



## Záverečná karta projektu

Názov projektu **Protinádorový účinok prírodných látok: zameranie na angiogénu** Evidenčné číslo projektu **APVV-0325-07**

Zodpovedný riešiteľ **Ján Mojžiš, prof. MVDr., CSc.**  
Príjemca **Univerzita P.J. Šafárika, Košice**

### Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

1. Ústav farmakológie, LF UPJŠ v Košiciach
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.

### Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

- 1.
- 2.
- 3.

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

- 1.
- 2.
- 3.

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

1. Stupáková V., Varinská L., Miroššay A., Šarišský M., Mojžiš J., Dankovčík R., Urdzík P., Ostró A., Mirossay L.: Photodynamic effects of hypericin in primary cultures of human umbilical endothelial cells and glioma cell lines. *Phytotherapy Res.* 23, 827-832, 2009.
2. Gál P, Toporcer T, Grendel T, Vidová Z, a kol.: Effect of Atropa belladonna L. on skin wound healing: biomechanical and histological study in rats and in vitro study in keratinocytes, 3T3 fibroblasts, and human umbilical vein endothelial cells. *Wound Repair Regen.* 17, 378-86, 2009.
3. Varinska L., Mirossay L., Mojzisova G., Mojzis J.: Antiangiogenic effect of selected phytochemicals. *Pharmazie* 65, 57-63, 2010
4. Pilatova M, Varinska L, Perjesi P, Sarissky M, Mirossay L, Solar P, Ostro A, Mojzis J.: In

vitro antiproliferative and antiangiogenic effects of synthetic chalcone analogues. *Toxicol In Vitro*. 24, 1347-1355, 2010.

5. Pilátová M, Stupáková V, Varinská L, Šarišsky M, Mirossay L, Miroššay A, Gal P, Kraus V, Dianišková K, Mojžiš J.: Effect of selected flavones on cancer and endothelial cells. *Gen Physiol Biophys*. 29, 134-143, 2010.

### **Uplatnenie výsledkov projektu**

Prírodné látky a ich potenciálne antiangiogénny účinok sú predmetom rozsiahleho výskumu v celosvetovom meradle. V našom projekte sme študovali aj látky, ktoré boli syntetizované po prvýkrát a u niektorých sme zistili veľmi perspektívne vlastnosti s ohľadom možného použitia v chemoprevencii alebo terapii nádorových ochorení.

Z krátkodobého hľadiska boli výsledky získané pri riešení projektu dôležité pre návrh a syntézu nových analógov prírodných látok. Z dlhodobého hľadiska zavedenie nových účinných látok do chemoprevenencie resp. terapie by malo priamy vplyv na zdravotný stav a prístupnosť ekonomicky aktívneho obyvateľstva, čím by došlo k zníženiu ekonomických strát spôsobených nádorovými ochoreniami.

### **CHARAKTERISTIKA VÝSLEDKOV**

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

Vzhľadom na stanovené ciele je možné konštatovať, že všetky kľúčové ciele boli splnené. Medzi najvýznamnejšie výsledky je možné považovať zistenie, že vybrané chalkóny inhibovali základné kroky angiogenézy v in vitro aj in vivo experimentoch. E-2-(4'-metoxybenzylidén)-1-benzosuberón v netoxických koncentráciách blokoval tvorbu mikrokapilárnej siete, inhiboval migráciu endotelových buniek a aktivitu MMP-9 ako aj sekréciu VEGF.

Ďalší z chalkónov, 4-hydroxychalkón (4-HC), taktiež v netoxickej koncentrácii inhiboval VEGFom indukovanú proliferáciu a migráciu endotelových buniek ako aj ich diferenciaciu na tubulárne štruktúry na Matrigeli. Taktiež formovanie mikrokapilárnych štruktúr na 3D fibrinovej matici bolo kompletne inhibované bez akýchkoľvek známkov cytotoxicity. Pri štúdiu možného mechanizmu antiangiogénneho účinku sme preukázali jeho schopnosť inhibovať fosforyláciu Akt a ERK po stimulácii VEGF a bFGF. Inkubácia endotelových buniek s 4-HC významne znížila VEGF a TNF-alfa-indukovanú tvorbu u-PA po 24 h. 4-HC taktiež významne inhiboval tvorbu kapilár stimulovaných bFGF na modeli angiogenézy s využitím kuracích embrií.

V ďalšej sérii experimentov sme taktiež popísali antiangiogénny účinok hypericínu, ktorý v netoxických koncentráciách významne ovplyvňoval niektoré kľúčové kroky angiogenézy vrátane migrácie endotelových buniek, aktivity matrix metaloproteináz (MMP-9 a MMP-2) ako aj tvorbu mikrokapilárnej siete.

V experimentoch s flavonoidmi sme zistili, že zmes flavonoidov mala výraznejšie antiangiogénne vlastnosti ako samostatné flavonoidy (kvercetín a chryzín).

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

Given the objectives can be stated that all key aims were met. The most important results we found were that the selected chalcones inhibited the basic steps of angiogenesis in in vitro and in vivo conditions. E-2-(4'-methoxybenzylidene)-1-benzosuberone in non-toxic concentrations, inhibited VEGF-induced migration of human umbilical vein endothelial cells and microcapillary tube formation. Moreover, it also decreased secretion of matrix metalloproteinase (mainly MMP-9) and VEGF.

Furthermore, we have also documented the in vitro and in vivo antiangiogenic activities of 4-hydroxychalcone (4-HC). This chalcone, suppressed the several steps of angiogenesis, including microcapillary tube formation, cell migration and proliferation, without any signs of cytotoxicity. In addition, 4-HC was able to modulate phosphorylation of ERK and Akt kinases after stimulation with VEGf and bFGF. Moreover, it inhibited VEGF and TNF-alpha-induced

production of u-PA. The potent inhibitory effect of 4-HC on neovascularization has also been demonstrated in vivo using the chicken embryo chorioallantoic membrane assay.

In another set of experiments we described antiangiogenic effect of hypericin. This compound in non-toxic concentrations inhibited endothelial cells migration, microapillary tube formation as well as matrix metalloproteinase (MMP-9 a MMP-2) activity.

We also found that mixture of flavonoids possesses more significant antiangiogenic effects compared to pure flavonoids such as quercetin or chrysin.

Svojím podpisom potvrdzujem, že údaje uvedené v záverečnej karte sú pravdivé a úplné a súhlasím s ich zverejnením.

**Zodpovedný riešiteľ**

prof. MVDr. Ján Mojžiš, CSc

V Košiciach, 20. 07. 2011

**Štatutárny zástupca príjemcu**

prof. MUDr. Ladislav Mirossay, DrSc.

V Košiciach, dd. 07. 2011

.....  
podpis zodpovedného riešiteľa

.....  
podpis štatutárneho zástupcu príjemcu