



Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu

APVV-19-0222

Stanovenie mitochondriálneho fitness v diagnostike a predikcii Parkinsonovej choroby

Zodpovedný riešiteľ **doc. RNDr. Martin Kolísek, PhD.**

Príjemca

Univerzita Komenského v Bratislave - Jesseniova lekárska fakulta v Martine

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Jesseniova lekárska fakulta UK v Martine
Martinské centrum pre biomedicine
Malá Hora 4D
03601 Martin
Univerzitná nemocnica Martin
Extrapiramídové centrum
Kollárova 2,
036 59 Martin

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

neaplikovateľné

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

neaplikovateľné

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

Tatarkova Z, de Baaij JHF, Grendar M, Aschenbach JR, Racay P, Bos C, Sponder G, Hoenderop JGJ, Röntgen M, Turcanova Koprusakova M, Kolisek M. Dietary Mg²⁺ Intake and the Na⁺/Mg²⁺ Exchanger SLC41A1 Influence Components of Mitochondrial Energetics in Murine Cardiomyocytes. Int J Mol Sci. 2020 Nov 3;21(21):8221. doi: 10.3390/ijms21218221.

Cibulka M, Brodnanova M, Grendar M, Necpal J, Benetin J, Han V, Kurca E, Nosal V, Skorvanek M, Vesely B, Stanclova A, Lasabova Z, Pös Z, Szemes T, Stuchlik S, Grofik M, Kolisek M. Alzheimer's Disease-Associated SNP rs708727 in SLC41A1 May Increase Risk for Parkinson's Disease: Report from Enlarged Slovak Study. Int J Mol Sci. 2022 Jan 29;23(3):1604. doi: 10.3390/ijms23031604.

Manuscript ID: 9a7b7a31-d2fa-4cc3-aae8-d4787635cefev3.0; Petra Hnilicova, Marian Grendar, Monika Turcanova Koprusakova, Alzbeta Trancikova Kralova, Jana Harsanyiova, Martin Krssak, Ivica Just, Nadezda Misovicova, Martina Hikkelova, Jan Grossmann, Peter Spalek, Iveta Meciariova, Egon Kurca, Norbert Zilka, Kamil Zelenak, Wolfgang Bogner, Martin Kolisek*: Brain of Miyoshi Myopathy/Dysferlinopathy Patients Presents with Structural

Uplatnenie výsledkov projektu

Naše výsledky po validácii v klinickej praxi pri väčšom počte PCH pacientov, môžu poslúžiť ako diagnosticky atraktívny kumulatívny MiF marker, ktorý môže výrazne prispieť k diagnostickej presnosti a rýchlosti diagnostiky Parkinsonovej choroby. Za zváženie stojí otestovanie nášho MiF PCH algoritmu u pacientov s dysfágiou, alebo poruchami črevnej motility, ktoré sú považované za prodromálne znaky PCH.

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

Hlavným cieľom projektu bolo vytvorenie algoritmu multiparametrického stanovenia mitochondriálneho fitness (MiF) pre diagnózu Parkinsonova choroba (PCH) a jeho použitie na diagnostické odlíšenie PCH pacientov od kontrolných probandov a odlíšenie skorých štádií PCH od pokročilých štádií PCH. Na základe našich analýz sme zistili, že qPCR analýza stability mt-genómu je natoľko variabilná, že nedokáže odlíšiť PCH pacientov od kontrol. To isté platí pre proteomickú analýzu signálómu a apoptómu leukocytov, ktorej výsledky vzhľadom na vysokú variabilitu tak v skupine PCH ako aj kontrol znemožňujú ich použitie ako súčasti MiF supermarkera. Ako najväčší technický problém sme identifikovali nízku senzitivitu Human Signalome Array Kit a Human Apoptosis Array Kit od firmy R&D. Signály zachytené pre jednotlivé kinázy čipmi boli kvalitatívne slabo, a kvantitatívne úplne neverifikovateľné štandardnými Western blotmi a denzitometriou. Naopak, parametre mitochondriálneho dýchania (OXPHOS), aktivita dýchacích komplexov I až IV dýchacieho reťazca, a zmena koncentrácií vybraných energetických metabolitov a niektorých žľčovných kyselín v krvnej plazme dokážu spoľahlivo s až 95% istotou odlíšiť kontrolných probandov od PCH (PD1, štádium ochorenia H&Y škála 1-2) pacientov a s takmer 97% odlíšiť kontrolných probandov od PCH (PD2, štádium ochorenia H&Y škála 3-4) pacientov, čo demonštrujú naše dáta. PD-1 MiF algoritmus pozostáva z 15 premenných: najvýznamnejším komponentom algoritmu je aktivita mitochondriálneho komplexu IV, nasledovaná koncentráciou fenylalanínu, valínu, pyruvátu a kyseliny glykochenodeoxycholovej v krvnej plazme. Súčasťou algoritmu sú aj koncentrácie lipoproteínov, kyseliny chenodeoxycholovej, leucínu, kreatinínu, tyrozínu, lyzínu, histidínu, kyseliny glykocholovej, hodnota mitochondriálneho kyslíkového toku JO2R a kyseliny taurochenodeoxycholovej. PD-2 MiF algoritmus pozostáva z 15 premenných: koncentrácia lyzínu, nasledovaná koncentráciou ketoleucínu a pyruvátu, a aktivitami mitochondriálneho komplexu I a komplexu IV. Ostatné premenné v algoritme zahŕňajú koncentráciu histidínu, MCAa, hodnotu mitochondriálneho kyslíkového toku JO2R (routine), koncentráciu ketovalínu, hodnotu prietoku FCRdig (digitonín), koncentráciu fenylalanínu, hodnotu mitochondriálneho kyslíkového toku JO2U (uncoupler), a koncentráciu lipoproteínov, tryptofánu a tyrozínu. Zároveň konštatujeme, že z pohľadu MiF neexistuje rozdiel medzi kontrolnými skupinami, podobne malý a štatisticky zanedbateľný je z pohľadu MiF leukocytov periférnej krvi rozdiel medzi skupinou pacientov PD1 a PD2. Nami zostavené MiF algoritmy (v odberovom bode 0) sa zdajú byť presné a relatívne stabilné aj bez ohľadu na štádium ochorenia. To znamená, že predikčná sila piatich najsilnejších prediktorov sa mení len nevýznamne vzhľadom na kumulatívnu predikčnú silu algoritmu. Aj preto sme sa rozhodli pre ďalší zber dát aj po skončení projektu. Navýšenie počtu probandov na N=100 v každej subkohorte je nevyhnutné pre otestovanie nášho algoritmu v klinickom prostredí pri rutinnej diagnostike. Predikčná sila MiF supermarkerov sa po roku zdá rovnaká, pričom kvalitatívne zloženie PD1 a PD2 MiF supermarkerov osciluje len minimálne. K 30. 06 2024 sa nám nepodarilo ukončiť 3. fázu projektu (monitoring po dvoch rokoch) a túto ukončíme v októbri 2024 (v prvom monitorovacom období). Ako najväčší nedostatok považujeme nedostatočne robustné umiestňovanie manuskriptov do vedeckých periodík, čo čiastočne súvisí s prospektívnym charakterom projektu.

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

The main goal of the project was to create a multiparametric mitochondrial fitness (MiF) algorithm for the diagnosis of Parkinson's disease (PCH) and use it to diagnostically differentiate PCH patients from control probands and differentiate early stages of PCH from advanced stages of PCH. Based on our analyses, we found that qPCR analysis of mt-genome stability is so variable that it cannot distinguish PCH patients from controls. The same applies to the proteomic analysis of the leukocyte signalome and apoptosis, the results of which, due to the high variability both in the PCH group and in the controls, make their use as part of the MiF supermarker impossible. We identified the low sensitivity of the Human Signalome Array Kit and the Human Apoptosis Array Kit from R&D as the biggest technical problem. The signals captured for individual kinases by chips were qualitatively weak, and quantitatively completely unverifiable by standard Western blots and densitometry. On the contrary, the parameters of mitochondrial respiration (OXPHOS), the activity of respiratory complexes I to IV of the respiratory chain, and the change in concentrations of selected energy metabolites and some bile acids in the blood plasma can reliably distinguish control probands from PCH (PD1, disease stage H&Y scale 1-2) patients and with almost 97% distinguish control probands from PCH (PD2, disease stage H&Y scale 3-4) patients, which is demonstrated by our data. The PD-1 MiF algorithm consists of 15 variables: the most important component of the algorithm is the activity of mitochondrial complex IV, followed by the concentration of phenylalanine, valine, pyruvate and glycochenodeoxycholic acid in the blood plasma. The algorithm also includes concentrations of lipoproteins, chenodeoxycholic acid, leucine, creatinine, tyrosine, lysine, histidine, glycocholic acid, the value of mitochondrial oxygen flux JO2R and taurochenodeoxycholic acid. The PD-2 MiF algorithm consists of 15 variables: lysine concentration, followed by ketoleucine and pyruvate concentration, and mitochondrial complex I and complex IV activities. Other variables in the algorithm include histidine concentration, MCAa, mitochondrial oxygen flux value JO2R (routine), ketovaline concentration, flow value FCRdig (digitonin), phenylalanine concentration, mitochondrial oxygen flux value JO2U (uncoupler), and lipoprotein, tryptophan, and tyrosine concentration. At the same time, we note that there is no difference between the control groups from the point of view of MiF, similarly small and statistically insignificant is the difference between the group of PD1 and PD2 patients from the point of view of MiF of peripheral blood leukocytes. The MiF algorithms compiled by us (at sampling point 0) seem to be accurate and relatively stable regardless of the stage of the disease. This means that the predictive power of the five strongest predictors varies only insignificantly with respect to the cumulative predictive power of the algorithm. That is also why we decided to continue collecting data even after the end of the project. Increasing the number of probands to N=100 in each subcohort is necessary to test our algorithm in a clinical setting for routine diagnosis. The predictive power of MiF supermarkers appears to be the same after one year, while the qualitative composition of PD1 and PD2 MiF supermarkers oscillates only minimally. As of June 30, 2024, we did not manage to complete the 3rd phase of the project (monitoring after two years), and we will complete it in October 2024 (in the first monitoring period). We consider the biggest shortcoming to be insufficiently robust placement of manuscripts in scientific periodicals, which is partly related to the prospective nature of the project.