

Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-15-0685****Teranostický potenciál komponentov alternatívneho RAS pri modulácii funkcie a dysfunkcie pravej komory**Zodpovedný riešiteľ **prof. PharmDr. Ján Klimas, PhD., MPH**Príjemca **Univerzita Komenského v Bratislave - Farmaceutická fakulta**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Univerzita Komenského v Bratislave, Farmaceutická fakulta

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

V rámci projektu sme nadviazali spoluprácu s:

- Department of Physiology and Pharmacology, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden (Dr. Mattias Carlström)
- Department of Medical Sciences, Uppsala University, Uppsala, Sweden (Dr. Dan Henrohn),
- Département Sciences du Vivant et de la Santé, INSERM U1045 Centre de Recherche Cardio-Thoracique de Bordeaux, France (Dr Véronique Michel)
- Institut für Pharmakologie und Toxikologie, Universitätsklinikum Halle-Saale, Germany (prof. Joachim Neumann)

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

N/A

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

- Potucek P, et al. mRNA levels of circadian clock components Bmal1 and Per2 alter independently from dosing time-dependent efficacy of combination treatment with valsartan and amlodipine in spontaneously hypertensive rats. Clin Exp Hypertens. 2017;39(8):754-763. <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10641963.2017.1324480?journalCode=iceh20>
- Veteskova J, et al.: Opposite Alterations of Endothelin-1 in Lung and Pulmonary Artery Mirror Gene Expression of Bone Morphogenetic Protein Receptor 2 in Experimental Pulmonary Hypertension, Exp Lung Res 2019, 45 (1-2), 30-41. <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/01902148.2019.1605426>
- Radik M, et al.: Hepatocyte Growth Factor Plays a Particular Role in Progression of Overall Cardiac Damage in Experimental Pulmonary Hypertension, Int J Med Sci 2019, 16 (6), 854-863. <https://www.medsci.org/v16p0854.htm>
- Kmecova Z, et al. Disease severity-related alterations of cardiac microRNAs in experimental pulmonary hypertension. J Cell Mol Med. 2020 Jun;24(12):6943-6951. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jcmm.15352>

- Malikova E, et al. Effects of inorganic nitrate in a rat model of monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2020 Feb;126(2):99-109. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/bcpt.13309>
- Nemcekova V, et al. Altered serum levels of neprilysin in heart failure patients with reduced ejection fraction. *Bratisl Lek Listy*. 2021;122(1):28-33. http://www.elis.sk/download_file.php?product_id=7054&session_id=o3vl0vg4kerfb8btnovvstmhc0
- Čepcová D, et al. The protective effect of 1-methyltryptophan isomers in renal ischemia-reperfusion injury is not exclusively dependent on indolamine 2,3-dioxygenase inhibition. *Biomed Pharmacother*. 2021 Jan 8;135:111180. doi: 10.1016/j.biopha.2020.111180. [https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0753-3322\(20\)31373-1](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0753-3322(20)31373-1)

Uplatnenie výsledkov projektu

Výsledky projektu poukázali na vplyv alternatívneho RAS v rozvoji pľúcnej hypertenzie a najmä poškodenia cieľových orgánov (pravá komora, pľúca). Zaujímavým nálezom bol výskyt systémových abnormalít. Hoci sme predpokladali patologické prejavy izolované v pľúcnom obeh, významné zmeny sme zaznamenali aj na úrovni ľavej komory, a aj na úrovni obličiek. Tieto nálezy majú veľký význam pri dizajnovaní, výskume a vývoji nových biologicky účinných látok, nielen pri odhade ich potenciálnej účinnosti na PH, ale aj pri presnejšom odhade ich bezpečnosti a systémových nežiaducich účinkoch.

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

Hlavným cieľom projektu bolo študovať úlohu a význam alternatívneho renín-angiotenzínového systému v adaptácii na rozvoj záťaže v pľúcnej cirkulácii. V prvej fáze sme detailne charakterizovali potkaní model spontánnej fyzickej aktivity potenciovanej subkutánnou aplikáciou testosterónu vo forme suspenzie, čo viedlo k intenzifikácii spontánnej fyzickej aktivity zvierat. Zistili sme, že tento model vykazuje rôzne zmeny na úrovni gébovej expresie naznačujúce prestavbu myokardu, ktoré sú však prítomné skôr v ľavej komore. Na druhej strane však expresia ACE2 rástla, hoci iba mierne, v pravej komore. Rovnako sme detailne charakterizovali alternatívny RAS aj v modeli experimentálnej pľúcnej hypertenzie indukovanej monokrotalínom u potkana, kde sme našli významnú upreguláciu ACE, ale nie ACE2. Tento nález bol reprodukovateľný v rôznych experimentoch a vyskytol sa nielen v pravej ale aj v ľavej komore (ktorá však nevykazuje výrazné znaky poškodenia v tomto modeli), dokonca aj v obličkách, čo naznačuje, že chýbajúca kompenzačná elevácia ACE2, môže prispievať k závažnosti príznakov pľúcnej hypertenzie.

V klinickej časti projektu sme testovali hladiny RAS relevantných biomarkerov, nateraz (analýzy ešte v súčasnosti prebiehajú) sa však neukázali významné vzťahy medzi hladinami potenciálnych biomarkerov súvisiacich s RAS a alternatívnym RAS a diagnostickými ukazovateľmi, resp. závažnosťou klinických príznakov u pacientov s PH. Významné poznatky sme priniesli v oblasti mechanizmu rozvoja experimentálnej pľúcnej hypertenzie:

I) Identifikovali sme vplyv dysregulácie dráhy HGF/MET na rozvoj experimentálnej PH a zároveň zároveň sme testovali možnosti použitia HGF ako diagnostického markera u klinickej PH.

II) Venovali sme sa aj endotelínovému systému, ktorý významne interaguje s RAS na viacerých úrovniach. Komplexnou analýzou mRNA expresie jednotlivých izoforiem endotelínu, ETA a ETB receptora a endotelín-konvertujúceho enzýmu-1 sme zistili zmeny na molekulárnej úrovni už od počiatkových štádií ochorenia. Taktiež molekulárne zmeny v obličkách naznačili možnú účasť endotelínového systému aj v systémovom poškodení spôsobenom MCT, ktoré bolo donedávna spájané výlučne s postihnutím PH--relevantných orgánov (pľúca, srdce).

III) V projekte sme zamerali aj na úlohu epigenetickej regulácie funkcie a dysfunkcie pravej komory hlavne pomocou MCT modelu PH, a aj v plazmách pacientov s PAH. Identifikovali sme zníženie hladín myomiR-ov a zvýšenie expresie miR-214 v terminálnom štádiu MCT indukovaného modelu PH. Ich expresie navyše významne korelovali s markermi poškodenia pravej komory ako s Fultonovým indexom a géovou expresiou Nppb v rozvinutom štádiu ochorenia.

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

The main goal of the project was to study the role and importance of the alternative renin-angiotensin system in the adaptation to increased load in the pulmonary circulation. In the first phase, we characterized in detail the rat model of spontaneous physical activity potentiated by subcutaneous application of testosterone in the form of a suspension, which led to the intensification of spontaneous physical activity of animals. We found that this model shows various changes at the level of gene expression suggesting myocardial remodeling, but which are present rather in the left ventricle. On the other hand, ACE2 expression increased, albeit only slightly, in the right ventricle. We also characterized in detail the alternative RAS in a rat model of experimental pulmonary hypertension induced by monocrotaline, where we found a significant upregulation of ACE but not ACE2. This finding was reproducible in various experiments and occurred not only in the right but also in the left ventricle (which, however, exhibit no significant signs of damage in this model), even in the kidneys, suggesting that the lack of compensatory ACE2 elevation may contribute to severity of symptoms of pulmonary hypertension.

In the clinical part of the project, we tested the RAS levels of relevant biomarkers, but so far (analyses are still ongoing), no significant relationships were documented between the levels of potential biomarkers related to RAS and alternative RAS and diagnostic indicators and/or the severity of clinical signs in patients with PH.

We have collected important knowledge in the field of the mechanism of development of experimental pulmonary hypertension, as follows:

I) We identified the influence of dysregulation of the HGF/MET pathway on the development of experimental PH and, at the same time, we tested the possibility of using HGF as a diagnostic marker in clinical PH.

II) We also focused on the endothelin system, which significantly interacts with RAS at several levels. By comprehensive analysis of mRNA expression of individual isoforms of endothelin, ETA and ETB receptor and endothelin-converting enzyme-1, we found changes at the molecular level from the early stages of the disease. Also, molecular changes in the kidneys indicated a possible involvement of endothelin system in systemic damage caused by MCT which, until recently, was associated exclusively with involvement of PH - relevant organs (lungs, heart).

III) In the project, we also focused on the role of epigenetic regulation of right ventricular function and dysfunction mainly using the MCT model of PH and, also, in the plasmas of patients with PAH. We identified a decrease in myomiR levels and an increase in miR-214 expression in the terminal stage of the MCT-induced PH model. In addition, their expressions were significantly correlated with markers of right ventricular damage such as the Fulton index and Nppb gene expression in the advanced stage of the disease.