

## Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-15-0229****Vplyv flavonoidov a mykotoxínov na tukové tkanivo v závislosti od celkového metabolického stavu, zápalu a oxidačného stresu.**Zodpovedný riešiteľ **Ing. Štefan Zorad, CSc.**Príjemca **Biomedicínske centrum SAV - Ústav experimentálnej endokrinológie**

### Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Biomedicínske centrum SAV - Ústav experimentálnej endokrinológie.  
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre - Katedra fyziológie živočíchov (KFŽ),  
Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Katedra výživy ľudí (KVL) a Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov.  
Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum (NPPC) - Výskumný ústav živočíšnej výroby (VÚŽV).

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

Jagiellonian University, Kraków, Poland - Department of Pharmacology  
Vinca Institute of Nuclear Sciences, Belgrade, Serbia - Department of Molecular Biology and Endocrinology

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

žiadne

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

Počas riešenia projektu nám vyšlo 11 impaktovaných publikácií a jedna knižná kapitola v zahraničí.

SLAMKOVÁ, Miroslava - ZORAD, Štefan - KRŠKOVÁ, Katarína. Alternative renin-angiotensin system pathways in adipose tissue and their role in the pathogenesis of obesity. In Endocrine Regulations, 2016, vol. 50, no. 4, p. 229-240. ISSN 1210-0668.

ROMIC, Snjezana - KRŠKOVÁ, Katarína - OLSZANECKI, Rafal - BALÁŽOVÁ, Lucia - LÓRY, Viktória - KORICANAC, Goran - SLAMKOVÁ, Miroslava - ZORAD, Štefan. Obesity and age-related alterations in FAT/CD36 translocation and lipin-1 subcellular localization in skeletal muscle of the Zucker rats. In General Physiology and Biophysics, 2017, vol. 36, no. 4, p. 399- 406. (1.170 - IF2016). (2017 - Current Contents). ISSN 0231-5882.(VEGA 2/0174/17 : Vplyv inhibície aminopeptidázovej aktivity iRAP (inzulínom-regulovaná aminopeptidáza) na metabolizmus tukového tkaniva pri obezite a inzulínovej rezistencii.

CAPCAROVÁ, Marcela - KALAFOVÁ, Anna - SCHWARZOVÁ, Marianna - ŠOLTÉSOVÁ PRNOVÁ, Marta - ŠVÍK, Karol - SCHNEIDGENOVÁ, Monika - SLOVÁK, Lukáš - BOVDIŠOVÁ, Ivana - TOMAN, Robert -

LÓRY, Viktória - ZORAD, Štefan. The high-energy diet affecting development of diabetes symptoms in Zucker diabetic fatty rats. In *Biologia*, 2018, vol. 73, no. 7, p. 659-671. (0.696 - IF2017). (2018)

LÓRY, Viktória - KRŠKOVÁ, Katarína - BALÁŽOVÁ, Lucia - JEŽOVÁ, Daniela - ZORAD, Štefan. Vzťah expresie apolipoproteínu C3, oxytocínového receptora a ukazovateľov metabolizmu lipidov a glukózy v tukovom tkanive počas chronického stresu. In *Študentská vedecká konferencia PriF UK 2018 : zborník recenzovaných príspevkov*. Editori: Michal Galamboš, Eva Viglašová, Vladimíra Džugasová, Andrea Ševčovičová, Adela Bobovská. - Bratislava : Univerzita Komenského v Bratislave vo Vydavateľstve UK, 2018, s. 367-373. ISBN 978-80-223-4517-0.

CAPCAROVÁ, Marcela\*\* - KALAFOVÁ, Anna - SCHWARZOVÁ, Marianna - SCHNEIDGENOVÁ, Monika - ŠVÍK, Karol - ŠOLTÉSOVÁ PRNOVÁ, Marta - SLOVÁK, Lukáš - KOVÁČIK, Anton - LÓRY, Viktória - ZORAD, Štefan - BRINDZA, Ján. Cornelian cherry fruit improves glycaemia and manifestations of diabetes in obese Zucker diabetic fatty rats. In *Research in veterinary science*, 2019, vol. 126, p. 118-123. (2018: 1.751 - IF, Q1 - JCR, 0.548 - SJR, Q2 - SJR, karentované – CCC).

DOBRÓCSYOVÁ, Viktória\*\* - KRŠKOVÁ, Katarína - CAPCAROVÁ, Marcela - ZORAD, Štefan. Modulation of Adipogenesis and Oxidative Status by Quercetin and Ochratoxin A: Positive or Negative Impact on Rat Adipocyte Metabolism? In *Molecules*, 2019, vol. 24, no. 20, art.no. 3726. (2018: 3.060 - IF, Q2 - JCR, 0.757 - SJR, Q1 - SJR, karentované – CCC).

LÓRY, Viktória\*\* - BALÁŽOVÁ, Lucia - KRŠKOVÁ, Katarína - HORVÁTHOVÁ, Ľubica - OLSZANECKI, Rafal - SUSKI, Maciej - ZORAD, Štefan. Obesity and aging affects skeletal muscle renin-angiotensin system and myosin heavy chain proportions in pre-diabetic Zucker rats. In *Journal of Physiology & Biochemistry*, 2019, vol. 75, no. 3, p. 351-365. (2018: 2.523 - IF, Q2 - JCR, 0.872 - SJR, Q2 - SJR, karentované - CCC).

BALOGO VÁ, Erika - LÓRY, Viktória - BALÁŽOVÁ, Lucia - OLSZANECKI, Rafal - PENESOVÁ, Adela - ZORAD, Štefan - KRŠKOVÁ, Katarína. Vplyv obezity na expresiu (pro)renínového receptora v tukovom tkanive. In *Študentská vedecká konferencia PriF UK 2019: Zborník recenzovaných príspevkov*, 9. apríl 2019, Bratislava. Editori: Michal Galamboš, Vladimíra Džugasová, Andrea Ševčovičová, Adela Bobovská. - Bratislava : Univerzita Komenského vo Vydavateľstve UK, 2019, s. 33-38. ISBN 978-80-223-4711-2.

Cacanyiova S, Krskova K, Zorad S, Frimmel K, Drobna M, Valaskova Z, Misak A, Golas S, Breza J, Breza J Jr, Berenyiova A. Arterial Hypertension and Plasma Glucose Modulate the Vasoactive Effects of Nitroso-Sulfide Coupled Signaling in Human Intrarenal Arteries. *Molecules*. 2020 Jun 23;25(12):2886. doi: 10.3390/molecules25122886. PMID: 32585916; PMCID: PMC7356001.

Dobrocsyova V, Slamkova M, Krskova K, Balazova L, Suski M, Olszanecki R, Cacanyiova S, Zorad S. AVE0991, a Nonpeptide Angiotensin 1-7 Receptor Agonist, Improves Glucose Metabolism in the Skeletal Muscle of Obese Zucker Rats: Possible Involvement of Prooxidant/Antioxidant Mechanisms. *Oxid Med Cell Longev*. 2020 Jan 27;2020:6372935. doi: 10.1155/2020/6372935. PMID: 32089774; PMCID: PMC7008284.

Krskova K, Balazova L, Dobrocsyova V, Olszanecki R, Suski M, Chai SY, Zorad Š. Insulin-Regulated Aminopeptidase Inhibition Ameliorates Metabolism in Obese Zucker Rats. *Front Mol Biosci*. 2020 Dec 4;7:586225. doi: 10.3389/fmolb.2020.586225. PMID: 33344504; PMCID: PMC7746680.

Cente M, Zorad S, Smolek T, Fialova L, Paulenka Ivanovova N, Krskova K, Balazova L, Skrabana R, Filipcik P. Plasma Leptin Reflects Progression of Neurofibrillary Pathology in Animal Model of Tauopathy. *Cell Mol Neurobiol*. 2020 Sep 30. doi: 10.1007/s10571-020-00972-6. Epub ahead of print. PMID: 32997211.

Dupák, R. - Jaszczka, K. - Kalafova, A. - Schneidgenova, M. - Ivanisova, E. - Tokaorva, K. - Brindza, J. - Capcarova, M. 2020. Characterization of compounds in Cornelian cherry (*Cornus mas L.*) and its effect on interior milieu in ZDF. In *Emirates Journal of Food and Agriculture*, vol. 32, no. 5, pp. 368-375. ISSN 2079-0538.

Capcarová, M. Šoltésova Prnová, M. Švík, K. Schneidgenová, M. Slovák, L. Kisska, P. Mamráková, R. Pristašová, M. Kalafová, A. : Rodent animal model for research in diabetes: a mini-review. *Slovak Journal of Animal Science*, 51, 2018 (3): 138 – 145.

Capcarová, M. Kalafová, A. Schneidgenová, M. Juráček, M. Šimko, M. Gálik, B. : Flavonoidy včelieho peľu zlepšujú antioxidačný potenciál krvi Wistar potkanov. Recenzovaný zborník vedeckých prác Slovenskej spoločnosti pre poľnohospodárske,

lesnícke, potravinárske a veterinárne vedy pri Slovenskej akadémii vied, pobočka Nitra, Nitra 2018, s. 15 – 27. ISBN 978-80-552-1921-9

Capcarova, M. Kalafova, A. Dchwarzova, M. Schneidgenova, M. Soltesova Prnova, M. Svik, K. Slovak, L. Kovacik, A. Brindza, J. Consumption of bee bread influences glycaemia and development of diabetes in obese spontaneous diabetic rats. In *Biologia*, vol. 75, (2020), pp. 705-711. ISSN 0006-3088.

Capcarová, M. - Kalafová, A. 2020. Zucker diabetic fatty rats for research in diabetes. In Tvrdá, E. and Yenissetti, S.Ch. *Animal Models in Medicine and Biology*. London : Intech Open, p. 93-106. ISBN 978-1-83880-011-6

### **Uplatnenie výsledkov projektu**

Výsledky projektu môžu prispieť k ďalšiemu rozvoju nových stratégií vedeckého výskumu, analýze poznatkov z viacerých vedných odborov s cieľom reálneho uplatnenia prírodných produktov v terapii a prevencii metabolických ochorení.

Zistili sme, že výsledný účinok testovaných látok bol závislý na ich dávke a dĺžke expozície. Je veľmi dôležité určiť správnu a konkrétnu dávku používaného prídavku, aby bol dosiahnutý benefičný efekt. Okrem medicínskeho a nutričného efektu je dôležité aj ekonomické hľadisko. V súčasnosti je potrebné hľadanie nových liečiv a prírodných látok s ochrannou funkciou. A práve prírodné látky sú považované za potenciálnych kandidátov pri rozvoji liečiv a zohrávajú kľúčovú úlohu vo vývojových štúdiách. Navyše, prírodné látky predstavujú zdroj bioaktívnych látok s farmakologickým pôsobením, ktoré nemajú nežiaduce účinky na organizmus v porovnaní so syntetickými prípravkami. Počas riešenia projektu sme zorganizovali 2 vedecké konferencie na uvedenú tému.

Dosiahnuté výsledky projektu predstavujú sľubnú perspektívu pri dizajnovaní ďalších experimentov a boli použité pri príprave nadväzujúceho APVV projektu s názvom "Molekulárny a klinický prejav účinku etnofarmaceutík detegovaný na živočíšnom modeli" na obdobie riešenia 2020-2024, ktorý bol schválený a momentálne je riešený. Okrem toho výsledky týkajúce sa enzýmu ACE2 u obéznych potkanoch Zucker boli použité v návrhu projektu PP-COVID (16.9.2020-31.12.2021) "Nové perspektívy v liečbe kardiovaskulárnych komplikácií spojených s COVID-19", ktorý bol schválený a je nami ako spoluriešiteľmi riešený.

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

Kvercetín patrí medzi najčastejšie sa vyskytujúce flavonoidy v prijímanej potrave, ktoré ovplyvňujú redoxný stav tukových buniek, čím môžu ovplyvniť adipogenézu a metabolizmus. Ľudská populácia je neustále vystavená pôsobeniu mykotoxínu ochratoxínu A (OTA) z niektorých potravín. Predpokladá sa, že antioxidanty môžu chrániť bunky pred cytotoxicitou a genotoxicitou vyvolanou OTA. Cieľom nášho projektu bolo sledovať vplyv kvercetínu a OTA na metabolizmus tukového tkaniva a diferenciáciu preadipocytov. V in vitro štúdiách na primárnych potkaních preadipocytoch izolovaných z podkožného tukového tkaniva Wistar potkanov sme sledovali vplyv kvercetínu v rôznych dávkach na adipogenézu, oxidačný status a vychytávanie glukózy za bazálnych podmienok v porovnaní s hyperglykemickým prostredím, alebo s prídavkom OTA do kultivačného média. Zistili sme dávkovo-závislý účinok kvercetínu na inhibíciu adipogenézy, čo bolo sprevádzané aj so zníženou tvorbou reaktívnych foriem kyslíka (ROS). Znížená tvorba ROS úzko súvisí aj s poruchou vychytávania glukózy v bunkách kultivovaných s prídavkom OTA. Tieto výsledky sme potvrdili aj v in vivo štúdiu v podkožnom tukovom tkanive obéznych diabetických potkanov kmeňa Zucker. Chronické podávanie kvercetínu po dobu 6 týždňov v dávke 20mg/kg telesnej hmotnosti/deň znižovalo veľkosť adipocytov, čo bolo sprevádzané inhibíciou diferenciácie buniek a znížením expresie markerov zápalu. Zaznamenali sme aj inhibíciu expresie prooxidačných génov vplyvom podávania kvercetínu. Zmenšenie adipocytov môže byť vysvetlené indukciou lipolýzy vplyvom kvercetínu, čo je sprevádzané zvýšeným uvoľňovaním voľných mastných kyselín do cirkulácie. Súčasne dochádza k aktivácii génov zahrnutých v mitochondriálnej biogenéze a oxidatívneho metabolizmu v podkožnom tukovom tkanive. Okrem toho, v retroperitoneálnom tukovom tkanive bola zvýšená expresia "uncoupling" (odpájacieho) proteínu 1, čo môže prispievať k uvoľňovaniu nadbytočnej energie vo forme tepla.

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

Quercetin is one of the most commonly occurring flavonoids in food, which affects the redox state of adipocytes, thereby affecting adipogenesis and adipose metabolism. The human population is constantly exposed to ochratoxin A (OTA) from some foodstuff. Antioxidants are believed to protect cells from cytotoxicity and genotoxicity induced by OTA. The main goal of our project was to investigate the effect of quercetin and OTA application on adipose tissue metabolism and preadipocyte differentiation. In in vitro studies on primary rat preadipocytes isolated from subcutaneous adipose tissue of Wistar rats, we observed the effect of quercetin at different doses on adipogenesis, oxidative status, and glucose uptake under basal conditions either compared to hyperglycemic conditions, or with the addition of OTA. We found a dose-dependent effect of quercetin on inhibition of differentiation, which was accompanied by a reduction in reactive oxygen species (ROS) production. Reduced ROS formation is also closely related to impaired glucose uptake caused by OTA. These results were confirmed in vivo in the subcutaneous adipose tissue of 30-week-old obese diabetic Zucker rats. Chronic oral administration of quercetin for 6 weeks at dose of 20mg/kg body weight/day reduced adipocyte size, accompanied by inhibition of cell differentiation and decreased expression of inflammatory markers. We also detected a shift in redox equilibrium through inhibition of prooxidative genes by quercetin administration. Reduction in adipocyte size can be explained by the induction of lipolysis, which is accompanied by increased release of free fatty acids into the circulation. At the same time, genes involved in mitochondrial biogenesis and oxidative metabolism in adipose tissue are activated. In addition, the expression of uncoupling protein 1 was increased in retroperitoneal adipose tissue, which may contribute to the release of excess energy in the form of heat.