

**ZAKLJUČNO POROČILO  
O REZULTATIH OPRAVLJENEGA RAZISKOVALNEGA DELA  
NA PROJEKTU V OKVIRU CILJNEGA RAZISKOVALNEGA  
PROGRAMA (CRP) »KONKURENČNOST SLOVENIJE 2006 – 2013«**

**I. Predstavitev osnovnih podatkov raziskovalnega projekta**

1. Naziv težišča v okviru CRP:

5. 4.2 Hrana in zdravje

2. Šifra projekta:

V3-0365

3. Naslov projekta:

Preventivni učinki antioksidantov na razvoj hiperlipidemije in ateroskleroze pri živalskem modelu genetsko pogojene debelosti

3. Naslov projekta

3.1. Naslov projekta v slovenskem jeziku:

Preventivni učinki antioksidantov na razvoj hiperlipidemije in ateroskleroze pri živalskem modelu genetsko pogojene debelosti

3.2. Naslov projekta v angleškem jeziku:

Preventive effects of antioxidants on development of hyperlipidemia and atherosclerosis in the animal model of obesity

4. Ključne besede projekta

4.1. Ključne besede projekta v slovenskem jeziku:

ateroskleroza, hiperlipidemija, antioksidanti, vitamin E, koencim Q10, mišji model, debelost

4.2. Ključne besede projekta v angleškem jeziku:

atherosclerosis, hyperlipidemia, antioxidants, vitamin E, coenzyme Q10, mouse model, obesity

5. Naziv nosilne raziskovalne organizacije:

Univerza v Ljubljani (Biotehniška fakulteta)

5.1. Seznam sodelujočih raziskovalnih organizacij (RO):

Univerza v Ljubljani, Biotehniška Fakulteta, Ljubljana  
Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Ljubljana  
Univerza v Ljubljani, Fakulteta za računalništvo in informatiko, Ljubljana

6. Sofinancer/sofinancerji:

Ministrstvo za zdravje

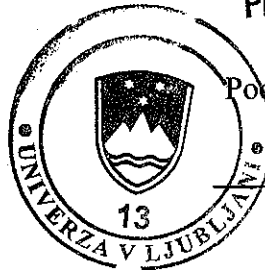
7. Šifra ter ime in priimek vodje projekta:

10412

Simon Horvat

Datum: 10.10.2008

Podpis vodje projekta:



Prof. dr. Andreja Kocijančič  
rektorica

Podpis in žig izvajalca:  
Po pooblastilu:  
prof. dr. Franc Štampar  
DEKAN



## II. Vsebinska struktura zaključnega poročila o rezultatih raziskovalnega projekta v okviru CRP

### 1. Cilji projekta:

1.1. Ali so bili cilji projekta doseženi?

- a) v celoti  
 b) delno  
 c) ne

Če b) in c), je potrebna utemeljitev.

Glede na predlog, ki je bil sprejet v financiranje smo, po naši oceni, izvedli preko 90% predlaganih poskusov in ciljev. Spodaj sta navedena dve postavki, ki jih nismo izpeljali oziroma je bil rezultat drugačen od pričakovanega:

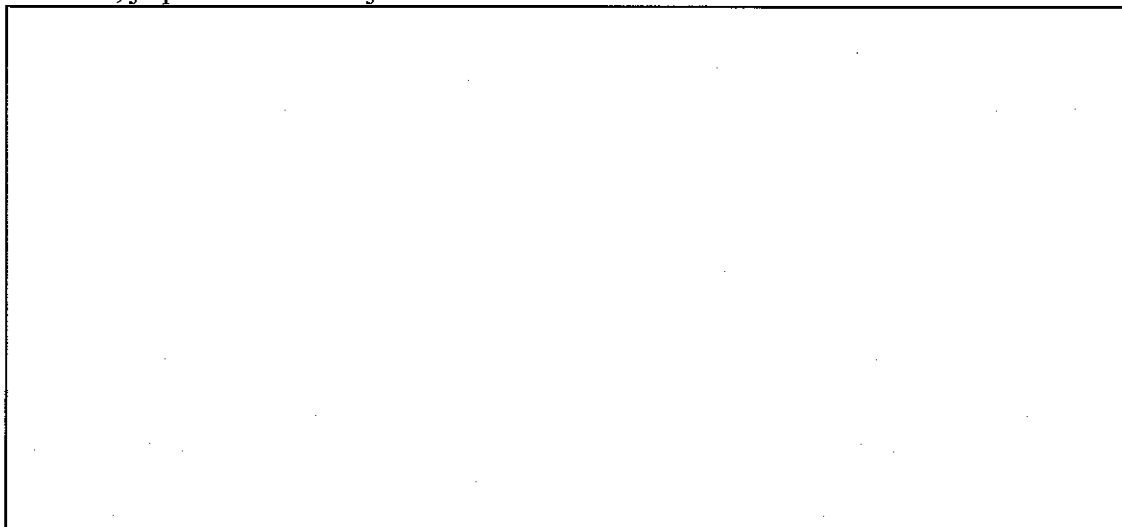
1.) Histološke analize. Končali smo zahtevno in zamudno analizo lezij v aortah (na loku in v descendentnem torakalnem delu) in koronarnem ožilju. Vzorce smo histološko pregledali in z morfometrično analizo ocenili velikost in druge posebnosti aterosklerotičnih plakov. Proti pričakovanju sta obe naši liniji (FLI-debela in FHI-suha) ne glede na tip krme (nizka, zelo visoka vsebnost maščob) bile praktično brez aterosklerotičnih lezij. Tako tudi ni bilo mogoče ovrednotiti morebitne pozitivne učinke antioksidantov. Očitno obe naši liniji spadata v skupino laboratorijskih miši, ki kažejo ekstremno rezistenco na razvoj aterosklerotičnih plakov. Čeprav je to po eni strani zanimivo odkritje, pa za naš CRP projekt ni bil zaželen rezultat, saj smo predvidevali, da bo vsaj debela linija razvila lezije in da pri tej liniji lahko zasledovali morebitne terapevtske učinke dodatkov antioksidantov

2.) Analiza transkriptoma: kot je opisano v točki 2 smo to analizo izvedli vendar s podrobno analizo zamujamo. Vzrok je predvsem v zmanjšanem financiranju tega projekta, kar smo predvideli že takoj ob podpisu pogodbe, da verjetno vseh poskusov iz predloga projekta z danim obsegom financiranja ne bomo mogli izpeljati.

1.2. Ali so se cilji projekta med raziskavo spremenili?

- a) da  
 b) ne

Če so se, je potrebna utemeljitev:

A large, empty rectangular box with a thin black border, intended for providing justification or explanation. It occupies the upper half of the page.

## 2. Vsebinsko poročilo o realizaciji predloženega programa dela<sup>1</sup>:

### VSEBINSKO POROČILO O REALIZACIJI PROGRAMA DELA

#### 1.) KRATKA PREDSTAVITEV PROGRAMA DELA IN IZHODIŠČ RAZISKAVE

Velik delež človeške populacije ima genetsko predispozicijo za razvoj debelosti. Uspešnih terapij za debelost še ne bo kmalu na razpolago, ljudje pa svoje življenjske navade (raven fizične aktivnosti, prehrana itd.) težko spreminjajo. V takih razmerah je utemeljeno raziskovati učinke prehranskih dodatkov, ki bi ublažili nekatere negativne učinke genetsko pogojene debelosti in z debelostjo povezanimi boleznimi. Naša raziskava ustreza se posebej navezuje na razpisane raziskave v povezavi med prehrano in zdravjem, krepitvi zdravja v hrani, iskanju učinkovin s preventivnim delovanjem na zdravje človeka, predvsem z vidika prehranskih dodatkov kot so tudi antioksidanti.

Izhodišče z vidika prehrane: Metabolični sindrom je skupek metabolnih motenj povezanih z inzulinsko rezistenco, ki so največkrat vzrok napredujoči aterosklerozi in s tem pomembno povečanim tveganjem za srčno-žilne bolezni. O metaboličnem sindromu govorimo, kadar so prisotni vsaj trije od naštetih kriterijev: abdominalna debelost, povečani trigliceridi in HDL v serumu, povečan krvni tlak in/ali krvni sladkor. V nastanek metaboličnega sindroma oz. ateroskleroze se v veliki meri vključujejo tudi drugi dejavniki, med njimi zelo pomembno tudi oksidacijski stres oz. premajhna antioksidacijska zaščita organizma. Raziskave o učinkih dodajanja (včasih velikih količin) antioksidantov odpirajo vprašanja o potrebah oz. primernosti priporočil za potrebe po posameznih antioksidantih, še posebej pri nekaterih bolezenskih stanjih, ki so povezane tudi z oksidacijskim stresom npr. metabolični sindrom. Boljše razumevanje delovanja antioksidantov pri nastanku ateroskleroznih sprememb v odvisnosti od fenotipsko-genotipskih povezav so izredno pomembne tudi za bodoče farmakološke terapije za zdravljenje in preprečevanje srčno žilnih bolezni. Prav razlike v potrebah po antioksidantih pri ljudeh z različnimi genotipskimi in fenotipskimi lastnostmi lahko vodijo do kontradiktornosti raziskovalnih rezultatov o vlogi antioksidantov. Nutrigenomske raziskave, v tem oziru odpirajo nove razsežnosti v vrednotenju delovanja antioksidacijskega sistema

Izhodišče za nutrigenomski in funkcijsko genomski pristop: Z napredkom tehnologij, povezanih z dostopnostjo do genomov celotnih organizmov, so se odprle povsem nove poti pri odkrivanju dejavnikov preprečevanja bolezni in krepitev zdravja v povezavi s prehrano. Priča smo nadgradnji klasičnega pristopa, ko so se raziskovalci ukvarjali z enim samim genom, k celostnemu pristopu, ki ob pomoči bioinformatičnih orodij omogoča razumevanje povezav med prehrano, genomom, transkriptomom, proteomom in celičnim metabolizmom, torej biološkim sistemom kot celoto. Gre za novo tehnološko revolucijo, ki spreminja tudi koncept razumevanja učinka prehranskih dodatkov v različnih fizioloških in patofizioloških stanjih. V okviru projekta smo poskušali integrirati dobro vpeljane pristope na področjih klasične genetike, prehrane, biokemije in molekularne biologije, funkcijske genomike ter bioinformatike v enovit projekt odkrivanja učinkov antioksidantov (koencima Q10 in vitamina E) na zmanjševanje ali preprečevanje hiperlipidemije in ateroskleroze pri živalskem modelu genetsko pogojene debelosti.

<sup>1</sup> Potrebno je napisati vsebinsko raziskovalno poročilo, kjer mora biti na kratko predstavljen program dela z raziskovalno hipotezo in metodološko-teoretičen opis raziskovanja pri njenem preverjanju ali zavračanju vključno s pridobljenimi rezultati projekta.

## 2.) CILJI, HIPOTEZE IN METODOLOŠKI PRISTOPI

### SPECIFIČNI CILJI PROJEKTA SO BILI:

1. Preveriti učinek antioksidantov koencima Q in vitamina E na fenotip genetsko pogojene debelosti in ateroskleroze. Raziskavo smo izvedli na genetsko dobro definiranemu živalskemu modelu, ki v vseh fizioloških parametrih odseva stanje pri ljudeh z močno genetsko predispozicijo za razvoj debelosti

2. S pristopi nutrigenomike in funkcijske genomike pojasniti mehanizem delovanja antioksidantov na molekularni ravni in opredeliti nove terapevtske tarče. Preventivni učinek antioksidantov (vitamina E in koencima Q) do sedaj še ni bil raziskan celostno, tako z vidika fizioloških učinkov na bolezni povezanih z debelostjo (hiperlipidemije, povišan krvni tlak, ateroskleroza itd.), z vidika oksidacijskega stresa, kot z vidika mehanizma delovanja antioksidantov na celoten komplement izraženih genov v celici (transkriptomika). Študijo smo osredotočili predvsem na krvne celice, plazmo in seč, da bi bili rezultati raziskave čim bolj prenosljivi za diagnostiko pri ljudeh.

### HIPOTEZE:

1.) Genetsko ozadje vpliva na različen odziv dodajanja antioksidantov (vitamina E in koencima Q10). Za statistično vrednotenje smo postavili ničelno hipotezo, da med debelo in vitko linijo miši ni razlik v odzive na dodatke antioksidantov.

2.) Dodatek antioksidantov v krmo bo spremenil vzorec izražanja v določenem tkivu (transkriptom) in prispeval k pojasnitvi mehanizma delovanja antioksidanta

### 3.) POTEK POSKUSA IN REZULTATI

Sklop 1: Tretiranje živalskega modela z antioksidanti in fenotipizacija

a) Priprava genetskega materiala: Po odstavitvi smo na posebno stojalo za ta poskus naključno naselili po 2 samca (večinoma brata) v posamezno kletko (kletka 1155M, Techniplast, Italija). V teh kletkah so živali ostale do starosti 14 tednov na standardni prehrani. Po 14 tednih (večina populacije je to starost dosegla v januarju 2007) smo pričeli živali krmiti z hrano z nizko oziroma visoko vsebnostjo maščob in dodatkom antioksidanta (glej točko c). Pri vzrejnem podjetju laboratorijskih živali (Harlan, Italija) smo kupili tudi kontrolne poskusne živali in jih po 14-dnevni karanteni naselili v poskusno sobo.

b) Priprava krmnih mešanic z antioksidanti: Ker so krmne mešanice specifične in niso dostopne na komercialnem trgu smo morali tako vso potrebno krmo pripraviti sami. Posamezne komponente smo nabavili pri uveljavljenih proizvajalcih in pripravili dve osnovni krmni mešanici z nizko oziroma visoko vsebnostjo maščob. Slednjo bomo testirali z osnovnimi količinami vitaminov in mineralov, ter z dodatkom antioksidanta vitamina E, koencima Q10 in obeh skupaj.

c) Izvedba živalskega poskusa: Laboratorijske miši linije F (angl. »Fat«, debela linija) in linije L (angl. »lean«, suha linija) smo po odstavitvi naključno naselili po 2 samca (večinoma brata) v posamezno kletko (kletka 1155M, Techniplast, Italija). V teh kletkah so živali ostale do starosti 14 tednov na standardni prehrani. Po 14 tednih (večina populacije je to starost dosegla v januarju 2007) smo pričeli živali krmiti z hrano z nizko oziroma visoko vsebnostjo maščob in dodatkom antioksidanta. V preliminarnih poskusih

se je izkazalo, da ješčost te krme ni zadovoljiva, predvsem zaradi (mehke) konsistence krme. Zato smo uvedli postopek priprave trše krme, ki so jo živali normalno zauživale. Posamezne komponente smo nabavili pri uveljavljenih proizvajalcih in pripravili dve osnovni krmni mešanici z nizko vsebnostjo nasičenih maščob (ne-aterogena krma) oziroma visoko vsebnostjo nasičenih maščob (aterogena krma). Aterogeni krmi smo poleg osnovnih količin vitaminov in mineralov, dodajali antioksidante vitamina E, koencima Q10 in oba skupaj.

Živali so bile na zgornjem tretmaju 3 mesece. Vmes smo živali tedensko tehtali. Po zaključku tretmaja s krmo smo živali žrtvovali in vzorčili naslednja tkiva:

- delu populacije smo odvzeli kri (bele krvničke) za kometni test (test poškodb DNA)
- delu populacije smo odvzeli krvno plazmo za biokemično analizo krvi
- celotni populaciji smo odvzeli vzorec jeter, maščobnih depojev (te smo tudi stehtali), srce in koronarno ožilje.

## Sklop 2: Analitika

### Podsklop 2.1. Merjenje stopnje antioksidacijskega stresa

Za vrednotenje stopnje oksidacijskega stresa smo analizirali:

- konc. malondialdehida (MDA) in F2 izoprostanov v krvi in dnevno izločanje s sečem
- koncentracija 8-hidroksi-2'-deoksigvanozina (8-OH-dG) v krvi in dnevno izločanje s sečem
- merjenja stopnje poškodb DNA mononuklearnih krvnih celic (kometni test)
- merjenja koncentracije alfa, beta, gama in delta izomer tokoferola v krvi
- 8-hidroksi-2'-deoksigvanozina (8-OH-dG) v krvi in seču - komercialni komplet

V primerjavi s krmo z nizko vsebnostjo maščob, so skupine na krmi z visoko vsebnostjo maščob kazale signifikantno višje vrednosti za parametre oksidacijskega stresa. Učinek dodajanja antioksidantov v aterogeno krmo pa ni kazal statistično značilnih razlik.

### Podsklop 2.2. Biokemične in histološke analize

Biokemične analize: Podobno kot pri analitiki v sklopu 2.1 smo pridobili podatke za lipidni profil v plazmi (skupni holesterol, LDL, oksidiran LDL holesterol, HDL, VLDL), glukozo v plazmi ter trigliceride. Vsa analiza teh parametrov je zajeta v priloženem poročilu o statistični analizi.

Histološke analize. Zaključili smo zahtevno in zamudno analizo lezij v aortah (na loku in v descendentnem torakalnem delu) in koronarnem ožilju. Vzorce smo histološko pregledali in z morfometrično analizo ocenili velikost in druge posebnosti aterosklerotičnih plakov. Proti pričakovanju sta obe naši liniji (FLI-debela in FHI-suha) ne glede na tip krme (nizka, zelo visoka vsebnost maščob) bile praktično brez aterosklerotičnih lezij. Tako tudi ni bilo mogoče ovrednotiti morebitne pozitivne učinke antioksidantov. Očitno obe naši liniji spadata v skupino laboratorijskih miši, ki kažejo ekstremno rezistenco na razvoj aterosklerotičnih plakov. Čeprav je to po eni strani zanimivo odkritje, pa za naš CRP projekt ni bil zaželen rezultat, saj smo predvidevali, da bo vsaj debela linija razvila lezije in da pri tej liniji lahko zasledovali morebitne terapevtske

učinke dodatkov antioksidantov.

### Podsklop 2.3. Analiza transkriptoma:

S temi poskusi smo pričeli v juniju 2008. Na mikromrežah smo primerjali dve skupini, ki sta pri statistični analizi pokazali največjo razliko – skupna vitkih miši na aterogeni krmi in skupina miši iste linije na aterogeni krmo in dodatku koencima Q10. Uporabili smo do sedaj najgostejše in izpopolnjene mikromreže za mišji genom podjetja Affymetrix in primerjali transkriptome jeter. Da bi dosegli čim večjo statistično moč testa, smo individualno hibridizirali po 4 miši iz vsake skupine, skupaj torej 8 transkriptomskih analiz za izražanje genov celotnega genoma. Zaradi ogromnega števila podatkov dokončna analiza še ni zaključena, spodaj pa podajamo prve rezultate:

-slepa statistična obdelava podatkov je pokazala, da se transkriptomi vitkih miši, ki niso prejeli koencima Q10 signifikantno razlikuje od transkriptoma vitkih miši, katerim smo dodajali v krmo koencim Q10

-DNA sonde, ki so bile diferencialno izražene so navedene spodaj:

DNA sonda	GenBank številka		Genski simbol
1415964_at	NM_009127	Mm.193096	Scd1
1415965_at	NM_009127	Mm.193096	Scd1
1416021_a_at	BC002008	Mm.741	Fabp5
1416022_at	BC002008	Mm.741	Fabp5
1416576_at	NM_007707	Mm.3468	Socs3
1417403_at	NM_130450	Mm.314113	Elovl6
1417404_at	NM_130450	Mm.314113	Elovl6
1418287_a_at	NM_007769	Mm.4138	Dmbt1
1418486_at	NM_011704	Mm.27154	Vnn1
1418918_at	NM_008341	Mm.21300	Igfbp1
1419573_a_at	NM_008495	Mm.43831	Lgals1
1419582_at	NM_028089	Mm.142581	Cyp2c55
1420603_s_at	NM_009016	Mm.439724	Raet1a
1422557_s_at	NM_013602	Mm.192991	Mt1
1422735_at	NM_008239	Mm.44235	Foxq1
1422925_s_at	NM_134246	Mm.202331	Acot3
1422973_a_at	NM_009381	Mm.28585	Thrsp
1423418_at	BI247584	Mm.39472	Fdps
1423797_at	BC026817	Mm.439974	Aacs
1423804_a_at	BC004801	Mm.29847	Idi1
1424599_at	BC021946	Mm.277955	Fgl1
1424673_at	AF350410	Mm.197689	Clec2h
1424737_at	BC009165	Mm.28585	Thrsp
1424942_a_at	BC006728	Mm.2444	Myc
1425409_at	BC011490	Mm.57350	Chrna2
1426936_at	BC002257	Mm.410872	LOC215866
1427052_at	BC022940	Mm.81793	Acacb
1428942_at	AA796766	Mm.147226	Mt2
1431240_at	AK017207	Mm.197689	Clec2h
1432647_at	AK014017	Mm.8534	Egfr
1434449_at	BB193413	Mm.250786	Aqp4



1436643_x_at	AV051678	Mm.389860	Hamp2
1436713_s_at	BM119226	Mm.289645	Gtl2
1447462_at	AI480533	Mm.3635	D7Wsu130e
1448261_at	NM_009864	Mm.35605	Cdh1
1448700_at	NM_008059	Mm.439721	G0s2
1450063_at	BM228488	Mm.330620	Fmn2
1450064_at	BM228488	Mm.330620	Fmn2
1453851_a_at	AK007410	Mm.281298	Gadd45g
1454159_a_at	AK011784	Mm.141936	Igfbp2
1455899_x_at	BB241535	Mm.3468	Socs3
1456081_a_at	AI987654	Mm.439974	Aacs
1456212_x_at	BB831725	Mm.3468	Socs3
1456225_x_at	BB508622	Mm.276018	Trib3

-Analiza metaboličnih poti v katere so vključeni nekateri diferencialno izraženi geni spadajo v skupine bioloških procesov, ki so zelo povezani z opaženim učinkom dodatka koencim Q10 (ta je deloval tako, da so se vitke miši manj zredile na aterogeni krmi). Tako so bile odkrite spremenjene poti celičnega cikla, metabolizma energije, geni vključeni v regulacijo mezenterialne tolšče in metabolnega sindroma, metabolizma lipidov, transport maščobnih kislin, signalni poti inzulinu-podobnega rastnega dejavnika in nekaterih genov vključenih v metabolizem v mitohondriju, kjer je po prejšnjih raziskavah že znano mesto delovanja koencima Q10. Nadaljnja validacija teh rezultatov in meta analiza med fenotipskimi podatki in podatki transkriptoma, bi morali odkriti nove vidike mehanizma učinkovanja koencima Q10 in razložiti na molekularnem nivoju terapevtski učinek na zmanjšanje razvoja debelosti pri določenih genotipih.

### Sklop 3: Statistična analiza podatkov in bioinformatika

S statistično analizo smo želeli preveriti učinek genotipa, vrste krme in dodatka antioksidantov na različne fenotipske značilnosti miši, kot so telesna masa in mase posameznih organov. V ta namen je bilo v eksperiment vključenih 120 miši, ki so se razlikovale po zgoraj omenjenih faktorjih. Vsaki od njih je bila izmerjena telesna masa pred tretmajem in po njem, prav tako pa je bilo po seciranju opravljenih več tehtanj različnih organov (jeter, maščob po raznih predelih telesa, ...). Zaradi pogina med izvajanjem eksperimenta je bilo v statistično obdelavo vključenih 111 miši. Statistične spremenljivke, ki smo jih obravnavali v analizi so bile genotip (debela ali suha linija), krma (aterogena (HF), neaterogena (LF) ali kontrolna (AL) krma, ter antioksidanti je spremenljivka, ki nam pove, če je bil krmi dodan koencim (Q), vitamin (E), oboje (EQ) ali pa krmi niso bili dodani antioksidanti (0).

- Od lastnosti smo v analizo vključili »absolutni prirast« (razlika med končno in začetno maso), »relativni prirastek« (definiran kot količnik med absolutnim prirastkom in začetno maso), spremenljivka »jetra« (masa mišjih jeter po seciranju) maščobeE (epididimalna), maščobeM (mezenterialna), maščobeA (abdominalna), maščobeF (femoralna) so intervalne spremenljivke, ki predstavljajo maso maščob na različnih delih mišjega telesa po seciranju.

Glavne ugotovitve analize so:

- na prirastek telesne mase (absolutni in relativni) statistično značilno vplivajo krma (p reda  $10e-7$ ), prisotnost antioksidantov ( $p=0,036$ ) in genotip ( $p=0,078$ ). Ostale spremenljivke in njihove kombinacije na prirastek ne vplivajo statistično značilno.
- na skupno količino maščob značilno vplivajo genotip (p reda  $10e-16$ ), kombinacija genotipa in krme (p reda  $10e-5$ ), prisotnost antioksidantov ( $p=0,010$ ), krme ( $p=0,016$ ) ter kombinacija genotipa in prisotnosti koencima Q ( $p=0,019$ ). Vpliv kombinacije krme in genotipa interpretiramo takole: tako aterogena kot neaterogena krma v primerjavi s kontrolno krmo pri »suhih« miših povečata količino maščob.
- na maso jeter, ki smo jo za potrebe analize transformirali, statistično značilno vplivajo genotip (p je reda  $10e-16$ ), krma (p je reda  $10e-7$ ) in kombinacija genotipa in krme ( $p=0,029$ )

Od vseh analiz smo pričakovano dobili visoko odzivnost večine parametrov pri obeh linijah miši med krmo z nizko vsebnostjo maščob ter obema krmama z visoko vsebnostjo maščob (aterogeno in ne-aterogeno). Najbolj zanimiv rezultat pa je bila odkrita statistično značilna interakcija med genotipom in prisotnostjo koencima Q10. Koencim Q10 je namreč deloval terapevtsko pri suhi liniji, ki se na aterogeni krmi s koencimom Q10 ni zredila toliko kot skupina krmljena samo na aterogeni krmi. Ta pozitiven učinek preprečevanja razvoja debelosti s koencimom Q10 v literaturi doslej še ni bil opisan.

#### OCENA USPEŠNOSTI INTER-INŠTITUCIONALNEGA SODELOVANJA

Ocenjujemo, da je bilo sodelovanje v projektni skupini zelo uspešno. Glede na potek poskusa in tematske sklope je vodja projekta skliceval redne sestanke posameznih delovnih skupin (recimo med dvema partnerjema, med tremi ali vseh štirih institucionalnih partnerjev skupaj). V poprečju smo se dobivali 2X mesečno, kjer smo izdelovali načrt nadaljnjih korakov in evalvirali potek poskusa in sodelovanja. Dodatna formalna zamreženost je nastala tudi preko razpisa skupne podiplomske študentke (magistrski študij), ki opravlja del analiz za ta projekt pod mentorstvom vodje projekta (Simon Horvat, BF) in sodelavi prof. dr Blaža Zupana (sodelavec na projektu na FRI). Sklop raziskav iz analize transkriptoma (odgovorna prof. dr. Damjana Rozman, MF), je bila opravljena v letošnjem letu, poleg tega je bila prof. Rozmanova prisotna na večini sestankov projektne skupine in je tudi opravila nekaj biokemijskih analiz (analitika plazme, jeter). Lahko sklenemo, da je inter-inštitucionalno sodelovanje potekalo zelo uspešno in popolnoma v skladu z vlogami posameznih sklopov v originalnem predlogu in v medsebojni pogodbi.

### 3. Izkoriščanje dobljenih rezultatov:

- 3.1. Kakšen je potencialni pomen<sup>2</sup> rezultatov vašega raziskovalnega projekta za:
- a) odkritje novih znanstvenih spoznanj;
  - b) izpopolnitev oziroma razširitev metodološkega instrumentarija;
  - c) razvoj svojega temeljnega raziskovanja;
  - d) razvoj drugih temeljnih znanosti;
  - e) razvoj novih tehnologij in drugih razvojnih raziskav.
- 3.2. Označite s katerimi družbeno-ekonomskimi cilji (po metodologiji OECD-ja) sovpadajo rezultati vašega raziskovalnega projekta:
- a) razvoj kmetijstva, gozdarstva in ribolova - Vključuje RR, ki je v osnovi namenjen razvoju in podpori teh dejavnosti;
  - b) pospeševanje industrijskega razvoja - vključuje RR, ki v osnovi podpira razvoj industrije, vključno s proizvodnjo, gradbeništvom, prodajo na debelo in drobno, restavracijami in hoteli, bančništvom, zavarovalnicami in drugimi gospodarskimi dejavnostmi;
  - c) proizvodnja in racionalna izraba energije - vključuje RR-dejavnosti, ki so v funkciji dobave, proizvodnje, hranjenja in distribucije vseh oblik energije. V to skupino je treba vključiti tudi RR vodnih virov in nuklearne energije;
  - d) razvoj infrastrukture - Ta skupina vključuje dve podskupini:
    - transport in telekomunikacije - Vključen je RR, ki je usmerjen v izboljšavo in povečanje varnosti prometnih sistemov, vključno z varnostjo v prometu;
    - prostorsko planiranje mest in podeželja - Vključen je RR, ki se nanaša na skupno načrtovanje mest in podeželja, boljše pogoje bivanja in izboljšave v okolju;
  - e) nadzor in skrb za okolje - Vključuje RR, ki je usmerjen v ohranjanje fizičnega okolja. Zajema onesnaževanje zraka, voda, zemlje in spodnjih slojev, onesnaženje zaradi hrupa, odlaganja trdnih odpadkov in sevanja. Razdeljen je v dve skupini:
  - f) zdravstveno varstvo (z izjemo onesnaževanja) - Vključuje RR - programe, ki so usmerjeni v varstvo in izboljšanje človekovega zdravja;
  - g) družbeni razvoj in storitve - Vključuje RR, ki se nanaša na družbene in kulturne probleme;
  - h) splošni napredek znanja - Ta skupina zajema RR, ki prispeva k splošnemu napredku znanja in ga ne moremo pripisati določenim ciljem;
  - i) obramba - Vključuje RR, ki se v osnovi izvaja v vojaške namene, ne glede na njegovo vsebino, ali na možnost posredne civilne uporabe. Vključuje tudi varstvo (obrambo) pred naravnimi nesrečami.

---

<sup>2</sup> Označite lahko več odgovorov.

3.3. Kateri so **neposredni rezultati** vašega raziskovalnega projekta glede na zgoraj označen potencialni pomen in razvojne cilje?

- Najbolj izviren neposreden rezultat projekta je odkrita statistično značilna interakcija med genotipom in prisotnostjo koencima Q10 v krmi. Koencim Q10 je deloval terapevtsko samo pri enem od dveh testiranih genotipov (suha linija), tako, da se ta linija na krmi z visoko vsebnostjo maščob in aterogenim učinkom ni zredila, če je bil krmi dodan koencim Q10. Ta pozitiven učinek preprečevanja razvoja debelosti s koencimom Q10 pri določenih genotipih v literaturi doslej še ni bil opisan in je tako predstavlja pomemben prispevek k novemu znanju na tem področju. Po drugi strani naš rezultat opozarja, da tudi pri ljudeh skupna priporočila po potrebah antioksidantov (npr koencima Q10) niso na mestu in se le te lahko razlikujejo glede na genotip.

Naš rezultat odpira torej vprašanje o primernosti priporočil za potrebe po posameznih antioksidantih, še posebej pri nekaterih bolezenskih stanjih, ki so povezane tudi z oksidacijskim stresom npr. metabolični sindrom. Tako bi bilo na podlagi naših rezultatov smiselno preveriti tudi pri ljudeh, kjer bi podobno kot pri našem mišjem modelu primerjali učinke koencima Q10 pri ekstremno suhih in ekstremno debelih ljudeh in ugotavljali terapevtski učinek koencima Q10 pri prehrani z visoko vrednostjo maščob. Veljalo bi točneje določiti potrebe po antioksidantu koencimu Q10 pri različnih skupinah genotipov glede na njihovo dovzetnost za razvoj debelosti ter določiti doze dodanega koencima, da se doseže optimalen terapevtski učinek..

3.4. Kakšni so lahko **dolgoročni rezultati** vašega raziskovalnega projekta glede na zgoraj označen potencialni pomen in razvojne cilje?

Boljše razumevanje delovanja antioksidantov v odvisnosti od fenotipsko-genotipskih povezav so izredno pomembne tudi za bodoče farmakološke terapije za zdravljenje in preprečevanje različnih bolezni. Prav razlike v potrebah po antioksidantih pri ljudeh z različnimi genotipskimi in fenotipskimi lastnostmi lahko vodijo do kontradiktornosti raziskovalnih rezultatov o vlogi antioksidantov. Naša nutrigenomska raziskava v tem oziru odpira nove razsežnosti v vrednotenju delovanja koencima Q10, ki še niso bile opisane in izkoriščene. Podrobnejše poznavanje molekularnega mehanizma sprememb v tarčnih tkivih, ki jih povzroči dodatek koencima Q10 identificira nove molekularne tarče, na katere lahko vplivamo tudi z drugimi dodatki ali razvijemo nova zdravila. Trenutno smo z našo analizo transkriptoma identificirali diferencialno izražene gene ob dodatku koencima Q10 in opredelili nekatere metabolne poti, ki so bile pri tem najbolj spremenjene. V bodoče pričakujemo, da bo naša nutrigenomska analiza pojasnila mehanizem delovanja koencima Q10 na molekularni ravni tako, da bomo opredelili nove terapevtske tarče

3.5. Kje obstaja verjetnost, da bodo vaša znanstvena spoznanja deležna zaznavnega odziva?

- a) v domačih znanstvenih krogih;
- b) v mednarodnih znanstvenih krogih;
- c) pri domačih uporabnikih;
- d) pri mednarodnih uporabnikih.

3.6. Kdo (poleg sofinancerjev) že izraža interes po vaših spoznanjih oziroma rezultatih?

Podjetje Valens d.o.o. (<http://www.q10vital.com/>) - je že v tekoči raziskavo z donacijo njihovega vodotopnega koencima Q10 pomagal pri raziskavi. Z našo raziskavo smo potrdili nekatere nove vidike delovanja koencima Q10, kar je to podjetje zelo zanimalo s promocijskega vidika. Ker to slovensko podjetje trži in razvija druge prehranske dodatke, so izrazili željo po nadaljnjem sodelovanju v večjih projektih, Trenutno smo z tem podjetjem v razgovorih glede prijave bodočih skupnih aplikativnih projektov.

3.7. Število diplomantov, magistrstov in doktorjev, ki so zaključili študij z vključenostjo v raziskovalni projekt?

1 diplomantka  
1 doktorant

#### 4. Sodelovanje z tujimi partnerji:

4.1. Navedite število in obliko formalnega raziskovalnega sodelovanja s tujimi raziskovalnimi inštitucijami.

4.2. Kakšni so rezultati tovrstnega sodelovanja?

#### 5. Bibliografski rezultati<sup>3</sup> :

*Za vodjo projekta in ostale raziskovalce v projektni skupini priložite bibliografske izpise za obdobje zadnjih treh let iz COBISS-a) oz. za medicinske vede iz Inštituta za biomedicinsko informatiko. Na bibliografskih izpisih označite tista dela, ki so nastala v okviru pričujočega projekta.*

<sup>3</sup> Bibliografijo raziskovalcev si lahko natisnete sami iz spletne strani:<http://www.izum.si/>

**6. Druge reference<sup>4</sup> vodje projekta in ostalih raziskovalcev, ki izhajajo iz raziskovalnega projekta:**

Predstavitve na konferencah oziroma javne predstavitve projekta:

-Matjaž Simončič, Ana Zanjko, Janez Salobir, Tamara Frankič, Lan Umek, Blaž Zupan, Tadeja Režen, Damjana Rozman and Simon Horvat 2008 Nutrigenomic analysis in the polygenic mouse model of obesity. 1st European Food Congress. Ljubljana, November 2008, vabljen predavanje

- SIMONČIČ, Matjaž, REŽEN, Tadeja, JUVAN, Peter, ROZMAN, Damjana, HORVAT, Simon. Analysis of liver transcriptome in mice long-term divergently selected on body fatness. V: POKLAR ULRIH, Nataša (ur.), ABRAM, Veronika (ur.), CIGIČ, Blaž (ur.). 7. srečanje Slovenskega biokemijskega društva z mednarodno udeležbo, 26.-29. september 2007 = 7th Meeting of the Slovenian Biochemical Society with International Participation, Maribor, September 26th to 29th, 2007. Zbornik povzetkov. Ljubljana: Slovensko biokemijsko društvo = Slovenian Biochemical Society, 2007, str. 175.

-SIMONČIČ, Matjaž, ROZMAN, Damjana, JUVAN, Peter, REŽEN, Tadeja, HORVAT, Simon. Uporaba tehnologije bio-čipov pri raziskovanju genetske osnove nalaganja maščevja pri poligenem modelu miši. V: DEBELJAK, Nataša (ur.), ŠPANINGER, Klemen (ur.). Znanstveni seminar Raziskave na področju bio-čipov v Sloveniji, 30. maj 2007, Ljubljana: 2. obletnica Centra za funkcijsko genomiko in bio-čipe. Ljubljana: Slovensko biokemijsko društvo, 2007, str. 28. [COBISS.SI-ID 22746585]

-SIMONČIČ, Matjaž, REŽEN, Tadeja, JUVAN, Peter, ROZMAN, Damjana, HORVAT, Simon. Analiza transkriptoma jeter miši, selekcioniranih glede na višji in nižji delež maščobnega tkiva v telesu. V: DEBELJAK, Nataša (ur.), ŠPANINGER, Klemen (ur.). Znanstveni seminar Raziskave na področju bio-čipov v Sloveniji, 30. maj 2007, Ljubljana: 2. obletnica Centra za funkcijsko genomiko in bio-čipe. Ljubljana: Slovensko biokemijsko društvo, 2007, str. 29. [COBISS.SI-ID 22747865]

-SIMONČIČ, Matjaž, ROZMAN, Damjana, JUVAN, Peter, REŽEN, Tadeja, FAZARINC, Gregor, HORVAT, Simon. Microarray analysis in liver tissue of fat and lean mice revealed cholesterol metabolic perturbations. V: BAVEC, Aljoša (ur.). 3rd CFGBC Symposium, Ljubljana, June 19, 2008. From arrays to understanding diseases. Ljubljana: Faculty of Medicine, 2008, str. 6-7. [COBISS.SI-ID 2323848]

Vabljen na predavanje konferenca podjetja Valens .d.o.o

2nd Annual Q10Vital Conference held in Ljubljana between 21st-22nd of June, 2007, Slovenia "Innovations and Discoveries in Q10Vital® -- Capitalizing on New discoveries in Bioavailability and Health

<sup>4</sup> Navedite tudi druge raziskovalne rezultate iz obdobja financiranja vašega projekta, ki niso zajeti v bibliografske izpise, zlasti pa tiste, ki se nanašajo na prenos znanja in tehnologije.

Navedite tudi podatke o vseh javnih in drugih predstavitev projekta in njegovih rezultatov vključno s predstavitvami, ki so bile organizirane izključno za naročnika/naročnike projekta.