

44. konferencia Komisie experimentálnej kardiológie
pri Slovenskej fyziologickej spoločnosti
a Českej fyziologickej spoločnosti

Zborník abstraktov

400 rokov

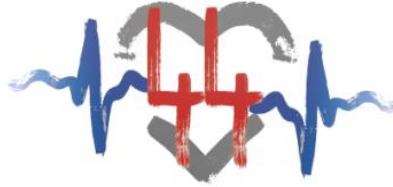
kardiovaskulárneho výskumu - pocta W. Harveymu



**Ústav normálnej a patologickej fyziológie SAV
Bratislava**



44. konferencia
Komisie experimentálnej kardiológie



Organizačný výbor

Predseda

Iveta Bernátová

Členovia

Peter Bališ

Martina Cebová

Michal Kluknavský

Michaela Košútová

Miroslava Kvandová

Oľga Pecháňová

Angelika Púzserová

Editori

Peter Bališ

Iveta Bernátová

Angelika Púzserová

Stará Lesná, Vysoké Tatry, 17. – 19. október 2016

ÚLOHA VOĽNÝCH KYSLÍKOVÝCH RADIKÁLOV V REGULÁCIÍ KRVNÉHO TLAKU PRI AKÚTNOM STRESE

Bališ P¹, Goga R², Behuliak M³, Zicha J³, Sekaj I², Bernátová I¹

¹Ústav normálnej a patologickej fyziológie, SAV, Bratislava, Slovenská republika, ²Ústav robotiky a kybernetiky, Fakulta elektrotechniky a informatiky, STU, Bratislava, Slovenská republika, ³Fyziologický ústav AV ČR, Praha, Česká republika, peter.balis@savba.sk

V našej *in vivo* štúdií sme sa zamerali na reaktívne forie my kyslíka (ROS) a ich úlohe v kardiovaskulárnom systéme u bdelych 12-16 týždňových Wistar potkanov, ktoré sme vystavili krátkodobému (3 s) stresovému podnetu vo forme prúdu vzduchu do hornej časti hlavy tzv. "air-jet" podnet. Týmto experimentom sme chceli rozšíriť čiastkové poznatky o úlohe ROS v regulácii tlaku krvi (TK).

Blokovali sme štyri hlavné regulačné systémy TK: blokácia sympatikového nervového systému (SNS) použitím pentolína (P, 5 mg/kg), inhibícia renín-angiotenzín-aldosterónového systému (RAAS) použitím kaptoprilu (C, 10 mg/kg), inhibícia systému L-arginín/oxid dusnatý použitím N^G-nitro-L-arginín metyl esteru (L, 30 mg/kg) a vychytávanie ROS použitím tempolu (T, 25 mg/kg). Jednotlivé látky sme podávali intravenózne prostredníctvom polyetylénovej kanyly zavedenej do v. jugularis samostatne, alebo v kombinácii (trojkombinácia P+L+C alebo štvorkombinácia P+L+C+T) v objeme 1 µl/g váhy potkana. Stredný arteriálny tlak (MAP) bol meraný v a. carotis použitím kanyly zapojenej na snímaciu hlavicu prístroja PowerLab® (ADInstruments, Australia, vzorkovacia frekvencia 400 Hz) a výsledky sme vyhodnocovali programom LabChart 7 Reader (ADInstruments, Australia) a Matlab®.

Prvý air-jet podnet zvýšil hodnotu MAP o $35,2 \pm 3,0$ % (vs. predpätie), tretí podnet bol signifikantne nižší (vs. prvý podnet, $p < 0,05$). Samostatné podávanie T, C a P znížilo MAP o -9 ± 4 mm Hg (T, n.s.), -12 ± 2 mm Hg (C, $p < 0,05$) a o -27 ± 5 mmHg (P, $p < 0,05$) a podávanie L zvýšilo MAP o 42 ± 3 mm Hg ($p < 0,001$ vs. bazálna hodnota). Po podaní C alebo T air-jet podnet zvýšil MAP, po P sa hodnota MAP znížila ($p < 0,05$ vs. bazálna hodnota). Reakcia po podaní L a následny air-jet podnet TK výrazne neovplyvnil. Po trojkombinácii (P+L+C) a následného air-jet podnetu sa znížila maximálna hodnota Δ MAP o $-17,3 \pm 1,3$ % (vs. predpätie) a doba ustálenia bola $20,1 \pm 4,2$ s. Po štvorkombinácii (P+L+C+T) sme pozorovali prehĺbenie odpovede maximálnej Δ MAP na hodnotu $-26,4 \pm 2,2$ % ($p < 0,005$) a predĺženie doby ustálenia na $32,6 \pm 3,3$ s ($p < 0,05$) vs. P+L+C. Zaznamenaná plocha pod krivkou pri trojkombinácii a štvorkombinácii bola 167 ± 43 a 433 ± 69 a.j. ($p < 0,008$), v danom poradí.

Naše výsledky ukázali, že inhibícia a nedostatok ROS v kardiovaskulárnom systéme po akútnom air-jet strese zvyšuje maximálnu Δ MAP a predlžuje dobu ustálenia do pôvodného rovnovážneho stavu po stresovom podnete u potkanov s porušenou reguláciu TK.

Táto štúdia bola podporená grantom APVV-0523-10, VEGA 2/0084/14 a MVTS AV CR-16-18 a grantom 15-25396 Ministerstva zdravotníctva Českej republiky.

KARDIOPROTEKTÍVNE ÚČINKY KVERCETÍNU

Barteková M^{1,2}, Ferenczyová K¹, Radošinská J^{1,2}, Fogarassyová M¹, Dovinová I³,
Okruhlicová L¹, Tribulová N¹, Ravingerová T¹, Barančík M¹

¹Ústav pre výskum srdca SAV, Bratislava, Slovenská republika, ²Fyziologický ústav, Lekárska fakulta Univerzity Komenského v Bratislave, Bratislava, Slovenská republika, ³Ústav normálnej a patologickej fyziológie SAV, Bratislava, Slovenská republika

Kvercetín je prírodný flavonoid, vyskytujúci sa vo viacerých druhoch ovocia a zeleniny, ako napríklad v jablkách či cibuli, alebo aj v červenom víne. Boli preukázané jeho viaceré pozitívne účinky na ľudské zdravie, vrátane účinkov na kardiovaskulárny systém, napríklad jeho schopnosť znižovať krvný tlak pri hypertenzii.

Cieľom práce bolo zistiť účinky kvercetínu na odolnosť srdca voči I/R poškodeniu u potkanov, vrátane preskúmania modulácie týchto účinkov vplyvom veku, a tiež súčasnej liečby doxorubicínom. Sledovali sa tiež možnosti ovplyvnenia viacerých negatívnych účinkov doxorubicínu kvercetínom, nielen priamo v súvislosti s I/R. Cieľom bolo tiež odhaliť molekulárne mechanizmy podieľajúce sa na účinkoch kvercetínu v srdci.

Experimentálnym modelom I/R poškodenia bola globálna ischémia izolovaného srdca perfundovaného podľa Langendorffa. Kvercetín sa aplikoval buď akútne - priamo do perfúzneho roztoku (15 μmol/L), alebo bol podávaný potkanom rôzneho veku chronicky - perorálne počas 4 resp. 6 týždňov v dávke 20 mg/kg/deň. U časti potkanov bol súčasne s kvercetínom aplikovaný aj doxorubicín v kumulatívnej dávke 15 mg/kg i.p. Molekulárne mechanizmy sa sledovali pomocou techník Western blotu, zymografie, a tiež s využitím komerčných kitov pre sledovanie enzýmových aktivít. Zmeny ultraštruktúry srdcového tkaniva sa detegovali pomocou elektrónovej mikroskopie.

Kvercetín zvyšoval odolnosť srdca voči I/R poškodeniu u zdravých potkanov, a to v akútnom ako aj chronickom podaní. Protektívny účinok kvercetínu pri in vivo aplikácii však závisel od veku potkanov, ako aj od dĺžky podávania pri zachovaní rovnakej dávky. Kvercetín bol účinný aj u potkanov vystavených súčasnému podávaniu doxorubicínu. Celkovo sa protektívny účinok kvercetínu voči I/R prejavil najmä v zlepšenej obnove funkčných parametrov srdca po ischémii. Súčasne so zlepšením obnovy funkcie srdca došlo k aktivácii Akt/GSK3-β/β-katenínovej signalizačnej dráhy a k zvýšenej expresii konexínu-43. Kvercetín bol zároveň schopný zabrániť niektorým negatívnym zmenám vyvolaným doxorubicínom, konkrétne zmenám ultraštruktúry, aktivácii apoptózy, a tiež zmenám aktivít MMP-2 a SOD v tkanive srdca.

Na základe našich výsledkov konštatujeme, že kvercetín vykazuje protektívne účinky voči I/R poškodeniu srdca, a to nielen u zdravých jedincov, ale aj u jedincov s doxorubicínovou ko-medikáciou. Protektívne účinky kvercetínu voči I/R poškodeniu sú pravdepodobne sprostredkované inými molekulárnymi mechanizmami (Akt/GSK3-β/β-katenín; Cx-43) ako jeho protektívne účinky voči deterioračným účinkom doxorubicínu (MMP-2, apoptóza).

Práca vznikla za podpory grantov: VEGA SR 2/0061/16, 2/0108/15 a APVV-0348-12.

PROFILOVÁNÍ GENOVÉ EXPRESE POMOCÍ ČIPOVÉ ANALÝZY BIOMARK U KMENŮ SHR A SHR-MTBN V ODPOVĚDI NA HYPOXICKOU ADAPTACI

Brabcová I¹, Neckář J², Pravenec M², Žurmanová J¹

¹ Katedra fyziologie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze, ² Fyziologický ústav Akademie věd České republiky, Praha, Česká Republika

Adaptace na chronickou hypoxii zvyšuje odolnost myokardu k ischemicko-reperfúznímu poškození u kmene spontánně hypertenzního potkana (SHR) a u konplastického kmene (SHR-mtBN), který byl vznikl selektivním nahrazením mitochondriálního genomu kmene SHR genomem z odolnějšího kmene Brown Norway. Cílem studie byl screening 48 vybraných genů z oblasti glukózového a lipidového metabolismus, antioxidantů a apoptózy a analýza vlivu chronické normobarické hypoxie (CNH) na expresi vybraných genů v levé komoře srdeční u potkaních kmenů SHR a SHR-mtBN.

Dospělí potkani kmenů SHR a SHR-mtBN byli vystaveni CNH (10% O₂) po dobu 3 týdnů. Expres mRNA transkriptů byla stanovena pomocí čipové Biomark analýzy. Data byla analyzována pomocí Fluidigm Real-Time PCR, GeneX (MultiD, SE) a GraphPadPrism vs. 5 (Graphpad, US) softwarů. Pro statistickou analýzu byla použita ANOVA, posttest Tukey's Multiple Comparison.

U obou kmenů CNH zvýšila mRNA expresi genů PKCD, MAOA, HMOX1, PDK3, ACER2 a snížila expresi PDP2. Expres genů PGC1 (↓), ACADL (↓), CD36 (↓), PRX6 (↓) se po adaptaci změnila pouze u kmene SHR. U kmene SHR-mtBN došlo specificky ke zvýšení expresi CASP3 a fosfolipáz, PLA2G4A a PLA2G2a. Analýza klastrů naznačuje odlišné charakteristiky mezi kmeny v normoxii, zatímco CNH sjednotila charakteristiky obou kmenů.

Expres vybraných genů na úrovni mRNA naznačuje, že u kmene SHR dochází po adaptaci k útlumu lipidového metabolismu a současně k posílení anaerobního glukózového metabolismu. U konplastického kmene SHR-mtBN došlo k nárůstu anaerobního glukózového metabolismu po adaptaci, avšak bez útlumu lipidového metabolismu. PCA analýza zároveň ukazuje, že adaptace na CNH má pro vybrané geny sjednocující charakter nezávislý na typu mitochondriálního genomu.

Podporováno Grantovou agenturou Univerzity Karlovy v Praze GAUK č. 1214214.
Podporováno Grantovou agenturou České republiky č. 13-10267.

MUTACE T309I JAKO MOŽNÁ „FOUNDER“, MUTACE SYNDROMU DLOUHÉHO INTERVALU QT TYPU I

Bébarová M¹, Vejmělek A¹, Hošek J², Andršová I³, Valášková I⁴, Gaillyová R⁴, Vít P⁵,
Novotný T³

¹Fyziologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno, ²Ústav molekulární biologie a farmaceutické biotechnologie, Farmaceutická fakulta, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, ³Interní kardiologická klinika, FN Brno a Lékařská fakulta Masarykovy univerzity, Brno, ⁴Oddělení lékařské genetiky, FN Brno a Lékařská fakulta Masarykovy Univerzity, Brno, ⁵Pediatrická klinika, FN Brno a Lékařská fakulta Masarykovy Univerzity, Brno, Česká republika

Mutace v genech kódujících strukturu srdečních iontových kanálů jsou podkladem vzniku různých typů dědičných arytmii. Každá rodina má obvykle svou „vlastní“ mutaci. Stejná mutace nacházená v nepříbuzných rodinách ze stejného regionu může představovat tzv. „founder“ mutaci.

Cílem této práce je poskytnout první dostupné klinické, genetické i funkční charakteristiky mutace c.926C>T v genu *KCNQ1* (p.T309I), která je možnou „founder“ mutací syndromu dlouhého QT (LQTS) typu I v našem regionu.

Členové rodin s podezřením na LQTS podstoupili klinické vyšetření včetně hodnocení změn intervalu QT při ergometrii. U jedinců s vysokou pravděpodobností klinické diagnózy byla provedena mutační analýza genů souvisejících s LQTS (zejména *KCNQ1*, *KCNH2*, *SCN5A*). V rodinách nositelů mutace T309I bude dále provedeno zjištění geografické lokalizace původu předků v otcovské linii pomocí analýzy haplotypu mikrosatelitů (STR, *Short Tandem Repeats*) lokalizovaných v nonrekombinantní oblasti chromosomu Y (NRY). První pokusy v rámci funkční analýzy byly provedeny na přechodně exprimovaných lidských kanálech metodou *whole cell patch clamp* při 37 °C.

V 5 nepříbuzných rodinách (14 žen, 9 mužů) s výskytem LQTS byla nalezena mutace T309I genu *KCNQ1* u 7 žen a 4 mužů. Hodnota intervalu QT u nosičů mutace byla 470±20 ms v klidu a 490±20 ms ve 4. minutě restituce, u zdravých jedinců pak 410±30 ms v klidu a 420±20 ms ve 4. minutě restituce. Dva nosiči mutace prodělali synkopu či resuscitovanou oběhovou zástavu. Před započítáním zjišťování dopadu mutace T309I na funkci kanálu pro pomalou složku zpožděného draslíkového proudu z buňky (I_{Ks}) je třeba stanovit základní funkční parametry u kanálu bez mutace. Ustálená aktivace těchto kanálů dosahovala poloviční hodnoty při 11,1±1,1 mV (sklon křivky 13,9±0,7 mV). Velikost tzv. „tail“ proudu při -40 mV následujícím po 5 s při +60 mV byla 317,5±60,1 pA (kapacita buněk 10,5±1,1 pF). Aktivace i deaktivace kanálů probíhala exponenciálně; aktivace s časovou konstantou 2,94±0,3 s při 0 mV a 1,15±0,09 s při +60 mV, deaktivace s časovou konstantou 168,0±14,2 ms při -80 mV a 568,4±66,5 ms při -40 mV. Při vyšších stimulačních frekvencích docházelo díky neúplné deaktivaci k významnému navýšení proudu.

První analýza mutace T309I podporuje naši hypotézu, že by mohla tato mutace hrát roli „founder“ mutace syndromu dlouhého QT typu I v našem regionu. Funkční analýza kanálů bez mutace potvrdila základní vlastnosti těchto kanálů známé z literatury. Získané výsledky jsou tedy dobrým východiskem pro porovnání vlastností kanálů s mutací T309I a bez ní.

Práce byla podpořena grantovým projektem s reg. č. 16-30571A Agentury pro zdravotnický výzkum Ministerstva zdravotnictví České republiky.

STUDIUM KARDIOPROTEKTIVNÍCH ÚČINKŮ NOVĚ SYNTETIZOVANÝCH DERIVÁTŮ DEXRAZOXANU NA MODELU CHRONICKÉ ANTRACYKLINOVÉ KARDIOTOXICITY

Brázdová P¹, Jirkovský E¹, Pokorná Z¹, Jirkovská A², Adamcová M³, Karabanovich G⁴, Roh J⁴, Šimůnek T², Štěrba M¹

¹Ústav farmakologie, Lékařská fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova, Hradec Králové, Česká republika, ²Katedra biochemických věd, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova, Hradec Králové, Česká republika, ³Ústav fyziologie, Lékařská fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova, Hradec Králové, Česká republika, ⁴Katedra anorganické a organické chemie, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova, Hradec Králové, Česká republika,

Dexrazoxan (DEX) je dosud jediným kardioprotektivem schváleným pro klinické užití při ochraně myokardu před toxicitou antracyklinových (ANT) cytostatik. Účinek DEX byl tradičně vysvětlován přeměnou na chelatačně aktivní metabolit, který by měl bránit vzniku ROS v myokardu. Novější data ale naznačují, že by za účinek mohla zodpovídat parentní molekula a její interakce s topoisomerasou II β , která byla v nedávné době navržena jako hlavní cíl pro toxicitu ANT v myokardu. Velmi málo informací je ovšem známo o vztahu struktury a účinku DEX.

Cílem této práce bylo studium kardioprotektivních účinků dvou nově syntetizovaných strukturně blízkých derivátů DEX (N,N'-dimethyl derivátu - GK-627 a *iso*-methyl derivátu - GK-580) na modelu chronické ANT kardiotoxicity *in vivo*. Chemická obměna struktury DEX byla navržena tak, aby neodstranila možnost vzniku chelatačního metabolitu obdobně jako u DEX.

ANT kardiotoxicita byla navozena na modelu u králíka pomocí daunorubicinu (DAU; 3 mg/kg/týden po 10 týdnů). DEX byl aplikován v zavedeném schématu (60 mg/kg, i.p. 30 min před každou dávkou DAU). Deriváty DEX (GK-627 a GK-580) byly aplikovány v kombinaci s DAU ve stejném schématu a dávce jako DEX. Fyziologický roztok a samotný derivát GK-627 byly podávány analogicky. Srdeční funkce byla hodnocena pomocí echokardiografického a katetrizačního vyšetření levé komory (LK). Srdeční troponin T byl stanovován v plazmě jako biomarker toxického poškození myokardu.

Podání DEX spolu s DAU velmi účinně zabránilo předčasnému úhynu zvířat, vzniku morfologických změn LK, dysfunkci LK a vzestupu srdečního troponinu T navozeného DAU. Podání nových strukturně velmi blízkých derivátů DEX spolu s DAU ovšem vedlo k odlišným výsledkům. Ani jeden z derivátů nebyl schopen zabránit (ani významně omezit) předčasný úhyn navozený DAU (mortalita byla 37 a 30 % v kombinačních skupinách vs. 30% u samotného DAU). Podání nových derivátů DEX také nemělo významný pozitivní vliv na rozvoj systolické dysfunkce a vzestup srdečního troponinu T v plazmě. Samotný derivát GK-627 byl dobře tolerován a neměl negativní vliv na kardiovaskulární parametry. Pilotní data naznačují, že rozdíl v kardioprotektivní účinnosti DEX a jeho dvou derivátů není způsoben farmakokinetikou těchto látek, ale spíše farmakodynamikou – pravděpodobně schopností ovlivnit topoisomerasu II β v myokardu.

Volné imidové skupiny (s kyselými vodíky) se jeví nezbytné pro kardioprotektivní účinek DEX. Experiment s GK-580 naznačuje nároky na sterické interakce piperazindionových

cyklů s cílovou molekulou pro účinek DEX. Dosavadní výsledky ukazují na velmi těsný vztah struktury a kardioprotektivního účinku DEX.

Tato práce byla podpořena granty GAČR 13-15008S a GAUK 680216.

PROGRESE HYPERTENZE A ONEMOCNĚNÍ LEDVIN U FAWN-HOODED POTKANŮ: ROLE RENIN-ANGIOTENZINOVÉHO SYSTÉMU A PROTEKTIVNÍCH MECHANISMŮ

Doleželová Š^{1,2}, Kopkan L¹, Husková Z¹, Vojtíšková A¹, Kujal P¹, Červenka L¹

¹*Centrum experimentální medicíny, Institut klinické a experimentální medicíny, Praha, ČR,*

²*Katedra fyziologie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Praha, Česká republika*

Fawn-Hooded (FHH) potkani jsou unikátním genetickým modelem spontánní hypertenze doprovázené glomerulární hyperfiltrací a proteinurií, nicméně přesný patofyziologický mechanismus podílející se na rozvoji hypertenze a renálního poškození zatím není znám.

Cílem této studie bylo zhodnotit výši krevního tlaku (BP) u bdělých zvířat a stupeň poškození ledvin a stanovit aktivitu renin-angiotenzinového systému (RAS), oxidu dusnatého (NO) a vazodilatačních eikosanoidů (EETs).

V první části byl potkanům měřen BP pomocí telemetrie a byl proveden opakovaný sběr moči pro stanovení proteinurie. V druhé části byli 3 a 9 měsíční samci a zaléčeni blokádou RAS (ACE inhibitor - perindopril 5 mg/kg/den a blokátor receptoru pro Ang II - losartan 50 mg/kg/den) nebo placebem po dobu 28 dní. Ve třetí části byly u 3 a 9 měsíčních samců měřeny akutní vaskulární odpovědi na intravenózní podání Ang II a noradrenalinu (NA) v dávce 65 a 300 ng/kg a acetylcholinu (ACh) v dávce 150 a 650 ng/kg. Na konci experimentů byly odebrány tkáně pro biochemickou a histologickou analýzu.

Rozvoj hypertenze u FHH potkanů (ze 138 ± 4 na 162 ± 5 mmHg od 3. do 12. měsíce stáří) koreloval s nárůstem proteinurie oproti normotenzní kontrole (FHL). Přestože koncentrace Ang II v plazmě a v ledvině nebyly zvýšené oproti FHL, blokáda RAS u FHH potkanů snížila jak BP, tak hladinu Ang II v ledvině. Navíc FHH vykazují vyšší systémovou i renální citlivost k Ang II oproti FHL. Naproti tomu aktivita NO syntázy a hladina EETs byla u 9 měsíčních FHH snižena oproti FHL a renální citlivost k ACh byla snižena.

Tato studie ukázala, že progresse hypertenze a chronického poškození ledvin u FHH potkanů zřejmě není dána aktivitou RAS, přestože FHH potkani vykazují zvýšenou citlivost k AngII. Navíc inhibice RAS vedla ke snížení BP a oddálila progresi poškození ledvin u tohoto modelu. Naopak aktivita antihypertenzních a protektivních faktorů jako NO a EETs s věkem u tohoto modelu klesá, proto by terapeutické ovlivnění jejich aktivity, vedle inhibice RAS, mohlo být prospěšné v léčbě hypertenze asociované s renálním selháním.

Práce byla podpořena grantem GAUK č. 806314

VYUŽITÍ NEINVAZIVNÍCH METOD PRO MĚŘENÍ KREVNÍHO TLAKU A EKG U MALÝCH LABORATORNÍCH ZVÍŘAT

Dufek D¹, Stračina T¹, Babula P^{1,2}, Nováková M^{1,2}

¹Fyziologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno, Česká republika,
²Mezinárodní centrum klinického výzkumu ICRC, Fakultní nemocnice u Sv. Anny v Brně,
 Brno, Česká republika

Měření krevního tlaku a záznamu EKG u laboratorních zvířat v experimentální kardiologii představuje metodický problém. Zejména pro získání EKG bylo doposud nutné zvířeti podat anestezii, která významně mění kardiovaskulární parametry. Moderní neinvazivní metody umožňují získání těchto hodnot u zvířat při plném vědomí.

Neinvazivní měření krevního tlaku a EKG u potkana během chronické aplikace antipsychotik.

Zvířata byla ustájena v prostředí s monitorovanou teplotou, tlakem a vlhkostí vzduchu se světelným cyklem 12/12 (světlo/tma). Do studie bylo zahrnuto 24 samců potkana kmene Wistar rozdělených do 3 skupin: skupina HAL (n = 8; haloperidol, 2 mg/kg), skupina MEL (n = 8; melperon, 2 mg/kg), skupina VEH (n = 8; vehikulum). Po adaptaci byly denně po dobu 21 dní i.p. aplikovány jednotlivé látky podle skupin. Dávka byla vypočtena dle aktuální hmotnosti zvířete. Během této doby byl dvakrát týdně měřen krevní tlak (CODA, Kent Scientific corporation, USA) a EKG (ecgTUNNEL, emka TECHNOLOGIES, FR). Den po poslední dávce byla zvířata usmrcena a byly odebrány vzorky krve, srdce, jater a ledvin. EKG záznamy byly analyzovány programem ecgAUTO v3.3.3.10 (emka TECHNOLOGIES, FR). Statistické zpracování bylo provedeno v programu Statistika GraphPad Prism® 5 (version 5.01, GraphPad Software, Inc., USA). QT interval byl korigován dle Framinghama pro vysokou tepovou frekvenci. Výsledky jsou prezentovány jako průměr ± SD.

U skupiny HAL bylo od 18. dne nalezeno statisticky významné zvýšení tepové frekvence oproti skupině VEH (p < 0,05). Dále pozorujeme statisticky významné zvýšení tepové frekvence u zvířat skupiny HAL od 18. dne (p < 0,05). Mezi skupinami MEL a VEH nebyly nalezeny statisticky významné rozdíly v žádném z testovaných parametrů.

Výhodou neinvazivních metod měření krevního tlaku a EKG je získání dat neovlivněných anestezii zvířete. Tyto metody však vyžadují dostatečnou adaptaci zvířat na měřicí systém. V obou případech jsou zvířata umístěna do uzavřeného prostoru. Dočasné znehybnění může u zvířat indukovat stres. Snímání EKG záznamu navíc vyžaduje dostatečně elektricky odstíněné prostředí. Obě metody jsou vysoce citlivé na pohyby zvířete během měření. Podle dosažených výsledků na úrovni celého organismu mění terapie haloperidolem tepovou frekvenci.

Tento příspěvek vznikl na Masarykově univerzitě v rámci projektu: Kardiovaskulární systém: od modelu přes terapii k prevenci, číslo MUNI/A/1365/2015 podpořeného z prostředků účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum, kterou poskytlo MŠMT v roce 2016.

VPLYV DOSPIEVANIA NA ODPOVEĎ SRDCA NA ISCHÉMIU A NA ÚČINOK REMOTE ISCHEMICKÉHO PRECONDITIONINGU U NORMOTENZNÝCH A HYPERTENZNÝCH POTKANOV

Griecsová L¹, Farkašová V¹, Gáblóvský I¹, Lonek L¹, Bernátová I², Ravingerová T¹

¹Ústav pre výskum srdca SAV, ²Ústav normálnej a patologickej fyziológie SAV, Bratislava, Slovenská republika

Vplyv veku na odolnosť srdca voči ischemicko-reperfúznemu (IR) poškodeniu a adaptačné mechanizmy myokardu bol preukázaný vo viacerých štúdiách u človeka aj na animálnych modeloch. Mnoho štúdií je však protichodných a preukazujú zachovanie ochrany srdca pred IR aj s starším veku. V súčasnej dobe je aktívne študovaný nielen vplyv veku na klasický ischemický preconditioning (IPC) ale aj na remote ischemický preconditioning (RIPC) a to hlavne pre možné klinické využitie tohto fenoménu. Hypertenzia (HTN) je jedným z najčastejšie prevládajúcich ochorení u starších pacientov a patrí k hlavným rizikovým faktorom kardiovaskulárnych ochorení. V mnohých štúdiách bolo preukázané, že HTN môže meniť účinnosť adaptačných mechanizmov v srdci. Pomerne málo sa však vie o vplyve veku a HTN na účinok RIPC, či už v animálnych štúdiách alebo u ľudí.

V našej štúdií sme skúmali účinky dospievania na funkciu srdca, jeho odpoveď na ischemiu a rozdiely v adaptačných mechanizmoch, u mladších dospelých (3 mes) a starších dospelých (6 mes) samcov normotenzných Wistar potkanov a spontánne hypertenzných potkanov (SHR). Srdcia boli perfundované na Langendorffovej aparátúre, vystavené 30-min I/120-min R, s alebo bez predchádzajúceho preconditioningu. RIPC bol indukovaný tromi cyklami 5-min ischemie/5-min reperfúzie, vykonanými na zadnej končatine potkana počas anestézie. Merali sme veľkosť infarktovej zóny (IS), citlivosť na ventrikulárne arytmie a funkčnú obnovu srdca po IR (LVDP).

V skupine normotenzných potkanov dospievanie zhoršilo odpoveď srdca voči IR poškodeniu (zväčšená veľkosť infarktu) a zvýšilo aj arytmogézu (celkové trvanie komorových arytmií). Funkčná obnova (LVDP) vekom ovplyvnená nebola. RIPC potlačil výskyt malígnych arytmií, zmenšil veľkosť infarktovej zóny a zlepšil obnovu LVDP u oboch vekových skupín normotenzných potkanov (3 a 6 mesiacov). Samotná HTN zhoršovala všetky pozorované parametre u neadaptovaných srdc potkanov. V skupine hypertenzných zvierat dospievanie taktiež zhoršilo odpoveď srdca voči IR poškodeniu a zhoršilo aj funkčnú obnovu srdca potkana po IR. Aritmogéza vekom ovplyvnená nebola. Aj v prípade hypertenzných zvierat, RIPC potlačil výskyt arytmií, zmenšil veľkosť infarktovej zóny a zlepšil obnovu LVDP u oboch vekových kategórií.

Hoci, dospievanie zhoršuje odpoveď srdca na ischemicko-reperfúzne poškodenie, remote preconditioning sa v čase dospievania javí ako účinný a to ako aj u normotenzných tak aj u hypertenzných zvierat.

Práca bola podporená grantmi: VEGA SR 2/0201/15, APVV-0102-11, APVV-0523-10, APVV-15-0607, APVV-15-0119.

VLIV DLOUHODOBÉ INHIBICE FOSFODIESTERÁZY 5A NA REMODELACI PRAVÉ A LEVÉ KOMORY U CHRONICKÉHO SRDEČNÍHO SELHÁNÍ NA PODKLADĚ OBJEMOVÉHO PŘETÍŽENÍ

Havlenová T¹, Kotrč M¹, Škaroupková P¹, Červenka L¹, Melenovský V¹

¹*IKEM, Praha, Česká republika*

Hemodynamické přetížení vede k hypertrofii a selhání levé i pravé komory. Zatímco vliv dlouhodobého tlakového přetížení na pravou komoru je dobře prozkoumán (model plicní arteriální hypertenze), o dlouhodobém objemovém přetížení v kontextu biventrikulárního selhání nejsou k dispozici téměř žádné práce. Zároveň bylo prokázáno, že dlouhodobá inhibice fosfodiesterázy 5A (PDE5A) může zabránit rozvoji hypertrofie a systolické dysfunkce tlakově přetížené levé i pravé komory, její vliv na objemově přetíženou komoru však zůstává nejasný.

Cílem práce bylo ukázat, zda existují rozdíly v odpovědi na chronické objemové přetížení mezi pravou a levou komorou, a dále prozkoumat efekt léčby PDE5A inhibítorem a ACE inhibítorem na remodelaci srdce a přežívání potkanů s chronickým srdečním selháním na podkladě objemového přetížení v důsledku centrálního arterio-venózního zkratu.

U 8-týdenních samců potkana kmene HanSD byla standardizovanou punkční technikou vytvořena aorto-kavální píštěl (ACF) a zvířata byla randomizována k terapii PDE5A inhibítorem (sildenafil 80 mg/kg, n = 20), ACE inhibítorem (trandolapril 6 mg/l H₂O, n = 30) nebo placebem (n = 30). Kontrolní skupinu představovala zvířata bez ACF (n = 19). Po 20 týdnech léčby bylo provedeno echokardiografické vyšetření, tlakově-objemové analýzy z levé i pravé komory, vážení orgánů a odběr vzorků ke stanovení hladin cGMP. Samostatná kohorta zvířat (n = 10 – 40 / skupinu) sloužila k analýze přežití.

ACF vedla k masivní hypertrofii levé i pravé komory (o 70% a 150%) a k poklesu jejich systolické funkce (end-systolické elastance, o 85% a 70%). Pravá komora byla u ACF relativně více zatížená než levá (práce vzrostla 7x vs. 4x), přesto snášela objemové přetížení lépe (vzestup end-diaastolického tlaku se nelišil). ACE inhibitor omezil plicní kongesci, dilataci a dysfunkci levé komory, PDE5A inhibitor neměl žádný vliv. Medián přežití ve skupině ACF/placebo, ACF/PDE5A inhibitor and ACF/ACE inhibitor byl 26, 27 a 37 týdnů (p<0.05 pro ACF/ACE inhibitor vs. ACF/placebo). Potkani léčení PDE5A inhibítorem měli vyšší hladiny cGMP v plicích (o 150%), nikoli v levé a pravé komoře.

Terapie PDE5A inhibítorem neměla žádný vliv na přežití, remodelaci a funkci levé a pravé komory a nevedla ke zvýšení hladin cGMP v myokardu. Hypertrofie navozená objemovým přetížením je na cGMP nezávislá. Chronické objemové přetížení vede k obdobným změnám ve struktuře a kontraktilitě obou komor.

SROVNÁNÍ RŮZNÝCH METOD ISCHEMICKÉ KARDIOPROTEKCE NA VITALITU ŠTĚPU SRDCE U POTKANA

Hložková J^{1,3}, Scheer P^{1,3}, Uhríková I², Suchý P Jr³, Parák T³, Hlinomaz O¹

¹FN u Svaté Anny-ICRC Brno, ²Fakulta veterinárního lékařství, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, ³Farmaceutická fakulta, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Česká republika

Na rozdíl od klinické praxe kde je ischemická kardioprotekce stále aktuálním problémem, experimentální praxe tuto modalitu v podstatě neřeší.

Cílem projektu bylo ověřit 4 způsoby hypotermické ischemické kardioprotekce s ohledem na vitalitu štěpu.

Potkani (samci, outbrední Wistar, 350-400 g, n=24) byli rozděleni do 4 skupin po 6. Ve skupině A a B byla rychlost perfuze autologní heparinizovanou krví 10 ml/hod a štěp byl umístěn do vodní lázně fyziologického roztoku temperované dle zařazení do skupiny (A - 22-25 °C a skupina B - 4-8). Skupina C - iniciální proplach Hartmannovým roztokem (4-8 °C) a skupina D fyziologickým roztokem (4-8 °C), štěp byl umístěn do vodní lázně Hartmanova roztoku (C) nebo fyziologického roztoku o teplotě 4-8 °C. Skupiny C a D byly dalších 30 minut bez perfuze. Perfuze štěpů byla provedena přes zachovanou pravou karotidu.

Sledovaný čas byl 30 minut od zavedené perfuze (A, B) nebo iniciálního proplachu (C, D). Ve 30. minutě byly srdce ze všech skupin perfundovány 10 minut autologní arterializovanou krví o pokojové teplotě. V 10. minutě perfuze byla krev odebrána pro analýzu (vzorek 1). Vzorek číslo 2 byla krev z lineárního dávkovače (souběžně se vzorkem 1). Stanovena byla plazmatická aktivita kreatinkinázy (CK) a laktátdehydrogenázy (LDH) a plazmatická hladina srdečního troponinu I (cTnI). Byl vypočten „násobek“ zvýšení plazmatických aktivit či koncentrací mezi krví vstupující do štěpu (vzorek 2) a krví ze štěpu vytékající (vzorek 1). Dále byla změřena srdeční frekvence štěpu v 5. a 35. minutě protokolu. Párové testy mezi odběrem 1 a 2 jsou ve všech skupinách pro CK a LDH statisticky významné a hodnoty odběru 1 byly vždy vyšší. Hladiny cTnI byly ve stejném srovnání statisticky nevýznamné. Plazmatická aktivita CK i jejího násobku byla nejvyšší u skupiny B a nejnižší u skupiny D. Plazmatická aktivita LDH i jejího násobku byla nejvyšší u skupiny B a nejnižší u skupiny C. Plazmatické hladiny cTnI po přechodu štěpem srdce byla nejvyšší u skupiny B a nejnižší u skupiny C a D. Srdeční frekvence v průběhu finální perfuze byla u všech skupin stejná bez signifikantních rozdílů.

Z pohledu vitality štěpu byly všechny sledované způsoby antiischemické ochrany postačující. Z pohledu laboratorního průkazu poškození myokardu jsou krystaloidní roztoky v režimu hluboké hypotermie v časovém okně 30 minut chladové ischemie lepší než perfuze autologní krví při pokojové teplotě. Výhodou krevní perfuze při pokojové teplotě je její jednoduchost, standardizovatelnost a možnost lépe sledovat kvalitu podvazu a zranění štěpu při odběru štěpu.

Práce byla podpořena projekty NPU č. LQ1605 (MŠMT ČR) a FNUSA-ICRC č. CZ.1.05/1.1.00/02.0123 (OP VaVpI).

HOSPODAŘENÍ S VÁPŇÍKEM V MYOKARDU POTKANŮ S OBJEMOVÝM PŘETÍŽENÍM

Jarkovská D^{1,2}, Nalos L^{1,2}, Melenovský V^{3,4}, Škaroupková P^{4,5}, Červenka L^{4,5}, Štengl M^{1,2},
Švíglerová J^{1,2}

¹Ústav fyziologie, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova, Plzeň, Česká republika,

²Biomedicínské centrum, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova, Plzeň, Česká republika,

³Klinika kardiologie, Institut klinické a experimentální medicíny, Praha, Česká republika,

⁴Centrum experimentálního výzkumu chorob krevního oběhu a orgánových náhrad, Institut klinické a experimentální medicíny, Praha, Česká republika, ⁵Centrum experimentální medicíny, Institut klinické a experimentální medicíny, Praha, Česká republika

Chronické objemové přetížení vede k remodelaci srdeční tkáně a významně zvyšuje riziko arytmie, náhlé srdeční smrti a srdečního selhání.

Cílem naší studie bylo popsat remodelaci srdce u potkanů s objemovým přetížením vyvolaným arteriovenózním zkratem (AVF) a popsat vliv farmakologické intervence.

Celkem bylo použito 40 potkanů kmene Hannover Sprague-Dawley, kteří byli rozděleni do 4 skupin: kontrolní (bez AVF), AVF-placebo, AVF-sildenafil (léčba inhibitorem fosfodiesterázy 5, 1200 mg/l p. o.) a AVF-trandolapril (léčba inhibitorem enzymu konvertujícího angiotenzin, 6 mg/l p. o.). Případná léčba byla vždy zahájena 4 týdny po operaci a probíhala 20 týdnů. Následné experimenty *in vitro* zahrnovaly stanovení hmotnosti celého srdce i obou jeho komor, měření akčního napětí na multicelulárních preparátech z levé i pravé komory a měření vápníkových přechodů na izolovaných ventrikulárních kardiomyocytech.

U všech skupin s AVF byla zaznamenána významně vyšší absolutní i relativní hmotnost srdce než u kontrolní skupiny s relativním nárůstem vyšším v pravé komoře. U zvířat AVF-placebo došlo v obou komorách k prodloužení trvání akčního napětí, jež bylo redukováno trandolaprilem v obou komorách a sildenafilem pouze v levé komoře. U všech zvířat s objemovým přetížením, včetně těch, jimž se dostávalo léčby, bylo pozorováno zvýšení diastolické koncentrace vápníku a snížení systolických vápníkových přechodů.

Chronické objemové přetížení vyvolalo výraznou hypertrofii obou srdečních komor, která nebyla potlačena ani jedním z použitých farmak (sildenafil a trandolapril). Tato hypertrofie byla doprovázena funkčními změnami na úrovni membránového napětí a vápníkového hospodaření kardiomyocytů. Citlivost vůči aplikované léčbě vykazovaly pouze elektrofyziologické parametry.

Tato práce byla podpořena projekty CZ. 1.05/2.1.00/03.0076, Evropský fond regionálního rozvoje a NPÚ I (č. LO1503).

JE VARIABILITA SRDEČNÍ FREKVENCE DOSTATEČNĚ CITLIVÝM INDIKÁTOREM MÍRNÉ SEPSSE BEZ ORGÁNOVÉHO SELHÁNÍ?

Jarkovská D^{1,2}, Valešová L^{1,3}, Chvojka J^{1,3}, Beneš J^{1,4}, Danihel V^{1,3}, Švíglerová J^{1,2}, Nalos L^{1,2}, Matějovič M^{1,3}, Štengl M^{1,3}

¹Biomedicínské centrum, ²Ústav fyziologie, ³I. interní klinika, ⁴Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova, Plzeň, Česká republika

Pokles variability srdeční frekvence (HRV) v podmínkách systémového zánětu byl opakovaně prokázán u pacientů i v experimentálních zvířecích modelech a mohl by představovat časný indikátor sepse. Citlivost parametrů HRV k různé tíži sepse zůstává nejasná.

Klinicky relevantní model peritonitidou navozené sepse u prasete byl modifikován, aby nedošlo k orgánovému selhání a mohla být testována citlivost HRV v podmínkách mírné sepse bez orgánového selhání.

U 11 prasat v celkové anestezii s mechanickou ventilací a instrumentací byla navozena sepse v důsledku fekální peritonitidy. Dávka stolice k indukci peritonitidy byla snížena a byla nasazena antibiotická léčba, aby nedošlo k (multi)orgánovému selhání. Zvířata byla sledována 40 hodin od vyvolání peritonitidy.

U všech septických zvířat se vyvinula sepse s hyperdynamickou cirkulací. U žádného zvířete nenastalo multiorgánové selhání a v průběhu experimentu nedošlo ke spontánní smrti přes nutnost mírné dávky vazopresorů u většiny zvířat (9/11). Výrazný pokles HRV nastal brzy po vyvolání peritonitidy a trval po celou dobu experimentu. Frekvenční analýza ukázala pokles vysokofrekvenční komponenty. Tento pokles parametrů HRV předcházel hemodynamickým změnám.

V podmínkách mírné sepse bez orgánového selhání nastal výrazný a rychlý pokles HRV. Parasympatická srdeční inhibice pravděpodobně představuje hlavní mechanismus tohoto poklesu. Citlivost HRV k systémovému zánětu umožňuje detekci mírné sepse bez orgánového selhání.

VLIV KOMBINOVANÉ LÉČBY POMOCÍ INHIBITORU ANGIOTENZIN-KONVERTUJÍCÍHO ENZYMU A INHIBITORU SOLUBILNÍ EPOXID HYDROLÁZY NA PROGRESI SRDEČNÍHO SELHÁNÍ U REN-2 TRANSGENNÍCH POTKANŮ S AORTO-KAVÁLNÍ FISTULÍ

Kala P^{1,2}, Sedláková L¹, Škaroupková P¹, Kopkan L¹, Červenka L¹

¹Oddělení experimentální medicíny, Institut klinické a experimentální medicíny, Praha, ČR,
²2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Praha, ČR

Inhibitory angiotensin-konvertujícího enzymu (ACEi) jsou stále uznávány jako “zlatý terapeutický standard“ v léčbě kardiovaskulárních onemocnění. Naše předchozí studie potvrzují, že léčba chronického srdečního selhání pomocí ACEi vykazovala 88% přežívání u modelu REN-2 transgenních potkanů (TGR) s aorto-kavální fistulí (AKF). Dalším zjištěním bylo, že léčba pomocí inhibitoru solubilní epoxid hydrolázy (sEHi), která zvyšuje biologickou dostupnost protektivních eicosanoidů (EETs) rovněž zlepšila přežívání (38%) u TGR AKF skupiny ve srovnání s neléčenými zvířaty (19%). Vzhledem k faktu, že sEHi a ACEi působí jiným mechanismem, bylo cílem naší studie dokázat, zda by kombinace těchto 2 látek mohla potencovat přežívání u tohoto modelu srdečního selhání.

V 8. týdnu života byla potkanům chirurgicky vytvořena AKF, což je standardní animální model srdečního selhání na základě objemového přetížení. Kontrolní skupině byla provedena zdánlivá operace. Po 1. týdnu AKF byla zvířata rozdělena do experimentálních skupiny a zahájena léčba placebem (pitná voda), ACEi (Gopten 3mg/l) a kombinací ACEi s sEHi (Gopten 3mg/l + c-AUCB 3mg/l) v pitné vodě. Denně byla sledována úmrtnost a vliv léčby na časná stádia srdečního selhání do 4. týdne po AKF operaci a také dlouhodobý efekt na rozvoj chronického srdečního selhání od 5. do 26. týdne.

Mortalita neléčené skupiny TGR AKF dosáhla 100% již v 17. týdnu. Mortalita skupiny TGR AKF léčených ACEi byla ve 26. týdnu 13%, což koreluje s naší předešlou studií. Je zde tedy patrný příznivý vliv terapie ACEi jak v akutních, tak chronických stádiích srdečního selhání. Kombinační terapie ACEi + sEHi vykazovala u TGR AKF skupiny v 26. týdnu překvapivě vyšší mortalitu (30%) než samotná terapie ACEi. Tento rozdíl byl dán především vyšší úmrtností (27% vs. 10%) v průběhu akutní fáze srdečního selhání. Srovnání efektu kombinované léčby se samotným ACEi na mortalitu během fáze rozvoje chronické srdeční selhání bylo již srovnatelné.

V akutní fázi srdečního selhání neměla kombinovaná terapie ACEi a sEHi lepší terapeutický efekt než samotná léčba pomocí ACEi. Vliv obou terapeutických přístupů na chronické srdeční selhání byl prozatím do 26. týdne srovnatelný. Efekt inhibice renin-angiotensinového systému se jeví jako dominantní v léčbě srdečního selhání u tohoto modelu.

FUNKCIA MITOCHONDRÍ V KARDIOPROTEKCII NAVODENEJ REMOTE ISCHEMICKÝM PRECONDITIONINGOM V AKÚTNE DIABETICKOM MYOKARDE

Kancirová I¹, Jašová M¹, Muráriková M¹, Sumbalová Z², Kucharská J², Ziegelhöffner A¹,
Ferko M¹

¹Ústav pre výskum srdca, Centrum excelentnosti NOREG, Slovenská akadémia vied, Bratislava, Slovenská republika, ²Farmakobiochemické laboratórium III. internej kliniky Lekárskej fakulty Univerzity Komenského, Bratislava, Slovenská republika

Je známe, že mitochondrie sa významným spôsobom podieľajú na procese endogénnej ochrany myokardu voči ischemicko-reperfúznemu (I/R) poškodeniu u oboch modelov remote ischemického preconditioningu (RPC) i u experimentálneho modelu streptozotocínom-indukovaného *diabetes mellitus* (DM). Cieľom tejto štúdie bolo porovnať účinok streptozotocínom-indukovaného DM a jeho kombinácie s RPC na biochemické a biofyzikálne ukazovatele funkcie mitochondrií myokardu s I/R poškodením.

Potkany kmeňa Wistar boli rozdelené do 5 skupín: K, RPC, DM skupina a skupina s DM podrobená RPC (RPC+DM). RPC bol navodený 3 cyklami 5-min. ischemie a reperfúzie femorálnej artérie dolnej končatiny u vybraných skupín. Izolované srdcia potkanov všetkých skupín boli následne vystavené 30-min. globálnej ischemii a 40-min. reperfúzii podľa Langendorffa. Následne boli stanovené: respiračná aktivita mitochondrií, fluidita mitochondriovej membrány, ako aj obsah oxidovaných foriem koenzýmu Q (CoQ_{9-ox} a CoQ_{10-ox}).

U skupín K, RPC a DM sme v dôsledku I/R poškodenia pozorovali signifikantné zníženie rýchlosti respirácie v stave S3 s najmenším 17%-tným poklesom u skupiny RPC+DM. DM, RPC a RPC+DM zabránili rigidizácii mitochondriovej membrány v dôsledku I/R poškodenia, avšak RPC+DM nedosiahol úroveň RPC. U skupín DM, RPC and RPC+DM sme pozorovali zvýšený obsah oxidovaných foriem koenzýmu Q po stabilizačnej fáze, avšak nie po ischemicko-reperfúznom poškodení. Jedine skupina DM vykazovala signifikantné zvýšenie koncentrácie CoQ_{9-ox} v dôsledku I/R poškodenia.

V oboch modeloch RPC a DM sme potvrdili pozitívnu účasť remodelácie membrány srdcových mitochondrií v procese endogénnej ochrany myokardu, čo vedie k čiastočnému prispôsobeniu sa mitochondrií ischemickým stavom myokardu.

Práca bola podporená grantami VEGA 2/0133/15, APVV 15-0119

ÚČINKY PODÁVANIA (-)-EPIKATECHÍNU V GENETICKOM MODELI HYPERTENZIE

Kluknavský M¹, Bališ P¹, Púzszerová A¹, Radošinská J^{2,3}, Berényiová A¹, Drobná M¹, Lukáč Š⁴, Muchová J⁵, Bernátová I¹

¹Ústav normálnej a patologickej fyziológie SAV, Bratislava, Slovenská republika, ²Fyziologický ústav LF UK, Bratislava, Slovenská republika, ³Ústav pre výskum srdca SAV, Bratislava, Slovenská republika, ⁴Ústav lekárskej fyziky, biofyziky, informatiky a telemedicíny LF UK, Bratislava, Slovenská republika, ⁵Ústav lekárskej chémie, biochémie a klinickej biochémie LF UK, Bratislava, Slovenská republika

(-)-Epikatechín (Epi) je prírodný flavan-3-ol, ktorého najväčším zdrojom v prírode sú kakaové bôby. Viaceré práce ukázali benefičné účinky horkej čokolády bohatej na flavanoly na znižovanie vysokého tlaku krvi (TK). Tieto benefičné účinky pravdepodobne súvisia so zvýšenou biodostupnosťou oxidu dusnatého (NO) v dôsledku stimulačného účinku na tvorbu NO a antioxidantného účinku Epi.

Táto práca skúmala účinky dlhodobého podávania Epi na vývoj TK, funkciu endotelu v aorte, aktivitu syntázy oxidu dusnatého (NOS) a génovú expresiu jednotlivých izoform NOS, produkciu superoxidu v tkanivách, biochemické zmeny v krvi a zmeny v deformabilite erytrocytov u 5-týždňových samcov spontánne hypertenzných potkanov (SHR).

Použili sme mladé 5-týždňové (bazálne podmienky) SHR samce, ktoré sme náhodne rozdelili do kontrolnej a experimentálnej skupiny, kde sme podávali Epi vo vode (2 týždne, 100 mg/kg/deň). Počas experimentu sme stanovovali TK pletyzmograficky. Na konci experimentu sme stanovili produkciu superoxidu (v ľavej komore srdca (LHV) a v aorte), génovú expresiu neuronálnej, indukčnej a endotelovej NOS v mozgovom kmeni, mozočku, LHV a v aorte, ako aj cievnú reaktivitu aorty. Z odobratej krvi sme stanovovali celkovú antioxidantnú kapacitu plazmy (TAC), deformabilitu erytrocytov a hladinu nitrotyrozinu v plazme.

Podávanie Epi viedlo k nižšiemu vzostupu TK v porovnaní s kontrolami. Epi zvýšil aktivitu NOS a znížil tvorbu superoxidu v LHV a aorte. V krvi Epi signifikantne zvýšil deformabilitu erytrocytov a TAC spolu s poklesom hladiny nitrotyrozinu v plazme. Epi tiež zvýšil v aorte NO-závislú zložku relaxácie indukovanej acetylcholínom. Podávanie Epi však nemalo vplyv na génovú expresiu NOS v LHV. Na druhej strane sme pozorovali signifikantne zvýšenú expresiu neuronálnej NOS v mozgovom kmeni a mozočku a tiež endotelovej NOS v mozočku experimentálnych zvierat.

Podávanie Epi zabránilo nárastu TK a zlepšovalo biologickú dostupnosť NO zvýšením aktivity NOS a znížením produkcie superoxidu v kardiovaskulárnom systéme (KVS). Zníženie nárastu TK bolo pravdepodobne spojené so zvýšenou dostupnosťou NO v KVS a celkovým zlepšením reologických vlastností krvi v mikrocirkulácii v jednotlivých orgánoch, vrátane mozgu.

Táto štúdia bola podporená grantom VEGA 2/0084/14.

LONG-TERM COLD ACCLIMATION ATTENUATED ACTIVITY OF COMPLEX I OF RESPIRATORY CHAIN IN LEFT VENTRICLE OF RAT HEART

Kolář D¹, Marvanová A¹, Flegrová E¹, Tibenská V¹, Horniková D¹, Drahotka Z³, Kalous M², Zurmanová J¹

¹*Department of Physiology*, ²*Department of Cellular Biology Faculty of Science, Charles University*, ³*Institute of Physiology, Czech Academy of Sciences, Prague, Czech Republic*

Despite the progress in the research and therapy, cardiovascular diseases are still the most common cause of death worldwide. Cold acclimation or hardening has a good potential for attenuation of cardiovascular risks (1). Parameters, of mitochondrial respiration in long-term cold acclimated heart have not been studied yet.

Male Wistar rats had been acclimated to cold for 5 weeks and after a subsequent 2-weeks recovery the left ventricles of hearts were homogenized. Mitochondrial fraction was isolated from the homogenates. We assessed the mitochondrial respiration using Oxygraf Oroboros^{2K}, the activity of selected mitochondrial enzymes was measured spectrophotometrically and the expression of mitochondrial complexes was determined using western blotting.

Our data showed a significant decrease of oxygen flux in acclimated rats when the complex I and complex II was stimulated. Similarly when palmitoyl carnitine was used as a substrate. Furthermore, the enzyme activity of NADH-cytochrom c oxido-reductase, malate dehydrogenase and citrate synthase declined as well as the protein expression of complex I. The other complexes did not change at either protein or functional level.

We conclude that the reduction of complex I activity might prevent over-production of reactive oxygen species during ischemia reperfusion injury and might be partially responsible for the cytoprotective phenotype.

Supported by Grant Agency Charles University in Prague (188015)

[1] Kralova Lesna I. *et al.* J Therm Biol. 2015; 52:192-8.

VLIV NIKOTINU NA SÍŇOVÝ INWARD RECTIFIER DRASLÍKOVÝ PROUD CITLIVÝ NA ACETYLCHOLIN

Kula R¹, Vejmelek A¹, Matějovič P¹, Švecová O¹, Šimurdová M¹, Šimurda J¹, Bébarová M¹

¹Fyziologický ústav Lékařská fakulta Masarykova univerzita, Brno, Česká republika

Řada klinických studií prokázala spojitost mezi kouřením a výskytem arytmií, a to i u zdravých jedinců. Dominantně se vyskytující arytmií byla fibrilace síní (FS). Častým případem bylo navození paroxysmální FS se spontánním odezněním, kterým předcházela kumulativní dávka nikotinu. Lze tedy předpokládat, že pozorované změny byly důsledkem přímého vlivu nikotinu na elektrofyzilogii síňového myokardu. V patogenezi FS hraje významnou úlohu *inward rectifier* draslíkový proud citlivý na acetylcholin ($I_{K(Ach)}$). Data o vlivu nikotinu na tento proud nejsou dostupná.

Cílem naší práce bylo prostudovat změny $I_{K(Ach)}$, a to jak jeho konstitutivně aktivní složky ($I_{K(Ach),CONST}$), tak acetylcholinem aktivované složky ($I_{K(Ach),ACH}$), v přítomnosti nikotinu v klinicky relevantních koncentracích.

Měření byla provedena pomocí metody *whole cell patch clamp* (v režimu vnuceného napětí) na enzymaticky izolovaných síňových buňkách potkana kmene Wistar. $I_{K(Ach),CONST}$ byl měřen jako proud citlivý na specifický inhibitor $I_{K(Ach)}$ kanálů tertiapin-Q (300 nM) a $I_{K(Ach),ACH}$ jako proud aktivovaný 3 μ M acetylcholinem. Nikotin byl aplikován v koncentracích 4, 40 a 400 nM.

$I_{K(Ach),CONST}$ byl po aplikaci nikotinu v koncentracích 40 a 400 nM signifikantně navýšen, konkrétně o $120,8 \pm 30,6$ při -110 mV a o $94,6 \pm 24,4$ při -50 mV v přítomnosti 40 nM nikotinu a o $93,2 \pm 35,8$ % při -110 mV a o $84,4 \pm 11,4$ % při -50 mV v přítomnosti 400 nM nikotinu. $I_{K(Ach),ACH}$ byl vlivem 400 nM nikotinu převážně inhibován, v průměru o $28,9 \pm 12,8$ % při -110 mV a o $8,9 \pm 7,5$ % při -50 mV. Po aplikaci 40 nM nikotinu vykazovaly změny $I_{K(Ach),ACH}$ duální charakter. U části měřených buněk byla patrná inhibice proudu, konkrétně o $27,7 \pm 5,7$ % při -110 mV a o $19,9 \pm 3,8$ % při -50 mV. Zajímavé bylo, že inhibice nastávala u buněk s velkým proudem v kontrolních podmínkách. Naopak u buněk s malým proudem v kontrolních podmínkách docházelo k aktivaci proudu (o $13,9 \pm 2,1$ % při -110 mV a o $32,1 \pm 10,9$ % při -50 mV). Po aplikaci 4 nM nikotinu již byly změny $I_{K(Ach),CONST}$ i $I_{K(Ach),ACH}$ zanedbatelné.

Nikotin v klinicky relevantních koncentracích 40 a 400 nM ovlivňuje obě složky $I_{K(Ach)}$. Dokumentované změny by mohly přispívat ke změnám elektrofyzilogie síňové svaloviny a tím ke vzniku FS u kuřáků.

Práce byla podpořena projektem specifického výzkumu Masarykovy univerzity MUNI/A/1365/2015.

PPAR γ REGULUJE ANTIOXIDAČNÚ ODPOVEĎ V OBLIČKE U MLADÝCH HYPERTENZNÝCH POTKANOV

Kvandová M¹, Bališ P¹, Majzúnová M¹, Púzserová A¹, Barančík M², Dovinová I¹

¹Ústav normálnej a patologickej fyziológie, SAV, Bratislava, Slovenská republika, ²Ústav pre výskum srdca, SAV, Bratislava, Slovenská republika

V rozvoji a progresii hypertenzie zohrávajú svoju dôležitú úlohu zvýšené hladiny RFK (reaktívne formy kyslíka). Zvýšené množstvo RFK v obličke zvyšuje renálnu vazokonstrikciu, uvoľňovanie renínu, renálnu aferentnú nervovú aktivitu, zvyšuje renálny perfúzný tlak, produkciu AngII a endotelínu, čím ovplyvňuje reguláciu TK. Peroxizómovým proliferátorom aktivovaný receptor (PPAR γ) je ligand-dependentný intracelulárny proteín, ktorý stimuluje transkripciu špecifických génov zapojených do regulácie energetickej homeostázy, zápalových reakcií, a podieľa sa taktiež aj na regulácii antioxidačnej odpovede. Tento receptor a zároveň transkripčný faktor je teda potenciálnym cieľom pre ovplyvnenie rozvoja hypertenzie.

Cieľom práce bolo sledovanie vplyvu PPAR γ agonistu- pioglitazónu (PIO) na antioxidačnú odpoveď (génová expresia PPAR γ , SOD izoforiem, Nrf2, enzýmová aktivita – superoxid-dismutázy SOD a katalázy CAT) v obličke a rozvoj hypertenzie u mladých hypertenzných potkanov.

V práci boli použité mladé, 5 týždňové, samce spontánne hypertenzných (SHR) a hranične hypertenzných (sBHR) potkanov. Zvieratám bol podávaný PIO v množstve 10mg/kg/deň počas desiatich dní. TK bol detegovaný pomocou pletyzmografickej metódy. Pre detekciu zmien génovej expresie bola použitá kvantitatívna RT-PCR (PPAR γ , SOD izoformy, Nrf2). Enzýmová aktivita SOD a CAT bola detegovaná spektrofotometricky.

Podávanie PIO znižovalo hodnoty TK u sBHR. U SHR, PIO neznižoval hodnoty TK, ale jeho podávanie spomaľovalo jeho nárast. PIO zvyšoval génovú expresiu PPAR γ mRNA, SOD1 mRNA, SOD2 mRNA, SOD3 mRNA a Nrf2 mRNA u oboch experimentálnych zvierat v porovnaní s kontrolnými skupinami. Podobne bola zvýšená i celková enzýmová aktivity SOD a CAT po PIO terapii u sBHR aj SHR zvierat.

PIO-dependentná aktivácia PPAR γ ovplyvňovala redoxnú reguláciu v obličke mladých hypertenzných zvierat prostredníctvom Nrf2 indukcie expresie antioxidačných a detoxifikačných proteínov obsahujúcich ARE element, dochádzalo týmto k zníženiu (sBHR) resp. k spomaleniu nárastu hodnôt TK (SHR).

Podporené: APVV-0348-12 a VEGA02/0129/14.

NILOTINIB INDUKUJE ROS, ER STRES A APOPTÓZU V H9C2 BUNKÁCH

Lekeš D¹, Szadvári I¹, Križanová O^{1,2}, Nováková M^{1,3}, Nováková Z¹, Parák T⁴, Babula P^{1,3}

¹Fyziologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Kamenice 5, 625 00, Brno, Česká republika, ²Ústav klinického a translačného výskumu, Biomedicínske centrum, Slovenská Akadémia Vied, Dubravska cesta 9, 845 05 Bratislava, Slovensko, ³Mezinárodní centrum klinického výzkumu (FNUSA-ICRC), Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně, 656 91 Brno, Česká republika, ⁴Ústav humánní farmakologie a toxikologie, Farmaceutická fakulta, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Palackého 1946/1, 612 42, Brno, Česká republika

BCR-ABL tyrozín kinázové inhibitory (TKi) reprezentujú relatívne novú triedu protinádorových liečiv zameraných na bunkové signálne dráhy, ktoré sú zvýšene exprimované v určitých typoch nádorov. Imatinib bol prvý TKi, ktorý sa začal používať v praxi v terapii chronickej myeloidnej leukémie (CML). Medzi najdôležitejších zástupcov druhej generácie TKi patria nilotinib, dasatinib, bosutinib. Schopnosť TKi ovplyvniť viaceré signálne dráhy môže viesť k rozličným nežiadúcim účinkom, hematologickým i nehematologickým, ako je napríklad kardiotoxicita. U pacientov sa prejaví širokou paletou symptómov a znakov, ktorých podkladom je porucha funkcie a morfológie myokardu.

Cieľom našej štúdie bolo dokázať kardiotoxické efekty inhibítora TK nilotinibu a jeho možný mechanizmus pôsobenia *in vitro*, použitím vhodného bunkového modelu (H9C2 línie).

H9C2 bunková línia bola kultivovaná podľa protokolu Fyziologického ústavu, Lékařské fakulty v Brně. Bunky boli ovplyvnené nilotinibom (Abcam, UK; koncentrácia 0-15.0 μM), kombináciou nilotinibu a L-NAME (100 μM , analóg arginínu, inhibítor NO) alebo nitroprusidu sodného (SNP) (2 mM, donor NO), obomi podávanými pred podaním nilotinibu, DMSO (rozpúšťadlo) a kontrolou, počas 24 h alebo 48 h. Hodnotila sa bunková viabilita a bunková morfológia, ďalej vznik ROS a NO, markery ER stresu, zmeny v mitochondriálnom potenciáli, aktivácia kaspáz 3/7 a ďalšie markery apoptózy.

Odhrali sme schopnosť nilotinibu ovplyvniť všetky skúmané parametre v závislosti na čase a koncentrácií. Experimenty na H9C2 bunkovej línii ovplyvnenej nilotinibom ukázali schopnosť nilotinibu zvyšovať produkciu NO a ROS. Kombinácia s L-NAME ukázala jednoznačne protektívny efekt. Na druhej strane, kombinácia s SNP vykazovala zhoršenie toxického efektu nilotinibu. Nilotinib bol ďalej schopný navodiť ER stres, zatiaľ čo v kombinácií s L-NAME, ER stres potlačoval. Bunky ovplyvnené nilotinibom vykazovali značné zhoršenie viability a morfológie a zvýšené markery apoptózy. V kombinácii s L-NAME sme i tu jasne pozorovali protektívny efekt.

Napriek tomu, že v literatúre je kardiotoxicita popísaná, jej príčina ešte stále nie je dostatočne objasnená. Použitím prístupu monitorujúceho rôzne parametre, sme odhalili možný mechanizmus kardiotoxicity nilotinibu, spočívajúci v indukcii oxidatívneho stresu, ER stresu a následne procesov apoptózy a možnú spoluúčasť NO v týchto procesoch. Naše výsledky by mohli v budúcnosti napomôcť k navrhnutiu účinnej prevencie kardiotoxicity spôsobenej nilotinibom.

OCHRANNÉ MECHANIZMY MYOKARDU PRI SRDCOVOM ZLYHÁVANÍ: MOŽNOSTI VYUŽITIA V PRAXI

Lonek L¹, Griecsová L¹, Farkašová V¹, Muráriková M¹, Zálešák M¹, Čarnická S¹,
Ravingerová T¹

¹Ústav pre výskum srdca, SAV, Bratislava, Slovenská republika

Ischemická choroba srdca a infarkt myokardu je jedným z hlavných ochorení, ktoré vyúsťuje do srdcového zlyhávania (SZ). Srdce je však schopné sa chrániť pred poškodením ischemiou cestou aktivácie vlastných ochranných mechanizmov. Pri adaptácii na fyziologické podnety ako aj patologické stimuly (počas chronickej hypoxie, v akútnej fáze diabetes mellitus) a krátkodobej adaptácii ischemickým preconditioningom (IPC) sa aktivujú signálne dráhy (PI3K/Akt, PKC) vedúce k oneskoreniu letálneho ischemického poškodenia (apoptóza, nekróza) počas následnej ischemie [1,2]. Aj keď je úspešné v zdravom myokarde mladých zvierat, výskyt komorbidít je jednou z príčin neúspešnosti IPC v klinických podmienkach. Zistilo sa, že hypertenzia, chronické štádium d. mellitus, hypercholesterolémia, stres a vek môžu potlačiť adaptačné mechanizmy [3,4].

V súčasnosti sa kladie veľký dôraz na výskum neinvazívnych klinicky využiteľných adaptačných intervencií ako „remote“ IPC (RIPC), cvičením alebo hypoxiou indukovaný PC, v kombinácii s kaloricky reštrikčnou diétou alebo aplikáciou PC-mimetík, pred vyvolaním ischemickej záťaže. Tieto zásahy aplikované na potkanoch s ochorením d. mellitus, u ktorých adaptácia srdca na ischemiu v akútnej fáze je znížená prítomnosťou hypercholesterolémie a/alebo hypertenzie, by mali prispieť k zvýšeniu odolnosti srdca voči ischemii. V našich experimentoch sme sledovali zmeny štruktúry a funkcie srdca ale aj zmeny v bunkovej signalizácii s dôrazom na proteínkinázové kaskády, ako napríklad signálna dráha fosfatidylinozitol 3-kinázy/Akt (PI3K/Akt) a kinázy ERK 1/2 z rodiny MAP-kináz, ktoré sa podieľajú na oxidačnom strese a procesoch apoptózy, kľúčových procesoch patogenézy SZ a ich interakcie s transkripčnými faktormi PPAR- α (receptory aktivované proliferátormi peroxyzómov). PPAR- α izoforma je zapojená do regulácie lipidového metabolizmu, protizápalových účinkov a tvorby energie a mohla by sprostredkovať inhibíciu ischemicko-reperfúzneho (IR) poškodenia srdca. V našich štúdiách bolo zistené, že v diabetickom myokarde pri použití RIPC (vyvolaného tlakovou oklúziou ciev dolnej končatiny) vďaka väčšej intenzite stimulu a aktivácii protektívnych kaskád anti-infarktový účinok, ako aj lepšie postischemické obnovenie funkcie srdca zrušené neboli, čo svedčí o potenciálnej možnosti jeho použitia aj v iných patologických situáciách.

Výstupy experimentov môžu pomôcť objasniť niektoré menej známe patofyziologické mechanizmy SZ ale aj mechanizmy adaptačných intervencií s cieľom vývoja nových metód protekcie srdca s perspektívou využitia v klinickej medicíne.

Za podpory grantov VEGA SR 2/0201/15, APVV-0102-11, APVV 15-0607.

[1] Ravingerová T. *et al.* Mol Cell Biochem. 2007; 297(1-2):111-20.

[2] Kolář F., Ošťádal B. Physiol Res. 2004; 53 Suppl 1:S3-13.

[3] Ravingerová T. *et al.* Physiol Res. 2012; 61 Suppl 2:S1-10.

[4] Griecsová L. *et al.* Physiol Res. 2015; 64 Suppl 5:S685-96.

VLIV TRANSGENNÍ EXPRESE PŘENAŠEČE MASTNÝCH KYSELIN CD36 NA PROTEOM MYOKARDU SPONTÁNNĚ HYPERTENZNÍHO POTKANA

Manakov D¹, Ujčíková H^{1,2}, Pravenec M², Novotný J¹

¹*Katedra fyziologie, Přírodovědecká fakulta, Karlova Univerzita, Praha, Česká republika,*

²*Fyziologický ústav Akademie věd České republiky, Praha, Česká republika*

Translokáza mastných kyselin CD36 je zodpovědná za vstřebání 80% mastných kyselin v srdci a účastní se regulace rovnováhy koncentrace vápníku. Spontánně hypertenzní potkan (SHR) neexprimuje funkční protein CD36. Divoký typ tohoto proteinu byl vnesen do SHR, a byl tak vytvořen nový kmen SHR-*Cd36*.

V naší práci jsme porovnali proteomy pravých a levých komor SHR a SHR-*Cd36* pomocí dvou komplementárních přístupů: label-free LC-MS (LF) a dvourozměrné gelové elektroforézy spojené s hmotnostní spektrometrií (2DE/MS). Společné použití těchto metod umožnilo identifikaci 8 odlišně exprimovaných proteinů v levých komorách a 18 proteinů v pravých komorách SHR-*Cd36*. Expresi všech proteinů kromě jednoho byla snížena. Přestože metody LF a 2DE/MS detekovaly různé proteiny, lokalizace a funkční význam těchto proteinů je srovnatelný.

Naše výsledky ukázaly vliv přítomnosti funkčního CD36 na expresi proteinů cyklu trikarboxylových kyselin a podjednotek NADH dehydrogenázy v levých komorách, a také na expresi proteinů cyklu trikarboxylových kyselin, glykolýzy, metabolismu mastných kyselin a apoptózy v pravých komorách SHR-*Cd36*.

Tyto nálezy jsou v souladu s tím, že u srdce SHR se projevuje metabolický posun od oxidace mastných kyselin směrem ke glykolýze.

VZŤAH MEDZI EMOTIVITOU A KARDIÁLNOU VAGOVOU REGULÁCIOU U MLADÝCH ZDRAVÝCH ĽUDÍ

Mešťaník M^{1,2}, Mešťaníková A^{1,2}, Višňovcová Z², Langer P^{3,4}, Bujňáková I^{1,2}, Tonhajzerová I^{1,2}

¹Ústav fyziológie Univerzita Komenského v Bratislave, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Martin, Slovenská republika, ²Martinské centrum pre biomedicínu (BioMed Martin), Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Martin, Slovenská republika, ³Ústav prístrojovej techniky AV ČR, v. v. i., Brno, Česká republika, ⁴Mezinárodní centrum klinického výzkumu Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně, Brno, Česká republika

Zmeny emotivity a prítomnosť depresívnych symptómov u zdravých ľudí môžu indikovať zvýšené riziko rozvoja depresívnej poruchy, ktorá predstavuje rizikový faktor kardiovaskulárnej morbidity. Predpokladá sa, že v patomechanizme somatických komplikácií depresie zohráva významnú úlohu narušenie regulačných funkcií autonómneho nervového systému. Respiračná sínusová arytmia (RSA) je senzitívnym markerom parasympatikovej kontroly frekvencie srdca a emočnej regulácie. Pri klinicky manifestnej depresívnej poruche bolo zistené narušenie vagovej regulácie hodnotenej pomocou RSA, avšak vplyv depresívnych symptómov na autonómnu reguláciu u zdravých ľudí je málo preskúmaný.

Cieľom tejto práce bolo štúdium kardiálnej vagovej regulácie pomocou lineárnej a nelineárnej analýzy variability frekvencie srdca (VFS) v pokoji a počas negatívnej emočnej záťaže u mladých zdravých ľudí s depresívnou náladou.

Celkovo bolo vyšetrených 20 zdravých probandov (vek: 22,7±0,1 rokov, body mass index: 22,4±0,5 kg/m²). Kontinuálny záznam EKG-signalu (VarCor PF8, Dimea, ČR) prebiehal za štandardných podmienok v troch 6-minútových fázach: bazálna pokojová fáza, negatívny emočný podnet, zotavovacia fáza. Hodnotené parametre VFS: RR-interval, spektrálny výkon vo vysokofrekvenčnom pásme VFS (HF-VFS), index nelineárnej analýzy symbolickej dynamiky 2LV%. Súbor bol následne rozdelený podľa miery depresívnych symptómov stanovených pomocou Beckovho dotazníka depresie (Beck depression inventory – BDI) na 2 skupiny: skupina s normálnou náladou (BDI: 0,6±0,2) a skupina s miernou poruchou nálady (BDI: 14,3±1,4).

Počas negatívnej emočnej záťaže boli zistené signifikantne nižšie hodnoty logHF-VFS v skupine s miernou poruchou nálady oproti skupine s normálnou náladou (p=0,047). V ostatných parametroch neboli zistené signifikantné rozdiely.

V skupine s miernou poruchou nálady bolo pri negatívnom emočnom strese pozorované narušenie kardiálnej vagovej regulácie indikované znížením amplitúdy RSA. Depresívne symptómy môžu byť spojené s diskretnými abnormalitami neurokardiálnych funkcií už u zdravých ľudí so zhoršenou náladou. Tento nález poukazuje na možnú úlohu parasympatikovej dysregulácie v patogenéze kardiovaskulárnych komplikácií pri depresii.

Táto práca bola podporená grantom VEGA č. 1/0087/14, grantom Univerzity Komenského UK/151/2016 a projektom „Martinské centrum pre biomedicínu (BioMed Martin)“ ITMS kód projektu: 26220220187, ktorý je spolufinancovaný zo zdrojov EÚ.

VLIV STRESU NA EXPRESI ANP V SRDCI LABORATORNÍHO POTKANA

Mistrová E^{1,2}, Slavíková J¹, Klenerová V³, Hynie S³, Šída P³, Chottová-Dvořáková M^{1,2}

¹Ústav fyziologie, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova, Plzeň, Česká republika,

²Biomedicínské centrum, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova, Plzeň, Česká republika,

³Neurofarmakologie Ústavu lékařské biochemie a lékařské diagnostiky I. Lékařské fakulty
Univerzity Karlovy v Praze

Srdeční kardiomyocyty produkují atriální natriuretický peptid (ANP), který se podílí na udržování stálosti vnitřního prostředí. Vlivem ANP dochází k útlumu renin-angiotensinové kaskády a poklesu aktivity sympatického nervového systému s cílem ochránit srdeční homeostázu ovlivněnou působením stresu.

Cílem naší studie bylo zjistit, zda vlivem stresu dochází ke změnám exprese mRNA pro ANP v srdci laboratorního potkana.

Byli použiti potkani dvou rozdílných kmenů, Sprague-Dawley (SD) a Lewis (LE) s utlumenou aktivitou hypotalamicko-adrenální osy. Laboratorní potkani obou kmenů byli vystaveni po dobu 1 hodiny imobilizačnímu stres (IS) a kombinovanému stresu (ICS) s ponořením do vody. Genová exprese ANP metodou real-time PCR byla stanovena ve všech srdečních oddílech 1 a 3 hodiny po ukončení aplikace stresu (IS1, IS3, ICS1, ICS3).

U kontrolních potkanů obou kmenů byla exprese ANP vyšší v síních v porovnání s komorami. U kmene SD byla zjištěna vyšší exprese ANP v pravé síni u skupiny IS1 a v obou síních a levé komoře u skupiny IS3. Vlivem kombinovaného stresu v levé síni a levé komoře kmene SD byla exprese ANP také zvýšena. U kmene LE nebyly zaznamenány žádné změny.

Akutní stres vyvolává zvýšenou expresi mRNA pro ANP, a tím by mohl mít významný protektivní efekt na srdce.

Tento projekt byl podpořen Programem rozvoje vědních oborů Karlovy Univerzity (projekt P36) a z Národního programu udržitelnosti I (NPU I) č. LO1503 poskytovaného Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy.

MÁ VČASNÁ A NESKORÁ FÁZA PRECONDITIONINGU NA DIAĽKU VPLYV NA ISCHEMICKO-REPERFÚZNE POŠKODENIE V IZOLOVANÝCH SRDCIACH ZDRAVÝCH A DIABETICKÝCH POTKANOV?

Muráriková M¹, Čarnická S¹, Pancza D¹, Kancirová I¹, Jašová M¹, Lonek E¹, Ferko M¹,
Ravingerová T¹

¹Ústav pre výskum srdca, Bratislava, Slovenská republika

Remote ischemický preconditioning (RIP) predstavuje alternatívnu stratégiu protekcie, ktorá je indukovaná striedaním epizód ischemie a reperfúzie aplikovanej na vzdialený orgán, čím vyvoláva účinnú protekciu voči ischemicko-reperfúznemu poškodeniu (IRP) v cieľovom orgáne. Je známe, že srdcia zvierat s akútnym *diabetes mellitus* (DM) vykazujú okrem zhoršenej reakcie na ischemiu zvýšenú odolnosť na IRP. Avšak súvislosť medzi vplyvom DM a jednotlivými fázami RIP nie je objasnená.

Preskúmať vplyv včasnej (1RIP) a neskoršej fázy RIP (2RIP) na IRP srdca zdravého, ale aj patologicky pozmeneného diabetického potkana.

Boli použité samce potkanov kmeňa Wistar; akútny 8-dňový DM bol vyvolaný jednorazovým i.p. podaním STZ (65 mg/kg). Diabetické a zdravé potkany boli vystavené RIP v 3 cykloch 5 min I/5 min R na pravej zadnej končatine. 2RIP fáza bola sledovaná po 24-hod od posledného ischemického impulzu. Izolované srdcia boli okamžite perfundované podľa Langendorffa: po 15-min stabilizačnej perfúzii nasledovala 30-min globálna ischemia a 2-h reperfúzia na určenie veľkosti infarktových plôch (IS, tetrazóliová metóda). Počas IR protokolu bola zaznamenávaná kotraktálna funkcia srdca (obnovenie LVDP v % z predischemických hodnôt) a indexy kontrakcie a relaxácie (+dP/dt_{max} a -dP/dt_{max}).

Veľkosť infarktu myokardu sa u diabetických srdíc znížila o 17,8% a obnovenie LVDP sa vylepšilo o 56,8% v porovnaní s nediabetickými srdcami. Včasná aj neskorá fáza RIP zoslabili poischemický stunning a letálne poškodenie u nediabetických zdravých srdíc. 1RIP signifikantne redukovala veľkosť IS/AR na 11,7 ± 3,2% a 2RIP na 17,8 ± 1,8% vs. IS/AR 33 ± 3% u kontrol (p<0,05). Včasná fáza zvýšila obnovenie LVDP u nediabetických kontrol na 70 ± 11,3% a neskorá fáza na 83,4 ± 4%. Aplikáciou RIP u diabetických potkanov sa nepotvrдил žiadny aditívny protektívny efekt ani počas 1RIP, ani 2RIP.

Výsledky naznačujú, že obe fázy RIP poskytujú účinnú ochranu voči IR v zdravom myokarde, ale v diabetickom myokarde už nemal RIP ochranný účinok. Z toho vyplýva, že protektívny efekt RIP, ako aj akútnej fázy DM proti srdcovému IRP, môže u potkanov zahŕňať podobné adaptačné mechanizmy.

Podporované grantami VEGA 2/0133/15, VEGA 2/0201/15, APVV-0102-11, APVV-15-0119.

MIKRORNA V DIAGNOSTICE SPÁNKOVÉ APNOE: PILOTNÍ STUDIENovák J^{1,2}, Ludka O³, Blaha M¹, Souček M^{1,3}*¹II. interní klinika LF MU a FNUSA, Brno, Česká Republika, ²Fyziologický ústav LF MU, Brno, Česká Republika, ³ Mezinárodní centrum klinické výzkumu (ICRC), FNUSA, Brno, Česká republika*

Obstrukční spánková apnoe (OSA) představuje rizikový faktor dalších kardiovaskulárních onemocnění, představuje jednu z často nerozpoznaných příčin sekundární hypertenze a nacházíme ji často u jedinců s rezistentní hypertenzí. Diagnostika OSA je založena na technicky a časově náročné celonoční polysomnografii, což je pravděpodobně důvod, proč je OSA v populaci poddiagnostikována. Nalezení nového diagnostického markeru by mohlo pomoci k časně diagnostice OSA, zahájení časně terapie a lepší korekci krevního tlaku.

Cílem projektu je zjistit, zda je možné využít vybrané mikroRNA v diagnostice obstrukční spánkové apnoe u pacientů s rezistentní hypertenzí.

Do této pilotní studie bylo zahrnuto 10 jedinců (1 žena, věk 63,8±5,9 let) s rezistentní hypertenzí s anamnézou chrápání. U všech jedinců byla provedena celonoční polysomnografie, echokardiografické vyšetření, vyšetření cévního systému a odběr periferní krve. Z krve byla vyizolována celková RNA (miRNeasy kit, QIAGEN) a pomocí reverzní transkripce a polymerázové řetězové reakce v reálném čase (qRT-PCR; TaqMan) byly stanoveny hladiny miR-126, miR-210 a miR-499.

OSA byla potvrzena u 8 z 10 jedinců (prevalence ve sledovaném souboru 80%). U jedinců s OSA byla prokázána vyšší relativní exprese miR-210 (OSA vs. bez OSA; 12,97±0,48 vs. 11,27±0,41; p=0,045) a miR-126 (OSA vs. bez OSA; 6,73±0,37 vs. 5,51±0,49; p=0,045), než u jedinců bez OSA. miR-499 vykazovala statisticky nesignifikantní trend k elevaci u pacientů s OSA (OSA vs. bez OSA: 2,33±0,55 vs. 1,50±0,15; p = 0,223) a její hladiny korelovaly s šíří ascendentní aorty (r = 0,92, p < 0.05).

Hladiny miR-210 a miR-126 jsou vyšší v plazmě jedinců s rezistentní hypertenzí a OSA než u jedinců s rezistentní hypertenzí bez OSA. Pokud se výsledky potvrdí na větší kohortě pacientů, bylo by výhledově možné tyto miRNA využít k diagnostice nebo ke skríningu OSA u jedinců s hypertenzí.

Podpořeno z projektu „Kardiovaskulární systém: od modelu přes terapii k prevenci“ MUNI/A/1365/2015.

VLIV KLINICKY UŽÍVANÝCH PROTEASOMOVÝCH INHIBITORŮ NA ROZVOJ CHRONICKÉ ANTRACYKLINOVÉ KARDIOTOXICITY *IN VIVO*

Pokorná Z¹, Jirkovský E¹, Jirkovská A², Lenčová O¹, Adamcová M³, Mazurová Y⁴, Brázdová P¹,
Šimůnek T², Štěrbá M¹

¹Ústav farmakologie, Lékařská fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova, Hradec Králové, Česká republika, ²Katedra biochemických věd, Farmaceutická fakulta, Univerzita Karlova, Hradec Králové, Česká republika, ³Ústav fyziologie, Lékařská fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova, Hradec Králové, Česká republika, ⁴Ústav histologie a embryologie, Lékařská fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova, Hradec Králové, Česká republika,

Antracyklinová (ANT) kardiotoxicita je spojována s poruchou funkce ubikvitin-proteasomového systému. Skutečný význam tohoto mechanismu v patogenezi ANT kardiotoxicity zůstává ovšem nejasný. Inhibitory proteasomu (IP) jsou biologicky cílená léčiva užívaná při léčbě mnohočetného myelomu a dalších nádorových onemocnění. U těchto léčiv také existuje riziko možného navození srdeční dysfunkce, což by mohlo být důležité s ohledem na zavádění nových kombinačních režimů IP s ANT. Kardiovaskulární bezpečnost dlouhodobého kombinačního podání ANT spolu s IP je prozatím nejistá pro nedostatek klinických i experimentálních dat. Cílem této práce bylo studovat vliv IP (reverzibilního bortezomibu a ireverzibilního karfilzomibu) na rozvoj chronické ANT kardiotoxicity *in vivo* na modelu u králíka.

ANT kardiotoxicita byla navozena u králíka podáváním daunorubicinu (DAU; 50 mg/m² i.v., 1x týdně po 10 týdnů). Kombinačním skupinám (BD a KD) byl podáván bortezomib (B, 0,75 mg/m²) a karfilzomib (K, 17 mg/m²) i.p. v nejvyšší tolerovatelné dávce v kombinaci s DAU (1 h před DAU). Dalším skupinám byl ve stejném schématu podáván samotný bortezomib a karfilzomib, fyziologický roztok či vehikulum pro karfilzomib. Týden po poslední aplikaci bylo provedeno invazivní vyšetření funkce levé komory (LK) a odebrány vzorky LK pro následné analýzy.

Opakované podání samotných IP bylo dobře tolerováno a nebyl zaznamenán významný vzestup srdečního troponinu T v plazmě, porucha funkce levé komory, histologické či molekulární změny v myokardu. Kombinační podání IP spolu s ANT vedlo u karfilzomibu jen k mírnému nárůstu mortality oproti samotnému DAU (33 % vs. 27 %), zatímco u bortezomibu byl pozorován spíše opačný trend (11 % vs. 27 %). Podání nejvyšších dlouhodobě tolerovaných dávek IP spolu s ANT ale nevedlo k zhoršení morfologických parametrů ani prohloubení srdeční dysfunkce navozené podáním DAU. Kombinace IP s ANT nezhoršila molekulární parametry ANT kardiotoxicity v myokardu (včetně polyubikvitinace proteinů v LK, kaskády *Unfolded Protein Response* či aktivaci apoptózy). Žádný významný rozdíl mezi skupinami nebyl nalezen ani u plazmatických koncentrací srdečního troponinu T.

Výsledky ukazují na poměrně nízkou kardiotoxicitu samotných IP *in vivo* u králíka, bez významných rozdílů mezi oběma léčivy. Inhibice proteasomu pomocí reverzibilního a ireverzibilního IP výrazně nezhoršuje chronickou ANT kardiotoxicitu u králíka. Z hlediska kardiovaskulárního rizika se tedy uvedená kombinace protinádorových léčiv jeví jako relativně perspektivní. *Podpořeno grantem GAUK č. 680216 a PRVOUK P37/5.*

AKTIVITY MMP-2 A MMP-9 U PACIENTOV SO SRDCOVÝM ZLYHÁVANÍM VO VZŤAHU K POHLAVIU, HYPERTENZII A JEJ LIEČBE

Radošinská J^{1,3}, Giannakos E¹, Vardali E², Barteková M^{1,3}, Fogarassyová M³, Barančík M³

¹Fyziologický ústav, Lekárska fakulta Univerzity Komenského v Bratislave, Bratislava, Slovenská republika, ²Center of Health, Koufalia, Thessaloniki, Grécko, ³Ústav pre výskum srdca, Slovenská akadémia vied, Bratislava, Slovenská republika

Extracelulárna matrix v srdci je predmetom intenzívneho výskumu, nakoľko sa aktívne zúčastňuje v patogenéze rôznych ochorení, vrátane srdcového zlyhávania (SZ). Matrixové metaloproteinázy (MMP) zohrávajú dôležitú úlohu v degradácii a remodelácii extracelulárnej matrix.

Cieľom našej práce bolo stanoviť aktivitu cirkulujúcich MMP-2 a MMP-9 u pacientov so SZ ako aj u zdravých kontrol, a to s ohľadom na pohlavie, prítomnosť hypertenzie a jej liečbu. Metódy: Aktivity MMP-2 a MMP-9 sme stanovovali želatínovou zymografiou v plazme 51 účastníkov štúdie.

Nezistili sme rozdiely v aktivitách cirkulujúcich MMP-2 a MMP-9 u pacientov so SZ v porovnaní so zdravými kontrolami. Zaznamenali sme však rozdiely v aktivite MMP-2 po rozdelení účastníkov štúdie podľa pohlavia a prítomnosti resp. neprítomnosti hypertenzie. Aktivita MMP-2 boli znížená u pacientov s hypertenziou v porovnaní so zdravými kontrolami, ako aj v porovnaní s pacientmi s hypertenziou a súčasne prítomným SZ. V skupine pacientov so SZ boli aktivity MMP-2 vyššie u mužov v porovnaní so ženami.

Na základe výsledkov našej štúdie môžeme konštatovať, že antihypertenzná liečba pravdepodobne pôsobí inhibične na aktivity cirkulujúcich MMP-2, pričom prítomnosť SZ u hypertenzných pacientov tento inhibičný vplyv eliminovalo. Kardioprotektívne faktory u ženského pohlavia môžu zahŕňať aj inhibíciu aktivity MMP-2. Nakoľko sme nezaznamenali žiadne rozdiely v aktivitách MMP-9 medzi skupinami, aktivity MMP-2 sa preukázali ako citlivejší biomarker odrážajúci najmä pohlavie a prítomnosť antihypertenznej liečby.

Práca bola podporená grantom VEGA 1/0032/14, VEGA 2/0108/15 a APVV 0348-12.

VPLYV NEKROSTATÍNU-1, INHIBÍTORU NEKROPTÓZY A JEHO INAKTÍVNEHO ANALÓGU NEC-1I NA BAZÁLNE SRDCOVÉ FUNKCIE

Rajtík, T¹, Szobi A¹, Adameová A¹

¹*Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Slovenská Republika*

Nekrostatín-1 (Nec-1), pôsobí ako alosterický inhibítor RIP kinázy 1 (RIP1), ktorá je dôležitou súčasťou TNF- α indukovanej kaskády programovanej bunkovej smrti tzv. nekroptózy. Inhibičná aktivita Nec-1 na RIP1 je zodpovedná za jeho protektívny efekt v rôznych modeloch srdcového poškodenia. Nebolo však popísané či aktivita Nec-1 moduluje okrem molekulárnych kaskád nekroptózy aj fyziologické, bazálne funkcie srdca, ako hemodynamické parametre či elektrickú aktivitu. Na základe uvedeného sme sledovali jeho účinok na bazálne parametre v intaktných srdciach potkanov *in vivo*. Jeho inaktívny analóg Nec-1i, postrádajúci inhibičnú aktivitu na RIP1, bol použitý ako príslušná kontrola.

Experimentálne zvieratá (n = 5-7) boli uvedené do celkovej anestézy (izoflurán) a premedikované heparínom. Následne boli subkutánne napojené na trojzvodové EKG. Do ľavej karotidy bol zavedený senzor tlaku (PowerLab, ADInstruments, Nový Zéland). Po 30 min stabilizácie bola do *i.v.* aplikovaná bolusová dávka Nec-1 (0,8 mg/kg, skupina Nec-1), Nec-1i (0,846 mg/kg, skupina Nec-1i) a príslušného vehikula (20% v/v DMSO, skupina C). Jednotlivé parametre boli zaznamenávané po dobu 30 min a hodnotené po 10 min intervaloch.

Po aplikácii Nec-1 nedošlo k významnej zmene systolického krvného tlaku (TK), avšak v prvých 2 intervaloch sme pozorovali jeho prechodné zvýšenie. Najvyšší nárast bol zaznamenaný v 20 min, avšak ku koncu merania poklesol na úroveň kontrol. Diastolický TK bol nezmenený. Rovnaký efekt bol sledovaný aj v prípade zmeny srdcovej frekvencie (HR), neboli však zaznamenané žiadne dysrhythmie a následne došlo k návratu k počiatočným hodnotám. Nec-1i neovplyvnil žiadny so sledovaných parametrov. V prípade elektrickej aktivity aplikácia Nec-1 skrátila PR interval, marker prevodu vodivosti z AV uzla do komôr a predĺžila RR interval, ktorý sa však navrátil k pôvodným hodnotám. Normálny QT interval, proarytmogénny marker, ani normalizovaný k HR sa nemenil. Nec-1i nemenil žiadny so sledovaných parametrov.

Z uvedených pozorovaní môžeme konštatovať, že Nec-1 prechodne ovplyvňuje niektoré bazálne srdcové parametre (sTK, dTK, HR, PR), zdá sa však, že tento efekt je po čase kompenzovaný alebo odoznie. Teoreticky môže byť za pozorované zmeny zodpovedný vplyv Nec-1 na iné ciele ako RIP1 („off-target“) alebo fakt, že Nec-1 cez RIP1 kaskádu ovplyvňuje ďalšie ciele a proteíny zúčastňujúce sa regulácie excitačno-kontrakčného prepojenia v excitabilných tkanivách. Uvedené zistenia poukazujú na to, že kaskády spojené RIP proteínmi nie sú zapojené iba do regulácie exekučných programov, ale aj do modulácie aktuálnych bunkových funkcií.

MOLECULAR MECHANISMS OF PROTECTIVE PROCESSES IN THE MYOCARDIUM APPLICABLE IN CLINICAL PRACTICE

Ravingerová T¹, Farkašová V¹, Muráriková M¹, Griecsová L¹, Čarnická S¹, Zálešák M¹, Lonek L¹, Ferko M¹, Slezák J¹, Adameová A², Lazou A³, Kolař F⁴

¹*Institute for Heart Research, Slovak Academy of Sciences, Bratislava, Slovakia,* ²*Faculty of Pharmacy, Comenius University, Bratislava, Slovakia,* ³*School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece,* ⁴*Institute of Physiology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague, Czech Republic*

Genes encoding enzymes involved in fatty acids and glucose oxidation as the main energy-producing pathways in the heart are regulated by transcription factors PPAR (peroxisome proliferator-activated receptors). Under conditions of oxygen deprivation, e.g., myocardial ischemia, PPAR- α isoform modulates substrate selection to maintain adequate energy production. However, the role of PPAR in the mechanisms of endogenous cardioprotection, such as „remote“ ischemic preconditioning (RIPC), is relatively less known.

We have previously shown that PPAR- α agonists confer protection against ischemia/reperfusion (IR) injury linked with activation of pro-survival cascades, antioxidative and antiapoptotic effects. This study aimed to evaluate the involvement of PPAR- α in the mechanisms of non-invasive RIPC in adult male Wistar rats.

RIPC was induced by three cycles of 5-min pressure cuff inflation (200 mmHg)/5-min deflation with or without PPAR- α antagonist MK886 (MK, 3 mg/kg i.p., prior to RIPC) applied on a right hind limb of anesthetized animals. Size of infarction (IS, TTC staining), recovery of function (LVDP) and incidence of ventricular tachyarrhythmias were evaluated in Langendorff-perfused hearts exposed to 30-min global ischemia/120-min reperfusion. In addition, the same protocols were also applied in the hypertensive (SHR) rats. In parallel groups, LV tissue was sampled for examination of PKC ϵ protein levels (WB).

RIPC significantly reduced IS, severity of arrhythmias, improved recovery of LVDP, and markedly enhanced protein levels of PKC ϵ . All these effects were abrogated in the presence of PPAR- α antagonist. Although the hearts of SHR rats showed impaired response to ischemia, similar effects of RIPC and MK were observed.

The results demonstrate the effectiveness of RIPC in protection against acute IR in the hearts of normal and diseased animals indicating its potential for clinical application. PPAR- α might be involved in cardioprotective mechanisms along with activation of PKC ϵ . Grants VEGA 2/0201/15, 2/0133/15, APVV-15-0607, APVV-15-0119, APVV-15-0376, MAD SK-CZ 15-15.

KRVNÝ TLAK VO VZŤAHU K ZMENÁM PROPORCIONALITY TELESNEJ STAVBY U DETÍ A ADOLESCENTOV NA SLOVENSKU V 21. STOROČÍ

Regecová V¹, Neščáková E², Kellerová E¹

¹Ústav normálnej a patologickej fyziológie SAV Bratislava, ²Katedra antropológie PríFUK Bratislava

Dramatické sociálno-ekonomické zmeny životných podmienok a prostredia počas posledných 25 rokov majú významné zdravotné dôsledky, vrátane rastúceho výskytu civilizačných chorôb a obezity.

Cieľom práce bolo hodnotenie trendov vo výskyte zvýšených hodnôt krvného tlaku vo vzťahu k obezite a zmenám v proporcionalite telesnej stavby u detí a adolescentov na Slovensku počas 25 rokov.

Krvný tlak (TK) u detí a adolescentov na Slovensku (N=48 599), merali odborní zdravotnícki pracovníci v rokoch 1990 – 2015 v materských, základných, stredných a vysokých školách, pričom boli dodržiavané odporúčania ESH/ESC 2009. Okrem telesnej výšky a hmotnosti, boli vo vybranej podskupine (N=707) vyšetrené aj ďalšie antropometrické parametre (hrúbky kožných rias, percento tuku a obvody). Nadmerná hmotnosť a obezita bola definovaná na základe referenčných údajov indexu telesnej hmotnosti (BMI) z Celoštátneho antropometrického prieskumu (2001). Vo vybranej podskupine sme na základe obvodových indexov a podielu tuku vyhodnotili aj proporcionalitu telesnej stavby podľa príslušných kritérií. Zvýšené hodnoty TK boli určené vzhľadom na vek, pohlavie a telesnú výšku na úrovni 90. resp. 95. percentilu (P). Údaje boli analyzované štandardnými štatistickými postupmi (ANOVA, chí-kvadrát, regresná analýza) v programoch Statgraphics Centurion XVI.I a LMS growth 2.77.

Do r. 2001 boli vekové zmeny somatických ukazovateľov proporcionálne k telesnej výške. Nemenil sa ani podiel vysokých hodnôt TK (≤ 5 %). Počas sledovaného obdobia sa prevalencia obezity zdvojnásobila a v súčasnosti sa pohybuje v závislosti od vekových skupín, pohlavia a regiónov bydliska v rozpätí 6 – 11 %. Vzostup priemerných hodnôt BMI po r. 2001 bol významný v celom vekovom rozpätí ($p < 0,001$). Najväčšie prírastky boli zaznamenané u detí v mladšom školskom veku. Významné rozdiely v Pignetovom indexe svedčia o zníženej zdatnosti súčasnej mladej generácie. Identifikovali sme aj skrytú obezitu u zdanlivo štíhlych chlapcov (6 – 16 %) a dievčat (12 – 30 %). Paralelne s nárastom prevalencie obezity sa signifikantne zvýšili priemerné hodnoty TK (o 3 – 5 mm Hg, $p < 0,001$). Hranice optimálneho TK dospelých (120 mm Hg) dosiahne 50 % chlapcov už vo veku 13 rokov (u obéznych dokonca 11- 12 rokov), kým v minulosti to bolo vo veku 16 rokov. Zvýšené hodnoty TK sa pri obezite vyskytujú 3 – 5 krát častejšie ($p < 0,001$). Pri skrytej obezite je riziko vzniku HT u chlapcov rovnaké ako pri nadmernej hmotnosti, u dievčat narastá rovnakou mierou s % tuku a s BMI.

Zvyšovanie telesnej hmotnosti pri spomaľovaní rastu sa zákonite prejavilo okrem obezity v zhoršení parametrov zdatnosti a významnou mierou prispieva k zvyšovaniu prevalencie vysokých hodnôt krvného tlaku už v detskom a adolescentnom veku. Uvedené trendy poukazujú na nedostatok pohybu dnešnej mládeže spôsobený nielen ubúdaním športovísk, ale najmä uprednostňovaním pohodlia a sedavých voľnočasových činností detí a ich rodičov.

S podporou grantových projektov APVV-0348-12 a VEGA 2/0084/14.

VLIV LÉČBY ANTAGONISTOU 20-HYDROXYEIKOSATETRAENOVÉ KYSELINY NA KREVŇÍ TLAK A RENÁLNÍ FUNKCE U MODELU INDUKOVANÉ HYPERTENZE

Sedláková L^{1,2}, Kikerlová S¹, Husková Z¹, Kopkan L¹, Červenka L¹

¹Centrum experimentální medicíny, Institut klinické a experimentální medicíny, Praha, ČR,

²Katedra fyziologie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Praha, Česká republika

20-Hydroxy-eikosatetraenová kyselina (20-HETE) hraje roli při regulaci krevního tlaku, působí na vaskulární tonus a ovlivňuje hospodaření organismu s vodou a ionty. V tubulech inhibuje absorpci sodných iontů, působí jako vazokonstriktor a podporuje apoptózu podocytů. Syntéza a uvolňování 20-HETE je regulována angiotenzinem II (ANG II), endotelinem 1, serotoninem nebo růstovými faktory.

Cílem studie bylo zjistit vliv léčby antagonistou 20-HETE [2,5,8,11,14,17-hexaaxanonadekan-19-yl 20-hydroxyikosa-6(Z),15(Z)-dieonát] (SOLA) na krevní tlak a renální funkce v porovnání s léčbou antagonistou AT₁ receptoru ANG II (Lozap) u Ren-2-transgenických potkanů (tTGR) s indukovatelnou hypertenzí pomocí indol-3-karbinolu (I3C).

V anestezii (isofluoran) byla samcům ve věku 12 týdnů implantována telemetrická sonda do abdominální části aorty. Po dvoutýdenní rekonvalescenci byli rozděleni do šesti skupin: neindukovaní + voda; neindukovaní + Lozap (10mg/kg/den); neindukovaní + SOLA (10mg/kg/den), indukovaní + voda, indukovaní + Lozap (10mg/kg/den); indukovaní + SOLA (10mg/kg/den), kdy byl indukovaným skupinám podán I3C v dietě a příslušná léčba v pitné vodě.

V průběhu pokusu byli potkani opakovaně umístěni do metabolických klecí pro zjištění albuminurie, koncentrací iontů a 20-HETE v moči. Pokus byl ukončen dekapitací a byla odebrána ledvinná tkáň pro měření ANG II. Z krevní plazmy byla měřena aktivita angiotenzin konvertujícího enzymu (ACE).

V porovnání s neléčenou skupinou SOLA snížila krevní tlak, nicméně nedosáhla účinku léčby Lozapem. SOLA neměla významný vliv na albuminurii na rozdíl od skupiny léčené Lozapem kde byla albuminurie významně snížena. Nicméně SOLA výrazně snížila hladiny ANG II v ledvinné tkáni obdobně jako u skupiny léčené Lozapem. Navíc ACE aktivita byla u skupiny SOLA signifikantně nižší než u skupiny Lozap.

Přestože léčba antagonistou 20-HETE částečně snížila krevní tlak u modelu indukované hypertenze, neměla významný efekt na albuminurii a vylučování sodíku. V porovnání antagonisty AT₁ receptoru vedl k výraznějšímu poklesu krevního tlaku a albuminurie u těchto zvířat. Oba antagonisté vedly k významnému snížení ANG II v ledvinách. 20-HETE se tedy podílí na regulaci krevního tlaku pouze částečně a zásadně neovlivňuje renální funkce u modelu indukované hypertenze, i když vykazuje významnou interakci s renin-angiotensinovým systémem.

MODEL KRYONEKRÓZY MYOKARDU - VÝHODY A LIMITY PRO STUDIUM REGENERACE NEKROTICKÉHO LOŽISKA

Scheer P^{1,3}, Hložková J^{1,3}, Uhríková I², Suchý P Jr³, Parák T³, Hlinomaz O¹

¹FN u Svaté Anny-ICRC Brno, ²Fakulta veterinárního lékařství, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, ³Farmaceutická fakulta, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Česká republika

V éře „buněčné terapie“ narůstá poptávka po dobře standardizovaných modelech, kde je možné objektivně kvantifikovat benefit buněčné terapie. Ideální model způsobí standardní poškození a má k nule inklinující mortalitu. Tyto sice obecné požadavky nabývají na významu, pokud chceme pracovat s populací maturovaných zvířat a aplikovat autologní buňky, protože cena kultivací a značení autologních buněk tlačí experimentátory k minimální mortalitě. Kryonekrózy jsou v experimentální praxi používány již od 80. let.

Cílem sdělení je popsat model kryonekrózy myokardu u potkanů a popsat limity tohoto modelu.

Potkani (outbrední Wistar, samci 450-500 g, n=40, samice 350-400 g, n=10), o kterých je referováno jsou z kontrolních skupin bez buněčné léčby z projektu EPC kolonizovaných omentálních štěpů a EPC kolonizovaných kolagenních extracelulárních matrix.

U všech jedinců proběhl předchozích minimálně 10 týdnech odběr periferní krve a/nebo krve ze slezinných sinusů a/nebo laváž peritonea pro získání autologních EPC. Kryonekróza hrotu levé komory byla provedena standardně z levé torakotomie ve 4. interkostálním prostoru ve 35. minutě operačního protokolu, 60-ti vteřinovým přiložením žehla vymraženého na teplotu tekutého dusíku. V průběhu torakotomie byla monitorována EKG křivka, EKG bylo provedeno i v průběhu následných MRI a sonografických vyšetření. Čas sledování byl 3 (n=40) a 6 měsíců (n=10). U všech jedinců bylo následně srdce histologicky vyšetřeno.

Mortalita v modelu byla nulová. Jediný úhyn byl zaznamenán při nezdaru intubace ještě před provedením kryonekrózy. U jedné samice se spontánně vyskytl novotvar v mediastinu.

V 49 případech byla provedena kryonekróza. Podle našeho sledování je myokard po vymražení elektricky stabilní a nedochází k fatálním arytmiím. Kryonekróza je transmurální s destrukcí malých cév a zachováním magistrálních žil a tepen a ostrým okrajem mezi destruovanou oblastí a funkčním myokardem.

Model kryonekrózy myokardu je dobře standardizovatelný, bezpečný experimentální model vhodný zejména k studiu buněčné terapie. Model je zcela prostý arytmiických projevů nestabilního ischemizovaného myokardu a tudíž nevhodný k experimentům řešícím antiarytmickou ochranu myokardu.

Práce byla podpořena projekty NPU č. LQ1605 (MŠMT ČR) a FNUSA-ICRC č. CZ.1.05/1.1.00/02.0123 (OP VaVpI).

PRODLOUŽENÍ QT INTERVALU U NEUROVÝVOJOVÉHO MODELU SCHIZOFRENIE POTKANA

Stračina T¹, Ronzhina M², Štark T³, Rudá J³, Olšanská E², Micale V⁴, Babula P^{1,5},
Nováková M^{1,5}

¹Fyziologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno, Česká republika, ²Ústav biomedicínského inženýrství, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, Vysoké učení technické v Brně, Brno, Česká republika, ³Farmakologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno, Česká republika, ⁴Středoevropský technologický institut, Masarykova univerzita, Brno, Česká republika, ⁵Mezinárodní centrum klinického výzkumu, Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně, Brno, Česká republika

Prodloužení QT intervalu je nezávislým rizikovým faktorem pro vznik srdečních arytmií. Často se prodloužení QT objevuje jako nežádoucí účinek farmakoterapie. Mezi léky prodlužující QT interval řadíme i některá antipsychotika. Nicméně prodloužení QT bylo popsáno i u neléčených pacientů se schizofrenií. Mechanizmy podílející se na prodloužení QT u schizofreniků jsou nejasné. Klinický výzkum je značně komplikován často akutním stavem pacientů s psychózou. Tato studie se zabývá studiem QT intervalu u izolovaného srdce neurovývojového methylazoxymethanol acetátového (MAM) modelu schizofrenie potkana.

Na modelu izolovaného srdce zjistit, zda se liší srdeční frekvence a délka QT intervalu u potkanů se schizofrenií podobným fenotypem a u kontrolních zvířat. Popsat změny těchto parametrů pod vlivem klasického antipsychotika haloperidolu.

Ve studii bylo použito 9 samců MAM modelu (skupina MAM) a 6 kontrolních samců (skupina CON) potkanů kmene Sprague-Dawley. Zvířata byla ustájena v prostředí s monitorovanou teplotou, tlakem a vlhkostí vzduchu, se světelným cyklem 12/12 (světlo/tma). Srdce potkanů bylo perfundováno dle Langendorffa Krebs-Henseleitovým roztokem za stálého perfuzního tlaku (75±5 mmHg) a teploty (37±0,1°C). Po 20 minutové stabilizaci preparátu bylo srdce perfundováno haloperidolem (10 nmol/l, 40 min). Následně byl proveden washout (40 min). Během celého experimentu byl kontinuálně zaznamenáván elektrogram izolovaného srdce. Off-line analýzou byla vyhodnocena srdeční frekvence, délka QT intervalu a výskyt arytmií. Délka QT intervalu byla korigována dle Bazzeta (QTc). Výsledky jsou prezentovány jako průměr ± SD.

Srdeční frekvence se mezi skupinami na konci stabilizace výrazně nelišila. Ke změně srdeční frekvence nedošlo ani po expozici haloperidolu. Na konci stabilizace vykazovala skupina MAM statisticky významné prodloužení QTc (69,5±4,8 ms u MAM vs. 64,8±1,9 ms u CON; p<0,05). Tento rozdíl se ještě zvýraznil po podání haloperidolu (72,7±5,4 ms u MAM vs. 63,2±2,5 ms u CON v poslední minutě perfuze haloperidolem; p<0,01). Po washoutu se délka QTc vrátila k hodnotám na konci stabilizace. Ve výskytu srdečních arytmií nebyl mezi skupinami nalezen signifikantní rozdíl.

U neurovývojového MAM modelu schizofrenie potkana bylo na modelu izolovaného srdce prokázáno signifikantní prodloužení QT intervalu. U skupiny MAM se po podání haloperidolu QTc ještě více prodloužilo. Další výzkum neurovývojového modelu schizofrenie může přinést nový náhled na mechanismy prodloužení QT u pacientů se schizofrenií.

Tento příspěvek vznikl na Masarykově univerzitě v rámci projektu: Kardiovaskulární systém: od modelu přes terapii k prevenci, číslo MUNI/A/1365/2015 a Experimentální farmakologický vývoj v neuropsychiatrii a onkologii číslo MUNI/A/1284/2015 podpořených z prostředků účelové podpory na

specifický vysokoškolský výzkum, kterou poskytlo MŠMT v roce 2016. Práce byla rovněž podpořena projekty GAČR GAP102/12/2034, European Regional Development Fund - FNUSA-ICRC (No. CZ.1.05/1.1.00/02.0123) a programem SoMoPro II - Program Maria Curie Sedmého rámcového programu EU číslo 291782.

ELEKTROFYZIOLOGIA NIEKTORÝCH PARAMETROV MYOKARDU POTKANA PRI TROCH TYPOCH CELKOVEJ ANESTÉZIE. CHRONOBIOLOGICKÁ ŠTÚDIA.

Švorc P¹, Švorc P Jr², Nováková P¹, Bačová I¹, Grešová I¹

¹Ústav humánnej fyziológie, Lekárska fakulta UPJŠ, Košice, Slovenská republika, ²Ústav fyziológie a patofyziológie, Lekárska fakulta Ostravská univerzita, Ostrava, Česká republika

Poruchy srdcového rytmu sú predpovedateľné zmenami v elektrofyziologických parametroch myokardu a teda znalosť ich východzieho stavu, môže významne ovplyvniť interpretáciu experimentálnych výsledkov. Chronobiologické štúdie skúmajúce interakcie medzi celkovou anestéziou a dennými rytmami naznačujú, že celkové anestetiká majú významný vplyv na vitálne funkcie. Doteraz však neexistujú žiadne literárne dôkazy o účinku anestézie na srdcovú frekvenciu a na rozhodujúce elektrofyziologické parametre myokardu ako funkcie svetla a tmy.

Špecifickým cieľom tejto štúdie, pokiaľ ide o závislosť na cykle striedajúceho sa svetla a tmy (LD cyklus) v podmienkach in vivo pri spontánnom dýchaní u pentobarbitalom (40mg/kg), ketamín-xylozínom (100mg/kg + 15mg/kg) a zoletilom (30mg/kg) anestizovaných potkanov, bolo vyhodnotiť rozdiely v elektrofyziologických parametroch, ktoré môžu predpovedať nástup alebo vývoj porúch srdcového rytmu.

Štúdia bola robená na samiciach potkana kmeňa Wistar po adaptácii na LD cyklus (12h svetlo: 12h tma). Frekvencia srdca, rektálna teplota meraná pred a po podaní anestetika a trvanie PQ a QT intervalov boli hodnotené z hľadiska ich závislosti na LD cykle.

Svetlo-tma rozdiely v sledovaných parametroch boli zrušené v pentobarbitalovej anestézii, v ketamín-xylozínovej anestézii boli modifikované a v zoletilovej anestézii boli zachované.

Na základe našich výsledkov sme došli k záveru, že najväčšie predispozície pre rozvoj komorových arytmií vyplývajúcich z porúch tvorby a vedenia impulzov sú v zoletilovej anestézii vo svetlej (neaktívnej) perióde a komorových arytmií vyplývajúcich z porúch v disperzii refraktérnych periód sú v ketamín-xylozínovej anestézii a taktiež vo svetlej (neaktívnej) perióde režimového dňa potkana. Pentobarbitalová, rovnako ako aj ketamín-xylozínová anestézia, na rozdiel od zoletilovej anestézie, nie sú vhodné pre chronobiologické elektrokardiografické štúdie, nakoľko pravdepodobne narušujú, alebo modifikujú denný rytmus zmien v elektrofyziologických parametroch. Avšak, pentobarbitalová a zoletilová anestézia môžu byť vhodné pre výskum elektrofyziológie srdca, ktorý neberie do úvahy cirkadiánne variácie elektrokardiografických parametrov, nakoľko nemajú kardiodepresívne vplyvy, v protiklade s ketamín-xylozínovou anestéziou.

PLEIOTROPNÉ PÔSOBENIE SIMVASTATÍNU NA PROTEÍNY REGULUJÚCE VÁPNIKOVÚ HOMEOSTÁZU A MYOFIBRILÁRNE PROTEÍNY V SRDCI VYSTAVENOM ISCHÉMII/REPERFÚZII: PRÍČINA KARDIOPROTEKTÍVNEHO PÔSOBENIA STATÍNOV?

Szobi A¹, Lichý M¹, Čarnická S², Pancza D², Švec P¹, Ravingerová T², Adameová A¹

¹*Katedra Farmakológie a Toxikológie, Farmaceutická fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Slovenská republika, ²Ústav pre výskum srdca, Slovenská Akadémia Vied a Centrum excelentnosti, SAS NOREG, Bratislava, Slovenská republika*

Kardioprotektívne účinky statínov sú z klinickej praxe dobre známe a boli potvrdené aj množstvom experimentálnych prác. Mechanizmy, ktoré sa na tomto pleiotropnom, od hypolipidemického účinku nezávislom pôsobení zúčastňujú nie sú stále dostatočne objasnené. Je známym faktom, že pri ischemicko-reperfúznom (I/R) poškodení srdca dochádza ku kontraktilnej dysfunkcii a narušeniu Ca²⁺ homeostázy. Kritickým regulátorom týchto procesov je Ca²⁺/kalmodulín závislá proteín kináza II δ (CaMKII δ) a jej cieľové proteíny (PLN - fosfolambán, cMyBP-C - srdcový proteín C viažúci myozín). Fosforylačný status týchto proteínov je zároveň regulovaný proteín fosfatázami, konkrétne PP1 β a PP2A.

Keďže tieto mechanizmy priamo ovplyvňujú činnosť myokardu, našim cieľom bolo zistiť, či simvastatín ovplyvňuje tieto signálne dráhy a tým zlepšuje mechanickú funkciu myokardu.

V experimentoch sme pracovali s izolovanými srdcami kontrolných a simvastatínom premedikovaných (p.o. 10 mg/kg, 5 dní) potkanov, ktoré boli podrobené 30 minútovej globálnej ischemii po ktorej nasledovala 40 minútová reperfúzia. Expresiu vybraných proteínov vo vzorkách ľavých komôr sme stanovili metódou SDS-PAGE a Western blotting.

Hladiny plazmatických lipidov neboli simvastatínom ovplyvnené. Mechanická funkcia srdca potkanov premedikovaných simvastatínom, vyjadrená ako tlak vyvinutý ľavou komorou, indexy kontrakcie a relaxácie, bola signifikantne zlepšená. Expresia pThr²⁸⁷-CaMKII δ a ani jej cieľových proteínov pThr¹⁷-PLN a Ser²⁸²-cMyBP-C nebola simvastatínom ovplyvnená. Rovnako nebol simvastatínom ovplyvnený ani pomer PLN/SERCA2a. Avšak, simvastatín znížil zvýšenú expresiu PP1 β v I/R srdciach. Expresia PP2A bola konštantná vo všetkých skupinách.

Výsledky naznačujú, že pôsobenie simvastatínu v CaMKII δ signalizácii je nepravdepodobným dôvodom jeho kardioprotektívneho účinku. Ako pravdepodobnejšie vysvetlenie sa javí skôr ovplyvnenie aktivity proteín fosfatázy PP1 β .

HLADINY MIKRORNA U PACIENTŮ PO INFARKTU MYOKARDU – PILOTNÍ DATA

Tomášková V¹, Tkáčová N¹, Šustr F¹, Biel V², Novák J^{1,3}

¹Fyziologický ústav LF MU, Brno, Česká republika, ²I. interní kardiologická klinika LF MU a FNUSA, Brno, Česká republika, ³II. interní klinika LF MU a FNUSA, Brno, Česká republika

Akutní infarkt myokardu (AIM) představuje stále život ohrožující onemocnění, zejména není-li včas rozpoznán a zaléčen. Srdeční mikroRNA (miRNA, miR) jsou po AIM vyplavovány do oběhu podobně jako troponin a jejich stanovení by tak mohlo představovat alternativní a případně citlivější metodu k diagnostice AIM než stanovení troponinu jako takového.

Cílem studie bylo zjistit, jak se mění plazmatické hladiny vybraných miRNA u pacientů po AIM.

Do této pilotní studie bylo zařazeno celkem 7 pacientů (2 ženy, věk 59±9 let) s AIM s elevacemi ST úseku a 10 pacientů bez AIM (1 žena, věk 63,8±5,9 let). Od všech pacientů byla odebrána krev před provedením koronární intervence (dPCI) a poté v časech +3, +12, +24 a +72 hodin. Z krve byla separována plazma, z níž byla pomocí komerčně dostupných kitů (miRNeasy kit, QIAGEN) vyizolována celková RNA. Pomocí qRT-PCR s využitím TaqMan assay byly stanoveny hladiny miR-499, miR-210 a miR-126.

Hladiny miR-499 byly statisticky signifikantně vyšší u pacientů po AIM než u kontrolní skupiny (C vs AIM: 1,8±1,0 vs 3,7±2,5; p = 0.049). Hladiny miR-499 se dále statisticky signifikantně lišily mezi jednotlivými odběrovými časy – dosahovaly peaku ve 3. hodině od dPCI a do 72 hodin klesly k původním hodnotám (0 vs +3h vs +12h vs +24h vs + 72h: 3,7±2,5 vs. 8,8±0,8 vs. 7,58±2,8 vs 6,2±2,3 vs. 3,8±0,9; p=0,00034). miR-126 a miR-210 nevykazovaly tento trend.

Hladiny cirkulující miR-499 jsou vyšší u pacientů po AIM než u pacientů bez AIM již při příjezdu na katetizační sál, dále stoupají s peakem za 3 hodiny od dPCI a poté klesají k normě. Po zvládnutí technologických překážek a urychlení procesu stanovení by tak miR-499 mohla sloužit jako diagnostický marker AMI.

Podpořeno z projektu „Kardiovaskulární systém: od modelu přes terapii k prevenci“ MUNI/A/1365/2015.

INVERZNÝ VZŤAH MEDZI EXPRESIOU MYOKARDIÁLNEHO KONEXÍNU-43 A NÁCHYLNOSŤOU SRDCA K MALÍGNYM ARYTMIÁM

Tribulová N¹, Szeiffová Bačová B¹, Egan Beňová T¹, Vicenczová C¹, Knezl V², Slezák J¹,
Barančík M¹

¹Ústav pre výskum srdca, SAV, Bratislava, Slovensko, ²Ústav experimentálnej farmakológie a
toxikológie, SAV, Bratislava, Slovensko

Priamu komunikáciu medzi kardiomyocytmí zabezpečujú neselektívne konexínové kanály tým, že sprostredkujú prenos molekulárnych signálov a propagáciu akčného potenciálu. Ich funkcia je preto esenciálna pre synchronizovanú činnosť srdca. Abnormality v expresii a/alebo fosforylácii konexínu-43 (Cx43) a dysfunkcia kanálov má za následok poruchy v prenose elektrického vzruchu, ktoré podporujú vznik malígnych arymíí.

Overiť našu hypotézu, že srdce náchylné k malígnym arytmiám má zníženú expresiu a pravdepodobne aj abnormálnu lokalizáciu Cx43 v myokarde zatiaľčo zvýšená expresia Cx43 znižuje riziko vzniku arymie. Okrem toho sme chceli objasniť účasť PKCe, ktorá fosforyluje Cx43, v arymogenéze.

Western blot analýzy expresie PKC-epsilon a Cx43 ako i jeho imunohistochemickú detekciu sme robili v myokarde ľavej komory srdca potkanov s vyvolaným diabetom, hypo- a hypertyroidným stavom, spontánnou hypertenziou buď neliečených alebo suplementovaných omega-3 PUFA, červeným palmovým olejom a melatonínom a tiež u zdravých zvierat. Incidenciu komorovej fibrilácie alebo fibrilačný prah sme testovali na izolovanom perfundovanom srdci.

V porovnaní so zdravými potkanmi bola expresia celkového aj fosforylovaného Cx43 signifikantne zvýšená v myokarde diabetických a hypotyroidných potkanov, avšak znížená u hypertyroidných a hypertenzných potkanov. Zmeny v expresii PKC-epsilon korelovali so zmenami fosforylovaného Cx43. Abnormálna myokardiálna lokalizácia Cx43 bola najvýraznejšia u hypertenzných potkanov. Výskyt elektricky indukovanej komorovej fibrilácie bol signifikantne vyšší a prah na jej vyvolanie nižší u potkanov s down-reguláciou Cx43 a naopak. Suplementácia testovanými látkami čiastočne zabránila down-regulácii Cx43, čo bolo spojené s nižším výskytom komorovej fibrilácie.

Výsledky podporujú našu hypotézu a poukazujú na inverzný vzťah medzi expresiou myokardiálneho Cx43 a náchylnosťou srdca k malígnym arytmiám. PKC-epsilon by mohla prispievať k modulácii arymogenézy. Antiarytmické účinky testovaných nefarmakologických látok by mohli súvisieť s potencovaním expresie myokardiálneho Cx43.

Podporené APVV 0348/12 a VEGA 2/0076/16 grantami.

VÝVOJ SPRIAHNUTIA EXCITÁCIE S KONTRAKCIOU V KOMOROVÝCH MYOCYTOCH MLADÝCH POTKANOV

Zahradníková A Jr¹, Macková K¹, Zahradník I¹, Zahradníková A¹

¹Ústav molekulárnej fyziológie a genetiky SAV, Bratislava

Spriahnutie excitácie s kontrakciou v komorových myocytoch cicavcov je závislé na uvoľňovaní iónov vápnika z vnútrobunkových zásobníkov (SR). Pri elektrickej aktivácii myocytu dochádza k priestorovo ohraničenej vápnikovej signalizácii medzi napäťovo-závislými vápnikovými kanálmi (DHPR) sarkolemy a vápnik uvoľňujúcimi kanálmi (RyR) cisterien SR. Pre dosiahnutie rovnomernej priestorovej distribúcie uvoľňovania vápnika do cytoplazmy sarkolema vytvára sieť transverzálnych tubulov ku ktorým sa pripájajú terminálne cisterny SR a spolu tvoria tzv. diády. Táto sieť sa vytvára počas dozrievania komorových myocytov, ku ktorému u potkanov dochádza v ranom postnatálnom období.

V tejto práci sme hľadali súvislosti medzi vývojom tubulárnej siete a vývojom vápnikovej signalizácie v komorových myocytoch potkanov. Myocyty sme izolovali z jedincov vo veku 1 až 21 dní a z dospelých jedincov starších ako 60 dní.

Pre sledovanie vývoja tubulárnej siete sme izolované myocyty značili lipofilnou značkou FM 4-64 a bunky sme zobrazovali pomocou laserovej skenovacej konfokálnej mikroskopie. Povrchovú hustotu sarkolemy a jej jednotlivých zložiek - transverzálnych a longitudinálnych tubulov a voľnej plazmalemy - sme určovali pomocou stereologickej metódy vertikálnych rezov. Na charakterizáciu vývoja vápnikovej signalizácie sme zaznamenávali vápnikové prúdy pri stimulácii 80 ms dlhým napäťovým pulzom z -50 mV na 0 mV metódou patch-clamp. Analyzovali sme podiel rýchlej zložky inaktivácie vápnikových prúdov, o ktorej je známe, že závisí na uvoľňovaní vápnika.

Zakladanie sarkolemálnych invaginácií sme pozorovali okolo 9. dňa po narodení. Povrchová hustota sarkolemy narastala úmerne so zvyšovaním membránovej kapacity a zároveň dochádzalo k znižovaniu podielu voľnej sarkolemy. Amplitúda vápnikového prúdu sa zvyšovala, pričom prúdová hustota I_{Ca} sa saturovala po 11. dni veku na hodnotách typických pre dospelé zvieratá. Rýchlu zložku inaktivácie bolo možné pozorovať najskôr na 4. deň po narodení. Jej podiel narastal s vekom a dosiahol dospelé hodnoty okolo 19. dňa veku. Časová konštanta rýchlej zložky inaktivácie neonatálnych a dospelých myocytov sa významne neodlišovali.

Tieto údaje naznačujú, že funkčná lokálna vápniková signalizácia a teda tvorba diadických komplexov predbieha vznik tubulárneho systému.

Grantová podpora: APVV-15-0302-CAMYS, VEGA 2/0095/15, VEGA 2/0147/14.

OCHRANNÝ ÚČINOK HYPOXICKÉHO POSTCONDITIONINGU A APLIKÁCIE MOLEKULOVÉHO VODÍKA VOČI ISCHEMICKO-REPERFÚZNEMU POŠKODENIU SRDCA

Zálešák M¹, Graban J¹, Kura B¹, Pancza D¹, Ravingerová T¹, Slezák J¹

¹Ústav pre výskum srdca, Slovenská akadémia vied, Bratislava, Slovenská republika

Obnova koronárneho prietoku a dodávky kyslíka do myokardu počas prvých minút po akútnej ischemii je spojená s rizikom ischemicko-reperfúzneho poškodenia srdca. Hypoxický postconditioning aplikovaný počas tohto kritického obdobia reperfúznej terapie je založený na postupnej obnove dostupnosti kyslíka na zabránenie oxidačného poškodenia myokardu. Molekulový vodík je považovaný za selektívny antioxidant, ktorý nenaruša fyziologickú tvorbu voľných radikálov v rámci energetického metabolizmu a vnútrobunkovej signalizácii.

Cieľom štúdie bolo vyhodnotiť, či aplikácia molekulového vodíka zlepší ochranný účinok hypoxického postconditioningu voči ischemicko reperfúznemu poškodeniu srdca.

Metódy: Experimenty sa uskutočnili na izolovaných srdciach potkanov perfundovaných Krebs-Henseleitovým roztokom (KH) a vystavených 30 min globálnej ischemii/120 min reperfúzii (I/R). Hypoxický postconditioning bol navodený po 30 min ischemii sériou 4 cyklov 1 min perfúzie neokysličeným KH oddelených 1 min cyklami perfúzie KH nasýteným s O₂/CO₂ pred 120 min reperfúziou KH nasýteným s O₂/CO₂ (HpostC). Aplikácia vodíka sa uskutočnila v rámci HpostC keď neokysličený KH bol saturovaný s H₂ (H₂+HpostC). Odolnosť a závažnosť I/R poškodenia srdca sa hodnotila na základe určenia rozsahu infarktu v rizikovej oblasti myokardu (IS/AR) tetrazóliovou metódou, vyhodnotením obnovy funkčných parametrov (LVDP-obnova tlaku vvyvinutého ľavou komorou, LVEDP-koncovodiastolický tlak ľavej komory) a reperfúzných arytmií.

HpostC signifikantne znížil IS/AR (24,6±0,9% vs. 38,7±1,4% v I/R), počet epizód komorových tachykardií (3,33±1,47 vs. 19,75±6,92 v I/R), LVDP (22,06±5,95mmHg vs. 54,7±7,2mmHg v I/R). Aplikácia vodíka znížila IS/AR (16,65±0,8% vs. 24,6±0,9% v HpostC) a zlepšila obnovu LVDP (53±11% vs. 23,16% v I/R).

Výsledky experimentov potvrdili ochranný účinok HpostC voči I/R poškodeniu srdca. Aplikácia vodíka zlepšila obnovu funkcie srdca vystavených HpostC a antiinfarktový účinok HpostC.

Granty: VEGA 2/0201/15, 2/0021/15, 2/0133/15, APVV-0102-11, APVV-0241-11, APVV-15-0376, APVV-15-0119.

ANALÝZA OD ENDOTELU ZÁVISLEJ RELAXAČNEJ ODPOVEDE PĽÚCNEJ ARTÉRIE U SPONTÁNNE HYPERTENZNÝCH POTKANOV

Zemančíková A¹, Török J¹, Bališ P¹, Púzserová A¹

¹Ústav normálnej a patologickej fyziológie, Slovenská akadémia vied, Bratislava, Slovenská republika

Spontánne hypertenzné potkany (SHR), ako najpoužívanejší animálny model ľudskej esenciálnej hypertenzie, vykazujú už v mladom veku postupný nárast cievnej rezistencie, systémového krvného tlaku, hypertrofie myokardu a ďalších abnormalít, ktoré u starších jedincov prechádzajú do rozsiahleho kardiovaskulárneho poškodenia, často sprevádzaného malígnou hypertenziou a kongestívnym zlyhávaním srdca. Viacerí autori popísali u tohto kmeňa potkana tiež významné poškodenie pľúcnej cirkulácie a hraničnú pľúcnu hypertenziu [1], avšak reaktivite prírodných pľúcnych artérií sa zatiaľ nevenovala dostatočná pozornosť.

Cieľom tejto práce bolo analyzovať rozsah a jednotlivé komponenty relaxačnej odpovede pľúcnej artérie u SHR a porovnať ich s reakciami u normotenzných Wistar-Kyoto (WKY) potkanov.

Do experimentu boli zaradené dospelé (20-týždňové) samce SHR a WKY potkanov. Pokusy sa uskutočnili na prstencoch izolovanej extralobárnej časti pľúcnej artérie, ktoré boli inkubované v modifikovanom Krebsovom roztoku a napojené na snímač izometrickej tenzie. Na fenylefrínom predkontrahovaných arteriálnych preparátoch boli hodnotené od endotelu závislé relaxačné odpovede na acetylcholín – za kontrolných podmienok, a tiež po predchádzajúcej inkubácii s L-NMMA (N^G-monomethyl-L-arginín – inhibítor syntázy oxidu dusnatého (NO)), alebo s ODQ (inhibítor solubilnej guanylátcyklázy), pomocou ktorých sa analyzovala NO-závislá zložka relaxácie.

Pľúcna artéria u SHR nevykazovala endotelovú dysfunkciu – acetylcholínom indukované relaxačné odpovede boli úplne zachované pri porovnaní s WKY potkanmi. Tieto reakcie boli výrazne redukované v prítomnosti inhibítorov L-NMMA a ODQ, čo naznačuje, že relaxácia pľúcnej artérie je značne závislá od produkcie NO – ako u WKY potkanov, tak aj u SHR. Odlišné výsledky boli nájdené u systémových – malých mezenterických artérií, v ktorých L-NMMA nemal vplyv na veľkosť relaxačnej odpovede, hoci samotná endotel-závislá relaxácia týchto artérií bola u SHR zmenšená. Kontrakcia pľúcnej artérie na fenylefrín bola významne menšia u SHR v porovnaní s WKY potkanmi, pričom po predradenej inkubácii s inhibítormi L-NMMA a ODQ došlo k jej významnému zväčšeniu.

Výsledky naznačujú, že u 20-týždňových SHR, napriek dlhodobo rozvinutej hypertenzii a poškodeniu relaxačnej funkcie artérií v systémovom krvnom obeh, v pľúcnych artériách nedochádza k významným zmenám v relaxačnej odpovedi, ako ani v jej komponentoch – NO-závislej a nezávislej zložke. Zdá sa, že bazálne, ako aj stimulované uvoľňovanie NO v pľúcnej artérii nie je u dospelých SHR narušené. Prírodná pľúcna artéria, podobne ako systémové artérie, vykazuje zníženú kontraktilnú odpoveď na fenylefrín, čo môže byť dané zmenenými biomechanickými vlastnosťami steny veľkých artérií u SHR.

Práca vznikla za finančnej podpory grantu Slovenskej kardiologickej spoločnosti a grantu VEGA č. 2/0202/16.

[1] Aharinejad S. *et al.* Am J Pathol. 1996; 148(1):281-90.

Zoznam autorov

Adamcová M	8-9, 30	Goga R	3
Adameová A	32, 33, 40	Grabán J	44
Andršová I	6-7	Grešová I	39
Babula P	11, 23, 37-38	Griecsová L	12, 24, 33
Báčová I	39	Havlenová T	13
Bališ P	3, 19, 22, 45	Hlinomaz O	14, 36
Barančík M	4, 22, 31, 42	Hložková J	14, 36
Barteková M	4, 31	Horniková D	20
Bébarová M	6-7, 21	Hošek J	6-7
Behuliak M	3	Husková Z	10, 35
Beneš J	16	Hynie S	27
Berényiová A	19	Jarkovská D	15, 16
Bernátová I	3, 12, 19	Jašová M	18, 28
Biel V	41	Jirkovská A	8-9, 30
Blaha M	29	Jirkovský E	8-9, 30
Brabcová I	5	Kala P	17
Brázdová P	8-9, 30	Kalous M	20
Bujňáková I	26	Kancirová I	18, 28
Čarnická S	24, 28, 33, 40	Karabanovich G	8-9
Červenka L	10, 13, 15, 17, 35	Kellerová E	34
Chottová-Dvořáková M	27	Kikerlová S	35
Chvojka J	16	Klenerová V	27
Danihel V	16	Kluknavský M	19
Doleželová Š	10	Knezl V	42
Dovinová I	4, 22	Kolář D	20
Drahota Z	20	Kolář F	33
Drobná M	19	Kopkan L	10, 17, 35
Dufek D	11	Kotrč M	13
Egan Beňová T	42	Křižanová O	23
Farkašová V	12, 24, 33	Kucharská J	18
Ferenczyová K	4	Kujal P	10
Ferko M	18, 28, 33	Kula R	21
Flegrová E	20	Kura B	44
Fogarassyová M	4, 31	Kvandová M	22
Gáblovský I	12	Langer P	26
Gaillyová R	6-7	Lazou A	33
Giannakos E	31	Lekeš D	23
		Lenčová O	30

Lichý M	40	Ronzhina M	37-38
Lonek E	12, 24, 28, 33	Rudá J	37-38
Ludka O	29	Scheer P	14, 36
Lukáč Š	19	Sedláková L	17, 35
Macková J	43	Sekaj I	3
Majzúnová M	22	Šída P	27
Manakov D	25	Šimůnek T	8-9, 30
Marvanová A	20	Šimurda J	21
Matějovič M	21	Šimurdová M	21
Matějovič P	16	Škaroupková P	13, 15, 17
Mazurová Y	30	Slavíková J	27
Melenovský V	13, 15	Slezák J	33, 42, 44
Mešťaník M	26	Souček M	29
Mešťaníková A	26	Štark T	37-38
Micale V	37-38	Štengl M	15, 16
Mistrová E	27	Štěrba M	8-9, 30
Muchová J	19	Stračina T	11, 37-38
Muráriková M	18, 24, 28, 33	Suchý P Jr	14, 36
Nalos L	15, 16	Sumbalová Z	18
Neckář J	5	Šustr F	41
Neščáková E	34	Švec P	40
Novák J	29, 41	Švecová O	21
Nováková M	11, 23, 37-38	Švíglerová J	15, 16
Nováková P	39	Švorc P	39
Nováková Z	23	Švorc P Jr	39
Novotný J	25	Szadvári I	23
Novotný T	6-7	Szeiffová Bačová B	42
Okruhlicová E	4	Szobi A	32, 40
Olšanská E	37-38	Tibenská V	20
Pancza D	28, 40, 44	Tkáčová N	41
Parák T	14, 23, 36	Tomášková V	41
Pokorná Z	8-9, 30	Tonhajzerová I	26
Pravenec M	5, 25	Török J	45
Púzserová A	19, 22, 45	Tribulová N	4, 42
Radošinská J	4, 19, 31	Uhríková I	14, 36
Rajtík T	32	Ujčíková H	25
Ravingerová T	4, 12, 24, 28, 33, 40, 44	Valášková I	6-7
Regecová V	34	Valešová L	16
Roh J	8-9	Vardali E	31
		Vejmělek A	6-7, 21

Viczenczová C	42
Višňovcová Z	26
Vít P	6-7
Vojtíšková A	10
Zahradník I	43
Zahradníková A	43
Zahradníková A Jr	43
Zálešák M	24, 33, 44
Zemančíková A	45
Zicha J	3
Ziegelhoffer A	18
Žurmanová J	5, 20

Zborník abstraktov

44. konferencia Komisie experimentálnej kardiológie 400 rokov kardiovaskulárneho výskumu - pocta W. Harveymu

17. – 19. október 2016
Stará Lesná, Vysoké Tatry

Editori

Peter Bališ
Iveta Bernátová
Angelika Púzserová

Vydal

Ústav normálnej a patologickej fyziológie, Slovenská akadémia vied, Bratislava,
Slovenská republika

Autori jednotlivých príspevkov sú zodpovední za jazykovú korektúru a obsah abstraktov.

Obrázok na titulnej strane je použitý s povolením z Heritage History zo stránky
<http://www.heritage-history.com/?c=read&author=rowbotham&book=scientists&story=harvey>

Logo 44.konferencie Komisie experimentálnej kardiológie vytvorili
Ing. Pavol Pribylinec, PhD., Ing. Miroslava Kvandová, Mgr. Peter Bališ, PhD.

ISBN 978-80-971699-6-1 EAN 9788097169961

