

Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-16-0033****Úloha vnútrobunkových organel a ich interakcií v procese syntézy, modifikácii a degradácii bielkovín vo vzťahu k ischemiou indukovanej oneskorenej smrti neurónov.**Zodpovedný riešiteľ **prof. RNDr. Peter Račay, PhD.**Príjemca **Univerzita Komenského v Bratislave - Jesseniova lekárska fakulta, Martin**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Ústav lekárskej biochémie a Biomedicínske centrum, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave.

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

Žiadne

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

Žiadne

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

Publikácie v časopisoch uvádzaných v CC v tlači:

1: Evinova A, Hatokova Z, Tatarkova Z, Brodnanova M, Dibdiakova K, Racay P.

Endoplasmic reticulum stress induces mitochondrial dysfunction but not mitochondrial unfolded protein response in SH-SY5Y cells. Mol Cell Biochem. 2021.

Práce publikované v časopisoch uvádzaných v CC:

1: Brodnanova M, Hatokova Z, Evinova A, Cibulka M, Racay P. Differential impact of imipramine on thapsigargin- and tunicamycin-induced endoplasmic reticulum stress and mitochondrial dysfunction in neuroblastoma SH-SY5Y cells. Eur J Pharmacol. 2021 Jul 5;902:174073. doi: 10.1016/j.ejphar.2021.174073.

2: Sarlinova M, Baranovicova E, Skalicanova M, Dzian A, Petras M, Lehotsky J, Kalenska D, Racay P, Matakova T, Halasova E. Metabolomic profiling of blood plasma of patients with lung cancer and malignant tumors with metastasis in the lungs showed similar features and promising statistical discrimination against controls. Neoplasma. 2021 Jul;68(4):852-860. doi: 10.4149/neo_2021_210103N3.

3: Evinova A, Cizmarova B, Hatokova Z, Racay P. High-Resolution Respirometry in Assessment of Mitochondrial Function in Neuroblastoma SH-SY5Y Intact Cells. J Membr Biol. 2020 Apr;253(2):129-136. doi: 10.1007/s00232-020-00107-4. Erratum in: J Membr Biol. 2020 Mar 7.

4: Baranovičová E, Galanda T, Galanda M, Hatok J, Kolarovszki B, Richterová R, Račay P. Metabolomic profiling of blood plasma in patients with primary brain tumours: Basal plasma

metabolites correlated with tumour grade and plasma biomarker analysis predicts feasibility of the successful statistical discrimination from healthy subjects - a preliminary study. IUBMB Life. 2019 Dec;71(12):1994-2002. doi: 10.1002/iub.2149.

5: Klacanova K, Kovalska M, Chomova M, Pilchova I, Tatarkova Z, Kaplan P, Racay P. Global brain ischemia in rats is associated with mitochondrial release and downregulation of Mfn2 in the cerebral cortex, but not the hippocampus. Int J Mol Med. 2019 Jun;43(6):2420-2428. doi: 10.3892/ijmm.2019.4168.

6: Dibdiakova K, Saksonova S, Pilchova I, Klacanova K, Tatarkova Z, Racay P. Both thapsigargin- and tunicamycin-induced endoplasmic reticulum stress increases expression of Hrd1 in IRE1-dependent fashion. Neurol Res. 2019 Feb;41(2):177-188. doi: 10.1080/01616412.2018.1547856.

7: Saksonová S, Brodňanová M, Dibdiaková K, Pilchová I, Kláčanová K, Hatok J, Račay P. Cobalt chloride affects the death of SH-SY5Y cells induced by inhibition of ubiquitin proteasome system. Role of heat shock protein 70 and caspase 3. Gen Physiol Biophys. 2018 Oct 19. doi: 10.4149/gpb_2018022.

8: Vazanova A, Jurecekova J, Balharek T, Marcinek J, Stasko J, Dzian A, Plank L, Zubor P, Racay P, Hatok J. Differential mRNA expression of the main apoptotic proteins in normal and malignant cells and its relation to in vitro resistance. Cancer Cell Int. 2018 Mar 5;18:33. doi: 10.1186/s12935-018-0528-9.

Vykokoškolské skriptá:

1. Račay P. Medical chemistry and biochemistry 3 : biomolecules. - 3. vyd. - Bratislava : Univerzita Komenského, 2021. ISBN 978-80-223-5046-4.

2. Račay P. Medical chemistry and biochemistry 4 : 2. vyd. - Bratislava : Univerzita Komenského, 2021. ISBN 978-80- 223-5045-7.

Uplatnenie výsledkov projektu

Výsledky projektu budú slúžiť ako základ pre ďalší projekt zameraný na vzájomné prepojenie medzi odpoveďou nezbalených bielkovín (UPR) špecifickej pre ER a UPR špecifickej pre mitochondrie. V rámci tohto projektu budú aj testované látky, ktoré by mohli ochrániť neuróny pred letálnymi následkami stresu ER s následnou perspektívou ich použitia ako neuroprotektívnych látok u neurodegeneratívnych ochorení.

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

Najvýznamnejšie výsledky získané počas celého riešenia projektu možno zhrnúť do nasledujúcich bodov:

- ER stres navodený ako tapsigarginom tak aj tunikamycínom vedie u oboch typov nami použitých neuronálnych buniek (SH-SY5Y a SK-N-SH) k indukcii expresie HRD1 závislej na transkripcii prostredníctvom IRE1-XBP1 dráhy.
- ER stres navodený ako tapsigarginom tak aj tunikamycínom vedie u buniek SH-SY5Y k inhibícii mitochondriálnej respirácie ako aj k zmenám generovania mitochondriálneho transmembránového potenciálu. Tieto zmeny sú nezávislé od aktivácie IRE1-XBP1 dráhy.
- ER stres navodený ako tapsigarginom tak aj tunikamycínom u buniek SH-SY5Y nemá významný vplyv na indukciu mitochondriálnej odpovede nezbalených bielkovín (mtUPR) a mitofágiu.
- Globálna ischemia mozgu nevedie k významnej indukcii UPR avšak vedie k proteazomálnemu stresu, ktorý indukuje expresiu pro-apoptotickej bielkoviny Bcl-2 rodiny, PUMA, čo následne vedie k odumieraniu postihnutých neurónov mechanizmom mitochondriálnej apoptózy.
- Globálna ischemia mozgu vedie k uvoľneniu bielkoviny Mfn2 z väzby na mitochondrie a k postupnému potlačeniu expresie tejto bielkoviny v mozgovej kôre a nie však v hipokampe, ktorý je najviac postihnutý ischemiou/reperfúziou.

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

In summary, we have shown that:

- ER-stress-induced expression of Hrd1 in SH-SY5Y depends on HRD1 transcription activation, which is a consequence of IRE1-XBP1 pathway activation.
- ER-stress-induced by treatment of SH-SY5Y cells with either thapsigargin or tunicamycin

is associated with a significant decrease of mitochondrial respiration and with significant changes in mitochondrial membrane potential generation, which is not a consequence of IRE1-XBP1 pathway activation.

- Despite the induction of endoplasmic reticulum (ER) specific unfolded protein response (UPR), as documented by increased expression of HRD1, ER stress did not induce mitochondrial UPR since the expression of both mitochondrial protease LONP1 and mitochondrial chaperone HSP60 was not significantly altered.

- ER stress did not induce mitophagy

- Global brain was not associated with significant induction of UPR but leads to the proteasomal stress, which induces expression of Bcl-2 family protein PUMA leading to the neuronal death via mitochondrial apoptosis.

- Global brain was associated with a marked decrease of the Mfn2 protein in mitochondria isolated from the cerebral cortex, but not in hippocampal mitochondria. Release of Mfn2 from mitochondria was followed by decreased expression of Mfn2 during reperfusion.