

# Nanoparticulele și ateroscleroza în studii experimentale pe animale de laborator

Bogdan Halatiu, Roxana Hodas, Monica Chițu, Theodora Benedek

Centrul de Cercetare Avansată în Imagistică Cardiacă Multimodală, Centrul Medical Cardio Med, Târgu Mureș, România

## CORESPONDENȚĂ

**Roxana Hodas**

Str. 22 Decembrie 1989 nr. 76  
540124 Târgu Mureș, România  
Tel: +40 265 217 333  
E-mail: roxana.hodas@yahoo.ro

## ISTORICUL ARTICOLULUI

Primit: 15 Ianuarie 2020  
Acceptat: 20 Februarie 2021  
Publicat online 20 Februarie 2021

## ABSTRACT

Odată cu creșterea speranței de viață, la o populație tot mai îmbătrânită, este de așteptat ca patologia cardiovasculară determinată de boala aterosclerotică să se găsească în cifrele mari de mortalitate la nivel mondial. Progresul tehnic și farmacologic, ne aduc ca de fiecare dată în prim plan îmbunătățiri în ceea ce privește diagnosticul și tratamentul bolii ischemice cardiovasculare. Utilizarea de nanoparticule pentru administrarea de principii active care să țintească în mod mult mai exact anumite etape ale procesului de ateroscleroză au fost studiate în studii experimentale. Promisiunea utilizării pe scală largă, în practica clinică, a nanoparticulelor deschide periodic noi direcții în cercetarea fundamentată. Lucrarea de față are ca și scop trecerea în revistă a utilității nanoparticulelor în reducerea procesului aterosclerotic în studiile experimentale pe animale de laborator.

**Cuvinte cheie:** boli ischemice cardiovasculare, nanoparticule, procesul de ateroscleroză, animale de laborator

## INTRODUCERE

Bolile cardiovasculare continuă, în ciuda eforturilor susținute, să rămână principala cauză de morbi-mortalitate, fiind responsabile de 45% din cauzele de deces la nivel european. Boala coronariană ischemică și accidentul vascular cerebral ischemică însumând până la aproximativ 31% dintre acestea.<sup>1</sup> În evaluarea morfologică și funcțională a bolii coronariene ischemice sunt utilizate o serie de tehnici imagistice. Cea mai utilizată examinare de tip non-invaziv este angio-computer tomografia cu substanță de contrast, fiind foarte utilă în excluderea suferinței ischemice a miocardului în practica clinică, cu limitările de rigoare de ordin hemodinamic.<sup>2-4</sup> Cu rol major în urmărirea pacienților ce prezintă boală cardiacă ischemică este și rezonanța magnetică nucleară cardiacă. Utilizarea celor două tehnici imagistice pe scală largă a dus în ultima perioadă la un mai management mai bun al pacientului cardiovascular.<sup>5</sup>

Proprietățile unor nanomateriale le fac ideale pentru utilizarea în practica clinică pentru îmbunătățirea diagnosticului. Acestea sunt capabile să acționeze țintit, cu reducerea efectelor pe celule și țesuturi neinteresate de procesul pato-

**Bogdan Halatiu** • Str. 22 Decembrie 1989 nr. 76,  
540124 Târgu Mureș, România. Tel: +40 265 217 333,  
E-mail: bhalatiu@yahoo.com

**Monica Chițu** • Str. 22 Decembrie 1989 nr. 76, 540124  
Târgu Mureș, România. Tel: +40 265 217 333, E-mail:  
iulia.chitu@yahoo.com

**Theodora Benedek** • Str. 22 Decembrie 1989 nr. 76,  
540124 Târgu Mureș, România. Tel: +40 265 217 333,  
E-mail: theodora.benedek@gmail.com

logic. Administrarea țintelor terapeutice prin intermediul nanoparticulelor nu mai ține de domeniul trecutului, asocierea terapiei prin nanoparticule cu tehnicile imagistice a dus la o continuă dezvoltare a conduitei terapeutice în practica clinică.<sup>6</sup>

## **ROLUL NANOPARTICULELOR ÎN PREVENȚIA INFLAMAȚIEI DIN ATEROSCLEROZĂ**

Odată cu creșterea speranței de viață în ultimele decenii, boala aterosclerotică a devenit o adevărată problemă de sănătate publică.<sup>7</sup> Celulele inflamatorii, citokinele pro-inflamatorii, alături de depunerea lipidelor în peretele arterial reprezintă unul din mecanismele cheie în procesul de formare a plăcii aterosclerotice, mecanisme ce asigură un status inflamator crescut la nivel arterial.<sup>8,9</sup> Utilizarea în nanoparticulele a interleukină 10 (IL10), o citokină cu efect anti-inflamator, a indicat un efect antiinflamator la nivelul plăcilor aterosclerotice într-un model animal la șoareci. Studiile au indicat de asemenea un efect țintă al nanoparticulelor IL10 asupra țesutului inflamator, fără să aibă un efect deprimant pe sistemul imun.<sup>10</sup> În reducerea inflamației au fost studiate și nanoparticulele cu prednisolon, care au arătat o reducere a inflamației la nivelul plăcii aterosclerotice, un efect mai prelungit prin prelungirea timpului de înjumătățire, fără o creștere a riscului toxic. Acidul ribonucleic (ARN) interferent mic, un ARN bicatenar, de dimensiuni mici, capabil să neutralizeze o genă, a fost din ce în ce mai utilizat în ultima perioadă în practica experimentală terapeutică. ARN-ul interferent mic care să vizeze anumite molecule de adeziune celulară, responsabile de recrutarea leucocitelor în placa aterosclerotică a fost studiat la șoricelii apoE, la care s-a observat o scădere semnificativă a inflamației post infarct miocardic. În mod cu totul inovativ, aceste rezultate exemplifică posibilitatea ca inflamația plăcii aterosclerotice să poată fi abordate direct folosind nanoparticule țintite.<sup>11,12</sup>

## **PREVENȚIA FORMĂRII DE NEO-VASE**

În diferite stadii de ateroscleroză s-a observat procesul de formare de neo-vase, relația dintre severitatea bolii și procesul de neovascularizație fiind unul direct proporțional, fiind direct proporțional.<sup>13</sup> Studiile indică un proces intens de neovascularizație la pacienții cu sindroame coronariene acute, comparativ cu cei ce prezintă boală coronariană cronică stabilă sau ateroscleroză subclinică.<sup>14</sup> În procesul de formare de neo-vase sunt implicați o serie de factori de creștere, dintre care cel mai important este factorul de

creștere endotelial vascular.<sup>15</sup> Agenți anti factor de creștere endotelial vascular și-au dovedit utilitatea în studii experimentale pe reducerea plăcii aterosclerotice la șoarecii de laborator apo E.<sup>16</sup> În studii pe animale combinația în nanoparticule a agenților anti-angiogeneză cu statine (atorvastatină) a pus în evidență, prin tehnici imagistice, un efect superior pe reducerea numărului de neo-vase decât utilizarea agenților anti-angiogeneză în monoterapie, indicând efectul statinelor pe reducerea formării neo-vaselor.<sup>17</sup>

## **METABOLISMUL LIPIDELOR – ȚINTĂ A NANOPARTICULELOR**

Metabolismul colesterolului reprezintă una din principalele ținte în reducerea procesului aterosclerotic. În studiile experimentale modularea metabolismului lipidic s-a realizat prin intermediul ARN-ului interferent mic, care a fost utilizat în studiile pe rozătoare în reducerea nivelurilor de LDL-colesterol și colesterol total.<sup>18,19</sup> Utilizarea ARN-ului interferent mic în procesul de inhibiție al proproteinei covertază subtilisin/ketin tip 9 (PCSK9) arată rezultate promițătoare în scăderea valorilor colesterolului. Nanoparticulele s-au dovedit, recent, utile în scăderea producției de PCSK9 la nivel hepatic, cu rezultate promițătoare în reducerea colesterolului chiar și după o singură doză.<sup>20</sup>

## **PREVENȚIA PROCESULUI TROMBOTIC PRIN NANOPARTICULE**

Procesul trombotic reprezintă un declanșator al sindroamelor coronariene acute. Agenți terapeutici ce țintesc declanșarea hemostazei intavascularare prin activarea și agregarea trombocitelor, respectiv inițierea cascadei coagulării, permit prevenția formării trombului și în mod automat a apariției sindroamelor coronariene acute.

În prevenția procesului trombotic, nanoparticulele sunt utilizate pentru administrarea de agenți trombolitici (activatorul tisular de plasminogen, streptokinaza, urokinaza) și a medicamentelor anticoagulante (inhibitori direcți de trombină).<sup>21-24</sup> Utilizarea activatorului tisular de plasminogen în studii experimentale a arătat rezultate spectaculoase pe repermeabilizare vaselor. La șoarecii apoE utilizarea de nanoparticule ca și target în procesul trombotic a arătat un efect important antitrombotic direct la nivelul plăcii aterosclerotice. Noile concepte de eliberare controlată a agenților anti-trombotici propulsează nanoparticule în linia întâi prin efectele benefice în terapia de reperfuzie, dar și prin scăderea efectelor adverse hemoragice.<sup>24</sup>

## CONCLUZII

Succesul studiilor experimentale cu nanoparticule în administrarea țintită de principii active deschid o mare poartă către două opțiuni de îmbunătățire a tratamentului și chiar către noi terapii pentru pacienții cu boli vasculare. Trecerea înspre aplicația clinică reprezintă o necesitate, iar cei care au avansat astfel de rezultate înspre practica clinică ne oferă promisiunea unui adevărat tratament individualizat al pacientului cu patologiei cardiovasculare. Implementarea modelelor animale relevante din punct de vedere clinic, vor permite prin strategii bazate pe imagistica prin nanoparticule a terapiei țintă pentru fiecare pacient și o predicție a răspunsului la tratament. Reacțiile adverse și toxicitatea medicamentelor utilizate în practica clinică sunt și ele considerente importante, care înclină balanța viitorului farmacologic în practica clinică în favoarea nanoparticulelor.

## CONFLICT DE INTERESE

Nimic de declarat.

## MENȚIUNE

Această cercetare a fost susținută prin intermediul grantului de cercetare nr. 103544/2016, contractul nr. 26/01.09.2016, intitulat „Creșterea capacității de cercetare în domeniul imagisticii vulnerabile a plăcilor, bazată pe nanoparticule avansate, imagistica prin fuziune și simulare computațională – PlaqueImage”, finanțat de Ministerul Fondurilor Europene din România Guvernul României și Uniunea Europeană.

## REFERINȚE

1. Timmis A, Townsend N, Gale C, et al. European Society of Cardiology: Cardiovascular disease statistics 2017. *Eur Heart J*. 2018;39:508-577.
2. van der Zaag-Loonen HJ, Dijkers R, Bock GH, Oudkerk M. The clinical value of a negative multi-detector computed tomographic angiography in patients suspected of coronary artery disease: A meta-analysis. *Eur Radiol*. 2006;16:2748-2756.
3. van Werkhoven JM, Heijnenbroek MW, Schuijff JD, et al. Diagnostic Accuracy of 64-Slice Multislice Computed Tomographic Coronary Angiography in Patients With an Intermediate Pretest Likelihood for Coronary Artery Disease. *Am J Cardiol*. 2010;105:302-305.
4. Pelgrim GJ, Dorrius M, Xie X, et al. The dream of a one-stop-shop: Meta-analysis on myocardial perfusion CT. *Eur J Radiol*. 2015;84:2411-2420.
5. Kramer CM, Anderson JD. MRI of atherosclerosis: diagnosis and monitoring therapy. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2007;5:69-80.
6. Khan I, Saeed K, Khan I. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arab J Chem*. 2019;12:908-931.
7. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012;32:2045-2051.
8. Kojima Y, Weissman IL, Leeper NJ. The Role of Efferocytosis in Atherosclerosis. *Circulation*. 2017;135:476-489.
9. Kamaly N, Fredman G, Fojas JJ, et al. Targeted Interleukin-10 Nanotherapeutics Developed with a Microfluidic Chip Enhance Resolution of Inflammation in Advanced Atherosclerosis. *ACS Nano*. 2016;10:5280-5292.
10. Baylis RA, Gomez D, Mallat Z, Pasterkamp G, Owens GK. The CANTOS Trial: One Important Step for Clinical Cardiology but a Giant Leap for Vascular Biology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2017;37:e174-e177.
11. Kasikara C, Doran AC, Cai B, Tabas I. The role of non-resolving inflammation in atherosclerosis. *J Clin Invest*. 2018;128:2713-2723.
12. Gossel M, Versari D, Hildebrandt HA, Bajajowski T, Sangiorgi G, Erbel R, Ritman EL, Lerman LO, Lerman A. Segmental heterogeneity of vasa vasorum neovascularization in human coronary atherosclerosis. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2010;3:32-40.
13. Dunmore BJ, McCarthy MJ, Naylor AR, Brindle NP. Carotid plaque instability and ischemic symptoms are linked to immaturity of microvessels within plaques. *J Vasc Surg*. 2007;45:155-159.
14. Greenberg JL, Shields DJ, Barillas SG, Acevedo LM, Murphy E, Huang J, Scheppe L, Stockmann C, Johnson RS, Angle N, Cheresch DA. A role for VEGF as a negative regulator of pericyte function and vessel maturation. *Nature*. 2008;456:809-813.
15. Winter PM, Neubauer AM, Caruthers SD, Harris TD, Robertson JD, Williams TA, Schmieder AH, Hu G, Allen JS, Lacy EK, Zhang H, Wickline SA, Lanza GM. Endothelial alpha(v)beta3 integrin-targeted fumagillin nanoparticles inhibit angiogenesis in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006;26:2103-2109.
16. Winter PM, Caruthers SD, Zhang H, Williams TA, Wickline SA, Lanza GM. Antiangiogenic synergism of integrin-targeted fumagillin nanoparticles and atorvastatin in atherosclerosis. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2008;1:624-634.
17. Zimmermann TS, Lee AC, Akinc A, et al. RNAi-mediated gene silencing in non-human primates. *Nature*. 2006;441:111-114.
18. Tadin-Strapps M, Peterson LB, Cumiskey AM, et al. siRNA-induced liver ApoB knockdown lowers serum LDL-cholesterol in a mouse model with human-like serum lipids. *J Lipid Res*. 2011;52:1084-1097.
19. Frank-Kamenetsky M, Grefhorst A, Anderson NN, et al. Therapeutic RNAi targeting PCSK9 acutely lowers plasma cholesterol in rodents and LDL cholesterol in nonhuman primates. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105:11915-11920.
20. Kawata H, Uesugi Y, Soeda T, et al. A new drug delivery system for intravenous coronary thrombolysis with thrombus targeting and stealth activity recoverable by ultrasound. *J Am Coll Cardiol*. 2012;60:2550-2557.
21. Zhou J, Guo D, Zhang Y, Wu W, Ran H, Wang Z. Construction and evaluation of Fe(3)O(4)-based PLGA nanoparticles carrying rtPA used in the detection of thrombosis and in targeted thrombolysis. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2014;6:5566-5576.
22. Pawlowski CL, Li W, Sun M, Ravichandran K, Hickman D, Kos C, Kaur G, Sen Gupta A. Platelet microparticle-inspired clot-responsive nanomedicine for targeted fibrinolysis. *Biomaterials*. 2017;128:94-108.
23. Bi F, Zhang J, Su Y, Tang YC, Liu JN. Chemical conjugation of urokinase to magnetic nanoparticles for targeted thrombolysis. *Biomaterials*. 2009;30:5125-5130.
24. Palekar RU, Jallouk AP, Myerson JW, Pan H, Wickline SA. Inhibition of Thrombin With PPACK-Nanoparticles Restores Disrupted Endothelial Barriers and Attenuates Thrombotic Risk in Experimental Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2016;36:446-455.