO, Jusal P. - Fournier, Isabelle - SALZET, Michel. Proteomic analyses along injured spinal cord axis: moving frontiers toward effective regeneration with smart scaffolds.

In CEEPC. CEEPC 2017 : Proceedings of the 11th Central and Eastern European Proteomic Conference, September 27th-29th, 2017, Košice, Slovakia. 1. vyd. - Košice ; Košice : COPYVAIT, 2017. ISBN 978-80-972017-5-3, s. 27

5. ČÍŽKOVÁ, Dáša - SMOLEK, Tomáš - CUBÍNKOVÁ, Veronika - KAFKA, Jozef - PETROVOVÁ, Eva - VDOVIÁKOVÁ, Katarína - KREŠÁKOVÁ, Lenka - MALOVESKÁ, Marcela - HUMENÍK, Filip - ČÍŽEK, Milan. Imunologická kontrola po traumatickom poškodení miechy. In Biologická liečba v teórii a praxi. Biologická liečba v teórii a praxi : Zborník prednášok. 1. vyd. - Dunajská Lužná : AH05, 2017. ISBN 978-80-971357-4-4, s. 87-94

Uplatnenie výsledkov projektu

Pri riešení projektu sme bunkovú terapiu skvalitnili implementáciou bio-inžinierskych princípov, čím sa odkryl rad nových možností interakcií buniek s tkanivami a s biokompatibilnými materiálmi. Overili sme terapeutickú účinnosť funkčných alginátových biomateriálov, alebo ich bunkových produktov pri liečbe neurodegeneratívnych ochorení. Naše výsledky môžu byť uplatnené na vytvorenie nových bunkových a farmakologických prístupov zameraných na opravu a regeneráciu tkanív a orgánov, ktoré sú nefunkčné v dôsledku choroby, traumy a starnutia. Využitie molekúl odvodených z kmeňových buniek (kondicionované médium, exozómy), ktoré disponujú schopnosťou regenerovať tkanivo predstavujú kľúčový biomedicínsky smer, ktorý poskytuje nové aplikačné využitie pri liečbe závažných ochorení vo veterinárnej medicíne, prípadne aj v humánnej medicíne.

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

V predloženej projekte sme pomocou bio-implantátov, kmeňových buniek a ich sekretovaných molekúl cielene ovplyvnili predovšetkým zápalové a trofické procesy v segmentoch nad a pod poranením miechy. Využili sme funkčné bio-implantáty konjugované s trofickými faktormi (EGF, FGF), RhoA inhibítorom (RhoAi), alebo adultnými kmeňovými bunkami. Funkčný in vitro test na spinálnych gangliových bunkách (DRGs) nám potvrdil, že kondicionované médium (KM) získané z mezenchýmových kmeňových buniek (MSC) stimulovalo tvorbu neurosfér, ktoré boli navzájom prepojené množstvom prerastajúcich nervových vlákien. Pomocou hmotnostnej spektrometrie, zobrazovacej analýzy (MALDI mass spectrometry imaging - MSI), genomickej array analýzy a imunohistochemických techník sme vypracovali globálnu mapu chemokínov, cytokínov a trofických faktorov spojených s bunkovou terapiou v in vitro a in vivo modeloch. Naše údaje potvrdzujú, že difúzia tensor imaging (DTI) (frakčná anizotropia, axiálna a radiálna difúzia) sú cenným in vivo zobrazovacím nástrojom schopným rozlíšiť poškodenie bielej hmoty u potkanov. Kombinácia vybraných parametrov DTI zobrazila rozsah lézie v čase v in vivo systéme, ktorý koreloval s histologickým hodnotením zachovaného tkaniva a v niektorých prípadoch aj s motorickou obnovou. Dokázali sme, že opakovaná aplikácia KM MSC podávaných intratekálne ale aj systémovo signifikantne zlepšuje návrat neurologických funkcií a priaznivo ovplyvňuje neurozápal po experimentálnom poranení miechy. Naším cieľovým výskumom v predklinických modeloch sme prispeli k odhaleniu mechanizmov účinku funkčných biomateriálov, bunkovej a aceluárnej terapie, ktoré sú kľúčom pri vytváraní nových postupov v regeneračnej medicíne s možným prenosom pre klinickú prax.

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

In the presented project, we used bio-implants, stem cells and their secreted molecules to specifically influence inflammatory and trophic processes in the segments above and below the spinal cord injury. We used functional bio-implants conjugated with trophic factors (EGF, FGF), RhoA inhibitor (RhoAi), or adult stem cells. A functional in vitro test on spinal ganglion cells (DRGs) confirmed that conditioned medium (KM) obtained from mesenchymal stem cells (MSCs) stimulated the formation of neurospheres that were interconnected by a number of overgrown nerve fibers. Using mass spectrometry, imaging analysis (MALDI mass spectrometry imaging - MSI), genomic array analysis and immunohistochemical techniques, we developed a global map of chemokines, cytokines and trophic factors associated with cell therapy in in vitro and in vivo models. Our data confirm that diffusion tensor imaging (DTI) (fractional anisotropy, axial and radial diffusion) is a valuable in vivo

imaging tool capable of distinguishing white matter damage in rats. The combination of selected DTI parameters showed the extent of the lesion over time in an in vivo system, which correlated with histological evaluation of preserved tissue and, in some cases, motor recovery. We have shown that repeated application of KM MSCs administered intrathecally as well as systemically significantly improves the return of neurological functions and favorably affects neuroinflammation after experimental spinal cord injury. Through our targeted research in preclinical models, we have contributed to revealing the mechanisms of action of functional biomaterials, cell and acellular therapy, which are key in creating new approaches in regenerative medicine with possible transfer for clinical practice.