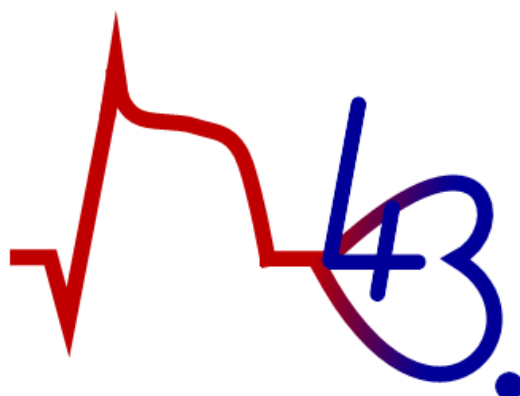


Hotel Buchlov, Buchlovice, 21. - 23. 10. 2015



43. pracovní konference

Komise experimentální kardiologie

**při České fyziologické společnosti ČLS JEP
a Slovenské fyziologické společnosti SLS**

**Fyziologický ústav, Lékařská fakulta
Masarykova univerzita**



Editor:
prof. MUDr. Marie Nováková, Ph.D.

Technický editor:
MVDr. Veronika Olejníčková

Recenzent:
Doc. PharmDr. Petr Babula, Ph.D.

Fyziologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita
Portál Lékařské fakulty Masarykovy univerzity

Brno 2015
ISSN 1801-6103

**Děkujeme programu QUALITAS za podporu workshopu na téma:
Nové přístupy v prevenci a terapii kardiotoxických účinků léčiv**



**Kvalitní život
ve zdraví i nemoci**

PROGRAM KONFERENCE

Středa 21. října 2015

- 12:00 – 13:30 Registrace
- 14:00 Zahájení konference
- 14:30 – 16:00 Sekce I. Nové pohledy na ovlivnění ischemicko-reperfúzního poškození myokardu**
Předsedají: T. Ravingerová, F. Kolář
- 14:30 – 14:55 T. Ravingerová: Novel approaches to repair of the damaged heart: Potential mechanisms of cardioprotection by „remote“ preconditioning
- 14:55 – 15:10 J. Hrdlička: Terapeutický vliv chronické hypoxie a zvýšené fyzické zátěže na geometrii a funkci levé komory u potkanů po infarktu myokardu
- 15:10 – 15:25 M. Zálešák: Vplyv ischemického preconditioningu a simulovanej hyperglykémie na odolnosť srdca voči ischemicko-reperfúznemu poškodeniu
- 15:25 – 15:40 L. Griecsová: Vplyv dospievania na odpoveď srdca na ischemiu a na účinok klasického a remote-ischemického preconditioningu
- 15:40 – 15:55 J. Graban: Zníženie ischemicko/reperfúzneho poškodenia izolovaného srdca potkana na základe použitia molekulárnym vodíkom saturovaného Krebs-Henseleitovho pufru – nová kardioprotektívna metóda
- 16:00 – 16:30 Coffee break**
- 16:30 – 17:50 Sekce II. Novinky v experimentální hypertenziologii**
Předsedají: I. Bernátová, I. Vaněčková
- 16:30 – 16:45 M. Kopeček: In-vivo neinvazivní instrumenty pro translační kardiovaskulární výzkum (Accela)
- 16:45 – 17:05 I. Bernátová: Poruchy funkcie endotelu v experimentálnej hypertenzii
- 17:05 – 17:20 I. Vaněčková: Úloha renin-angiotenzinového a endotelinového systému v regulaci krevního tlaku a jejich vliv na orgánové poškození u Ren-2 transgenních potkanů
- 17:20 – 17:35 M. Hlaváčková: Heat shock protein-60 mediated induction of vascular smooth muscle cell proliferation via nucleocytoplasmic trafficking
- 17:35 – 17:50 J. Šilhavý: Role Plzf genu v regulaci metabolických a hemodynamických znaků u spontánně hypertenzních potkanů
- 17:50 – 18:00 Přestávka**
- 18:00 – 18:45 Sekce III. Ne nadarmo se říká: „Srdce mi usedá“**
Předsedají: M. Nováková, B. Ošťádal
- 18:00 – 18:15 M. Mešťaník: „Hostilita – autonómna reaktivita“ – možný kardiovaskulárny rizikový faktor vo vzťahu ku stresovej odpovedi?
- 18:15 – 18:30 M. Tkáčová: Účinok zeleného čaju na zmenu krvného tlaku
- 18:30 – 18:45 A. Mešťaniková: Zmeny sympatickej regulácie pri adolescentnej depresii

19:00 **Večeře**

20:00 Společné zasedání českého a slovenského výboru KEK

Čtvrtek 22. října 2015

7:00 **Snídaně**

8:00 – 9:30 **Posterová sekce I.**
Předsedají: M. Adamcová, M. Ferko

9:30 – 9:40 **Přestávka**

9:40 – 10:45 **Workshop QUALITAS: Nové přístupy v prevenci a terapii kardiotoxických účinků léčiv – část první**
Předsedají: J. Vítovec, M. Štěrbá

9:40 – 10:00 J. Vítovec: Poléková kardiotoxicita

10:00 – 10:15 V. Puchnerová: Antracykliny - kardiotoxicita a kardioprotekce

10:15 – 10:30 E. Jirkovský: Je železo chelatující metabolit dexrazoxanu (ADR-925) zodpovědný za jeho kardioprotektivní účinky proti antracyklinové kardiotoxicitě?

10:30 – 10:45 M. Ferko: Možné iniciátory nástupu kardioprotektivních funkčních změn mitochondriových membrán: Pozitivní vliv účinku remote ischemického preconditioningu

10:45 – 11:15 **Coffee break**

11:15 – 12:50 **Workshop QUALITAS: Nové přístupy v prevenci a terapii kardiotoxických účinků léčiv – část druhá**
Předsedají: J. Novotný, O. Szárszoi

11:15 – 11:35 J. Novotný: Význam receptorů spážených s G proteiny a jejich signálních systémů v kardioprotekci

11:35 – 11:50 J. Novák: miRNA v protekci myokardu

11:50 – 12:05 B. Ošťádal: Kardioprotektivní vliv cvičení

12:05 – 12:20 M. Novák: Nová metoda pro indikaci a optimalizaci srdeční resynchronizační terapie?

12:20 – 12:35 O. Szárszoi: Mechanické srdeční podpory v terapii terminálního srdečního selhání

12:35 – 12:50 M. Pokorný: Heterotopická transplantace srdce u laboratorního potkana - experimentální model mechanické srdeční podpory

13:00 **Oběd**

14:00 Volný program: možnost procházky po okolí nebo relaxace v hotelovém wellness

16:00 Večerní prohlídka hradu Buchlov

19:00 **Společenský večer**

Pátek 23. října 2015

7:30	Snídaně
8:30 – 10:00	Posterová sekce II. Předsedají: M. Bébarová, J. Neckář
10:00 – 10:30	Coffee break
10:30 – 11:45	Sekce IV. Kardiovaskulární systém: od modelu po pacienta Předsedají: Z. Nováková, M. Štengl
10:30 – 10:45	<u>M. Baxa</u> : Telemetrická registrace EKG (AnimaLab)
10:45 – 11:00	<u>K. Juráková</u> : Stanovení komorové dyssynchronie z důvodu blokády levého Tawarova raménka u pacientů indikovaných k resynchronizační terapii
11:00 – 11:15	<u>I. Sekaj</u> : Matematický model regulácie krvného tlaku
11:15 – 11:30	<u>J. Svačinová, K. Ondrušová</u> : Kauzální vztah mezi systolickým krevním tlakem a srdečními intervaly u pacientů s míšní lézí
11:30 – 11:45	<u>M. Štengl</u> : Variabilita srdeční frekvence při septickém šoku
11:45 – 12:00	Ukončení konference
12:30	Oběd

Seznam posterových příspěvků

Posterová sekce I. (čtvrtek 22. října 2015, 8:00 – 9:30; vyvěšení posterů od 7:00)

1. L. Sedláková: Efekt kombinované léčby blokády ETA receptoru a renin-angiotensinového systému na hypertenzi a regresi chronického selhání ledvin
2. P. Svitok: Úloha angiotenzinu 2 vo vývine orgánov zodpovedných za reguláciu tlaku krvi
3. Š. Doleželová: Vaskulární odpovědi na systémové podání vazokonstrikčních látek u modelu hypertenze
4. M. Grundmanová: Účinky Propofolu na mitochondriální respiraci komorových kardiomyocytů potkana
5. D. Jarkovská: Účinky propofolu *in vitro* na kontraktilitu a elektrofyziologii komorového myokardu laboratorního potkana
6. D. Manakov: Lokalizace vybraných komponent adrenergního signálního systému v lipidových raftech izolovaných ze srdce spontánně hypertensního potkana
7. F. Šustr: Polymorfismy RS5186 v AT1R a RS7079 v AGT ovlivňují krevní tlak a jeho variabilitu u mladých osob
8. N. Tkáčová: Inserčně-deleční polymorfismus v genu pro ACE a jeho vztah k rychlosti progresu aterosklerózy karotid u pacientů s DM 2. typu
9. J. Hrušková: Bioimpedanční měření kardiovaskulárního systému
10. K. Budinskaya: Vliv antikoncepce na regulaci krevního tlaku autonomním nervovým systémem chronického selhání ledvin
11. Z. Hořáková: Draslíkový proud citlivý na acetylcholin u síňových srdečních buněk potkana: změny vyvolané působením etanolu a nikotinu
12. M. Bébarová: Vliv etanolu na konstitutivně aktivní složku draslíkového proudu citlivého na acetylcholin je srovnatelný u různých živočišných druhů

Posterová sekce II. (pátek 23. října 2015, 8:30 – 10:00; vyvěšení posterů od 7:30)

1. J. Švíglerová: Remodelace myokardu u potkana s objemovým přetížením
2. J. Kuncová: Funkce mitochondrií kůry a dřeně ledvin prasete domácího
3. E. Mistrová: Vliv jaterní dysfunkce na srdeční inervaci laboratorního potkana
4. L. Nalos: Vliv cholesterolu a věku na incidenci TdP arytmií u methoxaminem senzitivizovaného králíka
5. Z. Pokorná: Vliv proteasomového inhibitoru bortezomibu na rozvoj chronické antracyklinové kardiotoxicity *in vivo*
6. J. Škrabalová: Protektivní působení vysokých dávek morfinu na buněčnou linii kardiomyoblastů H9C2
7. I. Kancirová: Energetický metabolismus myokardu ovplyvnený experimentálnym streptozocínom-indukovaným diabetom a remote ischemickým preconditioningom
8. M. Jašová: Funkčné zotavenie srdcových mitochondrií ovplyvnených remote ischemickým preconditioningom a akútnym diabetom po ischemicko/reperfúznom poškodení
9. D. Kolář: Adaptace na hypoxii snižuje pravděpodobnost aktivace apoptózy v průběhu akutní ischemie a reperfúze
10. I. Brabcová: Adaptace na hypoxii posiluje glukózový metabolismus srdce u SHR a konplastického kmene SHR-mtBN
11. K. Hahnová: Vliv hypoxie na β -adrenergní signalizaci v myokardu u SHR a SHR-mtBN potkanů
12. P. Míčová: Chronic hypoxia affects the phospholipase A2 α –cyclooxygenase-2 pathway via β 2-adrenergic receptor-mediated ERK/p38 activation
13. D. Dufek: Nové nosiče snižují nežádoucí účinky doxorubicinu u laboratorního potkana

ABSTRAKTA

VLIV ETANOLU NA KONSTITUTIVNĚ AKTIVNÍ SLOŽKU DRASLÍKOVÉHO PROUDU CITLIVÉHO NA ACETYLCHOLIN JE SROVNATELNÝ U RŮZNÝCH ŽIVOČIŠNÝCH DRUHŮ

Bébarová, M.¹, Matejovič, P.¹, Hořáková, Z.¹, Hošek, J.², Pásek, M.^{1,3}, Šimurdová, M.¹, Šimurda, J.¹

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

² Ústav molekulární biologie a farmaceutické biotechnologie, Farmaceutická fakulta, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Česká republika

³ Ústav termomechaniky-pobočka Brno, Akademie věd České republiky

Úvod. Je známo, že konzumace alkoholu může vést ke změnám elektrokardiografických parametrů, arytmiím a dokonce až k náhlé srdeční smrti. Při vzniku mnoha typů arytmií hrají významnou roli srdeční *inward rectifier* draslíkové proudy. Vliv etanolu na tyto proudy, zejména na proud citlivý na acetylcholin $I_{K(Ach)}$, byl doposud studován nedostatečně, nikdy přímo na srdečních buňkách. Proto jsme se v naší studii zaměřili na analýzu změn konstitutivně aktivní složky $I_{K(Ach)}$ pod vlivem etanolu v klinicky relevantních koncentracích mezi 2 až 80 mM (~0,09 - 3,7‰).

Metodika. Experimenty byly provedeny při teplotě 23 ± 1 °C na enzymaticky izolovaných síňových srdečních buňkách potkana a morčete a na lidských Kir3.1/3.4 kanálech (~strukturní podklad srdečních $I_{K(Ach)}$ kanálů) exprimovaných na *Chinese hamster ovary* (CHO) buňkách.

Výsledky. Konstitutivně aktivní složka $I_{K(Ach)}$ síňových srdečních buněk potkana byla signifikantně navýšena ve všech aplikovaných koncentracích etanolu, např. účinkem 20 mM etanolu z $-0,66 \pm 0,12$ pA/pF v kontrole na $-1,19 \pm 0,20$ pA/pF (o 102,5%; $n = 10$). Srovnatelná reakce na aplikaci 20 mM etanolu byla patrná u síňových srdečních buněk morčete (z $-0,46 \pm 0,11$ pA/pF v kontrole na $-0,78 \pm 0,20$ pA/pF, navýšení o 70,4%, $n = 4$) i u lidských Kir3.1/3.4 kanálů (navýšení o 91,3%; $n = 5$; ve všech případech $P > 0,05$). I změny trvání akčního napětí způsobené vlivem 20 mM etanolu na konstitutivně aktivní složku $I_{K(Ach)}$ byly analogické u síňových srdečních buněk potkana a morčete.

Závěr. Etanol signifikantně navyšoval proud $I_{K(Ach)}$ kanály síňových srdečních buněk potkana a morčete i lidskými Kir3.1/3.4 kanály, přičemž účinek etanolu byl u těchto různých živočišných druhů srovnatelný.

Práce byla podpořena grantem No. NT14301-3/2013 Interní grantové agentury Ministerstva zdravotnictví České republiky.

PORUCHY FUNKCIE ENDOTELU V EXPERIMENTÁLNEJ HYPERTENZII

Bernatova, I., Puzserova, A., Balis, P.

Institute of Normal and Pathological Physiology, Centre of Excellence for Examination of Regulatory Role of Nitric Oxide in Civilization Diseases, Slovak Academy of Sciences, Bratislava, Slovakia

Úvod. Endotel je endokrinný orgán, ktorý produkuje paletu rôznych endotelových faktorov. Porucha funkcie endotelu (endotelová dysfunkcia, ED) bola pozorovaná v mnohých patologických stavoch a ochoreniach, vrátane hypertenzie. V našej práci sme sa zamerali na vyšetrenie príčinného vzťahu medzi hypertenziou a ED vo vybraných modeloch experimentálnej hypertenzie.

Metodika. Použili sme mladé potkany, u ktorých bola hypertenzia podmienená geneticky (SHR, BHR) a dospelé normotenzné potkany, u ktorých bola hypertenzia indukovaná buď inhibíciou produkcie NO (Wistar) alebo chronickým sociálnym stresom (WKY). Krvný tlak (KT) sme merali neinvazívne na chvoste. Funkciu endotelu sme merali pomocou Mulvaného myografu *in vitro*. Sledovali sme, či ED predchádza vzniku hypertenzie (tj. či je primárna) alebo či je dôsledkom zvýšeného KT (tj. sekundárna). Tiež sme sledovali, či ED vzniká v dôsledku nedostatku NO.

Výsledky. Naše dlhodobé práce ukázali, že porucha produkcie NO v endotele je spojená s rozvojom NO-závislej ED, čo následne vedie k zvýšeniu KT. V tomto modeli je teda ED primárna. Primárnu, avšak od NO-nezávislú ED sme pozorovali aj u dospelých normotenzných WKY potkanov vystavených sociálnemu stresu. Avšak v genetickom modeli hraničnej hypertenzie (BHR) sme ukázali, že vzostup KT predchádza ED. V tomto prípade bola ED nezávislá od NO a súvisela skôr so znížením relaxačnej komponenty závislej od hyperpolarizácie. ED bola teda dôsledkom zvýšeného KT (sekundárna). Podobné výsledky (t.j. ED nezávislú od NO) sme pozorovali aj u mladých SHR, avšak v tomto modeli je rozvoj hypertenzie veľmi rýchly a príčinný vzťah medzi hypertenziou a ED sa nedá jednoznačne určiť.

Záver. Výsledky ukázali, že mechanizmy vzniku ED sa líšia a ED môže byť príčinou ale aj dôsledkom vysokého KT, v závislosti od použitého experimentálneho modelu hypertenzie.

ADAPTACE NA HYPOXII POSILUJE GLUKÓZOVÝ METABOLISMUS SRDCE

U SHR A KONPLASTICKÉHO KMENE SHR-mtBN

Brabcová, I.¹, Kolář, D.¹, Neckář, J.², Pravenec, M.², Žurmanová, J.¹

¹ *Katedra fyziologie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze*

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

Úvod. Adaptace na chronickou hypoxii kontinuální (CNH) zvyšuje odolnost myokardu k ischemicko-reperfúznímu poškození u kmene spontánně hypertenzního potkana (SHR) a u konplastického kmene (SHR-mtBN), který vznikl selektivním nahrazením mitochondriálního genomu kmene SHR genomem z mnohem odolnějšího kmene Brown Norway. Hexokináza 2 (HK2) a glukózový tranpostér 4 (GLUT4) se mohou podílet na kardioprotektivních mechanismech. Translokace HK2 na mitochondriální membránu, která snižuje tvorbu reaktivních forem kyslíku v mitochondriích a pravděpodobnost otevření MPT póru, je zprostředkována aktivací PI3/AKT signální dráhy. Aktivace této dráhy také zvyšuje transport GLUT 4 na sarkolemu a tak posiluje na inzulinu závislý vstup glukózy do buněk. Cílem studie bylo analyzovat vliv CNH na expresi izoform GLUT, HK a AKT v levé komoře (LV) srdeční u SHR a SHR-mtBN.

Metodika. Dospělí potkani byli vystaveni CNH (10% O₂) po dobu 3 týdnů. Expres mRNA transkriptů a proteinů byla stanovena pomocí Real-time RT PCR a Western blot. Enzymatická aktivita HK byla stanovena spektrofotometricky.

Výsledky. Adaptace na hypoxii zvýšila expresi proteinu GLUT4 o 84%, GLUT1 o 51%, HK2 o 83% u obou kmenů. Enzymatická aktivita HK po adaptaci vzrostla přibližně o 40% u obou kmenů, u kmene SHR-mtBN byla aktivita jak v normoxii tak i hypoxii vyšší o 20% vzhledem k SHR. Expres AKT2 u SHR-mtBN vzrostla o 34%, zatímco u SHR se nezměnila.

Závěr. Zvýšení exprese inzulin závislého i nespecifického glukózového transportéru GLUT4 a GLUT1 spolu se zvýšenou aktivitou HK významně posiluje transport glukózy do kardiomyocytu v hypoxii. Zvýšená expres AKT2 může hrát úlohu v translokaci GLUT4 na sarkolemu v hypoxii a HK2 na vnější mitochondriální membránu v ischemii. Tyto mechanismy mohou významně přispět ke kardioprotektivnímu fenotypu u SHR a konplastického kmene SHR-mtBN po adaptaci na chronickou hypoxii.

VLIV ANTIKONCEPCE NA REGULACI KREVNIHO TLAKU AUTONOMNÍM NERVOVÝM SYSTÉMEM

Budinskaya, K.¹, Závodná, E.^{1,2}, Nováková, Z.^{1,2}

¹*Fyziologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno*

²*Mezinárodní centrum klinického výzkumu, Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně*

Úvod. Od roku 1960 se aktivně začala používat orální hormonální antikoncepce.

Cílem této studie bylo zjistit, jaký má antikoncepce vliv na regulaci krevního tlaku autonomním nervovým systémem.

Metodika. Vyšetření se zúčastnilo 12 žen, které používají antikoncepci (HA) a 12 kontrol (KO). U všech byl změřen kontinuální neinvazivní 5-ti minutový záznam krevního tlaku Finametrem (FMS, Nizozemí) založeném na fotopletysmografické metodě. Pomocí spektrální analýzy byla v oblasti středních (MF), vysokých (HF) a velmi nízkých frekvencí (VLF) vypočítána: normalizovaná a absolutní výkonová spektra srdeční frekvence (nRRI, aRRI), systolického krevního tlaku (nSTK, aSTK) a diastolického krevního tlaku (nDTK, aDTK). Metodou vzájemné spektrální analýzy byla stanovena účinnost krátkodobé regulace krevního tlaku v jednotlivých pásmech: MF (Gain_{BRS}), HF (BRS_{HF}) a VLF (Gain_{VLF}).

Všem účastníkům studie byly před kontinuálním záznamem změřeny hodnoty systolického (STK) a diastolického (DTK) krevního tlaku oscilometrickou metodou (Omron HEM-907).

Výsledky. U HA v porovnání s KO byly nalezeny signifikantně nižší hodnoty aRRI_{MF} (6537,95±8542,16 vs. 12522,63±13291,46; p≤0,01), BRS_{MF} (5,20±2,97 vs. 7,46±2,30; p≤0,01). Na hranici významnosti byly zaznamenány hodnoty BRS_{HF} (11,63±8,90 vs. 15,60±7,37; p=0,07). Hodnoty STK, které byly naměřeny Omronem u HA byly signifikantně vyšší než u KO: (121,00±12,57 vs. 110,29±5,28; p≤0,05).

Závěr. Při porovnání HA s KO pokles výkonu v MF oblasti RRI spektra ukazuje na sníženou aktivitu beta-sympatiku, jenom že pokles BRS_{MF} a BRS_{HF} u žen s HA poukazuje na významnější pokles parasympatické než sympatické aktivity. Alfa-sympatická aktivita (MF oblast STK spektra) je u osob s HA nezměněna, což v souvislosti s poklesem beta-sympatické aktivity může naznačovat nerovnováhu, která je vychýlená směrem k vazokonstrikci vedoucí ke zvýšenému systémovému odporu a tak zvýšenému tlaku krve.

Tato studie vznikla na Masarykově univerzitě v rámci projektu "Kardiovaskulární systém od buňky k lůžku pacienta" číslo MUNI/A/1326/2014. Podpořeno European Regional Development Found – Project FNUSA-ICRC (No. CZ.1.05/1.1.00/02.0.123).

VASKULÁRNÍ ODPOVĚDI NA SYSTÉMOVÉ PODÁNÍ VAZOAKTIVNÍCH LÁTEK U MODELU HYPERTENZE A CHRONICKÉHO SELHÁNÍ LEDVIN

Doleželová, Š.^{1,2}, Kopkan, L.¹, Červenka, L.¹

¹ *Institut klinické a experimentální medicíny, Praha, Česká republika*

² *Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Praha, Česká republika*

Úvod. Ren-2 transgenní kmen potkanů s redukcí 5/6 ledvinné tkáně (5/6 NX TGR) slouží jako jeden z modelů hypertenze s progresí chronického renálního selhání. Cílem této studie bylo zjistit jaký je vliv inhibice renin-angiotenzinového systému (RAS) na systémové a renální vaskulární odpovědi po podání různých vazoaktivních látek a zda bude mít léčba s kombinovanou bloádou RAS a ET_A receptoru aditivní účinek.

Metodika. Samci kmene HanSD a TGR byli rozděleni do 5 skupin: sham-operovaní HanSD a TGR-sham, TGR 5/6 NX, TGR 5/6 NX s duální bloádou RAS (trandolapril 6 mg/l a losartan 100 mg/l) a TGR 5/6 NX s kombinovanou bloádou RAS a ET_A receptoru (atrasentan 25 mg/l). 5/6 NX byla provedena ve věku 6 týdnů, léčba byla zahájena v 6. týdnu po 5/6 NX a v 8. týdnu byly anestetizovaným potkanům intravenózně podány 2 bolusy vazoaktivních látek (Ang II a NE - 70 a 330 ng/kg, ACh – 170 a 700 ng/kg a ET-1 – 60 a 600 ng/kg) a zaznamenány změny středního arteriálního tlaku (MAP) a průtoku krve ledvinou (RBF).

Výsledky. U skupiny neléčených TGR 5/6 NX vedlo podání obou dávek Ang II k signifikantně nižším odpovědím v MAP i RBF. Podání vyšší dávky NE vedlo u této skupiny k signifikantně menším změnám v MAP i RBF a bloáda RAS normalizovala odpověď na úroveň TGR-sham. Podání ET-1 nevedlo k signifikantním změnám. Podání ACh vedlo u TGR 5/6 NX+RAS k signifikantně vyššímu vzestupu RBF oproti TGR 5/6 NX.

Závěr. U TGR potkanů s 5/6 nefrektomií jsme pozorovali sníženou systémovou i renální citlivost k Ang II, která nebyla ovlivněna bloádou RAS, zatímco snížená citlivost k NE byla bloádou RAS normalizována na úroveň kontrol, což naznačuje zapojení sympatiku. Aditivní vliv bloády ET_A receptoru nebyl pozorován u žádné skupiny, pravděpodobně kvůli snížení hladiny ET-1 v kůře ledvin působením inhibitorů RAS.

NOVÉ NOSIČE SNIŽUJÍ NEŽÁDOUCÍ ÚČINKY DOXORUBICINU U LABORATORNÍHO POTKANA

Dufek, D.¹, Hlaváčová, M.², Stračina, T.¹, Olejníčková, V.¹, Nováková, M.¹, Paulová, H.²

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

² Biochemický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno, Česká republika

Úvod. Použití doxorubicinu (DOX) je limitováno nežádoucími účinky – zejména kardiotoxicitou. Jednou z možností snížení jeho toxicity je navázání DOX na různé nosiče. Studie se zabývá potenciálními nežádoucími účinky DOX a jeho nových forem.

Metodika. Zvířata byla ustájena v prostředí s monitorovanou teplotou, tlakem a vlhkostí vzduchu se světelným cyklem 12/12 (světlo/tma). Do studie bylo zahrnuto 38 samců potkana kmene Wistar rozdělených do 5 skupin: skupina A (n = 8; vehikulum), skupina B (n = 7; konvenční DOX), skupina C (n = 8; DOX v apoferitinovém nosiči), skupina D (n = 7; DOX v lipozomálním nosiči) a skupina E (n = 8; DOX konjugovaný s fullerénovým nosičem). Po adaptaci byly i.p. aplikovány jednotlivé formy DOX podle skupin. 24 hodin po té byla zvířata usmrcena a byly odebrány vzorky krve, jater, ledvin a varlat. Ve vzorcích tkání byla stanovena koncentrace proteinů dle Bradfordové. Ve vzorcích plazmy byla stanovena koncentrace 4-hydroxy-2-nonenalu (4-HNE) pomocí HPLC s UV detekcí.

Výsledky. U skupiny C byl zjištěn statisticky významně nižší příjem potravy oproti kontrolní skupině, $p < 0,01$. Koncentrace proteinů ve vzorcích jednotlivých orgánů nevykazovala mezi skupinami statisticky významné rozdíly. Byla zjištěna statisticky významně zvýšená koncentrace 4-HNE v plazmě u skupiny B oproti kontrolní skupině, $p < 0,001$. U nových forem DOX (C, D, E) byla koncentrace 4-HNE statisticky významně snížena (2,41 krát), $p < 0,001$.

Závěr. Snížený příjem potravy u skupiny C může poukazovat na zvýšený diskomfort zvířat způsobený aplikací této formy léčiva. V krátké době po expozici DOX (24 hodin) nedochází ve zkoumaných tkáních ke změnám v koncentraci proteinů. Vhodné by bylo sledování změn koncentrace proteinů po delší expozici či v opakovaném režimu dávkování. U skupin zvířat, kterým byla podána nová forma DOX (C, D, E), dochází k menšímu oxidačnímu poškození lipidů, tedy nižší toxicitě oproti konvenčně používanému DOX. V tomto ohledu se tedy nové formy DOX zdají vhodné k dalšímu zkoumání.

Tento příspěvek vznikl na Masarykově univerzitě v rámci projektů: Kardiovaskulární systém od buňky k lůžku pacienta, číslo MUNI/A/1326/2014, a Příspěvek chemických a biochemických metodik ke studiu molekulární podstaty vybraných patologických stavů a onemocnění, číslo MUNI/A/1195/2014 podpořených z prostředků účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum, kterou poskytlo MŠMT v roce 2015. Práce byla rovněž podpořena projektem GAČR GAP102/12/2034.

MOŽNÉ INICIÁTORY NÁSTUPU KARDIOPROTEKTÍVNYCH FUNKČNÝCH ZMIEN MITOCHONDRIOVÝCH MEMBRÁN: POZITÍVNY VPLYV ÚČINKU REMOTE ISCHEMICKÉHO PRECONDITIONINGU

*Ferko, M.¹, Jašová, M.¹, Kancirová, I.¹, Waczuliková, I.², Goliášová, T.³, Čarnická, S.¹, Kucharská, J.⁴,
Uličná, O.⁴, Chytilová, A.⁵, Hrdlička, J.⁵, Ravingerová, T.¹, Ziegelhöffner, A.¹.*

¹Ústav pre výskum srdca, Centrum excelentnosti kardiovaskulárnych vied, SAV, Bratislava, SR; ²Katedra jadrovej fyziky a biofyziky, Fakulta matematiky, fyziky a informatiky, Univerzita Komenského v Bratislave, SR; ³Virologický ústav, SAV, Bratislava, SR; ⁴Farmakobiochemické laboratórium III. internej kliniky, Lekárska fakulta Univerzity Komenského, Bratislava, SR; ⁵Fyziologický ústav AV, Praha, ČR

Úvod. Pozorovali sme účinok neinvazívnej metódy remote ischemického preconditioningu (RIPC) na funkčnú remodeláciu srdcových mitochondriových (MIT) membrán a jeho kardioprotektívneho príspevku voči ischemicko-reperfúznemu (IR) poškodeniu.

Metodika. RIPC pozostával z troch cyklov 5 minútovej ischémie a 5 minútovej reperfúzie. Srdcia boli perfundované v Langendorffovom režime (15 min. stabilizácia, 30 min. globálna ischémia a 40 min. reperfúzia). MIT Mg^{2+} -ATPáza bola stanovená spektrometricky, fluiditu MIT membrán sme merali pomocou fluorescenčnej anizotropie. Obsah oxidovaných izoform koenzýmu Q (CoQ_{9ox} a CoQ_{10ox}) v izolovaných MIT bol stanovený metódou HPLC. Hladiny interleukínu 10 (IL-10) a tumor nekrotického faktora alfa (TNF- α) boli stanovené pomocou komerčných ELISA kitov.

Výsledky. Zaznamenali sme 5,05 %-ný signifikantný ($p < 0,05$) nárast MIT membránovej fluidity (MF) v skupine s RIPC oproti kontrolnej skupine po reperfúzii. RIPC po reperfúzii spôsobil oproti kontrolnej skupine 6,95%-ný nárast MIT Mg^{2+} -ATPázovej aktivity. Skupina s RIPC mala po reperfúzii o 6,95% vyššiu aktivitu, ale nesignifikantnú celkovú aktivitu Mg^{2+} -ATPázy oproti kontrolnej skupine po reperfúzii. Zaznamenané nesignifikantné zvýšenie oxidovaných foriem koenzýmov Q počas stabilizácie, sprostredkované vplyvom RIPC, naznačuje mierny nárast voľných radikálov, ktoré majú prevažne signálny charakter a iniciujú nástup protektívnych mechanizmov. Pozorovali sme zvýšenie fosforylácie pyruvát dehydrogenázy tak u DIA ako aj u RIP skupiny zvierat.

Záver. Krátkodobé využitie anaeróbnej glykolýzy na získanie okamžitej energie sa ukazuje byť pre patologicky zaťažovaný myokard ako výhodné. Nárast koncentrácie IL-10 po IR poškodení v skupine podrobenej s RIPC naznačuje zapojenie protizápalových procesov do mechanizmov endogénnej ochrany (EOM) myokardu. Funkčná remodelácia MIT membrán vyvolaná vplyvom RIPC účinne prispieva k zvýšenej obnove myokardu po IR poškodení. RIPC spustil EOM zvýšením MF, ktoré môžu súvisieť so zvýšenou aktivitou mitochondriovej Mg^{2+} -ATPázy a tým zlepšenie energetických nárokov počas ischémie.

ZNÍŽENIE ISCHEMICKO/REPERFÚZNEHO POŠKODENIA IZOLOVANÉHO SRDCA POTKANA NA ZÁKLADE POUŽITIA MOLEKULÁRNYM VODÍKOM SATUROVANÉHO KREBS-HENSELEITOVHO PUFRU – NOVÁ KARDIOPROTEKTÍVNA METÓDA

Graban, J., Zálešák, M., Kura, B., Pancza, D., Ravingerová, T., Slezák, J.

Ústav pre výskum srdca SAV a Centrum excelentnosti SAV NOREG, Bratislava, Slovensko

Úvod. Ischemicko/reperfúzne poškodenie zahŕňa niekoľko významných dopadov na myokard. Charakteristická je tvorba voľných radikálov, oxidatívny stres, rozvoj apoptických a nekrotických procesov a následné spúšťanie zápalových kaskád. V tejto súvislosti sa do popredia dostávajú známe účinky molekulárneho vodíka, ktorý výrazne znižuje oxidatívny stres v tkanivách, blokuje apoptické a nekrotické zmeny a rovnako znižuje rozvoj zápalov. Na základe týchto predpokladov bol navrhnutý postup zameraný na odstránenie nepriaznivých dopadov 30 min. ischémie na štruktúry myokardu.

Metodika. Experimentálny model pozostával s niekoľkými samostatne realizovanými postupmi. Kontrolná skupina zahŕňa 20 min. stabilizácie po odobratí srdca potkana, následne 30 min. ischémie, za ktorou nasledovala 120 reperfúzia O_2 saturovaným Krebs-Heinseleitovým pufrom (KHB). Experimentálny model pozostával s dvoch variant zameraných na ovplyvnenie postischemických procesov. V prvom modelovom prípade 120 min. reperfúzie bol na jej začiatku zaradený blok štyroch 1 min. striedaní reperfúzie kyslíkom saturovaného a KHB bez saturácie kyslíkom (H-PostC). Spolu v trvaní 8 minút. Experimentálny model zameraný na vplyv molekulárneho vodíka obsahoval v rámci štyroch 1 min. striedaní kyslíkom saturovaný a KHB saturovaný molekulárnym vodíkom (H-PostC + H_2).

Výsledky. H-PostC zlepšil post-I/R obnovu LVDP tlaku na úroveň 78% oproti kontrole. V skupine H-PostC + H_2 bola obnova LVDP tlaku na dvojnásobnej úrovni oproti kontrole. Rozsah infarktu bol v kontrolnej skupine H-PostC na úrovni $39 \pm 0,8\%$. Rozsah infarktu bol v skupine H-PostC na úrovni $25 \pm 0,9\%$. Rozsah infarktu bol v skupine H-PostC + H_2 na úrovni $17 \pm 0,8\%$ ($p < 0,05$ vs. Kontrola a H-PostC).

Záver. Preukázaná bola výrazná redukcia infarktového ložiska myokardu pomocou hypoxického postkondicioningu, doplneného o účinok molekulárneho vodíka. Biochemické mechanizmy účinku molekulárneho vodíka budú následne podrobnejšie testované.

VPLYV DOSPIEVANIA NA ODPOVEĎ SRDCA NA ISCHÉMIU A NA ÚČINOK KLASICKÉHO A REMOTE-ISCHEMICKÉHO PRECONDITIONINGU

Griecsová, L.¹, Farkašová, V.¹, Gábllovský, I.¹, Bernátová, I.², Tatarková, Z.³, Ravingerová, T.¹

¹ *Ústav pre výskum srdca SAV, Bratislava, Slovensko*

² *Ústav normálnej a patologickej fyziológie SAV, Bratislava, Slovensko*

³ *Ústav lekárskej biochémie JLF UK, Martin, Slovensko*

Úvod. Vplyv veku na zníženú odolnosť srdca voči ischemicko-reperfúznemu (IR) poškodeniu a adaptačné mechanizmy myokardu bol preukázaný vo viacerých štúdiách na človeku aj na animálnych modeloch. Mnoho štúdií je však aj protichodných a preukazujú zachovanie ochrany srdca pred IR aj s starším vekom. V súčasnej dobe je aktívne študovaný nielen vplyv veku na klasický ischemický preconditioning (PC) ale aj tzv. remote-ischemický preconditioning (RIPC – PC na diaľku) a to hlavne pre možné klinické využitie tohto fenomenu.

Metodika. V našej štúdii sme skúmali účinky dospievania na funkciu srdca, jeho odpoveď na ischemiu a rozdiely v adaptačných mechanizmoch medzi PC a RIPC, u juvenilných (1,5 mes), mladších dospelých (3 mes) a starších dospelých (6 mes) samcov potkana Wistar. Srdcia boli perfundované na Langendorffovej aparátúre, vystavené 30-min I/120-min R, s alebo bez predchádzajúceho preconditioningu. Klasický PC bol indukovaný jedným cyklom 5-min I/5-min R u perfundovaných srdc. RIPC bol indukovaný tromi cyklami 5-min I/5-min R, vykonanými na zadnej končatine potkana počas anestézy. Merali sme veľkosť infarktovej zóny (IS), citlivosť na ventrikulárne arytmie a postischeemické obnovenie kontraktilnej funkcie srdca (LVDP).

Výsledky. Dospievanie zhoršilo odpoveď srdca voči IR poškodeniu (zväčšená veľkosť infarktu), zvýšilo arytmogénzu a tieto zmeny boli viac viditeľné u mladších skupín zvierat. Funkčná obnova (LVDP) vekom ovplyvnená nebola. Obe formy preconditioningu, IPC aj RIPC potlačili výskyt malígnych arytmií, zmenšili veľkosť infarktovej zóny a zlepšili obnovu LVDP u mladších skupín zvierat, zatiaľ čo sa ich účinok neprejavil u staršej skupiny.

Záver. Dospievanie zhoršuje odpoveď srdca na ischemiu a má za následok znížený účinok klasického aj remote-ischemického preconditioningu.

VLIV PROPOFOLU NA MITOCHONDRIÁLNÍ RESPIRACI KOMOROVÝCH KARDIOMYOCYTŮ POTKANA

Grundmanová, M.^{1,3}, Grundman, Z.², Čedíková, M.^{1,3}, Kuncová J.^{1,3}

¹ Ústav fyziologie Lékařská fakulta Plzeň Univerzita Karlova Praha

² Lékařská fakulta Plzeň Univerzita Karlova Praha, 4.r.

³ Biomedicínské centrum, Lékařská fakulta Plzeň Univerzita Karlova Praha

Úvod. Propofol je krátkodobě působící celkové anestetikum, které se v klinické praxi používá k úvodu a udržování celkové anestezie a sedaci u ventilovaných pacientů během resuscitační péče. V oblasti výzkumu je propofol hojně využíván k celkové anestezii pokusných zvířat. U myši a potkanů propofol snižuje krevní tlak a srdeční výdej snížením srdeční frekvence i systolického objemu. V mnoha orgánech ovlivňuje mitochondriální metabolismus, ale jeho přímý účinek na bioenergetiku kardiomyocytů není dosud známý.

Metodika. Respirační aktivitu vztaženou na mg vlhké hmotnosti permeabilizovaných tkáňových vzorků jsme měřili vysoce citlivou respiometrií na oxygrafu Oroboros ve stavech LEAK (stav nutný k udržení membránového potenciálu), OXPHOS (kapacita oxidativní fosforylace) a ROX (reziduální spotřeba kyslíku). Vliv propofolu (0,025 - 0,5 $\mu\text{mol/ml}$) na uvedené parametry byl sledován in vitro v tkáni volné stěny levé a pravé komory.

Výsledky. Všechny sledované respirační parametry byly u kontrolních vzorků vyšší v levé komoře ve srovnání s pravou. Propofol snižoval aktivitu komplexu I (OXPHOS I) v závislosti na koncentraci, absolutní hodnoty ostatních měřených parametrů významně neovlivňoval. Propofol také snižoval poměr LEAK/OXPHOS, který je indikátorem rozpřažení mitochondriální oxidace a fosforylace a svědčí o nižší účinnosti mitochondriálního metabolismu.

Závěr. Výsledky naší práce ukazují, že propofol přímo ovlivňuje mitochondriální respiraci kardiomyocytů srdečních komor, a to v koncentracích, které jsou blízké jeho tkáňovým a plazmatickým hladinám při celkové anestezii. Při provádění experimentů na zvířatech anestetizovaných propofolem je třeba při zkoumání mitochondriálního metabolismu tento účinek zohlednit a odlišit od případných změn způsobených uměle navozenými patologickými stavy.

VLIV HYPOXIE NA β -ADRENERGNÍ SIGNALIZACI V MYOKARDU U SHR A SHR-mtBN POTKANŮ

Hahnová, K.¹, Škrabalová, J.¹, Moravcová, R.¹, Volfová, B.¹, Neckář, J.², Kolář, F.², Novotný, J.¹

¹ *Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Praha, Česká republika*

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

Úvod. V dnešní době patří ischemicko-reperfúzní poškození srdce mezi hlavní příčiny kardiovaskulárních onemocnění a úmrtnosti v Západním světě. Adaptace na chronickou hypoxii může přispívat ke zlepšení ischemické tolerance myokardu, ale přesné molekulární mechanismy vedoucí k rozvoji kardioprotekce nejsou stále známy. Existují určité náznaky poukazující na možnou roli β -adrenergní signalizace a mitochondrií při navození kardioprotekce. Cílem této studie bylo stanovit β -adrenergní signalizaci v myokardu spontánně hypertenzních potkanů (SHR) a speciálního konplastického kmene SHR-mtBN, který nese jaderný genom SHR kmene a mitochondriální genom normotenzního odolného kmene Brown Norway a dále pozorovat vliv kontinuální normobarické hypoxie (5000 m, 3 týdny) na tuto signalizaci.

Metodika. K charakterizaci β -adrenergních receptorů (β -ARs) byly použity saturační a kompetiční vazebné studie. Aktivita adenylátcyklázy (AC) byla stanovena měřením konverze [α -³²P]ATP na [³²P]cAMP a aktivita monoaminoxidázy-A (MAO-A) byla stanovena za použití kynuramin dihydrobromidu jako substrátu v přítomnosti deprenylu (inhibitor MAO-B).

Výsledky. Naše výsledky odhalily, že zatímco celkový počet β -ARs v myokardu u SHR-mtBN potkanů byl vyšší než u SHR, adaptace na hypoxii vedla k signifikantnímu poklesu těchto receptorů u konplastického kmene (SHR-mtBN/H) a k jejich nárůstu u SHR (SHR/H). Podobné rozdíly byly pozorovány u aktivity AC. Na druhou stranu, aktivita MAO-A byla nižší u SHR-mtBN než u SHR a její aktivita byla u obou kmenů signifikantně zvýšená po adaptaci na hypoxii.

Závěr. Naše výsledky naznačují, že adaptace na kontinuální normobarickou hypoxii může mít částečně odlišné účinky na různé složky β -adrenergní signalizace v myokardu potkana a to v závislosti na genetickém pozadí.

DRASLÍKOVÝ PROUD CITLIVÝ NA ACETYLCHOLIN U SÍŇOVÝCH SRDEČNÍCH BUNĚK POTKANA: ZMĚNY VYVOLANÉ PŮSOBENÍM ETANOLU A NIKOTINU

Hořáková, Z., Matejovič, P., Šimurdová, M., Šimurda, J., Bébarová, M.

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

Úvod. Draslíkové proudy typu *inward rectifier* hrají důležitou roli v arytmogenezi včetně arytmií spojených s konzumací alkoholu nebo kouřením (zejména fibrilace síní). Cílem této práce byla analýza změn *inward rectifier* proudu citlivého na acetylcholin ($I_{K(Ach)}$) navozených etanolem a nikotinem v klinicky relevantních koncentracích u síňových srdečních buněk potkana.

Metodika. Měření byla provedena pomocí metody *whole cell patch clamp* při 23 ± 1 °C na enzymaticky izolovaných síňových buňkách potkana (v rozmezí -110 až -10 mV; uvedena jsou data naměřená při -110 mV). Etanol byl aplikován v koncentracích 2 - 80 mM (~0.09 - 3.7‰), nikotin v koncentraci 400 nM. Konstitutivně aktivní složka $I_{K(Ach)}$ byla měřena jako proud citlivý na specifický inhibitor tertiapin-Q (300 nM), acetylcholinem vyvolaná složka $I_{K(Ach)}$ jako proud aktivovaný acetylcholinem (3 μM).

Výsledky. Konstitutivně aktivní složka $I_{K(Ach)}$ byla signifikantně navýšena o $89,3 \pm 35,3$, $112,7 \pm 37,3$, $102,5 \pm 23,0$ a $53,4 \pm 24,9$ % vlivem 2, 8, 20 a 80 mM etanolu ($n = 6-10$). Také nikotin (400 nM) vyvolal signifikantní vzrůst této proudové složky o $112,5 \pm 34,7$ % ($n = 7$). V případě acetylcholinem stimulované složky $I_{K(Ach)}$ byl patrný dvojitý efekt etanolu ve všech aplikovaných koncentracích. Například etanol v koncentraci 20 mM inhiboval tuto složku proudu o $28,1 \pm 6,8$ % ($n = 7$), u jiných buněk ji naopak aktivoval o $67,8 \pm 21,8$ % ($n = 7$). Podobně nikotin působil na acetylcholinem stimulovanou složku $I_{K(Ach)}$ dvojitým efektem; byla pozorována jak inhibice (o $33,0 \pm 5,4$ %, $n = 3$), tak aktivace (o 39,9 %, $n = 1$).

Závěr. Etanol i nikotin v klinicky relevantních koncentracích působí signifikantní navýšení konstitutivně aktivní složky $I_{K(Ach)}$. Acetylcholinem vyvolaná složka $I_{K(Ach)}$ může být etanolem i nikotinem u různých buněk buď navýšena, nebo potlačena. Tyto pozorované změny by mohly přispět k vysvětlení vlivu konzumace etanolu a kouření na elektrofyziologii síňového myokardu.

Práce byla podpořena grantem NT14301-3/2013 Ministerstva zdravotnictví ČR a projektu číslo MUNI/A/1326/2014 podpořeného MŠMT v roce 2015.

TERAPEUTICKÝ VLIV CHRONICKÉ HYPOXIE A ZVÝŠENÉ FYZICKÉ ZÁTĚŽE NA GEOMETRII A FUNKCI LEVÉ KOMORY U POTKANŮ PO INFARKTU MYOKARDU

Hrdlička, J., Neckář, J., Papoušek, F., Vašíňová, J., Kolář, F.

Fyziologický ústav Akademie Věd České republiky, Praha, Česká republika

Úvod. Je známo, že adaptace na kontinuální normobarickou hypoxii (CNH) a zvýšenou fyzickou zátěž vedou ke zvýšené odolnosti srdce vůči akutnímu ischemicko-reperfučnímu poškození. O potenciálním terapeutickém vlivu těchto adaptací po infarktu myokardu (IM) víme podstatně méně. Cílem této studie proto bylo zjistit, zda CNH, nebo zvýšená fyzická zátěž může zmírnit progresi srdečního selhání vyvolaného IM.

Metodika. Dospělým potkanům kmene Wistar byla provedena okluze sestupné větve levé koronární arterie. Sham-operovaná zvířata podstoupila stejný chirurgický zákrok bez okluze. Po 7 dnech od IM byla zvířata náhodně rozdělena do 3 skupin: i) kontrolní skupina s klidovým režimem v normoxii, ii) skupina vystavená kontinuální normobarické hypoxii (12% O₂, 3 týdny), iii) skupina adaptovaná na zvýšenou fyzickou zátěž (běh, 15 m/min, 60 min/den, 5 dní/týden, 3 týdny). Echokardiografická vyšetření byla provedena 3 dny před operací a 7, 14 a 28 dní po IM.

Výsledky. Ve srovnání s kontrolní skupinou měl MI za následek postupný nárůst systolického i diastolického rozměru levé komory (LVD_s a LVD_d) a pokles relativní tloušťky přední stěny (RWT). Frakční zkrácení (FS) pokleslo ze 42,8% před IM na 15,1% po 4 týdnech od operace. Chronická hypoxie zmírnila dilataci levé komory bez signifikantního vlivu na FS. Adaptace na fyzickou zátěž nevedla ke změnám geometrie, ani funkce levé komory.

Závěr. Naše výsledky naznačují, že dlouhodobé vystavení kontinuální hypoxii má určitý potenciál tlumit progresi negativních změn v geometrii levé komory u potkanů po IM.

ÚČINKY PROPOFOLU IN VITRO NA KONTRAKTILITU A ELEKTROFYZIOLOGII KOMOROVÉHO MYOKARDU LABORATORNÍHO POTKANA

Jarkovská, D.¹, Süß, A.¹, El-Kadi, A. G.², Štengl, M.¹

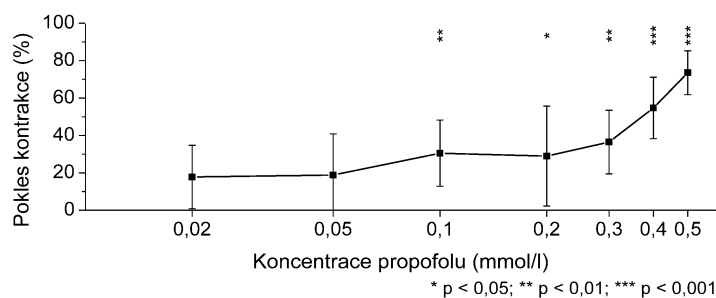
¹ Ústav fyziologie a Biomedicínské centrum LFP UK, Plzeň, Česká republika

² Lékařská fakulta, Univerzita Ain Shams, Káhira, Egypt

Úvod. V minulosti již byly popsány účinky propofolu na kontraktilitu myokardu. Cílem této studie bylo popsat působení propofolu z hlediska kontraktility a elektrofyzilogie na tentýž preparát z komorového myokardu laboratorního potkana.

Metodika. Pro účely studie bylo použito 30 potkanů (611 ± 102 g) kmene Wistar, jimž bylo po dekapitaci vyjmuto srdce. Z pravé i levé komory byl vystřižen papilární sval (resp. trabekula) a umístěn do lázně promývané 37°C teplým a oxygenovaným Tyrodeovým roztokem s propofolem v různých koncentracích (0,02 – 0,5 mmol/l). Izometrické kontrakce byly měřeny pomocí mechanoelektrického převaděče za současného snímání membránového napětí vysokoodporovými skleněnými elektrodami při různých stimulačních frekvencích (1, 2, 3, 5 Hz). Analýza signálu probíhala v softwaru MATLAB 2014b (MathWorks Inc., Natick, MA, USA, 2014).

Výsledky. Při všech aplikovaných stimulačních frekvencích došlo v obou srdečních komorách k významnému poklesu síly kontrakce vlivem propofolu (počínaje koncentrací 0,1 mmol/l), přičemž v levé komoře (viz Obr. 1) byl tento efekt výraznější. Při nejvyšší testované koncentraci propofolu (0,5 mmol/l) byla změřena signifikantně delší relaxace (v levé komoře o 27%, v pravé komoře o 62%). V trvání akčního potenciálu nedošlo k žádné změně ani při jedné z použitých koncentrací propofolu.



Obrázek 1: Pokles kontrakce v preparátu z levé srdeční komory při různých koncentracích propofolu.

Závěr. Při koncentracích vyšších než 0,1 mmol/l vykazoval propofol negativní inotropní efekt, zatímco elektrofyzilogické parametry zůstaly beze změny.

FUNKČNÉ ZOTAVENIE SRDCOVÝCH MITOCHONDIÍ OVPLYVNENÝCH REMOTE ISCHEMICKÝM PRECONDITIONINGOM A AKUTNÍM DIABETOM PO ISCHEMICKO/REPERFÚZNOM POŠKODENÍ

Jašová, M.¹, Kancirová I.¹, Čarnická S.¹, Muráriková M.¹, Hrdlička J.³, Chytilová A.³, Waczulíková I.², Ravíngerová T.¹, Ziegelhöffner A.¹, Ferko M.¹

¹ Ústav pre výskum srdca, Centrum excelentnosti SAV, NOREG, SAV

² Oddelenie biomedicínskej fyziky, Katedra nukleárnej fyziky, biofyziky, Fakulta matematiky, fyziky a informatiky, Univerzita Komenského v Bratislave

³ Fyziologický ústav AV ČR

Úvod. Funkčná remodelácia mitochondriovej membrány vedie ku zachovaniu energetických funkcií myokardu. Cieľom tejto štúdie bolo zistiť vplyv akútneho streptozotocínom indukovaného *diabetes mellitus* (DM), remote ischemického preconditioningu (RPC) ako aj ich kombinácie na štruktúrne a funkčné vlastnosti srdcových mitochondrií po ischemicko/reperfúznom (I/R) poškodení myokardu.

Metodika. Samce potkana kmeňa Wistar (220±20g); model akútneho DM bol navodený jednorazovým podaním streptozotocínu (65 mg/kg, i.p.). RPC bol indukovaný tromi sériami 5-minútovej ischemie a následnej reperfúzie pravej zadnej končatiny. Izolované srdcia boli perfundované podľa Langendorffa (15 min. stabilizácia, 30 min. globálna ischemia, 40 min. reperfúzia). Aktivita mitochondriovej ATP-syntázy bola stanovená ako množstvo anorganického fosfátu uvoľneného počas štiepenia ATP. Membránová fluidita mitochondrií bola stanovená fluorescenčnou anizotropiou pomocou sondy 1,6,-difenyl-1,3,5-hexatriénu. Hladina interleukínu 10 (IL-10) a tumor nekrotického faktora alfa (TNFα) bola stanovená pomocou komerčného ELISA kitu.

Výsledky. Fluidita mitochondriovej membrány bola vplyvom RPC signifikantne zvýšená ($p < 0,05$) po ischemii ako aj po reperfúzii. RPC tiež zabránil poklesu aktivity mitochondriovej ATP-syntázy po I/R poškodení, avšak bez zaznamenananej štatistickej signifikantnosti. Vplyvom DM ani kombináciou DM s RPC nebol preukázaný signifikantný rozdiel vo fluidite ani v aktivite ATP-syntázy. Hladina IL-10 bola vplyvom RPC po I/R poškodení zvýšená o 12,5 %, pričom koncentrácia TNFα sa nemenila.

Záver. RPC sa preukázal ako účinný faktor podieľajúci sa na funkčnej remodelácii srdcových mitochondrií vedúcej k lepšiemu postischemickému zotaveniu myokardu.

JE ŽELEZO CHELATUJÍCÍ METABOLIT DEXRAZOXANU (ADR-925) ZODPOVĚDNÝ ZA JEHO KARDIOPROTEKTIVNÍ ÚČINKY PROTI ANTRACYKLINOVÉ KARDIOTOXICITĚ?

Jirkovský, E.¹, Lenčová, O.¹, Pokorná, Z.¹, Jirkovská, A.², Jansová, H.², Kovaříková, P.², Šimůnek, T.², Geršl, V.¹, Štěřba, M.¹

¹Lékařská fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova v Praze, Hradec Králové, Česká republika

²Farmaceutická fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Hradec Králové, Česká republika

Úvod. Dexrazoxan (DEX) je jediným léčivem s jasně prokázaným účinkem proti chronické antracyklinové (ANT) kardiotoxicitě v experimentální i klinické praxi. Ačkoli v literatuře chybí přímé důkazy, převládá názor, že DEX je proléčivo účinkující prostřednictvím svého železo chelatujícího metabolitu ADR-925, který brání rozvoji ANT navozenému oxidačního poškození myokardu. Cílem této studie je objasnění role ADR-925 v kardioprotektivním účinku DEX.

Metodika. DEX byl podáván králíkům v kardioprotektivním schématu (60 mg/kg, i.p.); ADR-925 byl podáván ve stejné dávce 30min infuzí a v další skupině navíc subkutánně ve 150. min (60 mg/kg). Koncentrace ADR-925 v plazmě a myokardu byly stanoveny pomocí validované HPLC/MS metody. Kardioprotektivní účinky byly následně studovány při podání ADR-925 králíkům 45 min před každou dávkou ANT na zavedeném modelu ANT kardiotoxicity (DAU; 3 mg/kg i.v., 1x týdně po 10 týdnů).

Výsledky. Exogenní podávání ADR-925 je schopno navodit signifikantní expozici myokardu koncentracemi výrazně vyššími než po podání DEX. Toto zjištění umožnilo přímé hodnocení kardioprotektivního účinku domnělého aktivního metabolitu. Výsledky kardioprotektivní studie pak jasně ukázaly, že podání metabolitu v uvedených schématech není schopné navodit významnou ochranu myokardu před ANT kardiotoxicitou. K tomuto závěru vedlo vyšetření funkčních, morfologických a molekulárních parametrů (např. index kontraktility dp/dt_{max} byl snížen oproti kontrole o 46 % a 39 % v kombinačních skupinách s ADR-925 a o 41 % v DAU skupině, $p < 0,05$).

Závěr. Naše výsledky jasně naznačují, že chelatačně aktivní metabolit ADR-925 není zodpovědný za účinnou ochranu myokardu proti chronické ANT kardiotoxicitě navozenou DEX. Kardioprotektivní účinek je tedy patrně spojen s parentní látkou DEX a jinými mechanismy.

STANOVENÍ KOMOROVÉ DYSSYNCHRONIE Z DŮVODU BLOKÁDY LEVÉHO TAWAROVA RAMÉNKA U PACIENTŮ INDIKOVANÝCH K RESYNCHRONIZAČNÍ TERAPII

K. Juráková¹, J. Halámek^{2,3}, P. Jurák^{2,3}, F. Plešinger², T. Reichlová⁴, M. Novák⁴, J. Lipoldová⁴,
Z. Nováková¹, P. Leinveber^{3,4}

¹Fyziologický ústav LF MU, Brno, Česká republika

²Ústav přístrojové techniky AV ČR, v. v. i., Česká republika

³Mezinárodní centrum klinického výzkumu FN U Sv. Anny v Brně, Brno, Česká republika

⁴I.interní kardioangiologická klinika FN U Sv. Anny v Brně a LF MU, Brno, Česká republika

Úvod. U pacientů s bloádou levého Tawarova raménka (LBBB; viz obr. 1) dochází ke zpožděné aktivaci laterální stěny levé komory a k dyssynchronnímu stahu komor. Poruchy způsobené touto bloádou lze léčit resynchronizační terapií (CRT) s implantací biventrikulárního kardiostimulátoru. V praxi se ukazuje, že u každého třetího pacienta nedochází ke snížení dyssynchronie a ke zlepšení stavu po implantaci.

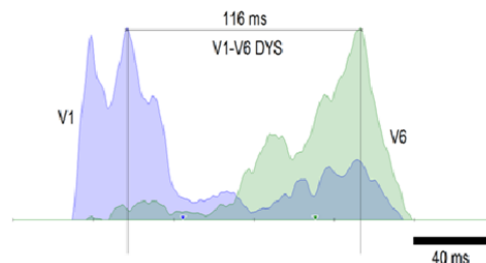
Metodika. Ke zpracování byl využit záznam 12-svodového vysokofrekvenčního elektrokardiografu (UHF-EKG) 23 pacientů s LBBB (71 ± 6 let, 18 mužů) indikovaných k resynchronizační terapii a 23 zdravých dobrovolníků (33 ± 16 let, 12 mužů). Zpracování proběhlo v programu UHF Solver (ÚPT AV ČR) ve frekvenčním pásmu 500-1000 Hz. Pomocí programu SignalPlant jsme změřili šířku QRS komplexu a nový ukazatel komorové dyssynchronie: V1-V6 DYS (Obr. 2.)

Výsledky. Doba trvání QRS komplexu byla u LBBB pacientů $159,0 \pm 20,1$ ms, u zdravých dobrovolníků $88,7 \pm 6,1$ ms, $p \leq 0,0001$. Velikost parametru V1-V6 DYS u pacientů s LBBB byla $68,1 \pm 32,4$ ms, u zdravých $6,7 \pm 5,5$ ms; $p \leq 0,0001$. U třech pacientů s širokým QRS komplexem (138 ± 27 ms) byla hodnota V1-V6 DYS < 20 ms. Tito pacienti dle stávajících kritérií jsou navrženi k resynchronizační terapii, dle našeho zpřesnění nemají významně větší komorovou dyssynchronii a nebudou profitovat z terapie.

Závěr. UHF-EKG s novým parametrem V1-V6 DYS nám ukazuje míru komorové dyssynchronie a lze předpokládat, že při jeho využití bude účinnost resynchronizační terapie vyšší.



Obr. 1.: Blokáda levého Tawarova raménka



Obr. 2.: Měření parametru V1-V6 DYS v programu SignalPlant. Modrá barva – záznam ze svodu V1. Zelená barva – svod V6.

Tato studie byla podpořena projekty: GAČR P102/12/2034; MŠMT LO1212; CZ.1.05/2.1.00/01.0017; FNUSA-ICRC CZ.1.05/1.1.00/02.0123; projekt Masarykovy univerzity "Kardiovaskulární systém od buňky k lůžku pacienta" MUNI/A/1326/2014 podpořeného z prostředků účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum, kterou poskytlo MŠMT v roce 2015.

ENERGETICKÝ METABOLISMUS MYOKARDU OVPLYVNENÝ EXPERIMENTÁLNÝM STREPTOZOTOCÍNOM-INDUKOVANÝM DIABETOM A REMOTE ISCHEMICKÝM PRECONDITIONINGOM

Kancirová, I.¹, Jašová, M.¹, Čárnická, S.¹, Sumbalová, Z.², Vančová, O.², Uličná, O.², Ziegelhoffer, A.¹, Ferko, M.¹

¹ Ústav pre výskum srdca, Centrum excelentnosti NOREG, Slovenská akadémia vied, Bratislava, Slovenská republika

² Farmakobiochemické laboratórium III. internej kliniky Lekárskej fakulty Univerzity Komenského, Bratislava, Slovenská republika

Úvod. Kardioprotektívne mechanizmy podobné remote ischemickému preconditioningu boli pozorované i v experimentálnom modeli streptozotocínom-indukovaného *diabetes mellitus*. Cieľom tejto štúdie bolo porovnať účinok remote ischemického preconditioningu, streptozotocínom-indukovaného *diabetes mellitus* a ich kombinácie na energetický metabolizmus myokardu s ischemicko-reperfúznym (I/R) poškodením.

Metodika. Potkany kmeňa Wistar boli rozdelené do skupín: kontrolná (K), skupina s remote ischemickým preconditioningom (RPC), s *diabetes mellitus* (DM) a skupina s DM podrobená RPC (RPC+DM). RPC pozostával z troch 5-min cyklov ischemie a reperfúzie femorálnej artérie dolnej končatiny. Izolované srdcia potkanov všetkých skupín boli následne vystavené 30-min. globálnej ischemii a 40-min. reperfúzii podľa Langendorffa. Rýchlosť spotreby kyslíka pri bazálnom (stav S2) a stimulovanom dýchaní s ADP (stav S3) bola stanovená pomocou Oxygrafu-2k (Oroboros Instruments, Rakúsko). Aktivita ATP-syntázy bola meraná využitím metódy absorpčnej spektroskopie.

Výsledky. 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. Bazálna respirácia mitochondrií nebola I/R poškodením, ani RPC či DM ovplyvnená. RPC čiastočne zabránilo zníženiu aktivity mitochondriovej ATP-syntázy po I/R poškodení, avšak pozorované zmeny neboli štatisticky významné.

Záver. Výsledky naznačujú, že DM rovnako ako RPC nezlepšuje respiračnú aktivitu mitochondrií myokardu po I/R poškodení.

ADAPTACE NA HYPOXII SNIŽUJE PRAVDĚPODOBNOST AKTIVACE APOPTÓZY V PRŮBĚHU AKUTNÍ ISCHEMIE A REPERFÚZE

*Kolář, D.¹, Grešíková, M.¹, Wasková-Arnoštová, P.¹, Kohútová, J.¹, Elsnicová, B.¹, Neckář, J.²,
Nováková, O.¹, Novotný, J.¹, Kolář, F.², Žurmanová, J.¹*

¹ *Katedra fyziologie, Přírodovědecká fakulta UK*

² *Fyziologický ústav, Akademie věd ČR, Praha, Česká republika*

Úvod. Adaptace na kontinuální normobarickou hypoxii (CNH) je známa svými kardioprotektivními účinky. Jednou z klíčových drah, která by mohla hrát úlohu v mechanismech protekce indukovaných CNH, je dráha zprostředkovaná Akt kinázou. Akt, vedle své metabolické funkce, hraje významnou úlohu v ochraně mitochondrií prostřednictvím hexokinázy 2 (HK2) a rodiny Bcl-proteinů. Cílem práce bylo zjistit vliv CNH na Akt/HK/Bcl-2 signální dráhy v levé srdeční komoře (LV) v průběhu ischemie a reperfúze.

Metodika. Dospělí potkani kmene Wistar byli adaptováni po dobu 21 dnů na CNH (O₂ frakce 0,1). Na izolovaných perfundovaných srdcích podle Langendorffa byla navozena globální ischemie (10 min) a reperfúze (10 min), která vyvolala minimální buněčné poškození. Homogenáty z LV kontrolní a CNH skupiny byly použity ke stanovení exprese proteinu s využitím imunoblottingu. Enzymatická aktivita byla stanovena spektrofotometricky. Kolokalizace HK1 a HK2 s mitochondriemi byla stanovena pomocí kvantitativní imunofluorescenční mikroskopie.

Výsledky. Exprese izoforem HK1 a HK2 se nezměnila v důsledku akutní ischemie a reperfúze, avšak enzymatická aktivita vzrostla po ischemii u obou skupin a zůstala zvýšena po reperfúzi u CNH. Exprese Akt a pAkt (Thr308) se neměnila u obou skupin ani po ischemii ani po reperfúzi. Na rozdíl od kontrolní skupiny, u CNH hladina pAkt (Ser473) vzrostla po ischemii o 77% a po reperfúzi o 47%. U CNH byl poměr BAX/Bcl-2 snížen o 30% po ischemii a o 45% po reperfúzi. Kolokalizace HK1 s mitochondriemi se nezměnila, zatímco HK2 kolokalizace se po reperfúzi snížila vzhledem k ischemii u kontrolní skupiny.

Závěr. Kardioprotektivní adaptace na CNH snížila pravděpodobnost vzniku apoptózy po ischemii a reperfúzi poklesem poměru BAX/Bcl-2 a stabilizovala vazbu HK2 na mitochondriích v reperfúzi.

ZVÝŠENÁ EXPRESE, ALE LIMITOVANÁ AKTIVITA RESPIRAČNÍCH KOMPLEXŮ MITOCHONDRIÍ DŘENĚ LEDVIN PRASETE

Tůma, Z.², Grundmanová, M.^{1,2}, Dalíková, T.¹, Machek, V.¹, Liška, V.², Kuncová, J.^{1,2}

¹ *Ústav fyziologie*

² *Biomedicínské centrum, LF UK v Plzni, Česká republika*

Úvod. Ledviny zajišťují udržování stálosti vnitřního prostředí pomocí ultrafiltrace krevní plazmy a tubulárních transportních procesů, které jsou v kůře nutné zejména pro izoosmotickou redukci objemu glomerulárního filtrátu a ve dřeni pro vytváření hypertonického intersticia. Mitochondrie poskytují energii pro tyto procesy. Cílem naší studie bylo porovnat charakter respirace mitochondrií kůry a dřene ledvin prasete domácího ve vztahu k mitochondriálnímu proteomu obou tkání.

Metodika. Mitochondrie jsme izolovali pomocí diferenciální centrifugace. Spotřebu kyslíku jsme měřili vysoce citlivou respirometrií ve stavech LEAK, OXPHOS, ETS a ROX. V mitochondriální suspenzi jsme stanovili aktivitu citrátsyntázy (CS) a koncentraci proteinu, které jsme použili pro standardizaci spotřeby kyslíku. Proteomická analýza byla provedena pomocí hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF/TOF po separaci proteinů dvourozměrnou elektroforézou na polyakrylamidovém gelu.

Výsledky. Mitochondrie kůry a dřene ledvin vykazují značné rozdíly v aktivitě jednotlivých komplexů respiračního systému, zejména při vztažení spotřeby kyslíku na jednotku aktivity CS, která je signifikantně vyšší v kůře než ve dřeni, i když množství proteinu CS je naopak ve dřeni přibližně 5x vyšší než v kůře. Podobně i četné podjednotky respiračních komplexů I, III a IV vykazují ve dřeni vyšší koncentraci, ale nižší nebo podobnou spotřebu kyslíku ve srovnání s kůrou. V proteomu mitochondrií kůry ledvin naopak dominují enzymy β -oxidace mastných kyselin a metabolismu aminokyselin.

Závěr. Výsledky studie dokazují významné funkční rozdíly mezi mitochondriemi kůry a dřene ledvin a jejich metabolickou specializací. Další studie bude věnována hypotéze inhibičního vlivu hypertonického prostředí na funkci respiračního systému.

LOKALIZACE VYBRANÝCH KOMPONENT ADRENERGNIHO SIGNÁLNÍHO SYSTÉMU V LIPIDOVÝCH RAFTECH IZOLOVANÝCH ZE SRDCE SPONTANNĚ HYPERTESNÍHO

Manakov, D.¹, Pravenec, M.², Novotný, J.¹

¹ Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Praha, Česká republika

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

Úvod. Lipidové rafty jsou membránové detergent rezistentní mikrodomény obohacené cholesterolem a sfingolipidy, ve kterých mohou být lokalizovány důležité komponenty některých signálních drah účastnících se přenosu informace přes plazmatickou membránu. V této práci jsme se zaměřili na studium lokalizace beta-adrenergních receptorů, G proteinů a dalších signálních molekul v lipidových raftech připravených z myokardu potkana kmene SHR, který vykazuje abnormality ve funkci tohoto signálního systému.

Metodika. Lipidové rafty byly izolovány pomocí solubilizace neiontovým detergentem Triton X-100 (1%) nebo alkalickým uhličitánem (0,5 M Na₂CO₃). Při izolaci pomocí Tritonu X-100 byly lipidové rafty (pelet) odděleny od většinové membránové fáze (supernatent) vysokoobrátkovou centrifugací. V případě použití alkalického uhličitánu byly rafty separovány centrifugací v gradientu media OptiPrep. Takto byly od sebe odděleny frakce obohacené o rafty (s nižší vznášivou hustotou) a frakce obsahující neraftové proteiny s vyšší vznášivou hustotou). Získané vzorky byly analyzovány pomocí SDS-PAGE a immunoblotingu s použitím specifických protilátek proti vybraným markerovým a signálním proteinům.

Výsledky. Byla vypracována modifikovaná metoda pro izolaci lipidových raftů z plazmatických membrán připravených z myokardu. Kvalita získaných frakcí byla ověřena testováním distribuce kaveolinu-1 a Cd71 jako typických markerů. Lokalizace hlavních komponent beta-adrenergního signálního systému (beta1- a beta2-adrenergních receptorů, Gs a Gi proteinů a adenylylcyklázy) v lipidových raftech a většinové membránové fázi se poněkud lišila v závislosti na použitém způsobu izolace raftů.

Závěr. Zjistili jsme, že významný podíl signálních molekul beta-adrenergního systému myokardu se vyskytuje v lipidových raftech, a že metoda přípravy raftů má vliv zjištěnou lokalizaci v těchto membránových útvech.

HOSTILITA – AUTONÓMNA REAKTIVITA – MOŽNÝ KARDIOVASKULÁRNY RIZIKOVÝ FAKTOR VO VZŤAHU KU STRESOVEJ ODPOVEDI?

Mešťaník, M.¹, Mešťaníková, A.¹, Višňovcová, Z.¹, Javorka, K.¹, Jurko, A.², Bujňáková, I.¹,
Tonhajzerová, I.¹

¹ Ústav fyziológie a Martinské centrum pre biomedicínu, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita
Komenského v Bratislave, Martin, Slovenská republika

² Pediatrická kardiológia, Martin, Slovenská republika

Úvod. Zvýšená/znížená autonómna reaktivita a hostilita ako psychologický faktor predstavujú zvýšené riziko kardiovaskulárnych komplikácií. Napriek tomu je ich vzájomný vzťah v interakcii s negatívnym emočným stresom veľmi málo objasnený. Cieľom tejto práce bolo štúdium zmien autonómnej reaktivity v odpovedi na negatívny emočný stres u mladých zdravých ľudí v interakcii s hostilitou.

Metodika. Celkovo bolo vyšetrených 18 mladých zdravých ľudí vo veku 22 – 24 rokov. EKG signál spolu s elektrodermálnou aktivitou (EDA) boli snímané počas pokoja, negatívneho emočného stresora a následného pokoja. Spektrálny výkon vo vysokofrekvenčnej oblasti variability frekvencie srdca (HF-VFS) bol braný ako index kardiálnej vagovej aktivity. Sympatiková regulácia bola hodnotená použitím amplitúdy EDA. Cook-Medley dotazník bol použitý na stanovenie hostility.

Výsledky. Emočný negatívny stres vyvolal signifikantné zníženie HF-VFS a zvýšenie EDA v porovnaní s pokojom, pričom EDA sa po ukončení stresoru nevrátila k pokojovým hodnotám. Korelačná analýza ukázala pozitívny vzťah medzi EDA a hostilitou v odpovedi na emočný stres.

Záver. Naša štúdia odhalila vzťah hostility a sympatikovej reaktivity v odpovedi na negatívny emočný stres, čo môže pomôcť k objasneniu patomechanizmov stresovo podmienených kardiovaskulárnych komplikácií.

ZMENY SYMPATIKOVEJ REGULÁCIE PRI ADOLESCENTNEJ DEPRESII

Mešťaníková, A.¹, Ondrejka, I.², Hrtánek, I.², Mešťaník, M.¹, Šnircová, E.², Farský, I.², Bujňáková, I.¹, Javorka, K.¹, Tonhajzerová, I.¹

¹ Ústav fyziológie, Jesseniova lekárska fakulta v Martine a Martinské centrum pre biomedicínu, Martin, Slovensko

² Psychiatrická klinika, Univerzitná nemocnica v Martine, Martin, Slovensko

Úvod. Depresia je psychické ochorenie spojené so zvýšeným kardiovaskulárnym rizikom. Etiopatogenéza tohoto vzťahu sa vysvetľuje aj zmenou dynamickej rovnováhy autonómneho nervového systému (ANS), avšak štúdie zaoberajúce sa ANS a depresiou v adolescentnom veku sú zriedkavé. Cieľom našej práce bolo zistiť zmeny sympatikovej aktivity použitím elektrodermálnej aktivity (EDA) počas pokoja a ortostatického testu u depresívnych adolescentov.

Metodika. Súbor tvorilo 12 chlapcov (vek: $14,8 \pm 0,7$) hospitalizovaných na Psychiatrickej klinike s diagnózou depresie a 12 zdravých kontrol (vek: $14,6 \pm 0,4$). EDA (v μS) ako marker sympatikového cholinergného systému bola snímaná v pokoji a počas ortostázy. Reaktivita bola hodnotená ako percentuálny vzostup EDA počas ortostázy oproti pokojovej fáze.

Výsledky. EDA bola signifikantne nižšia v pokoji a počas ortostázy u depresívnych chlapcov v porovnaní s kontrolnými subjektami ($p < 0,05$), zatiaľ čo reaktivita bola signifikantne vyššia u depresie (58% vs. 18%, $p < 0,05$).

Záver. Znížená absolútna hodnota EDA a zvýšená reaktivita u depresíí môžu naznačovať diskkrétne abnormality sympatikového cholinergného systému. Táto dysbalancia ANS môže prispievať ku zvýšenému kardiovaskulárnemu riziku u depresíí v adolescentnom veku.

CHRONIC HYPOXIA AFFECTS THE PHOSPHOLIPASE α_2 CYCLOOXYGENASE-2

PATHWAY VIA β_2 -ADRENERGIC RECEPTOR- MEDIATED ERK/P38 ACTIVATION

Míčová, P.¹, Hahnová, K.², Hlaváčková, M.^{1,3}, K.², Elsnicová, B.², Chytilová, A.³, Holzerová, K.^{1,3},
Novotný, J.², Žurmanová, J.², Neckář, J.³, Kolář, F.³, Nováková, O.¹

¹ Dept. of Cell Biology, ² Dept. of Physiology, Faculty of Science, Charles University in Prague, Czech Republic

³ Institute of Physiology, Czech Academy of Sciences, Prague, Czech Republic

Background. Adaptation to chronic intermittent hypoxia (CIH) is associated with increased generation of reactive oxygen species that is implicated in the protective mechanism against acute ischemia/reperfusion injury. However, chronic administration of antioxidants during CIH abolished the protective effect [1]. Aim of the study was to analyse the involvement of β -adrenoceptors (AR)/Gi-proteins (Gi)/cytosolic phospholipase $A_2\alpha$ (cPLA $_2\alpha$) pathway in cardioprotective mechanism of CIH.

Methods. Selected transcripts and proteins were analysed by Real Time PCR, Western blotting, and immunofluorescence in the left ventricular myocardium of adult male Wistar rats adapted to CIH (7,000 m, 8h/day, 5 weeks).

Results. CIH did not change the total number of β -AR. Nevertheless the proportion of β_2 -AR increased from 30% (normoxia) to 40% (CIH). The protein abundances of adenylyl cyclase 5/6 decreased by 53% while increased Gi $_{1,2}$ by 39%, Gi $_3$ by 35%, both cPLA $_2\alpha$ by 14% and p-cPLA $_2\alpha$ by 16%, respectively. Antioxidant tempol prevented p-cPLA $_2\alpha$ up-regulation. CIH increased the translocation of p-cPLA $_2\alpha$ to the nuclear membrane by 85%. Concomitantly, the phosphorylated forms of protein kinase C α , ERK1/2 and p38 were increased by 12%, 48% and 19%, respectively. The protein level of cyclooxygenase-2 (COX-2) and the concentration of prostaglandin E2 increased by 36% and 84%, respectively, compared to controls.

Conclusion. CIH activates the cPLA $_2\alpha$ -COX-2 pathway via β_2 AR-Gi-ERK1,2/p38 signalling. Further experiments should confirm the importance of this pathway for endogenous cardioprotection in myocardium.

[1] Kolar et al. Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 2007, 292: H224-H230

This work was supported by Czech Science Foundation (P303/12/1162) and the Grant Agency of the Charles University in Prague (392615).

VLIV JATERNÍ DYSFUNKCE NA INTRAKARDIÁLNÍ NERVOVÝ SYSTÉM LABORATORNÍHO POTKANA

Mistrová, E.^{1,3}, Jarkovská, D.³, Bludovská, M.², Kotyzová, D.², Slavíková, J.¹,

Chottová Dvořáková M.^{1,3}

¹Ústav fyziologie

²Ústav farmakologie

³Biomedicínské centrum, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova v Praze

Úvod. Porušená nervová a humorální regulace, elektrofyziologické abnormality a změny v systémové cirkulaci se řadí ke kardiovaskulárním komplikacím jaterní dysfunkce. Enzym tyrosin hydroxyláza (TH) se účastní syntézy noradrenalinu (NA), hlavního neurotransmiteru sympatické větve autonomního nervového systému. Neuropeptid Y (NPY) se uvolňuje společně s NA a je lokalizován v srdečních gangliích, převážně levé srdeční síně. Cílem této práce bylo studium vlivu experimentálně navozeného jaterního selhání na inervaci srdce laboratorního potkana.

Metodika. Jaterní selhání bylo navozeno chemicky, aplikací thioacetamidu (TAA) nebo mechanicky, podvázáním žlučovodu. Dospělým samcům kmene Wistar byla aplikována intraperitoneální injekce TAA o dávce 200 mg/kg tělesné váhy po dobu 12 týdnů a usmrceni byli 8 týdnů po ukončení aplikace TAA. Operovaným zvířatům byl podvázán žlučovod a usmrcena byla po 8 týdnech. Potkanům z kontrolní skupiny byla aplikována ekvivalentní dávka fyziologického roztoku. Po usmrcení zvířete byl odebrán vzorek krve, tkáňové vzorky srdce, jater a ledvin. Byly stanoveny biochemické parametry jaterního selhání a stupeň lipidové peroxidace v játrech, ledvinách a srdci. Byla stanovena relativní exprese mRNA genů pro TH a NPY v levé srdeční siní jako podíl Cq hodnoty cílového genu vůči Cq referenčního genu, β -aktinu a Ywhazu. Výsledky byly signifikantní při dosažení $p < 0,05$.

Výsledky. Exprese mRNA pro TH byla snížena v levé siní operovaných potkanů, zatímco exprese mRNA pro NPY u obou experimentálních skupin nevykazovala žádné změny. Plazmatické hodnoty jaterních enzymů byly výrazně zvýšeny. Peroxidace lipidů v játrech u skupiny TAA byla zvýšena, zatímco u operovaných zvířat klesla.

Závěr. Vlivem navozené jaterní dysfunkce dochází ke změnám v expresi mRNA pro TH v srdci laboratorního potkana.

Práce byla podpořena grantem P 36, projektem CZ.1.05/2.1.00/03.0076 z Evropského regionálního fondu rozvoje a Národním programem udržitelnosti I (NPU I) No. LO1503 Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky.

mikroRNA V PROTEKCI MYOKARDU

Novák, J.^{1,2}

¹ *Fyziologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova Univerzita, Brno, Česká republika*

² *II. interní klinika, Lékařská fakulta Masarykovy Univerzity a Fakultní Nemocnice u Sv. Anny, Brno, Česká republika*

mikroRNA (miRNA, miR) představují jednu ze skupin tzv. malých nekódujících RNA, které se podílejí na negativní posttranskripční regulaci genové exprese. Některé miRNA zajišťují spíše jemné doladění („fine-tuning“) genové exprese, jiné jsou jejími významnými hybateli. Jedna miRNA většinou ovlivňuje expresi celé skupiny genů a exprese jednoho genu je často ovlivňována různými miRNA – vznikají tak komplexní propojené sítě, jejichž ovlivnění může vyústit jak v poškození, tak v protekci myokardu. Úlohy miRNA však nekončí na úrovni buněčné membrány: tyto malé molekuly se rovněž vyskytují v extracelulárním prostoru a miRNA uložené v exosomech, či apoptotických tělískách se aktivně podílejí na mezibuněčné komunikaci.

miRNA se zapojují do regulace celé řady biologických procesů a jejich hladiny citlivě reagují na vnější stimuly. Snížení, či zvýšení jejich hladin může proto vyústit v protekci kardiomyocytů před apoptózou (např. miR-19), či ve větší odolnost před hypoxií/ischemií (např. miR-92a, miR-214, miR-384-5p). Hladiny miRNA se rovněž mění vlivem ischemického conditioningu (miR-125b*, miR-139-3p, miR-320, či miR-188) a exosomální miRNA by dokonce mohly být jedněmi z efektorů remote ischemického conditioningu (např. miR-144), nebo terapie mesenchymálními kmenovými buňkami (např. miR-221). I různé kardioprotektivní látky, např. resveratrol obsažený v červeném víně, může ovlivnit hladiny miRNA zapojených např. do remodelace myokardu (např. miR-21) a tím této remodelaci částečně zabránit.

Současné znalosti o roli miRNA v kardioprotekci jsou omezené, avšak s ohledem na možné terapeutické využití miRNA v budoucnu je důležité se studiem těchto kardioprotektivních miRNA („protektomiRNA“) dále zabývat a odhalit tak jejich skutečný potenciál pro terapii a prevenci kardiovaskulárních onemocnění.

Tato práce vznikla na Masarykově univerzitě v rámci projektu "Kardiovaskulární systém od buňky k lůžku pacienta" (MUNI/A/1326/2014) podpořeného z prostředků účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum, poskytnutého MŠMT v roce 2015.

NOVÁ METODA PRO INDIKACI A OPTIMALIZACI SRDEČNÍ RESYNCHRONIZAČNÍ TERAPIE?

Novák M.¹, Leinveber P.¹, Lipoldová J.¹, Reichlová T.¹, Halánek J.², Jurák P.²

¹ I. Interní kardioangiologická klinika Lékařské fakulty Masarykovy Univerzity a fakultní nemocnice u Svaté Anny, Brno, Česká republika

² Ústav přístrojové techniky, Akademie věd České republiky, Brno, Česká republika

Úvod. Resynchronizační léčba (CRT) srdečního selhání biventrikulární stimulací je v klinické praxi využívána již asi 20 let; počet non-respondérů této léčby je však stále až 30%. Důvodem je absence spolehlivé metody na výběr vhodných kandidátů – autoři se snaží zavést do klinické praxe novou metodu, tzv. ultra-high-frequency EKG (UHF EKG).

Metodika. UHF EKG vyšetření je prováděno u pacientů indikovaných k CRT dle platných guidelines: v potaz je brán tvar BLRTw a šířka QRS komplexu vyšší jak 120ms, pacient musí být zařazen ve třídě srdečního selhání NYHA II-III. V rámci studie je u pacienta před implantací a 3 měsíce po implantaci natočeno EKG, UHF EKG a je provedeno echokardiografické vyšetření. Je srovnávána šířka QRS komplexu, parametry UHF EKG a echokardiografický nálezn před implantací a po implantaci se zapnutou CRT. UHF EKG je hodnoceno jako celkový UHF EKG obraz, rozložení vysokofrekvenčních aktivit pod příslušnou elektrodou v čase nebo jako mapa průběhu vysokofrekvenční aktivace. Srovnávány jsou změny před implantací (bez stimulace) a se stimulací, tj. elektrická aktivace (EKG) a následná mechanická kontrakce (echokardiografie). Hodnocení efektu CRT provádíme i dle dalších kritérií jako je zúžení QRS komplexu, funkční změna ve třídě NYHA, vyplnění standardizovaného dotazníku pro pacienty se srdečním selháním, 6minutový walk-test, (spiro)ergometrie a změna ejekční frakce levé komory (remodelace).

Výsledky. Vysoký stupeň dyssynchronie před implantací stanovený pomocí UHF EKG je spojen s lepším efektem CRT. UHF EKG se dále jeví jako vhodná metoda k nastavení CRT – zejména určení optimálního VV intervalu (tj. intervalu mezi stimulací levé a pravé komory).

Závěr. UHF EKG je jednoduché a levné podobně jako povrchové EKG; je snadno interpretovatelné a má vysokou reprodukcibilitu. Parametr dyssynchronie udává novou informaci o distribuci depolarizace s vysokým rozlišením. Tento parametr by mohl vyhovět požadavku kliniků na precizní určení komorové dyssynchronie při výběru kandidátů CRT a při optimalizaci nastavení CRT. Vzhledem k tomu, že respondérství na CRT vyžaduje optimální spřažení elektrické aktivace a mechanické kontrakce, je pravděpodobné, že k jeho přesnému určení bude třeba provést soubor několika vyšetření (zejména v hraničních případech).

VÝZNAM RECEPTORŮ SPŘAŽENÝCH S G PROTEINY A JEJICH SIGNÁLNÍCH SYSTÉMŮ V KARDIOPROTEKCI

Novotný, J.

Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze, Katedra fyziologie, Praha, Česká republika

Signalizace zprostředkovaná receptory spřaženými s G proteiny (GPCRs) má ústřední roli v regulaci srdeční činnosti. Mezi nejvýznamnější zástupce superrodiny GPCRs, které jsou přítomny v plazmatické membráně tří hlavních typů srdečních buněk (myocytů, fibroblastů nebo endotelových buněk), patří např. receptory pro katecholaminy, prostaglandiny, estrogeny, opioidy, adenosin, endotelin, bradykinin, angiotenzin II, vasopresin, glukagon, apelin, sfingosin, urokortin nebo prokinetin. Důležitost GPCRs ve fyziologii srdce je zřejmá z toho, že více než třetina kardiovaskulárních léků používaných v současné klinické praxi je zaměřena na tyto receptory a jejich signální systémy. Existuje řada poznatků z nedávné doby, které poukazují na možné uplatnění těchto receptorů v navození zvýšené odolnosti myokardu proti ischemicko-reperfúznímu poškození. Na vlastním molekulárním mechanismu indukce kardioprotektivního fenotypu se kromě receptorů však podílejí především další komponenty jejich signálních systémů. Mezi nejvíce studované přístupy v souvislosti s výzkumem kardioprotekce patří ischemický nebo farmakologický preconditioning a adaptace na chronickou hypoxii. Prakticky u všech dosud zkoumaných modelů se mohou uplatnit různé postreceptorové signální dráhy, které jsou nějakým způsobem napojené na různé typy GPCRs. Byly ale nalezeny určité odlišnosti související s délkou adaptačních procesů a je tedy vhodné rozlišovat časnou a pozdní fázi adaptace. Mezi navazující efektorové molekuly a signální dráhy regulované přímo nebo zprostředkovaně trimerními G proteiny různých tříd (G_s , $G_{i/o}$ a $G_{q/11}$), které se patrně mohou účastnit kardioprotektivního mechanismu, se řadí např. některé isoformy fosfolipázy C, proteinkináza ERK, p38-MAPK, dráha fosfatidylinositol-3 kinázy/Akt/mTOR, Rho-fosfolipázy D nebo JAK-STAT. Ukazuje se, že důležitou funkci v těchto procesech hrají také kinázy receptorů spřažených s G proteiny (GRK) a regulátory G proteinové signalizace (RGS). Výše uvedené signální molekuly a dráhy se mohou účastnit na procesech vedoucích ke zlepšení odolnosti buněk proti apoptóze vyvolané patofyziologickou stresovou zátěží a hrát tak roli v buněčném přežití a zvýšené odolnosti myokardu. Přes značný pokrok v této oblasti zůstává stále mnoho nejasností a studium složitých interakcí a regulací různých komponent účastnících se buněčné signalizace iniciované GPCRs představuje dlouhodobě jeden z ústředních bodů výzkumu kardioprotektivních mechanismů.

VLIV PROTEASOMOVÉHO INHIBITORU BORTEZOMIBU NA ROZVOJ CHRONICKÉ ANTRACYKLINOVÉ KARDIOTOXICITY *IN VIVO*

Pokorná, Z.¹, Jirkovský, E.¹, Lenčová, O.¹, Jirkovská, A.², Adamcová, M.¹, Mazurová, Y.¹, Šimůnek, T.², Geršl, V.¹, Štěrbá, M.¹

¹Lékařská fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova v Praze, Hradec Králové, Česká republika

²Farmaceutická fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Hradec Králové, Česká republika

Úvod. Porucha ve funkci ubikvitin-proteasomového systému byla opakovaně pozorována u antracyklinové (ANT) kardiotoxicity, ačkoli skutečný význam v jejím rozvoji je nejasný. Inhibitory proteasomu (např. bortezomib) užívané v léčbě mnohočetného myelomu jsou také spojovány s určitým rizikem kardiotoxicity. Kombinace ANT a inhibitorů proteasomu se zdá být účinnou při léčbě rezistentních forem mnohočetného myelomu, nicméně kardiovaskulární bezpečnost této kombinace je prozatím nejistá. Cílem této práce bylo studium vlivu inhibitoru proteasomu bortezomibu na rozvoj chronické ANT kardiotoxicity u králíka.

Metodika. ANT kardiotoxicita byla navozena u králíka podáváním daunorubicinu (DAU; 3 mg/kg i.v., 1x týdně po 10 týdnu). Kombinační skupině byl podáván bortezomib (0,75 mg/m² i.p.) vždy 1 h před aplikací DAU. Další skupinám byl ve stejném schématu podáván samotný bortezomib (0,75 mg/m² i.p.) nebo fyziologický roztok (1 ml/kg). Týden po poslední aplikaci bylo provedeno invazivní vyšetření funkce levé komory (LK) a odebrány vzorky LK pro následné analýzy.

Výsledky. Opakované podání samotného bortezomibu bylo dobře tolerováno a nebylo spojeno s rozvojem systolické srdeční dysfunkce a významných morfologických změn v myokardu. Kombinace bortezomibu a DAU vedla paradoxně k o něco nižší mortalitě než ve skupině se samotným DAU (11 % vs. 27 %). Invazivní vyšetření systolické srdeční funkce ale odhalilo u obou skupin obdobný signifikantní pokles indexu kontraktility LK dP/dt_{max} (o 51 % vs 46 % v porovnání s kontrolou, $p < 0,05$) a žádný významný rozdíl mezi skupinami nebyl nalezen ani u plazmatických koncentrací srdečního troponinu T a při histologickém vyšetření myokardu.

Závěr. Výsledky naznačují, že reversibilní inhibice proteasomu pomocí bortezomibu výrazně nezhoršuje chronickou ANT kardiotoxicitu u králíka.

HETEROTOPICKÁ TRANSPLANTACE SRDCE U LABORATORNÍHO POTKANA - EXPERIMENTÁLNÍ MODEL MECHANICKÉHO ODLEHČENÍ LEVÉ KOMORY

Pokorný, M., Szárszoi, O., Netuka, I., Malý, J.

Institut Klinické a Experimentální Medicíny, Praha, Česká republika

Úvod. Mechanické srdeční podpory přinášejí revoluci do terapie srdečního selhání. Navzdory řadě popisovaných pozitivních účinků přetrvává riziko rozvoje atrofie myokardu vlivem dlouhodobého mechanického odlehčení. Mechanizmy vedoucí k zotavení myokardu, nebo rozvoji atrofie stále čekají na detailnější ozřejnění. Ideální experimentální model pro tyto účely reprezentuje heterotopická transplantace srdce u laboratorního potkana.

Metodika. Heterotopická transplantace srdce je prováděna u imbredního kmene laboratorního potkana Lewis. Operace spočívá v transplantaci srdce společně se dvěma horními laloky pravé plíce. V horizontu 7, 14, 21 a 28 dnů od transplantace sledujeme hmotnost jednotlivých srdečních oddílů a dále sledujeme histopatologické změny následující mechanické odlehčení.

S cílem ovlivnit probíhající srdeční atrofii byl navržen a zkonstruován implantabilní trojramenný stent, který je implantován transapikálně do dutiny levé komory, aby odvrátil srdeční atrofii vyvolanou mechanickým odlehčením.

Výsledky. Byl zaznamenán signifikantní váhový úbytek ve všech měřených segmentech během 14 dní, váhový úbytek byl mnohem markantnější u selhávajícího myokardu. Poměr hmotností levé komory (vztažené k délce tibie) ke stejným poměrům v kontrolní skupině byl po 14 dnech mechanického odlehčení 53% resp. 45% u transplantovaného selhávajícího myokardu. Stejně poměry pro pravou komoru byly 42% resp. 38% u transplantovaného selhávajícího myokardu. Také jsme zaznamenali pozitivní efekt izovolumeckého tréninku zejména u selhávajícího myokardu.

Závěr. Výsledky probíhajícího experimentu prokazují rozvoj srdeční atrofie následkem dlouhodobého mechanického odlehčení myokardu. Naše data poukazují na pozitivní efekt mechanického “retréningu” myokardu za pomoci implantovaného stentu.

ANTRACYKLINY – KARDIOTOXICITA A KARDIOPROTEKCE

Puchnerová, V., Nováková, Z., Wilhelm, Z.

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

Úvod. Antracykliny patří mezi jedny z nejvýznamnějších protinádorových antibiotik. Používají se k léčbě lymfomů, sarkomů, nádorů prsu, leukémií a dalších nádorových onemocnění. Ačkoliv jsou tato chemoterapeutika velice účinná, jsme při jejich použití značně omezováni vedlejšími toxickými účinky na srdeční sval.

Metodika. literární rešerše z elektronických zdrojů přístupných z LF MU, klíčová slova: antracykliny, kardiotoxicita, kardioprotekce.

Výsledky. Mezi mechanismy vysvětlující kardiotoxicitu antracyklinů patří jejich podpora tvorby reaktivních kyslíkových radikálů, lipoperoxidace lipidů a inhibice enzymu topoizomerázy, který odstraňuje superstáčení DNA při její replikaci.

Byly vyvinuty kardioprotektivní strategie, jejichž cílem byla a dosud je eliminace negativního vlivu antracyklinů na kardiomyocyty při zachování onkologické účinnosti. Kardiotoxicita byla snížena mimo jiné použitím kontinuální místo bolusové infuze, podáním látek působících proti poškození myokardu (dexrazoxane, různé výživové suplementy). Současné trendy výzkumu se soustředí na nanonosiče pro molekuly antracyklinů, jako jsou apoferritin, fullereny nebo liposomální částice.

Závěr. Při samotné léčbě onkologicky nemocného by měla probíhat úzká spolupráce mezi onkologem a kardiologem, aby při minimalizování toxického vlivu nedošlo k výraznému snížení cytostatického účinku antracyklinů. V každém případě by měli být pacienti, kteří podstoupili tento protokol léčby antracykliny dlouhodobě sledováni, a to bez ohledu na to, zda se u nich poškození myokardu klinicky projevuje nebo ne.

Tato studie vznikla na Masarykově univerzitě v rámci projektu "Kardiovaskulární systém od buňky k lůžku pacienta" číslo MUNI/A/1326/2014 podpořeného z prostředků účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum, kterou poskytlo MŠMT v roce 2015.

NOVEL APPROACHES TO REPAIR OF THE DAMAGED HEART: POTENTIAL MECHANISMS OF CARDIOPROTECTION BY „REMOTE“ PRECONDITIONING

Ravingerova, T.¹, Farkasova, V.¹, Griecsova, L.¹, Carnicka, S.¹, Murarikova, M.¹, Lonek E.¹, Kolar, F.², Lazou, A.³

¹Institute for Heart Research, Slovak Academy of Sciences, Bratislava, Slovakia;

²Institute of Physiology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague, Czech Republic

³School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece

Background. Application of ischemic preconditioning (PC) in humans to reduce ischemia/reperfusion (IR) injury is limited by its technical requirements (chest opening) and short-term duration. However, novel forms of PC, such as „remote“ PC (RPC), especially its non-invasive modifications, already start to be used in clinical conditions. While underlying mechanisms of RPC are not completely clear, involvement of transcription factors PPAR has been proposed besides other pathways. We have previously shown that up-regulation of PPAR- α confers PC-like protection linked with activation of pro-survival cascades, antioxidative and antiapoptotic effects.

Methods. The study aimed to assess the effect of RPC applied on hind limb of anesthetized normotensive (NT) and hypertensive (SHR) rats using 3 cycles of 5-min pressure cuff inflation (200 mm Hg)/5-min deflation with or without PPAR- α antagonist MK886 (MK, 3 mg/kg i.p., prior to RPC) on the size of infarction (IS), recovery of function and incidence of ventricular tachyarrhythmias (VT). Thereafter, Langendorff-perfused hearts were exposed to 30-min global I/120-min R. Post-IR recovery of function was evaluated in % of baseline values of left ventricular developed pressure (LVDP), while IS (TTC staining) was expressed in % of area at risk size. In parallel groups, LV tissue was sampled for examination of PPAR- α (RT-PCR) and pro-survival protein kinase levels (WB).

Results. RPC significantly reduced IS, severity of VT and improved recovery of LVDP in both, NT and SHR hearts. Cardioprotective effects as well as RPC-induced up-regulation of PPAR- α and PKC ϵ were blunted by MK.

Conclusions. The results confirm the effectiveness of RPC in protection against IR injury in both, healthy and diseased myocardium, and the role of PPAR- α as one of potential cardioprotective mechanisms.

EFEKT KOMBINOVANÉ LÉČBY BLOKÁDY ET_A RECEPTORU A RENIN-ANGIOTENSINOVÉHO SYSTÉMU NA HYPERTENZI A REGRESI CHRONICKÉHO SELHÁNÍ LEDVIN

Sedláková, L., Kopkan, L, Červenka, L.

Oddělení experimentální medicíny, Institut klinické a experimentální medicíny, Praha

Úvod. Ve zpomalení progresu chronického selhání ledvin je již zavedená antihypertenzní léčba založená na izolované inhibici renin-angiotensinového systému (RAS). U Ren-2 transgenních hypertenzních potkanů (TGR) s redukcí 5/6 hmotnosti tkáně ledvin (5/6 NX) byla testována hypotéza, zda je ve zpomalení progresu efektivnější kombinace blokady renin-angiotensinového systému a endotelinového receptoru.

Metodika. Samci potkanů byli rozděleni do pěti skupin: Sham HanSD; Sham TGR; neléčení TGR s 5/6 NX; TGR s 5/6 NX s blokádou RAS (trandolapril 6 mg/L a losartan 100 mg/L); TGR s 5/6 NX s kombinovanou blokádou RAS a ET_A receptoru (atrasentan 25mg/L). V první části projektu byla provedena 5/6 NX ve věku 6 týdnů, po 6 týdnech byla zahájena léčba. Pro zjištění albuminurie byli potkani umísťováni do metabolických klecí po 6, 8, 16, 20, 30, 40 a 50 týdnech po 5/6 NX. V další části projektu byly 4 týdny po 5/6 NX aplikovány telemetrické sondy a měřen tlak po dobu 4 týdnů po залéčení. V poslední části byla měřena koncentrace ANG II a ET1 v ledvinách druhý týden po zahájení léčby.

Výsledky. Úmrtnost neléčené skupiny v 17. týdnu po 5/6 NX dosáhla 100%. V 50. týdnu byla úmrtnost u obou léčených skupin shodná – 70%, kontrolní skupiny TGR i HanSD neměli úmrtnost žádnou. Oba typy léčby vedly k podobnému snížení albuminurie, koncentrace plazmatického a renálního ANG II i kortikální ET1. Snížení tlaku u kombinované léčby nebylo signifikantní.

Závěr. Nebyl zjištěn účinnější vliv kombinované léčby na regresi chronického onemocnění ledvin a ani na pokles tlaku, pravděpodobně z důvodu snížení hladiny ET1 v kortexu ledvin při léčbě inhibitory RAS.

MATEMATICKÝ MODEL REGULÁCIE KRVNÉHO TLAKU

Sekaj, I.¹, Bališ, P.², Behuliak, M.³, Zicha, J.³, Bernátová, I.²

¹ ÚRK FEI STU, Bratislava, Slovenská republika

² ÚNPF SAV, Bratislava, Slovenská republika

³ FÚ AV ČR, Praha, Česká republika

Úvod. Na základe kontinuálneho merania krvného tlaku (KT) u potkanov v bdelom stave po podaní špecifických inhibítorov a následnom akútnom strese boli vyhodnocované časové odozvy KT. Na základe týchto experimentov bol vytvorený matematický (bio-kybernetický) model regulácie KT, konkrétne sympatikového nervového systému (SNS), renín-angiotensín-aldosterónového (RAAS), L-Arginín/NO (NO) systému a voľných kyslíkových radikálov (ROS). Takýto model môže slúžiť okrem iného na diagnostické účely pri stanovovaní ochorení kardiovaskulárneho systému.

Metodika. Krvný tlak bol kontinuálne meraný u normotenzných Wistar potkanov invazívne v karotíde. Bola zaznamenávaná časová odozva KT ako reakcia na akútny stres, ktorý bol vyvolaný 3-sekundovým prúdením vzduchu do tváre zvierat. Frekvencia merania KT bola 400 Hz. Merania boli uskutočňované na viacerých zvieratách (n=5-8) po podávaní špecifických inhibítorov jednotlivých systémov (RAAS, SNS, NO) a ROS, ktorými boli kaptopril v dávke 10 mg/kg, pentolínium v dávke 5 mg/kg, N^G-nitro-L-arginínmetylester (L-NAME) v dávke 30 mg/kg a tempol v dávke 25 mg/kg. Látky boli podávané katéterom do jugulárnej cievy.

Výsledky. Získané časové odozvy boli matematicky spracované a bol vytvorený dynamický model 4 hlavných regulačných systémov (RAAS, SNS, NO a ROS) a ich vzájomných interakcií. Dynamický model je vo forme preväzbeného lineárneho dynamického systému (ekvivalent systému lineárnych diferenciálnych rovníc). Ako jedno z jeho hlavných využití predpokladáme lekársku diagnostiku. Po podobných (kontinuálnych) meraniach odozvy KT u pacienta predpokladáme možnosť stanovenia diagnózy, chybnej činnosti niektorého alebo viacerých regulačných systémov.

Záver. Predpokladáme, že matematický model regulácie KT, na ktorom pracujeme bude možné využiť na diagnostiku porúch kardiovaskulárneho systému.

KAUZÁLNÍ VZTAH MEZI SYSTOLICKÝM KREVNÍM TLAKEM A SRDEČNÍMI INTERVALY U PACIENTŮ S MÍŠNÍ LÉZÍ

Svačinová, J.¹, Ondrušová, K.¹, Javorka, M.², Nováková, Z.¹, Nováková, M.¹

¹ *Fyziologický ústav, Lékařská fakulta, MU, Brno, Česká republika*

² *Ústav fyziológie, Jesseniova lekárska fakulta, UK, Martin, Slovensko*

Úvod. Výška a rozsah míšního poranění ovlivňuje nejen motorický a sensorický deficit, ale zasahuje také kardiovaskulární regulaci. Chronotropní účinek parasymptiku na kardiovaskulární systém je sice zachovaný, ale funkce baroreflexu je ovlivněna ztrátou informací z descendentní větve sympatiku. Cílem práce bylo vyhodnocení míry poškození baroreflexní regulace krevního tlaku pomocí analýzy kauzální interakce mezi systolickým krevním tlakem (STK) a srdečními intervaly (SI) u kvadрупlegiků (KV, krční míšní léze), paraplegiků (PA, hrudní míšní léze) a zdravých kontrol (K).

Metodika. Krevní tlak byl kontinuálně snímán u 13 KV (29 let), 9 PA (27 let) a 13 K (27 let) za klidových podmínek a během vertikalizace pomocí vertikalizátoru. Ze záznamu krevního tlaku byly tep po tepu získány sekvence STK a SI. Bivariantní autoregresní model umožňuje matematicky rozpojit uzavřenou regulační smyčku STK-SI a vypočítat tak kauzální koherenci $\text{Coh}^2_{\text{stk} \rightarrow \text{si}}$ a kauzální zesílení přenosu variability $\text{Gain}_{\text{stk} \rightarrow \text{si}}$ zprostředkované pouze baroreflexní nervovou drahou. $\text{Coh}^2_{\text{stk} \rightarrow \text{si}}$ určuje těsnost vazby mezi STK a SI v baroreflexním směru. Kauzální $\text{Gain}_{\text{stk} \rightarrow \text{si}}$ představuje novou metodu odhadu citlivosti baroreflexu (BRS). Porovnáván byl rozdíl v $\text{Coh}^2_{\text{stk} \rightarrow \text{si}}$ a $\text{Gain}_{\text{stk} \rightarrow \text{si}}$ jak mezi skupinami, tak mezi fázemi klidu a vertikalizace.

Výsledky. V klidu nebyl nalezen rozdíl mezi skupinami. Během vertikalizace došlo k nárůstu $\text{Coh}^2_{\text{stk} \rightarrow \text{si}}$ pouze u PA a K, takže KV měli oproti K a PA sníženou $\text{Coh}^2_{\text{stk} \rightarrow \text{si}}$. Naopak K a PA si během vertikalizace podrželi nezměněné $\text{Gain}_{\text{stk} \rightarrow \text{si}}$, zatímco KV vykazovalo pokles $\text{Gain}_{\text{stk} \rightarrow \text{si}}$ na úroveň významně nižší v porovnání s K a PA.

Závěr. Porucha regulace krevního tlaku u pacientů s míšní lézí se projeví až během změny polohy těla. U KV dochází ke zhoršení přenosu variability z STK do SI a snížení BRS, což způsobí rozpojení baroreflexní regulační smyčky vedoucí k symptomům ortostatické hypotenze. Jak $\text{Coh}^2_{\text{stk} \rightarrow \text{si}}$, tak $\text{Gain}_{\text{stk} \rightarrow \text{si}}$ jsou vhodné parametry pro diagnózu míry poškození regulace krevního tlaku.

ÚLOHA ANGIOTENZÍNU 2 VO VÝVINE ORGÁNOV ZODPOVEDNÝCH ZA REGULÁCIU TLAKU KRVÍ

Svitok, P.^{1,2}, Kopkan, L.¹, Molčan, L.², Burian M.², Senko, T.², Zeman, M.²

¹ *Institut klinické a experimentální medicíny, Praha, Česká republika*

² *Katedra živočišnej fyziológie a etológie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava, Slovensko*

Úvod. Renín-angiotenzínový systém (RAS) má podstatnú úlohu v homeostatickej kontrole arteriálneho tlaku krvi (TK), pri perfúzii tkanív a v kontrole objemu extracelulárnej tekutiny. Angiotenzín 2 (Ang 2) však môže prostredníctvom svojich receptorov stimulovať rast a proliferáciu buniek a produkciu matrix (AT₁R), alebo viesť k antiproliferácii, apoptóze a diferenciácii buniek (AT₂R). Zmeny v aktivite RAS počas gravidity a laktácie tak môžu priamo ovplyvniť vývin potomstva a potenciálne zvýšiť jeho náchylnosť na vývin hypertenzie v dospelosti, ako aj zmeniť jeho citlivosť na soľ.

Metodika. V prvom experimente boli samiciam potkanov Wistar na 6. deň gravidity implantované osmotické minipumpy uvoľňujúce Ang 2 v dávke 2 µg/kg/h, kontrolné samice boli sham-operované v rovnaký čas. Následnému potomstvu bol od 10. týždňa meraný plethysmograficky TK. V 15. týždni bol všetkým zvieratám podaná potrava so zvýšeným obsahom soli. Po ukončení experimentu boli v plazme stanovené hladiny aldosterónu (ALD) a plazmatická renínová aktivita (PRA). V druhom experimente boli použitý kmeň homozygotných TGR(mREN2)27 potkanov a k nim kontrolné HanSD potkany. Po pôrode bola laktujúcim samiam opačných kmeňov vymenená polovica samčieho potomstva. Potomkom bol následne od 5. týždňa meraný telemetricky TK, v plazme stanovené koncentrácie Ang 2 a PRA a v obličkách koncentrácie Ang 2.

Výsledky. Zvýšené hladiny Ang 2 počas gravidity viedli k nárastu TK potomstva, avšak u týchto zvierat bola pozorovaná nižšia citlivosť na príjem soli oproti kontrolným zvieratám. Zvýšená aktivita RAS počas laktácie (pozorovaná u HanSD samcov laktovaných TGR samicami) nemala vplyv na hodnoty TK. Boli však pozorované rozdiely v aktivite RAS medzi TGR mláďatami prenesenými k zdravým samicam a rovnakými samcami laktovanými TGR matkami.

Záver. Ang 2 môže prenatalne ovplyvniť vývin potomstva a zmeniť nastavenie TK, ako aj ovplyvniť citlivosť organizmu na príjem soli. Postnatálne zvýšená aktivita RAS nevedla k nárastu TK, dokázala však zmeniť nastavenie tohoto systému v organizme.

PROTEKTIVNÍ PŮSOBNÍ VYSOKÝCH DÁVEK MORFINU NA BUNĚČNOU LINII KARDIOMYOBLASTŮ H9C2

Škrabalová, J., Hahnová, K., Volfová, B., Moravcová, R., Novotný, J.

Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Praha, Česká Republika

Úvod. Z klinického hlediska je morfin znám především jako účinné analgetikum. Působení morfinu je přenášeno pomocí opioidních receptorů, které jsou distribuovány v celém těle včetně srdeční tkáně. Studie z posledních let ukázaly, že podání morfinu může významně snížit ischemicko-reperfúzní poškození srdce. Cílem tohoto projektu bylo sledovat potenciální protektivní působení akutního (15 min) podání vysokých dávek morfinu (10^{-3} M) před oxidativním stresem způsobeným *tert*-butyl peroxidem (t-BP) v buněčné linii potkaních kardiomyoblastů H9c2.

Metodika. Viabilita buněk byla stanovena MTT testem (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) a průtokovou cytometrií pomocí značení Annexin-V/Hoechst 33258. Expres vybraných proteinů byla detekována pomocí Western blotu.

Výsledky. Akutní podání vysokých dávek morfinu (10^{-3} M) před působením t-BP (300 μ M, 12h) zvýšilo přežívání buněk o 76 %. Toto protektivní působení bylo částečně blokováno po přidání p38 MAPK inhibitoru SB203580. Naopak preinkubace buněk s nespecifickým antagonistou opioidních receptorů naloxonem (10^{-3} M) nejenže nezabránila protektivnímu působení morfinu, ale navíc samotné přidání naloxonu způsobilo srovnatelnou protekci. Poškození buněk způsobené přidáním t-BP bylo doprovázeno zvýšenou expresí proapoptotického proteinu Bax a GSK 3 β (glycogen synthase kinase 3 β) a sníženou expresí antiapoptotického proteinu Bcl-2, p38 MAPK a fosforylované p38 MAPK. Preinkubace s morfinem potlačila dramatické změny v expresi všech sledovaných proteinů, které byly vyvolané působením samotného t-BP.

Závěr. Naše výsledky ukázaly, že vysoké dávky morfinu mohou významně chránit buněčnou linii H9c2 před oxidativním stresem. Tato cytoprotekce je zřejmě alespoň z části přenášena aktivací signální dráhy p38 MAPK.

POLYMORFISMY RS5186 V AT1R A RS7079 V AGT OVLIVŇUJÍ KREVŇÍ TLAK A JEHO VARIABILITU U MLADÝCH OSOB

Šustr, F.¹, Tomášková, V.¹, Nováková, Z.¹, Novák, J.^{1,2}

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

² II. interní klinika, Lékařská fakulta Masarykovy Univerzity a Fakultní Nemocnice u Sv. Anny, Brno, Česká republika

Úvod. Polymorfismy v renin-angiotensin-aldosteronovém systému (RAAS) ovlivňují hodnoty krevního tlaku (TK) a funkci autonomního nervového systému. Cílem studie bylo zjistit, zda jsou hodnoty TK a jeho variability ovlivněny i polymorfismy nacházejícími se v mikroRNA-vazebných místech umístěných v 3'-nepřekládaných oblastech vybraných RAAS genů (angiotensinogen, receptor pro angiotensin typu 1).

Metodika. Bylo vyšetřeno 304 mladých dospělých (156 žen, věk 19-24 let). Z patnáctiminutového záznamu kontinuálního monitorování TK metodou dle Peňáze byly stanoveny průměrné hodnoty systolického a diastolického TK (STK a DTK, [mmHg]), srdečních intervalů (SI, [ms]) a jejich směrodatné odchylky (SD) jako parametry celkové variability. Další parametry variability a parametry popisující citlivost baroreflexu byly získány spektrální analýzou záznamu. Genotypování bylo provedeno metodou alelické diskriminace (real-time PCR). Byl stanoven genotyp polymorfismů rs5186 (A+1166C genu pro AT1R) a rs7079 (G+11525T genu pro AGT).

Výsledky. Pro rs5186 byl nalezen statisticky významný rozdíl mezi jednotlivými genotypy v hodnotách DTK (Kruskal-Wallis: CC vs. AC vs. AA; $64,53 \pm 8,97$ vs. $60,61 \pm 10,18$ vs. $60,51 \pm 9,86$ [mmHg], $p = 0,006$) a hraničně významný rozdíl v hodnotách BRSf (K-W: CC vs. AC vs. AA: CC $0,014 \pm 0,006$ vs. $0,013 \pm 0,005$ vs. $0,015 \pm 0,005$ [mHz/mmHg], $p = 0,0503$). Pro rs7079 byl nalezen hraničně významný rozdíl v hodnotách nSI (K-W: GG vs. GT vs. TT; $0,045 \pm 0,032$ vs. $0,050 \pm 0,038$ vs. $0,089 \pm 0,119$ [n.u.]; $p = 0,063$). Jednotlivé rozdíly byly různě vyjádřeny v podskupinách mužů a žen, v podskupině mužů byl pro rs5186 pozorován i rozdíl v hodnotách DTK_{SD} .

Závěr. V genu pro AT1R jsme u homozygotů CC (rs5186) pozorovali vyšší hodnoty DTK a DTK_{SD} (více u mužů) a nižší hodnoty BRSf (více u žen). V genu pro AGT vykazují homozygoti AA (rs7079) vyšší variabilitu SI (zvýrazněno u žen). Oba nálezy mohou souviset se změnou vazností specifických miRNA do svých vazebných míst.

Práce byla podpořena z projektu "Kardiovaskulární systém od buňky k lůžku pacienta" (MUNI/A/1326/2014).

REMODELACE MYOKARDU U POTKANA S OBJEMOVÝM PŘETÍŽENÍM

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

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

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

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

⁴ Pracoviště experimentální medicíny, Institut klinické a experimentální medicíny, Praha, Česká republika

Úvod. Objemové přetížení je poměrně častou příčinou srdečního selhání. Cílem naší práce bylo porovnat elektrické a mechanické vlastnosti pravé a levé komory u potkanů s modelem objemového přetížení vyvolaného arteriovenózním zkratem (AVF).

Metodika. Samci potkana kmene Hannover Sprague-Dawley byli rozděleni do 4 skupin: sham, AVF-placebo, AVF - léčba trandolapilem (inhibitor enzymu konvertujícího angiotenzin) a AVF - léčba sildenafilem (inhibitor fosfodiesterázy 5). Ve 20. týdnu po operaci jsme měřili akční potenciál a sílu kontrakce u multicelulárního preparátu z levé (srdeční trabekula) a pravé (papilární sval) srdeční komory.

Výsledky. Absolutní i relativní hmotnost srdce byla u všech AVF skupin signifikantně vyšší než u sham skupiny zejména v důsledku vzestupu hmotnosti pravé komory. Síla kontrakce v pravé komoře byla oslabena u skupiny AVF – placebo, dlouhodobá léčba sildenafilem a trandolapilem sílu kontrakce normalizovala. Trvání akčního potenciálu bylo prodlouženo u AVF – placebo v obou komorách, prodloužení bylo redukováno trandolapilem v obou komorách a sildenafilem pouze v levé komoře.

Závěr. Model objemového přetížení u potkana indukovaný arteriovenózním zkratem vedl k elektrofyziologickým změnám komorového myokardu. Účinek kardioprotektivních farmak na trvání akčního potenciálu vykazoval interventrikulární rozdíly, zatímco inotropní účinek léků byl srovnatelný v obou komorách.

ÚČINOK ZELENÉHO ČAJU NA ZMENU KRVNÉHO TLAKU

Tkáčová, M.

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

Úvod. Existujú tri hlavné čajové typy: zelený, oolong a čierny. Pripravujú sa zo suchých listov rastliny *Camellia Sinensis*. Jednotlivé typy čajov sa líšia metodikami spracovania, pričom zelený čaj je najmenej spracovaný. Hlavnými aktívnymi zložkami zeleného čaju sú kofeín a katechíny.

Metodika. Vyšetřili sme celkom 27 zdravých dobrovoľníkov vo veku 19-26 rokov bez významné anamnézy, z toho 11 osôb nepije zelený čaj takmer vôbec a 16 osôb jej pije každý deň. Vždy lačným osobám sme podávali nami pripravený zelený čaj Sencha a zvolili sme dvojité dávku - 2g suchého čaju na 100ml nálevu. Začiatok pitia čaju sme označili časom -1min, samotná dĺžka pitia čaju bola asi 1min a odpovedá času 0. Hodnoty systolického (STK) a diastolického (DTK) tlaku krvi sme merali jednak kontinuálnou fotopletysmografickou metódou a neinvazívnou oscilometrickou metódou opakovane na začiatku a na konci každého jednotlivého kontinuálneho merania krvného tlaku a to v čase 0; 10; 15; 25; 30; 40 min po vypití čaju.

Výsledky. Všetky vyšetřované osoby mali pred začiatkom merania tlak krvi vo fyziologickom rozmedzí pre dospelých. Po vyšetření sme osoby nezávisle na pohlaví rozdelili do dvoch skupín podľa ich reakcií tlaku na vypitie čaju.

Skupina 1 – v celej skupine sme pozorovali zníženie systolického tlaku (STK) v prvých 10 minútach; STK v čase (t) 0 vs. 10min ($109,0 \pm 10,9$ vs. $103,8 \pm 11,9$ mmHg, $p < 0,001$), v nasledujúcich minútach má STK celkovú tendenciu k vzostupu.

Skupina 2 – sem patria len osoby pijúce čaj pravidelne. V prvých desiatich minútach došlo k vzostupu STK v t 0 vs. 10min ($112,6 \pm 10,2$ vs. $119,4 \pm 7,84$ mmHg, $p < 0,05$).

Záver. Boli nájdené dve odlišné reakcie tlaku na vypití zeleného čaju nalačno, ktoré sa hlavne líšili v 10 minúte po vypití, kedy v skupine 1 došlo k významnému poklesu a v skupine 2 k výraznému vzostupu tlaku.

INSERČNĚ-DELEČNÍ POLYMORFISMUS V GENU PRO ACE A JEHO VZTAH K RYCHLOSTI PROGRESE ATEROSKLERÓZY KAROTID U PACIENTŮS DM 2.TYPU

Tkáčová, N.¹, Novák, J.^{1,2}, Petrovič, D.³

¹ *Fyziologický ústav LF MU, Brno, Česká republika*

² *II. Interní klinika LF MU a FN USA, Brno, Česká republika*

³ *Ústav histologie a embryologie, Univerzita v Lublani, Lublaň, Slovinsko*

Úvod. Inserčně-deleční polymorfismus (I/D) v genu pro angiotensin konvertující enzym (ACE) ovlivňuje hladiny ACE v séru. Cílem studie bylo zjistit, zda ACE I/D ovlivňuje progresi aterosklerózy u pacientů s diabetes mellitus 2. typu (DM2T).

Metodika. Studie zahrnovala 595 pacientů s DM2T a 200 zdravých kontrol. Všem byla pomocí ultrazvuku stanovena tloušťka karotické intima-media (cIMT) na začátku studie a pak po 3,8±0,5 letech. Porovnáním těchto výsledků byly stanoveny parametry určující rychlost nárůstu cIMT v µm/rok a jejich rozdíl v mm. Genotypování bylo provedeno s využitím klasické PCR a gelové elektroforézy.

Výsledky. U pacientů s DM2T byly prokázány statisticky signifikantně vyšší hodnoty cIMT v porovnání se zdravými kontrolami (DM2T vs. kontroly: 1013±208 vs. 979±141 [µm]; p=0,03), vyšší byla i rychlost nárůstu cIMT (DM2T vs. kontroly: 20,33(11,74-29,86) vs. 12,83(8,82-20,66) [µm/rok]; p=0,02).

Nebyl nalezen statisticky signifikantní rozdíl při porovnání jednotlivých genotypů v genu pro ACE ve sledovaných parametrech progresu karotické aterosklerózy. Bylo ovšem pozorováno několik rozdílů hraniční významnosti: na počátku byl u jedinců nesoucích I alelu (II+ID) v porovnání s homozygoty DD pozorován hraničně vyšší součet tloušťky aterosklerotických plátů (II+ID vs. DD: 8,65±3,42 vs. 7,67±3,14 [mm], p=0,09), po druhém kontrolním měření tento rozdíl pozorován nebyl. S ohledem na toto byl pozorován statisticky hraničně významný nárůst tloušťky plátů u pacientů s DD genotypem (DD vs. ID vs. II: 6,22(3,9-8,1) vs. 4,68(3,3-7,6) vs. 4,0(2,3-5,3); p=0,07).

Závěr. U diabetiků 2. typu s DD genotypem v genu pro ACE dochází k hraničně rychlejší progresi aterosklerózy ve srovnání s pacienty s ID a II fenotypem, i přes hypolipidemickou terapii.

POLÉKOVÁ KARDIOTOXICITA

Vítovec, J., Špinarová, L.

1.interní kardioangiologická klinika LF MU a FN u sv.Anny v Brně

Podán přehled o nežádoucích účincích nekardiovaskulárních léků na srdečně cévní systém. Od historického působení anorektik na chlopenní aparát a plicní řečiště, dále kardiovaskulární nežádoucí účinky cytostatik, hlavně s projevy srdečního selhání, léků prodlužující QT interval s náslenými maligními arytmiiemi a serotoninového syndromu s možným šokovým stavem. Jsou prezentovány mechanismy účinku, jejich diagnostika a preventivní a léčebné postupy.

VPLYV ISCHEMICKÉHO PRECONDITIONINGU A SIMULOVANEJ HYPERGLYKÉMIE NA ODOLNOSŤ SRDCA VOČI ISCHEMICKO-REPERFÚZNEMU POŠKODENIU

Zálešák, M.¹, Blažíček, P.², Gablovský, I.¹, Ravingerová, T.¹

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

² Laboratórium klinickej biochémie a hematológie, Alpha medical a. s., Bratislava, Slovenská republika

Úvod. Cieľom práce bolo hodnotiť vplyv ischemického preconditioningu (IP) a simulovanej hyperglykémie (HG) na odolnosť srdca voči ischemicko-reperfúznemu (I/R) poškodeniu a aktivitu PI3K/Akt signálnej dráhy (pomer P-Akt/Akt) významnej v kardioprotekcii.

Metodika. Experimenty sa uskutočnili na izolovaných srdciach potkanov kmeňa Wistar, perfundovaných podľa Langendorffa, vystavených dlhotrvajúcej ischemii a reperfúzii (I/R poškodenie). IP bol navodený sériou dvoch cyklov krátkotrvajúcej ischemie a reperfúzie pred I/R poškodením. Simulácia hyperglykemického stavu spočívala v aplikácii Krebs-Henseleitovho roztoku (KHR) s dvojnásobnou koncentráciou glukózy (22 mmol/l) v porovnaní so štandardným „normoglykemickým (NG)“ KHR. Závažnosť I/R poškodenia bola hodnotená na základe rozsahu infarktového ložiska v rizikovej oblasti myokardu ľavej komory (TTC farbenie) a uvoľňovania srdcového proteínu viažuceho mastné kyseliny (h-FABP biomarker poškodenia myokardu) zo srdca do KHR (ELISA). P-Akt/Akt sme hodnotili pomocou western blotingu vo vzorkách ľavej komory odoberatých počas paralelných experimentov pred a po dlhotrvajúcej ischemii a po reperfúzii.

Výsledky. IP v podmienkach NG redukoval rozsah infarktu a tiež uvoľňovanie h-FABP, podobne ako HG bez prítomnosti IP. IP, alebo HG zvýšili P-Akt/Akt po dlhotrvajúcej ischemii a po reperfúzii P-Akt/Akt znížili. Naopak, IP v podmienkach HG zväčšil infarkt a zvýraznil uvoľňovanie h-FABP. Pomer P-Akt/Akt v srdciach vystavených IP v podmienkach HG na konci reperfúzie bol zvýšený.

Záver. PI3K/Akt signálna dráha a jej negatívna regulácia spojená s dlhotrvajúcou reperfúziou zohráva významnú úlohu v kardioprotekcii indukovanej IP, alebo HG. Príčinou negatívneho účinku IP v podmienkach HG na odolnosť srdca voči I/R poškodeniu môžu byť zmeny v regulácii PI3K/Akt signálnej dráhy.

Za podporu děkujeme sponzorům:

