

**48. pracovní konference**  
**Komise experimentální kardiologie (KEK)**  
**pracovní skupiny při České fyziologické společnosti a Slovenské fyziologické společnosti**  
**Kroměříž, 2021**

**Sborník**

**ANESTEZOVANÉ MORČE JAKO MODEL PRO TESTOVÁNÍ NOVÝCH LÉČIV**

Bartáková A<sup>1</sup>, Stračina T<sup>1</sup>, Opatřilová E<sup>1</sup>, Nováková M<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Fyziologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno, Česká republika, <sup>2</sup>Mezinárodní centrum klinického výzkumu Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně, Česká republika

Celotělový model anestetizovaného morčete představuje cennou součást preklinického testování arytmogenního potenciálu rozličných léčiv. Cílem této práce bylo zavedení tohoto modelu a následné hodnocení arytmogenního potenciálu nově syntetizované látky TP28b, která vykazuje potenciální beta-lytické účinky. Zvířata byla uvedena do hluboké anestezie inhalací isofluranu a poté byla provedena kanylace jugulární vény. Na hrudník morčete byly dále připevněny vpichové elektrody a pro kontinuální monitorování tělesné teploty byla zavedena rektální sonda. Zvířata byla rozdělena do tří skupin: negativní kontrola (fyziologický roztok), pozitivní kontrola (beta-lytikum esmolol) a skupina s testovanou látkou (TP28b). Experiment sestával z fáze stabilizace (15 min), následně tří fází aplikování testované látky či fyziologického roztoku (10, 5 a 5 min) prostřednictvím kontinuální intravenózní infuze a fáze zotavení (5 min). EKG bylo registrováno a analyzováno pomocí LabChart 8 Pro softwaru. Hodnotili jsme RR interval (resp. srdeční frekvenci), PR interval, QRS komplex a QT interval. QT interval byl následně korigován podle Framinghamu. Spolehlivost zavedeného modelu byla prokázána neměnností sledovaných parametrů během celého experimentu u skupiny negativních kontrol. Aplikace beta-blokátoru esmololu dle očekávání snížila srdeční frekvenci, prodloužila PQ interval i trvání QRS komplexu, a zároveň neovlivnila QTc. Bohužel nebylo možné shromáždit dostatek experimentálních dat ve skupině s testovanou látkou TP28b. Jako největší problém se v tuto chvíli jeví precipitace látky v roztoku obsahujícím proteiny, tedy i v krvi. Zároveň jsme ovšem prokázali, že model anestetizovaného morčete je spolehlivý a cenný pro testování nově syntetizovaných léčiv s účinkem na kardiovaskulární systém.

*Podporováno granty MUNI/IGA/1098/2020; MUNI/A/1246/2020; LQ1605*

**ÚČINOK TERAPIE KVERCETÍNOM NA SRDCOVÉ FUNKCIE IN VIVO U DIABETICKÝCH ZDF POTKANOV**

Bartošová L<sup>1</sup>, Ferenczyová K<sup>2</sup>, Kaločayová B<sup>2</sup>, Szobi A<sup>1</sup>, Barteková M<sup>2,3</sup>, Rajtík T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta UK, Bratislava, <sup>2</sup>Ústav pre výskum srdca, CEM SAV, Bratislava, <sup>3</sup>Fyziologický ústav, Lekárska fakulta UK, Bratislava

**Úvod:** S chronickou progresiou diabetes mellitus 2 (DM2) je asociovaných viacero komorbidít kardiovaskulárneho systému, pri ktorých môže patologická remodelácia viesť až ku klinicky závažnej myokardiálnej dysfunkcii - diabetickej kardiomyopatii. Kvercetín, ako polyfenolový flavonol, vykazuje kardioprotektívne pôsobenie na viacerých úrovniach a jeho protektívny charakter súvisí najmä s výraznou antioxidantnou aktivitou a protizápalovým pôsobením, pričom zasahuje aj na viacerých úrovniach molekulárnej signalizácie. V tejto štúdii sme sa zamerali na stanovenie srdcových funkcií *in vivo* echokardiograficky a na posúdenie terapeutického efektu kvercetínu na remodeláciu ľavej srdcovej komory (ĽK) u chronicky liečených diabetických a obéznych ZDF potkanov. **Metódy:** Terapeutické implikácie kvercetínu na srdcové parametre *in vivo* boli stanovované na experimentálnom modeli DM2, ktorý tvorili obézne 1-ročné Zucker Diabetic Fatty potkany (skupina DiaQ) a kontrolné Wistar potkany (skupina KQ). Kvercetín bol podávaný obom skupinám v dávke 20 mg/kg/deň rozpustený v malom množstve etanolu na piškóte počas 6 týždňov. Pred zahájením liečby v 1. týždni a na konci experimentálneho protokolu v 6. týždni boli echokardiograficky zaznamenané parametre ĽK: ejekčná frakcia (EF), srdcový výdaj (CO), koncovo-systolický (ESV) a koncovo-diastolický (EDV) objem, hrúbka medzikomorového septa v diastole (IVSd), zadnej steny ĽK v diastole (LVPWd), vnútorný diameter ĽK v diastole (LVIDd) a parametre mitrálneho prietoku – E/A pomer, A vlna. Niektoré parametre boli použité na výpočet hodnôt pre kardiálny index (CI) alebo relatívnu hrúbku ĽK (RWT). **Výsledky:** Terapia kvercetínom signifikantne redukovala nárast E/A pomeru v neliečenej DiaQ skupine na úroveň KQ kontrol a zvyšovala vlnu A. Systolické parametre EF a CI zostali zachované, zatiaľ čo plniace objemy ESV a EDV boli terapiou zvýšené. Štrukturálne parametre – IVSd, LVPWd, RWT sa následkom terapie signifikantne znížili popri zväčšenému LVIDd. **Záver:** Na základe uvedených výsledkov by sme mohli predpokladať aspoň čiastočný protektívny efekt kvercetínu na diastolickú funkciu ľavej komory obéznych ZDF potkanov, a to v podobe zmierňovania diastolickej dysfunkcie a modulácie ľavo-komorových štrukturálnych parametrov.

*Podporené z grantov VEGA 2/0061/16, VEGA 2/0104/20, VEGA 2/0147/18 a APVV-18-0548.*

## **SRDEČNÍ ELEKTROFYZIOLOGIE A POHLAVÍ: PODKLAD ROZDÍLŮ A DŮSLEDKY PRO KLINICKOU PRAXI**

Bébarová M

*Fyziologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno, Česká Republika*

U dospělých žen a mužů lze pozorovat charakteristické rozdíly v srdeční elektrofyziologii. Nejvíce patrný a dnes již dobře charakterizovaný rozdíl spočívá v pomalejším průběhu repolarizace u žen, který se projevuje prodloužením intervalu QT (i QTc) na elektrokardiogramu. Tento rozdíl se rozvíjí během puberty, lze tedy předpokládat jeho vazbu na změny v hladinách pohlavních hormonů. Pro tento podklad svědčí i kolísání délky intervalu QTc během ovariálního cyklu či třeba dopad transplantace mužského srdce do ženského těla a naopak. Mezipohlavní rozdíly v expresi a/nebo funkci byly prokázány u mnoha srdečních iontových kanálů. Z depolarizačních proudů je u žen/samic významně navýšen vápníkový proud typu L ( $I_{Ca,L}$ ), zejména na bázi levé komory. Podkladem je jak zvýšená exprese, tak akutní změny funkce  $I_{Ca,L}$  kanálu pod vlivem estrogenů. Naopak testosteron  $I_{Ca,L}$  akutně inhibuje, cestou navýšení produkce NO. Stejným mechanismem testosteron navyšuje jeden z repolarizačních proudů, konkrétně pomalou složku zpožděného draslíkového proudu z buňky ( $I_{Ks}$ ). U  $I_{Ks}$  bylo rovněž prokázáno navýšení pod

vlivem progesteronu a ve většině publikovaných studií naopak snížení pod vlivem estrogenu. U mužů/samců jsou navýšeny i další repolarizační proudy, konkrétně rychlá složka draslíkového proudu z buňky ( $I_{Kr}$ ), přechodný draslíkový proud z buňky ( $I_{to}$ ) a *inward rectifier* draslíkový proud ( $I_{K1}$ ), u kterých byly prokázány změny exprese pod vlivem pohlavních hormonů. Lze tedy shrnout, že u žen je většina repolarizačních draslíkových proudů nižší a naopak významný depolarizační proud  $I_{Ca,L}$  je vyšší než u mužů, což obojí vede k významnému zpomalení srdeční repolarizace u žen pozorovanému v klinické praxi. S delším trváním intervalu QTc koreluje zvýšené riziko rozvoje syndromu dlouhého QT (včetně léky navozeného). U žen je riziko rozvoje život ohrožující polymorfni komorové tachykardie typu *torsades de pointes* při daném intervalu QTc významně vyšší než u mužů. Pokud si interval QT rozdělíme na 3 části, na část tvořenou depolarizací (tj. QRS komplexem), časnou repolarizací (od konce komplexu QRS po vrchol vlny T) a pozdní repolarizací (od vrcholu po konec vlny T), je možné pozorovat, že hlavním důvodem kratšího trvání QTc u mužů je významně kratší fáze časné repolarizace. S tím pak souvisí vyšší riziko rozvoje syndromu časné repolarizace, Brugada syndromu a idiopatické fibrilace komor u mužů.

*Podpořeno z projektu č. MUNI/A/1246/2020 specifického vysokoškolského výzkumu, který poskytlo MŠMT.*

#### **AKTIVÁCIA PPAR GAMA A NRF2 PRI ZLEPŠOVANÍ ANTIOXIDANTOVÝCH VÝSTUPY V OXIDAČNOM STRESE, NOS, RXR U HYPERTENZIE.**

<sup>1</sup>Dovinová Ima, <sup>1</sup>Barančík Miroslav, <sup>1</sup>Branislav Kura, <sup>2</sup>Kvandová Miroslava, <sup>1</sup>Bališ Peter, <sup>1</sup>Klukňavský Michal, <sup>3</sup>Macejova Dana, <sup>3</sup>Brtko Julius

<sup>1</sup>Centrum Experimentálnej Medicíny, SAV, Bratislava, Slovensko, <sup>2</sup>Center for Cardiology, Cardiology I - Labor of Molecul Cardiol, University, Medical Center of the J Gutenberg- University Mainz, Germany, <sup>3</sup>Biomedicínske Centrum, SAV, Bratislava, Slovensko.

PPAR gama-peroxizómovým proliferátorom aktivovaný receptor (PPAR $\gamma$ ) je jadrový receptor, ktorý sa silne podieľa na bunkovej signalizácii [1] a slúži ako potenciálny cieľ pri liečbe metabolického syndrómu, kardiovaskulárnych chorôb a hypertenzie [2,3]. Aktivácia PPAR gama agonistami pioglitazón-PIO je spojená s transkripčným faktorom Nrf2 redoxnej regulácie produkujúcim antioxidantné a detoxikačné výstupy v oxidačnom strese [4-6].

V našich experimentálnych štúdiách sme skúmali vplyv PPAR $\gamma$  agonistov PIO na vývoj hypertenzie, antioxidantných a detoxikačných reakcií Nrf2 u vekovo závislých hypertenzívnych zvierat BHR a SHR.

Krvný tlak zvierat bol detegovaný pletyzmografiou. Bunková signalizácia sa monitorovala pomocou exprese génu qPCR a aktivity NO-syntázy a SOD sa monitorovali rádioaktívnou detekciou a spektrofotometriou UV VIS a superoxid sa detegovali chemilumiscenciou lucigenínu. Pri obličkovej signalizácii sme zistili väzby medzi PPAR gama a Nrf2 a antioxidantné reakcie SOD. PPAR gama, Nrf2 a SOD, NOS v BHR a SHR a aktivované detoxikačné výsledky RXR NQO1, HO-1, ktoré zlepšili mladý hypertenzívny BHR. V endoteli a v pravej srdcovej komore sa znížila produkcia superoxidu. Hlavné účinky na krvný tlak a NO-syntázy boli pozorované u vekovo závislého hypertenzného BHR s použitím PIO agonistu.

[1]. Kvandová M. et al. *Physiol Res* 2016, 65, Suppl. 3: S343-S363. [2]. Dovinová I. et al. *PPAR Res.* 2013, 2013, 541871 [3]. Wu KL. Et al., *Hypertension* 2014, 64 (4), 815–824. [4]. Tain YL et al. *Int J Mol Sci*, 2016, 17 (1), 20. [5]. Barančík M. et al. *Physiol. Res.* 2016, 65, Suppl 1, S1–10. [6]. Dovinova I et al. *Physiol Res* 2020,69,Suppl 4 :S541-S553.

*Potvrdenie grantových projektov: VEGA 2/0158/20, VEGA2/0157/21 a APVV-18-0548.*

## **ÚLOHA TRPV KANÁLOV V REGULÁCII KONTRAKTILITY A TRANSKRIPCIE V DOXORUBICÍNOM-INDUKOVANEJ KARDIOMYOPATII**

Galis P<sup>1</sup>., Bartošová L<sup>1</sup>., Szobi A<sup>1</sup>., Farkašová V<sup>2</sup>., Kováčová, D<sup>3</sup>., Duriš-Adameová A<sup>1</sup>., Rajtík. T<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta Univerzity Komenského*

<sup>2</sup> *Ústav pre výskum srdca SAV*

<sup>3</sup> *Ústav patologickej fyziológie, lekárska fakulta UK, Bratislava*

Antracyklíny sú cytostatiká na liečbu malígnych nádorov rôzneho pôvodu. Jedným z hlavných obmedzení ich použitia je kardiotoxicita, ktorá môže viesť k rozvoju kardiomyopatie, systolickej dysfunkcie až srdcového zlyhávania. Presný mechanizmus nebol úplne objasnený. Jednou z hlavných teórií je účinok na homeostázu Ca<sup>2+</sup>. Ca<sup>2+</sup>-priepustné TRPV kanály sú známe svojím zapojením do viacerých srdcovocievnych ochorení. Navyše aktivita TRPV2, ako aj TRPV4 podtypu, bola pri viacerých KVS ochoreniach spojená s aktivitou CaMKII a Ca<sup>2+</sup>-dependentných transkripčných faktorov. V modelidoxorubicínovej kardiomyopatie (DCM) u potkanov sme sa po prvý krát zamerali na možnú spojitosť medzi expresiou daných TRPV kanálov, expresiou proteínov regulujúcich vnútrobunkovú Ca<sup>2+</sup> homeostázu a vybranými transkripčnými faktormi.

Potkanom Wistarsa podával doxorubicín (DOX) v dávke 4 mg/kg/týždeň počas 4 týždňov. Zvieratá boli usmrtené po 4 týždňoch od ukončenia podávania DOX. Na stanovenie srdcových parametrov a potvrdenie rozvoja DCM sa použila echokardiografia. Koncentrácia proteínov vo ľavých komorách srdca bola stanovená metódou imunoblotu.

V skupine DCM bola expresia kanálov TRPV4 znížená v porovnaní s kontrolnou skupinou, pri TRPV2 nedošlo k signifikantným zmenám v expresii. Autofosforylácia pThr287-CaMKII bola znížená. Rovnako pokles expresie PLN spolu so zvýšením fosforylácie na Thr17 podporujú predpoklad zníženia cyklovania intracelulárneho Ca<sup>2+</sup>. Zvýšená expresia transkripčného faktora SRF a galektínu-3 naznačujú zvýšenú remodeláciu myokardu.

Napriek tomu, že sme pozorovali signifikantné zníženie expresie TRPV4 a signifikantné zníženie fosforylácie CaMKII, korelácia tento vzťah nepotvrdila, aj keď zvýšená remodelácia v dôsledku zvýšenej expresie SRF ako galektínu-3 bola detegovaná. Preto bude potrebné vykonať ďalšie experimenty na presnejšie popísanie tohto mechanizmu, či už v dôsledku rozdielnej translokácie alebo lokalizácie CaMKII, vo vzťahu k rôznym podtypom membránových TRPV kanálov.

*Podakovanie: Táto práca vznikla za podpory grantov APVV-15-607; VEGA-2/0151/17; VEGA-1/0271/16.*

## **EFFECTIVENESS OF BAY 41-8543, A NITRIC OXIDE (NO)-INDEPENDENT SOLUBLE GUANYLATE CYCLASE (sGC) STIMULATOR, IN REN-2 TRANSGENIC HYPERTENSIVE RATS (TGR) WITH AORTO-CAVAL FISTULA-INDUCED HEART FAILURE WITH REDUCED EJECTION FRACTION (HFREF)**

Gawrys O<sup>1,2</sup>, Škaroupková P<sup>1</sup>, Honetschlägerová Z<sup>1</sup>, Huskova Z<sup>1</sup>, Kikerlová S<sup>1</sup>, Jíchová Š<sup>1</sup>, Vaňourková Z<sup>1</sup>, Melenovský V<sup>3</sup> and Červenka L<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Center for Experimental Medicine, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech Republic, <sup>2</sup>Department of Renal and Body Fluid Physiology, Mossakowski Medical Research Centre, Polish Academy of Science, Warsaw, Poland, <sup>3</sup>Department of Cardiology, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech Republic, <sup>4</sup>Department of Pathophysiology, 2nd Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic

Heart failure (HF) with reduced ejection fraction (HFREF) is considered to be one of the major epidemic of the 21<sup>st</sup> century and represents an extreme burden to the public healthcare systems worldwide. New treatment strategies are urgently needed, especially with beneficial effects on the kidney function and with minimal impact on blood pressure.

The NO – sGC – cyclic guanosine monophosphate (cGMP) signalling pathway plays an important role in the regulation of cardiovascular systems and it is believed that targeting this signalling pathway could be a new approach for the treatment of HFREF. In the present study we decided to investigate the potential mechanisms of BAY 41-8543, an oral sGC stimulator, in advanced stages of HFREF in HF population, with high prevalence of cardiorenal syndrome.

To evaluate the effects of the treatment with sGC stimulator alone or combined with conventional therapy (angiotensin converting enzyme inhibitor, ACEi) we employed a unique model of hypertension, *i.e.* Ren-2 transgenic hypertensive rats (TGR) with aorto-caval fistula (ACF)-induced HFREF (due to volume overload). To confirm that BAY 41-8543 do not impact blood pressure and stimulates cGMP production we employed telemetry technique (Data Sciences International, DSI, USA) and collected plasma, urine and kidney samples to measure cGMP levels during two-week treatment. Moreover, the effectiveness of sGC stimulator on the survival rate of ACF-induced HFREF in TGR, as well as HanSD rats, was evaluated.

The treatment with sGC stimulator significantly increased the excretion rate of cGMP in sham operated TGR, ACF TGR, but not in sham HanSD rats, however increasing tendency was also observed in the latter. Moreover, based on the preliminary results it seems that BAY 41-8543 improved the survival rate, but surprisingly also decreased blood pressure in TGR with HFREF, however to confirm these findings we need to complete the long-term study.

In summary, it seems that the NO-independent stimulation of sGC might be a promising strategy to treat HFREF, however some hypotensive effects were also observed, which might be crucial for the final survival rate of the rats.

*Funding: Supported by the Ministry of Health, Czech Republic - conceptual development of research organization („Institute for Clinical and Experimental Medicine – IKEM, IN 00023001“) and grant No. NV 18-02-00052 (Ministry of Health of the Czech Republic)*

## **SOCIÁLNA IZOLÁCIA POTKANOV POČAS ONTOGENÉZY MENÍ EXPRESIU VEGF V HIPOKAMPE NEZÁVISLE OD POHLAVIA**

Hlaváčová N<sup>1</sup>, Chmelová M<sup>1</sup>, Ježová D<sup>1</sup>, Riečanský I<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ústav experimentálnej endokrinológie, Biomedicínske centrum, SAV, <sup>2</sup>Ústav normálnej a patologickej fyziológie, Centrum experimentálnej medicíny, SAV, Bratislava, Slovensko

Okrem známej úlohy vaskulárneho endoteliálneho rastového faktora (VEGF) v procesoch vaskulogenézy a angiogenézy, vystupujú do popredia vedeckého záujmu aj jeho neurotrofné a neuroprotektívne účinky. Expresia VEGF je modulovaná fibroblastovým rastovým faktorom 2 (FGF2) a endoteliálnou syntázou oxidu dusného (eNOS). Cieľom štúdie bolo testovať hypotézu, že dlhodobá sociálna izolácia potkanov od odstavu, ako model neurovývinových a stresom-podmienенých poruch, vyvolá pokles v expresii VEGF v hipokampe a to v závislosti od pohlavia. Taktiež sme vyšetrovali, ako sociálna izolácia ovplyvní expresiu FGF2 a eNOS v hipokampe. Samce a samice potkanov Sprague-Dawley boli chované v izolácii alebo v sociálnych skupinách od 21. postnatálneho dňa (odstav) po dobu 9 týždňov. Hodnotili sme zmeny v génovej expresii vyššie spomínaných parametrov a zmeny v správaní. Zistili sme, že dlhodobá sociálna izolácia viedla k poklesu hladín mRNA kódujúcich VEGF, a to bez ohľadu na pohlavie. Expresia FGF2 a eNOS nebola po 9. týždňoch izolácie zmenená. Pozorovali sme však signifikantne vyššie hladiny mRNA pre VEGF a eNOS u samíc v porovnaní so samcami. Naše výsledky ukazujú, že sociálna izolácia potkanov počas skorej ontogenézy znižuje expresiu VEGF v hipokampe. Napriek poznatkom o súvisi medzi eNOS a FGF2 s VEGF, nebola génová expresia týchto regulačných faktorov ovplyvnená sociálnou izoláciou. Zdá sa, že iné signálne dráhy sú zapojené do mechanizmu zníženej expresie VEGF v hipokampe. Odhalili sme pohlavný dimorfizmus v génovej expresii VEGF a eNOS v hipokampe.

*Podporené grantom APVV-18-0283.*

## **VLIV RENÁLNI DENERVACE NA PRŮBĚH CHRONICKÉHO SRDEČNÍHO SELHÁNÍ KOMBINOVANÉHO S CHRONICKÝM ONEMOCNĚNÍM LEDVIN: STUDIE NA FAWN-HOODED HYPERTENZNÍCH POTKANECH**

Zuzana HONETSCHLÄGEROVÁ <sup>1</sup>, Petra ŠKAROUPKOVÁ <sup>1</sup>, Soňa KIKERLOVÁ <sup>1</sup>, Zuzana HUSKOVÁ <sup>1</sup>, Vojtěch MELENOVSKÝ <sup>2</sup>, Luděk ČERVENKA <sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Centrum experimentální medicíny, IKEM, Praha.

<sup>2</sup> Klinika kardiologie, IKEM, Praha.

<sup>3</sup> Ústav patologické fyziologie, 2. lékařské fakulty UK, Praha.

**Úvod:** Pokud je chronické srdeční selhání (CHSS) kombinováno s chronickým onemocněním ledvin (CKD), tak tato kombinace vyústí ve velmi vysokou mortalitu. Bohužel terapeutické přístupy, které jsou relativně účinné u izolovaného CHSS jsou fakticky neúčinné, pokud je CHSS kombinováno s CKD. Nedávné studie ukázaly, že renální denervace (RDN) by mohla být účinným terapeutickým nástrojem pro léčbu jak CHSS, tak i CKD, ale doposud nebyl tento přístup testován v případě kombinace CHSS a CKD, což bylo cílem této naší experimentální studie.

**Metodika:** Fawn-hooded hypertenzní potkani (FHH) jsou modelem genetické hypertenze spojené s vysokou albuminurií a časným rozvojem CKD ve srovnání se svými kontrolami, což jsou Fawn-hooded normotenzní potkani (FHL), kteří vykazují minimální albuminurii a nevyvíjejí CKD. Jako model CHSS byl použit model objemového přetížení skrze aorto-kavální píštěl (AKP). Tudíž AKP FHH sloužili jako model kombinovaného CHSS a CKD a AKP FHL fungovali jako model CHSS bez CKD. RDN byla provedena kombinací chirurgické a chemické metody. AKP byla založena v den -28, v den 0 byla provedena RDN a zvířata byla sledována do dne +70. Byly studovány čtyři hlavní skupiny, tj. AKP FHH a AKP FHL bez léčby a tyto skupiny byly porovnávány s AKP FHH a AKP FHL u kterých byla provedena RDN (iniciální n = 32 až 34 zvířat). Stupeň renálního poškození byl na konci experimentu hodnocen histologicky za použití glomerulosklerotického indexu (GSI) a v průběhu experimentu byla hodnocena albuminurie.

**Výsledky:** Neléčení AKP FHH začali umírat v den +10 a konce experimentu se dožilo 59% zvířat, což bylo signifikantně méně než v případě neléčených AKP FHL, kterých se konce studie dožilo 81% zvířat. RDN nezlepšila přežívání ani u AKP FHH, ale ani u AKP FHL a pouze zmírnila progresivní rozvoj albuminurie u AKP FHH, ale ta pořád zůstávala 100x vyšší ve srovnání s AKP FHL. Navíc, RDN neměla u AKP FHH potkanů žádný příznivý účinek na rozvoj GSI.

**Závěr:** Naše výsledky ukazují, že již mírný stupeň CKD zásadním způsobem zhoršuje mortalitu u tohoto modelu CHSS. Navíc, naše výsledky ukazují, že RDN nezmirňovala rozvoj mortality a nevykazovala významné renoprotektivní účinky u tohoto modelu CHSS kombinovaného s CKD.

*Zdroj financování: G 307(NV18-02-0053).*

## **KARDIOVASKULÁRNA ODPOVEĎ POČAS AKÚTNEHO STRESU U MUŽOV A ŽIEN S PREDISPOZÍCIU PRE ROZVOJ SCHIZOFRÉNIE**

Hrivíková K.<sup>1</sup>, Chomanič P.<sup>1,3</sup> Romanová Z.<sup>1,3</sup>, Riečanský I.<sup>2</sup>, Ježová D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ústav experimentálnej endokrinológie, Biomedicínske centrum, SAV, Bratislava

<sup>2</sup>Ústav normálnej a patologickej fyziológie, Centrum experimentálnej medicíny, SAV, Bratislava

<sup>3</sup>Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta Univerzity Komenského v Bratislave

Zvýšené kardiovaskulárne riziko sa čoraz častejšie dáva do súvislosti nielen so somatickými, ale aj psychickými poruchami. Viaceré štúdie poukazujú na zvýšenú mortalitu pacientov so schizofréniou, ktorá je spôsobená práve zlyhaním kardiovaskulárneho systému. V našej štúdii sme sa zamerali na pohlavné rozdiely v kardiovaskulárnej odpovedi na akútny stresový podnet u osôb s predispozíciou pre rozvoj schizofrénie. Vyšetřili sme 72 dobrovoľníkov oboch pohlaví, ktorí boli na základe osobnostných čŕt rozdelení do dvoch skupín: jedinci s prítomnými schizotypovými osobnostnými čŕtami a dobrovoľníci bez nich. Probandi boli vystavení akútnemu stresovému podnetu vo forme verejného prejavu, po ktorom nasledovali kognitívne úlohy. Mieru stresogénnosti testu hodnotili probandi pomocou dotazníka pre percepciu stresu. Kardiovaskulárnu odpoveď na stresový podnet sme hodnotili na základe zmien systolického a diastolického krvného tlaku a srdcovej frekvencie. V celom súbore dobrovoľníkov sme zaznamenali zmeny uvedených parametrov v čase, čo potvrdzuje stresogénnosť zvoleného záťažového testu. Vzostup systolického krvného tlaku bol signifikantne nižší u žien než u mužov. Napriek tomu hodnotenie percepcie stresu neukázalo rozdiely medzi mužmi a ženami. U dobrovoľníkov so

schizotypovými osobnostnými črtami sme zaznamenali signifikantne nižší vzostup srdcovej frekvencie počas stresu. Naopak hodnotenie percepcie stresu poukázalo na výraznejšie vnímanie stresu u probandov v tejto skupine. Záverom možno konštatovať, že kardiovaskulárna odpoveď na stresovú záťaž je u ľudí s predispozíciou na rozvoj schizofrénie znížená, čo však nekorešponduje s individuálnym vnímaním miery stresu.

*Štúdia bola podporená projektom APVV-18-0283.*

## **ÚLOHA A REGULACE MITOCHONDRIÁLNIHO ATP-SENZITIVNÍHO K<sup>+</sup> KANÁLU V KARDIOPROTEKCI**

Jabůrek M<sup>1</sup>

*<sup>1</sup>Oddělení Mitochondriální fyziologie, Fyziologický ústav AV ČR, Praha, Česká Republika*

Mitochondrie, kromě své funkce v přeměně energie, mají v buněčné patofyziologii také řadu důležitých nekanonických funkcí. Mitochondrie jsou hlavními efektory kardioprotekce pomocí postupů, které vedou k otevření mitochondriální ATP-senzitivního K<sup>+</sup> kanálu (mitoKATP), včetně tzv. ischemického a farmakologického prekondicionání. Existuje stále více experimentálních poznatků o tom, že otevření mitoKATP v srdci má v kardioprotekci dvě odlišné funkce - jako spouštěč a také jako koncový efektor ischemického prekondicionání.

Experimentální výsledky podporují názor, že účinky otevření/zavření mitoKATP na kardiomyocyty jsou způsobeny malými změnami v mitochondriálním toku K<sup>+</sup>. Ve spouštěcí fázi je otevření mitoKATP před ischemií spojeno se zvýšením mitochondriální tvorby reaktivních forem kyslíku a následnou aktivací protein kinázy Cε, která fosforyluje mitoKATP a ponechává jej v trvale otevřeném stavu. Otevření mitoKATP během ischemie a reperfuze pak reguluje přenos energie z mitochondrií do cytosolu.

V této přednášce budou stručně zmíněny současné poznatky o kardioprotektivní signalizaci směřující do mitochondrií a také hypotézy funkce mastných kyselin a mitochondriální fosfolipázy A2γ v regulaci aktivity mitoKATP a v kardioprotekci. Na základě nedávné molekulární identifikace mitoKATP budou také naznačeny možnosti post-translačních modifikací tohoto kanálu.

*Podporováno grantem LTAUSA17174*

## **INDIKÁCIA KATECHOLAMÍNOVEJ PODPORY KRVNÉHO TLAKU NOVORODENCŮV NESÚVISÍ S KARDIOMETABOLICKÝMI OCHORENIAMI ICH MATIEK**

Ježová D<sup>1</sup>, Hlaváčová N<sup>1</sup>, Korňanová E<sup>2</sup>, Garafová A<sup>3</sup>

*<sup>1</sup>Ústav experimentálnej endokrinológie, Biomedicínske centrum SAV, <sup>2</sup>1. Gynekologicko-pôrodnická klinika LFUK a UNB, <sup>3</sup>Novorodenecká klinika SZU a UNB, Bratislava, Slovensko*

U novorodencov, ktorí sa narodia predčasne, býva už v prvých hodinách života častou komplikáciou systémová hypotenzia rôznej etiológie. Na kardiovaskulárnu podporu, zvýšenie srdcového výdaja a tak úpravu krvného tlaku s úpravou periférnej cirkulácie je obvykle indikované podanie vazoaktívnej medikácie vo forme katecholamínov. Cieľom tejto štúdie bolo testovať hypotézu, že indikácia



katecholamínovej podpory krvného tlaku je častejšia u novorodencov matiek, ktoré trpia civilizačnými ochoreniami súvisiacimi so stresom, a to hypertenziou, obezitou alebo diabetom. Vykonali sme retrospektívnu štúdiu na vzorke 427 novorodencov z vysoko špecializovanej jednotky intenzívnej starostlivosti, z ktorých až 87% bolo narodených predčasne. Podpora krvného tlaku novorodencov bola vykonávaná intravenóznym podávaním dopamínu (5ug/kg/min) alebo dobutamínu (5ug/kg/min) alebo ich kombináciou. Výsledky nepreukázali súvislosť medzi kardiometabolickými ochoreniami matiek a potrebou katecholamínovej podpory krvného tlaku novorodencov. Je zaujímavé, že novorodenci matiek, ktoré mali hypertenziu, potrebovali podporu krvného tlaku dokonca menej často. Na druhej strane výsledky ukázali, že podávanie glukokortikoidu dexametazónu, ktoré je indikované u matiek, ktorým hrozí predčasný pôrod, súviselo s nižšou frekvenciou potreby katecholamínovej podpory krvného tlaku ich novorodencov. Novorodenci mužského pohlavia potrebovali podporu krvného tlaku častejšie ako novorodenci ženského pohlavia. Záverom, získané nálezy prinášajú nové poznatky o stresových hormónoch a ich význame v perinatálnej starostlivosti. Vyhodnotením údajov na veľkom súbore novorodencov sme nezískali podporu pre hypotézu, že výskyt kardiometabolického ochorenia u matky je prediktorom popôrodnej hypotenzie ich novorodenca.

*Podporené grantom APVV-18-0283.*

#### **VLIV HYPERAKTIVACE RENIN-ANGIOTENZINOVÉHO SYSTÉMU A HYPERTENZE NA PRŮBĚH DOXORUBICINEM INDUKOVANÉHO SRDEČNÍHO SELHÁNÍ: STUDIE NA REN-2 TRANSGENNÍCH POTKANECH.**

Kala P.1, Bartušková H.2, Piňha J.2, Vaňourková Z.2, Kikerlová S.2, Jíchová Š.2, Melenovský V.3, Hošková L.3, Veselka J.1, Kompanowska-Jeziarska E.4, Sadowski J.4, Gawrys O.2, Maxová H.5, Červenka L.2

*1 Kardiologická klinika, 2.LF UK a FN Motol, Praha, 2 CEM, IKEM, Praha, 3 Klinika kardiologie, IKEM, Praha, 4 Mossakowski Medical Research Centre, Polish Academy of Sciences, Warsaw, 5 Ústav patologické fyziologie, 2. LF UK, Praha*

Úvod: Doxorubicin (DOX) se stále používá v řadě onkologických protokolů (lymfomy, leukémie nádory prsu či plic). DOX kardiotoxicita přispívá k vývoji chemoterapií-indukovaného srdečního selhání (SS) jako jedné z pozdních komplikací protinádorové léčby. K její prevenci, časně diagnostice a terapii je potřeba detailní pochopení patofyziologie.

Cíl: Cílem této práce bylo charakterizovat model doxorubicinem-indukovaného SS u Ren-2-transgenních potkanů (TGR), což je hypertenzní potkaní kmen s hyperaktivovaným renin-angiotenzinovým systémem, a výsledky porovnat s kontrolním, normotenzním, transgen-negativním, Hannover Sprague-Dawley (HanSD) kmenem.

Soubor a Metodika: TGR a HanSD potkani stáří 10 týdnů byli rozděleni k DOX nebo fyziologickému roztoku (F1/1) s minimálně 7 zvířaty ve skupině. DOX nebo F1/1 byly aplikovány 6 intraperitoneálními injekcemi během 2 týdnů s kumulativní dávkou DOX 15 mg/kg. Echokardiografické vyšetření bylo provedeno před 1. dávkou, ihned po poslední dávce, a 2 týdny po poslední dávce bylo doplněno hemodynamickým vyšetřením pomocí pressure-volume (PV) analýzy levé komory (LK), zvážením orgánů a stanovením exprese definovaných mRNA v LK a ledvině (L).

Výsledky: U HanSD vedly aplikácie DOX k rozvoji časných fází SS s bilaterálnou kardiálnou atrofiou po 2 týždňoch od poslednej dávky. U TGR bol pozorovaný rozvoj bilaterálnej kardiálnej atrofie ihneď po aplikácii poslednej dávky, a zároveň poruchy systolickej funkcie LK dle PV analýzy 2 týždne po poslednej dávke. Analýza mRNA odhalila zníženú expresiu beta-adrenergických receptorů v LK i L u DOX-TGR, čo naznačuje hyperaktiváciu sympatiky, zároveň bola u DOX-TGR zvýšená expresia mRNA pro tvorbu natriuretického peptidu, v súlade s ľudským SS.

Záver: Naše výsledky naznačujú, že model DOX-indukovanej SS u TGR je vhodný na skúmanie patofyziologických aspektů a terapeutických možností tohto typu SS.

*Podporované granty: GAUK č. 68121, MZ ČR č. NV 18-02-00053*

## **ZMIERNENIE ISCHEMICKO-REPERFÚZNEHO POŠKODENIA MYOKARDU POČAS TRANSPLANTÁCIE SRDCA. ÚČINOK MOLEKULÁRNEHO VODÍKA.**

Kaločayová B<sup>1</sup>, Kura B<sup>1</sup>, Szeiffová Bačová B<sup>1</sup>, Sýkora M<sup>1</sup>, Tribulová N<sup>1</sup>, Hudec V<sup>2</sup>, Ondrušek M<sup>2</sup>, Gašparovič I<sup>2</sup>, Šramatý R<sup>2</sup>, Lupták J<sup>2</sup>, Hulman M<sup>2</sup>, Slezák J<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centrum experimentálnej medicíny, Ústav pre výskum srdca, Slovenská akadémia vied, Bratislava, Slovenská republika, <sup>2</sup>Oddelenie srdcovej chirurgie, Národný ústav srdcových a cievnych chorôb, Bratislava, Slovenská republika.

Úvod: Ischemicko-reperfúzne poškodenie (IRP), ktoré vzniká po obnovení prietoku krvi ischemickým tkanivom, je bežnou komplikáciou pri transplantácii orgánov. Je známe, že pri reperfúzii dochádza k masívnej tvorbe voľných kyslíkových radikálov (ROS), ktoré zohrávajú dôležitú úlohu pri vzniku IRP ako aj pri posttransplantačných komplikáciách. Pre elimináciu ROS hrá mimoriadne dôležitú úlohu prítomnosť antioxidantov, medzi ktoré patrí aj molekulárny vodík (H<sub>2</sub>). Z týchto dôvodov sme sa v našej práci zamerali na využitie H<sub>2</sub> na zredukovanie ROS po reperfúzii v modeli simulovanej transplantácie srdca *in vivo*.

Metódy: Přeštické čierostrakaté ošípané (samice, 4-mesačné) boli použité na simuláciu transplantácie srdca oklúziou dutých a pľúcnych žil, krížovým kľom vzostupnej aorty a napojením na mimotelový obeh (MO). Vychladený kardioplegický roztok (Custodiol) bol podaný dvakrát počas 3 hodín trvajúcej ischemie. Následne sa koronárne artérie prepláchli roztokom Plazmalyte a aortálna svorka sa uvoľnila. Po 60 minútach spontánnej reperfúzie bol experiment ukončený. H<sub>2</sub> bol podávaný v dvoch formách: v plynnej forme počas inhalácie anestézie (50% O<sub>2</sub>, 3% H<sub>2</sub>) pred pripojením k MO a ako nasýtený roztok Custodiolu (> 1 ppm). V tomto experimente sme sa zamerali na analýzu proteínov zapojených do antioxidantnej aktivity ako aj obrany proti oxidačnému stresu metódou Western blot vo vzorkách získaných zo srdcového tkaniva.

Výsledky: Použitie H<sub>2</sub> v podmienkach simulovanej transplantácie srdca bolo sprevádzané znížením IRP, zápalu a apoptózy vyvolaných prítomnosťou ROS v tkanive srdca. Z našich výsledkov sme zistili, že po podaní H<sub>2</sub> došlo k zníženiu množstva TBARS, ako aj expresie proteínov NF-κB, TNF-α, Keap 1, HSP70 a HSP90. Aplikovanie molekulárneho vodíka zvýšilo expresiu Cx43, PCx43 ako aj fosforyláciu Akt a GSK-3β.

Záver: Použitie H<sub>2</sub> v podmienkach IRP počas simulovanej transplantácie srdca bolo sprevádzané zvýšenou obranou buniek proti oxidačnému stresu a zápalu. Predpokladáme, že táto štúdia predstavuje perspektívny základ pre využitie H<sub>2</sub> počas transplantácie srdca.

Štúdia bola podporená grantmi APVV-0241-11, APVV-15-0376, APVV-19-0317, ITMS 26230120009, STIMULY 2018/7838: 1-26C0, MZ 2019/4- CEMSAV-1 a VEGA 2/0063/18.

## **EMBRYONAL DEVELOPMENT OF CORONARY MICROVASCULATURE AND ITS RELATIONSHIP TO MYOCARDIUM**

Kolesová H<sup>1</sup>, Lapierre-Landry M<sup>2</sup>, Neffeová K<sup>1</sup>, Kvasilová A<sup>1</sup>, Bartoš M<sup>1</sup>, Topinková B<sup>1</sup>, Zábrodská E<sup>1</sup>, Patrik Štych<sup>1</sup>, Sedmera D<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Institute of Anatomy, First Faculty of Medicine, Charles University, Prague, CZ*

<sup>2</sup> *Dept. of Biomedical Engineering, Case Western Reserve University, Cleveland, OH, USA*

The coronary microvasculature plays a role in many congenital heart diseases as well as in myocardial infarction (coronary microvascular disease). Development and diseases of coronary microvasculature differ from main coronary vessels development and pathologies; however, little is known about microvasculature development in the embryo.

We aim to provide a new imaging toolset to visualize the coronary microvasculature in embryonic hearts in 3D and to quantify the vessel organization with respect to cardiomyocytes.

The fluorescent dyes Dil and DAPI are used to stain the coronary vasculature and cardiomyocyte nuclei, respectively, in the quail embryo. Optical clearing followed by confocal microscopy is then used to obtain volumetric images of coronary vessels and cardiomyocytes.

Another method of coronary microvasculature visualization was also developed. Vessels are visualized in whole mount using QH1 antibody conjugated with Ag ions and visualized using microCT.

A dense, highly aligned system of coronary microvasculature was revealed and quantified. In the mid- as well as in the late fetal stages of development, the microvessels were gradually changing their orientation within the ventricular wall. The change in coronary microvasculature orientation was highly aligned with orientation of the surrounding cardiomyocytes. Vessel density in the left ventricle did not significantly change during and after myocardial compaction.

We used a novel combination of imaging and analysis tools to reveal and quantify an extensive network of coronary vessels in the embryo ventricle. Our results demonstrate that the coronary microvasculature is highly organized and strictly follows the cardiomyocyte orientation and its density remains constant during the myocardial compaction.

## **VLIV FARMAKOLOGICKÉHO OVLIVNĚNÍ TOPOISOMERASY II NA KARDIOTOXICITU ANTRACYKLINŮ.**

Kubeš J.<sup>1</sup>, Karabanovich G.<sup>2</sup>, Melnikova I.<sup>2</sup>, Skalická V.<sup>1</sup>, Applová L.<sup>1</sup>, Jirkovská A.<sup>1</sup>, Roh J.<sup>2</sup>, Šimůnek T.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Katedra biochemických věd, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova,* <sup>2</sup>*Katedra organické a bioorganické chemie, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova*

Antracyklinová antibiotika (ANT) zůstávají hojně využívaná v léčbě různých nádorových onemocnění, avšak jejich použití je spojeno s rizikem rozvoje závažné chronické kardiotoxicity. Doposud jediným léčivem prokazatelně účinným pro primární prevenci tohoto nežádoucího účinku je dexrazoxan (DEX, ICRF-197), který je proto hlavním vodítkem v hledání mechanismu rozvoje ANT kardiotoxicity i nových možností účinné kardioprotekce.

Kardioprotektivní účinnost DEX byla připisována jeho železo chelatujícímu metabolitu, ovšem s novými poznatky se pozornost přesouvá zpět k parentní látce a jejímu účinku na topoisomerasu II (TOP2).

V návaznosti na tyto výsledky a též studii důkladně popisující vztah struktury a účinku (SAR) analog dexrazoxanu jsme se rozhodli pro screening jiných, strukturně různorodých látek popsaných v literatuře jako inhibitory TOP2. S využitím osvědčeného modelu na primárních kulturách potkaních kardiomyocytů jsme hodnotili schopnost chránit před toxicitou navozenou klinicky relevantní koncentrací daunorubicinu spolu s vlastní toxicitou studovaných látek. Některé z látek vykazovaly kardioprotektivní potenciál, nicméně ne všechny, třebaže u některých mohl být zastíněn vlastní toxicitou. Jako úvodní krok ve snaze o rozlišení významných rozdílů mezi látkami a odhalení prvku klíčového pro kardioprotekci, otestovali jsme za shodných podmínek jejich inhibiční aktivitu vůči purifikovaným rekombinantním isoformám TOP2. Tyto výsledky však nevedly k jednoznačnému závěru a bude potřeba provést podrobnější mechanistické studie. U perspektivních inhibitorů jsme studovali jsme též vliv na antiproliferační účinnost ANT, jelikož by však prevence vedlejších účinků postrádala smysl, pokud by zároveň snižovala vlastní terapeutický účinek. V tomto aspektu však naše výsledky jednoznačně ukazují, že k žádnému negativnímu působení nedochází.

Současná data podporují hypotézu o klíčové roli TOP2, nicméně rozdíly mezi způsoby jejich účinku mohou mít zásadní vliv, a tak práce na objasnění mechanismu rozvoje ANT kardiotoxicity stále běží. Naše studie pokračuje jak s dalšími metodami zkoumajícími ovlivnění funkce TOP2 podrobněji, tak s novými analogy slibných látek pro osvětlení SAR, které by mohly umožnit vývoj nového účinného kardioprotektiva.

*Podporováno granty GAČR (21-16195S) a GAUK (246219).*

## **VPLYV APLIKÁCIE MOLEKULÁRNEHO VODÍKA POČAS TRANSPLANTÁCIE SRDCA: EXPRESIA VYBRANÝCH MIRNA**

Kura B<sup>1</sup>, Kaločayová B<sup>1</sup>, Szeiffová Bačová<sup>1</sup>, Sýkora M<sup>1</sup>, Tribulová N<sup>1</sup>, Hudec V<sup>2</sup>, Ondrušek M<sup>2</sup>, Gašparovič I<sup>2</sup>, Ľupták J<sup>2</sup>, Šramatý R<sup>2</sup>, Hulman M<sup>2</sup>, Slezák J<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centrum experimentálnej medicíny, Ústav pre výskum srdca, Slovenská akadémia vied, Bratislava, Slovenská republika, <sup>2</sup>Oddelenie srdcovej chirurgie, Národný ústav srdcových a cievnych chorôb, Bratislava, Slovenská republika.

Finálnym štádiom poškodeného srdca je srdcové zlyhanie, kedy dochádza k jeho kontraktilnej dysfunkcii a tým aj k nemožnosti plniť si svoju funkciu pumpy a rozvádzať krv a kyslík do ostatných častí tela adekvátne ich potrebám. U pacientov s progredujúcim zlyhávajúcim srdcom je jediná a najefektívnejšia

terapia výmena srdca od vhodného darcu – jeho transplantácia. Avšak napriek pokroku v prezervácii srdca a zdokonaleniu chirurgických techník môže dôjsť počas tohto postupu k ischemii/reperfúzii a nadprodukcii reaktívnych foriem kyslíka. Molekulárny vodík (H<sub>2</sub>) je nová látka s významnou antioxidantnou a protizápalovou kapacitou používaná v mnohých experimentálnych modeloch a klinických skúškach.

Hlavným cieľom tejto štúdie bolo preskúmať vplyv molekulárneho vodíka na simulovanú transplantáciu ošípaných (samice, Přeštických ošípaných, 4 mesiace). Simulácia transplantácie srdca pozostávala z oklúzie dutých žíl a pľúcnych žíl, krížového upnutia aorty a spojenia s mimotelovým obehom. Studená kryštaloidná kardioplegia (Custodiol) sa podávala 2 krát počas 3 hodín. Po studenej kardioplegii sa koronárne artérie prepláchli roztokom Plazmalytu a aortálna svorka sa uvoľnila. Nasledovalo zahriatie srdca. Po 60 minútach reperfúzie sa ošípané odpojili od mimotelového obehu a experiment sa ukončil. H<sub>2</sub> sa podával v dvoch formách: nasýtený Custodiolom (najmenej 1 ppm) a v plynnej forme počas anestézie (3% H<sub>2</sub> so vzduchom). V tomto experimente boli kolorimetricky analyzované aktivity laktátdehydrogenázy (LDH), malondialdehydu (MDA) a glutatiónperoxidázy (GPx) z krvnej plazmy a tkanív ľavej komory. Expresie vybraných miRNA (miRNA -1, -15b, -21, -107, -133a, -208b, -199a) sa merali metódou qPCR.

Aktivity LDH a GPx a hladiny MDA sa významne zvýšili po simulovanej transplantácii v krvnej plazme. Podanie H<sub>2</sub> významne znížilo všetky parametre v porovnaní s ošípanými bez podania H<sub>2</sub>. Transplantácia spôsobila zníženie expresie miRNA-1, a miRNA-21, zatiaľ čo v transplantovaných srdciach bola detegovaná zvýšená expresia miRNA-133a, -199a a miRNA-499. Podanie H<sub>2</sub> normalizovalo hladiny expresie týchto miRNA v porovnaní so zvieratami bez H<sub>2</sub>. Na základe týchto výsledkov je zrejmé, že pridanie H<sub>2</sub> počas transplantácie srdca by mohlo byť novou terapeutickou stratégiou na minimalizáciu negatívneho účinku ischemického/reperfúzneho poškodenia, čo by viedlo k lepšiemu zotaveniu pacientov.

*Podoporené grantami: APVV-15-0376, APVV-19-0317, ITMS 26230120009, STIMULY 2018/7838:1-26C0, MZ 2019/4- CEMSAV-1, VEGA 2/0063/18.*

## **INTERVENTRIKULÁRNE ROZDIELY V ODPOVEDI SRDCA NA OBJEMOVÉ PREŤAŽENIE A VPLYV RENÁLNEJ DENERVÁCIE U HYPERTENZNÝCH POTKANOV**

Miklovič<sup>1,2</sup>, Gawrys<sup>O2</sup>, Kala<sup>P1,2</sup>, Honetschlägerová<sup>Z2</sup>, Jíchová<sup>Š2</sup>, Vaňourková<sup>Z2</sup>, Husková<sup>Z2</sup>, Kikerlová<sup>S2</sup>, Červenka<sup>L2,1</sup>, Melenovský<sup>V3</sup>

<sup>1</sup>Ústav patologickej fyziológie, 2. Lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Praha, Česká Republika,

<sup>2</sup>Centrum Experimentální Medicíny, Inštitút Klinickej a Experimentálnej Medicíny, Praha, Česká Republika

<sup>3</sup>Klinika Kardiologie, Inštitút Klinickej a Experimentálnej Medicíny, Praha, Česká Republika

Pravá komora srdca, má dôležitú úlohu v diagnostike a prognóze väčšiny kardiovaskulárnych chorôb končiacich srdcovým zlyhaním. Avšak, stále nie sú objasnené patologické procesy odohrávajúce sa v ľavej a pravej časti srdca, ktoré sú zodpovedné za ochorenia myokardu pri srdcovom zlyhaní.

Jedným z hlavných orgánov, ktoré sú zapojené do progresie srdcového zlyhania už počas skorej fázy ochorenia sú obličky. Aktivácia renin-angiotenzínového systému pôsobí vsúlade so systémovou aktiváciou sympatikového nervového systému a oboch ramien neurohumorálnej aktivácie spúšťajúcej progresiu srdcového zlyhania. Chemické a mechanické odstránenie periférnych sympatikových vlákien sa javí ako efektívny nástroj pre zníženie tlaku krvi a experimentálne dáta ukazujú, že táto terapia môže efektívne predĺžiť prežívanie u animálnych modelov srdcového zlyhania.

Naším cieľom bolo zistiť efekt renálnej denervácie na pravú a ľavú komoru u hypertenzných potkanov s aorto-kaválnou píšťalou (ACF).

Hypertenzným transgénym (Ren-2) potkanom sme indukovali srdcové zlyhanie pomocou ACF. Po prvom týždni sme chemicky a mechanicky bilaterálne denervovali obličky a po štyroch týždňoch sme katetrizačnou tlakovo-objemovou analýzou pozorovali hemodynamické parametre simultánne v ľavej aj v pravej komore.

Renálna denervácia u hypertenzných potkanov s ACF výrazne zmenšila hypertrofiu ľavej aj pravej komory, znížila vývrhový objem, srdcový výdaj, ventrikulo-arteriálny coupling a mala priaznivý účinok na viaceré parametre kontraktility v oboch komorách. V pravej komore renálna denervácia znížila systolický tlak krvi a tlak krvi na konci diastoly, ktorý bol v dôsledku srdcového zlyhania zvýšený, no tlak krvi v ľavej komore zostal po renálnej denervácii nezmenený.

U kontrolných hypertenzných jedincov bez ACF boli po renálnej denervácii vývrhové objemy v oboch komorách nezmenené, avšak pozorovali sme výrazné zníženie tlaku krvi v ľavej komore a zlepšenie jedného z hlavných parametrov kontraktility myokardu PRSW.

Naše výsledky ukázali kardioprotektívne účinky renálnej denervácie u hypertenzných transgénnych potkanov so srdcovým zlyhaním.

*Podporené grantami GAUK (číslo: 304121), AZV NU21-02-00402, NU20-02-00052, NV19-02-00130*

## **ZMENY KRVNÉHO TLAKU POČAS AKÚTNEJ STRESOVEJ ODPOVEDE NESÚVISIA S EPIZODICKOU PAMÄŤOU**

Oravcová H.<sup>1,2</sup>, Hrivíková K.<sup>1</sup>, Chomanič P.<sup>1,2</sup>, Romanová Z.<sup>1,2</sup>, Marko M.<sup>3</sup>, Riečanský I.<sup>3</sup>, Ježová D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ústav experimentálnej endokrinológie, Biomedicínske centrum SAV, <sup>2</sup>Farmaceutická fakulta, Katedra farmakológie a toxikológie, Univerzita Komenského v Bratislave, <sup>3</sup>Ústav normálnej a patologickej fyziológie, Centrum experimentálnej medicíny SAV, Bratislava

Jednou z kľúčových zložiek stresovej odpovede je aktivácia kardiovaskulárneho systému. Bolo popísané, že vzostup krvného tlaku vyvolaný mentálnou záťažou (Stroopov test) u mužov súvisel s mierou úspešnosti v kognitívnych aspektoch testu zameraných na pozornosť. U tých participantov, ktorí v teste podávali horšie kognitívne výkony bol zaznamenaný nižší nárast krvného tlaku oproti tým, ktorí podávali lepšie výkony. Naším cieľom bolo prispieť k objasneniu vzťahu medzi epizodickou pamäťou a vzostupom tlaku po a počas stresovej záťaže u zdravých dobrovoľníkov oboch pohlaví. Vychádzali sme z hypotézy, že u probandov s lepšou výkonnosťou v pamäťovom teste po stresovom podnete bude zaznamenaný vyšší nárast krvného tlaku oproti participantom, ktorí disponovali slabou

paměťovou výkonností. Štúdie sa zúčastnilo 63 dobrovoľníkov, 32 žien a 31 mužov. Stresová odpoveď bola indukovaná psychosociálnym stresorom (verejný prejav pred komisiou s následnou aritmetikou). Ako pamäťový test slúžil zoznam 36 slov, ktoré sa dobrovoľník naučil v pokojovej fáze sledovania a následne po vystavení stresovému podnetu bol vyzvaný naučené slová zopakovať. Na základe počtu správne zapamätaných slov sme vybrali participantov s nízkym (n= 11) a vysokým (n= 12) skóre v pamäťovom teste. Krvný tlak bol meraný v 0, 15, 30, 45, 60, 90 minúte od začiatku vyšetrenia. Po vyhodnotení výsledkov analýzou rozptylu pre opakované merania sme nenašli žiadne rozdiely v aktivácii kardiovaskulárneho systému medzi skupinami. Rozdiely sme zaznamenali v podiele mužov a žien v skupinách. Skupinu s nízkym skóre tvorilo 9 mužov a 2 ženy, skupinu s vysokým skóre tvorilo 7 žien a 5 mužov. Z našich výsledkov vyplýva, že vzostup krvného tlaku po záťaži neodráža úspešnosť v pamäťovom teste.

*Grantová podpora: Podporené grantom APVV-17-0451 a Grantom Farmaceutickej fakulty Univerzity Komenského FaF UK/15/2021.*

## **VLIV HORMONÁLNÍ ANTIKONCEPCIE NA KARDIOVASKULÁRNÍ SYSTÉM**

Pírek O<sup>1</sup>, Budinskaya K<sup>1</sup>, Nováková Z<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fyziologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno

### Úvod

Perorální antikoncepci pravidelně užívá přes 150 milionů žen, což ji řadí mezi nejpoužívanější antikoncepční prostředky na světě. Přestože současná generace těchto léků obsahuje pouze minimální dávky hormonů, jejich užívání má negativní vliv na kardiovaskulární systém – je rizikovým faktorem pro vznik hypertenze, může vést ke vzniku žilních trombóz a zároveň zvyšuje tuhost tepen. Cílem této studie bylo odhalit změny parametrů kardiovaskulárního systému, ke kterým by mohlo dojít u žen užívajících perorální antikoncepci.

### Metody

Studie se zúčastnilo 24 žen, které byly rozděleny do dvou skupin – skupina žen užívajících antikoncepci A (14 žen; věk: 21,0±1,3 let; BMI: 20,35±1,46 kg/m<sup>2</sup>) a kontrolní skupina N (10 žen; 21,5±1,5 let; 21,60±3,05 kg/m<sup>2</sup>). V rámci obou skupin byly ženy rozděleny dle fáze menstruačního cyklu v době měření. Všechny ženy v antikoncepční skupině užívaly monofázickou kombinovanou antikoncepci. K určení parametrů kardiovaskulárního systému byly použity přístroje SphygmoCor (AtCor Medical, Austrálie) a VaSera (Fukuda Denshi, Japonsko). Každé z účastnic byly změřeny následující parametry: systolický (SBP) a diastolický tlak krve (DBP), cardio-ankle vascular index (CAVI), karotido-radiální rychlost pulzové vlny (crPWV) a subendocardial viability index (SVI). Ke statistické analýze dat byl využit software Statistica 13.5.

### Výsledky:

Všechny sledované parametry se u obou skupin respondentek nacházely ve fyziologickém rozmezí. Statisticky významný rozdíl mezi antikoncepční a kontrolní skupinou jsme zjistili u následujících parametrů: DBP (75,5±5,1 mmHg vs. 62,0±8,1 mmHg; p<0,01), SVI (160,0±13,1 % vs. 177,3±13,8 %;

$p < 0,01$ ), crPWV ( $7,0 \pm 0,8$  m/s vs.  $6,6 \pm 0,7$  m/s;  $p < 0,05$ ). Rozdíly ostatních měřených parametrů (CAVI, SBP) mezi skupinami nebyly statisticky významné.

Závěr:

Navzdory řádově nižší koncentraci estrogenů v současné perorální antikoncepci (oproti dřívějším lékovým generacím) se ukazuje její možné negativní působení na kardiovaskulární systém. Parametry ovlivněné převážně stavem periferních tepen (crPWV, DBP) jsou u antikoncepční skupiny v porovnání s kontrolní skupinou významně zvýšeny, což svědčí pro jejich zvýšenou tuhost. Naše výsledky tak ukazují, že užívání perorální antikoncepce má vliv převážně na funkci periferní části kardiovaskulárního systému. Zároveň jsme našli u antikoncepční skupiny i významně snížený parametr SVI, který popisuje kvalitu zásobení myokardu kyslíkem, což svědčí o ovlivnění také centrální části kardiovaskulárního systému.

*Tato studie vznikla v rámci projektu Specifického výzkumu Masarykovy univerzity „Kardiovaskulární systém: od iontového kanálu k celotělovému modelu“ MUNI/A/1246/2020.*

## **DOBUTAMINOVÝ TEST U SOCIÁLNĚ IZOLOVANÝCH A SKUPINOVĚ USTÁJENÝCH POTKANŮ**

Rafčíková J<sup>1</sup>, Nádeníček J<sup>1</sup>, Nováková M<sup>1</sup>, Stračina T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fyziologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno, Česká republika

Sociální izolace je jedním z rizikových faktorů vzniku kardiovaskulárních onemocnění. Cílem této práce bylo zjistit, zda časná sociální izolace potkanů vede k změně reaktivity kardiovaskulárního systému v dobutaminovém testu. Do experimentu bylo zařazeno 14 samců potkana kmene Wistar ve věku 3 týdnů. Zvířata byla náhodně rozdělena do dvou skupin: sociálně izolovaná (I) a skupinově ustájená (S). Sociálně izolovaná zvířata byla ustájena samostatně bez přímého kontaktu s jinými zvířaty. Skupinově ustájená zvířata byla ustájena v sociální skupině o 6 jedincích. Ve věku 16 týdnů byla zvířata uvedena do celkové anestezie směsí ketaminu a xylozinu. Na hrudník byly umístěny vpichové elektrody pro snímání 1 bipolárního svodu EKG (PowerLab, AD Instruments, USA). Kanylací jugulární vény byl zajištěn žilní vstup. Po stabilizaci zvířete (B, 4 min) byl pomocí infuzní pumpy kontinuálně podáván dobutamin (0,2 mg/ml, i.v.) ve dvou fázích: D1 (6 ml/h, 2 min) a D2 (12 ml/h, 2 min). Po prvním i po druhém podání následovala fáze zotavení (R1 resp. R2, vždy 2 min), během které bylo podávání dobutaminu přerušeno. EKG bylo hodnoceno offline pomocí automatické analýzy (LabChart 8 Pro, AD Instruments, USA). Byla změřena srdeční frekvence na konci každé fáze a stanoven počet supraventrikulárních a komorových extrasystol. Průměrné srdeční frekvence skupiny I a S se ve fázi stabilizace významně nelišily ( $217,8 \pm 10,71$ /min u skupiny I;  $220,5 \pm 11,83$ /min u skupiny S). U obou skupin došlo k signifikantnímu zvýšení srdeční frekvence po prvním podání dobutaminu (D1) a následném poklesu ve fázi zotavení (R1) na hodnoty blízké fázi stabilizace. Nicméně rozdíl mezi skupinami nebyl statisticky významný. Po druhém podání dobutaminu opět došlo k signifikantnímu zvýšení srdeční frekvence u obou skupin. Nárůst srdeční frekvence u skupiny I byl signifikantně vyšší než u skupiny S ( $458,7 \pm 11,36$ /min u skupiny I;  $429,6 \pm 26,34$ /min u skupiny S; nepárový t test:  $p = 0,032$ ). V následující fázi zotavení (R2) došlo k významnému poklesu srdeční frekvence, nicméně i po dvou minutách byly její hodnoty významně vyšší než na konci stabilizace. Extrasystoly se vyskytovaly ve všech fázích experimentu, supraventrikulární byly výrazně četnější než komorové. Sociálně izolovaná zvířata vykazovala významně vyšší srdeční frekvence



během dobutaminového testu. Během testu nebyl zaznamenán významný rozdíl výskytu extrasystol mezi skupinami.

*Příspěvek vznikl na Masarykově univerzitě v rámci projektu MUNI/A/1246/2020 podpořeného z prostředků účelové podpory MŠMT na specifický vysokoškolský výzkum.*

## **MONITOROVÁNÍ ZDRAVOTNÍHO STAVU VYBRANÉ SKUPINY DĚTÍ A ADOLESCENTŮ V OBEZITOLOGICKÉ AMBULANCI**

Rafčíková N<sup>1</sup>, Šťastná J<sup>2</sup>, Dostálová Kopečná L<sup>2</sup>, Nováková Z<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Fyziologický ústav, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity, Brno*

<sup>2</sup>*Ambulance dětské obezitologie, Pediatriká klinika, Dětská nemocnice, Fakultní nemocnice Brno*

Dětská obezita se v průběhu posledních let stala závažným problémem veřejného zdraví nejen v České republice, ale na celém světě. V současné době je jedno z 6 dětí v České republice postiženo nadváhou nebo obezitou. Závažnost rostoucí prevalence dětské obezity spočívá zejména ve vzniku komorbidit, které se dříve řadily mezi onemocnění spíše osob dospělých, včetně diabetes mellitus 2. typu, dyslipidémie a esenciální hypertenze. Cílem této práce bylo zhodnocení zdravotního stavu náhodně vybrané skupiny dětských a dospívajících pacientů obezitologické ambulance, a sice z hlediska antropometrických ukazatelů a laboratorních hodnot lipidového spektra a vitamínu D.

Ve spolupráci s obezitologickou ambulancí Dětské nemocnice Brno bylo vybráno 30 pacientů (15 chlapců a 15 dívek) ve věku 8 až 18 let s hodnotou body mass indexu (BMI) 30kg/m<sup>2</sup> a vyšší. Retrospektivně byly získány jejich antropometrické parametry (hmotnost, výška, obvod pasu, obvod boků) a laboratorní výsledky (lipidové spektrum, vitamin D). Pacienti navštěvovali ambulanci v pravidelných kontrolách po 3-6 měsících.

Při hodnocení vývoje BMI jednotlivých pacientů v průběhu návštěv obezitologické poradny jsme zjistili, že v prvním roce sledování byly hodnoty hmotnosti a BMI spíše vyšší, ale po jednom roce došlo ke statisticky významnému snížení BMI ( $p < 0,05$ ). Po 2 a více letech však i přes pravidelné kontroly a poučení pacienta i rodičů o možných rizicích dětské obezity, dochází k postupnému nárůstu hodnoty BMI oproti první kontrole. Průměrné koncentrace celkového cholesterolu a LDL cholesterolu se významně nelišily od zdravé populace, zato koncentrace triacylglycerolů, HDL cholesterolu a vitamínu D byly u naší skupiny obézních dětí značně odlišné od průměrných hodnot české populace.

Z retrospektivně získaných dat lze uzavřít, že i přes návštěvu obezitologické poradny a poučení pacientů i jejich rodičů, v dlouhodobém měřítku nedochází k významnému zlepšení zdravotního stavu obézních dětí a dospívajících. Dětská obezita a její rizika představují velice komplexní problematiku k široké diskusi.

*Tato studie vznikla v rámci projektu Specifického výzkumu Masarykovy univerzity „Kardiovaskulární systém: od iontového kanálu k celotělovému modelu“ MUNI/A/1246/2020 a v rámci studentského vědeckého programu P-Pool.*

*Poděkování také patří vedoucím lékařkám obezitologické ambulance MUDr. Lence Dostalové-Kopečné, PhD. a MUDr. Janě Šťastné, PhD.*

## **FYZICKÉ CVIČENIE AKO FORMA NEISCHEMICKÉHO "CONDITIONINGU": POTENCIÁLNE MECHANIZMY KARDIOPROTEKCIE**

T. Ravingerová<sup>1</sup>, L. Lonek<sup>1</sup>, J. Graban<sup>2</sup>, D. Ježová<sup>2</sup>, J. Hrdlička<sup>3</sup>, J. Neckář<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Institute for Heart Research, Centre of Experimental Medicine,* <sup>2</sup>*Institute of Experimental endocrinology, Biomedical Centre, Slovak Academy of Sciences, Bratislava, Slovakia;* <sup>3</sup>*Institute of Physiology, AS of the CR, Prague, CR*

Although ischemic preconditioning (IPC) is the most robust adaptive intervention protecting the heart of all animal species against ischemia/reperfusion (I/R) injury, its application in humans is limited to planned operations due to technical requirements, such as chest opening, due to short-term duration and unpredictable occurrence of AMI. However, other forms of "conditioning" do not require an invasive intervention.

We explored preventive interventions applied *in vivo* aimed to increase cardiac resistance to I/R prior to AMI using non-invasive approaches in the adult male Wistar rats: voluntary exercise-induced PC (EPC) and remote PC (RPC). For EPC, adult male animals were placed in the cages equipped with wheels for free running, while control sedentary animals stayed in the cages without wheels. RPC was induced by 3 cycles of 5min. inflation/ 5min. deflation of pressure cuff placed on the hind limb. The efficacy of both EPC and RPC was tested in the Langendorff-perfused hearts exposed to 30 min ischemia/2 hrs reperfusion, focused on the changes in postischemic recovery of function, arrhythmogenesis and extent of lethal injury (infarct size, IS/AR) and compared with changes induced by second phase of RPC (2-RPC). In parallel groups, heart tissue samples were obtained for the investigation of the levels and activity of several proteins involved in "pro-survival" RISK cascade. Both EPC and 2-RPC significantly reduced contractile dysfunction, size of IS/AR and the incidence and severity of reperfusion arrhythmias. Protective effects were associated with a significant up-regulation of selected pro-survival RISK proteins and reduction of apoptosis.

Beneficial effects of sub-chronic free running and RPC suggest their potential in the management of ischemic heart disease.

*Grants Slovak Grant Agency VEGA SR 2/0141/18, 1/0016/20, APVV-19-0540, APVV-20-0242, MAD SAV-AVCR-18-27, ITMS 26230120009.*

## **AKTIVITA SALIVÁRNEJ ALFA-AMYLÁZY POČAS STRESU KORELUJE S ASERTÍVNÝM SPRÁVANÍM**

Romanová Z.<sup>1,2</sup>, Hrivíková K.<sup>1</sup>, Riečanský I.<sup>3</sup>, Ježová D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Ústav experimentálnej endokrinológie, Biomedicínske centrum SAV,* <sup>2</sup>*Farmaceutická fakulta, Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave,* <sup>3</sup>*Ústav normálnej a patologickej fyziológie, Centrum experimentálnej medicíny SAV, Bratislava, Slovensko*

Aktivita salivárnej alfa-amylázy je považovaná za nepriamy ukazovateľ aktivity sympatikového nervového systému. V súlade s tým sa aktivita tohto enzýmu výrazne zvyšuje počas rôznych akútnych stresových podnetov. Stresové situácie sú sprevádzané aj zmenami neverbálneho správania. Neverbálne správanie odráža nielen emócie pacienta, ale môže súvisieť aj so zvládaním stresových situácií. Asertívne správanie odráža nízku mieru agresívneho správania. Náhradné správanie sa dáva do súvislosti s úzkosťou a zvýšenou emocionálnou aktivitou. Cieľom tejto štúdie bolo testovať hypotézu, že zmeny kardiovaskulárnych parametrov (krvný tlak, srdcová frekvencia, aktivita alfa-amylázy) korelujú s výskytom a trvaním prejavov agresívnych a úzkostných foriem správania počas stresu. Štúdie sa zúčastnilo 21 zdravých mužov (20-37 rokov). Sledovali sme zmeny výrazov tváre podľa Troisi (1999) počas chladového testu pod sociálnym tlakom v trvaní 2 min. Participanti boli rozdelení do skupiny s nižšou (n=10) a vyššou (n = 11) percepciou stresu podľa vizuálnej analógovej škály. Trvanie asertívneho správania (vtiahnuté pery, odmietavé potrasenie hlavou) pozitívne korelovalo s aktivitou salivárnej alfa-amylázy všetkých dobrovoľníkov. Faktorová analýza poukázala na pozitívny vzťah medzi aktivitou alfa-amylázy a systolickým, ako aj diastolickým tlakom u mužov s nižšou percepciou stresu a na negatívny vzťah u mužov s vyššou percepciou stresu. Zistili sme tiež vzťah medzi náhradným správaním (okusovanie pier, oblizovanie pier, zívanie) a hodnotami srdcovej frekvencie. Zmeny neverbálneho správania nesúviseli s koncentraciami salivárneho aldosterónu. Záverom, spomedzi sledovaných parametrov aktivita alfa-amylázy najviac súvisela s prejavmi asertívneho správania, ktoré odráža nízku mieru agresívneho správania. Srdcová frekvencia by mohla súvisieť s premiestňovacím správaním, ktoré odráža úzkostné správanie.

*Grantová podpora: Podporené grantom APVV-17-0451 a Grantom Farmaceutickej fakulty Univerzity Komenského FaF UK/25/2021.*

## **T1 RELAXAČNÍ ČAS V DETEKCI MYOKARDIÁLNÍ FIBRÓZY V POTKANÍM MODELU**

Stračina T<sup>1</sup>, Vitouš J<sup>2</sup>, Hendrych M<sup>3</sup>, Nádeníček J<sup>1</sup>, Panovský R<sup>4</sup>, Babula P<sup>1,4</sup>, Nováková M<sup>1,4</sup>, Jiřík R<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Fyziologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno, <sup>2</sup>Ústav přístrojové techniky, AV ČR, Brno, <sup>3</sup>Ústav patologie, Fakultní nemocnice u sv. Anny a LF MU, Brno, <sup>4</sup>Mezinárodní centrum klinického výzkumu, Fakultní nemocnice u sv. Anny, Brno

Rozvoj myokardiální fibrózy představuje důležitý krok v remodelaci srdce. Může vést až k srdečnímu selhání a následné smrti. Patogeneze myokardiální fibrózy jako i její management v klinické praxi jsou intenzivně zkoumány na úrovni klinického i preklinického výzkumu. Jako klíčová se jeví časná detekce počátečních stádií fibrózy. Jednou z dnes již standardních metod pro detekci a kvantifikaci myokardiální fibrózy je magnetická rezonance srdce (cMRI). Tato práce představuje pilotní experiment, který má za cíl validaci metod cMRI pro kvantifikaci myokardiální fibrózy v potkaním modelu. Bylo použito celkem 8 samců potkana kmene Sprague-Dawley ve věku 6 týdnů. Zvířata byla náhodně rozdělena do dvou skupiny: s myokardiální fibrózou (FIB) a kontrolní (CON). Pro navození myokardiální fibrózy byla u skupiny FIB provedena unilaterální nefrektomie. Dále byl u této skupiny podáván deoxykortikosteron acetát (20 mg/týden, s.c.). Navíc, zvířata měla přístup pouze k pitné vodě s přísadkou solí NaCl (0,9 %) a KCl (0,3 %). Kontrolní skupina zvířat podstoupila *sham* operaci, bylo podáváno vehikulum (arašídový olej; 0,2 ml/týden, s.c.) a zvířata pila vodu bez přísadky solí. Všechna zvířata byla skenována pomocí

9,4T nukleární magnetické rezonance (Bruker Biospin MRI, Ettlingen, Německo) vždy den před operací a 14. a 28. den po operaci. Byly použity standardní metody anatomického zobrazování (pro kvantifikaci end-systolického a end-diastolického objemu levé komory, ejekční frakce levé komory a objemu myokardu), a dále byly použity nové metody cMRI vyvinuté pro kvantifikaci pre- a post-contrastního času relaxace T1 a frakčního extracelulárního objemu. Po posledním cMRI měření byla zvířata usmrčena a byly odebrány vzorky myokardiální tkáně pro histologické zhodnocení přítomnosti fibrózy v myokardu komor. Validované metody cMRI budou dále sloužit pro kvantifikaci myokardiální fibrózy u laboratorních potkanů v navazujících experimentech.

*Podpořeno granty MUNI/A/1246/2020 (účelová podpory MŠMT ČR na specifický vysokoškolský výzkumna MU), LM2018129 a LQ1605 (MŠMT ČR), CZ.02.1.01/0.0/0.0/18\_046/0016045 (ERDF).*

## **REMODELÁCIA MEDZIBUNKOVEJ HMOTY A KOMUNIKÁCIE V SRDCI POTKANA VPLYVOM KONGESTÍVNEHO SRDCOVÉHO ZLYHÁVANIA**

Sýkora M<sup>1</sup>, Krátký V<sup>2</sup>, Tribulová N<sup>1</sup>, Kopkan L<sup>2</sup>, Szeiffová Bačová B<sup>1</sup>

*<sup>1</sup>Ústav pre výskum srdca, Centrum experimentálnej medicíny SAV, Bratislava, Slovensko, <sup>2</sup>Centrum experimentálnej medicíny, IKEM, Praha, Česko*

Nové poznatky o patogenéze srdcového zlyhávania (HF) so zameraním na medzibunkovú hmotu (ECM) a komunikáciu v srdci sú stále aktuálne pre výskum účinnejšej liečby. V práci sme sa zamerali na signalizačné dráhy zapojené v srdcovej štruktúrálnej remodelácii pri HF v dôsledku tlakového a objemového preťaženia. V experimente boli použité 28-týždňové hypertenzné (TGR) a normotenzné (HSD) potkany s vytvorenou aortokaválnou píšťalou (ACF), suplementované inhibítorom ACE (ACEi) (Trandolapril, 15 týždňov, 6 mg/L v pitnej vode) a blokátorom receptorov AT1 (ARB) (Losartan, 15 týždňov, 200 mg/L v pitnej vode). Po ukončení experimentov boli odobrané vzorky tkaniva pravej a ľavej komory srdca použité na biometrické, biochemické, transkriptomické, proteomické a mikroskopické analýzy. Objemové preťaženie srdca v dôsledku ACF indukovalo profibrotickú signalizáciu zvýšením mRNA TGF- $\beta$  a kolagénu I, a proteínovej expresie kolagénu I v ľavej a pravej komore u HSD potkanov. U TGR potkanov ACF znižovala proteínovú expresiu TGF- $\beta$  a SMAD2 v pravej komore podobne, ako u HSD potkanov, u ktorých ACF potlačila proteínovú expresiu MMP-2. Srdcové zlyhávanie ovplyvnilo proteínkinázovú signalizáciu znížením proteínovej expresie PKC $\alpha$ , PKG a čiastočne aj PKC $\epsilon$  v oboch komorách srdca oboch kmeňov. ACF znižovala proteínovú expresiu Cx43 a jeho fosforylovanú formu, čo má významne proarytmogénny charakter a môže predikovať vulnabilitu srdca k malígnym arytmiám. Samotná hypertenzia u TGR potkanov zvýšila expresiu mRNA TGF- $\beta$  a kolagén I, avšak znižovala proteínovú expresiu PKC $\alpha$  a PKC $\epsilon$  a zvyšovala PKC $\delta$ . Signalizačné dráhy zapojené v remodelácii srdca a medzibunkovej komunikácii boli viac normalizované ACEi, čo môže súvisieť s nižšou mierou úmrtnosti pacientov so srdcovým zlyhávaním s ACEi oproti ARB. Výsledky analýz oboch experimentov poukazujú na tlmené odpovede nami sledovaných signálnych dráh v srdci hypertenzných kmeňov reflektujúcich adaptáciu na primárne navodenú patofyziológiu.

*Podporené grantmi VEGA 2/0158/19, VEGA 2/0002/20, APVV-19-0317*

## **MODULÁCIA CX43 A ZMIERNENIE FIBRÓZY V MYOKARDE POTKANOV V MODELI STRESOM-INDUKOVANÉHO SRDCOVÉHO ZLYHANIA A ANTIARYTMICKÉ ÚČINKY MELATONÍNU A OMEGA-3 MASTNÝCH KYSELÍN**

Szeiffova Bacova B <sup>1</sup>, Viczenczova C <sup>1</sup>, Sykora M <sup>1</sup>, Egan Benova T <sup>1</sup>, Tribulova N <sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ústav pre výskum srdca, Centrum experimentálnej medicíny, Slovenská akadémia vied, Bratislava, Slovenská Rpublika

Mnohé štúdie poukazujú na kardioprotektívne vlastnosti melatonínu a omega-3 polynenasýtených mastných kyselín (PUFA), avšak ich molekulárne mechanizmy nie sú ešte stále kompletne preskúmané. Našou základnou hypotézou je, že obe tieto látky ovplyvňujú remodeláciu medzibunkovej hmoty a komunikáciu v srdci, čím prispievajú k antiarytmickému potenciálu.

Preto sme si ako cieľ zvolili preskúmať efekt melatonínu a PUFA na remodeláciu extracelulárnej matrix v spojitosti so zmenami expresie, fosforylácie a topológie konexínu-43 v myokarde potkanov ovplyvnených isoproterenolom (ISO).

Kontrolné 8-mesačné samce Wistar (W, n=48) a spontánne hypertenzné potkany (SHR, n=48) boli rozdelené do štyroch skupín: Neovplyvnené kontroly; potkany ovplyvnené ISO (118 mg /kg /7 dní); potkany ovplyvnené ISO a liečené melatonínom (10 mg /kg/2 mesiace); potkany ovplyvnené ISO a liečené PUFA (Omacor, 1,68 g /kg/2 mesiace).

Tkanivo ľavej komory sa použilo na imunofluorescenčnú detekciu lokalizácie konexínu 43 (Cx43), Western blot analýzu vybraných proteínov a pre meranie množstva hydroxyprolínu. Incidencia komorovej fibrilácie bola zaznamenaná pomocou metódy podľa Langendorfa.

V srdci kontrolných SHR vs W potkanov sme zaznamenali zníženie expresie Cx43 a PKCε, abnormálnu distribúciu Cx43, ako aj zvýšenú incidenciu komorovej fibrilácie. Podávanie ISO zvýšilo v srdci SHR potkanov expresiu Cx43, PKCε, množstvo hydroxyprolínu. Suplementácia PUFA a melatonínu normalizovala u ISO potkanov expresiu sledovaných proteínov, množstvo hydroxyprolínu a výskyt komorovej fibrilácie.

Môžeme zhrnúť, že obe podávané látky ovplyvňujú zmeny extracelulárnej matrix a intercelulárnej komunikácie v srdci ISO ovplyvnených potkanov a zmierňujú riziko výskytu malígnych arytmií.

*Podporováno granty VEGA 2/0158/19, 2/0002/20, EU- ITMS 26230120009*

## **DYSFUNKCE NA PODKLADĚ MUTACE R562S ASOCIOVANÉ SE SYNDROMEM DLOUHÉHO QT TYPU 1**

Švecová O<sup>1</sup>, Kula R<sup>1</sup>, Chmelíková L<sup>2</sup>, Hošek J<sup>3</sup>, Synková I<sup>4,5</sup>, Novotný T<sup>6</sup>, Bébarová M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fyziologický ústav, Lékařská fakulta (LF), Masarykova univerzita (MU), <sup>2</sup>Ústav biomedicínského inženýrství, Vysoké učení technické v Brně, <sup>3</sup>Ústav molekulární farmacie, Farmaceutická fakulta, MU, <sup>4</sup>Centrum molekulární biologie a genetiky, Interní hematologická a onkologická klinika, Fakultní nemocnice(FN) Brno a LF MU <sup>5</sup>Ústav lékařské genetiky a genomiky, FN Brno a LF MU, <sup>6</sup>Interní kardiologická klinika, FN Brno a LF MU

Syndrom dlouhého intervalu QT typu 1 (LQT1) je život ohrožující onemocnění podmíněné patologickými variantami v genu *KCNQ1*, který kóduje strukturu kanálu vedoucího pomalou složku opožděného draslíkového proudu z buňky ( $I_{Ks}$ ).  $I_{Ks}$  je jedním z proudů podílejících se na repolarizaci akčního napětí srdečních buněk, zejména během zvýšeného sympatického tonu, který  $I_{Ks}$  významně navyšuje. V roce 2018 Liu a kol. popsali některé základní funkční charakteristiky C-terminální *KCNQ1* varianty c.1686G>C (p.R562S), kterou jsme detekovali i u našich pacientů. Informace o zachování navýšení  $I_{Ks}$  během  $\beta$ -adrenergní stimulace však v této studii chybí. Cílem této práce bylo proto prozkoumat vliv mutace R562S na reaktivitu  $I_{Ks}$  kanálů na  $\beta$ -adrenergní stimulaci. Klinická a genetická analýza zahrnovala záznam a vyhodnocení EKG v klidu, během a po ergometrii, analýzu variant v základních LQT1 asociovaných genech a rovněž rodokmenů. Pro stanovení elektrofyziologických charakteristik varianty R562S metodou whole-cell patch clamp při 37 °C byly využity buňky z ovarii čínské křečka (CHO) transfekované plazmidy nesoucími geny *KCNQ1*-WT (resp. *KCNQ1*-R562S), *KCNE1* a *Yotiao* v poměru 1:2:4. K modelování  $\beta$ -adrenergní stimulace byla použita kombinace cyklického adenosin monofosfátu (cAMP; 200  $\mu$ M) a kyseliny okadaové (OA; 0,2  $\mu$ M) v roztoku v měřící mikroelektrodě. Expres kanálů v buněčné membráně byla studována pomocí konfokální mikroskopie (použit *KCNQ1* značený GFP, exprese bez *Yotiao*). V současné době byla varianta R562S identifikována u 11 heterozygotních nosičů ze 4 údajně nepříbuzných rodin v České republice. U některých nosičů byl genotyp spojen s fenotypem syndromu dlouhého QT (prodloužený QTc, symptomy zahrnující synkopy a úspěšně resuscitovanou srdeční zástavu). Funkční analýza ukázala, že homozygotní i heterozygotní R562S kanály jsou exprimovány na buněčné membráně a vedou  $I_{Ks}$ , což souhlasí s nedávno publikovanými údaji (Liu a kol. 2018). Co je z klinického pohledu velice významné, reaktivita na  $\beta$ -adrenergní stimulaci chyběla u homozygotních i heterozygotních R562S kanálů ( $n=14$ , resp. 8), ale byla přítomna u nemutovaných kanálů (zvýšení o  $51,4 \pm 11,1$  %;  $n=12$ ). Na základě provedených analýz se ukazuje, že varianta R562S může být v našem regionu možnou LQT1 „founder“ variantou. Tato varianta zcela znemožňuje fyziologicky významné navýšení  $I_{Ks}$  při  $\beta$ -adrenergní stimulaci, což může vést při zvýšeném sympatickém tonu, typicky při cvičení, až k život ohrožujícím arytmiím u jejích nosičů.

Liu Z, Zheng R, Grushko MJ, Uversky VN, McDonald TV. Functionally Aberrant Mutant *KCNQ1* With Intermediate Heterozygous and Homozygous Phenotypes. *Can J Cardiol* 2018;34:1174-1184.

Podpořeno z projektu č. MUNI/A/1246/2020 specifického vysokoškolského výzkumu, který poskytlo MŠMT.

## CELKOVÁ ANESTÉZA, CHRONOBIOLÓGIA, POHLAVIE A ELEKTROGRAFICKÉ PARAMETRE V IN VIVO EXPERIMENTOCH NA POTKANOCH

Švorc P<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Ústav fyziológie, Lekárska fakulta, Univerzita P.J.Šafárika, Košice, Slovenská republika, <sup>2</sup>Ústav fyziológie a patofyziológie, Lekárska fakulta, Ostravská univerzita, Ostrava, Česká republika

In cardiovascular or toxicological in vivo rat studies, changes in selected electrocardiographic (ECG) parameters are monitored after various interventions to assess the basis of the origin and development of heart rhythm disorders. Because each ECG parameter has diagnostic significance, we focused, in this

minireview article, on commonly evaluated ECG parameters: heart rate, PR interval, P wave duration, P wave amplitude, QRS complex, QT and QTc interval duration, R wave and T wave amplitude, under various types of general anesthesia. The methodologies of studies that performed *in vivo* rat cardiovascular or toxicological experiments were retrieved from a search of the Web of Science database for articles published between 2000 and 2019; in total, 204 articles were retrieved. ECG parameters that were reported as baseline or control values were summarized and averages with ranges were calculated. As such, it is important to be cautious in interpreting results and, in discussions addressing the mechanisms underlying a given type of arrhythmia, acknowledge that initial ECG parameters may already be affected to some extent by sex and the type of anesthesia.

## **OCHRANNÝ ÚČINOK VYBRANÝCH LÁTOK NA POŠKODENIE SRDCA U POTKANOV VYVOLANÉ IONIZUJÚCIM ŽIARENÍM**

Trúsiková A, Kura B, Kaločayová B, Szeiffová Bačová B, Sýkora M, Zálešák M, Slezák J

*Centrum experimentálnej medicíny, Ústav pre výskum srdca, Slovenská akadémia vied, Bratislava, Slovenská republika*

Rádioterapia patrí medzi účinné metódy liečby onkologických ochorení, ale častokrát môže spôsobiť vážne poškodenie okolitých zdravých tkanív. V prípade ožiarenia v oblasti hrudníka môže dôjsť k ožiareniu a poškodeniu srdca a ciev, a to aj napriek protektívnym technikám. Preto je stále potrebné vyvíjať nové terapeutické prístupy na minimalizáciu nepriaznivých účinkov žiarenia na zdravé tkanivá. Vplyvom ionizujúceho žiarenia dochádza nielen k priamemu poškodeniu buniek a tkanív, ale aj k nepriamemu poškodeniu nadprodukciou reaktívnych foriem kyslíka.

V našom experimente sme sa zamerali na zmeny v kardiovaskulárnom systéme potkanov kmeňa Wistar po aplikácii ionizujúceho žiarenia do oblasti mediastína. Hlavným cieľom bolo hľadať možný terapeutický účinok vybraných antioxidantov.

Dospelí samci potkanov kmeňa Wistar boli vystavení jednorazovej dávke ionizujúceho žiarenia 10 Gy (4-5 Gy/min) do oblasti mediastína. Na zmiernenie oxidačného poškodenia a zápalu boli vybrané nasledujúce antioxidanty: vitamín E (30 mg/deň), molekulárny vodík (H<sub>2</sub>) (3% vo vzduchu, inhalácia denne 3x 30 min.) a *Laminaria digitata* (30% podiel celkovej potravy). Molekulárne zmeny, ku ktorým došlo po ožiarení, sa analyzovali v tkanive ľavej komory a vo vzorkách krvnej plazmy deväť dní po ožiarení. Zamerali sme sa na zmeny úrovne oxidačného poškodenia (malondialdehyd - MDA, superoxid dismutáza - SOD), zmenu množstva zápalového proteínu tumor nekrotizujúceho faktora alfa (TNF- $\alpha$ ) a zmenu expresie miRNA -21. Tieto zmeny boli určené kolorimetricky, Western blot analýzou a použitím metódy RT-qPCR.

V práci sme pozorovali zvýšené množstvo MDA a TNF- $\alpha$  deväť dní po ožiarení. Ožarovanie spôsobilo rovnaké zmeny aj v expresii miRNA-21, kde sme zistili významné zvýšené hodnoty miRNA-21 v ľavej komore srdca. Po podaní vybraných látok sme pozorovali normalizačný účinok na všetky vybrané parametre - MDA, TNF- $\alpha$  a tiež miRNA-21 v porovnaní s ožiaranou kontrolou, hlavne u zvierat s podávaným vodíkom a vitamínom E.

Podanie vybraných antioxidantov, najmä molekulárneho vodíka a vitamínu E, zmiernilo oxidačné poškodenie a zápal v srdcovom tkanive. Na základe našich výsledkov môžeme konštatovať, že sa nám podarilo po aplikácii antioxidantov ovplyvniť oxidačné poškodenie v tkanivách, čo zmiernilo negatívne zmeny v kardiovaskulárnom systéme po ožiarení.

*Podporené grantmi: APVV-15-0376, APVV-19-0317, STIMULY 2018/7838:1-26C0, VEGA 2/0063/18.*