

Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-14-0932**

Účinok nanoenkapsulovaného simvastatínu na kardiovaskulárny systém pri experimentálnom metabolickom syndróme

Zodpovedný riešiteľ **doc. RNDr. Oľga Pecháňová, DrSc.**

Príjemca **Centrum experimentálnej medicíny SAV - Ústav normálnej a patologickej fyziológie**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

1. Centrum experimentálnej medicíny SAV, Ústav normálnej a patologickej fyziológie
2. Ústav experimentálnej fyziky SAV
3. Ústav polymérov SAV

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Srbsko

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

V rámci riešenia projektu nebol podaný, ani udelený patent.

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

1. CEBOVÁ, Martina - REHÁKOVÁ, Radoslava - KOŠÚTOVÁ, Michaela - PECHÁŇOVÁ, Oľga. Simvastatin does not affect nitric oxide generation increased by sesame oil in obese Zucker rats. In *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018, vol. 2018, art. no. 5413423, 7 pages (4.868 - IF2018).
2. PECHANOVA, OLGA - BARTA, ANDREJ - KONERACKA, MARTINA - ZAVISOVA, VLASTA – KUBOVCIKOVA, MARTINA - KLIMENTOVA, JANA - TÖRÖK, JOZEF - ZEMANCIKOVA, ANNA – CEBOVA MARTINA. Protective Effects of Nanoparticle-Loaded Aliskiren on Cardiovascular System in Spontaneously Hypertensive Rats. In *Molecules*, 2019, vol. 24, no. 15, article number 2710 (3.060 - IF2018).
3. PEPTU, C, BALAN-PORCARASU, M, ŠIŠKOVÁ, A, ŠKULTÉTY, Ľ, MOSNÁČEK, J. Cyclodextrins tethered with oligolactides - green synthesis and structural assessment. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 2017, vol. 13, p. 779-792 (2.337 - IF2016).
4. VRANKOVÁ, Stanislava - BARTA, Andrej - KLIMENTOVÁ, Jana - DOVINOVA, Ima - LÍŠKOVÁ, Silvia - DOBEŠOVÁ, Zdena - PECHÁŇOVÁ, Oľga - KUNEŠ, Jaroslav - ZICHA, Josef. The regulatory role of nuclear factor kappa B in the heart of hereditary hypertriglyceridemic rat. In *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016, vol. 2016, article ID 9814038, 6 p. (4.492 - IF2015).
5. ANTOŠOVÁ, Andrea - BEDNARIKOVÁ, Zuzana - KONERACKÁ, Martina - ANTAL, Iryna - MAREK, Jozef - KUBOVČÍKOVÁ, Martina - ZÁVIŠOVÁ, Vlasta – JURÍKOVÁ, Alena –

GAŽOVÁ, Zuzana. Amino-acid functionalized magnetic nanoparticles inhibit lysozyme amyloid fibrillization. In Chemistry - A European Journal. 25, Issue: 31 (2019) 7501-7514 (5.160 - IF2018).

6. ZAVISOVA, V., KONERACKA, M., GABELOVA, A., SVITKOVA, B., URSINYOVA, M., KUBOVCIKOVA, M., ANTAL, I., KHMARA, I., JURIKOVA, A., MOLCAN, M., OGNJANOVIĆ, M., ANTIĆ, B., KOPCANSKY, P, Effect of magnetic nanoparticles coating on cell proliferation and uptake. Journal of Magnetism and Magnetic Materials 472 (2019) 66-73 (2.683 - IF2018).

Uplatnenie výsledkov projektu

Pri riešení projektu sme získali originálne výsledky, ktoré môžu byť podkladom pre klinické experimenty s následným výstupom do klinickej praxe.

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

Podľa stanovených cieľov rozdelených do jednotlivých etáp sme pripravili polymérne nanočastice so simvastatínom, CoQ10 a ich kombináciou, a s inhibítorom PCSK9, ktoré boli vhodné pre dlhodobé podávanie in vivo. Ide o biokompatibilné kopolymérne nanočastice so zosieteným hydrofóbnym jadrom a hydrofilným vonkajším obalom. Účinky simvastatínu, CoQ10 a ich kombinácie, a inhibítora PCSK9 v polymérnych nanočasticiach sme porovnali s účinkami práškovej formy uvedených látok. Z analýzy vzoriek vyplýva, že najlepší účinok na lipidový profil obéznych Zucker potkanov má inhibítor PCSK9 v oboch formách, ktorý znižoval hladinu LDL až na úroveň lean potkanov. Po podávaní iPCSK9 v oboch formách došlo i k signifikantnému nárastu aktivity NO syntázy (NOS) v aorte, ale bez vplyvu na aktivitu NOS v srdci. Rovnaký vplyv na aktivitu NOS malo len kumulované podávanie simvastatínu s CoQ10 v práškovej forme. CoQ10 a jeho kombinácia so simvastatínom v polymérnych nanočasticiach dokázali zvýšiť aktivitu NOS v ľavej komore srdca i aorte. Z proteínovej expresie eNOS, fosforylovanej eNOS, iNOS a NFκB, bola po podávaní iPCSK9 významne znížená expresia NFκB a po podávaní CoQ10 a jeho kombinácie so simvastatínom v polymérnych nanočasticiach sa významne zvýšila expresia eNOS a fosforylovanej eNOS v ľavej komore srdca i aorte. CoQ10 v oboch formách znížil proteínovú expresiu podjednotky p22 NADPH oxidázy a rovnako jej aktivitu. Na oxidačný stav, sledovaný niekoľkými metódami, malo významný vplyv len podávanie CoQ10 v oboch formách a to v zmysle zníženia oxidačného poškodenia v srdci, pečeni i v obličkách. Sledovanie vazoaktivity mezenterickej artérie u jednotlivých skupín poukázalo na významné zvýšenie relaxácie po podávaní simvastatínu v oboch formách, avšak s vyšším stupňom signifikancie pre simvastatín v polymérnych nanočasticiach. Tieto výsledky sú v dobrom pozitívnom vzťahu s hodnotami krvného tlaku, keďže iba simvastatín v polymérnych nanočasticiach dokázal významne znížiť systolický tlak obéznych Zucker potkanov na konci 6-týždňového podávania. Za tento pokles pravdepodobne zodpovedá znížená hmotnosť potkanov a hladiny cholesterolu po podávaní simvastatínu v polymérnych nanočasticiach. Z našich výsledkov vyplýva, že len podávanie simvastatínu v polymérnych nanočasticiach dokázalo znížiť hladinu cholesterolu, hmotnosť potkanov a systolický krvný tlak. Práškový simvastatín túto schopnosť nepreukázal. Ako však odhalili morfológické štúdie a stanovanie elastatínu a kolagénu v aorte, podávanie samotných nanočastíc malo negatívne účinky na endotel a cievnu stenu, keďže viedlo k nárastu kolagénu. Preto sú potrebné ďalšie štúdie zamerané na prípravu nanočastíc rôznej veľkosti z rôznych polymérov a sledovanie ich účinkov in vivo. V každom prípade, podávanie simvastatínu v polymérnych nanočasticiach malo lepší vplyv na sledované parametre než podávanie práškovej formy. Nanoenkapsulovaný simvastatín si preto zaslúži ďalšie sledovania a analýzy a to perspektívne i formou klinickej štúdie.

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

Based on the objectives of the project, we prepared polymer nanoparticles with simvastatin, CoQ10 and their combination, and with PCSK9 inhibitor, which were suitable for long-term administration in vivo. These are biocompatible copolymer nanoparticles with a crosslinked hydrophobic core and a hydrophilic outer shell. The effects of simvastatin, CoQ10 and their combination and of PCSK9 inhibitor in polymeric nanoparticles were compared with the

effects of the powder form of the compounds. Sample analysis showed that PCSK9 inhibitor in both forms, which lowered LDL levels on the level of lean rats, had the best effect on the lipid profile of obese Zucker rats. Administration of iPCSK9 in both forms led further to a significant increase in NOS activity in the aorta, but without affecting NOS activity in the heart. Only cumulative administration of simvastatin with CoQ10 in powder form had such an effect on aortic NOS. CoQ10 and its combination with simvastatin in polymeric nanoparticles were able to increase NOS activity in the left ventricle of the heart and aorta. Of the protein expressions of eNOS, phosphorylated eNOS, iNOS, and NFκB, NFκB expression was significantly reduced after administration of iPCSK9, and CoQ10 and its combination with simvastatin in polymeric nanoparticles significantly increased expression of eNOS and phosphorylated eNOS in the left ventricle of the heart. In both forms, CoQ10 reduced the protein expression of the p22 NADPH oxidase subunit as well as its activity. Only the administration of CoQ10 in both forms had a significant effect on the oxidation status, as measured by several methods, in terms of reducing oxidative damage in the heart, liver and kidney. Investigation of vasoactivity of mesenteric artery in the study groups showed a significant increase in relaxation after administration of simvastatin in both forms, but with a higher degree of significance for simvastatin in polymeric nanoparticles. These results are in a good positive relationship with blood pressure values since only simvastatin in polymeric nanoparticles was able to significantly reduce the systolic pressure of obese Zucker rats at the end of the 6-week administration. This decrease is probably due to decreased rat weight and cholesterol levels after administration of simvastatin in polymer nanoparticles. Our results showed that only administration of simvastatin in polymeric nanoparticles was able to reduce cholesterol, rat weight and systolic blood pressure. Simvastatin powder did not demonstrate this ability. However, as morphological studies and the determination of elastatin and collagen in the aorta revealed, the administration of nanoparticles alone had unfavorable effects on the endothelium and vascular wall as it led to an increase in collagen. Therefore, further studies are needed to prepare nanoparticles of varying size from different polymers and to monitor their effects in vivo. In any case, administration of simvastatin in polymeric nanoparticles had a better effect on the endpoints than administration of the powder form. Therefore, nanoencapsulated simvastatin deserves further monitoring and analysis, prospectively by means of a clinical study.