



Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu

APVV-18-0163

Neuroprotektívny vplyv synergického pôsobenia blokovania AT1 a stimulácie AT2 receptorov po traumatickom poranení miechy

Zodpovedný riešiteľ **RNDr. Jaroslav Pavel, PhD.**

Príjemca **Biomedicínske centrum SAV, v. v. i. - Neurobiologický ústav**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Biomedicínske centrum SAV, v. v. i. Neurobiologický ústav

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

-

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

-

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

Kapitoly v knihe

PAVEL, Jaroslav - FEDOROVA, Jana - KELLEROVA, Erika. Neural tissue loss after spinal cord injury. In Cellular, Molecular, Physiological and Behavioral Aspects of Spinal Cord Injury. STRAIVE, Academic Press, Elsevier, 2022, pp. 187-197. ISBN 978-0-12-822427-4. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822427-4.00016-2>

PAVEL, Jaroslav - KELLEROVA, Erika - FEDOROVA, Jana. Spinal Cord Vasculature. General Anatomy and Physiology. In Neuraxial Therapeutics, Edited by Tony L. Yaksh and Salim Hayek. Springer Nature, 2023 – 5,5 autorských stránkov, akceptovaná kapitola v knihe Karentované publikácie

KISUCKÁ, Alexandra - KISS BIMBOVÁ, Katarína - BAČOVÁ, Mária - GÁLIK, Ján - LUKÁČOVÁ, Nadežda. Activation of Neuroprotective Microglia and Astrocytes at the Lesion Site and in the Adjacent Segments Is Crucial for Spontaneous Locomotor Recovery after Spinal Cord Injury. In Cells, 2021, vol. 10, no. 8, p. 1943. (2020: 6.600 - IF, Q2 - JCR, 1.220 - SJR, Q1 - SJR). ISSN 2073-4409. <https://doi.org/10.3390/cells10081943>

FEDOROVÁ, Jana - KELLEROVÁ, Erika - BIMBOVÁ, Katarína - PAVEL, Jaroslav. The Histopathology of Severe Graded Compression in Lower Thoracic Spinal Cord Segment of Rat, Evaluated at Late Postinjury Phase. In Cellular and Molecular Neurobiology, 2022, vol. 42, no., p. 173-193. (2021: 4.231 - IF, Q2 - JCR, 1.004 - SJR, Q1 - SJR). ISSN 0272-4340. Dostupné na: <https://doi.org/10.1007/s10571-021-01139-7>

BAČOVÁ, Mária - BIMBOVÁ, Katarína - KISUCKÁ, Alexandra - LUKÁČOVÁ, Nadežda - GÁLIK, Ján. Epidural oscillating field stimulation increases axonal regenerative capacity and

myelination after spinal cord trauma. In *Neural Regeneration Research*, 2022, vol. 17, no.12, p. 2730-2736. (2021: 6.058 - IF, Q1 - JCR, 0.837 - SJR, Q2 - SJR). ISSN 1673-5374. Dostupné na: <https://doi.org/10.4103/1673-5374.339497>

KISS BIMBOVÁ, Katarína - BAČOVÁ, Mária - KISUCKÁ, Alexandra - GÁLIK, Ján - ILENINOVÁ, Mária - KURUC, Tomáš - MAGUROVÁ, Martina - LUKÁČOVÁ, Nadežda. Impact of Endurance Training on Regeneration of Axons, Glial Cells, and Inhibitory Neurons after Spinal Cord Injury: A Link between Functional Outcome and Regeneration Potential within the Lesion Site and in Adjacent Spinal Cord Tissue. In *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, vol. 24, art. no. 8616. (2022: 5.600 - IF, Q1 - JCR, 1.154 - SJR, Q1 - SJR, karentované - CCC). ISSN 1422-0067. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/ijms24108616>

Publikácie v domácich recenzovaných vedeckých zborníkoch

FEDOROVÁ, Jana - DEMKOVIČOVÁ, Erika - PAVEL, Jaroslav. Angiotenzínové receptory a ich expresia po traumatickom poranení miechy. In *Súťažné práce druhého ročníka Súťaže mladých neurovedcov venovanej pamiatke prof. MUDr. Jozefa Maršalu DrSc. Editori súťažných prác: Nadežda Lukáčová, Ján Gálik. - Košice : Neurobiologický ústav, Biomedicínske centrum SAV, 2020, s. 19-24. ISBN 978-80-973388-1-7. – prednáška a recenzovaná vedecká práca*

FEDOROVÁ, Jana - KELLEROVÁ, Erika - PAVEL, Jaroslav. Podpora axonálnej neurodegenerácie v poškodenej mieche stimuláciou AT2 receptorov. In *26. Košický morfológický deň: Využitie súčasných poznatkov imunohistochemie v klinickej praxi, Zborník vedeckých prác, Košice, 25.-26. máj 2023, Košice: Equilibria s.r.o., 2023, vol. 26, p. 26-31. ISBN 978-80-574-0200-8.*

Posterové a online prezentácie

DEMKOVIČOVÁ, Erika - FEDOROVÁ, Jana - PAVEL, Jaroslav. Dynamické zmeny v expresii angiotenzínového AT2 receptora po traumatickom poranení miechy. In *Preveda: Interaktívna Konferencia Mladých vedcov [elektronický zdroj]. ISBN 978-80-972360-4-5. <https://abstracts.preveda.sk/?abstract=1815> - udelená cena Preveda na XI. Interaktívnej konferencii mladých vedcov (2019, Bratislava)*

FEDOROVÁ, Jana - KELLEROVÁ, Erika - PAVEL, Jaroslav. Neuropathology of graded severe spinal cord compression in rat with low spontaneous motor recovery. In *Virtual FENS Regional Meeting 2021 : Book of Abstracts [elektronický zdroj]. https://fensfrm2021.pl/upload/FENS-abstracts/_FRM_2021-AbstractBook.pdf*

KELLEROVÁ, Erika - FEDOROVÁ, Jana - PAVEL, Jaroslav. Expression of Angiotensin II Receptors in the Hypothalamus Pituitary Adrenal Axis after Spinal Cord injury. In *Virtual FENS Regional Meeting 2021 : Book of Abstracts [elektronický zdroj]. https://fensfrm2021.pl/upload/FENS-abstracts/_FRM_2021-AbstractBook.pdf*

FEDOROVÁ, Jana - KELLEROVÁ, Erika - PAVEL, Jaroslav. Vplyv stimulácie angiotenzínových receptorov typu 2 na funkčnú obnovu po traume miechy. In *PREVEDA: interaktívna konferencia mladých vedcov 2022. - Banská Bystrica : Občianske združenie Preveda, 2022, sekcia:. ISBN 978-80-972360-8-3.*

KELLEROVÁ, Erika - FEDOROVÁ, Jana - PAVEL, Jaroslav. Morfológické zmeny nadobličiek vyvolané poškodením sympatického nervového systému po závažnom traumatickom poranení miechy. In *PREVEDA : interaktívna konferencia mladých vedcov 2022. - Banská Bystrica: Občianske združenie Preveda, 2022, sekcia:. ISBN 978-80-972360-8-3.*

FEDOROVÁ, Jana - KELLEROVÁ, Erika - BAČOVÁ, Mária - PAVEL, Jaroslav. Beneficial effects of Angiotensin II receptor type 2 stimulation after severe spinal cord compression. In *FENS Forum 2022 : E-Book of Abstracts. - 2022, board number: S04-332. Dostupné na internete: <https://kenesvm.azureedge.net/public/general/FENS2022.pdf>*

PAVEL, Jaroslav - FEDOROVÁ, Jana - KELLEROVÁ, Erika. The timing of Angiotensin II receptor regulation after severe spinal cord injury. In *FENS Forum 2022 : E-Book of Abstracts. - 2022, board number: S04-353. Dostupné na internete: <https://kenesvm.azureedge.net/public/general/FENS2022.pdf>*

FEDOROVÁ, Jana - KELLEROVÁ, Erika - PAVEL, Jaroslav. Stimulation of Angiotensin II receptor type 2 after severe spinal cord injury promotes axonal neuroregeneration and functional recovery. Dostupné na internete: [https://fensrm2023algarve.pt/scientific-programme/\(FRM2023FENSRegionalMeeting\)](https://fensrm2023algarve.pt/scientific-programme/(FRM2023FENSRegionalMeeting)).

PAVEL, Jaroslav - FEDOROVÁ, Jana - KELLEROVÁ, Erika. The impact of spinal cord

trauma on the expression of Angiotensin II receptors in the HPA axis. Dostupné na internete: <https://fensrm2023algarve.pt/scientific-programme/> (FRM 2023 FENS Regional Meeting).

Dizertačné, diplomové a bakalárske práce

FEDOROVÁ, Jana. Vplyv lokálneho poranenia miechy na expresiu angiotenzínových receptorov. Fedorová Jana. Košice : Neurobiologický ústav Biomedicínske centrum SAV, 2020. 106 s. Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Prírodovedecká fakulta – dizertačná práca

HATALOVÁ Erika - Zmeny v neurohormonálnej regulácii po traumatickom poranení miechy, 2021, 57 strán – bakalárska práca

Vajdová Jana – Molekulárne aspekty angiogenézy po traumatickom poranení miechy, 2022, 50 strán – bakalárska práca

HATALOVÁ Erika, Bc. – Expresia angiotenzínových receptorov v osi hypotalamus-hypofýza-nadobličky po traumatickom poranení miechy, 2023, 79 strán – diplomová práca

Uplatnenie výsledkov projektu

Protektívne účinky blokovania AT1 receptorov a aktivácie AT2 receptorov sú všeobecne známe, avšak v dostupnej vedeckej literatúre je pomerne častá absencia zdôvodnenia načasovania ich farmakologického ovplyvnenia, vrátane experimentov zameraných na traumatické poranenie miechy. Práve správne načasovanie farmakologickej intervencie je jeden z kritických faktorov ovplyvňujúcich účinnosť terapeutického prístupu. Na základe výsledkov merania expresie angiotenzínových receptorov a merania krvného tlaku u experimentálnych zvierat v po-traumatickom období sme špecifikovali načasovanie a dĺžku farmakologického ovplyvnenia oboch receptorov v modeli vážneho poranenia miechy. Spolu s ocharakterizovaným modelom vážneho poranenia miechy poskytuje spoľahlivú platformu pre ďalší výskum neuroprotektívnych mechanizmov v ktorých tieto receptory participujú, ako aj základ pre možnú kombinovanú terapiu, ktorá je zdá sa nevyhnutným strategickým predpokladom pre úspešnú liečbu vážne poranenej miechy. Analýza génovej expresie po traume miechy naznačila participáciu AT2 receptorov v regeneračných procesoch spojených s obnovou štrukturálnych proteínov a revaskularizáciou. Práve podpora prežitia a regenerácie poškodených axónov je jedným zo základných faktorov ovplyvňujúcich proces funkčnej obnovy miechy. Taktiež obnova dostatočnej vaskulárnej perfúzie je kľúčovým aspektom pre zachovanie reverzibilne poškodeného tkaniva miechy, a preto sú v terapii potrebné práve intervencie modulujúce vaskulárne poškodenie a podporujúce formovanie nových funkčných ciev.

Získané originálne výsledky riešenia projektu patria do kategórie základného výskumu zameraného na štúdium mechanizmov traumatického poranenia miechy a ich terapeutického ovplyvnenia prostredníctvom regulácie angiotenzínových receptorov a preukázali sľubný širokospektrálny terapeutický potenciál. Možnosť transferu do predklinických testovaní si však vyžaduje podstatné prehĺbenie týchto experimentálnych poznatkov. Originálne výsledky prispeli k prehĺbeniu poznatkov o správaní sa dôležitých komponentov renín-angiotenzínového systému za patologických podmienok.

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

Rostro-kaudálna analýza expresie angiotenzínového AT2 receptora v rôznych časových intervaloch po traumatickom poranení miechy odhalila jeho oneskorenú a prechodnú expresiu. Predpokladaná rostro-kaudálna korelácia s rozsahom sekundárneho poškodenia resp. korelácia s dynamikou expresie závislej na čase a kompresnej sile nebola však dostatočne evidentná. Bunková lokalizácia expresie tohto receptora prostredníctvom imunofluorescenčného značenia bola pozorovaná najmä v regenerujúcich nervových vláknach a v okolí krvných ciev. Na základe výsledkov merania po-traumatickej expresie AT2 receptorov a krvného tlaku sme skonštatovali, že najvhodnejším intervalom (1) pre blokovanie AT1 receptorov je práve obdobie prechodnej hypertenzie, a to v období od 3 do 10 dňa po traume, (2) pre aktiváciu AT2 receptorov je obdobie zvýšenej a prechodnej expresie tohto receptora, a to od 14 dňa po traume. Výsledky merania funkčných (motorická funkcia zadných končatín, zmeny telesnej hmotnosti, evokované motorické potenciály) a histologických parametrov (rozsah zachovaného tkaniva v mieste poranenia) nepoukázali na výrazný synergický efekt blokovania AT1 a stimulácie AT2 receptorov pri porovnaní s

individuálnymi intervenciami. Pozitívny efekt pri meraní týchto parametrov bol spôsobený prevažne účinkom aktivácie AT2 receptorov. Okrem absencie validných výsledkov z proteomickej analýzy z objektívnych dôvodov, všetky ostatné naplánované ciele riešenia projektu boli splnené. Proteomická analýza bola čiastočne kompenzovaná rozsiahlou analýzou génovej expresie, ktorá naznačila participáciu AT2 receptorov v regeneratívnych procesoch spojených s obnovou štrukturálnych proteínov axónov a vaskulárneho systému.

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

Rostro-caudal analysis of Angiotensin II AT2 receptor expression measured within various time intervals after traumatic spinal cord injury revealed its delayed and transient expression. Expected rostro-caudal correlation with the extent of secondary injury or dynamic expression-dependent on post-traumatic time and compression force was not sufficiently evident. Cellular localization of the expression of this receptor detected by immunofluorescence labelling was observed mainly in regenerating nerve fibers and around blood vessels. Based on the results of measuring the post-traumatic expression of AT2 receptors and blood pressure, we can conclude that the most suitable interval (1) for AT1 receptor blockade is period of transient hypertension, from 3 to 10 days after trauma, (2) for the activation of AT2 receptors is the period of its upregulated and transient expression, from 14 days after trauma. The results of measuring functional (motor function of the hindlimbs, body weight changes, evoked motor potentials) and histological parameters (extent of preserved tissue at the site of injury) did not show a significant synergistic effect of AT1 receptor blocking and AT2 receptor stimulation when compared to individual treatments. The positive effect was mainly caused by activation of AT2 receptors. Apart from the absence of valid results from the proteomic analysis for objective reasons, all other planned goals of the project were met. Proteomic analysis was partially compensated by extensive gene expression analysis, which indicated the participation of AT2 receptors in regenerative processes associated with the restoration of structural proteins of axons and the vascular system.