

Brno, Česká republika, 3. – 5. února 2015

91. FYZIOLOGICKÉ DNY

Sborník souhrnů



Česká fyziologická společnost ČLS JEP

Slovenská fyziologická společnost SLS



91. FYZIOLOGICKÉ DNY

Sborník souhrnů

Editoři:

MUDr. Tibor Stračina

Prof. MUDr. Marie Nováková, Ph.D.

Fyziologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno

Portál Lékařské fakulty Masarykovy univerzity [online]

Brno 2015

ISSN 1801-6103

Organizační výbor 91. Fyziologických dnů

Předseda:

Doc. PharmDr. Petr Babula, Ph.D.

Vědecký sekretář:

Prof. MUDr. Marie Nováková, Ph.D.

Členové:

Doc. MUDr. Markéta Bébarová, Ph.D.

Doc. MUDr. Zdeněk Wilhelm, CSc.

MUDr. Zuzana Nováková, Ph.D.

MUDr. Tibor Stračina

Mgr. Lea Neumayerová

Přehledný program konference

Úterý 3. 2. 2015 - dopoledne

Aula - pavilon A22/2. patro

- 10:00 – 10:20 SLAVNOSTNÍ ZAHÁJENÍ
10:20 – 11:05 PURKYŇOVA PŘEDNÁŠKA
J. E. Purkyně a mozeček tehdy a dnes
F. Vožeh, Ústav patologické fyziologie LF UK v Plzni
11:05 – 11:35 PEDAGOGICKÁ PŘEDNÁŠKA
Srdeční elektrofyzilogie: od orgánu po buňky a kanály
M. Bébarová, Fyziologický ústav LF MU, Brno
11:35 – 11:45 A. Vašků. Klinická fyziologie v ČR jako specializační obor?
11:45 – 11:55 M. Petřík, Z. Nový. Využití hybridního zobrazovacího systému (PET/SPECT/CT) pro malá laboratorní zvířata v základním výzkumu
11:55 – 12:05 R. Fedič. Řešení pro přípravu NGS knihoven na platformu illumina
12:05 ORGANIZAČNÍ POKYNY, FOCENÍ

Posluchárna 234 – pavilon A11/2. patro

- 12:30 – 13:00 ZASEDÁNÍ SFS

Posluchárna 334 – pavilon A11/3. patro

- 12:30 – 13:00 ZASEDÁNÍ ČFS

Úterý 3. 2. 2015 - odpoledne

Koridor – pavilon A11/3. patro

- 14:00 – 15:15 Coffee break
POSTER A (Kardiovaskulární systém)
14:15 – 15:15 Diskuse

Posluchárna 234 – pavilon A11/2. patro

- 15:30 – 17:30 KARDIOVASKULÁRNÍ SYSTÉM I
předsedající: B. Ošťádal, K. Javorka

Posluchárna 334 – pavilon A11/3. patro

- 15:30 – 17:30 NEUROFYZIOLOGIE I
předsedající: I. Herichová, J. Mareš

Středa 4. 2. 2015 - dopoledne

Posluchárna 234 – pavilon A11/2. patro

- 8:30 – 10:45 KARDIOVASKULÁRNÍ SYSTÉM II
předsedající: T. Ravingerová, F. Kolář

Posluchárna 334 – pavilon A11/3. patro

- 8:30 – 10:30 NEUROFYZIOLOGIE II
předsedající: D. Ostatníková, M. Turčáni

Koridor – pavilon A11/3. patro

- 10:30 – 11:45 Coffee break
POSTER B (Celulární fyziologie, Neurofyziologie, Respirace)
POSTER V (Výuka)
10:45 – 11:45 Diskuse

Středa 4. 2. 2015 - odpoledne

Koridor – pavilon A11/3. patro

13:00 – 14:15 Coffee break
POSTER C (Varia)

13:15 – 14:15 Diskuse

Posluchárna 234 – pavilon A11/2. patro

14:15 – 16:15 KARDIOVASKULÁRNÍ SYSTÉM III
předsedající: V. Hampl, J. Török

Posluchárna 334 – pavilon A11/3. patro

14:15 – 16:15 METABOLISMUS
předsedající: Z. Červinková, Z. Wilhelm

17:30 – 24:00 Společenský večer: Vinařství Galant, Mikulov

Čtvrtek 5. 2. 2015 - dopoledne

Posluchárna 234 – pavilon A11/2. patro

9:00 – 11:00 CELULÁRNÍ FYZIOLOGIE
předsedající: H. Lotková, P. Švorc

11:00 – 11:30 Coffee break (Koridor – pavilon A11/3. patro)

11:30 – 13:00 VARIA
předsedající: A. Čalkovská, J. Květina

Posluchárna 334 – pavilon A11/3. patro

9:00 – 11:00 NEUROFYZIOLOGIE III
předsedající: R. Šlamberová, M. Zeman

11:00 – 11:30 Coffee break (Koridor – pavilon A11/3. patro)

11:30 – 13:00 NEUROFYZIOLOGIE IV
předsedající: J. Cendelin, J. Pokorný



ABSTRAKTA



PREDIKČNÍ HODNOTA SRDEČNÍCH TROPONINŮ V PRŮBĚHU VÝVOJE DAUNORUBINOVÉ KARDIOMYOPATIE

M. Adamcová¹, O. Popelová-Lenčová², E. Jirkovský², V. Geršl², Y. Mazurová³, J. Vávrová⁴, J. Maláková⁴, V. Palička⁴, M. Štěrba²

¹Ústav fyziologie, ²Ústav farmakologie, ³Ústav histologie a embryologie, Lékařská fakulta v Praze, Univerzita Karlova v Hradci Králové, ³Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Fakultní nemocnice v Hradci Králové

Srdeční troponiny zřejmě detekují přítomnost kardiotoxicity velmi časně v době, kdy poškození funkce srdce nemůže být odhaleno některými z dalších metodických přístupů využívaných v současné době v klinické praxi. Cílem této studie bylo určit predikční hodnotu vysoce sensitivních srdečních troponinů v diagnostice antracyklinové kardiomyopatie.

Jako pokusná zvířata byli použiti králíci, samci. Látky byly aplikovány opakovaně jednou týdně (8 aplikací) u dvou skupin zvířat: 1) kontrolní skupina (fyziologický roztok 1 ml/kg i.v.), n = 6; 2) DAU (3 mg/kg i.v.), n = 9. Odběry krve byly provedeny před zahájením experimentu, po 1., 5. a 8. podání DAU v čase 2-168 hod. Plazmatické koncentrace srdečních troponinů byly měřeny pomocí vysoce sensitivních setů hs cTnT (Roche) and hs cTnI (Abbott). Na konci experimentu bylo provedeno invazivní a neinvazivní funkční vyšetření LK, histologické a biochemické vyšetření myokardu.

Výsledky naší experimentální práce jednoznačně prokázaly, že po 1. aplikaci daunorubicinu nelze signifikantní zvýšení troponinů prokázat ani pomocí vysoce senzitivních setů. Po 5. a 8. aplikaci (kumulativní dávka ~ 250 mg/m², resp. 400 mg/m²) došlo k signifikantnímu zvýšení již za 2 hod, maxima bylo dosaženo mezi 4. až 6. hod a v dalších sledovaných časových intervalech, tj. od 12 do 168 hodin byl již zřetelný pokles, což zřejmě souvisí s relativně krátkým biologickým poločasem troponinů. Antracykliny indukovaná kardiotoxicita je spojena s dlouhodobým a kontinuálním uvolňováním troponinů (odlišným od ACS), které závisí na kumulativní dávce antracyklinů a přetrvává ještě po vysazení chemoterapie. Statisticky významné korelace byly nalezeny mezi srdečními troponiny a systolickou dysfunkcí hodnocenou pomocí indexu kontraktility dP/dt_{max} event. FS LK v intervalu 24-168 hod po aplikaci DAU spíše než v intervalu 2-24 hod, kde hodnoty c_{max} vykazovaly vysokou interindividuální variabilitu. Výsledky naší studie by měly přispět k optimálnímu časování odběrů pro stanovení troponinů za účelem získání maximální prediktivní hodnoty v klinické praxi.

Podpořeno programem PRVOUK P37/5 a grantem IGA NT13457-4-2012.

CASPASE-3 IN ALVEOLAR BONE FORMATION

Adamová, E.^{1,2}, Janečková, E.², Matalová, E.^{1,2}

¹*Department of Physiology, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic*

²*Institute of Animal Physiology and Genetics, v.v.i., Academy of Sciences of the Czech Republic, Brno, Czech Republic*

Introduction. Proper formation of the alveolar bone is necessary to create a dynamic complex with the tooth in functional dentition. Numerous molecular factors are known to be involved in alveolar bone development/remodelling and novel candidates appear. Recently, we have identified one of them, caspase-7, having a dual function in bone formation and moreover, different impact in intramembranous and endochondral types of bones (Svandova *et al.* 2014). In this study, we aimed to investigate caspase-3, another member of the cell death trio, regarding its apoptotic and non-apoptotic functions during alveolar/mandibular bone formation and remodelling.

Methods. Serial histological sections of mouse heads (frontal sections; 5 µm) at the embryonic (E15), and postnatal (P0, P5 and P10) developmental stages were used for immunohistochemistry of active caspase-3 and osteocalcin (marker of osteoblasts), along with biochemical analyses (TRAP – marker of osteoclasts, TUNEL – apoptotic DNA breaks).

Results. Active caspase-3 was observed in the alveolar/mandibular bone in all investigated stages. Colocalization of caspase-3, osteocalcin, active osteoclasts and apoptotic cells was evaluated in serial histological sections. The correlation analysis showed presence of active caspase-3 also in non-apoptotic cells. Notably, caspase-3 was detected in both, osteoblasts and osteoclasts. Additionally, caspase-3 in non-apoptotic cells was localized in the cytoplasm.

Conclusion. Earlier references report about important roles of caspase-3 in *in vitro* cultures of endomembranous bone cells, in long bones and during related therapies. This pilot study indicates a possible dual role of caspase-3 in alveolar/mandibular bone formation. Micromasses derived from the alveolar/mandibular bone and *in vitro* caspase-3 inhibition will be applied to compare expression of osteogenic markers in the presence and absence of caspase-3 at the early stages of alveolar/mandibular bone formation using PCRArray analysis.

This work was supported by grant No. 101/2014/FVL (IGA VFU).

THE EFFECT OF HYPERTENSION INDUCED BY LACTACYSTIN, L-NAME OR CONTINUOUS LIGHT EXPOSURE ON RAT'S BEHAVIOR: MODIFICATION BY MELATONIN OR CAPTOPRIL

S. Aziriová¹, K. Repová¹, J. Hrenák¹, K. Krajčírovičová¹, F. Šimko¹

¹ *Ústav patologickej fyziológie, Lekárska fakulta UK, Bratislava*

Introduction. In recent years is more often discussed the link between cardiovascular diseases and depression or anxiety disorders. The aim of this study was to show in three models of experimental hypertension whether hypertension could induce behavioral disturbances and if these behavioral disturbances could be modified by chronic treatment with captopril or melatonin.

Methods. 12-week old adult male Wistar rats were divided into 6 groups by 14: control, L-NAME (40 mg/kg/day p.o.), continuous light exposure (24 h/day), lactacystin (1 µg/kg/day p.o.), lactacystin + captopril (captopril 100 mg/kg/day), lactacystin + melatonin (10 mg/kg/day p.o.). Systolic blood pressure was measured weekly by plethysmography. Open field test, elevated plus maze were used for the investigation of anxiety behaviour.

Results. L-NAME, lactacystin and continuous light exposure increased systolic blood pressure, while only captopril in lactacystin-induced hypertension protected against these alterations. Only continuous light exposure increased exploratory behaviour and locomotion and decreased anxiety-like behaviour. Captopril in lactacystin-induced hypertension increased locomotion and exploration and had anxiolytic effect.

Conclusion. Only continuous light exposure affected behaviour of rats in the way of increased locomotion, exploration and anxiolysis. Chronic treatment with captopril induced increase of locomotion, exploration and anxiolysis in lactacystin induced hypertension.

This work was supported by VEGA 2/0183/12 and VEGA 1/0227/12.

VPLYV IVABRADÍNU NA REMODELÁCIU VEĽKÝCH CIEV PRI L-NAME-INDUKOVANEJ HYPERTENZII U POTKANOV

Baka, T.¹, Repová, K.¹, Krajčírovičová, K.¹, Aziriová, S.¹, Paulis, Ľ.¹, Šimko, F.^{1,2}

¹Ústav patologickej fyziológie, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Bratislava, Slovensko

²III. Interná klinika, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Bratislava, Slovensko

Úvod. Ivabradín je látka s dokázanou efektivitou pri terapii srdcového zlyhania – vplyvom na I_f kanál sinoatriálneho uzla redukuje srdcovú frekvenciu. Na základe nedávnych literárnych údajov predpokladáme, že by mohol redukovať aj afterload (pravdepodobne antiremodelačným pôsobením na aortu). Cieľom práce je zistiť účinok ivabradínu na morfometriu aorty a porovnať ho s účinkom antihypertenzív s dokázaným antiremodelačným efektom na aortu (kaptopril a melatonín).

Metodika. 72 samcov potkanov kmeňa Wistar bolo rozdelených do 5 skupín: kontrola (K), ivabradín (10 mg/kg/deň, Iv), L-NAME (40 mg/kg/deň, L-NAME), L-NAME+ivabradín (L-NAME+Iv), L-NAME+kaptopril (40 + 100 mg/kg/deň, L-NAME+Cap), L-NAME+melatonín (40 + 10 mg/kg/deň, L-NAME+Mel). Potkanom sa podávali látky 4 týždne v pitnej vode. Počas liečby sa potkanom v pravidelných intervaloch, raz za týždeň, meral systolický tlak krvi (STK) a srdcová frekvencia (tail-cuff metóda). Po 4 týždňoch liečby sa potkany usmrtili a boli odobrané orgány (srdce, aorta, periférne orgány) na morfometrické a biochemické spracovanie.

Výsledky. Ivabradín signifikantne znížil STK u kontrolných potkanov (o 21%, $p < 0,05$), aj u potkanov s L-NAME (o 19%, $p < 0,05$) a výrazne redukoval frekvenciu srdca v oboch skupinách (v K o 26%, $p < 0,05$; v L-NAME o 21%, $p < 0,05$). Ivabradín nemenil hrúbku aorty ani plochu pričného rezu (CSA) u kontrol ani u L-NAME. Kaptopril signifikantne redukoval STK (o 34%, $p < 0,05$) a hrúbku aorty v skupine s L-NAME, pričom frekvencia ani CSA sa nemenili. U L-NAME-indukovanej hypertenzii melatonín signifikantne redukoval tlak (o 14%, $p < 0,05$) a frekvenciu (o 10%, $p < 0,05$), avšak hrúbku aorty ani CSA nemenil.

Záver. Ivabradín signifikantne redukoval frekvenciu a znižoval systolický tlak pri hypertenzii indukovanej L-NAME, avšak na rozdiel od kaptoprilu morfometriu aorty neovplyvnil.

Práca bola podporená grantom VEGA 1/0227/12 a VEGA 2/0183/12.

EFFECT OF HIGH-FREQUENCY ELECTROMAGNETIC FIELD EXPOSURE IN MICE: MARKERS OF OXIDATIVE STRESS

Barcal J.¹, Bludovská D.², Jelinková D.¹, Kotyzová D.², Stopka P.³, Vrba J.⁴, Vožeh F.^{1,5}

¹*Charles University Prague, Faculty of Medicine Pilsen, Department of Pathophysiology; Czech Republic*

²*Charles University Prague, Faculty of Medicine Pilsen, Department of Pharmacology and Toxicology; Czech Republic*

³*Academy of Sciences of the Czech Republic, Institute of Inorganic Chemistry, Prague, Czech Republic*

⁴*Czech Technical University in Prague, Faculty of Electrical Engineering, Department of Electromagnetic Field; Czech Republic*

⁵*Biomedical Centre, Charles University Prague, Faculty of Medicine Pilsen, Czech Republic*

The influence of high-frequency electromagnetic field (HF EMF) exposure on the oxidative stress parameters and c-fos activity was studied.

Material and methods: adult mice C3H strain, both sexes. For identification of free radicals in four tissue samples the spectroscopy of electron paramagnetic resonance (EPR) was used. Glutathionperoxidase (GSH-Px) and malondialdehyde (MDA) were measured for better identification of oxidative stress. *C-fos* protein expression was depicted by classical method (immunohistochemical staining, slices 45 nm).

Results: using an unique exposure chamber for small animals SAR (specific absorption rate) was measured (average value 1.6 – 3 W/kg); thus the non-thermal effects were expected. An increase of free radicals production in HF EMF exposed animals in comparison with controls has been described in four organs including brain ($p < 0.0025$). MDA level was significantly higher in brain samples in exposed animals ($p < 0.02$), whereas GSH-Px was increased significantly in heart ($p < 0.04$) and decreased in liver ($p < 0.02$.) Increased *c-fos* expression in thalamic nuclei and preoptic areas was found in animals after HF EMF exposure.

Conclusion: the effect of high-frequency electromagnetic field irradiation on free radicals production in four mouse organs using EPR was confirmed as well as changes of GSH-Px and MDA in some organ samples. Our findings further support the hypothesis that in certain situations it is necessary to take HF EMF as a possible pathogenetic factor.

This research was supported by the Charles University Research Fund (project number P36)

VÝZNAM SPECIFICKÝCH IgE U ALERGIE NA BÍLKOVINY KRAVSKÉHO MLÉKA

Bartošiková, L.¹, Nečas, J.¹, Fráňa, L.², Bartošík, T.³, Fráňa, P.⁴

¹Ústav fyziologie, Lékařská fakulta UP v Olomouci, Česká republika

²Alergologická a imunologická ambulance, Velké Meziříčí, Česká republika

³Anesteziologicko-resuscitační klinika, FN U sv. Anny v Brně, Česká republika

⁴II. Interní klinika, FN U sv. Anny v Brně, Česká republika

Úvod. Alergie na bílkoviny kravského mléka (ABKM) je nejčastější potravinovou alergií evropské populace. Většinou nemá celoživotní charakter, s věkem ustupuje do pozadí. Prevalence v dospělé populaci udává výskyt pouze u 0,1 – 0,15 %. Vyšetření specifických IgE (sIgE) je vyšetření vysoce spolehlivé. Pozitivita sIgE možnou diagnózu potravinové alergie výrazně podporuje. Tuto skutečnost musíme mít na paměti zvláště u kožních manifestací a také u nespecifických střevních obtíží.

Cílem studie bylo mapovat výskyt IgE zprostředkované ABKM u dospělých pacientů s různými formami chronické atopické dermatitidy.

Metodika. Do studie bylo zařazeno 142 pacientů se středně těžkou formou atopické dermatitidy a s anamnestickým podezřením na ABKM. Komplexní diagnostický postup zahrnoval anamnézu, vyšetření laboratorních parametrů (eozinofilní kationický protein, sérové a sIgE), kožní prick testy. Na základě výsledků předchozích testů byl u 4 pacientů souboru následně provedený eliminační a expoziční test, kdy byly hodnoceny změny lokálního výskytu atopické dermatitidy a změny tíže předchozího postižení kůže.

Výsledky. U všech pacientů sledovaného souboru bylo zjištěno signifikantní zvýšení ECP a sérového IgE. Kožní prick testy s kravským mlékem byly u 101 pacientů negativní, u 37 pacientů lehce pozitivní a u 4 pacientů středně až silně pozitivní. U 4 pacientů souboru byly zjištěny zvýšené hodnoty specifických IgE proti kravskému mléku. Po provedení eliminačního testu došlo u 4 vybraných pacientů ke zlepšení skóre bodového hodnocení atopické dermatitidy. Po následném provedení expozičního testu s kravským mlékem došlo u 4 pacientů ke zhoršení projevů atopické dermatitidy.

Závěr. Eliminace kravského mléka z potravy vedla u 4 vybraných pacientů souboru k ústupu projevů chronické atopické dermatitidy. Požití kravského mléka vyprovokovalo zhoršení ekzémových ložisek u 4 vybraných pacientů s atopickou dermatitidou. Výsledek eliminačního a expozičního testu byl v korelaci se zvýšenými hodnotami laboratorních ukazatelů.

CITLIVOST DRASLÍKOVÉHO PROUDU I_{KI} K PŮSOBENÍ ETHANOLU JE NIŽŠÍ U SÍŇOVÝCH NEŽ U KOMOROVÝCH SRDEČNÍCH BUNĚK POTKANA

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

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

² Ústav termomechaniky, Akademie věd České republiky, Brno, Česká republika

Úvod. Konzumace alkoholu vyvolává u některých jedinců arytmie, nejčastěji fibrilaci síní (FS). Při vzniku mnoha typů arytmí včetně FS hrají významnou roli mimo jiné i změny či heterogenita draslíkového proudu *inward rectifier* I_{KI} . Vzhledem ke sporým až kontroverzním informacím v dostupné literatuře jsme se rozhodli analyzovat změny proudu I_{KI} komorových i síňových srdečních buněk potkana v přítomnosti ethanolu v koncentracích 0,2 - 200 mM (~0,009 - 9%).

Metodika. Měření byla provedena na enzymaticky izolovaných komorových a síňových buňkách potkana metodou *whole cell patch clamp* při teplotě 23 ± 1 °C.

Výsledky. U komorových buněk ethanol v nízké koncentraci 0,8 mM (~0,04%) I_{KI} signifikantně inhiboval (o $6,9 \pm 2,7\%$, $n = 7$), zatímco v koncentracích ≥ 20 mM (~0,92%) ho naopak navýšoval (o $16,6 \pm 4,0\%$ při 20 mM a o $24,5 \pm 2,4\%$ při 80 mM, $n = 6$ a 13), oboje nezávisle na membránovém napětí. Ethanol v koncentracích 2 a 8 mM působil u některých buněk inhibicí a u jiných naopak navýšením I_{KI} . Změny průběhu akčního napětí v přítomnosti 0,8 a 8 mM ethanolu vykazovaly analogické změny. U síňových buněk jsme doposud analyzovali pouze vliv 20 a 80 mM ethanolu. Změny I_{KI} opět probíhají oběma směry, ale jsou mnohem méně výrazné než u komorových buněk. V přítomnosti 20 mM ethanolu bylo patrné navýšení o $4,4 \pm 2,9\%$ (v rozptylu od 4,0% inhibice po 9,7% navýšení, $n = 4$). Po aplikaci 80 mM ethanolu byl vliv v průměru prakticky nulový, v rozptylu od 20,7% inhibice po 17,8% navýšení ($n = 13$).

Závěr. Ethanol v klinicky relevantních koncentracích významně ovlivňuje komorový I_{KI} potkana, což by mohlo přispívat k účinkům konzumace alkoholu na srdeční elektrofyzilogii komorových buněk. V síních je však citlivost I_{KI} k působení ethanolu významně menší. Pozorované účinky konzumace alkoholu jsou zde pravděpodobně dány změnami jiného iontového proudu.

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

OMEGA-3 FATTY ACIDS AND MELATONIN INCREASE THE THRESHOLD TO INDUCE VENTRICULAR FIBRILLATION AND NORMALIZE MYOCARDIAL CONNEXIN-43 EXPRESSION IN FEMALE RATS EXPOSED TO SUCROSE DIET.

Benova, T.¹, Viczenczova, C.¹, Radosinska, J.^{1,2}, Knezl, V.³, Szeiffova-Bacova, B.¹, Navarova, J.³, Obsitnik, B.⁴, Tribulova, N.¹

¹*Institute for Heart Research, SAS, Bratislava, Slovakia,* ²*Institute of Physiology, Fac. Med., Comenius University, Bratislava, Slovakia,* ³*Institute of Experimental Pharmacology & Toxicology, SAS, Bratislava, Slovakia,* ⁴*St. Elisabeth Institute of Oncology, Bratislava, Slovakia*

Introduction & Purpose: Abnormal localization and/or dysfunction of cardiac connexin-43 (Cx43) channels have been implicated in the occurrence of life-threatening arrhythmias. The aim of the study was to elucidate the impact of glucose metabolism disorders on development of Cx43 alterations and susceptibility of the heart to inducible VF in female rats exposed to high sucrose diet. Moreover, we tested antiarrhythmic effects of melatonin and omega-3 fatty acids and possible implication of Cx43 in this condition.

Design and Methods: 9 month old female Wistar rats were divided into four groups: 1) controls; 2) rats drinking 30% sucrose solution (HSD); 3) HSD supplemented with melatonin (40 µg/ml in drinking water); 4) HSD supplemented with omega-3 fatty acids (Omacor, 25g/kg per diet). Left ventricle was used for analysis of Cx43 mRNA and protein levels as well as protein expression of PKCε and PKCδ. Electrically-inducible sustained VF (sVF) was examined using isolated-perfused heart.

Results: HSD resulted in an increase of BW, HW, LVW adiposity, plasma TG and CHOL. The threshold to induce sVF was lower in rats exposed to sucrose, while both melatonin and Omacor significantly increased it. There were no changes in Cx43mRNA among the groups. Melatonin normalized decreased Cx43 protein expression and its phosphorylation in HSD rats. Omacor did not affect total Cx43 levels, but enhanced its functional phosphorylated forms. Moreover both, melatonin and Omacor normalized diminished expression of PKCε and elevated expression of PKCδ in rats exposed to sucrose diet.

Conclusions: Findings indicate that high sucrose diet itself can affect myocardial Cx43 channels-mediated intercellular communication, PKC signalling and susceptibility of the heart to malignant arrhythmias. The adverse effects can be attenuated by the treatment with either melatonin or Omacor.

This work was supported by VEGA 2/0046/12, 1/0032/14, 2/0167/15 and APVV 0241/11, 0348/12 grants.

DISTURBED ANGIOGENESIS IN IUGR-COMPROMISED PLACENTAS AT TERM

Bolehovska, P.,¹ Ujcikova, H.², Driak, D.¹, Halaska, M.¹, Novotny, J.², Svandova, I.²

¹ *Department of Gynaecology and Obstetrics, First Faculty of Medicine and Hospital Bulovka, Charles University in Prague, Czech Republic*

² *Department of Physiology, Faculty of Science, Charles University in Prague, Czech Republic*

Introduction. Any pathological interference with normal vascular development of placenta may have a critical impact on foetal growth and development. The main factors taking part in the vascular development of placenta include cell elements, the extracellular matrix, growth factors and cytokines (e.g. VEGF, PlGF and bFGF). Poor uteroplacental perfusion is then the most common cause of the intrauterine growth retardation (IUGR). The IUGR development can also represent the occurrence of insufficient prolongation, branching, and dilatation of capillary loops during the formation of terminal villi. The aim of our work was to correlate presence of IUGR with changes in levels of selected angiogenesis-related receptors e.g. Tie-1, Tie-2, VEGFR-1, and VEGFR-2.

Methods. Stromatal tissue of placental villi of gestationally matched IUGR patients and controls (n=8, gestational age between 39+1 and 40+0 gtt) was separated by microdissection. After separation, placental tissue was homogenised on ice (2×10 min, 2000 rpm) and centrifugated (2×5 min, 5000 rpm). Proteins of supernatant were fractionated by 8% SDS-PAGE and Tie-1, Tie-2, VEGFR-1, and VEGFR-2 levels were measured by Western blot using appropriate primary and secondary antibodies.

Results. All selected angiogenesis-related receptors were detected. In the IUGR group, compared to the control group, there was significantly lower level of Tie-1 (65.3% of controls, p=0.003), VEGF-1 (55.9% of controls, p=0.014), VEGFR-2 (62.6% of controls, p=0.002), and non-significantly higher level of Tie-2 (128% of controls, p = 0.418).

Conclusion. Placental levels of Tie-1, Tie-2, VEGFR-1, and VEGFR-2 are altered in pregnancies complicated by IUGR. The results of this study can represent the angiogenic imbalance observed in IUGR pregnancies; thereby resulting in poor and disturbed angiogenesis underlying delayed development of the fetus.

The study was supported by the project GA UK No. 12642/2014.

NUCLEAR RETINOID/RETINOID X RECEPTOR EXPRESSION: EFFECTS OF SELECTED ORGANOTIN COMPOUNDS IN HUMAN BREAST CANCER ER+ OR ER- CELL LINES

Brtko, J.¹, Hunáková, L.², Bialešová, L.¹, Toporová, L.¹, Macejová,¹ D.

¹*Institute of Experimental Endocrinology, Slovak Academy of Sciences, Vlárská 3, 833 06 Bratislava, Slovakia;* ²*Cancer Research Institute, Slovak Academy of Sciences, Vlárská 7, 833 91 Bratislava, Slovakia.*

Introduction. Retinoids of natural or synthetic origin related to retinoic acids (all-*trans* or 9-*cis*) act through interaction with two basic types of nuclear receptors, retinoic acid receptors (RARalpha, RARbeta and RARgamma) and retinoid X receptors (RXRalpha, RXRbeta and RXRgamma) as retinoid-inducible transcription factors, which are involved in a general molecular mechanism responsible for transcriptional responses of target genes. Several natural or synthetic retinoids have therapeutical effects due to their antiproliferative and apoptosis-inducing effects. They are known to cause redifferentiation or to prevent further dedifferentiation of various neoplastic tissues. Several trialkyltin- or triaryl tin- halides were identified as nanomolar agonists for nuclear retinoid X receptor subtypes.

Methods. MCF-7 (ER+) and MDA-MB-231 (ER-) human breast carcinoma cell lines were used in experiments. Effect of selected tributyltin halides on viability of cells was measured by MTT assay, determination of mRNA levels encoding selected retinoid/retinoid X nuclear receptors and their coregulators were evaluated by RT-PCR.

Results. Selected trialkyltin compounds tested in the presence of all-*trans* retinoic acid, a natural ligand for RARs, exerted significantly diminished RARs and RXRs expression pattern in ER+ cell line. On the other hand, in ER- cell line, organotin compounds tested enhanced the expression of nuclear receptor RXRalpha subtype.

Conclusion. The results suggest that organotin compounds may play various but marked role in modulation of the expression of tested nuclear all-*trans* retinoic acid receptor subtypes and nuclear 9-*cis* retinoic acid receptor subtypes in human estrogen receptor positive or negative breast carcinoma cell lines. *Supported by the APVV-0160-11, APVV-0290-10, VEGA-2/0171/14, and CEMAN grants.*

PILOTNÍ STUDIE: ZMĚNY OBĚHOVÝCH PARAMETRŮ U PACIENTŮ S REZISTENTNÍ HYPERTENZÍ PŘED A PO RENÁLNÍ DENERVACI

Budinskaya, K¹, Závodná, E^{1,2}, Lokaj, P^{1,3}, Vysočanová, P³, Nováková, Z^{1,2}

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

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

³Interní kardiologická klinika, Fakultní nemocnice Brno, Česká Republika

Úvod: V současné době trpí hypertenzí 40% celosvětové populace, z nich 5-20% mají na léčbu rezistentní hypertenzi. Pro léčbu této hypertenze se používá v současnosti renální denervace (RDN). Cílem práce bylo zjistit, zda u pacientů po RDN nalezneme změny baroreflexní regulace (BRS), variability krevního tlaku a srdeční frekvence.

Metodika: Vyšetření se zúčastnilo 10 pacientů s rezistentní hypertenzí (RH) a 10 kontrol (Ko). Pacienti byli vyšetřeni jak před (do-RDN), tak i 6 měsíců po zákroku (po-RDN). U všech byl změřen kontinuální neinvazivní 5-ti minutový záznam krevního tlaku fotopletysmografickou metodou (frekvence dýchání 0,33Hz). Pomocí spektrální analýzy byly v oblasti středních (MF), vysokých (HF) a velmi nízkých frekvencí (VLF) vypočítány: normalizovaná a absolutní výkonová spektra srdeční frekvence (nRRI, aRRI), systolického krevního tlaku (nSTK, aSTK) a diastolického krevního tlaku (nDTK, aDTK), účinnost krátkodobé regulace krevního tlaku v MF (Gain_{BRS}), HF (Gain_{HF}) a VLF (Gain_{VLF}) oblasti spektra jako poměr vzájemného spektra mezi RRI s STK (Cross) a výkonového spektra STK.

Výsledky: U RH pacientů před RDN v porovnání s Ko byly nalezeny signifikantní nižší hodnoty Cross_{MF} ($0,02 \pm 0,010$ vs. $0,06 \pm 0,02$; $p < 0,001$), nRRI_{MF} ($0,03 \pm 0,02$ vs. $0,06 \pm 0,03$ n.u.; $p < 0,05$), aRRI_{MF} ($2873,5 \pm 4859,9$ vs. $8162,12 \pm 5806,72$ ms²/Hz; $p < 0,05$), nSTK_{MF} ($0,02 \pm 0,01$ vs. $0,06 \pm 0,03$ n.u.; $p < 0,001$), aSTK_{MF} ($45,68 \pm 39,69$ vs. $170,69 \pm 81,14$ mmHg²/Hz; $p < 0,01$), nDTK_{MF} ($0,02 \pm 0,01$ vs. $0,09 \pm 0,05$ n.u.; $p < 0,001$), aDTK_{MF} ($15,72 \pm 23,78$ vs. $73,08 \pm 47,97$ mmHg²/Hz; $p < 0,01$) i vyšší hodnoty nRRI_{HF} ($0,12 \pm 0,06$ vs. $0,07 \pm 0,06$ n.u.; $p < 0,05$), STK ($146,10 \pm 14,52$ vs. $111,17 \pm 40,34$ mmHg; $p < 0,01$) a DTK ($82,40 \pm 11,53$ vs. $68,90 \pm 16,15$ mmHg; $p = 0,06$).

U pacientů s RH došlo po RDN kromě vzestupu BRS_{MF} ($4,84 \pm 2,57$ vs. $6,09 \pm 2,96$; $p < 0,05$) také k poklesu nDTK_{VLF} ($0,11 \pm 0,09$ vs. $0,07 \pm 0,03$; $p = 0,07$) a STK ($146,10 \pm 14,52$ vs. $124 \pm 13,74$ mmHg; $p < 0,01$).

Závěr: V průměru přinesla RDN pacientům s RH kromě poklesu STK zlepšení citlivosti baroreflexu. Dva pacienti mají hypotonie s kolapsy, jeden trpí kolísáním krevního tlaku a další má stále hypertenzi a byly mu přidány další antihypertenzní léky.

Práce byla podpořena Specifickým výzkumem MUNI/A/1326/2014 a European Regional Development Fund - Project FNUSA-ICRC (No. CZ.1.05/1.1.00/02.0123)

ZMENY SYMPATIKOVEJ AKTIVITY PRI PORUCHÁCH AUTISTICKÉHO SPEKTRA

Bujňáková, I.¹, Ondrejka, I.², Mešťaník, M.¹, Šnircová, E.², Hrtánek, I.², Tonhajzerová, I.¹

¹Ústav fyziológie, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Slovensko

²Psychiatrická klinika, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Univerzitná nemocnica Martin, Slovensko

Úvod. Porucha autistického spektra (PAS) je neurovývinová porucha neznámej etiológie, charakterizovaná deficitom v sociálnej komunikácii a interakcii a obmedzenými, stereotypne sa opakujúcimi spôsobmi správania. Autonómna dysregulácia, ktorá je spojená s vyšším rizikom kardiovaskulárnej morbidity, je významnou črtou PAS, a práve preto sa v poslednej dobe stala predmetom vedeckého záujmu. Elektrodermálna aktivita (EDA) je jedným z možných parametrov sympatikového arousal, ktorý ešte nebol dostatočne preskúmaný u detí s PAS. Cieľom pilotnej štúdie bolo zistiť aktivitu sympatikového nervového systému použitím analýzy elektrodermálnej aktivity (EDA) u detí s PAS.

Metodika. Celkovo bolo vyšetrených 8 detí s poruchou autistického spektra (priemerný vek $10,1 \pm 0,9$ r.) a 8 zdravých jedincov (priemerný vek $10,0 \pm 0,5$ r.). Elektrodermálna aktivita bola monitorovaná v supinačnej polohe (10 min) a následne jej veľkosť (uS) bola analyzovaná použitím prístroja ProComp Infinity (Thought Technology Ltd., Kanada).

Výsledky. Signifikantný rozdiel sa ukázal byť v skupine detí s poruchou autistického spektra, ktoré mali vyššiu veľkosť EDA v supinačnej polohe v porovnaní s kontrolnou skupinou ($p=0.036$).

Záver. Naše pilotné výsledky ukázali zvýšenú elektrodermálnu aktivitu u jedincov s PAS, ktorá svedčí o možnej zvýšenej aktivite sympatikového cholinergného systému pri poruche autistického spektra v pokoji. Predpokladáme, že dané zistenie môže predstavovať významný patomechanizmus vedúci ku zvýšenému riziku kardiovaskulárnych komplikácií spojených s PAS, čo v súčasnosti predstavuje stále málo objasnený problém v pedopsychiatrii.

Práca bola podporená grantom VEGA No. 1/0087/14, BioMed Martin (ITMS 26220220187), APVV - 0254-11.

FLUORESCENČNÁ KINETIKA HYPERICÍNU V PRÍTOMNOSTI LIPOPROTEÍNU S NÍZKOU DENZITOU: ŠTÚDIE NA CAM EMBRYA PREPELICE JAPONSKEJ

Monika Buríková¹, Mariana Máčajová¹, Pavel Výboh¹, Boris Bilčík¹, Jozef Bízík², Katarína Szabová², Pavol Miškovský³, Ivan Čavarga¹

¹Ústav biochémie a genetiky živočíchov SAV, Ivanka pri Dunaji, Slovensko, ²Ústav experimentálnej onkológie SAV, Bratislava, Slovensko, ³Centrum interdisciplinárnych biovied UPJŠ, Košice, Slovensko

Vo fotodynamickej diagnostike (PDD) sa prioritne využívajú špecifické fluorescenčné vlastnosti fotosenzibilizátorov (PS) s cieľom včasnej detekcie nádorových ložísk. Aplikácia transportných nosičov, napr. lipoproteín s nízkou denzitou (LDL), umožňuje zvýšiť akumuláciu PS v nádorovom tkanive. V našich experimentoch sme ako PS použili hypericín (Hyp), prírodný extrakt z rastliny *Hypericum perforatum*. Hyp má oproti iným PS relatívne vysoký kvantový zisk fluorescence a nízke fotodegradačné charakteristiky. Táto štúdia analyzuje fluorescenčnú kinetiku Hyp a Hyp:LDL komplexu na chorioalantoickej membráne (CAM) embrya prepelice japonskej (*Coturnix japonica*). Povrchovú infiltráciu tkaniva simulujú implantované 3D sféroidy nádorových buniek TE1 (skvamocelulárny karcinóm pažeráka). Na 7.embryonálny deň (ED7) sme implantovali na povrch CAM bunky TE1 vo forme sféroidov a na ED8 lokálne aplikovali roztoky Hyp a komplex Hyp:LDL v pomere 100:1 a 200:1. V hodinových intervaloch sme pod excitáciou modrým LED svetlom monitorovali fluorescenciu Hyp a jeho penetráciu do tkaniva. Fluorescenciu sme kvantifikovali ako pomer intenzity v červenom a modrom spektrálnom pásme fluorescenčného obrazu. Intenzita fluorescence iniciálne po aplikácii na CAM bola vysoká, najmä pri molekulárnom komplexe Hyp:LDL 100:1, časom sa znižovala. Implantovaný karcinómom TE1 vykazoval intenzívnejšiu fluorescenciu v porovnaní so zdravým ektodermálnym epitelom CAM, s najvýraznejším rozdielom intenzity fluorescence medzi tumorom a zdravým tkanivom pri aplikácii Hyp:LDL 200:1.

Experimentálne výsledky ukazujú, že Hyp je silný fluorescenčný marker pre PDD skvamocelulárneho karcinómu TE1 implantovaného na CAM prepelice japonskej. Transportný systém LDL sa preukázal ako perspektívny model pre optimalizáciu fotodynamickej diagnostiky a terapie nádorových ochorení.

Podporené grantom APVV-0242-11

ZLEPŠENÍ PARAMETRŮ CHŮZE PO TRANSPLANTACI EMBRYONÁLNÍ TKÁNĚ MOZEČKU U MODELU CEREBELÁRNÍ DEGENERACE

Cendelín, J.^{1,2}, Babuška, V.³, Houdek, Z.¹, Tůma, J.^{1,2}, Purkartová, Z.¹, Králíčková, M.^{2,4}, Vožeh, F.^{1,2}

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

² Laboratoř neurodegenerativních poruch, Biomedicínské centrum, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova, Plzeň, Česká republika¹ Ústav patologické fyziologie, Lékařská fakulty v Plzni, Univerzita Karlova, Plzeň, Česká republika

³ Ústav lékařské chemie a biochemie, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova, Plzeň, Česká republika

⁴ Ústav histologie a embryologie, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova, Plzeň, Česká republika

Úvod. Hereditární mozečkové ataxie jsou širokou skupinou závažných onemocnění. Vhodným modelem pro výzkum patogeneze i experimentální léčby těchto chorob jsou mutantní myši Lurcher postižené olivocerebelární degenerací. Cílem práce bylo zjistit, zda má neurotransplantční terapie vliv na projevy ataxie u myši Lurcher.

Metodika. Transplantát získaný z myších embryí byl aplikován ve formě solidního kousku mozečkové tkáně nebo buněčné suspenze do mozečku dospělých mutantů Lurcher a zdravých myši typu wild. Dva nebo šest měsíců po operaci byla vyšetřena chůze a provedeny testy na rotarodu, hrazdě a břevnu. Poté byla histologicky vyšetřena přítomnost a struktura transplantátu.

Výsledky. V klasických testech motorických schopností nebyly pozorovány významné rozdíly mezi jedinci po transplantaci a neléčenými kontrolami. Transplantace buněčné suspenze však vedla u myši Lurcher ke zlepšení parametrů chůze. Přežívání transplantátu se významně nelišilo v závislosti na typu příjemce, typu transplantátu ani době po transplantaci. U myši Lurcher však transplantát nejevil tendenci k integraci do mozečku hostitele.

Závěr. Transplantace embryonálních buněk mozečku vedla ke zmírnění ataxie chůze u myšího modelu cerebelární degenerace. Spíše než specifické zapojení transplantovaných buněk do nervových okruhů předpokládáme trofické působení transplantátu.

Práce byla podpořena Programem rozvoje vědních oborů Karlovy Univerzity (projekt P36), projektem CZ.1.05/2.1.00/03.0076 Evropského fondu pro regionální rozvoj.

VPLYV OPAKOVANÉHO PODÁVANIA LIPOPOLYSACHARIDU NA VYBRANÉ NEUROENDOKRINNÉ PARAMETRE VO VZŤAHU K POHLAVIU

Csánová A.¹, Prokopová B.¹, Hasiec M.², Pokusa M.¹, Ježová D.¹

¹Ústav experimentálnej endokrinológie SAV, Laboratórium farmakologickej neuroendokrinológie, Bratislava, Slovenská republika

²The Kielanowski Institute of Animal Physiology and Nutrition, Polish Academy of Sciences, Jablonna, Poland

Úvod. Lipopolysacharid (LPS) je bakteriálny endotoxín. Jeho opakované podávanie sa môže využiť ako model aktivácie imunitného systému počas infekčných ochorení, ako aj model chronického stresu. Cieľom našej práce bolo overiť hypotézu, že účinok opakovaného podávania LPS na neuroendokrinné parametre závisí od pohlavia.

Metodika. V pokuse bolo použitých 16 samíc a 16 samcov potkanov kmeňa Sprague-Dawley. Samcom a samiciam bolo podávané buď vehikulum (n=8) alebo LPS (n=8) intraperitoneálne vo zvyšujúcich sa dávkach po dobu 5 dní (50,50,100,100,200 µg/kg). Na 3. deň experimentu boli zvieratá testované v teste otvoreného poľa. Behaviorálne parametre sa hodnotili programom Ethovision XT10.

Výsledky. Opakované podávanie LPS signifikantne zvýšilo hladiny aldosterónu a kortikosterónu v krvi, pričom tieto hodnoty boli vyššie u samíc. Koncentrácie ACTH neboli ovplyvnené podaním LPS, ale zistili sa pohlavné rozdiely. Meraním hladiny neurosteroidu dehydroepiandrosterónu (DHEA) v prefrontálnej kôre sme zistili vyššie koncentrácie u samíc než samcov. Podávanie LPS nemalo vplyv na hladiny prolaktínu, ale vyvolalo signifikantný pokles hmotnosti a príjmu potravy. Potkany, ktorým sa opakovane podával LPS mali zníženú motorickú aktivitu meranú v teste otvoreného poľa. Rozdiely boli zistené v rýchlosti a prejdenej vzdialenosti. Pozorovali sme signifikantný pokles v čase stráveného v centrálnej zóne v porovnaní s kontrolou, čo je príznakom úzkostného správania. V snahe sledovať zúčastnené mechanizmy sme merali expresiu beta 3-adrenergických receptorov v hipokampe, ktorá však nebola zmenená.

Záver. Potvrdili sme pohlavné rozdiely v hladinách hormónov HPA osi. Meraním hladiny DHEA v prefrontálnej kôre sme priniesli prvé údaje o existencii pohlavných rozdielov. Zistili sme, že aktivácia imunitného systému podávaním LPS vyvoláva zvýšené úzkostné správanie, pričom sa nemení génová expresia beta 3-adrenergických receptorov v hipokampe.

Práca bola podporená grantom VEGA 2/0128/14 a APVV 0028-10.

ENDOTELOVÁ FUNKCIA, TUHOŠŤ ARTÉRIÍ A SYMPATIKOVÁ AKTIVITA

Czippelová, B.¹, Fleischerová, G.¹, Turianiková, Z.¹, Tonhajzerová, I.¹, Lazarová, Z.¹, Javorka, M.¹

¹Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Bratislava, Slovensko

Úvod. Endoteliálna dysfunkcia, zvýšená arteriálna tuhosť a zvýšená reaktivita sympatika sú negatívne prognostické markery, u ktorých sa predpokladá vzájomná súvislosť. Informácie o zaznamenávaní a hodnotení aktivity sympatika, arteriálnej tuhosti a funkcie endotelu súčasne však stále chýbajú. Cieľom našej práce bolo zistiť vzájomnú koreláciu týchto parametrov u zdravých adolescentov.

Metodika. U 34 mladých zdravých dobrovoľníkov (24 ž/10 m, priemerný vek $15,9 \pm 0,4$ (SD) rokov, BMI = $22,5 \pm 4,5$ kg.m⁻²) sme zaznamenávali EKG (CardioFax, Japan), z ktorého sme hodnotili dĺžku RR intervalov a systolický tlak krvi (STK) pri každom údere srdca (Finometer Pro, Holandsko). Po pokojovej fáze v ľahu (15 min) nasledovala pasívna ortostáza – sklopenie do uhla 45° s trvaním 8 min. Z nameraných záznamov oscilácií RR intervalov a STK sme vypočítali parametre, ktoré sú spájané s aktivitou sympatika: 0V%-RR z RR intervalov a spektrálny výkon v LF pásme z STK (LF-STK). Ďalším krokom bolo neinvazívne vyšetrenie arteriálnej tuhosti (cardio-ankle vascular index – CAVI) a funkcie endotelu ciev (index RHI – reactive hyperemia index) pomocou prístrojov VaSera VS-1000 (Japan) a EndoPAT 2000 (Israel).

Výsledky. Z našich meraní sme zistili úzky súvis medzi funkciou endotelu (RHI) a tuhosťou ciev (CAVI) ($r = 0,459$, $p = 0,009$). Arteriálna tuhosť (index CAVI na pravej a ľavej strane) pozitívne korelovala s aktivitou sympatika (LF-STK) počas sklopenia do 45° ($r = 0,468 - 0,419$, $P = 0,006 - 0,015$), zatiaľ čo v ľahu sme zistili len tendenciu ku korelácii medzi týmito parametrami ($r = 0,279 - 0,252$; $P > 0,05$). Index 0V%-RR nekoreloval s tuhosťou ciev ani funkciou endotelu. Medzi endotelovou funkciou a žiadnym indexom sympatika sme taktiež nenašli signifikantnú koreláciu.

Záver. Z našich výsledkov vyplýva, že u zdravých adolescentov sympatikový nervový systém a jeho reaktivita úzko súvisí s tuhosťou artérií, ale nesúvisí úzko s funkciou endotelu ciev hoci tieto dva parametre vzájomne korelujú.

Práca bola podporená grantom APVV-0235-12 a ESF IV “Zvýšenie možnosti kariérneho rastu vo výskume a vývoji v oblasti lekárskeho vied”, ITMS: 26110230067

PLŮCNY SURFAKTANT ZA HRANICOU ALVEOL

Čalkovská, A.¹, Uhliarová, B.², Kopincová, J.¹, Kolomazník, M.¹, Adamkov, M.³, Švec, M.², Jošková M.⁴, Fraňová, S.⁴

¹ Ústav fyziológie JLF UK, Martin, Slovensko

² ORL oddelenie, FNsP F.D.Roosevelta, Banská Bystrica, Slovensko

³ Ústav histológie a embryológie JLF UK, Martin, Slovensko

⁴ Ústav farmakológie JLF UK, Martin, Slovensko

Úvod. Plúcny surfaktant je látka lipoproteínovej povahy, ktorá znižuje povrchové napätie na alveolárnom rozhraní tekutina/vzduch. Najdôležitejšiu úlohu zohrávajú povrchovo-aktívne fosfolipidy a špecifické surfaktantové proteíny (SP): SP-A, SP-B, SP-C and SP-D. V poslednom období sa pôsobenie surfaktantu rozšírilo aj na oblasť dýchacích ciest a lokálnych obranných mechanizmov. V práci referujeme o výsledkoch niekoľkých vlastných štúdií, v ktorých sme potvrdili úlohu plúcneho surfaktantu v dýchacích cestách.

Metodika a výsledky. V experimentoch *in vitro* metódou orgánových kúpeľov sme dokázali, že modifikované preparáty zo živočíšnych zdrojov, ktoré sú bežne používané v liečbe novorodeneckého syndrómu respiračnej tiesne (Alveofact[®], Curosurf[®]) majú priamy relaxačný vplyv na intra- a extra-pulmonálny hladký sval dýchacích ciest. Tento efekt nie je sprostredkovaný K⁺ a Cl⁻ kanálmi, ani oxidom dusnatým.

V klinickej štúdii sme v súbore 150 pacientov s chronickou respiračnou sinusitídou (CRS) a zdravých kontrol vyšetrili SP-A a D v nosovej lavážnej tekutine metódou ELISA a v nosovej sliznici imunohistochemicky. SP-A a D sa nachádzajú v epiteli a v submukózných žľazách nosovej sliznice, pričom ich hodnoty sú vyššie pri kolonizácii sliznice horných dýchacích ciest patogénnymi baktériami. Zvýšené množstvo SP-A a D v sliznici pacientov s CRS koreluje so závažnosťou ochorenia. SP-A a SP-D sa uplatňujú aj v regulácii alergickej reakcie. Pacienti s atopiou a astmou mali nižšie hladiny SP v lavážnej tekutine a vyššiu imunoreaktivitu v submukózných žľazách.

Záver. Výsledky poukazujú na úlohu surfaktantu v lokálnych imunitných dejoch a v patogenéze ochorení horných dýchacích ciest, ako aj ochorení dolných dýchacích ciest s bronchiálnou obštrukciou.

Práca bola podporená grantmi APVV-0435-11 a BioMed Martin.

MENTÁLNÍ PROCESY NÁSLEDUJÍCÍ PO PROVEDENÍ VOLNÍHO POHYBU BĚHEM VIZUÁLNÍHO ODDBALL ÚKOLU – INTRACEREBRÁLNÍ STUDIE

Damborská, A.^{1,2}, Roman, R.^{1,2}, Brázdil, M.^{1,3}, Rektor, I.^{1,3}, Kukleta, M.¹

¹ CEITEC - Středoevropský technologický institut, Masarykova univerzita, Brno, Česká republika

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

³ I. Neurologická Klinika LF MU a FN u sv. Anny v Brně, Pekařská 53, 656 91 Brno, Česká republika

Úvod. Neuronální zdroje a funkční význam elektrofyziologické aktivity vyvolané po správném provedení akce nejsou přesně známy. Předkládaná studie se zaměřuje na identifikaci míst v mozku aktivovaných po správně provedeném volním pohybu během vizuálního oddball úkolu a na posouzení vztahu jejich aktivace k mentálním procesům.

Metodika. EEG aktivita byla simultánně snímána z 205 míst frontálního, temporálního a parietálního laloku u 18 pacientů zařazených do epileptochirurgického programu. Úkolem subjektů bylo odpovídat volním pohybem a počítáním terčových podnětů.

Výsledky. Popohybové event-related potenciály (ERP), monofazické (80%) či bifazické (20%), byly zaznamenány u všech osob ve 131 místech mozku, s jasným nálezem v předním cingulu, mesiotemporální oblasti, prefrontálním a temporálním kortexu. Latence ERP komponent dosahovala 14 až 726 ms (průměr 295 ± 184 ms) po pohybu. V jedné skupině míst jsme po neterčovém podnětu pozorovali ERP komponenty s latencí přesahující průměrný reakční čas a dosahující 500 až 1162 ms (průměr 757 ± 168 ms) od podnětu, která byla ve 34 místech o 174 ± 118 ms kratší, v 26 místech o 166 ± 88 ms delší, v 7 místech téměř shodná s terčovou variantou. Ve druhé skupině o 64 místech takové ERP chyběly. Místa z obou skupin se nacházela téměř ve všech vyšetřených strukturách. U dvou osob s velkým počtem chybných odpovědí byly ERP pozorovány jak po správném tak po chybném provedení úkolu. Latence ERP po nesprávné odpovědi byla delší nebo téměř shodná s latencí ERP po správné odpovědi.

Závěr. Po správném provedení pohybu jsou zřejmě aktivovány četné struktury kortexu s odlišným nábořem pro různé procesy. Studie ukázala, že neuronální sítě aktivované po správném a chybném provedení úkolu mohou mít společné uzly a neuronální aktivita po pohybu by se mohla vztahovat k hodnocení podnětu, monitorování a hodnocení provedené akce, monitorování pohybu, zapojení paměti, či dokonce k emocím.

Práce byla podpořena grantem No. CZ.1.05/1.1.00/02.0068

MORFOLOGICKÉ ZMĚNY HIPOKAMPU V TETANOTOXINOVÉM MODELU TEMPORÁLNÍ EPILEPSIE

Demeterová, L.¹, Otáhal, J.¹, Kudláček, J.^{1,2}, Vlk, P.^{1,2}, Pošusta, A.^{1,2}, Jiruška, P.¹

¹*Fyziologický ústav, Akademie věd České republiky, Praha, Česká republika*

²*Fakulta elektrotechnická, České vysoké učení technické, Praha, Česká republika*

Úvod. Epilepsie vycházející z temporálního laloku představuje její nejčastější formu, která je často doprovázená farmakorezistencí. V důsledku absence typické epileptogenní léze - hipokampální sklerózy je tetanotoxinový model považován za model nelezionální formy temporální epilepsie. Cílem této práce bylo ozřejmit s pomocí histochemických metod detekujících buněčné poškození, zda-li v rámci tohoto modelu dochází ke ztrátě neuronů při absenci makroskopické léze.

Metodika. Epilepsie byla vyvolána u dospělých potkanů unilaterální aplikací 10 ng tetanotoxinu do CA3 oblasti dorzálního hipokampu (n=9). Kontrolním potkanům byl injikován roztok 50 mM PBS a 2 % BSA (n=5). Spontánní chování bylo registrováno s pomocí video monitorace po dobu 16 dní. Po ukončení monitorace byla zvířata perfundována, mozky extrahovány a postfixovány. Mozkové řezy byly histologicky značeny následujícími histochemickými metodami: Nisslovo barvení, FluorJade B (FJB) a DAPI.

Výsledky. Video monitorace prokázala rozvoj spontánních opakovaných záchvatů u všech zvířat injikovaných tetanotoxinem. U 7/9 zvířat jsme prokázali přítomnost FJB pozitivních neuronů v CA1 oblasti a subikulu kontralaterálního hipokampu. Degenerující neurony v kontralaterální CA4 oblasti byly přítomny u 1/9 zvířat. Bilaterální výskyt FJB pozitivních neuronů byl pozorován pouze u jednoho zvířete, kde morfologický nálezn v Nisslově barvení korespondoval s obrazem hipokampální sklerózy. U žádného z kontrolních zvířat jsme nepozorovali FJB pozitivní neurony.

Závěr. Tato práce přináší nové poznatky ohledně morfologických vlastností tetanotoxinového modelu. Ztráta neuronů je přítomna ve specifických oblastech hipokampu a kvalitativně má odlišný charakter ve srovnání s lezionálními modely temporalní epilepsie.

Práce byla podpořena granty Ministerstva zdravotnictví České republiky (IGA NT/14489-3), Nadačního fondu Neuron (2012/10) a Grantové agentury České republiky (P303/14-02634S).

ANXIETY-LIKE BEHAVIOR IN GONADECTOMIZED MALE RATS AFTER THE BLOCKADE OF CLASSICAL ANDROGEN AND ESTROGEN RECEPTORS

Domonkos, E.¹, Filová, B.^{1,2}, Borbélyová, V.¹, Bábíčková, J.^{1,3}, Tóthová, L.^{1,3}, Ostatníková, D.⁴, Celec, P.^{1,3,5,6}, Hodosy, J.^{1,3,4}

¹*Institute of Molecular Biomedicine, Faculty of Medicine, Comenius University, Bratislava, Slovakia;*

²*Institute of Physics, Biophysics, Informatics and Telemedicine, Faculty of Medicine, Comenius*

University, Bratislava, Slovakia; ³*Center for Molecular Medicine, Slovak Academy of Sciences,*

Bratislava, Slovakia; ⁴*Institute of Physiology, Faculty of Medicine, Comenius University, Bratislava,*

Slovakia; ⁵*Institute of Pathophysiology, Faculty of Medicine, Comenius University, Bratislava, Slovakia;*

⁶*Department of Molecular Biology, Faculty of Natural Sciences, Comenius University, Bratislava, Slovakia*

Background. Steroid hormones, including testosterone can exert their effects through rapid non-genomic actions in addition to slower, genomic mechanisms both described to modify mood disorders. The aim of our study was to observe how testosterone affects the anxiety-related behavior in male rats through the non-genomic mechanism of action.

Methods. Forty male Wistar rats were gonadectomized or sham operated and prior the testing injected either with an olive oil or testosterone propionate (1 mg/kg). In addition, an antagonist of androgen receptor (flutamide, 20 mg/kg) and a nonselective antagonist of estrogen receptors (tamoxifen, 10 mg/kg) were administered. Anxiety-like behavior and locomotor activity were monitored using an open field/novel object test and light-dark box and plasma concentration of testosterone was measured.

Results. Although plasma level of testosterone following gonadectomy and testosterone supplementation differed between experimental groups, no significant effect of testosterone was observed on anxiety-related behavior in open field/novel object test and light-dark box after the blockade of androgen and estrogen receptors.

Conclusion. In conclusion, non-genomic effect of testosterone on the anxiety-related behavior may require presence of classical steroid receptor. Future studies will be needed to elucidate the molecular mechanism of non-genomic steroid action and to investigate the different effects of testosterone on the manifestation of anxiety-like behavior depending on the previous organizational influences of gonadal hormones.

Práce byla podpořena grantem VEGA No. 1/0406/13 a APVV-0753-10.

CAPTOPRIL DECREASED EFFECT OF H₂S ON RAT BLOOD PRESSURE AND INHIBITED H₂S-INDUCED NITRIC OXIDE RELEASE FROM S-NITROSOGLUTATHIONE

Drobna, M.¹, Misak, A.², Holland, T.², Kristek, F.¹, Grman, M.^{2,3}, Waczulikova, I.³, Berenyiova, A.¹, Cacanyiova, S.¹, Ondrias, K.²

¹*Institute of Normal and Pathological Physiology*, ²*Institute of Molecular Physiology and Genetics, Slovak Academy of Sciences*, ³*Faculty of Mathematics, Physics and Informatics, Comenius University, Bratislava, Slovakia*

Introduction. Hydrogen sulfide (H₂S) is an endogenous signaling gaseous molecule playing an important role in cardiovascular system. The aim of this study was to follow i) in Wistar rats the in vivo effect of exogenous H₂S donor, Na₂S, on blood pressure (BP) and heart rate (HR) in the presence and absence of angiotensin-converting enzyme inhibitor, captopril, and ii) in vitro effect of captopril on H₂S induced NO release from S-nitrosoglutathione (GSNO).

Methods. In anesthetized Wistar rats (Zoletil 100: 4 mg/100g b.w. and Rometar: 0,5mg/100g b.w., i.p.) the right jugular vein was cannulated for administration of drugs (3,8,15,30 µmol/kg of Na₂S, and 2 µmol/l of captopril), right carotid artery was cannulated and connected to a Statham P32 Db pressure transducer for measurements of cardiovascular parameters (BP and HR). The effect of captopril on H₂S induced NO release from S-nitrosoglutathione (GSNO) was followed using Griess assay to quantify nitrite (NO₂⁻).

Results. The administration of Na₂S in low concentration (3 µmol/kg) transiently increased BP and decreased HR. Higher concentrations (8-30 µmol/kg) of Na₂S evoked biphasic effect on BP (the decrease followed by increase) and the decrease of HR. After pretreatment with captopril the biphasic BP response of H₂S remained present but the decrease of BP (the first part of H₂S effect) was attenuated. In vitro study revealed that captopril inhibited NO release from GSNO induced by H₂S.

Conclusion. The results of this study revealed concentration dependent responses of cardiovascular system to exogenous donor H₂S. The results contribute to understanding interrelationship among H₂S, NO and renin-angiotensin system. All together play an important role in BP regulation.

The study was supported by MZ 2012-51-SAV-I, VEGA grant 2/0111/10, 2/0019/09

THE ROLE OF TESTOSTERONE IN HUMAN SOCIAL – EMOTIONAL BEHAVIOR

Durdiaková, J.^{1,2}, Celec, P.^{1,2}, Koborová, I.², Fábryová, H.², Kukulová, L.¹, Ostatníková Daniela¹

¹ *Institute of Physiology, Comenius University, Bratislava, Slovakia*

² *Institute of Molecular Biomedicine, Comenius University, Bratislava, Slovakia*

Testosterone organizes brain structure prenatally and modulates cognition and behavior also later by its activation effect. Androgens can also modulate almost every aspect of sexual behavior, interests and emotions in romantic relationships. The aim of this study was to analyze how testosterone affects love attitude and style of loving in men. Young healthy men (N=65) provided the sample of venous blood for plasma testosterone and oxytocin levels measurement by ELISA method. DNA isolated from venous blood was used for genotyping the number of CAG repeats in gene encoding androgen receptor. Prenatal testosterone exposure was evaluated indirectly using second to fourth digit ratio (2D:4D). The style of loving that men use in personal relationship was examined by paper-pencil questionnaire Love Attitude Scale. Plasma testosterone level in young men negatively correlated with romantic loving style ($r = -0.280$, $p = 0.026$), and selfless altruistic love ($r = -0.44$, $p = 0.279$). Lower prenatal testosterone exposure indicated by higher 2D:4D enhanced romantic love attitude ($r = -0.257$, $p = 0.039$). Multivariate model using test of between subjects effects proved that the variability in romantic love behavior can be explained by the variability in plasma testosterone levels ($F = 2.637$, $p = 0.034$). This study brings the evidence testosterone levels are responsible for the way of behavior that individuals display in relationships. Future studies are needed for better understanding of the mechanism behind testosterone action.

Study was supported by grant UK39/2014.

REMOTE ISCHEMICKÝ PRECONDITIONING: ÚČINNÝ NÁSTROJ V PROCESCH BIOENERGETICKEJ ADAPTÁCIE MYOKARDU PRI PATOLOGICKEJ ZÁŤAŽI

Ferko, M.¹, Kancirová, I.¹, Jašová, M.¹, Waczulíková, I.², Čarnická, S.¹, Kucharská, J.³, Uličná, O.³, Vančová, O.³, Muráriková, M.¹, Ravingerová, T.¹, Ziegelhoffer, A.¹

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

²Katedra jadrovej fyziky a biofyziky, Fakulta matematiky, fyziky a informatiky, Univerzita Komenského v Bratislave, Bratislava, Slovensko

³Farmakobiochemické laboratórium III. internej kliniky, Lekárska fakulta Univerzity Komenského, Bratislava, Slovensko

Úvod: Funkčná remodelácia srdcových mitochondriových (MIT) membrán hrá dôležitú úlohu v dynamickej rovnováhe medzi patologickými ochoreniami a procesmi endogénnej ochrany. Cieľom štúdie je objasniť úlohu srdcových MIT v procesoch kardioprotekcie v prítomnosti akútneho streptozotocínom vyvolaného diabetes mellitus (DM) a remote ischemického preconditioningu (RIP).

Metódy: Experimentálny model: potkany kmeňa Wistar, samce. DM indukovaný jednorázovým podaním streptozotocínu v dávke 65mg/kg. Izolované srdcia potkanov vystavené 15 min. stabilizovanej perfúzii, 30 min. globálnej ischémii a 40 min. reperfúzii, podľa Langendorffa. RIP vyvolaný zaškrtením femorálnej artérie na pravej zadnej končatine potkana 3 sériami 5 min. ischémie s 5 min. reperfúziou. MIT Mg-ATPázová aktivita meraná na základe množstva Pi uvoľneného štiepením ATP. Fluorescenčná anizotropia MIT membrán stanovená spektrofluorometricky fluorescenčnou sondou 1,6-difenyl-1,3,5-hexatriénom. Konjugované diény MIT membrán stanovené spektrofotometricky pri 233 nm. Oxidovaná forma koenzýmov Q₉, Q₁₀ stanovené metódou HPLC.

Výsledky: V štúdiu na DM potkanoch bol pozorovaný oproti kontrolnej skupine nárast aktivity MIT Mg²⁺-ATPázy a významný pokles fluorescence anizotropie, čo uľahčuje transport ATP z MIT do cytoplazmy. Diabetické srdcia a srdcia podrobené RIP vykazovali zníženú citlivosť voči ischémii s následnou zvýšenou schopnosťou obnovy po reperfúzii. RIP v kombinácii s DM nepôsobil aditívne, i napriek tomu však daná kombinácia poskytovala významné zvýšenie fluidity MIT membrány v porovnaní s kontrolnou skupinou.

Záver: Stimul indukovaný prostredníctvom DIA a RIP viedol k pozitívnej funkčnej remodelácii MIT membrán a iniciácii procesov adaptácie myokardu na patologický podnet. Predpokladáme, že do indukcie pozitívnej remodelácie vedúcej k adaptácii myokardu na danú patologickú záťaž sú zapojené voľné radikály.

Granty: VEGA 2/0101/12; 2/0133/15; 2/0201/15, APVV-0102-11

VÝVOJ VYBRANÝCH ELEKTROKARDIOGRAFICKÝCH PARAMETRŮ BĚHEM LÁZEŇSKÉ LÉČBY U PACIENTŮ S DM II.TYPU

Fialová E.¹, Baevsky R.M.², Berseneva A.P.², Kittnar O.¹

¹ Fyziologický ústav 1.lékařské fakulty UK, Praha, Česká republika

² Ústav biomedicínských problémů Ruské Akademie věd, Moskva, Rusko

Úvod. Diabetes mellitus není jen metabolickým onemocněním, ale jedná se prakticky o kardiovaskulární onemocnění, což je ještě více nápadné u diabetu II.typu (DM II). Cílem naší studie bylo zjistit zda komplexní lázeňská léčba (procedury a pitná kúra) může zlepšit vybrané elektrokardiografické parametry u nemocných s DM II.

Metodika. Do vyšetření bylo zařazeno 96 pacientů léčebných lázní, 47 z nich s DM II (9 pacientů s kompenzovaným DM s maximální hladinou glykémie 6.5mmol/l, 38 pacientů s nekompenzovaným DM s hladinou glykémie 6,5-13,7mmol/l) a kontrolní skupina 49 pacientů bez diabetu a jiných poruch metabolismu glukózy. Elektrofyzilogické vyšetření pacientů bylo provedeno systémem KARDiVAR před a po třítýdenní lázeňské léčbě. Studované parametry byly odvozeny z analýzy variability srdeční frekvence (IRSA, IC), mikrovoltové T-wave alternans a mikrovoltové R-wave alternans (IM).

Výsledky. U kompenzovaných diabetiků byly zjištěny následující změny po lázeňské léčbě: zvýšená tepová frekvence ($80,9 \pm 11,0$ vs. $74,6 \pm 9,6$; $p=0,028$), snížený index centralizace IC ($1,3 \pm 0,6$ vs. $2,9 \pm 1,4$; $p=0,027$) a snížený index myokardu IM ($9,9 \pm 7,4$ vs. $18,0 \pm 6,3$; $p=0,041$). U nedostatečně kompenzovaných diabetiků došlo rovněž ke snížení IM ($10,9 \pm 8,6$ vs. $16,9 \pm 5,2$; $p=0,001$) a dále ke snížení indexu aktivity regulačních systémů IRSA ($4,1 \pm 3,5$ vs. $6,3 \pm 1,9$; $p=0,001$). U kontrolní skupiny nastalo pouze mírné zvýšení IRSA ($4,4 \pm 1,3$ vs. $3,8 \pm 1,4$; $p=0,006$).

Závěr. Výsledky prokázaly příznivé změny u pacientů s DM II po léčbě především ve smyslu snížení aktivity sympato-adrenálního systému (pokles IRSA), zlepšení viability myokardu (pokles IM) a zvýšení centrálně řízené variability srdeční frekvence (pokles IC).

Práce byla podpořena grantem PRVOUK No. 205038

ŠTÚDIUM PROTIZÁPALOVÉHO ÚČINKU Ω 3-MASTNÝCH KYSELÍN NA EXPRESIU CX43 V AORTE.

Frimmel, K.¹, Sotníková, R.², Navarová, J.², Bernátová, I.³, Križák, J.¹, Okruhlicová, Ľ.¹

¹ Ústav pre výskum srdca SAV, Bratislava, Slovenská republika

² Ústav experimentálnej a farmakologickej toxikológie SAV, Bratislava, Slovenská republika.

³ Ústav normálnej a patologickej fyziológie SAV, Bratislava, Slovenská republika.

Abnormálna medzibunková komunikácia prostredníctvom komunikačných spojení (KS), tvorených konexínovými proteínmi (Cx), zohráva dôležitú úlohu pri rozvoji chorôb vaskulárneho systému. KS zabezpečujú priamu medzibunkovú komunikáciu transportom nízkomolekulových látok a iónov do veľkosti 1 kDa, čím ovplyvňujú bunkovú homeostázu a cievny tonus. Hypertriglyceridémia (HTG) a bakteriálna infekcia prispievajú k tvorbe a rozvoju aterosklerózy. Navyše, bakteriálny lipopolysacharid (LPS) v nízkych koncentráciách zvyšuje hladiny triacylglycerolov (TAG), v dôsledku čoho narastá riziko vzniku aterosklerózy. Pleiotropné účinky omega-3 mastných kyselín (Ω 3MK) redukujú incidencia chorôb kardiovaskulárneho systému vrátane aterosklerózy. Preto cieľom nášho výskumu bolo zistiť vplyv LPS (1 mg/kg, jednorazová dávka, i.p.) na expresiu Cx43 (hlavná Cx izoforma ciev) v aorte hereditárne HTG (hHTG) potkanov v spojitosti s jej od endotelu závislej relaxácie. Skúmali sme aj protizápalový účinok Ω 3MK (30 mg/kg/deň) na Cx43 expresiu a relaxačnú odpoveď aorty hHTG potkana po aplikácii LPS. V 10-dňovom experimente sme použili dospelé samce rozdelené do štyroch skupín: hH_K, hH _{Ω 3}, hH_{LPS} a hH_{LPS Ω 3}. Sledovali sme expresiu Cx43, CD68 (receptor makrofágov) a aktivitu NOS v tkanive aorty, relaxačnú odpoveď aorty závislú od endotelu a markery zápalu v plazme (aktivitu enzýmu NAGA, hladinu LDH). LPS zvýšil expresiu Cx43 v porovnaní s hH_K, čo bolo spojené s poškodenou relaxáciou aorty. LPS zvyšoval hladinu LDH, aktivitu NAGA a NOS, expresiu CD68 a hladiny TAG. Podávanie Ω 3MK v skupine hH_{LPS Ω 3} znižovalo expresiu Cx43, zlepšovalo relaxáciu aorty na úroveň hH_K, znížilo aktivitu NAGA, hladinu LDH, a zvýšilo aktivitu NOS v porovnaní s hH_{LPS}. V hH_{LPS Ω 3} skupine bola expresia CD68 nezmenená v porovnaní s hH_{LPS}. Naše výsledky poukazujú, že KS môžu byť zahrnuté v procesoch rozvoja aterosklerózy a ich cielené ovplyvňovanie môže byť jedným z podporných terapeutických cieľov. Podporené projektom VEGA 2/0065/13.

VPLYV DOSPIEVANIA NA ODPOVEĎ MYOKARDU NA ISCHÉMIU A ADAPTAČNÉ PROCESY V SRDCI POTKANA: ŠTÚDIUM MOLEKULÁRNYCH MECHANIZMOV.

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. Znížená odolnosť srdca voči ischemicko-reperfúznemu (IR) poškodeniu bola preukázaná v mnohých štúdiách na človeku aj na animálnych modeloch. Presné bunkové mechanizmy tohto nepriaznivého fenotypu však nie sú dodnes plne objasnené. Starnutie môže interferovať aj s mechanizmami prirodzenej ochrany myokardu (preconditioning, IPC) a spôsobovať zmeny v protektívnych signalizačných kaskádach.

Metodika. V našej štúdii sme skúmali účinky starnutia na funkciu srdca, jeho odpoveď na ischémiu a na vybrané proteíny zahrnuté v kaskáde „prežitia“ 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 IPC indukovaného jedným cyklom 5-min I/5-min R. Merali sme veľkosť infarktovej zóny (IS), citlivosť na ventrikulárne arytmie a kontraktilnú funkciu srdca (LVDP). V paralelných skupinách boli odobraté vzorky tkaniva za bazálnych podmienok a po IR, pre detekciu hladín proteínov: proteínkináza B (Akt), fosforylovaná (aktivovaná) Akt (pAkt), endotelová NO syntáza (eNOS) a proteínkináza Cε (PKCε).

Výsledky. Dospievanie zhoršilo odpoveď srdca voči letálnemu IR poškodeniu (zväčšená veľkosť infarktu), zvýšilo arytmogenezu a tieto zmeny boli viac viditeľné u mladších skupín zvierat. Funkčná obnova (LVDP) vekom ovplyvnená nebola. IPC potlačil výskyt malígnych arytmií, zmenšil veľkosť infarktu a zlepšil obnovu LVDP u mladších skupín, zatiaľ čo jeho účinok bol u staršej skupiny potlačený. Strata kardioprotektívneho účinku IPC bola spojená so zníženou bazálnou aj post-IR hladinou Akt, pAkt, eNOS aj PKCε u staršej skupiny zvierat. Taktiež došlo k poklesu v IPC-indukovanej upregulácii týchto proteínov u dospelaj skupiny v porovnaní s mladšími.

Záver. S vekom spojené zmeny v odpovedi srdca na ischémiu môžu byť spôsobené potlačením prirodzených mechanizmov kardioprotekcie v dôsledku disfunkcie proteínov zahrnutých v protektívnej bunkovej signalizácii.

Práca bola podporená grantami: VEGA SR 2/0201/15, APVV-0102-11

INTERACTION OF ORGANIC POLYSULFIDES WITH S-NITROSOGLUTATHIONE

Grman, M.¹, Ondriašová, E.², Nasim, J.³, Jacob, C.³, Ondriaš K.¹

¹ *Institute of Molecular Physiology and Genetics, Slovak Academy of Sciences, Bratislava, Slovak Republic*

² *Faculty of Pharmacy, Comenius University, Bratislava, Slovak Republic*

³ *School of Pharmacy, Universität des Saarlandes, Saarbrücken, Germany*

Introduction. Garlic (*Allium sativum* L.) is one of the most used vegetables all over the world. Its beneficial properties have been known since ancient times. These properties are nowadays attributed to a presence of organosulfur compounds, especially organic polysulfides. Recently it was observed that human red blood cells, glutathione or cysteine convert these polysulfides into H₂S, a third gasotransmitter, which influences many biological processes.

Methods. Organic polysulfides diallyl (mono)/di/tri/tetra sulfide (DAS/DADS/DATS/DATTS) and dipropyl (mono)/di/tri/tetra sulfide (DPS/DPDS/DPTS/DPTTS) were synthesized by Jawad Nasim at the School of Pharmacy, Universität des Saarlandes, Saarbrücken, Germany. The buffer: 200 mM Tris/HCl with 100 μM DTPA, pH 7.4 was used. An effect of the polysulfides to release nitric oxide (NO) from S-nitrosogluthathione (GSNO), in the presence/absence of reduced thiols cysteine (Cys) or glutathione (GSH), was measured by UV-VIS absorption spectroscopy (HP 8452A) as changes at 280, 334 and 412 nm.

Results. All studied compounds alone had no effect on the decomposition of GSNO (no NO release). On the other hand, DADS/DATS/DATTS and DPTS/DPTTS in the presence of reduced thiols (Cys>GSH) released NO from GSNO. The diallyl compounds had more pronounced effect than dipropyl compounds and the NO release effect was increased with longer sulfur chain (DATTS>DATS>DADS).

Conclusion. Our results may contribute to the understanding of a molecular mechanism how regular consumption of garlic may reduce blood pressure and decrease the risk of cardiovascular problems.

This work was supported by APVV-0074-11, VEGA 2/0050/13, VEGA 2/0094/12.

ÚČINOK VYBRANÝCH ANTIDEPRESÍV NA FUNKCIU SRDCA POTKANOV V PODMIENKACH ISCHEMICKO-REPERFÚZNEHO POŠKODENIA

Gulač, P.¹, Vicen, M.¹, Kráľová, E.¹, Tomášová, L.¹, Knezl, V.², Stankovičová, T.¹

¹*Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta, UK, Bratislava*

²*Ústav experimentálnej farmakológie a toxikológie SAV, Bratislava*

Úvod. Depresia v súčasnosti predstavuje závažný medicínsky problém. Počas terapie depresie dochádza okrem iných aj k ovplyvneniu kardiovaskulárneho systému. Cieľom našej práce bolo zistiť priamy vplyv zvolených antidepresív amitryptilínu, citalopramu a venlafaxínu na ischemicko-reperfúzne poškodenie myokardu.

Metodika. K sledovaniu účinku antidepresív (AD) na spontánne tepajúce srdce potkana sme použili perfúziu srdca podľa Langendorffa. Po 10 minútovej stabilizácii bolo do perfúzie pridávané antidepresívum v koncentrácií 10^{-7} mol.l⁻¹ po dobu 15 minút. Potom nasledovala 30 minút globálna ischemia a obnovenie reperfúzie počas 45 minút.

Výsledky. Amitryptilín spôsobil oslabenie kontrakility myokardu o 36 % a citalopram o 32 %. Všetky AD znižovali prietok vencovitými tepnami najintenzívnejšie u venlafaxínu o 25 %. Mierne spomalenie srdcovej frekvencie sme zaznamenali u amitriptylínu zatiaľčo venlafaxín zvýšil frekvenciu o 5 %. Počas ischemicko reperfúzneho poškodenia myokardu sa výrazne oslabila kontraktilita, znížil sa prietok vencovitými tepnami a zvýšil sa počet dysrytmii. Amitryptilín zrýchlil srdcovú frekvenciu o 12 %, avšak venlafaxín srdcovú frekvenciu spomalil a znížil prietok vencovitými tepnami. AD potencovali výskyt dysrytmii v poradí citalopram < venlafaxín < amitryptilín.

Záver. Priame podanie AD v koncentrácií 10^{-7} mol.l⁻¹ vedie k poruchám srdcovej činnosti. V podmienkach ischemicko reperfúzneho poškodenia myokardu potkana testované AD neochránili myokard pred zmenami funkcie ale dokonca zhoršovali hemodynamickú a elektrickú aktivitu srdca.

Práca bola finančne podporená grantom: VEGA, SR 1/1342/12

BIOLOGICKÉ KORELÁTY STRESU U MLADEJ POPULÁCIE

Harinek, A., Filčíková D., Sersenová, D., Ostatníková D.

Fyziologický ústav LF UK Bratislava, Slovensko

Úvod: Kognitívna záťaž predstavuje významný psychologický faktor spôsobujúci aktiváciu stresovej odpovede organizmu na centrálnej aj periférnej úrovni. Túto odpoveď je možné monitorovať pomocou zmien autonómneho nervového systému. Za významný marker autonómnej regulácie sa považuje variabilita frekvencie srdca (VFS). V poslednom období narastajúci počet štúdií naznačuje, že stúpajúca aktivita sympatikového nervového systému (SNS) počas pôsobenia stresu by mohla byť sprevádzaná zvýšením koncentrácie slinnej alfa-amylázy (sAA), čo by mohlo predstavovať ďalší neinvazívny marker stresom podmienených zmien. Cieľom našej štúdie bolo porovnať zmeny vybraných parametrov VFS a koncentrácie sAA počas mentálneho stresu.

Metodika: Štúdie sa zúčastnilo spolu 83 študentov vysokej školy (25 mužov a 58 žien; vek = 20,75; SD = 1,39), ktorých sme náhodne rozdelili do dvoch skupín, experimentálnej a kontrolnej. Procedúra pozostávala z troch 5 minútových fáz počas ktorých sme zaznamenávali VFS a na konci každej sme odobrali vzorku sliny. Obe skupiny sledovali v prvej a tretej fáze videá s upokojujúcou tematikou. Počas druhej fázy bol experimentálnej skupine administrovaný Stroopov test pričom kontrolná skupina pokračovala v sledovaní upokojujúceho videa.

Výsledky: V experimentálnej skupine sme na rozdiel od kontrolnej skupiny zaznamenali signifikantný pokles aktivity v oblasti vysokej frekvencie (HFnu) ($p < 0,0001$) počas druhej fázy a zároveň sme pozorovali nesignifikantný nárast aktivity v nízkofrekvenčnej oblasti (LFnu) a pomeru LF/HF. V experimentálnej skupine sme zároveň pozorovali nárast v koncentráciách sAA po záťaži, tieto zmeny však neboli signifikantné.

Záver: Zaznamenané zmeny v parametroch VFS naznačujú pokles aktivity parasympatikového nervového systému počas stresu. Naznačený trend v zmenách VFS a koncentrácie sAA v súvislosti s aktivitou SNS počas stresu však vyžaduje ďalšie skúmanie.

Podporené grantmi VEGA 1/0066/12, APVV 0254-11 a APVV 0253-10

VPLYV OXYTOCÍNU NA DIFERENCIÁCIU NEURONÁLNYCH BUNIEK

Havránek, T.¹, Lešťanová, Z.¹, Štrbák, V.^{1,2}, Bakoš J.^{1,3}, Bačová Z.^{1,2}

¹ Ústav experimentálnej endokrinológie, SAV, Bratislava, Slovensko

² Ústav patologickej fyziológie Lekárskej Fakulty SZU, Bratislava, Slovensko

³ Fyziologický ústav Lekárskej Fakulty UK, Bratislava, Slovensko

Úvod: Oxytocín (OXT), neuropeptid produkovaný najmä v jadrách hypotalamu je dobre známy vďaka svojmu širokému spektru fyziologických účinkov na organizmus. V súčasnej dobe sa pozornosť upriamuje na jeho parakrinné účinky v centrálnom nervovom systéme (CNS), zapojenie oxytocínu do vývinu CNS, ako aj jeho pôsobenie počas remodelácie mozgu. Cieľom predkladanej štúdie bolo určiť vplyv neonatálneho a intracerebroventrikulárneho (ICV) podania OXT na zmeny génovej expresie vybraných markerov diferenciácie neuronálnych buniek.

Metodika: Experiment I. Samcom potkanov kmeňa Wistar bol podávaný OXT neonatálne, na druhý až šiesty deň v koncentrácii 0,05 mg/zviera intraperitoneálne. Hipokampus a hypotalamus boli odobrané na 21. a 60. deň po narodení. Experiment II. Dospelým potkanom bol intracerebroventrikulárne podávaný OXT pomocou osmotickej minipumpy po dobu 7 dní v koncentrácii 20 ng/μl rýchlosťou 0,5 μl/h. Hipokampus bol odobraný na 8. deň. Použitím qPCR bola stanovená génová expresia gliálnych a neuronálnych markerov (GFAP – astrocyty, CD68 – mikroglia, CNPáza – oligodendrocyty, Enoláza – neuróny).

Výsledky: Neonatálne a ICV podanie OXT zvýšilo génovú expresiu enolázy v hipokampe. Expresia markeru astrocytov - GFAP signifikantne vzrástla v hypotalame a v hipokampe dvojmesačných potkanov. Mikroglálny marker CD68 bol signifikantne znížený v hipokampe dvojmesačných potkanov. ICV podanie OXT viedlo k signifikantnému nárastu génovej expresie markera oligodendrocytov CNPázy v hipokampe, naopak neonatálne podanie OXT viedlo k jeho poklesu tak v hipokampe ako aj v hypotalame.

Záver: Namerané zmeny expresie markerov diferenciácie neuronálnych buniek naznačujú, že oxytocín môže mať vplyv na špecializáciu neurónov a glií počas vývinu najmä v hipokampe.

Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja APVV-0253-10 a VEGA 2/0132/12 a 2/0119/15

STUDIUM PROCESU STÁRNUTÍ NA MODELOVÉM ORGANISMU *PYRRHOCORIS APTERUS*

Hejníková, M.^{1,2}, Hodková, M.¹

¹ Biologické centrum, Entomologický ústav, České Budějovice, Česká republika

² Jihočeská univerzita, Přírodovědecká fakulta, České Budějovice, Česká republika

Úvod. Hypotéz vysvětlujících fenomén stárnutí je několik. Jednou z nich je tzv. „daň za reprodukci“, kdy se předpokládá, že produkce potomstva negativně ovlivňuje životaschopnost organismu. Tato práce se zaměřila na hormonální řízení reprodukce, jako na jeden z možných faktorů ovlivňujících stárnutí. Hlavním hormonem řídícím reprodukci u hmyzu je juvenilní hormon, který svou funkcí a důležitostí lze přirovnat k savčím gonadotropinům. Jeho absence u samic způsobuje neplodnost, avšak efekt u samců není tak jednoznačný. Cílem práce bylo zjistit, zdali a do jaké míry se juvenilní hormon podílí na snížení délky života jedinců *Pyrrhocoris apterus*.

Metodika. Po chirurgickém vyjmutí zdroje juvenilního hormonu, přídatné žlázy *corpus allatum*, byl zkoumán vliv na plodnost samců a délku přežívání jak samců, tak samic. Rovněž byl pomocí RNA interference umlčen gen pro syntézu receptoru juvenilního hormonu. Do pozorování byly zařazeny i kontrolní skupiny nijak neovlivněné a skupiny reprodukčně intaktních diapauzních jedinců s přirozenou absencí juvenilního hormonu. Jednotlivé pokusné skupiny byly navzájem porovnány a výsledky statisticky zpracovány pomocí programu GraphPad.

Výsledky. Výsledky pokusů ukazují, že jedinci bez receptoru juvenilního hormonu mají podstatně prodlouženou délku přežívání, přičemž efekt je mnohem výraznější u nepáříčích se jedinců. Zajímavostí je, že nepřítomnost receptoru nemá negativní dopad na plodnost pozorovaných samců. Rovněž skupiny s absencí juvenilního hormonu žijí mnohem déle než kontrolní jedinci. Ve všech případech se sexuální interakce negativně projevila na délce života. Ovšem prokazatelně nejvyššího věku se dožívají diapauzní jedinci.

Závěr. Z výsledků vyplývá, že juvenilní hormon hraje významnou negativní roli v procesu stárnutí, přičemž sexuální chování tento efekt násobí a dochází ke zkrácení délky života až o 50%. Samotná tvorba spermií nebo vajíček jako takových, nemá na délku života významný vliv.

Práce byla podpořena grantem GACR P502/10/1612

VPLYV POTRAVOVEJ ODMENY NA ČINNOSŤ CIRKADIÁNNHO SYSTÉMU.

Herichová I., Kavická D., Zorvanová M., Zeman M.

Katedra živočíšnej fyziológie a etológie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Slovensko

Úvod. Denné rytmy sú regulované cirkadiánnym systémom s hierarchickou organizáciou. Hlavný oscilátor sa u človeka nachádza v suprachiasmatických jadrách hypotalamu a periférne oscilátory sú lokalizované v ostatných tkanivách vrátane mozgových. Existuje viacero spôsobov, ako nastaviť cirkadiánnu systém, medzi nimi aj manipulácia s kvalitou či dostupnosťou potravy a potravinová odmena.

Metodika. Pohlavne dospelé potkany kmeňa Wistar boli nasynchronizované na svetelný režim svetlo (L) tma (D) 12:12 a vystavené potravinovej reštrikcii, ktorá spočívala v obmedzení dostupnosti potravy na dve hodiny počas svetlej fázy 24 cyklu, alebo potravinovej odmeny, ktorá bola poskytovaná 3 hodiny po skončení D fázy. Vzorky dorzomediálneho hypotalamu (DMH), pečene a srdca boli odoberané počas 24h cyklu v 4h intervalov. Génová expresia bola porovnávaná pomocou RT² profile PCR Array a následne validovaná pomocou Real time PCR.

Výsledky. Porovnali sme vplyv potravinovej reštrikcie a potravinovej odmeny na génovú expresiu v DMH, pečeni a srdci. Potravinová reštrikcia indukovala v srdci a pečeni zmeny v expresii *per1*, *2*, *3*, *clock*, *Bmal1*, viacerých jadrových receptorov a hodinami kontrolovaných génov ako aj viacerých tkanivovo špecifických regulačných génov. Potravinová odmena v DMH a pečeni naopak indukovala len malý počet transkripčných faktorov základnej spätňoväzobnej slučky a niektoré rastové faktory.

Záver. Na základe screeningu génovej exprese boli identifikované tkanivovo špecifické transkripčné faktory a hodinami regulované gény, ktoré sú indukovateľné potravinovou odmenou. Nové poznatky budú využité na zlepšenie synchronizácie periférnych oscilátorov v podmienkach nepravidelného svetelného režimu.

Práca bola podporená grantami No. VEGA 1/1262/12, 1/0499/15, APVV-0291-12.

VPLYV RÔZNYCH FORIEM DOXORUBICÍNU NA HLADINU 4 - HYDROXY - 2 - NONENALU AKO MARKERA LIPOPEROXIDÁCIE U POTKANOV

Hlaváčová, M.¹, Paulová, H.¹, Stračina, T.², Nováková, M.²

¹ *Biochemický ústav, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity, Brno, Česká republika*

² *Fyziologický ústav, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity, Brno, Česká republika*

Úvod. Doxorubicín (DOX) je antracyklínové cytostatikum používané pri liečbe širokého spektra nádorových ochorení. Jeho intenzívnejšiemu použitiu bránia mnohé nežiaduce účinky. Za najzávažnejší z nich sa považuje kardiotoxicita závislá na dávke. Je preto snahou vyvíjať nové liekové formy DOX, ktoré majú menšie nežiaduce účinky pri zachovanej protinádorovej účinnosti. Mechanizmus kardiotoxicity na molekulárnej úrovni nie je objasnený do všetkých detailov, avšak za jeden z možných faktorov prispievajúcich k jej vzniku sa považuje tiež vplyv oxidačného stresu. V našej práci sme sa preto zamerali na stanovenie 4-hydroxy-2-nonenalu (4-HNE) v plazme u potkana po aplikácii rôznych foriem DOX. Plazmatická hladina 4-HNE totiž odráža mieru lipoperoxidácie v organizme, a preto je vhodným markerom oxidačného stresu.

Metodika. Bolo použitých 40 samcov potkana Wistar (305 ± 21 g), rozdelených do 5 skupín A – E ($n=8$). Zvieratám bola i.p. aplikovaná jedna dávka rôznych foriem DOX, príp. vehikulum: aqua pro inj. (A), konvenčný DOX (B), DOX enkapsulovaný v apoferritíne (C), lipozomálny DOX (D) a DOX konjugovaný s fullerénovým nosičom (E), vždy v dávke ekvivalentnej 5 mg/kg konvenčného DOX. Po 24 hodinách od aplikácie bola odobraná plazma a stanovená hladina 4-HNE pomocou HPLC na reverznej fáze s UV detekciou modifikovanou metodikou podľa Kintera.

Výsledky. Najvyššie hodnoty 4-HNE ($99,75 \pm 34,90$ nmol/l) v porovnaní s kontrolnou skupinou A boli zmerané po aplikácii konvenčného doxorubicínu (skupina B). Hladiny 4-HNE v ostatných skupinách dosiahli nasledujúcich hodnôt: skupina C = $36,38 \pm 13,69$ nmol/l, skupina D = $53,14 \pm 13,74$ nmol/l a skupina E = $34,88 \pm 11,13$ nmol/l.

Záver. Hladina 4-HNE v plazme je zvýšená po aplikácii všetkých foriem doxorubicínu. Avšak nové formy, na rozdiel od používanej konvenčnej a lipozomálnej liekovej formy, potenciejú oxidačný stres v štatisticky významne nižšej miere. Pokiaľ sa preukáže ich dostatočný cytostatický účinok a možnosť zavedenia do klinickej praxe, môžu byť jednou z ciest ochrany pacientov pred nežiaducimi účinkami protinádorovej liečby.

Práca podporená grantmi: MUNI/A/0954/2013, MUNI/A/0957/2013, MUNI/A/1195/2014, MUNI/A/1326/2014.

VLIV RŮZNÉHO POMĚRU MASTNÝCH KYSELIN N-3/N-6 NA RYCHLOST HOJENÍ RÁNY V EXPERIMENTU

Hokynková A.¹, Wilhelm Z.², Sedláčková M.³, Mikeska J.⁴, Pechová A.⁵

¹*Klinika popálenin a rekonstrukční chirurgie, FN, LF MU Brno*

²*Fyziologický ústav LF MU, Brno,*

³*Ústav histologie a embryologie LF MU Brno*

⁴*Biomedica, Praha,* ⁵*Fakulta Veterinární medicíny VFU, Brno*

Úvod Mastné kyseliny n-3 a n-6 sehrávají významnou roli v procesech hojení rány. Zajímalo nás, jak se po p.o. podání podílí na procesech hojení rány jejich vzájemný poměr při zachování celkově stejného množství.

Metodika V experimentu bylo celkem 96 potkanů, kteří byly rozděleni do dvou stejných podskupin podle velikosti vytvořené rány. První poskupina (P1) měla v celkové anestezii vytvořenu ránu v oblasti hřbetu 2x2 cm, druhá poskupina (P2) měla ránu 2 cm v oblasti hřbetu vytvořenou pouze rovnou incizí.

V každé z podskupin byla skupina kontrolní (K) a dvě skupiny experimentální, které přijímaly per os kromě pelet i vody ad libitum i 20 % tukovou mikroemulzi v dávce 1 ml/kg/den, složenou ze směsi přírodních olejů s obsahem FA, podávaných ve vodné emulzi. U podskupiny (FA1) byl podáván poměr mastných kyselin n-3/n-6 1:1, u skupiny FA3 pak 3:1. Výživa byla podávána denně, přičemž se jednou za týden upravovala na základě aktuální hmotnosti zvířete. Rána a parametry hojení rány byly hodnoceny s využitím planimetrie, histologie, biochemie séra 1. a 3. týden po vzniku rány u všech skupin. Statistické hodnocení bylo prováděno s pomocí nepárového Mann Whitneyova testu.

Výsledky. V poskupině P1 byly nalezeny signifikantní rozdíly v kvantitativním zastoupení zánětlivého infiltrátu mezi skupinou K a skupinami FA1 a FA3 po prvním týdnu. Současně byl nalezen rozdílný stupeň diferenciac fibroblastů mezi kontrolní skupinou K a skupinami FA1 a FA3 ve 3. týdnu po vytvoření rány. Planimetricky byla popsána rychlejší kontrakce rány oproti kontrolní skupině o 10 %. V podskupině P2 nebyly nalezeny žádné rozdíly mezi jednotlivými skupinami ani po 1. týdnu, ani po 3. týdnech po vytvoření rány. V biochemických hodnotách všech skupin nebyly nalezeny rozdíly.

Závěr Mastné kyseliny n-3 a n-6 významně zrychlily hojení rány i stupeň diferenciac fibroblastů. Nepodařilo se ale nalézt rozdíly mezi skupinami FA1 a FA3, kterým byly podávány mastné kyseliny s různým poměrem zastoupení.

VLASTNOSTI DRASLÍKOVÉHO PROUDU *INWARD RECTIFIER* CITLIVÉHO NA ACETYLCHOLIN U SÍŇOVÝCH BUNĚK POTKANA A JEHO OVLIVNĚNÍ ETHANOLEM

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

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

Úvod. Iontové proudy přes draslíkové kanály typu *inward rectifier* hrají důležitou roli při vzniku arytmií včetně arytmií spojených s konzumací alkoholu (zejména fibrilace síní). Mezi tyto proudy řadíme proud I_{KI} a v síních dále proud citlivý na acetylcholin $I_{K(Ach)}$, který je tvořen jednak konstitutivně aktivní složkou (měřenou v nepřítomnosti acetylcholinu) a dále složkou vyvolanou acetylcholinem v závislosti na jeho koncentraci. Jak jsme zjistili, síňový I_{KI} potkana vykazuje k ethanolu nízkou citlivost. V této práci jsme se proto zaměřili na analýzu změn $I_{K(Ach)}$.

Metodika. Měření byla provedena na enzymaticky izolovaných síňových srdečních buňkách potkana metodou *whole-cell patch clamp* při pokojové teplotě.

Výsledky. Konstitutivně aktivní složka $I_{K(Ach)}$ (měřena jako proud citlivý na specifický inhibitor tertiapin-Q v koncentraci 300 nM) dosahovala v kontrole úrovně $-1,30 \pm 0,35$ pA/pF při -100 mV ($n = 24$) a $0,31 \pm 0,04$ pA/pF při -40 mV ($n = 24$). Velikost proudu $I_{K(Ach)}$ vybuzeného 3 μ M acetylcholinem byla v ustáleném stavu $-6,50 \pm 0,62$ pA/pF při -100 mV ($n = 51$) a $1,91 \pm 0,24$ pA/pF při -40 mV ($n = 42$). Ethanol v klinicky relevantní koncentraci 20 mM ($\sim 0,92\%$) významně ovlivňoval obě složky proudu. U konstitutivně aktivní složky $I_{K(Ach)}$ došlo k výraznému, napětově závislému navýšení: při -100 mV o $114,6 \pm 28,3$ % ($n = 8$) a při -40 mV o $40,2 \pm 9,7$ % ($n = 7$). U proudu $I_{K(Ach)}$ vybuzeného acetylcholinem byl patrný napětově nezávislý efekt, a to dvojího charakteru. U některých buněk jsme pozorovali signifikantní navýšení o $67,8 \pm 21,8$ % při -100 mV a o $81,7 \pm 31,0$ % při -40 mV ($n = 7$). U jiných buněk se naopak projevilo snížení proudu: při -100 mV o $28,9 \pm 6,8$ % a při -40 mV o $21,5 \pm 9,8$ % ($n = 7$).

Závěr. Ethanol v klinicky relevantní koncentraci signifikantně ovlivňoval jak konstitutivně aktivní, tak acetylcholinem indukovanou složku $I_{K(Ach)}$, což by mohlo přispět k vysvětlení vlivu konzumace alkoholu na elektrofyzilogii síňového myokardu.

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

POHLAVNÉ ROZDIELY V ÚČINKU PRENATÁLNEHO, NEONATÁLNEHO A AKÚTNEHO METAMFETAMÍNU NA SPRÁVANIE DOSPELÉHO POTKANA LABORATÓRNEHO

Ivana Hrebíčková, Mária Malinová, Eva Macúchová, Romana Šlambergová

Univerzita Karlova v Praze, 3. lékařská fakulta, Ústav normální, palatogické a klinické fyziologie, Praha, Česká republika

Úvod. Psychostimulancia, medzi ktoré patrí aj metamfetamín (MA) ovplyvňujú celkovú psychomotorickú aktivitu. Zvyšujú lokomóciu a exploračné správanie a znižujú komfortné prejavy jedinca. Naše predchádzajúce štúdie potvrdzujú, že opakované prenatálne exponovanie MA vyvoláva v dospelosti zvýšenú senzitivizáciu na tú istú drogu u potkanov v závislosti od pohlavia.

Metodika. Predmetom tejto štúdie bolo porovnanie účinku akútnej dávky MA na lokomóciu a exploračné správanie dospelého potkana laboratórneho po predchádzajúcom exponovaní tou istou drogu v rôznych štádiách prenatálneho a skorého neonatálneho vývinu. Na simuláciu prenatálneho vývinu boli matky testovaných mláďat denne v prvej (GD 1-11) a druhej (GD 12-22) polovici gravidity subkutánne ovplyvnené MA (5 mg/kg) alebo fyziologickým roztokom (SA). V ďalšej skupine sme matkám podávali drogu v rovnakej dávke počas skorej laktácie (PD 1-12), kde boli mláďatá exponované prostredníctvom materského mlieka alebo sme subkutánne ovplyvnili priamo mláďatá (PD 1-12). Lokomočnú aktivitu a exploračné správanie dospelých mláďat sme testovali 1 hodinu v systéme Laboras (Metris B.V., Holandsko). Tesne pred začatím testu sme každému zvieraťu aplikovali akútnu dávku MA (1 mg/kg) či SA.

Výsledky. Naše výsledky ukázali, že akútna aplikácia MA v dospelosti zvýšila u všetkých skupín zvierat lokomóciu, prejdenú vzdialenosť a rýchlosť pohybu. U všetkých skupín sme preukázali pohlavné rozdiely po akútnej dávke. Samice dosahovali vyššiu lokomóciu aj exploračné správanie ako samci, bez ohľadu na estrálny cyklus samic, ale s ohľadom na druh expozície a periódu aplikácie. Pohlavné rozdiely v sledovaných parametroch sa znižovali s ustupujúcim účinkom drogy u všetkých skupín zvierat.

Záver. Z našich výsledkov vyplývajú pohlavné rozdiely v lokomóci a exploračnom správaní v závislosti nielen od aplikácie MA či fyziologického roztoku, ale aj od periódy aplikácie počas vývinu.

Práca bola podporená grantom No. GA 14-03708S, PRVOUK P34

STANOVENÍ MNOŽSTVÍ TUKUPROSTÉ TĚLESNÉ HMOTY U PACIENTŮ S CHRONICKOU OBSTRUKČNÍ PLICNÍ NEMOCÍ

Hronek, M.^{1,2}, Kovařík, M.^{1,2}, Koblížek, V.³, Josková, V.^{1,2}, Patková, A.^{1,2}, Rybáková, K.^{1,2}, Zadák, Z.²

¹ UK Farmaceutická fakulta, Hradec Králové, Česká republika

² Centrum pro výzkum a vývoj FN, Hradec Králové, Česká republika

³ Plicní klinika FN, Hradec Králové, Česká republika

Úvod. Tukuprostá hmota (FFM) je nezávislý prediktor metabolických a funkčních konsekvencí u pacientů s chronickou plicní nemocí (CHOPN). Cílem této studie bylo kriticky vyhodnotit, která z klinicky používaných metod k jejímu stanovení jako bioelektrická impedanční analýza (BIA), bioimpedanční spektroskopie (BIS) a kaliperace (K) je nejpřesnější v porovnání s relevantní duální rentgenovou absorpciometrií (DEXA).

Metodika. V rámci této studie výše uvedenými metodami bylo vyšetřeno 41 ambulantních pacientů (34 mužů a 7 žen, průměrný věk $66,5 \pm 7,7$ let, s BMI $28,2 \pm 6,1$ kg.m⁻²) se stabilní formou COPD.

Výsledky. Všechny metody podhodnocovaly FFM s porovnáním s DEXA. Nesignifikantní rozdíly byly vyhodnoceny u K (1,2 kg) a BIA (3,8 kg), statisticky významný u BIS (9 kg). Nejvyšší shoda mezi DEXA a K byla prokázána pomocí Linovy konkordantní korelace a Bland-Altmanova testu.

Závěr. Kaliperace (K) byla prokázána jako nejpřesnější, dostupná a levná metoda pro stanovení FFM s aplikací Durnin Womersleyho rovnice pro výpočet denzity a s Siriho rovnice pro stanovení FFM u pacientů s CHOPN, plně aplikovatelná v klinické praxi.

Práce byla podpořena projekty. MH CZ - DRO (UHHK, 00179906), PRVOUK P40 a [SVV 267 003 UK Farmaceutické fakulty].

FUNKČNÍ ORGANIZACE INTERIKTÁLNÍCH SÍTÍ V RÁMCI NEOKORTIKÁLNÍ EPILEPSIE

Janča, R.¹, Kršek, P.², Ježdík, P.¹, Čmejla, R.¹, Tomášek, M.², Marusič, P.², Jiruška, P.³

¹ *Fakulta elektrotechnická, ČVUT v Praze, Praha, ČR*

² *2. lékařská fakulta, FN Motol, Univerzita Karlova v Praze, Praha, ČR*

³ *Fyziologický ústav, Akademie věd České republiky, Praha, ČR*

Úvod. Interiktální výboje jsou hlavním elektrografickým ukazatelem epileptické tkáně. Experimentální práce v modelech neokortikální epilepsie prokázaly, že oblast generující interiktální výboje úzce koreluje s oblastí, která generuje epileptické záchvaty. Avšak data získaná u pacientů, kteří jsou kandidáty chirurgické léčby epilepsie, tuto prostorovou korelaci zpochybňují. V této práci jsme se tudíž zaměřili na pochopení funkční organizace neuronálních sítí generující interiktální výboje u pacientů s neokortikální epilepsií.

Metodika. Interiktální záznamy invazivního EEG 14 dětských pacientů byly analyzovány pomocí metod počítačového zpracování signálu. V záznamech byly automaticky detekovány interiktální výboje a jejich neokortikální propagace byla popsána dle amplitudového profilu. Analýzou vlastních komponent (PCA) byly nalezeny oblasti, které generují výboje s podobným profilem šíření.

Výsledky. Oblast neokortexu generující interiktální výboje pokrývala 30.0 ± 15.0 kontaktů. Četnost interiktálních výbojů byla 148.0 ± 103.5 za minutu a celkem bylo u jednotlivého pacienta analyzováno $16\,623 \pm 16\,839$ výbojů. Analýza prostorové propagace prokázala, že oblast interiktálních výbojů lze průměrně rozložit do $12,5 \pm 4,7$ nezávislých nesymetrických podoblastí. Nejsilnější z nich generovala $43,5 \pm 18,9$ % všech interiktálních výbojů a překrývala se z $48,1 \pm 36,2$ % s oblastí neokortexu, ze které vycházely epileptické záchvaty.

Závěr. Táto práce prokazuje komplexní organizaci epileptických neuronálních sítí. V případě interiktálních výbojů, má funkční uspořádání těchto sítí modulární charakter, kdy výboje jsou generovány mnohočetnými vzájemně nezávislými oblastmi neokortexu. Pochopení funkční organizace má význam nejen pro patofyziologii neokortikální epilepsie, ale především pro zkvalitnění její chirurgické léčby.

Práce byla podpořena granty Ministerstva zdravotnictví České republiky (IGA NT/14489-3, IGA NT13357), Nadačního fondu Neuron (2012/10) a Grantové agentury České republiky (P303/14-02634S).

ELEKTROFYZIOLOGICKÉ A MOLEKULÁRNE VLASTNOSTI CEREBELÁRNYCH GRANULÁRNYCH BUNIEK A HIPOKAMPÁLNYCH NEURÓNOV LOKALIZOVANÝCH NA FIBROTICKEJ JAZVE

Jašková, k.¹, Lapínová, I.¹, Lacinová, I.¹

¹Ústav molekulárnej fyziológie a genetiky, Slovenská Akadémia Vied, Bratislava

Úvod. Akútne poškodenie centrálnej nervovej sústavy (CNS) vedie k tvorbe fibrotickej jazvy, hlavnej bariéry regenerácie poškodených neurónov. Neuróny lokalizované v blízkosti fibrotickej jazvy vykazujú zmenenú morfológiu, elektrofyziologické aj molekulárne vlastnosti. Inozitol 1,4,5-trisfosfátový receptor typu 1 (IP₃R1) plní kľúčovú úlohu v raste neuritu a ich expresia je v neurónoch v patologických procesoch pozmenená.

Metodika. Kortikálne astrocyty a meningeálne fibroblasty boli izolované z neonatálnych potkanov rodu Wistar a kultivované na opačných stranách misky po dobu 7 dní. Následne k nim bol pridaný transformačný rastový faktor beta 1 (TGF-β1, 10 ng/ml), ktorý počas 7 dní indukoval tvorbu fibrotickej jazvy. Hipokampálne neuróny izolované z neonatálnych potkanov a cerebelárne granulárne bunky (CGC) izolované zo 6 dní starých potkanov boli vysiate na vytvorenú fibrotickú jazvu. Po 72 hodinovej kultivácii boli zaznamenané elektrofyziologické parametre neurónov, monitorovaná dĺžka neuritov a imunofluorescenčne značený IP₃R1.

Výsledky. CGC na fibrotickej jazve vykazovali signifikantne depolarizovaný pokojový membránový potenciál, dĺžka neuritov bola taktiež signifikantne skrátená. Hipokampálne neuróny mali signifikantne zníženú amplitudu jednotlivého akčného potenciálu, zvýšený počet akčných potenciálov v sérii a hyperpolarizovaný pokojový membránový potenciál v porovnaní s kontrolnou skupinou neurónov.

Záver. Získané výsledky dokumentujú zmenu elektrofyziologických, molekulárnych a morfológických parametrov primárnych neurónov lokalizovaných na fibrotickej jazve. Hipokampálne neuróny sú senzitívnejšie v elektrofyziologických parametroch než CGC, ktoré vykazujú signifikantné rozdiely najmä v dĺžke neuritov. Získané výsledky odrážajú komplexnosť CNS.

Práca bola podporená grantom APVV-0212-10.

BENEFITY REMOTE ISCHEMICKÉHO PRECONDITIONINGU V DIABETICKOM MYOKARDE: ÚČASŤ SRDCOVÝCH MITOCHONDRIÍ V PROTEKCII VOČI ISCHEMICKO/REPERFÚZNEMU POŠKODENIU

Jašová M¹, Kancirová I¹, Čarnická S¹, Muráriková M¹, Waczulíková I², Ravingerová T¹, Ziegelhöffer A¹, Ferko M¹

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

²Katedra jadrovej fyziky a biofyziky, Fakulta matematiky, fyziky a informatiky, Univerzita Komenského v Bratislave

Úvod: Štruktúrne a funkčné vlastnosti mitochondriovej membrány sú veľmi dôležitým faktorom ovplyvňujúcim energetiku myokardu. Membrány srdcových mitochondrií z akútne diabetických a zdravých potkanov vystavených remote ischemickému preconditioningu (RIP) vykazovali funkčnú remodeláciu vedúcu k zachovaniu energetických funkcií v myokarde vystavenom patologickému stimulu.

Cieľ: Objasniť efekt RIP spolu s akútnym *diabetes mellitus* na biofyzikálne vlastnosti mitochondriových membrán vystavených ischemicko/reperfúznemu poškodeniu.

Metodika: Samce potkanov kmeňa Wistar (220±20g), diabetes bol navodený jednorazovou dávkou streptozotocínu (65 mg/kg, i.p.). Diabetický stav zvierat bol kontrolovaný meraním hladiny glukózy a glykohemoglobínu v krvi ako aj cholesterolu, triacylglycerolov a inzulínu v sére. RIP bol indukovaný 3 sériami 5 minútovej ischemie a následnej reperfúzie zadnej končatiny. Srdcia boli perfundované podľa Langedorffa (15 min. stabilizácia, 30 min. ischemia, 40 min. reperfúzia). Mg²⁺-ATPázová aktivita bola stanovená na základe množstva P_i uvoľneného počas štiepenia ATP. Fluidita mitochondriovej membrány (MF) bola stanovená meraním fluorescenčnej anizotropie pomocou sondy 1,6-difenyl-1,3,5-hexatriénu.

Výsledky: Mitochondrie z diabetických srdiec vykazovali signifikantné zvýšenie MF a Mg²⁺-ATPázovej aktivity v porovnaní so zdravou skupinou. V srdciach vystavených RIP bolo pozorované zvýšenie MF mitochondrií, ktoré bolo zachované aj po reperfúzii. Srdcia vystavené RIP vykazovali lepšie postischemické zotavenie v porovnaní s diabetickými srdcami. Vystavenie diabetických srdiec RIP spôsobilo stimuláciu protektívnych mechanizmov vyvolaných akútnym diabetom, čo bolo reprezentované zvýšením MF mitochondrií pozorovaným tiež po ischemicko/reperfúznom poškodení.

Záver: Remodelácia mitochondriovej membrány indukovaná RIP ako aj akútnym *diabetes mellitus* vyústila vo vyvolanie endogénnych ochranných mechanizmov v srdci. RIP vystimuloval protektívny efekt vyvolaný akútnym *diabetes mellitus* a tiež zvýšil postischemické zotavenie, čo bolo preukázané zvýšením mitochondriovej MF.

Práca bola podporená grantami: VEGA 2/0101/12; 2/0133/15; 2/0201/15, APVV-0102-11

BAROREFLEX SENSITIVITY IN PREMATURE NEWBORNS

Javorka K¹, Haskova K², Czippelova B¹, Zibolen M², Javorka M¹

¹*Department of Physiology and* ² *Clinic of Neonatology, Jessenius Faculty of Medicine, Comenius University and University Hospital, Martin, Slovakia*

Introduction: In human newborns, little information was known about baroreflex sensitivity (BRS), because continuous non-invasive recording of blood pressure was not available. At present, a volume clamp method (Finometer, Portapres, FMS), after verified modification, can be used in preterm newborns.

Aim: We aimed to determine the relationships between spontaneous BRS, blood pressure (BP), pulse/heart rate (HR) and parameters reflecting intrauterine/early postnatal growth and development.

Methods: BP signal was recorded in 57 preterm newborns (gestational age 25-37 weeks, birth weight 650 – 2730 g) using Portapres with a cuff placed around the child's wrist. BRS was calculated by BeatScope 1.1a and PVRBRS software (Wesseling).

Results: BRS was lower in more preterm newborns (4.11 ± 1.59) compared to the newborns of higher gestational age (8.12 ± 5.00 ms/mmHg). Similar relationships were also between BRS and birth weight, postconceptional age and actual weight. Multifactor analysis revealed 56% positive association between BRS and postconceptional age, birth weight as well as diastolic blood pressure (DBP). HR and respiratory rate decreased with increasing parameters reflecting fetal and early postnatal development.

Conclusion: Baroreflex sensitivity and through this parameter the maturation of the autonomic nervous system can be evaluated non-invasively even in preterm newborns. Baroreflexes in these infants are active, however baroreflex sensitivity is low and it increases progressively with postconceptional age and actual weight.

This work was supported by grants VEGA no.1/0223/12 and APVV-0235-12.

HYPERBILIRUBINEMIA IN NEWBORNS: A RELATION TO CARDIAC AUTONOMIC NERVOUS CONTROL

Javorka, M.¹, Uhríková, Z.², Zibolen, M.², Chládeková, L.¹, Javorka, K.¹

¹*Department of Physiology, Comenius University, Jessenius Faculty of Medicine, Martin, Slovakia*

²*Clinic of Neonatology, Comenius University, Jessenius Faculty of Medicine and University Hospital, Martin, Slovakia*

Background: Neonatal jaundice and its phototherapeutic treatment can lead to several side effects involving activation of autonomic control mechanisms. The aim of our study was to investigate the autonomic nervous system changes in icteric neonates using heart rate variability (HRV) and to assess the effect of phototherapy on short-term heart rate dynamics as an indicator of autonomic nervous control of cardiovascular system.

Methods: HRV recordings from 20 icteric full-term neonates before, during and after phototherapy and from 20 healthy controls were analysed. In addition to traditional time and frequency domain measures, heart rate complexity parameters including normalized complexity index (NCI), normalized unpredictability index (NUPI), pattern classification indices (0V%, 1V%, 2LV%, 2UV%) and irreversibility index (P%) on four time scales were evaluated. All measures were derived from data segments of 1000 RR intervals.

Results: The analysis revealed higher values of 1V%, 2LV%, and lower P% in neonates with hyperbilirubinemia compared to controls. While HRV magnitude did not change, mean heart rate increased during and after the phototherapy. Nonlinear analysis showed a decrease of complexity, unpredictability and pattern classification measures 2LV% and 2UV%. In contrast, 0V% and irreversibility index P% were increased during and at least 30 min after phototherapy.

Conclusion: The results suggest a shifted autonomic balance in icteric neonates compared to the controls and its further alterations during phototherapy. As the nonlinear HRV parameters are independent of the linear methods, they can provide new information about the cardiac regulatory mechanisms and their changes in neonates.

The study was supported by grants VEGA N. 1/0059/13 and APVV-0235-12.

FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKA ADIPOKINETICKÝCH HORMONŮ U MŠIC (STERNORRHYNCHA: APHIDOIDEA)

Jedlička, P.^{1,2}, Jedličková, V.²

¹ Ústav organické chemie a biochemie, Praha, Česká republika

² National Taiwan University, Taipei, Taiwan

Úvod. Mšice jsou ekonomicky významnou skupinou hmyzu s výraznou fenotypovou plasticitou a schopností střídat rozmnožování nepohlavní (parthenogenezi) a pohlavní. Kolonie některých podčeledí mšic dokonce vykazují všechny znaky hmyzu společenského – eusociálního. Formy daného druhu mšice mají různou úroveň morfologických i fyziologických vlastností, které tyto jedince předurčují spíše k rozmnožování, migraci nebo obraně kolonie. Spolu s tím se liší i jejich schopnost mobilizovat potřebnou energii. Tato akce je u hmyzu řízena signální drahou adipokinetických hormonů (AKH) a jejich specifických membránových receptorů (AKHR). Naše studie je zaměřena na molekulární charakterizaci AKH a AKHR u mšic *Acyrtosiphon pisum* a *Pseudoregma bambucicola*.

Metodika. Byly použity metody molekulární biologie (klonování, qRT PCR, bioinformatické analýzy atd.) a spektrometrické metody na stanovení zásobních látek v tělech mšic.

Výsledky. Sekvence aktivního neuropetidu AKH je totožná napříč celou skupinou Aphidoidea. AKH je nejvíce exprimováno u okřídlených virgin *A. pisum*, zatímco nejnižší hodnoty jsme zjistili u bezkřídých sexuálních samic. Rovněž u kasty sterilních vojáků *P. bambucicola*, sloužících výhradně pro obranu reprodukcí samic před predátory, jsme zaznamenali vyšší hodnoty transkriptu AKH než u bezkřídých, sedentérních virgin. mRNA receptorů AKH se u obou druhů vyskytují ve více sestřihových variantách, které generují různé proteinové isoformy. Expres AKHR u různých forem *P. bambucicola* z kolonií na bambusu (sekundární hostitel) ukázala podobný trend jako samotný AKH. Naopak u forem žijících skrytě v hálkách u *Styrax suberifolia* (primární hostitel) byly naměřené hodnoty abundance transkriptů AKHR celkově nižší v porovnání s expresí hormonu.

Závěr. Sekvence stresových hormonů (AKH) a jejich receptorů jsou u mšic vysoce konzervované. Míra relativní exprese AKH a AKHR u různých forem studovaných druhů odpovídá jejich funkčnímu (morfologicko-fyziologickému) nastavení.

DLOUHODOBÁ DYNAMIKA ZÁCHVATŮ V MODELU TEMPORÁLNÍ EPILEPSIE – JSOU ZÁCHVATY NÁHODNÉ?

Jirůška, P.¹, Kudláček, J.^{1,2}, Vlk, P.^{1,2}, Demeterová, L.¹, Paluš, M.³, Hlinka, J.³, Jefferys, JGR⁴, Pošusta, A.¹, Otáhal, J.¹

¹*Fyziologický ústav, Akademie věd České republiky, Praha, Česká republika*

²*Fakulta elektrotechnická, České vysoké učení technické, Praha, Česká republika*

³*Ústav teorie informace, Akademie věd České republiky, Praha, Česká republika*

⁴*University of Oxford, Oxford, Velká Británie*

Úvod. Epileptické záchvaty jsou tradičně považovány za náhodnou a nečekanou událost, kterou nelze spolehlivě předvídat. Současné studie však prokazují existenci dlouhodobých kolísání v pravděpodobnosti vzniku záchvatu. V této práci jsme se zaměřili na studium a popis dlouhodobé dynamiky a statistické distribuce záchvatů v modelu temporální epilepsie.

Metodika. Temporální epilepsie u laboratorního potkana byla vyvolána injekcí 25 ng tetanotoxinu do pravého dorzálního hipokampu. Stříbrné epidurální elektrody byly implantovány symetricky nad dorzální hipokampus obou hemisfér. Zvířata byla následně s pomocí telemetrie kontinuálně video-EEG monitorována po dobu 17 dnů.

Výsledky. U všech zvířat ($n=7$) došlo k rozvoji spontánních a opakovaných záchvatů. Průměrně se u jednotlivého zvířete vyskytlo 109 ± 22 záchvatů v trvání 118 ± 13 vteřin. Statistická analýza získaných dat a dat generovaných Poissonovským procesem prokázala, že záchvaty se nevyskytovaly náhodně rozložené v čase, ale v nakupení do shluků. Celkem bylo identifikováno 15 shluků záchvatů, jejichž průměrná doba trvání byla 1.5 ± 0.3 dne. Analýza komplexní dynamiky záchvatů v rámci jednotlivých shluků prokázala, že jejich výskyt je také odlišný od náhodného procesu a to v důsledku zpomalování incidence jednotlivých záchvatů na konci shluku.

Závěr. Získané výsledky experimentálně potvrzují existenci „prozáchvatových“ období. Získaná pozorování jsou klíčová pro pochopení vzniku epileptických záchvatů, pro vývoj metod predikce záchvatů a nových léčebných postupů, které primárně ovlivňují mechanismy odpovědné za kolísání v pravděpodobnosti vzniku záchvatů.

Práce byla podpořena granty Ministerstva zdravotnictví České republiky (IGA NT/14489-3), Nadačního fondu Neuron (2012/10) a Grantové agentury České republiky (P303/14-02634S).

ZAPOJENIE OXIDAČNEJ FOSFORYLÁCIE MITOCHONDRÍ DO PROCESU OCHRANY MYOKARDU VYVOLANEJ REMOTE ISCHEMICKÝM PRECONDITIONINGOM

Kancirová, I.¹, Jašová, M.¹, Muráriková, M.¹, Čarnická, S.¹, Sumbalová, Z.², Uličná, O.¹, Vanová, O.¹, Kucharská, J.², Ravingerová, T.¹, Ziegelhöffer, A.¹, Ferko, M.¹

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

²Farmakobiochemické laboratórium III. internej kliniky, Lekárska fakulta Univerzity Komenského, Bratislava, Slovensko

Úvod. Úloha mitochondrií v procese adaptácie organizmu na ischémiu a ischemicko-reperfúzne poškodenie navodenej remote ischemickým preconditioningom (RIP) nie je doposiaľ úplne objasnená. Preto cieľom štúdie bolo zistiť dopad patologickej záťaže na stav jednotlivých komplexov a poukázať na ich možné pozitívne ovplyvnenie s RIP.

Metodika. Potkany kmeňa Wistar rozdelené do 2 skupín : kontrolná skupina bez RIP (n=21) a skupina s RIP (n=21) tvoreným 3 sériami 5 min. končatinovej ischémie s následnou 5 min. reperfúziou. Izolované srdcia potkanov oboch skupín boli následne vystavené 15 min. stabilizačnej perfúzii, 30 min. globálnej ischémii so 40 min. reperfúziou podľa Langendorffa. V izolovaných mitochondriách sme stanovovali parametre oxidačnej fosforylácie metódou vysokorozlišovacej respirometrie pomocou Oxygrafu-2k (Oroboros Instruments, Rakúsko) a obsah oxidovaných foriem koenzýmu Q (CoQ9 a CoQ10) pomocou HPLC.

Výsledky. ADP-stimulovaná respirácia mitochondrií (stav S3) bola testovaná pri použití substrátov glutamát + malát a malát + oktanoyl karnitín. RIP zvýšil rýchlosť spotreby kyslíka mitochondrií izolovaných zo srdca po ischemickej fáze o 40,4% v porovnaní so skupinou po stabilizačnej fáze. Po reperfúznej fáze RIP respiráciu mitochondrií nevylepšil, no čiastočne zabránil jej zníženiu so substrátmi malát + oktanoyl karnitín. Obsah oxidovaných foriem koenzýmů Q u skupiny s RIP bol počas stabilizačnej a ischemickej fázy zvýšený, avšak počas reperfúznej fázy znížený v porovnaní s kontrolnou skupinou.

Záver. RIP znižuje tvorbu oxidovaných foriem koenzýmů Q po ischemicko-reperfúznom poškodení. Predpokladáme, že pozorovaný okamžitý účinok RIP bude markantnejší po 24 hodinách od stimulu ischemického preconditioningu (second window RIP).

Táto práca bola podporená grantom: VEGA 2/0101/12; 2/0133/15; 2/0201/15, APVV-0102-11

EXPRESSE A LOKALIZACE IZOFOREM MITOCHONDRIÁLNÍ HEXOKINÁZY V SRDCI POTKANA ADAPTOVANÉHO NA MÍRNOU A HLUBOKOU CHRONICKOU HYPOXII.

Dita Kašparová¹, Petra Wasková¹, Barbara Elsnicová¹, Jan Neckář², Jiří Novotný¹, František Kolář², Olga Nováková a Jitka Žurmanová¹

¹Katedra fyziologie, ²Katedra buněčné biologie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze,

³Fyziologický ústav AV ČR, Oddělení vývojové kardiologie, Praha, Česká republika.

Úvod: Adaptace na intermitentní normobarickou hypoxii (8 hodin denně, 10% O₂), stejně jako adaptace na hypobarickou hypoxii (8 hodin denně, 7000 m), snižuje míru ischemicko-reperfúzního poškození levé komory potkana. V srdci jsou exprimovány dvě izoformy hexokinázy (HK), HK1 a HK2. Za fyziologických podmínek je HK1 převážně asociována s vnější mitochondriální membránou a HK2 je lokalizována v cytosolu. Za ischemických podmínek nebo zvýšené koncentrace glukózy se zvyšuje podíl HK2 asociované s napětově závislým aniontovým kanálem VDAC na vnější straně mitochondrií. Zvýšená asociace HK2 s mitochondriemi zvyšuje přednostní dodávku ADP ke komplexu V respiračního řetězce, čímž zvyšuje sprzęžení mitochondrií a brání nadměrné produkci reaktivních forem kyslíku.

Metodika: Cílem studie bylo zjistit antioxidační odpověď kardiomyocytů, míru exprese a asociace izoform HK1 a HK2 s mitochondriemi pomocí Real Time RT-PCR, Western blotingu a kvantitativní imunofluorescenční mikroskopie.

Výsledky: Naše výsledky ukázaly zvýšenou odpověď antioxidačního systému po adaptaci na mírnou normobarickou hypoxii a útlum exprese antioxidantů po hluboké hypobarické hypoxii. Současně jsme zjistili, že v mírné hypoxii se zvyšuje exprese hexokinázy, avšak vazba na mitochondrie se nemění. Naproti tomu, v hluboké hypoxii se zvyšuje vazba hexokinázy na mitochondrie obou izoform.

Závěr: Zvýšená vazba HK2 pravděpodobně hraje významnou úlohu v ochraně mitochondrií a myokardu za podmínek zvýšeného oxidačního stresu, který není dostatečně kompenzován antioxidačním systémem buňky.

Tato studie byla podporována Grantovou Agenturou České Republiky granty č. 14-04301P a P303-12-1162; Grantovou agenturou Univerzity Karlovy v Praze grantem č. 628412

SLEDOVANIE AUTONÓMNEJ ROVNOVÁHY U PACIENTOV SO SKLERÓZOU MULTIPLEX

Keményová, P.^{1,2}, Šiarnik, P.¹, Turčáni, P.¹

¹ I. neurologická klinika LF UK a UN Bratislava, Slovensko

² Fyziologický ústav LF UK Bratislava, Slovensko

Úvod. Cieľom našej štúdie bolo sledovanie autonómnej rovnováhy u pacientov so sklerózou multiplex (SM) prostredníctvom hodnotenia zmien baroreflexnej senzitivity (BRS).

Metodika. Sledovali sme 122 pacientov, z toho 86 pacientov s ochorením SM a 36 zdravých jedincov. Do štúdie boli zahrnutí SM pacienti, ktorí spĺňali diagnostické kritériá podľa McDonalda. BRS bola meraná neinvazívne pomocou prístroja Finometer (FMS, Finapres Medical Systems BV, Amsterdam, Netherlands) na I. neurologickej klinike LF UK a UN Bratislava.

Výsledky. Nezistili sme rozdiel BRS medzi skupinou pacientov s ochorením SM a zdravou kontrolou ($p=0,585$). Pozorovali sme signifikantú koreláciu medzi BRS a vekom v skupine SM pacientov ($p<0,001$; $r=-0,567$) aj v skupine zdravých kontrol ($p=0,031$; $r=-0,354$).

Záver. V našej štúdii sme nezistili rozdiel BRS medzi skupinou pacientov s ochorením SM a zdravou kontrolou. Zmeny BRS boli podmienené vekom v oboch skupinách pacientov.

POTENCIÁLNÍ VYUŽITÍ METABOLICKÝCH NEUROHORMONŮ V KONTROLE HMYZÍCH POPULACÍ

Kodrík, D.¹, Plavšín, I.², Velki, M.², Stašková, T.¹

¹Entomologický ústav BC AVČR a Přírodovědecká fakulta JU, České Budějovice, Česká republika

²Department of Biology, University of Osijek, Osijek, Croatia

Úvod. Stres vyvolaný působením insekticidů spustí v hmyzím těle silnou obrannou reakci s cílem eliminovat nebo alespoň snížit jejich dopad na organismus. Podobně jako u jiných stresorů je i tato reakce řízena neuropeptidy ze skupiny adipokinetických hormonů (AKH) ovlivňujících hmyzí energetický metabolismu.

Metodika. Několik neurotoxinů a insekticidů vyvolávajících oxidační stress bylo aplikováno na modelové druhy hmyzu s normální nebo deficientní produkcí AKH (připravených RNAi). Měřením hladiny AKH (ELISA), metabolických charakteristik (produkce CO₂) a markerů oxidačního stresu (kataláza, superoxid dismutáza, glutathione -S-transferáza) byla posuzována role AKH v obranné anti-stresové reakci.

Výsledky. Výsledky ukázaly zapojení AKH do řízení obranné reakce proti působení insekticidů. Jejich aplikace vyvolává významné zvýšení hladiny AKH jak v místě jejich syntézy (mozek, corpora cardiaca) tak v hemolymfě. Dále bylo zjištěno, že ko-aplikace AKH spolu s insekticidy vyvolává nejen významné zvýšení metabolismu ve srovnání s insekticidem samotným, ale ovlivňuje i hladinu markerů oxidačního stresu: přítomnost AKH v aplikační dávce vracela k normálu aktivitu katalázy, glutathione-S-transferázy i superoxid dismutázy, hlavních enzymů odbourávajících nejdůležitější toxické reaktivní metabolity kyslíku, jejichž nadprodukce byla vyvolána působením insekticidů samotných. Překvapivým, ale velmi zajímavým výsledkem bylo zjištění, že ko-aplikace AKH spolu s insekticidem vyvolává významné navýšení mortality pokusných jedinců. Domníváme se, že tento fakt lze vysvětlit výše zmíněným navýšením intenzity metabolismu po takovém ošetření: přítomnost AKH zřejmě vyvolává rychlejší výměnu metabolitů včetně toxinů v těle, jejich efektivnější vstup do tkání a orgánů a zintenzívnění jejich toxického účinku.

Závěr. K případnému praktickému uplatnění získaných výsledků v kontrole hmyzích populací vede ještě dlouhá cesta, nicméně jejich využití spolu se skutečností, že AKH snadno pronikají kutikulou, může být ekonomicky i ekologicky zajímavé v budoucnu.

Práce byla podpořena grantem GAČR No. 14-07172S (DK)

EXPRESE VYBRANÝCH GENŮ NOVÉHO KONPLASTICKÉHO KMENE POTKANA SHR-MT^{BN} ADAPTOVANÉHO NA CHRONICKOU KONTINUÁLNÍ HYPOXII

Kolář, D.¹, Brabcová, I.¹, Žurmanová, J.¹, Mandíková, P.², Zajíčková, P.², Kalous, M.³, Pravenec, M.², Nováková, O.³, Kolář, F.², Neckář, J.².

¹Katedra fyziologie, Přírodovědecká fakulta UK, Praha

²Fyziologický ústav AV ČR, Oddělení vývojové kardiologie, Praha ³Katedra buněčné biologie, Přírodovědecká fakulta UK, Praha

Úvod. Spontánně hypertenzní potkani (SHR) mají zvýšenou citlivost srdce k ischemickoreperfúznímu (I/R) poškození ve srovnání s normotenzními potkany kmene Brown Norway (BN). Toleranci myokardu k I/R poškození lze zvýšit adaptací na chronickou hypoxii a na tomto kardioprotektivním fenoménu se významně podílí mitochondrie.

Metodika. Cílem této studie bylo zjistit, jak ovlivní adaptace na kontinuální normobarickou hypoxii (CNH; 10% O₂, 3 týdny) ischemickou toleranci myokardu u SHR a potkanů konplastického kmene SHR-mtBN, kteří mají mitochondriální genóm z kmene BN. Dále jsme analyzovali hladiny mRNAtranskriptů vybraných genů energetického metabolismu, antioxidačního systému a signalizace pomocí Real Time RT-PCR.

Výsledky. Naše výsledky ukázaly, že adaptace na CNH snížila velikost infarktu o 31 % u kmene SHR a o 38 % u SHR-mtBN. CNH zvýšila expresi mRNA monoaminoxidázy a β1-adrenoreceptoru, a dále snížila expresi mitochondriální sarkomerické kreatin kinázy, obou izoformsuperoxiddismutázy (Cu./Zn a MnSOD), thioredoxinu 2, thioredoxinreduktázy 2 a peroxiredoxinu 5 u obou kmenů. Genová exprese katalázy, peroxiredoxinu 3, mitochondriální hexokinázy 2 a hypoxii-indukovaného faktoru 1α byly signifikantně vyšší u SHR-mtBN adaptovaných na CNH v porovnání s hypoxickým SHR.

Závěr. Adaptace na CNH zvýšila ischemickou toleranci srdcí hypertenzních SHR kmenů. Záměna mitochondriálního genomu SHR potkanů za mitochondriální genom kmene BN modifikovala expresi vybraných genů v srdcích potkanů adaptovaných na CNH.

PERFUZE MOZKU PO SUBARACHNOIDÁLNÍM KRVÁCENÍ A JEJÍ OVLIVNĚNÍ DEKOMPRESNÍ KRANIEKTOMIÍ

Kolář, M.¹, Nohejlová, K.², Polách, J.², Mareš, J.², Páchl, J.¹

¹Klinika anesteziologie a resuscitace, 3. LF UK, Praha, Česká republika

²Ústav normální, patologické a klinické fyziologie, 3. LF UK, Praha, Česká republika

Úvod. Subarachnoidální krvácení (SAK) způsobuje změny mozkové perfuze bezprostředně po zakrvácení a následně s odstupem dní. Součástí neurointenzivní péče je dekompresní kraniektomie (DK) indikovaná u pacientů např. u cévní mozkové příhody nebo traumat. Význam DK po SAK pro prognózu je dosud nejasný, DK může být přínosná u vybraných podskupin pacientů, nicméně efekt časné DK nebyl studován za klinických ani experimentálních podmínek. Cílem naší studie bylo zhodnotit efekt DK na změny perfuze neokortexu ihned po SAK.

Metodika. Potkani, samci (Wistar 180–220g) ve 4 skupinách: 1. skupina se SAK, 2. kontrolní skupina, 3. skupina se SAK a DK, 4. kontrolní skupina s DK. SAK bylo navozeno aplikací 200 µl alogenní arteriální krve do prechiasmatické cisterny během 10 sec. (skupina SAK a SAK + DK), kontrolním skupinám bylo podáno 200 µl izotonického roztoku (IR) 1/1. DK - biparietální trepanace lebky (průměr 3,3 mm). Perfuze kůry byla měřena metodou Laser Speckle Contrast Analysis (PeriCam PSI HR). Statistická analýza: ANOVA pro opakovaná měření, Bonferroniho posttest, Wilcoxonův test (GraphPad Prism 6.03).

Výsledky. V kontrolních skupinách byl pozorován pokles perfuze během a krátce po aplikaci IR, následovaný krátkou epizodou hyperemie a návratem k výchozím hodnotám. Mezi kontrolními skupinami nebyl statisticky významný rozdíl. Ve skupině SAK došlo po iniciálním poklesu k pomalému návratu perfuze k výchozím hodnotám. Perfuze zůstávala signifikantně nižší do konce sledovaného období, ve srovnání s kontrolami byl návrat k výchozím hodnotám významně prodloužen. Obdobný průběh byl pozorován ve skupině SAK+DK, mezi intervenčními skupinami nebyl pozorován statisticky významný rozdíl.

Závěr. Počáteční rychlý pokles perfuze během a bezprostředně po aplikaci krve i IR do prechiasmatické cisterny souvisí se zvýšeným objemem subarachnoidálního prostoru. Subarachnoidální podání arteriální krve zpomalí návrat perfuze k normálním hodnotám. Neprokázali jsme statisticky významný efekt dekompresní kraniektomie na žádnou ze změn perfuze po SAK. Dekomprese buď není dostatečná, nebo se více uplatňují jiné mechanismy omezující perfuzi.

Grantová podpora: IGA NT 14426-3/2013, 260045/SVV/2014, CSM7/CRP/2014

POROVNÁNÍ KARDIOPROTEKTIVNÍHO EFEKTU KARVEDILOLU A LÁTKY 44BU NA MODELU ISCHEMIE/REPERFÚZE SRDCE *IN VIVO* S VYUŽITÍM CTNI JAKO JEDNOHO Z HODNOTÍCÍCH PARAMETRŮ

Kolmanová E.¹, Bartošová L.¹, Parák T.¹, Baďo O.¹, Scheer P.², Hložková J.², Suchý P.¹

¹ Ústav humánní farmakologie a toxikologie, FaF, VFU Brno, Palackého třída 1/3, Brno 612 42, Česká republika

² ICRC, Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně, Pekařská 53, Brno 656 91, Česká republika

Úvod. Troponin je proteinový komplex s regulační funkcí v kontraktilním aparátu svalových buněk. Vysoce zakonzervovaná struktura troponinů napříč živočišnými druhy umožňuje zavést metodiku stanovení cTnI do preklinického výzkumu s využitím vysoce senzitivních humánních imunoesejí.

Metodika. V experimentu bylo použito 35 samčích potkanů kmene Wistar náhodně rozdělených do čtyř experimentálních a jedné kontrolní skupiny. K navození celkové anestezie byla použita kombinace diazepam, ketaminu a xylazinu podaná *i.m.* Po tracheální intubaci byla zvířata napojena na umělou ventilaci s kontinuálním přívodem isofluranu. Zvířata byla během celého experimentu monitorována na EKG Seiva Praktik Veterinary. K aplikaci testovaných látek i následným odběrům byla použita vypreparovaná *vena jugularis*. Po provedení levé thorakotomie byl narušen perikard a navozena ischemie podvazem levé koronární cévy. Ischemie trvala 20 minut a reperfúze, které bylo dosaženo uvolněním ligace, 30 minut. Experiment byl ukončen vyjmutím srdce z hrudního koše pro následné histologické zpracování. Třem experimentálním skupinám byla v různých schématech podána látka 44Bu (ultrakrátce působící beta-blokátor) v jednotné dávce 1,5mg/kg b.w. *i.v.*. Čtvrté experimentální skupině byl aplikován karvedilol v dávce 1mg/kg *i.v.* a kontrolní skupině fyziologický roztok. V předem definovaných časech byla zvířatům odebrána krev. Hladina cTnI (ng/ml) byla stanovena z krevní plazmy biochemickým analyzátozem Dimension (Siemens®). Pro statistickou analýzu výsledků byl využit statistický program Unistat 6.5.

Výsledky. Zjištěné elevace hladin troponinu I potvrdily ischemické poškození myokardu. Kontrolní zvířata dosahovala signifikantně vyšších hladin cTnI v druhém až čtvrtém odběru. Všechny experimentální skupiny měly hodnoty cTnI nižší, což poukazuje na možný protektivní účinek testovaných látek na myokard. Látka 44Bu podaná 10 minut před navozením ischemie vykazovala stejnou elevaci markeru jako stejným způsobem podaný karvedilol. Mezi oběma hodnotami nebyl nalezen statisticky významný rozdíl.

Závěr. Námi zavedená metodika ischemie/reperfúze myokardu *in vivo* doplněná stanovením troponinu I rozšiřuje možnosti preklinického screeningu nově syntetizovaných látek s efektem na kardiovaskulární systém.

SELEKTÍVNA INHIBÍCIA NF- κ B ZVYŠUJE EFEKTIVITU TERAPIE SURFAKTANTOM V EXPERIMENTÁLNOH SYNDRÓME ASPIRÁCIE MEKÓNIA

Kopincová, J., Mikolka, P., Kolomazník, M., Mokrá, D., Čalkovská, A.

Ústav Fyziológie, Jesseniova lekárska fakulta Univerzity Komenského, Martin, Slovenská Republika

Úvod. Akútne poškodenie pľúc novorodencov po aspirácii mekónia je charakteristické nielen inaktiváciou surfaktantu, ale aj rozvojom zápalovej odpovede, ktorá komplikuje terapiu. Použitie kortikoidov v liečbe zápalu je z hľadiska nežiadúcich účinkov rizikové, neliečený zápal však môže znižovať efektivitu terapie exogénnym surfaktantom. Selektívna inhibícia NF- κ B bola v prípade akútneho poškodenia pľúc opakovanými lavážami účinnejšia ako liečba glukokortikoidmi, chceli sme preto vyskúšať, či inhibícia NF- κ B bude účinná aj v liečbe experimentálneho syndrómu aspirácie mekónia (MAS).

Metodika. Instiláciou mekónia sme indukovali MAS mladým novozélandským bielym králikom s hmotnosťou $2,1 \pm 0,3$ kg. Jedna skupina bola ponechaná bez liečby (Mek; $n=8$), liečené skupiny dostali exogénny surfaktant (Curosurf® – Surf; $n=8$) alebo surfaktant v kombinácii s IKK-NBD (IKK γ NEMO Binding Domain Inhibitor Peptide – Surf+IKK; $n=8$). Zvieratá boli 5 hodín ventilované s FiO_2 1,0, *post mortem* sme v lavážnej tekutine (BALF) stanovili diferenciálny počet leukocytov, v pľúcnom homogenáte IL-1 β , IL-6, TBARS a celkovú antioxidačnú kapacitu (TAC).

Výsledky. Podanie exogénneho surfaktantu zlepšovalo respiračné parametre (PaO_2/FiO_2 , OI, VEI, $PaCO_2$, $SatO_2$) a celkový počet leukocytov v BALF v porovnaní s neliečenou skupinou. Pridanie IKK-NBD však zefektívnilo ventiláciu aj v porovnaní so surfaktantom samotným a prinieslo výrazné zlepšenie v parametroch PaO_2/FiO_2 , OI, VEI aj v porovnaní so skupinou Surf. V pľúcach IKK-NBD inhibovalo produkciu IL-1 β a IL-6 a malo tendencie zlepšiť aj TAC ($p=0.07$), v BALF znížilo frakciu neutrofilov.

Záver. Hoci pridanie IKK-NBD ku surfaktantu neovplyvnilo oxidačné poškodenie pľúc pri MAS, jeho protizápalový účinok sa prejavil vo včasnom a výraznom nástupe terapeutického účinku kombinovanej liečby. Selektívna inhibícia NF- κ B môže byť teda účinná aj pri experimentálnom MAS, čo v budúcnosti môže pomôcť vyhnúť sa nežiadúcim účinkom kortikoidov v liečbe respiračného zlyhávania novorodencov.

Práca bola podporená grantami: VEGA 1/0291/12; APVV-0435-11, BioMed Martin, 26220220187

VPLYV DONORU OXIDU DUSNATÉHO NA PĽÚCNE TKANIVO PRI EXPERIMENTÁLNOHOM MODELI AKÚTNEHO POŠKODENIA PĽÚC

P. Košútová, D. Mokrá, H. Pištěková, P. Mikolka, L. Tomčíková, A. Čalkovská

Ústav fyziológie, Univerzita Komenského v Bratislave, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Martin, Slovenská republika

Úvod. Akútne poškodenie pľúc (ALI)/syndróm akútnej respiračnej tiesne (ARDS) je charakterizované difúznym poškodením pľúcnych alveol v dôsledku zápalu, pľúcny edémom a poruchou ventilačno-perfúznym vzťahov a hypoxémiou. Cieľom štúdie bolo vyhodnotiť zápalové zmeny pľúcneho tkaniva pri liečbe S-nitrózo-N-acetyl-penicilamínu (SNAP) na experimentálnom modeli ALI/ARDS.

Metodika. Zvieratá (králiky) boli rozdelené do troch skupín: neventilované kontroly bez ALI/ARDS (Kontrola), neliečená skupina s ALI/ARDS (ALI), skupina s ALI/ARDS liečená SNAPom (SNAP). ALI/ARDS bol vyvolaný opakovanými lavážami pľúc fyziologickým roztokom (30 ml/kg, 9±3krát), zvieratá boli ventilované kyslíkom počas nasledujúcich 5 hodín. Po usmrtení zvierat sme určili celkový a diferenciálny počet leukocytov v krvi a buniek v bronchoalveolárnej lavážnej tekutine (BALF). Stanovili sme pľúcny edém (pomer mokrej a suchej hmotnosti, W/D) a analyzovali hladiny markerov zápalu (IL-1β, -6), apoptózy (kaspáza-3), poškodenia pľúc (esRAGE) a oxidačného poškodenia (TBARS) v pľúcnom tkanive. Výsledky boli štatisticky vyhodnotené one-way ANOVA testom.

Výsledky. V SNAP skupine sme pozorovali mierny pokles celkového počtu buniek a neutrofilov v BALF (obe $p > 0.05$), ale signifikantný bol len pokles eozinofilov ($p < 0.05$ vs. ALI skupina). Pri ALI/ARDS došlo v dôsledku aktivácie PMN ku zvýšeniu pro-zápalových markerov a tvorby pľúcneho edému (ALI vs Kontrola). Liečba SNAPom znížila markery zápalu, apoptózy, poškodenia pľúc a oxidačného poškodenia (IL-6, TBARS, kasp-3, esRAGE) v pľúcach, ale nemala žiadny vplyv na pľúcny edém.

Záver. Liečba rozpustným donorom oxidu dusnatého viedla k potlačeniu rozvíjajúcich sa zápalových procesov, ale nemala vplyv na rozvoj pľúcneho edému.

Práca bola podporená projektami APVV-0435-11, UK/201/2014, VEGA 1/0305/14, BioMed (ITMS 26220220187).

EFFECT OF β -GLUCAN AND RESVERATROL ON PLATELET AGGREGATION AND SPEED OF AGGREGATION OF PIGLETS

Kotrbaček, V.¹, Vesela, I.¹, Tomenendalová, J.¹, Doubek, J.¹

¹*Department of Physiology, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno, Česká republika*

Introduction. β -glucans occur in endosperm cell walls and subaleurone layer of grains used in feed mixtures. Resveratrol is natural component of *Polygonum cuspidatum* root and in many other plants. Both substances have biological effects mainly anti-oxidative or anti-inflammatory effect and simultaneously have impact on haematological parameters and blood coagulation. In our study, we investigated the effect of resveratrol and in combination with β -glucan on platelet parameters (platelet aggregation and speed of aggregation).

Methods. Platelet aggregation and spread of aggregation of piglets were tested in the blood samples using two inducers – ADP and cationic propylgallate. Piglets were divided into three experimental groups – resveratrol group (R), resveratrol + β -glucan group (RG) and control group (C). Resveratrol isolated from *Polygonum cuspidatum* root and β -glucan from *Saccharomyces cerevisiae* were soluted in 15% alcohol and administrated to the piglets in a daily dose 3 mg/kg^{0.75} of body weight. Control group obtained only alcohol solution.

Results. Platelet aggregation and speed of aggregation induced by ADP was significantly reduced after two weeks in both experimental groups (platelet aggregation R: $P < 0.01$; RG: $P < 0.05$, spread of aggregation R and RG: $P < 0.01$). While aggregation induced by cationic propylgallate, strong inductor of aggregation was significantly reduced only in RG after two weeks ($P < 0.05$), speed of aggregation significantly decreased in both experimental groups (R: $P < 0.05$; RG: $P < 0.01$).

Conclusion. Our data demonstrate that so-called “aspirin-like” effect of resveratrol can be supported by the simultaneous administration of β -glucan. This suggests synergistic effect of both agents on platelet functions in growing piglets.

STANOVENÍ DYNAMOMETRICKÝCH PARAMETRŮ U PACIENTŮ S CHRONICKOU OBSTRUČNÍ PLICNÍ NEMOCÍ

Kovařík, M.^{1,2}, Hronek, M.^{1,2}, Koblížek, V.³, Josková, V.^{1,2}, Patková, A.^{1,2}, Rybáková, K.^{1,2}, Zadák, Z.²

¹Universita Karlova, Farmaceutická fakulta, Hradec Králové, Česká republika

²Fakultní nemocnice, Centrum pro výzkum a vývoj, Hradec Králové, Česká republika

³Fakultní nemocnice, Plicní klinika, Hradec Králové, Česká republika

Úvod. Chronická obstrukční plicní nemoc (CHOPN) bývá u mnohých pacientů příčinou úbytku svalové hmoty a poklesu svalové síly. Cílem této studie bylo vyhodnocení dynamometrických parametrů u pacientů s CHOPN a zjištění jejich asociace s klinickými parametry u těchto pacientů.

Metodika. V rámci této studie bylo vyšetřeno 61 pacientů se stabilní CHOPN (46 mužů a 15 žen; průměrný věk 67 ± 7 roků a BMI $27,9 \pm 6,1 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$) a 9 osob z kontrolní skupiny bez respiračního postižení (4 muži a 5 žen; průměrný věk 62 ± 4 roků a BMI $27,8 \pm 4,5 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$). Stanovili jsme maximální sílu stisku paže, dobu trvání vytrvalostního testu (trvání stisku při 50 % maximální síly stisku) a plochu pod křivkou síla/doba stisku a provedli korelační analýzu těchto parametrů se stádiem CHOPN dle GOLD, hodnotami ADO, BODE a modifikovaného BODE indexu a výsledky šestiminutového chodníčkového testu (6MWT).

Výsledky. Zatímco průměrná maximální síla stisku paže se významně nelišila mezi pacienty s CHOPN ($319 \pm 87 \text{ N}$) a kontrolní skupinou ($326 \pm 74 \text{ N}$), prokázali jsme statisticky významný pokles mediánu doby trvání vytrvalostního testu (82 a 132 s) a plochy pod křivkou síla/doba stisku (13 669 a 24 089) u pacientů s CHOPN ve srovnání s kontrolní skupinou ($P < 0,0001$). Korelační analýza prokázala významnou negativní asociaci maximální síly stisku s hodnotami BODE a modifikovaného BODE indexu a výsledkem 6MWT. Plocha pod křivkou síla/doba stisku významně negativně korelovala s hodnotami BODE a modifikovaného BODE indexu, výsledkem 6MWT a stádiem CHOPN dle GOLD ($P < 0,05$).

Závěr. Prokázali jsme pokles vytrvalostních schopností u pacientů s CHOPN a vhodnost využití dynamometrických parametrů jako alternativy ke známým diagnostickým markerům.

Práce byla podpořena projekty: MH CZ - DRO (UHHK, 00179906), PRVOUK P40, UNCE 204026/2012 a [SVV 267 003 UK Farmaceutické fakulty].

ZNÁMKY POŠKOZENÍ MYELINU V LIKVORU PO OSMOTICKÉM OTEVŘENÍ HEMATOENCEFALICKÉ BARIÉRY U KRYŠ

Kozler, P., ¹, Sobek, O. ², Pokorný J., ¹

¹ Fyziologický ústav 1. LF UK, Praha, Česká republika

² Laboratoř pro likvorologii a neuroimunologii Topelex, Praha, Česká republika

Úvod. Řada klinických neurologických patologických stavů (např. Alzheimerova nemoc, Parkinsonova nemoc, roztroušená skleróza, poranění a nádory mozku, cévní mozkové příhody, epilepsie) je spojena se zvýšenou permeabilitou hematoencefalické bariéry (HEB) nebo jsou uvedené stavy její přímou příčinou. Způsobená porucha homeostázy vnitřního prostředí mozku vede mimo jiné k buněčným změnám v CNS. Zajímalo nás, zda je možné některé tyto změny indukovat osmotickým otevřením HEB v experimentu *in vivo* a zda lze jejich přítomnost detekovat v likvoru.

Metodika. Likvor v množství 0,15-0,2 ml byl odebrán cestou subokcipitální punkce u 10 zdravých kryš a u 6 kryš po osmotickém otevření HEB. To bylo provedené standardní metodou aplikace 20% Manitolu selektivně do vnitřní karotické tepny. Likvor v experimentální skupině byl odebrán v časovém intervalu 95 až 200 minut po ukončení aplikace Manitolu. U všech 16 zvířat byla v likvoru stanovena koncentrace myelin basic proteinu (MBP, ng/ml) metodou Elisa (MBP BECKMAN COUTTER lot 330710). Nalezené koncentrace MBP v obou skupinách byly statisticky vyhodnoceny s použitím neparametrických testů Kruskal-Wallis a Mann-Whitney.

Výsledky. Koncentrace MBP v likvoru přesahovala u všech zvířat v experimentální skupině hodnotu 14 ng/ml a byla statisticky významně vyšší ($p < 0,01$) než koncentrace MBP v likvoru u zdravých kryš.

Závěr. Práce prokázala, že osmotické otevření HEB v experimentu *in vivo* bez přítomnosti jiného patologického stavu mozku vede k akutnímu poškození myelinu.

Práce byla podpořena grantem No. P – 34/LF 1/7

ÚČINOK KAROTENOIDOV KVASINKOVEJ BIOMASY NA OKLUDÍN TESNÝCH SPOJENÍ ENDOTELU AORTY V PODMIENKACH ZÁPALU

Križák, J.¹, Frimmel, K.¹, Kavecká, M.², Breierová, E.³, Sotníková, R.⁴, Navarová, J.⁴, Bernátová, I.⁵, Okruhlicová, Ľ.¹

¹ *Ústav pre výskum srdca, Slovenská akadémia vied, Bratislava, Slovensko*

² *Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského v Bratislave, Slovensko*

³ *Chemický ústav, Slovenská akadémia vied, Bratislava, Slovensko*

⁴ *Ústav experimentálnej farmakológie a toxikológie, Slovenská akadémia vied, Slovensko*

⁵ *Ústav normálnej a patologickej fyziológie, Slovenská akadémia vied, Slovensko*

Medzibunkové tesné spojenia (TS) endotelu regulujú paracelulárny transport látok z krvi do subintimálneho priestoru. Okludín, jeden z transmembránových proteínov TS, reguluje ich funkciu. Zmena v jeho expresii mení štruktúru TS, čo zvyšuje permeabilitu endotelu a môže viesť k tvorbe aterosklerotického plaku. Bakteriálny zápal patrí k rizikovým faktorom aterosklerózy. Karotenoidy kvasinkovej biomasy s antioxidantnými vlastnosťami predstavujú prírodnú formu látok, ktoré môžu chrániť endotelovú bariérovú funkciu a prispievať k redukcii aterosklerózy. Cieľom našej pilotnej štúdie bolo skúmať antioxidantný vplyv karotenoidov na expresiu okludínu TS v endoteli aorty endotoxemického potkana. Sledovali sme aj ich účinok na relaxačnú odpoveď aorty a na selektované parametre zápalových markerov (TNF- α , MDA, NAGA, NOS). Použili sme dospelé normotenzné samce potkana kmeňa Wistar. Zápal bol indukovaný jednorázovou dávkou bakteriálneho lipopolysacharidu (LPS) (1 mg/kg i.p.). Následne bola po dobu 10 dní podávaná kvasinková biomasa s karotenoidmi (10 mg/kg/deň). Expresia a distribúcia okludínu bola skúmaná v hrudnej aorte metódou ELISA a imunofluorescenciou. Zistili sme, že LPS výrazne znižoval expresiu okludínu a jeho lokalizáciu v endoteli v porovnaní s kontrolnou skupinou, čo bolo spojené so zhoršenou od endotelu závislou relaxáciou aorty a zvýšenou aktivitou NOS v aorte. LPS zvyšoval hladinu TNF- α , MDA a aktivitu NAGA v plazme. Karotenoidy zvyšovali expresiu okludínu v aorte LPS potkanov. Zlepšovali relaxačnú odpoveď aorty spojenú s redukciou aktivity NOS a redukovali aj hladiny zápalových markerov v plazme. Naše výsledky poukazujú, že krátkodobé podávanie prírodných karotenoidov kvasinkovej biomasy malo výrazné antioxidantné a protizápalové účinky, ktoré môžu priaznivo ovplyvniť aj bariérovú funkciu vaskulárneho endotelu.

Podporené grantom VEGA 2/0065/13.

THE EFFECT OF D-GALACTOSAMINE ON LEAN AND STEATOTIC RAT HEPATOCYTES IN PRIMARY CULTURE

Kučera O., Lotková H., Sobotka O., Červinková Z.

Charles University in Prague, Faculty of Medicine in Hradec Králové, Hradec Králové, Czech Republic

Introduction Non-alcoholic fatty liver disease is the most common chronic liver disease in the Western world. In previous studies *in vivo* and *in vitro* we proved that steatotic hepatocytes are more susceptible to the toxic action of various hepatotoxins (acetaminophen, thioacetamide, tert-butylhydroperoxide) than lean hepatocytes.

D-galactosamine (GalN) is a model hepatotoxin with different mechanisms of its toxicity. Thus, the aim of our work was to compare the hepatotoxic effect of GalN on hepatocytes isolated from lean and steatotic rat liver.

Methods Male Wistar rats were fed by standard diet (10 % energy from fats) or high-fat diet (70 % energy from fats) for 6 weeks. Hepatocytes were isolated by two-step collagenase perfusion and cultured in William's E medium on collagen-coated well-plates. Both lean and fatty hepatocytes were exposed to GalN (1 - 40 mmol/l) for 24 hours. After this period, we tested lactate dehydrogenase leakage (LDH-L), production of reactive oxygen species (ROS) using fluorescent probe DCFDA, level of lipid peroxidation (thiobarbituric acid reactive substances, TBARS), and mitochondrial membrane potential (MMP) using fluorescent probe JC-1.

Results Non-treated steatotic hepatocytes exerted higher LDH-L, TBARS and ROS production compared to intact, non-steatotic hepatocytes. GalN induced damage to both lean and fatty hepatocytes in dose dependent manner, but the injury was more pronounced, and induced by lower doses of GalN in steatotic hepatocytes. An increase in LDH-L was observed after incubation with 40 mM GalN ($p < 0.001$) in lean and with 30 mM GalN ($p < 0.001$) in steatotic hepatocytes as compared to respective controls. Similarly, TBARS and ROS productions were increased from 30 mM and 20 mM GalN in non-fatty cells and steatotic hepatocytes, resp. A steep decrease in MMP was observed after incubation with GalN at concentrations of 40 ($p < 0.001$) and 20 mmol/l ($p < 0.001$) in nonsteatotic and fatty hepatocytes, resp.

Conclusion Steatotic rat hepatocytes in primary culture exerted higher sensitivity to D-galactosamine-induced injury than lean hepatocytes.

Supported by PRVOUK P37/02.

ČASO-PROSTOROVÝ PROFIL POČÁTKŮ ZÁCHVATŮ V TETANO-TOXINOVÉM MODELU TEMPORÁLNÍ EPILEPSIE

Kudláček, J.^{1,2}, Vlk, P.^{1,2}, Demeterová, L.¹, Otáhal, J.¹, Pošusta, A.^{1,2}, Jiruška, P.¹

¹*Fyziologický ústav, Akademie věd České republiky, Praha, Česká republika*

²*Fakulta elektrotechnická, České vysoké učení technické, Praha, Česká republika*

Úvod. Temporální epilepsie představuje nejčastější formu epilepsie. Přestože je patofyziologie temporální epilepsie intenzivně studována, není doposud zřejmé, ze kterých oblastí limbického systému záchvaty vychází. Tradiční modely temporální epilepsie (pilokarpinový, kainátový) neumožňují přesné určení oblasti počátku záchvatů a popis kauzální úlohy jednotlivých limbických struktur v iktogenezi. Cílem této práce bylo ozřejmit časoprostorový profil počátku záchvatů v tetanotoxinovém modelu temporální epilepsie hipokampálního původu.

Metodika. Epilepsie byla vyvolána u dospělých potkanů aplikací 10 ng tetanotoxinu do pravého dorzálního hipokampu (n=4). Následně byly potkanům implantovány mnohočetné bipolární registrační elektrody do piriformní kůry, amygdaly, perirhinální kůry, dorzálního hipokampu, ventrálního hipokampu a mediální entorhinální kůry obou hemisfér. Po týdenní rekonvalescenci byla zvířata dlouhodobě video-EEG monitorována.

Výsledky. Celkem bylo analyzováno 123 záchvatů s průměrnou dobou trvání $69,5 \pm 5,9$ s. Záchvaty měly hypersynchronní charakter a 63% mělo počátek v ipsilaterálních limbických strukturách. Z celkového počtu záchvatů 33% vycházelo z ipsilaterálního ventrálního hipokampu, 20% z ipsilaterální mediální entorhinální kůry. Třetí nejčastější strukturu, ze které byly záchvaty iniciovány, představoval kontralaterální ventrální hipokampus (13%). Z injikovaného dorzálního hipokampu vycházelo pouze 7% záchvatů.

Závěr. Tato práce prokazuje komplexní úlohu řady limbických struktur v rámci epilepsie indukované aplikací tetanotoxinu do dorzálního hipokampu. Získaná data potvrzují význam konceptu epileptických neuronálních sítí v iktogenezi a klíčovou úlohu ventrálního hipokampu v temporální epilepsii.

Práce byla podpořena granty Ministerstva zdravotnictví České republiky (IGA NT/14489-3), Nadačního fondu Neuron (2012/10) a Grantové agentury České republiky (P303/14-02634S).

DISORDER IN THE HOUSE: ACTIN LEVEL DECREASE IN LEUKOCYTES OF MPS II PATIENTS

Kulhanek, J.,¹ Ujcikova, H.², Poupetova, H.³, Zeman, J.¹, Magner, M.¹, Svandova, I.²

¹*Department of Pediatrics and Adolescent Medicine, First Faculty of Medicine, Charles University in Prague and General University Hospital in Prague, Czech Republic*

²*Department of Physiology, Faculty of Science, Charles University in Prague, Czech Republic*

³*Institute of Inherited Metabolic Disorders, First Faculty of Medicine and General Teaching Hospital, Charles University in Prague, Czech Republic*

Introduction. Mucopolysaccharidosis II (MPS II, Hunter syndrome) is a rare X-linked lysosomal storage disorder, characterised with an excessive storage of glycosaminoglycans due to a deficiency of lysosomal enzyme iduronate 2-sulfatase. This triggers a cascade of events affecting various processes of the cell, as well as composition of extracellular matrix (ECM). The composition and physical cross-linking of ECM molecules affect the condition of the actin cytoskeleton. Although actin, a product of the housekeeping gene, is expressed at relatively constant levels, its level changes in some pathological situations linked to the loss of the ECM proper structure. Thus, we focused on actin level changes in MPS II, also a disease of disturbed lysosome-ECM communication.

Methods. Whole blood samples of two male patients with MPS and their age- and sex-related controls were collected and primary leukocytes were separated. For postnuclear supernatant preparation, 10 uL of lysis buffer (LB) per million cells were added. After lysis, leukocytes were homogenised in LB on ice, and subsequently centrifugated). Proteins of supernatant were fractionated by 10% SDS-PAGE and actin level was measured by Western blot using goat polyclonal IgG actin antibody (I-19, sc-1616).

Results. Actin was detected on 43 kDa. We described significant decrease of actin level in the MPSII patients leukocytes, when compared to controls. The Patient 1 actin level reached 63,80 % of actin level of his pair-matched control ($p < 0,001$). The Patient 2 actin level was of 78,50% of his pair-matched control ($p = 0,008$).

Conclusion. This study represents the first work investigating actin levels in MPS II patients. We showed significant decrease of actin level in two MPS II patients.

This work was supported by grants RVO-VFN 64165/2012, IGA 14156-3/2013, and IGA MZ NT14015-3/2013.

VYUŽITÍ KLINICKÝCH DIAGNOSTICKÝCH METOD V PŘEDKLINICKÝCH POKUSECH NA PRASATECH: (EXPERIMENTÁLNĚ INDUKOVANÉ GASTROINTESTINÁLNÍ PROMĚNNÉ FYZIOLOGICKÉ STAVY)

Kuneš, M.^{1,2}, Květina, J.³, Bureš, J.³, Tachecí, I.³, Kopáčová, M.³, Pavlík, M.⁴

¹ Centrum biomedicínského výzkumu, Fakultní nemocnice Hradec Králové, Česká Republika

² Chirurgická klinika, Fakultní nemocnice Hradec Králové, Česká Republika

³ II. interní gastroenterologická klinika, Fakultní nemocnice Hradec Králové a Lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Hradec Králové, Česká Republika

⁴ Fakulta vojenského zdravotnictví, Hradec Králové, Česká Republika

Úvod. Cílem komplexu studií bylo verifikovat použitelnost některých recentních GI-diagnostických metod v předklinické fyziologii, patofyziologii a farmakologii.

Metodika. V experimentech na prasatech (České bílé ušlechtilé prase; hmotnost 25-35kg) byly využity metody kapslové endoskopie, konfokální laserové endomikroskopie, elektrogastrografie (myoelektrické aktivity žaludku) pro diagnostiku experimentálně navozených GI-zánětů, (indometacin, dextran sulfát), objemové gastrické zátěže a gastrického prokinetika.

Výsledky. Přesnost detekce a lokalizace lézí pomocí kapslové endoskopie dosahovala téměř 90% (dle pitevních nálezů). U konfokální laserové mikroskopie bylo provedeno ověření a definování limitů pro včasnou diagnostiku morfologických patologií. Dávkové závislosti modelových lékových agens či vliv různých typů celkové anestezie umožnily zhodnotit míru jejich vliv na myoelektrickou aktivitu žaludku (frekvence i míru elektrických impulsů).

Závěr. Byla ověřena použitelnost moderních diagnostických metod v gastroenterologii v experimentech na prasatech, sledovány hodnocené parametry a zpřesňování metodik využitelných v klinické praxi na pacientech.

Práce byla podpořena grantem IGA NT/14270 a MH CZ – DRO (UHHK, 00179906).

USE OF ELECTROGASTROGRAPHY IN PRECLINICAL STUDIES OF CHOLINERGIC AND ANTICHOLINERGIC AGENTS IN EXPERIMENTAL PIGS

J. Květina^{1,2}, I. Tachecí¹, M. Pavlík³, M. Kuneš⁴, J. Bureš¹

¹ *Department of Internal Medicine - Gastroenterology, Charles University in Praha, Faculty of Medicine at Hradec Králové, University Teaching Hospital, Hradec Králové, Czech Republic;* ² *Institute of Experimental Biopharmaceutics, Czech Academy of Sciences, Hradec Králové, Czech Republic;* ³ *Centre of Advanced Studies, University of Defence, Faculty of Military Health Services, Hradec Králové, Czech Republic;* ⁴ *Biomedical Research Centre, University Teaching Hospital, Hradec Králové, Czech Republic*

Background: Surface electrogastrography (EGG) is a non-invasive method for the assessment of gastric myoelectrical activity. Porcine EGG is fully comparable with that recorded in healthy humans. The purpose of this study was to evaluate the effect of atropine and neostigmine on gastric myoelectrical activity in experimental pigs.

Methods: Twelve young adult female pigs entered the study. The baseline EGG recording lasted 20 min., followed by a 90-minute EGG trial recording by means of an Electrogastrography Stand Alone System (MMS, Enschede, the Netherlands). Atropine (Atropini sulfas monohydricus) 1.5 mg i.m. (six animals) or neostigmine (Neostigmini metilsulfas) 0.5 mg i.m. (six animals) were administrated after the baseline EGG. All experiments were carried out under general anaesthesia. MMS software (version 8.19) was used to assess EGG recordings. Running spectral analysis (based on Fourier transform) was used for elemental evaluation of the EGG. The results were expressed as dominant frequency of slow waves at all intervals of the EGG recordings. EGG power analysis (areas of amplitudes) was performed afterwards in all animals.

Results: Neostigmine increased significantly the dominant frequency from basal EGG 2.58 ± 0.54 cycles per min. to the trial recording 2.63 ± 0.51 at the 20-30-minute interval ($p=0.020$) throughout to 2.864 ± 0.606 at the 60-90-minute interval ($p<0.001$). Neostigmine decreased significantly the EGG power ($594.3 \pm 853.8 \mu V^2$ at the 5-10-minute interval, $p=0.036$, throughout to the 60-90-minute interval, $117.6 \pm 157.5 \mu V^2$; $p<0.001$). Atropine did not change the dominant frequency significantly. However, atropine increased significantly the EGG power (areas of amplitudes) from basal values (232.5 ± 195.9) to the maximum at the 10-20-minute interval ($945.0 \pm 901.2 \mu V^2$; $p<0.001$). After that period, the areas of amplitudes decreased significantly to the values of $409.8 \pm 417.9 \mu V^2$ at the 60-90-minute interval ($p=0.001$).

Conclusions: Both cholinergic and anticholinergic agents affect significantly myoelectric activity of the stomach in experimental pigs.

The study was supported by the research grant IGA NT/14270 (Ministry of Health, Czech Republic).

Contact e-mail: kvetina@uebf.cas.cz

VPLYV SUPLEMENTÁCIE VITAMÍNOM D₃ NA PURINERGNE P2X₇ RECEPTORY U PACIENTOV S CHRONICKÝM OCHORENÍM OBLIČIEK

Lajdová, I.¹, Spustová, V.¹, Okša A.¹, Horváthová, M.¹, Chorvát, D.², Marček, Chorvátová, A.²

¹*Slovenská zdravotnícka univerzita, Lekárska fakulta, Bratislava, Slovensko*

²*Medzinárodné laserové centrum, Bratislava, Slovensko*

Úvod. Koncentrácia voľného cytosolového vápnika ($[Ca^{2+}]_i$) je dôležitým signálnym mediátorom mnohých biologických systémov. Už v skorých štádiách chronického ochorenia obličiek (CKD) dochádza k zvýšeniu intracelulárnych zásob Ca^{2+} , čo vedie k poškodeniu bunkových funkcií / štruktúr. P2X₇ receptory, participujú na tomto zvýšení. Ich aktiváciou dochádza k otvoreniu kationových kanálov a pórov. Cieľom štúdie bolo zistiť účinok suplementácie vitamínom D₃ na funkčnosť kanálov a pórov P2X₇ receptorov a na expresiu P2X₇ receptorov v periférnych mononukleárných bunkách (PBMCs) pacientov s CKD.

Metodika. Do štúdie bolo zaradených 16 nediabetických pacientov s CKD štádium 2-3. Pacienti boli suplementovaní cholekalciferolom 7000 - 14000 IU/týždeň po dobu 6 mesiacov. $[Ca^{2+}]_i$ bola meraná fluorescenčnou spektroskopiou. Funkčnosť P2X₇ receptorov bola zisťovaná sledovaním účinkov selektívneho antagonistu (AZ11645373) a agonistu (BzATP) na $[Ca^{2+}]_i$. Funkčnosť pórov bola sledovaná meraním intenzity fluorescencie etídia bromidu, expresia P2X₇ receptorov prietokovou cytometriou s použitím značenej protilátky anti-P2X₇ (extracellular)-FITC.

Výsledky. Suplementácia vitamínom D₃ redukovala $[Ca^{2+}]_i$ u CKD pacientov. Aplikácia antagonistu pred suplementáciou znižovala $[Ca^{2+}]_i$ ale po suplementácii nemala účinok. Účinok antagonistu na stimulované PBMCs bol po suplementácii signifikantne znížený. Účinok suplementácie na priepustnosť P2X₇ pórov nebol preukázaný. Expresia povrchových P2X₇ receptorov bola znížená o 55%.

Záver. Suplementácia vitamínom D₃ znižuje $[Ca^{2+}]_i$ už v skorých štádiách CKD, na čom sa podieľa zníženie vstupu vápnika prostredníctvom P2X₇ kanálov a zníženie expresie P2X₇ receptora.

Podporené grantom: VG SZU 19-90-07, "NanoNet 2" (ITMS 26240120018), SK-FR-2013-0020

EFFECT OF VOLUNTARY WHEEL RUNNING IN RATS ON THE EXCITABILITY OF SEROTONIN NEURONS.

Lapinova, L¹., Jezova, D²., Lacinova, L¹., Dremencov, E^{1,2}

¹*Institute of Molecular Physiology and Genetics, Slovak Academy of Sciences, Bratislava, Slovakia*

²*Institute of Experimental Endocrinology, Slovak Academy of Sciences, Bratislava, Slovakia*

Introduction: It has been known since antiquity that physical exercise has beneficial effect on mood and emotional wellbeing. However, the cellular and molecular mechanisms mediating this effect are poorly understood. The aim of my project is to investigate the effect of voluntary wheel running (VWR) in rats on the firing activity of serotonin (5-HT) neurons.

Methods: Male Sprague-Dawley rats, weighting 250-300 g, were placed in the cages with free access to food, water, and a running wheel. Daily running distances were recorded using digital cyclometers. Control rats were housed two per standard cage, with a free access to food and water. Daily food and water intake and weekly gain in the body weight, were recorded for both groups. *In vivo* electrophysiological recording of the spontaneous activity of 5-HT neurons was performed after 21 days of VWR exposure, under chloral hydrate anaesthesia.

Results: The distance run by VWR rats increased daily and reached the plateau of 6-7 km after approximately 10 days. The gain in the body weight, as well as average food and water intake were not significantly different between control and VWR rats. Preliminary *in vivo* electrophysiology experiments showed that the VWR rats demonstrated higher spontaneous activity of 5-HT neurons, in comparison with controls (2.82 ± 0.77 versus 1.67 ± 0.28 Hz).

Conclusion: The preliminary results of this study might indicate that the beneficiary effect of physical exercise on the mood and emotional wellbeing is mediated, at least in part, via its effect on brain 5-HT system.

This work was supported by the Slovak Academy of Sciences Scholarship to Dr Dremencov.

EFEKT ANTAGONISTU DELTA-OPIOIDNÝCH RECEPTOROV NALTRINDOLU NA EXCITABILITU HIPOKAMPÁLNYCH NEURÓNOV Z NOVONARODENÝCH POTKANOV

Lapínová, L.¹, Lacinová, Ľ.¹, Ježová, D.², Dremencov, E.^{1,2}

¹ Slovenská akadémia vied, Ústav molekulárnej fyziológie a genetiky, Oddelenie transportných proteínov, Vlárská 5, 833 34 Bratislava, Slovensko

² Slovenská akadémia vied, Ústav experimentálnej endokrinológie, Vlárská 3, 833 06 Bratislava, Slovensko

Úvod. Delta-opioidné receptory zohrávajú dôležitú úlohu v procesoch chronickej bolesti, emočných procesoch a pri poruchách nálad. Vo vysokej koncentrácii sú exprimované v hipokampe, kde priamo alebo nepriamo, prostredníctvom interneurónov, ovplyvňujú excitabilitu pyramidálnych neurónov. Cieľom našej štúdie bolo zistiť aký vplyv na hipokampálnu excitabilitu má antagonistu δ -opioidných receptorov naltrindol.

Metodika. Z novorodených potkanov kmeňa Wistar bola pripravená primárna kultúra hipokampálnych neurónov. Excitabilita bola meraná v konfigurácii „z celej bunky“ metódou patch-clamp s použitím zosilňovača HEKA EPC-10. Naltrindol bol aplikovaný do tesnej blízkosti meranej bunky perfúznym systémom. Pre štatistickú analýzu bola použitá analýza variancie s opakovaním (RM ANOVA) a Tukey post hoc test. Pravdepodobnosť $*p < 0.05$ bola považovaná za štatisticky významnú.

Výsledky. Naltrindol v koncentráciách 1 μM , 10 μM a 100 μM významne znížil počet akčných potenciálov v depolarizáciu-indukovanej sérii. Vyššie koncentrácie naltrindolu (10 μM a 100 μM) významne potlačali aj spontánnu aktivitu hipokampálnych neurónov, zatiaľ čo nižšia koncentrácia (1 μM) spontánnu aktivitu potlačila iba mierne.

Záver. Z našich výsledkov vyplýva, že antagonistu δ -opioidných receptorov naltrindol potláča evokované či spontánne generovanie akčných potenciálov pyramidálnych hipokampálnych neurónov. Môžeme teda povedať, že δ -opioidné receptory ovplyvňujú hipokampálnu excitabilitu. Práve kvôli schopnosti ovplyvniť generovanie akčných potenciálov predstavujú δ -opioidné receptory potenciálny cieľ na liečbu ochorení centrálného nervového systému.

Práca bola podporená grantom No. APVV 0212-10 a štipendiom SAS.

KVANTIFIKÁCIA CIRKULUJÚCEJ FETÁLNEJ DNA A STANOVENIE DNÁZOVEJ AKTIVITY V PLAZME KRÁV V RÔZNYCH ŠTÁDIÁCH GRAVIDITY.

Lauková, L.¹, Vlková, B.², Celec, P.²

¹ *Ústav molekulárnej biomedicíny LF UK, Bratislava, Slovenská republika*

Úvod. Cirkulujúce nukleové kyseliny ponúkajú jedinečné možnosti pre neinvazívnu prenatalnú diagnostiku, nakoľko predstavujú pomerne ľahko dostupný zdroj genetickej informácie plodu. Tieto extracelulárne nukleové kyseliny môže byť použité na detekciu sekvencií špecifických pre Y chromozóm, a tým na determináciu pohlavia, ale aj ochorení spojených s tehotenstvom, či ochorení viazaných na pohlavie. Štúdie ukázali, že aj u hovädzieho dobytku je možné presné určenie pohlavia prostredníctvom PCR amplifikácie Y špecifických sekvencií fetálnej cirkulujúcej DNA v krvi gravidnej samice. Presnejšia identifikácia a kvantifikácia fetálnej DNA u kráv, však doposiaľ nie je známa. Podľa nedávnych pozorovaní sme zistili, že DNázová aktivita je mnohonásobne vyššia v plazme gravidných myši a potkanov v porovnaní s plazmou tehotných žien. DNázová aktivita v plazme gravidných kráv však taktiež nie je známa, hoci gravidita u nich trvá rovnaký čas ako u žien. Cieľmi tejto štúdie boli preto určenie pohlavia plodu z maternálnej plazmy, kvantifikácia fetálnej DNA v plazme gravidných kráv a stanovenie DNázovej aktivity v plazme týchto kráv.

Metodika. Pohlavie plodu sme určili pomocou PCR reakcie amplifikáciou Y-špecifického úseku *SRY* génu, pričom ako pozitívnu kontrolu izolácie sme použili housekeeping gén *GAPDH*. Voľnú fetálnu DNA sme kvantifikovali v plazme gravidných kráv v rôznych štádiách tehotenstva pomocou real time PCR. DNázovú aktivitu sme stanovili prostredníctvom komerčného ELISA kitu.

Výsledky. V práci sme určili pohlavie plodu z plazmy gravidných kráv, kvantifikovali sme voľnú fetálnu DNA v plazme týchto kráv a okrem toho sme stanovili DNázovú aktivitu v plazme.

Záver. Voľná fetálna DNA v plazme gravidných kráv ponúka jedinečné možnosti pre neinvazívnu prenatalnú diagnostiku ako aj pre ďalšie molekulárne analýzy.

Práce byla podpořena grantem No. VEGA1/0159/12.

SEX-SPECIFIC RESPONSE TO ISCHEMIA-REPERFUSION IN YOUNG HYPERTENSIVE AND NORMOTENSIVE RATS EXPOSED TO SOCIAL STRESS: MOLECULAR MECHANISMS

Ledvenyiova-Farkasova, V.¹, Bernatova, I.², Slezak, P.², Puszerova, A.², Gablovsky, I.¹, Carnicka, S.¹, Bartekova, M.¹, Ravingerova, T.¹

¹*Institute for Heart Research*, ²*Institute of Normal and Pathological Physiology, Slovak Academy of Sciences, Centre of Excellence SAS NOREG, Bratislava, Slovak Republic*

Introduction. Genetic predisposition and social stress represent important risk factors in etiology of hypertension associated with impaired myocardial response to ischemia and reperfusion (I/R). The latter can differ in male and female heart as sex is an important determinant of cardiovascular morbidity and mortality in human population. Tolerance to I/R persists even in the hearts of animals with predisposition to hypertension and may be modified by adaptation to stressful conditions.

Methods. Male and female 5-week-old SHR and WKY were exposed to 2-week crowding stress (CS; livingspace 200cm²/rat). Unstressed animals had livingspace 480cm²/rat. Langendorff-perfused hearts of all experimental rats were exposed to 30-min global ischemia and 2-h reperfusion for the evaluation of reperfusion-induced ventricular arrhythmias, infarct size (IS) and recovery of contractile function.

Results. Non-stressed WKY males had elevated blood pressure (BP) compared to females. Opposite condition was seen in SHRs. Although stress did not affect BP significantly in WKY and SHR groups, there was a consistent trend towards increased BP in all crowded rats compared to controls. Non-stressed SHRs exhibited increased resistance to reperfusion-induced ventricular arrhythmias. On the other hand, stressed hypertensive animals had higher vulnerability to reperfusion-induced ventricular tachycardia. In non-stressed SHRs, the size of lethal injury was significantly increased in both sexes compared to WKY. IS was not affected by CS in any of the groups. CS resulted in a decrease of NOS activity in left ventricle of males and females SHRs.

Conclusions. CS modifies parameters of I/R in a distinct way. Inherited predisposition to hypertension may be responsible for different susceptibility to ventricular arrhythmias and to lethal injury, which appears to be sex-dependent.

Grants VEGA 2/0201/15, APVV-0523-10, APVV-0102-11.

VZŤAH REGENERÁCIE MOZGU SO ZMENAMI V SPRÁVANÍ. MRI ŠTÚDIA.

Lukáčová, K.¹, Bosíková, E.¹, Bačiak, L.², Kašparová S.², Niederová- Kubíková L.¹

¹ *Ústav biochémie a genetiky živočíchov SAV, Ivanka pri Dunaji, Slovensko*

² *Laboratóriu hmotnostnej a NMR spektrometrie, FCHPT STU Bratislava, Slovensko*

Poškodenie mozgu, mozgová mŕtvica je jednou z častých príčin úmrtia. V niektorých prípadoch však spôsobuje indukované tzv. neurogénne koktanie u ľudí. Spevavec zebrička červenozobá patrí spolu s človekom do skupiny živočíchov, ktoré sa musia učiť vokálne komunikovať. Vokálne učenie u týchto dvoch skupín má podobné fázy, má paralely na génovej úrovni, ale aj na úrovni dráh mozgu zodpovedajúcich za učenie a produkciu spevu/reči. Lézie vokálnej oblasti Area X nachádzajúcej sa v striate mozgu u samcov zebričky opakujúcich jednu slabiku na konci motívu indukujú zvýšené opakovanie tejto slabiky, čo je prirovnávané ku koktaniu u ľudí. Toto zvýšené opakovanie slabiky prebieha v období regenerácie Area X po poškodení. Cieľom našej práce bolo dokázať, že regenerácia vokálnej oblasti Area X môže spôsobovať zvýšenie opakovania slabiky (koktanie). Neurotoxicky poškodená v oblasť Area X (n=5) bola sledovaná počas šiestich mesiacov pomocou zobrazovania magnetickou rezonanciou (MRI). Skenovanie sa uskutočňovalo v časových intervaloch 2 týždne, 1 mesiac, 3, 4 a 6 mesiacov po poškodení. Zároveň bola sledovaná aj behaviorálna stránka- spev so zameraním na počet opakovaní. Léziou sme v priemere zasiahli $81 \pm 3,64\%$ Area X. V čase dvoch týždňov po poškodení Area X regenerovala na $50,63 \pm 3,71\%$, 1 mesiac na $41,52 \pm 1,22\%$, 3 mesiace $21,62 \pm 1,4\%$, 4 mesiace $14,54 \pm 0,83\%$ a 6 mesiacov na $10,63 \pm 0,8\%$. Sledovaním miery opakovania slabiky sme zistili, že jeden vták neopakoval poslednú slabiku motívu piesne ani pred ani po operácii. U ostatných jedincov nastalo zvýšenie opakovania poslednej slabiky motívu piesne 2 týždne na $104,83 \pm 0,34\%$, 1 mesiac na $106,94 \pm 6,94\%$, 3 mesiace na $133,9 \pm 10,65\%$, 4 mesiace na $130,49 \pm 7,89\%$ a 6 mesiacov po poškodení na $121,14 \pm 4,33\%$. Časový priebeh opakovania slabiky v motíve piesne a priebeh regenerujúcej sa oblasti Area X naznačujú, že inkorporácia a zapájanie sa nových neurónov do poškodenej oblasti spôsobujú nadmerné opakovanie slabiky.

Práca bola podporená grantom VEGA 2/0177/14.

POSTNATÁLNY VÝVOJ TUBULÁRNEHO SYSTÉMU KARDIOMYOCYTOV V PAPILÁRNOM SVALE POTKANA

Macková, Katarína, Novotová, Marta, Zahradník, Ivan, Zahradníková jr., Alexandra,

Oddelenie pre výskum svalových buniek, Ústav molekulárnej fyziológie a genetiky, Slovenská akadémia vied, Bratislava, Slovensko

Úvod. Tubulárny systém plazmalemy kardiomyocytov zabezpečuje funkciu plazmalemy v celom objeme bunky. Je známe, že u hlodavcov sa tubulárny systém (TS) vytvára počas prvého mesiaca postnatálneho obdobia avšak dynamika rozvoja TS nie je objasnená.

Metodika. Rozvoj siete TS sme sledovali podľa Wei a kol. (2010). Izolované srdce anestetizovaného potkana (Wistar, vek 10 – 60 dní) bolo vyňaté, kanylované a premývané cez aortu. Po variabilnej forme a dobe inkubácie bol vypreparovaný papilárny sval a stena myokardu ľavej komory a pozorované pomocou laserového skenovacieho fluorescenčného konfokálneho mikroskopu Leica TCS SP2 AOBS.

Výsledky. Vzhľadom na labilnosť tubulárneho systému bolo potrebné študovať TS v rámci neporušeného tkaniva. Farbenie izolovaného papilárneho svalu bolo pomalé a nerovnomerné. Aplikácia farbičky perfúziou celého srdca poskytla optimálne výsledky pri použití 20 μ M di-8-ANEPPS rozpustenom cez DMSO v bezvápnikovom Tyrodovom roztoku. Zistili sme, že tlak perfúzie srdca je potrebné prispôbiť veku srdca. Konfokálna mikroskopia povrchu zobrazovala distribúciu tubulárneho systému myocytov uspokojivo do hĺbky 20 μ m. Po digitálnom spracovaní obrazov bolo možné dostatočne rozlíšiť transverzálne aj longitudinálne zložky TS v jednotlivých štádiách postnatálneho vývoja.

Záver. Farbenie *in situ* umožňuje študovať tubulárny systém myocytov srdca s rozlíšením dostatočným na charakterizáciu jeho rozvoja počas postnatálneho vývoja a pri zaťažení.

Wei a kol.: T-Tubule Remodeling During Transition From Hypertrophy to Heart Failure. *Circ Res.* 107, 520-531, 2010

Práca bola podporená grantami APVV č. 0721/10, VEGA č. 2/0147/14 a VEGA č. 2/0095/15.

SEXUÁLNE ROZDIELY V ÚČINKU METAMFETAMÍNU NA ANXIOGÉNNE A ANXIOLYTICKÉ SPRÁVANIE VO VYVÝŠENOM KRÍŽOVOM BLUDISKU

Macúchová E., Nohejlová K., Pometlová M., Malinová M., Hřebíčková I., Šlamberová R.

Ústav normální, patologické a klinické fyziologie, 3. lékařská fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Praha, Česká republika

Úvod. Metamfetamín (MA) je jednou z najčastejšie zneužívaných drog. Prenatálna aplikácia, akútne aj chronické zneužívanie drogy vedie k funkčným aj štrukturálnym zmenám v mozgu, a s nimi spojenými zmenami v správaní. Anxieta, záchvaty paniky i depresívne stavy boli zaznamenané u ľudí zneužívajúcich MA. Ukazuje sa, že jedinci ženského pohlavia sú citlivejší k účinku drogy. Odlišná citlivosť samíc k droge je taktiež závislá na hladine pohlavných hormónov. Predmetom tejto štúdie bolo zistiť efekt akútnej jednorazovej aplikácie MA na správanie samíc a samcov vo vyvýšenom krížovom bludisku po prenatálnej aplikácii rovnakej drogy.

Metodika. Test vyvýšeného krížového bludiska (EPM) je často používaným testom na zistenie anxiogénneho alebo anxiolytického účinku drogy. Počas celej doby gravidity bol samiciam aplikovaný MA (5 mg/kg). Dospelí potomkovia boli testovaní v 4 skupinách samíc a 4 skupinách samcov (prenatálna/akútna aplikácia): SA/SA, MA/SA, SA/MA, MA/MA. MA v dávke 1 mg/kg bol aplikovaný 45 minút pred testom. Správanie bolo nahrávané po dobu 5 minút, analyzované v 4 kategóriách: anxiogénne a anxiolytické správanie, konflikt dosiahnutie - vyhnutie a lokomočná aktivita, a následne hodnotené pomocou programu ODLog.

Výsledky. V EPM teste sme zistili u samíc zníženú anxiету v porovnaní so samcami. Aplikácia MA zosilnila výskyt anxiolytického správania u samíc voči samcom s akútne aplikovanou drogou. Akútny MA zvýšil lokomočnú aktivitu u samíc, a naopak čas strávený explorovaním bol znížený po prenatálnej aplikácii MA u oboch pohlaví. Prenatálna ani akútna aplikácia MA nevedla k zmenám vo výskyte parametrov anxiogénneho a anxiolytického správania v rôznych fázach estrálneho cyklu samíc.

Záver. Prenatálna a akútna aplikácia MA ovplyvňuje parametre anxiogénneho a anxiolytického správania v závislosti na pohlaví.

Práce byla podpořena grantem: PRVOUK P 34, GAČR 14-03708S

ASENAPINE INDUCES FOS EXPRESSION IN BASAL NUCLEUS OF MEYNERT: CORRELATION WITH MILD STRESS PRECONDITIONING AND THE ADJACENT HYPOCRETIN AND MELATONIN-CONCENTRATING HORMONE PRODUCING NEURONS IN RATS.

Majercikova Z, Osacka J, Horvathova L, Cernackova A, Kiss A

Laboratory of Functional Neuromorphology, Institute of Experimental Endocrinology SAS, Bratislava

Introduction: The basal nucleus of Meynert (NBM) is mostly cholinergic structure and a part of the striatal-cortical circuits. The NBM is implicated in cognitive functions. Neuronal loss in this structure is well correlated with some dementing illnesses, including Alzheimer's and Parkinson's diseases. Asenapine (ASE) is a novel atypical antipsychotic drug being developed for treatment of schizophrenia. Stress, an inseparable part of the human life, may interfere with the effect of different drugs. The goal of the present study was to evaluate the effect of ASE treatment on the activity of NBM cells. We also investigated whether a chronic unpredictable variable mild stress (CMS) preconditioning might modify the ASE impact.

Methods: Adult male Wistar rats (n=28) weighing 240-250 g were used. The rats were divided into 4 groups: control+vehicle (CV, n=6), control+ASE (CA, n=6), CMS+vehicle (SV, n=8), and CMS+ASE (SA, n=8). SV and SA groups, were preconditioned by CMS for 21 days. Stress paradigms included: restrain (in plastic restrainers for 30-60 min), social isolation and crowding (overnight), swimming (at 23°C water for 5 and 15 min), and cold stress (in cold room at 4°C for 30-60 min). At the 22nd day, the rats received a single injection of vehicle (saline 300 µl/rat s.c.) or ASE (0.3 mg/kg s.c.) 90 min before sacrificing. Rats were sacrificed by transcardial perfusion with fixative and 30 µm thick coronal brain sections were processed. Neuronal activity was evaluated by the presence of Fos protein visualized by immunolabeling using 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride intensified with nickel chloride. Hypocretin (Hcr) and melanin-concentrating hormone (MCH) containing cells were visualized by fluorescent dyes.

Results: ASE treatment significantly stimulated Fos expression in NBM in both controls and CMS-preconditioned rats in comparison with vehicle-treated animals. Preconditioning with CMS significantly decreased the Fos response to ASE in this area. ASE also activated a few Hcr neurons located near or within the NBM. MCH neurons were not affected at all.

Conclusion: We clearly demonstrated that ASE has a stimulatory effect on the activity of the NBM neurons. This effect can be modulated by a mild stress preconditioning. Activation of the adjacent Hcr neurons by ASE may also play a role in the NBM circuits.

Supported by 2/0069/12 VEGA and BrainCentrum grants of the Slovak Academy of Sciences.

REHABILITACE PO EXPERIMENTÁLNÍM IKTU U POTKANA

Mareš, J., Maďa, P., Mikeš, J., Nohejlová, K.

Univerzita Karlova v Praze, 3. lékařská fakulta, Ústav Normální, Patologické a Klinické Fyziologie, Praha, Česká republika

Úvod. Funkční poruchy po ischemické lézi CNS jsou vzhledem k relativně dlouhému dožití pacientů celosvětově vážným problémem. Experimentální práce z posledních let zaměřené na motorickou rehabilitaci po experimentálních iktech prokazují výrazné funkční i morfologické zlepšení. Proto jsme se rozhodli vyzkoušet vliv tréninku a pobytu v obohaceném prostředí na změny chůze vyvolané ischemickou lézí somatosenzorické kůry (SM) potkana.

Metodika. 36 dospělých samců laboratorního potkana bylo rozděleno na 4 skupiny. Dvě podstoupily fototrombotizaci cév levostranné SM a dvě skupiny byly („sham“) operovány bez vytvoření lézí. Následně byly experimentální a sham skupina umístěny na noc do Activity monitoring wheel[®] a podstupovaly i 2x/5min/den motorický trénink na rotarod po dobu 10 dní. Zbylé skupiny byly ve standartních podmínkách. U všech byla analyzována chůze přístrojem Catwalk XT[®]. Statistika ANOVA.

Výsledky. Při analýze pohybu byly nalezeny rozdíly ve velikosti plochy a trvání kontaktu končetin s podložkou. Pravá, kontralaterální, přední končetina (RF) měla u skupiny po fototrombóze příčný rozměr větší než sham skupina ($p < 0.01$). U zvířat s lézí umístěných do obohaceného prostředí a s pravidelným tréninkem, hodnota šíře otisku RF se normalizovala na úroveň sham skupiny. Při porovnání otisků pravých zadních končetin (RH) byl naopak příčný rozměr otisku u zvířat s lézí menší oproti sham skupině ($p < 0.001$). Tento důsledek léze nebyl ovlivněn motorickým tréninkem.

Závěr. Prokázali jsme, že malé ischemické léze zasahující výhradně SM oblast kůry je možné pozitivně ovlivnit dlouhodobou motorickou zátěží a každodenním tréninkem. Příčinou může být samozřejmě posílení svaloviny, které ovlivní motorický vzorec chůze. Pozitivní důsledky může mít i zátěž vyvolaná částečná rekonstrukce a přesun korových senzorických a motorických projekcí. A pohybem způsobené změny průtoku krve zasahující do penumbry mohou mít vliv na rekonvalescenci postižených oblastí.

Práce byla podpořena: CSM7/CRP/2014, 260045/SVV/2014, PRVOUK P34

SOCIAL-ISOLATION WEANING DOWN-REGULATES NEURONAL NOS IN CEREBELLUM

Matuskova, Z.¹, Vrankova, S.¹, Klimentova, J.¹, Rehakova R.¹, Cebova, M.¹, Barta A.¹, Murinova, J.¹, Rieckansky I.^{1,3}, Pechanova O.^{1,2}

¹*Institute of Normal and Pathological Physiology and Centre of excellence for examination a regulatory role of nitric oxide in civilization diseases, Slovak Academy of Sciences*

²*Comenius University, Bratislava, Slovak Republic*

³*University of Vienna, Austria*

Introduction. Several studies indicate that social isolation rearing may affect nitric oxide (NO) production. The model of social isolation represents an animal model of schizophrenia. During isolation rearing, rodents are deprived of social interactions that are critical for behavioural and neurobiological development. The aim of our study was to determine the impact of social isolation on behavioural and biochemical parameters in rats.

Methods. We used 32 weeks old male Wistar Kyoto rats. At day 21 postnatal, the animals were randomly divided into two groups. In the first group, rats were reared singly (isolation reared) and in the second group, rats were reared 3 per cage (socially reared). After 29 weeks, body weight, locomotor activity, exploratory behaviour, acoustic startle reactivity, prepulse inhibition (PPI) of the acoustic startle reflex, and startle habituation were measured. In the cerebellum, we assessed the activity of nitric oxide synthase (NOS) and protein expression of neuronal NOS (nNOS) and inducible NOS (iNOS).

Results. The body weight was significantly higher in IR than SR rats. In the open-field test, IR rats showed higher locomotor activity while avoiding the central zone, but the group differences were not statistically significant. Tests of the startle response revealed significantly decreased habituation in IR rats. IR rats showed higher startle reactivity and lower PPI, but the difference with SR rats was not statistically significant. Total NOS activity and nNOS protein expression were significantly decreased in IR rats compared to SR rats.

Conclusion. Our results indicate that NO production is impaired in the cerebellum of rats reared in isolation, which may be related to schizophrenia-like behavioural changes in these animals.

This study was supported by grants APVV-0742-10 and VEGA 2/0183/12, 2/0144/14, 2/0093/14, 2/0080/13.

KOMPLEXNÉ HODNOTENIE SYMPATIKOVEJ AKTIVÁCIE V ODPOVEDI NA MENTÁLNY STRES

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

¹Ústav fyziológie, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Martin, Slovensko

²Pediatrická kardiológia, Martin, Slovensko

Úvod: Zvýšená aktivita sympatikového nervového systému môže predstavovať významný patomechanizmus vzniku ochorení so stresovou etiológiou. V súčasnosti sa stále hľadajú možnosti neinvazívneho stanovenia sympatikovej aktivácie. Cieľom tejto práce bolo zistiť zmeny sympatikovej aktivity v odpovedi na rôzne mentálne stresory použitím troch neinvazívnych sympatikových indexov u mladých zdravých študentov.

Metodika: Vyšetrených bolo 20 študentov (11 žien, vek $23,1 \pm 0,8$ r., BMI $22,3 \pm 2,4$). Signály EKG, tlaku krvi a elektrodermálnej aktivity (EDA) boli kontinuálne snímané počas protokolu: pokoj (T1), Stroopov test (T2), pokoj (T3), mentálna aritmetika (T4), pokoj (T5), negatívny emočný podnet (T6), pokoj (T7). Hodnotené parametre: index 0V% (symbolická dynamika variability frekvencie srdca) – predpokladaný marker β -adrenergnej regulácie, nízkofrekvenčné pásmo variability systolického tlaku krvi (LF-STK)-index α -adrenergnej regulácie, EDA marker cholínergnej sympatikovej regulácie

Výsledky: EDA bola signifikantne zvýšená počas všetkých stresorov (T2, T4, T6) v porovnaní s bazálnou hodnotou (T1; $p < 0,01$). Index 0V% bol signifikantne zvýšený v odpovedi na kognitívne stresory (T2, T4 oproti T1; $p < 0,01$). Signifikantný vzostup LF-STK bol zistený iba pri Stroopovom teste ($p < 0,001$). Kým 0V% a LF-STK sa po ukončení stresorov vrátili ku bazálnym hodnotám, EDA bola signifikantne zvýšená aj počas zotavovacích fáz po kognitívnych stresoroch (T3, T5 v porovnaní s T1; $p < 0,001$).

Záver: Použité markery boli dostatočne senzitívne na stanovenie rozdielov v sympatikovej stresovej reakcii – kognitívne stresory vyvolali komplexnú aktiváciu (α -, β -adrenergná a cholínergná excitácia pri Stroopovom teste, β -adrenergná a cholínergná aktivácia pri mentálnej aritmetike), emočný stres viedol k zmenám len v cholínergnom systéme. Tieto výsledky môžu poukazovať na potenciálnu špecifickosť sympatikovej odpovede v závislosti od typu stresu. Detailné štúdium centrálnu-periférnych vzťahov v autonómnej regulácii stresovej odpovede môže priniesť významné poznatky aplikovateľné v prevencii, diagnostike a liečbe stresom podmienených ochorení.

Práca podporená grantom VEGA 1/0087/14 a BioMed Martin (ITMS 26220220187).

VPLYV DEPRESÍVNEJ SYMPTOMATIKY NA AUTONÓMNY NERVOVÝ SYSTÉM

Mešťaniková, A.¹, Mešťaník, M.¹, Ondrejka, I.², Jurko, A.³, Tonhajzerová, I.¹,

¹Ústav fyziológie Jesseniovej lekárskej fakulty Univerzity Komenského, Martin, Slovensko

²Psychiatrická klinika, Univerzitná nemocnica Martin, Martin, Slovensko

³Pediatrická kardiológia, Martin, Slovensko

Úvod. Depresívna symptomatika je spojená so zvýšeným kardiovaskulárnym rizikom, avšak etiopatogenéza tohto vzťahu nie je presne známa. Jedným z možných vysvetlení je zmena dynamickej rovnováhy autonómneho nervového systému (ANS) v zmysle redukovanej parasympatikovej a/alebo zvýšenej sympatikovej aktivity. Cieľom tejto práce bolo zistiť vplyv depresívnej symptomatiky na aktivitu ANS použitím elektrodermálnej aktivity (EDA) a analýzy variability frekvencie srdca (VFS) počas negatívneho emočného stresu u zdravých jedincov.

Metodika. Kontinuálne signály EKG a EDA boli snímané v pokoji a počas negatívneho emočného stresu u 20 zdravých študentov (vek: $22,7 \pm 0,7$ r.). Hodnotené parametre VFS: pásmo vysokej frekvencie (HF-VFS) ako marker kardiálnej parasympatikovej regulácie; index symbolickej dynamiky 0V% ako možný index betaadrenergnej aktivity, EDA (v μS) ako marker sympatikového cholinergného systému. Depresívna nálada bola hodnotená pomocou Beckovej posudzovacej škály depresie, podľa ktorej boli probandi rozdelení do dvoch skupín- skupina 1 s mierne depresívne zmenenou náladou (skóre $14,3 \pm 4,3$) a skupina 2 s normálnou náladou (skóre $0,6 \pm 0,5$).

Výsledky. Počas negatívneho emočného stresu bola v celej skupine EDA signifikantne zvýšená a logHF-HRV signifikantne nižší oproti bazálnej hodnote ($p < 0,05$). Skupina 1 mala signifikantne nižší parameter logHF-HRV a signifikantne vyšší 0V% v porovnaní so skupinou 2, pričom v EDA neboli signifikantné rozdiely.

Záver. Naše výsledky poukázali na zmenu rovnováhy aktivity autonómneho nervového systému počas emočného stresu – zvýšenie sympatika a zníženie parasympatika, pričom daný posun bol zvýraznený už v skupine zdravých študentov s miernou alteráciou nálady. Tieto poznatky môžu prispieť ku poznaniu patomechanizmov vedúcich ku zvýšenému riziku kardiovaskulárnych komplikácií pri depresii.

Práca bola podporená grantom No. VEGA 1/0087/14, BioMed (ITMS: 26220220187).

ÚČINKY ANTIOXIDAČNEJ TERAPIE NA ZÁPALOVÝ PROFIL SYNDRÓMU ASPIRÁCIE MEKÓNIA

Mikolka, P., Kopincová, J., Košútova, P., Mokrá, D., Čalkovská, A.

Ústav fyziológie, Univerzita Komenského v Bratislave, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Martin, Slovenská republika

Úvod. Syndróm aspirácie mekónia (MAS) je mekóniom-indukované respiračné zlyhávanie novorodencov spojené s výraznými zápalovými procesmi. Rozvoj zápalu môže negatívne ovplyvniť účinnosť terapie exogénnym surfaktantom, pretože dochádza k jeho inaktivácii. Nakoľko antioxidant N-acetylcysteín inhibuje p38 MAPK, AP-1, NF- κ B - pro-zápalové signalizačné dráhy, v tejto štúdii sme využili jeho protizápalové vlastnosti a skombinovali ho so surfaktantom pri liečbe experimentálneho MAS.

Metodika. Novozélandské biele králiky s mekóniom-indukovaným respiračným zlyhávaním boli rozdelené do 4 skupín podľa liečby: skupina bez liečby (M), skupina s liečbou surfaktantom (M+S), s liečbou N-acetylcysteínom (M+NAC) alebo s kombináciou surfaktantu a N-acetylcysteínu (M+S+NAC). Kontrolnej skupine bol namiesto mekónia podaný fyziologický roztok (C). Po 5-hodinovej ventilácii pri FiO_2 1,0 sme post mortem v pľúcnom homogenáte stanovili hladiny cytokínov (TNF α , IL-2, IL-10, IL-13) a oxidačné poškodenie (TBARS, 3-nitrotyrozín). Génová expresia TNF α , IL-2, IL-10, IL-13 bola analyzovaná qPCR v pľúcnom tkanive. Skupinové rozdiely boli štatisticky hodnotené one-way ANOVA testom po korekcii podľa Bonferroniho.

Výsledky. Podanie mekónia výrazne zvýšilo hodnoty TBARS ($p < 0,01$), 3NT ($p < 0,001$) a cytokínov v pľúcnom homogenáte (TNF α $p < 0,05$; IL-2 a IL-13 $p < 0,001$) aj ich génovú expresiu ($p < 0,01$) v porovnaní s kontrolou. Použité terapie viedli k potlačeniu zápalu, pričom najvýraznejší efekt mala kombinovaná liečba (pre M+S+NAC vs M: TBARS $p < 0,01$; 3NT $p < 0,001$; TNF α $p < 0,05$; IL-2 $p < 0,001$; IL-10 $p < 0,01$). Génová expresia cytokínov bola u M+S a M+S+NAC na rovnakej úrovni ($p < 0,05$ vs M). Medzi M+S, M+NAC a M+S+NAC nebol pozorovaný štatisticky významný rozdiel.

Záver. Z výsledkov vyplýva, že kombinovaná terapia N-acetylcysteínom a exogénnym surfaktantom významne redukovala oxidačné poškodenie, hladiny pro-zápalových interleukínov v pľúcnom homogenáte a tiež génovú expresiu na úrovni surfaktantovej liečby na experimentálnom modeli MAS u králikov.

Práca bola podporená grantami: VEGA 1/0291/12, VEGA 1/0305/14, APVV-0435-11, BioMed Martin (ITMS 26220220187).

VERTICAL INCLINATION RAPIDLY COMPROMISES HEMODYNAMICS IN HEALTHY ANESTHETIZED SWINE

Mlcek, M.¹, Belohlavek, J.², Huptych, M.³, Boucek, T.², Belza, T.², Lacko, S.¹, Krupickova, P.², Hrachovina, M.³, Popková, M.¹, Neuzil, P.⁴, Kittnar, O.¹

¹Charles University in Prague, First Faculty of Medicine, Institute of Physiology, Czech Republic;

²Charles University in Prague, First Faculty of Medicine, Second Department of Medicine, Czech Republic;

³Czech Technical University in Prague, Faculty of Electrical Engineering, Department of Cybernetics, Czech Republic; ⁴Na Homolce Hospital, Department of Cardiology, Czech Republic

Aims: to explore the effect of head-up tilt (30 and 60 degrees from horizontal position) on hemodynamics and tissue oxygenation in anesthetized healthy swine. The data serve as a reference for a study of resuscitation efficacy at head-up tilted positions such as during transport.

Methods: 9 healthy swine (49 +/- 4 kg) were anesthetized and multiple sensors including myocardial PV loops catheter, carotid flow probe, blood pressure catheters, NIRS tissue oximetry and mixed venous oximetry (SvO₂) catheter were introduced and respective parameters continuously recorded. Subsequent protocol included: baseline in supine position (15 minutes), 30 deg. inclination (15 min), recovery at supine position (15 min) and 60 deg. inclination (5 min). Vacuum mattress was used for body fixation during inclinations.

Results: 30 and 60 degrees inclination led to significant immediate reduction in hemodynamic and oximetry parameters. Mean arterial pressure (mmHg) decreased from 98 at baseline to 53 and 39, respectively. Carotid blood flow at 30 and 60 deg. dropped to 49% and 23% of baseline values, end diastolic volume to 51% and 52% and stroke volume to 56% and 47% of baseline. The heart rate increased by 10-30 beats. SvO₂ decreased by 16 and 21 percentage points, respectively and similarly did tissue oximetry. All the values are means.

Conclusion: Within minutes, head-up tilting is poorly tolerated in anesthetized swine. Already 30 degrees inclination results in about 50% reduction in preload and stroke volume and it is not sufficiently compensated by reflex tachycardia and increased oxygen extraction. However, significant differences among individual animals exists.

Supported by SVV 260 021

DIURNÁLNE ZMENY POSTURÁLNEJ STABILITY ŽIEN

Mokošáková, M.¹, Kršková, L.¹, Hlavačka, F.², Zeman, M.¹

¹*Katedra živočíšnej fyziológie a etológie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava, Slovensko*

²*Laboratórium regulácie motoriky, Ústav normálnej a patologickej fyziológie, Slovenská akadémia vied, Bratislava, Slovensko*

Úvod. Existujúce informácie o variabilite posturálnej stability u žien sú nejednoznačné, a preto sme si za cieľ našej práce stanovili kvantifikovať diurnálne zmeny posturálnej stability kontrolných mladých žien a žien užívajúcich hormonálnu antikoncepciu.

Metodika. Výskumu sa zúčastnilo dvadsať mladých zdravých žien vo veku 18 – 23 rokov užívajúcich ($n = 7$) a neužívajúcich ($n = 13$) hormonálnu antikoncepciu. Posturálna aktivita bola snímaná akcelerometrickým zariadením (*Xsens Technologies B.V, Enschede, NL*) s dvomi senzormi umiestnenými na chrbte v úrovni piateho lumbálneho (L5) a štvrtého torakálneho (Th4) stavca. Probandky absolvovali dve merania počas dňa, v ranných (8. – 9. hod.) a vo večerných hodinách (18. – 19. hod.), v pravidelných týždňových intervaloch, v priebehu jedného mesiaca. Meranie pozostávalo zo štyroch testovaných situácií: postoj na pevnej a molitanovej podložke s očami otvorenými a zatvorenými. Vyhodnocovali sme amplitúdu a rýchlosť náklonov trupu v predozadnom a v bočnom smere.

Výsledky. Pozorovali sme signifikantný nárast amplitúd náklonov trupu v raňajších hodinách v skupine žien užívajúcich hormonálnu antikoncepciu v porovnaní s kontrolou. Ženy s hormonálnou antikoncepciou preukázali významné zníženie amplitúd náklonov trupu a ich rýchlostí na L5 v predozadnom smere počas postojov na molitane vo večerných hodinách vo vzťahu k zvýšeným ranným údajom. Merania na Th4 ukázali vyššiu variabilitu amplitúd laterálnych náklonov trupu v podmienkach so zmenenými somatosenzorickými vstupmi. Výrazná redukcia rýchlostí laterálnych náklonov trupu vo večerných hodinách vo vzťahu k ranným meraniam boli prítomné u kontrolnej skupine na L5 v podmienkach so zmenenými somatosenzorickými vstupmi a na Th4 vo všetkých situáciách u oboch skupín.

Záver. Preukázali sme diurnálne zmeny posturálnej stability u mladých žien bez ohľadu na užívanie hormonálnej antikoncepcie. Stabilita postoja v rannom čase v porovnaní s večerným bola horšia so zjavným trendom zlepšovania počas dňa. Ženy užívajúce hormonálnu antikoncepciu ukázali oslabenú posturálnu stabilitu v porovnaní s kontrolnou skupinou ráno a normalizáciu posturálnej stability večer. Naše výsledky demonštrujú, že denná doba a užívanie hormonálnej antikoncepcie majú vplyv na posturálnu stabilitu žien.

Práca bola podporená grantami VEGA 2/0107/12, 2/0138/13 a APVV 0291/12.

PODÍL KYSELINY OLEJOVÉ A PALMITOVÉ NA INDUKCI STEATÓZY A CYTOTOXICITU V PRIMÁRNÍ KULTUŘE HEPATOCYTŮ POTKANA

Moravcová, A., Kučera, O., Červinková, Z., Mezera, V., Lotková, H.

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

Úvod. Studium senzitivity steatotických jater vůči hepatotoxickým látkám vyžaduje použití vhodných experimentálních modelů. Literární údaje svědčí pro možnost indukce steatózy v primární kultuře hepatocytů pomocí kyselin palmitové (PA) a olejové (OA). Cílem práce bylo ověřit účinky těchto kyselin a jejich kombinací na potkaní hepatocyty.

Metodika. Potkaní hepatocyty (kmen Wistar, 180 - 220 g) byly izolovány metodou dvoustupňové perfúze s užitím kolagenázy. Po přichycení na kultivační misky potažené kolagenem byly hepatocyty 24 hod. inkubovány ve Williamsově E médiu 1) s OA či PA v koncentraci 0,125 - 2 mM nebo 2) v kombinaci OA:PA - v poměru 3:1, 2:1, 1:1 o celkové koncentraci 0,5; 0,75 a 1 mM. Cytotoxicita byla posuzována dle LDH leakage a WST-1 testu, tvorba ROS byla kvantifikována pomocí sondy CM-DCFDA. Obsah triacylglycerolů (TAG) sloužil k určení míry steatózy, k detekci apoptózy byla měřena aktivita kaspázy 3. Kultury byly barveny JC-1 k vizualizaci membránového potenciálu mitochondrií.

Výsledky. Obsah TAG v hepatocytech se signifikantně zvýšil při kultivaci s OA nebo PA od koncentrace 0,5 mM. V případě PA byl současně zaznamenán nárůst LDH leakage, produkce ROS a aktivity kaspázy 3 ($p < 0,001$). Membránový potenciál mitochondrií klesal v závislosti na dávce PA. OA nezpůsobila zvýšení aktivity kaspázy 3; LDH leakage vzrůstal od 1 mM a produkce ROS od 2 mM koncentrace OA ($p < 0,001$). Všechny použité kombinace OA a PA navodily signifikantní zvýšení TAG v hepatocytech. Avšak pouze u poměru 3:1 ve prospěch OA nedošlo současně ke zvýšení LDH leakage, produkce ROS ani aktivity kaspázy 3.

Závěr. Steatózu potkaních hepatocytů bylo možné navodit inkubací s OA nebo PA v koncentraci 0,5 mM a více. PA současně vykazovala výraznou cytotoxicitu. Vzrůstající podíl OA v médiu umožnil zmírnění tohoto cytotoxického účinku PA. Pro navození steatózy se jako optimální jeví použití samotné OA v koncentraci 0,5 - 0,75 mM, popř. v kombinaci s PA s vyšším podílem OA.

Práce byla podpořena grantem PRVOUK P37/02.

CHANGES IN THE PERFUSION OF CEREBRAL CORTEX AFTER SUBARACHNOID HEMORRHAGE – ANIMAL MODEL

Nohejlová, K.¹, Kolář, M.², Pometlová, M.¹, Polách, J.¹, Rokyta, J.¹, Mareš, J.¹

¹ Ústav normální, patologické a klinické fyziologie, 3. LF UK, Praha, Česká republika

² Klinika anesteziologie a resuscitace, 3. KF UK, Praha, Česká republika

Introduction. Although, the prevalence of subarachnoid hemorrhage (SAH) is not as high as other cerebrovascular incidences (e.g., stroke), it has very high mortality rate. Pathogenesis of complications is complex, leading factors include increased intracranial pressure and early and late vasoconstriction, which results in disorders of the brain perfusion. The study was aimed on development of appropriate animal model of SAH and choice of appropriate detection tool for changes in cerebral cortex perfusion.

Methods. Two sets of experiments were conducted on young adult male Wistar rats. 1) Visualization and evaluation of changes in cerebral cortex perfusion after SAH: Non-traumatic SAH was modeled by injection of 200µL of donor arterial blood to *cisterna magna*. Control (sham) animals, received to *cisterna magna* isotonic solution. Changes of perfusion were evaluated using Laser Speckle Contrast Analysis (PeriCam PSI HR, Perimed, Sweden). 2) Measurement of free radicals levels adult rat brain tissue using the electron paramagnetic resonance spectroscopy (EPR/EPS) 120min after SAH.

Results. Laser Speckle Contrast Analysis method showed to be appropriate non-invasive tool for real-time detection of perfusion changes in cerebral cortex after SAH. It allows measurement of the changes in the areas of interest, which are expressed in standardized Perfusion Units (PU). Measurement of levels of hydroxyl and nitroxyl radicals showed increase in their levels in the brain tissue in SAH and sham animals in respect to naïve control group.

Conclusion. Real-time measurement of changes in perfusion could be very helpful for monitoring even minimal response to therapeutic intervention. Measurement of free radicals levels showed to be unspecific response to changes evoked by experimental manipulation. Therefore this toll is not suitable for evaluation of changes in perfusion after SAH and increased intracranial pressure in general.

Financial support: IGA NT 14426-3/2013, CSM7/CRP/2014, PRVOUK P34

VLIV DLOUHODOBÉHO PODÁVÁNÍ MORFINU A JEHO VYSAZENÍ NA EXPRESI PROTEINŮ V MYOKARDU POTKANA

Jiří Novotný¹, Zdeňka Drastichová¹, Jitka Škrabalová², Jan Neckář², František Kolář²

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

² *Fyziologický ústav AV ČR, Oddělení vývojové kardiologie, Praha, Česká republika*

Úvod. Vzhledem ke svým výrazným analgetickým účinkům patří morfin mezi důležité opioidní látky používané v klinické praxi. Jeho užívání však může být doprovázeno vznikem nežádoucí tolerance a závislosti. Přestože morfin může být aplikován mj. i při medikaci některých kardiovaskulárních poruch, důsledky jeho dlouhodobějšího podávání na expresi proteinů v srdci nebyly dosud blíže zkoumány.

Metodika. V naší práci jsme se zabývali využitím proteomických přístupů v analýze proteinů exprimovaných v srdci potkanů ovlivněných desetidenním podáváním morfinu (10 mg/kg/den). Ze vzorků levých komor myokardu byly připraveny membránové, mitochondriální a cytosolické frakce, které byly poté analyzovány pomocí diferenciální 2D-elektroforézy nebo techniky iTRAQ a vytypované proteiny s odlišnou expresí byly identifikovány pomocí hmotnostní spektrometrie.

Výsledky. Bylo zjištěno, že dlouhodobé podávání relativně vysokých dávek morfinu a také jeho následné vysazení vede ke změnám v expresi u 237 proteinů srdeční tkáně. Tyto proteiny patří k různým skupinám, včetně proteinů signálních a cytoprotektivních, změny byly nalezeny také u různých strukturálních elementů. Nejvýraznější změny byly pozorovány u některých heat shock proteinů (HSP27, α -B-crystallin, HSP70, HSP10 a HSP60) a zajímavé odlišnosti se projevíly také u některých pro- a anti-apoptotických proteinů.

Závěr. Tyto výsledky poskytují komplexní pohled na kvantitativní změny v proteomu srdce vlivem morfinu a ukazují, že tato tkáň je velmi citlivá na působení tohoto opioidu.

PROTEKTÍVNY ÚČINOK MELATONÍNU NA TNF-ALFA INDUKOVANÝ OXIDAČNÝ STRES V ENDOTELOVÝCH BUNKÁCH

Okuliarová, M., Moravčík, R., Pastíriková, S., Zeman, M.

Katedra živočíšnej fyziológie a etológie, Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského, Bratislava, Slovensko

Úvod. Deregulovaná produkcia reaktívnych foriem kyslíka (ROS) v endotelových bunkách je typickým markerom endotelovej dysfunkcie, ktorá je asociovaná so vznikom kardiovaskulárnych ochorení. V endotelových bunkách je za hlavný spúšťač produkcie ROS považovaný zápalový cytokín, tumor nekrotizujúci faktor-alfa (TNF- α). Melatonin (MEL) je naopak prezentovaný ako protektívny faktor voči oxidačnému poškodeniu a efektívny skevendžer ROS. V našej práci sme analyzovali účinok rôznych koncentrácií MEL na produkciu ROS stimulovanú TNF- α v kultúrach endotelových buniek z ciev ľudského pupočníka (HUVEC). Ako pozitívnu kontrolu sme použili N-acetylcysteín (NAC), ktorý je známy svojimi antioxidačnými a protizápalovými účinkami.

Metodika. Kultivované bunky boli najskôr 0,5 h predinkubované s MEL (v rozsahu 0,1-100 μ M), NAC (5 mM) alebo kombináciou MEL+NAC (10 μ M+5 mM) a následne inkubované s TNF- α (50 ng/mL) počas ďalších 24 h. Produkcia ROS bola analyzovaná metódou prietokovej cytometrie s využitím 2',7'-dichlorodihydrofluoresceín diacetátu.

Výsledky. TNF- α stimuloval produkciu ROS a podľa očakávania predinkubácia HUVEC s NAC znížila hladiny ROS indukované TNF- α . Porovnateľný účinok ako NAC mala predinkubácia buniek s MEL v koncentráciách 100 μ M a 10 μ M, zatiaľ čo nižšie koncentrácie MEL znížili stimulovanú produkciu ROS iba numericky. Najúčinnější protektívny efekt voči TNF- α indukovanému oxidačnému poškodeniu bol pozorovaný po predinkubácii HUVEC s kombináciou MEL+NAC.

Záver. Naše výsledky demonštrovali antioxidačný účinok MEL a NAC na oxidačné poškodenie endotelových buniek indukované TNF- α v *in vitro* podmienkach. Ochranné účinky oboch látok boli aditívne, čo naznačuje existenciu viacerých komplementárnych mechanizmov ich protektívneho pôsobenia.

Práca bola podporená grantom No. APVV-0291-12.

PRODUCTS OF THE H₂S-NITROSOGLUTATHIONE INTERACTION MODULATE BLOOD PRESSURE, RELAX RAT AORTIC RINGS AND SCAVENGE FREE RADICALS

Ondrias, K.¹, Kristek, F.², Stasko, A.³, Berenyiova, A.², Grman, M.¹

¹*Institute of Molecular Physiology and Genetics SAV, Bratislava, Slovakia*

²*Institute of Normal and Pathological Physiology, SAS, Bratislava, Slovakia*

³*Slovak Technical University, Bratislava, Slovakia*

Introduction. It is known that H₂S salt Na₂S interacts with NO-donor S-nitrosoglutathione (GSNO) forming new products, which were suggested to contain polysulfides and SSNO⁻. Aim of the present work was to study cardiovascular effects of the products.

Methods. In *in-vivo* studies, the products were administered into the right jugular vein (i.v.) as bolus and the parameters were detected by fiber-optic pressure transducer in cannulated left carotid artery of anaesthetized Wistar rat. In *ex-vivo* models, the products of the interaction relaxed phenylephrine induced aortic rings contraction. EPR spectroscopy of spin trap was used to measure effects of the products to scavenge free radicals.

Results. Bolus application of the products and polysulfides at microM concentrations had significantly pronounced effect *in vivo* on rat hemodynamic parameters compared to H₂S alone. The relaxation effects of the products, as fitted by the simple exponential decay function, was 7.0 times faster than GSNO (50 nmol/l), and it was comparable to the rate of the relaxation, when NO solution was used. As detected by spin trap EPR technique, SSNO⁻ released NO faster than GSNO and scavenged cPTIO and TEMPOL radicals.

Conclusion. In conclusion, the results indicate that the products of the H₂S-GSNO interaction have pronounced biological effects on rat hemodynamic parameters and smooth muscle relaxation.

The work was supported by VEGA No. 2/0050/13

ZMĚNY V REGULACI KARDIOVASKULÁRNÍHO SYSTÉMU U PACIENTŮ S KRČNÍ A HRUDNÍ MÍŠNÍ LÉZÍ

Ondrušová, K¹, Budinskaya, K¹, Závodná, E^{1,2}, Nováková, M^{1,2}, Nováková, Z^{1,2}

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

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

Úvod. Předchozí studie se věnovaly výskytu ortostatické hypotenze u pacientů s krční míšní lézí. Cílem této práce bylo hledat rozdíl v regulaci cévního odporu a detekovat změny citlivosti baroreflexu mezi pacienty s traumatickou míšní lézí v krční a hrudní oblasti.

Metodika. Do studie bylo zařazeno 22 pacientů s míšní lézí traumatologické etiologie: 9 paraplegiků s postižením v Th6-Th11 (P) a 13 kvadruplegiků s postižením C7-C8(Q). Respondenti byli ve stabilizovaném stavu, bez akutních zdravotních potíží, bez medikace ovlivňující výsledky měření. Kontrolní skupinu tvořilo 9 zdravých respondentů (KO).

Provedli jsme kontinuální registraci systolického (STK) a diastolického (DTK) krevního tlaku neinvazivní metodou podle Peňáze (Finometer, FMS, Nizozemsko), s regulovaným dýcháním řízeným dle metronomu, s frekvencí 20 dechů/min (0,33 Hz). Pomocí spektrální analýzy byla v oblasti středních (MF) a vysokých (HF) frekvencí vypočítána absolutní výkonová spektra srdeční frekvence (aRRI), systolického krevního tlaku (aSTK) a diastolického krevního tlaku (aDTK) a účinnost krátkodobé regulace krevního tlaku v MF (GainBRS) a HF (GainHF) oblasti spektra jako poměr vzájemného spektra mezi RRI s STK (Cross) a výkonového spektra STK.

Výsledky. Signifikantní rozdíl v MF oblasti byl nalezen v aDTK_{MF} (P vs. Q: 34,44±28,10 vs. 24,11±39,62; p<0,05. P vs. KO: 34,44±28,10 vs. 74,46±44,67; p<0,05. Q vs. KO: 24,11±39,62 vs. 74,46±44,67; p<0,005), Cross_{MF} (P vs. KO: 0,03±0,02 vs. 0,05±0,02; p<0,05. Q vs. KO: 0,03±0,03 vs. 0,05±0,02; p<0,005) a aSTK_{MF} (Q vs. KO: 60,13±98,00 vs. 198,3±105,5; p<0,005).

Závěr. Nevýznamné rozdíly v aRRI v HF oblasti ukazují, že parasympatická část autonomního nervového systému zůstala u P a Q neporušena. Signifikantní rozdíl v aSTK_{MF} u Q ve srovnání s KO a nevýznamný rozdíl mezi P a KO ukazuje na postižený sympatikus regulující kardiovaskulární funkce u kvadruplegiků, ale ne u paraplegiků. Snížená hodnota aDTK_{MF} u P i Q naznačuje zhoršenou regulaci cévního odporu, přičemž u Q je toto zhoršení výraznější než u P.

Práce byla podpořena Specifickým výzkumem MUNI/A/1326/2014 a European Regional Development Fund - Project FNUSA-ICRC (No. CZ.1.05/1.1.00/02.0123)

VPLYV OXYTOCÍNU NA BEHAVIORÁLNE CHARAKTERISTIKY U DETÍ S AUTIZMOM

Ostatníková, Daniela¹, Lakatošová, Silvia¹, Husárová-Marcinčáková, Veronika¹, Siklenková, Lenka¹, Pivovarčiová, Anna¹, Ana Maria Castejon².,

¹ *Fyziologický ústav, Akademické Centrum Výskumu Autizmu, Lekárska fakulta Univerzity Komenského, Bratislava, Slovenská republika*

² *College of Pharmacy, Nova Southeastern University, Fort Lauderdale, USA*

Úvod. Spektrum autistických porúch (PAS) reprezentuje fenotypovo heterogénnu skupinu porúch so spoločnými znakmi v dvoch základných doménach: deficit v sociálnej komunikácii a interakcii a repetitívne vzory správania, záujmov a aktivít. Jedným z rizikových faktorov je mužské pohlavie. Oxytocín je prosociálny hormón a preto nás zaujímalo, či je oxytocín protektívnym hormónom pred behaviorálnymi prejavmi autizmu. Cieľom práce bolo stanoviť hladiny oxytocínu u detí s autizmom v porovnaní s bežnou populáciou, tiež vyšetriť vybrané genetické polymorfizmy génu pre oxytocínový receptor. Na vybranej skupine detí s Aspergerovým syndrómom (AS) a v skupine detí s autizmom sme zisťovali asociáciu oxytocínu s behaviorálnymi charakteristikami.

Metodika. Hladiny oxytocínu sme stanovili u 108 detí (83 chlapcov a 25 dievčat) s PAS a u 131 kontrolných detí (106 chlapcov a 25 dievčat) z plazmy ELISA metódou. Diagnóza PAS bola stanovená na základe štandardných diagnostických škál ADOS, ADI-R, CARS. Behaviorálne charakteristiky detí, ktoré sme korelovali s hladinami oxytocínu, boli z Childhood Autism Rating Scale (CARS-2), Vineland Adaptive Behavior Scales (Vineland II) a Autism quotient (AQ).

Výsledky. Vo vyšetřovanom súbore detí s PAS sme zistili nižšie hladiny oxytocínu v porovnaní s deťmi bežnej populácie. Zistili sme asociáciu dvoch polymorfizmov v géne pre oxytocínový receptor s autistickým fenotypom. Deti s AS vykazovali negatívne korelácie medzi plazmatickým oxytocínom a pozornosťou upriamenou na detail. Deti s autizmom vykazovali pozitívnu koreláciu medzi hladinami oxytocínu a maladaptívnym správaním.

Záver. Z výsledkov odlišných hladín oxytocínu a genetických polymorfizmov oxytocínového receptora suponuujeme na odlišné mechanizmy účinku oxytocínu na modulovanie správania detí s autistickými poruchami.

Podporené grantmi VEGA 1/0066/12, APVV 0254-11 a APVV 0253-10

STATUS EPILEPICUS INDUKUJE OXIDATIVNÍ STRES V NEZRALÉM MOZKU

Otáhal, J.¹, Folbergrová, J.¹, Kubová, H.¹

¹ *Fyziologický ústav AVČR, Praha, Česká republika*

Úvod. Recentní klinická i experimentální data ukazují, že neurometabolická dyfunkce a oxidativní stres jsou klíčovými patofyziologickými znaky epileptického mozku. Oba fenomény představují nejenom chronickou charakteristiku epileptického mozku, ale pravděpodobně se přímo účastní procesu rozvoje onemocnění tedy epileptogeneze. Delší dobu se předpokládalo, že záchvaty vyvolaný oxidativní stres je věkově specifický a není přítomen v nezralém mozku. Naše výsledky ukazují, že experimentálně vyvolané záchvaty pomocí homocysteové kyseliny (DL-HCA) u dvanácti denních potkanů vyvolávají nejenom oxidativní stres, ale i mitochondriální dysfunkci. Současná práce měla za cíl objasnit, zda se jedná o všeobecný jev, a proto jsme hodnotili markery oxidativního stresu u 4 různých modelů epileptického státu vyvolaného dvanáctý postnatální den u potkana.

Metodika. Status epilepticus byl vyvolán u 12ti denních mláďat outbredního laboratorního potkana kmene Wistar čtyřmi různými látkami s různým mechanismem účinku: LiCl-Pilokarpinem (Li-Pilo), kainátem, 4-aminopyridinem (4-AP) a DL-HCA. Produkce superoxidu byla detekována pomocí fluorescence oxidovaných forem hydroethidiu (Het). U některých modelů byly i nepřímé markery oxidativního stresu (aktivita komplexu I a akonitázy, obsah 3-nitrotyrosinu, 4-hydroxynonenalu a proteinových karbonylů).

Výsledky. U všech čtyřech modelů epileptického státu došlo k signifikantnímu nárůstu fluorescence Eth indikující zvýšenou tvorbu superoxidu. Oxidativní stres byl dále potvrzen i nepřímými markery, které byly signifikantně zvýšené u všech modelů.

Závěr. Naše studie jasně prokázala, že oxidativní stres je obecný znak, který doprovází status epilepticus a to i v nezralém mozku.

Práce byla podpořena granty GAČR No. 15-08565S a P303-10-0999.

VÝZNAM MODULACE SYNAPTICKÉHO PŘENOSU NA MÍŠNÍ ÚROVNI V MECHANISMECH NEUROPATICKÉ BOLESTI.

Paleček, J., Špicarová, D., Nerandžič, V., Kalynovská, N., Diallo M.

Fyziologický ústav AVČR vvi, oddělení Funkční Morfologie, Praha, Česká republika

Chronické bolestivé stavy u pacientů jsou závažným léčebným problémem s velkým sociálním a ekonomickým dopadem na celou společnost. Mezi nejobtížněji léčitelné patří stavy neuropatické bolesti, které jsou způsobeny poraněním nebo poškozením nervového systému. Tyto stavy jsou charakterizovány záchvaty spontánní bolesti a zejména zvýšenou citlivostí na bolestivé i nebolestivé podněty (hyperalgesie a alodynie). Jejich současná terapie je velmi obtížná, protože mechanismy jejich vzniku jsou diametrálně odlišné od jiných bolestivých stavů. Objasnění těchto mechanismů tak představuje důležitý krok na cestě k úspěšné léčbě pacientů s bolestí neuropatického původu.

V našich pokusech byly využity imunohistochemické, behaviorální a elektrofyziologické (snímání z neuronů v akutních míšních řezech metodou terčíkového zámku) metody. Sledovali jsme zejména úlohu chemokinů TNF-alfa a CCL2 na modulaci synaptického přenosu na míšní úrovni.

Aplikace CCL2 vedla ke zvýšené frekvenci mEPSC, sEPSC a eEPSC u neuronů v zadním rohu míšním, závislé na aktivaci TRPV1 receptorů. Prokázali jsme výrazný pro-nociceptivní modulační vliv obou cytokinů a současně jsme ukázali, že významná část jejich modulačního vlivu je zprostředkována míšními presynaptickými TRPV1 receptory.

Naše výsledky ukazují, že modulace synaptického přenosu na míšní úrovni a TRPV1 receptory mohou hrát významnou úlohu při vzniku neuropatických bolestivých stavů.

Tyto studie byly podpořeny následujícími grantovými projekty: GACR 15-11138S, P304/12/G069, MSMT LH12058, CBV-CZ.1.07/2.3.00/30.0025, RVO67985823, GAUK1566314, BIOCEV-CZ.1.05/1.1.00/02.0109.

ÚČINEK ETHANOLU NA ELEKTRICKOU AKTIVITU SRDEČNÍCH KOMOROVÝCH BUNĚK: EXPERIMENTÁLNÍ A VÝPOČTOVÝ PŘÍSTUP

Pásek, M.^{1,2}, Bébarová, M.¹, Šimurdová, M.¹, Šimurda J.¹

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

² Ústav termomechaniky, Akademie věd České republiky, Brno, Česká republika

Úvod. Naše nedávná práce prokázala, že ethanol účinně ovlivňuje hlavní membránové iontové proudy a průběh akčního napětí (*action potential*, AP) izolovaných komorových buněk potkana. Účinek na sodíkový proud I_{Na} , vápníkový proud I_{Ca} a draslíkový proud I_{Kto} byl inhibiční, zatímco účinek na draslíkový proud I_{K1} byl dvojitý. Malé koncentrace ethanolu do 2 mM způsobovaly snížení I_{K1} , zatímco koncentrace vyšší než 8 mM způsobovaly jeho zvýšení. Účinek ethanolu na AP zahrnoval pokles rychlosti depolarizace membrány a snížení velikosti a trvání AP (APD). Cílem naší navazující práce bylo vyšetřit podíl jednotlivých proudových složek na ethanolem vyvolaných změnách komorového AN potkana a člověka prostřednictvím výpočtového modelování.

Metodika. Koncentrační závislosti účinku ethanolu na jednotlivé iontové proudy byly zahrnuty do kvantitativních modelů srdečních komorových buněk potkana a člověka. Numerické řešení modelů bylo provedeno v jazyce MATLAB v.7.2 (MathWorks, Inc.).

Výsledky. Model buňky potkana spolehlivě reprodukoval experimentálně pozorovaný účinek ethanolu na APD. Ethanol v koncentraci 50 mM snížil APD_{90} o 9.7% (7.2% v experimentu). Hlavní složkou zodpovědnou za změny APD byl v modelu proud I_{K1} , který v experimentu vykazoval k ethanolu největší citlivost. Změny APD v modelu lidské komorové buňky byly vyšetřovány při koncentracích ethanolu 21.8, 43.6 a 65.3 mM (1, 2 a 3‰), které odpovídají mírné, střední a těžké intoxikaci alkoholem. Na rozdíl od modelu buňky potkana vykazoval model lidské buňky ve všech případech prodloužení APD (u APD_{50} o 1.9%, 4.5% a 6.8% a u APD_{90} o 0.2%, 2.8% a 5.1%) v důsledku inhibice draslíkového proudu I_{Kr} , který hraje v repolarizaci lidských komorových buněk dominantní roli.

Závěr. Výsledky simulací ukázaly, že účinek ethanolu na průběh AP srdečních buněk je závislý na mezidruhově specifických vlastnostech membránových proudů. Ethanolem vyvolaná inhibice I_{Kr} u lidských komorových buněk pravděpodobně přispívá ke klinicky pozorovanému prodloužení QTc intervalu na EKG záznamu po konzumaci alkoholu.

Realizováno s podporou projektů RVO: 61388998 a NT14301-3/2013.

CONTRIBUTION OF THE VOLTAGE DEPENDENT CALCIUM CHANNELS TO CARDIOVASCULAR EFFECTS OF H₂S DONOR AP39.

Pavlovicova, M.¹, Tomasova, L.², Lacinova, L.¹, Kristek, F.³, Whiteman, M.⁴, Ondrias, K.¹

¹*Institute of Molecular Physiology and Genetics, SAS, Bratislava, Slovakia*

²*Faculty of Pharmacy, Comenius University, Bratislava, Slovakia*

³*Institute of Normal and Pathological Physiology, SAS, Bratislava, Slovakia*

⁴*University of Exeter Medical School, Exeter, UK*

Introduction. H₂S as an endogenous gasotransmitter influences many physiological pathways in cardiovascular system. The aim of our work was to study effects of H₂S donor AP39 on rat hemodynamic parameters and the activity of T-type calcium channels stably expressed in HEK293 expression system.

Methods. To study the rat hemodynamic parameters, the blood pressure waveform was measured in the left carotid artery. AP39 in DMSO was administered (500 µl/kg) into the jugular vein over 10 second period. To evaluate the effect of AP39 on the activity of the VDCC, we have used whole-patch clamp method. The stock solution of AP39 (1 mM) was prepared in DMSO and it was diluted to the experimental concentrations 300 nM, 1 and 3 µM using a bath solution.

Results. Bolus administration of AP39 (0.25-5 µM/kg) into the right jugular vein had a biphasic effect, transiently decreased and increased blood pressure and heart rate. The effect was similar to H₂S donor Na₂S. This may indicate that H₂S was released from AP39 and the released H₂S is responsible for the AP39 effects. Since AP39 significantly influenced pulse waveform, which depends also on signal conductance, we studied an involvement of Ca_v3.2, Ca_v3.1 and Ca_v3.3 channels in the AP39 effects. AP39 (0.3-10 µM) inhibited calcium current (33% - 81%) through all Ca²⁺ channels in a concentration dependent manner.

Conclusion. Since AP39 inhibited calcium channels and hemodynamic parameters at similar concentrations, we assume that inhibition of T-type contributed to the AP39 cardiovascular effect.

Work was supported by VEGA grant 2/0019/15

ZMĚNY ČERPACÍ FUNKCE SRDCE PO ONKOLOGICKÉ LÉČBĚ V DĚTSTVÍ

Pekař, M.¹, Balcárková, P.², Petrová, A.¹, Hrstková, H.^{3,4}, Hrušková, J.¹, Nováková, Z.^{1,4}

¹ Fyziologický ústav LF MU, Brno, Česká republika

² 1.interní kardiologická klinika FN u sv. Anny a LF MU, Brno, Česká republika

³ Klinika dětské onkologie a Pediatrická klinika LF MU, Brno, Česká republika

⁴ Mezinárodní centrum klinického výzkumu, FN u sv. Anny, Brno, Česká republika

Úvod: Cílem studie bylo zhodnocení mechanické funkce srdce pomocí echokardiografických parametrů u pacientů léčených v dětství kardiotoxickými a neurotoxickými cytostatiky.

Metodika: Byli vyšetřeni 54 pacienti s hematoonkologickými malignitami: akutní lymfoblastická leukémie (79,6%), Non-Hodgkinův lymfom (11,1%), akutní myeloidní leukémie (9,3%), kteří podstoupili v dětském věku kombinační cytostatickou farmakoterapii (skupina A, věk: $19,7 \pm 5,3$ let; doba od ukončení léčby $11,4 \pm 5,3$ let; kumulativní dávka antracyklinů - daunorubicin/adriamycin/idarubicin - $232,0 \pm 55,0$ mg/m², vincristin $14,3 \pm 5,9$ mg/m², cyklofosfamid $4,2 \pm 5,6$ g/m²). Do kontrolní skupiny bylo zařazeno 133 zdravých jedinců odpovídajícího věku (skupina Z, věk: $19,7 \pm 2,7$ let). U všech probandů bylo provedeno standardní echokardiografické vyšetření pomocí ultrazvukového přístroje Nemio XG (TOSHIBA, Japonsko) k posouzení systolické (ejekční frakce EF, frakční zkrácení FS) a diastolické funkce srdce (poměr vrcholové rychlosti plnění komor ku vrcholové rychlosti pohybu chlopenního anulu v časně diastole - mitrálního septálního: E/E' sep, mitrálního laterálního: E/E' lat a trikuspidálního laterálního: E/E' tri). Při statistickém zhodnocení dat byl použit Mann-Whitneyho test (program STATISTICA 12.CZ, StatSoft).

Výsledky: V parametrech hodnotících systolickou funkci srdce nebylo statisticky významné zhoršení (EF: A vs Z: $66,8 \pm 13,7$ vs $64,8 \pm 10,2$; FS: $38,1 \pm 11,5$ vs $36,0 \pm 7,8$). Na statistické hladině významnosti $p < 0,01$ se nacházely rozdíly poměru E/E', které zahrnují změny v diastolické funkci srdce (E/E' sep - A vs Z: $6,9 \pm 1,3$ vs $6,1 \pm 1,5$; E/E' lat - A vs Z: $5,2 \pm 1,6$ vs $4,5 \pm 1,1$; E/E' tri - A vs Z: $4,9 \pm 2,3$ vs $4,0 \pm 1,0$). Vzhledem k faktu, že absolutní hodnoty poměru E/E' u obou skupin spadají do hodnot pro fyziologická rozmezí, změny diastolické funkce srdce jsou pouze na subklinické úrovni.

Závěr: U bývalých dětských onkologických pacientů, kteří podstoupili život zachraňující léčbu antracyklinovými antibiotiky nacházíme již na rozmezí adolescence a dospělosti změny svědčící o poškození srdce. Studie ukazuje na důležitost kontinuálního sledování stavu kardiovaskulárního systému u těchto osob.

Podpořeno specifickým výzkumem: MUNI/A/1326/2014

HYPOTYREÓZA U PANDY ČERVENÉ

Petrášová, J.¹, Rouge, E.¹, Kareš, M.², Lochovská, K.³, Jebavý, L.⁴, Bolechová, P.^{3,4}

¹ *Ústav fyziologie a Klinická laboratoř pro malá zvířata, FVL, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Brno, Česká republika*

² *Veterinární ošetrovna Růžodol, Liberec*

³ *Zoo Liberec, Liberec, Česká republika*

⁴ *Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, Česká zemědělská univerzita v Praze, Česká republika*

Úvod. Panda červená (*Ailurus fulgens*), je šelma přirozeně rozšířená v jižní Asii, v našich podmínkách je chovaná v zajetí. Má dlouhou, hustou srst, svrchu krásně rudohnědou nebo kaštanovou. A právě vzhled pandy je jedním z důležitých aspektů kvality chovu. Z dat získaných v zajetí dochází každoročně u samic, v období duben – květen, ke vypadávání srsti na zadní části těla a kolem ocasu. Po skončení tohoto období dochází k opětovnému k zarůstání. Studie přináší zhodnocení endokrinního stavu samice pandy červené, u které došlo k počátku vypadávání srsti nejdříve kolem ocasu v roce 2011 a v listopadu 2013 již hypotrichóza postihovala větší část těla. Analýzy byly zaměřeny na stanovení hladin hormonů tyroxinu a estrogeneru.

Metodika. V období listopad 2013 – březen 2014 probíhal sběr vzorků feces jednou týdně, z kterých byly následně pomocí ELISA stanoveny hladiny metabolitu hormonu estrogeneru. Na začátku a na konci tohoto období byla odebrána krev na stanovení hladiny hormonu štítné žlázy, tyroxinu. Další půlrok probíhalo už jen klinické hodnocení stavu zvířete.

Výsledky. Stanovení metabolitů hormonu estrogeneru ukázalo, že hladina estrogenerů v sledovaném období byla nízká, hladiny se pohybovaly v rozmezí 0,4 – 25,5 ng/g feces (SD ± 8,5) a shodovaly se hodnotami publikovaných v literatuře. Zároveň v tomto období proběhla říje s pozorovanou kopulací páru pand, co se odrazilo na nález postovulačního píku hladiny estrogeneru 523,3 ng/g feces. Hladiny hormonu T4 (tyroxinu) byly na začátku období 21,9 nmol/l a na konci období pod 12,87 nmol/l. Samice začala dostávat euthyrox 30 mg pro toto. Do dvou měsíců došlo ke zlepšení stavu kůže i srsti.

Závěr. Pomocí analýz hormonů ze séra a hormonů z feces jsme u samice pandy červené potvrdili hypotyreózu a vyvrátili hyperestrogenismus. Terapií došlo k zlepšení stavu.

TESTOSTERÓN A PROBLÉMOVÉ SPRÁVANIE U PRE-PUBERTÁLNYCH CHLAPCOV S PORUCHAMI AUTISTICKÉHO SPEKTRA (PAS)

Pivovarčiová, A.¹, Durdiaková, J.¹, Hnilicová, S.¹, Filčíková, D.¹, Ostatníková, D.¹

¹*Akademické Centrum Výskumu Autizmu (ACVA), Fyziologický ústav, Lekárska fakulta Univerzity Komenského, Bratislava, Slovenská republika, Bratislava*

Úvod: Nedávny výskum ukázal, že deti s poruchami autistického spektra (PAS), majú vysokú mieru pridružených psychiatrických porúch. Existuje veľa štúdií skúmajúcich vzťah medzi testosterónom a psychiatrickými poruchami v rôznych klinických populáciách, avšak chýbajú štúdie u detí s PAS. Navyše etiológia PAS sa často dáva do súvisu s vyššou prenatálnou a postnatálnou hladinou testosterónu.

Metodika: Cieľom tejto práce je preskúmať vzťah medzi plazmatickými hladinami testosterónu a emočnými/behaviorálnymi problémami u pre-pubertálnych chlapcov s PAS (n = 35), posúdených podľa Nisongerskej detskej škály správania (NDŠS). Táto štúdia si tiež kladie za cieľ zistiť rozdiel medzi hladinou testosterónu u pre-pubertálnych chlapcov s PAS a kontrolnej skupiny neurotypických rovesníkov (n = 35). Celkové plazmatické hladiny testosterónu boli merané v oboch skupinách pomocou komerčného ELISA kitu.

Výsledky: Štatistická analýza odhalila pozitívnu koreláciu medzi hladinou testosterónu a subškálou problémového správania NDŠS ($p = 0,007$ $r = 0,445$), takisto pozitívnu koreláciu medzi hladinami testosterónu a subškálou nadmernej citlivosti NDŠS ($p = 0,03$, $r = 0,348$) u detí s PAS. Výrazne vyššie boli celkové hladiny testosterónu v skupine detí s PAS v porovnaní s kontrolnou skupinou ($p = 0,03$, $U = 476,0$).

Záver: Z výsledkov našej práce suponuujeme, že testosterón môže hrať významnú úlohu v etiopatogenéze psychiatrických komorbidít u detí s PAS, podobne ako je to v iných klinických populáciách.

Podporené grantmi VEGA 1/0066/12, APVV 0254-11 a APVV 0253-10

EFEKT PRENATÁLNÍHO A AKUTNÍHO METAMFETAMINU NA ANXIETU A PAMĚŤ VE VYVÝŠENÉM KŘÍŽOVÉM BLUDIŠTI U POTKANŮ.

Pometlová, M., Nohejlová, K., Šlamberová, R.

Ústav normální, patologické a klinické fyziologie, 3. LF UK, Praha, Česká republika

Úvod. Cílem práce bylo otestovat vliv akutního metamfetaminu (MA) na anxiету ve vyvýšeném křížovém bludišti (EPM) u potkanů s prenatálním MA. Zopakováním testu po 48 hodinách jsme testovali, zda MA ovlivnil jejich vnímání bludiště EPM.

Metodika: Potkaní samce prenatálně vystavené MA jsme testovali v EPM na anxiету (test). 45 minut před testem byl aplikován MA v dávce 1mg/kg (skupina MA) nebo fyziologický roztok (skupina SA). Za 48 hodin jsme zopakováním testu bez aplikace (re-test) testovali paměť. Frekvence a trvání jednotlivých prvků chování bylo hodnoceno z videozáznamu pomocí software ODLOG.

Výsledky: A) test: Výrazné anxiolytické nebo anxiogenní chování měřené pobytem v otevřených nebo zavřených ramenech bludiště jsme nezjistili. Po MA měli samci signifikantně více „protected stretch attended posture“ (pSAP) v porovnání se skupinou SA, ale méně „protected head-dipping“ (pDIP). V kategorii konfliktu „approach-avoidance“ byl u skupiny MA signifikantně vyšší „CA return“. Po akutním MA jsme nezjistili žádné rozdíly v motorické aktivitě potkanů vzhledem ke skupině SA. B) retest: V žádném, námi měřeném parametru chování jsme nezjistili statisticky významné rozdíly mezi skupinami MA a SA. C) porovnání testu a re-testu: při re-testu byly u obou skupin všechny měřené parametry nižší. U skupiny MA bylo signifikantní snížení jen v kategorii konfliktu „approach-avoidance“ a snížení v kategorii motorické aktivity. Byla snížena celková aktivita, i čenichání „sniffing“. U skupiny SA bylo signifikantní pouze snížení frekvence anxiogenních prvků chování pSAP a pDIP.

Závěr: V testu EPM akutní metamfetamin u samců prenatálně ovlivněných MA výrazně neovlivnil anxiету, ale zvyšoval anxiogenní chování na centrálním dvorci bludiště. Stejně neovlivnil jejich aktivitu. Při opakování testu se snížily všechny parametry měřených kategorií chování i u obou skupin. Můžeme tedy předpokládat, že u samců prenatálně vystavených MA má nízká dávka akutního MA mírný anxiogenní efekt, ale výrazně neovlivňuje celkovou aktivitu a ani paměť na pobyt v bludišti.

Práce byla podpořena projektem: PRVOUK P34, GAČR 14-03708S a IGA NT/14448

VIRTUÁLNÍ KLÁVESNICE OVLÁDANÁ POVRCHOVÝM EMG SIGNÁLEM S POKROČILÝMI FUNKCEMI FORMÁTOVÁNÍ TEXTU A OBECNÉ OVLÁDÁNÍ POČÍTAČE PRO HANDICAPOVANÉ OSOBY

Pošusta, A.^{1,2}, Sporka, A.², Otáhal, J.¹

¹*Fyziologický ústav, Akademie věd České republiky, Praha, Česká republika*

²*Fakulta elektrotechnická, České vysoké učení technické, Praha, Česká republika*

Úvod. Metody interakce člověka a stroje představují jeden ze základních směrů současného biomedicínského výzkumu. Cílem jejich využití je náhrada, či kompenzace poškozených kognitivních a senzori-motorických funkcí. V této práci jsme se zaměřili využití metody EMG interakce člověk-stroj u pacientů s úplnou či částečnou amputací horních končetin, jako nástroj pro ovládání klávesnice.

Metody. Pro rozpoznávání uživatelských akcí bylo vytvořeno komplexní zařízení skládající se z HW a SW části. Návrh analogových částí zařízení proveden za účelem potlačení mezi-svalových přeslechů. Digitální část zařízení zahrnuje algoritmus pro rozpoznávání uživatelských akcí a jejich interpretaci ve formě adaptivní virtuální klávesnice.

Výsledky. Navržená metoda byla testována na 12 zdravých jedincích a pacientovi s oboustrannou amputací horních končetin. Zařízení poskytuje stabilní odhad svalové kontrakce s rychlou odezvou a umožňuje interpretaci signálů jako tlačítek a spojitých ukazatelů. Virtuální klávesnici tak bylo možné optimalizovat a přizpůsobit množství rozlišitelných vstupů (tlačítek / spojitých ukazatelů) od uživatele. Optimalizovaná metoda byla robustní a funkční u všech testovaných jedinců.

Závěr. Navržená metoda představuje slibný postup, jak nahradit ztrátu senzomotorických funkcí u pacientů po amputaci. Metody interakce prostřednictvím EEG signálu doposud nenachází širší uplatnění v důsledku komplexní povahy EEG signálu a nutnosti značné koncentrace potencionálních uživatelů. Naproti tomu ovládání s pomocí EMG signálu představuje slibnou alternativu k EEG metodám z důvodů vyšší spolehlivosti registrace, snazšího zpracování EMG signálu, jednodušší ovladatelnosti a robustnosti.

Práce byla podpořena granty Ministerstva zdravotnictví České republiky (IGA NT/14489-3), Ministerstva školství (LH12070, PROGRAM LH KONTAKT II) a Grantové agentury České republiky (P303/14-02634S).

COAGULATION ABNORMALITIES IN BITCHES WITH PYOMETRA

Ramesova A.¹, Uhrikova I.¹, Machackova K.¹, Novotny R.², Bartoskova A.², Rybova M.¹, Doubek J.¹

¹*Department of Physiology*, ²*Small Animal Clinic, Faculty of Veterinary Medicine, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno, Czech Republic*

Background. Pyometra is a frequent, life-threatening illness characterized by accumulation of septic exudate in the uterus. This disease manifests not only locally, but also with general symptoms and requires immediate surgical or conservative treatment. Among other complications, one of the most underestimated is development of disseminated intravascular coagulation (DIC). DIC is characterized by an excessive activation of coagulation and fibrinolytic system. There are several causes that lead to the activation of coagulation caused by pyometra. The major one is a development of sepsis. Further progression of DIC is mediated by a damage of the vessel wall during surgery and hypothermia with acidosis during surgery.

Objective. The aim of this study was to describe coagulation abnormalities in bitches with pyometra.

Methods. Blood was collected from 10 bitches with pyometra referred to Department of Reproduction, UVPS Brno. Control samples were taken from 10 clinically healthy bitches. The blood was collected at admission into tubes containing citrate and EDTA. From EDTA blood platelet count (PLT) was measured. Prothrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (aPTT), fibrinogen (FBG) and D-dimer (D-D) level were measured from citrated blood. The DIC was considered as present if four or more of parameters were abnormal (PLT, PT, aPTT, FBG, D-D).

Results. Obtained results from patients were as following (median (min-max)): PLT $294 \times 10^9/l$ (151.0-512.0 $\times 10^9/l$), aPTT 22.2 s (17.7-29.7 s), PT 10.55 s (9.1-13.5 s), FBG 4.07 g/l (2.0-5.3 g/l), D-D 0.2 mg/l (0.2-7.2 mg/l). Significant differences were between patients vs. control samples in following (median values shown): D-D (0.2 vs. 0.1 mg/l, $p=0.0047$) and FBG (4.07 vs. 1.31 g/l, $p=0.00014$). Only one bitch was considered as DIC positive but all patients had elevated aPTT.

Conclusion. Pyometra is associated with various changes in coagulation. Our results show higher level of D-D that indicates ongoing alteration in coagulation, thus DIC is likely to be present.

CLINICALLY RELEVANT FORMS OF PRECONDITIONING AS AN ALTERNATIVE METHOD OF CARDIOPROTECTION IN THE ORGANISM CHALLENGED WITH CIVILIZATION DISEASES

Ravingerová, T.¹, Muráriková, M.¹, Farkašová, V.¹, Čarnická, S.¹, Griecsová, L.¹, Gablovský, I.¹, Mandíková-Alanová, P.², Chytilová, A.², Kolář, F.²

¹*Institute for Heart Research, Slovak Academy of Sciences & Centre of Excellence of SAS NOREG, Bratislava, Slovakia,*

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

Although classical ischemic preconditioning (PC, adaptation to brief ischemia) is the most powerful intervention that reduces the extent of lethal injury, its clinical application is limited due to technical problems and short-time duration. On the other hand, some novel forms of PC, such as „remote“ PC (RPC) and/or its delayed form (DRPC), in particular, their non-invasive modifications are already being used in clinical conditions, especially in aged patients with other comorbidities and severe acute myocardial infarction. However, underlying mechanisms of RPC are not yet known; nuclear transcription factors PPAR activation has been proposed besides other neural and humoral pathways.

The study aimed to assess the effect of RPC in rats on ischemia/reperfusion (IR) injury. RPC was applied on hind limb of anesthetized *in vivo* animals by 3 cycles of 5-min pressure cuff inflation (200 mm Hg, zero-flow in femoral artery)/5-min deflation and followed by either immediate (or 24 hr later) exposure of Langendorff-perfused hearts to 30-min global I/120-min R. In separate groups, PPAR- α antagonist MK886 (3 mg/kg, i.p.) was given 1 hr prior to RPC to evaluate the involvement of PPAR. Post-IR recovery of function (myocardial stunning) was evaluated in % of baseline values of left ventricular developed pressure (LVDP), while the size of infarction (IS) delineated by TTC staining was expressed in % of area at risk (AR) size.

RPC and DRPC did not affect baseline heart function. Both interventions significantly reduced IS/AR: by 58% and 50%, respectively, and improved (three-fold increased) recovery of LVDP regardless the mode of RPC. However, anti-infarct but not anti-stunning protection was blunted by application of PPAR antagonist.

The results confirm the effectiveness of non-invasive RPC in protection against IR injury and the role of PPAR in protection against lethal injury.

Supported by grants VEGA SR 2/0201/15, APVV-0102-11.

EFFECT OF FRUCTOSE TREATMENT ON NITRIC OXIDE PRODUCTION IN NORMOTENSIVE AND HYPERTENSIVE RATS

Reháková, R., Klimentová, J., Matúšková, Z., Barta, A., Cebová, M., Pecháňová, O.

Institute of Normal and Pathological Physiology, Slovak Academy of Sciences, Bratislava, Slovak Republic

Background: Increased consumption of total sugar and fructose may be involved in the current widespread metabolic disorders. The aim of this study was to determine blood pressure and nitric oxide synthase activity and oxidant status after 3 week-consumption of 10% fructose in drinking water in normotensive and spontaneously hypertensive rats.

Methods: In this study, 24 male 6-week-old rats, normotensive Wistar Kyoto rats (WKY) and spontaneously hypertensive rats (SHR), were used. 6 WKY rats and 6 SHR were taken as controls, whereas the remaining rats (WKY and SHR) were given free access for 3 weeks to 10% fructose. Blood pressure was measured by tail-cuff plethysmography. Total nitric oxide synthase (NOS) activity was determined by measuring the formation of L-[³H] citrulline from L-[³H] arginine. Protein expression of nuclear factor kappa B (NF-κB p65) and superoxide dismutase (SOD1) were determined by Western blot analysis and concentration of conjugated dienes (CD), a marker of oxidative damage, was measured spectrophotometrically.

Results: Blood pressure and relative heart weight were higher in SHR compared to WKY. Fructose drinking did not change these parameters significantly, however, it increased relative kidney weight of SHR. Cardiac NOS activity was lower, while renal NOS activity was higher in SHR compared to WKY. Fructose drinking decreased renal NOS activity in both WKY (by 20%) and SHR (by 30%), however, cardiac NOS activity was decreased in WKY only (by 40%).

Conclusions: Our data clearly showed that administration of 10% fructose led to decreased NOS activity which was not reflected by blood pressure increase yet. Thus, our results indicate, that short term administration of fructose could affect NOS activity with possible effect on blood pressure after prolonging fructose treatment.

Supported by grants APVV-0742-10 and VEGA 2/0183/12, 2/0144/14.

NON-CONVULSIVE DOSE OF GLUTAMATE RECEPTORS AGONISTS INFLUENCES THE SPONTANEOUS BEHAVIOR OF WISTAR RATS.

Riljak, V., Jandová, K.

Department of Physiology, 1st Faculty of Medicine, Charles University in Prague

Introduction. Both domoic (DA) and kainic (KA) acid are important tools in neurobiological research, especially in the field of temporal lobe epilepsy. In this study we tested how non-convulsive doses of these two major excitotoxins influence the spontaneous behavior of Wistar rats.

Methods and results. In the first part of our experiment rats were injected with 30 µg DA/kg from postnatal day 10 until PND 14. Their behavior was observed in the open field test for one hour (Laboras, Metris) at postnatal day 35, 42 and 112 with only few differences on the day 112. We conclude that at least in the given experimental design, neonatal DA treatment results in alteration of the spontaneous behavior of rats in adulthood. Second part of the experiment was focused on adult Wistar rats (3 month old). They were administered with DA at the dose 1.0 mg/kg and their behavior was monitored for one hour in three sessions. The first session started immediately after DA administration. The second and third session started one and two weeks later. DA increased time spent by locomotion and distance travelled in the second half of the first session and this effect was pronounced during the second and third session. Exploratory rearing was decreased by DA administration in the first half of the first session. DA influenced the grooming as well. On the other hand histochemistry of DA treated rats did not confirm the presence of apoptotic bodies in CA1 nor CA3 area of the hippocampi. Finally third part of the study tested the effect of kainic acid. Rats were treated with 5mg/kg of KA and observed in Laboras open field test. Week after the KA treatment animals were tested again. Treatment with KA increased the time spent by locomotion, exploratory rearing and animals traveled longer distance. Interestingly, week after the treatment we did not found differences in any measured behavioral parameter. Histology in terms of Fluoro-Jade B staining did not reveal any obvious neuronal damage in hippocampus.

Conclusion. Our experiments demonstrated that even the non-convulsive excitotoxine dose could have significant effect on rats behavior. This effect was more pronounced in adulthood and was not accompanied by clear morphological damage of the hippocampal area.

This study was supported by grant PRVOUK-P34/LF1/7.

SERUM NEUTROPHIL GELATINASE-ASSOCIATED LIPOCALIN CONCENTRATIONS IN DOGS WITH PRERENAL AND RENAL AZOTEMIA

Salášková P.¹, Uhríková I.¹, Bíliková P.¹, Raušerová L.², Řeháková K.³, Doubek J.¹

¹*Department of Physiology*, ²*Small Animal Clinic*, ³*Small Animal Clinical Laboratory, Faculty of Veterinary Medicine, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno, Czech Republic*

Introduction. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) is intracellular protein localized in epithelial cells of proximal renal tubules. NGAL is marker of acute ischemic and nephrotoxic renal injury since tubular damage leads to its increased release. The aim of the study was to compare concentrations of NGAL in dogs with renal and prerenal azotemia.

Material and methods. Together 33 dogs were included in this retrospective study. Criteria for inclusion were serum creatinin concentration > 120 µmol/l or urea > 8,5 mmol/l. Measurement of NGAL was done from serum samples using ELISA (Dog NGAL, BioPorto Diagnostics A/S, Denmark). Dogs were divided into group of prerenal and renal azotemia based on anamnesis, clinical signs and paraclinical examination. Results of serum NGAL were compared using Mann-Whitney test (MedCalc bvba, Belgium).

Results. Significant differences were found in serum NGAL concentration between dogs with prerenal azotemia and acute kidney injury ($p<0,05$), acute and chronic kidney disease ($p<0,05$). Significant difference was also found in dogs with prerenal azotemia according to severity of azotemia ($p<0,05$).

Conclusion. Serum NGAL concentrations differ in dogs with different types of kidney injury. NGAL seems to be a good indicator of acute kidney injury in dogs.

VPLYV PRENATÁLNEHO NARUŠENIA REGULAČNÝCH MECHANIZMOV TLAKU KRVÍ NA EMOCIONÁLNU REAKCIU POTKANOV NA PSYCHOLOGICKÝ STRES

Senko, T.¹, Olexová, L.¹, Kršková, L.¹

¹Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra živočíšnej fyziológie a etológie, Mlynská dolina, 842 15 Bratislava, Slovenská republika

Úvod. Adaptácia na suboptimálne podmienky *in utero* môže viesť, v súlade s hypotézou o fetálnom pôvode ochorení v dospelosti (FOAD), ku zmenám regulačných mechanizmov tlaku krvi a v konečnom dôsledku až k vzniku hypertenzie, ktorá je postnatálne spájaná s výskytom významných behaviorálnych zmien, vrátane zmien v emocionalite. Cieľom nášho experimentu bolo zistiť ako prenatálne narušenie regulačných mechanizmov tlaku krvi, reprezentované intrauterinnou expozíciou zvýšeným hladinám angiotenzínu II (Ang II), ovplyvní emocionalitu v postnatálnom období.

Metodika. V záujme zvýšenie maternálnych hladín Ang II sme experimentálnym samiciam (A skupina) na 6. deň gravidity implantovali osmotické minipumpy (Alzet model 2002), z ktorých bol kontinuálne uvoľňovaný Ang II, v množstve 2 µg/kg/hod počas 14 dní. Emotionalitu sme u potomstva testovali za využitia tzv. rat grimace scale (RGS) vo veku 68. - 69. dní. Počas 10 minútových intervalov sme vyhotovili 10 fotografií v domácej kletke a 10 fotografií v imobilizačnej komore predstavujúcej stresovú situáciu. Emocionálna reaktivita sa u každého potkana hodnotila na základe 4 akčných jednotiek RGS (zužovanie očnej štrbiny, vyhladzovanie nosa/líc, zmeny na ušiach, zmeny na fúzoch). Na každej fotografii bola každá akčná jednotka bodovo ohodnotená ako: 0 (neprítomné), 1 (mierne) alebo 2 (zjavné) a priemerovaním hodnôt sme dostali finálne RGS skóre každého jedinca.

Výsledky a Záver. Náš výskum ukázal, že psychologický stres zvyšuje RGS skóre u kontrolných aj Ang zvierat. Prenatálna manipulácia regulačných mechanizmov tlaku krvi zmenila emocionálnu reaktivitu. Ang samce mali nižšie RGS skóre v domácej kletke, naopak samice mali vyššiu emocionálnu reaktivitu, ktorá je reprezentovaná zvýšením RGS skóre v mierne stresujúcej situácii.

Práca bola podporená grantami No. VEGA 2/0107/12

RESPIRAČNÉ ŤAŽKOSTI NOVORODENCOV - VZŤAH K PORUCHE SURFAKTANTOVÝCH PROTEÍNOV

Smolárová S^{1,3}, Lasabová Z², Štanclová A⁴, Zibolen M³, Mat’ášová K³, Čalkovská A¹

¹ Ústav fyziológie Jesseniovej lekárskej fakulty Univerzity Komenského, Slovensko

² Ústav molekulovej biológie Jesseniovej lekárskej fakulty Univerzity Komenského a Univerzitnej nemocnice Martin, Slovensko

³ Neonatologická klinika Jesseniovej lekárskej fakulty Univerzity Komenského a Univerzitnej nemocnice Martin, Slovensko

⁴ Ústav patologickej anatómie Jesseniovej lekárskej fakulty Univerzity Komenského a Univerzitnej nemocnice Martin, Slovensko

Úvod. Pľúcny surfaktant je zložitý systém proteínov a lipidov, ktorého dominantnou funkciou je mechanická stabilizácia alveol a malých dýchacích ciest. Skladá sa z fosfolipidov a špecifických proteínov SP (A-D). Tvorba pľúcneho surfaktantu závisí od gestačného veku, u predtermínových novorodencov sa môže rozvinúť syndróm dychovej tiesne. Surfaktant môže chýbať aj u donosených novorodencov, napríklad v dôsledku geneticky podmienených porúch jeho metabolizmu. Poruchy génov kódujúcich proteíny SP-B a SP-C bývajú spojené s respiračnými ťažkosťami v novorodeneckom období, prípadne so vznikom intersticiálnych pľúcnych ochorení u starších detí.

Metodika. Autori prezentujú kazuistiky 2 nedonosených a 2 donosených novorodencov, ktorých popôrodná adaptácia bola primeraná ich gestačnému veku. V priebehu niekoľkých hodín až dní po pôrode nastalo zhoršenie klinického stavu, rozvinulo sa tachypnoe, prechodne bola nutná oxygenoterapia až ventilačná podpora. Klinické a laboratórne vyšetrenia boli negatívne. Vzorka krvi sa analyzovala z hľadiska možnej genetickej poruchy pľúcneho surfaktantu.

Výsledky. Sekvenačnou analýzou boli vyšetrené miesta s typickým výskytom geneticky podmienených porúch surfaktantu, a následne bola vykonaná priama sekvenácia DNA všetkých kódujúcich exónov génov *SFTPB* a *SFTPC*. Priama kauzálna mutácia nebola identifikovaná, avšak v géne *SFTPB* boli nájdené 3 funkčné polymorfizmy v heterozygotnom stave SNP - rs1130866, a 1 v homozygotnom stave SNP- rs2077079.

Záver. U nájdených funkčných polymorfizmov sa predpokladá spojitosť s rozvojom inak nevysvetliteľného tachypnoe a dýchacích ťažkostí u novorodencov. Molekulárna diagnostika umožňuje presné určenie genetických porúch surfaktantových proteínov, zodpovedných za vznik respiračnej tiesne u novorodencov,

Práca bola podporená projektmi APVV-0435-11 a BioMed Martin.

EFFECT OF A-TOCOPHEROL SUCCINATE ON RESPIRATION OF RAT LIVER MITOCHONDRIA

Sobotka O.¹, Drahota Z.^{1,2}, Endlicher R.^{1,3}, Rauchová H.², Červinková Z.¹

¹*Department of Physiology, Charles University in Prague, Medical Faculty Hradec Kralove, Czech Republic*

²*Institute of Physiology, Academy of Science, Prague, Czech Republic*

³*Department of Anatomy, Charles University in Prague, Medical Faculty Hradec Kralove, Czech Republic*

Introduction α -Tocopherol succinate (TOS) is a succinyl ester of vitamin E without redox activity but with particular anti-tumorous effects expressed as a suppression of cell proliferation and induction of apoptosis in the malignant cells. It is suggested that TOS binds selectively to Qd subunit of respiratory complex II (CII). However, this inhibition was also found in mitochondria isolated from non-cancer liver. Therefore the aim of our study was to describe effect of TOS on mitochondrial respiration in rat liver homogenate and in rat permeabilized hepatocytes.

Methods Study was performed on isolated hepatocytes (Hep), liver homogenate (Hom) and isolated liver mitochondria (Mit). TOS inhibitory effect on complex II respiration was measured using the high resolution respirometry (HRR) O2k Oroboros. The maximum respiratory capacity of complex II was induced by addition of succinate, cytochrome c and ADP. We used concentration range of TOS from 10 μ M to 200 μ M.

Results The most pronounced inhibitory action of TOS on CII respiration was observed in Mit. Similar effect was found also in Hep and Hom, however the concentrations of TOS able to induce the inhibition of CII were five times higher than in Mit (50 μ M vs 10 μ M, respectively). Also the maximal inhibition of CII respiration differs in Hep and Hom in comparison to Mit (60% vs 90%, respectively).

Conclusion The inhibitory effect of TOS on CII respiration was found in all tested samples. The lower effect on permeabilized hepatocytes and liver homogenate can be due to a presence of intracellular esterases which cleave the molecule of TOS to inactive succinate and α -Tocopherol.

This study was funded by PRVOUK 1214002

TAKÉ FYZIOLOGIE HMYZU MÁ SVÉ MOUCHY, ANEB DROSOPHILA MELANOGASTER V ROLI MODELOVÉHO ORGANISMU PRO STUDIUM METABOLISMU

Stašková, T.^{1,2}, Žaloudíková, A.¹, Šerý, M.¹, Sidorov, R.¹, Žurovec, M.^{1,2}, Kodrík, D.^{1,2}

¹ Entomologický ústav BC AVČR, České Budějovice, Česká republika

² Přírodovědecká fakulta JU, České Budějovice, Česká republika

Úvod. *Octomilka obecná (Drosophila melanogaster)* je jedním ze základních a nejvíce prozkoumaných modelů studia buněčné biologie. Znalost genomu a molekulárních markerů ovšem poskytuje zázemí také pro další obory, mezi které bezesporu patří endokrinologie hmyzu. Cílená mutageneze genů metabolických hormonů ve spolupráci s fyziologickými testy doplňují chybějící údaje o fungování organismu jako celku. Správně nastavené podmínky takových experimentů pak mohou poskytovat důležité informace, které nelze pomocí jiných konvenčních technik odečíst..

Metodika. Pro měření zdatnosti mutantních linií *D. melanogaster* byly použity tyto testy: hladovění, geotaxe, lokomoční aktivita, produkce CO₂, vývoj jedince v čase a měření hladin metabolitů.

Výsledky. V porovnání s kontrolními liniemi vykazovaly mutantní linie octomilek významné fyziologické a vývojové odchylky, které byly naměřeny na základě odlišných metabolických a behaviorálních vlastností organismu.

Závěr. Použité metodiky jsou tudíž vhodným, jednoduchým a účinným nástrojem pro studium fyziologie hmyzu.

Práce byla podpořena grantem GAČR No. 14-07172S (DK)

SVETELNÁ KONTAMINÁCIA PROSTREDIA A JEJ VPLYV NA HLADINY MELATONÍNU A KVALITU SPÁNKU

Stebelová, K., Zeman, M.

Katedra živočíšnej fyziológie a etológie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava, Slovensko

Úvod. Svetelný smog a strata tmy spôsobená umelým osvetlením počas tmavej fázy dňa je novým fenoménom modernej doby. Cirkadiánný systém cicavcov aj človeka je nastavený a synchronizovaný so svetelnými podmienkami vonkajšieho prostredia prostredníctvom hormónu melatonínu, ktorý je syntetizovaný v epifýze mozgu. Syntéza tohoto hormónu nastáva počas tmavej fázy dňa a svetlo dopadajúce na sietnicu oka produkciu melatonínu potláča. Cieľom našej štúdie bolo skúmať, či môže mať aj veľmi nízka intenzita osvetlenia počas tmavej fázy dňa vplyv na efektivitu spánku a produkciu melatonínu meranú prostredníctvom jeho metabolitu 6-sulfatoxymelatonínu (aMT6s) v moči.

Metodika. Na štúdiu sa zúčastnilo 18 probandov ($23,8 \pm 3,6$ roka; 15 žien, 3 muži). Probandi spali 3 noci vo svojom domácom prostredí v štandardne zatemnenej miestnosti (kontrolné dni) a následné 4 noci boli počas spánku vystavení osvetleniu < 1 lux (merané prístrojom Daysimeter, Troy, USA) (svetelná kontaminácia). Hladiny aMT6s sme stanovovali v prvom rannom moči probandov a v strede svetlej fázy dňa (RIA) a boli normalizované na koncentráciu kreatinínu (BioLa Test, ČR). Aktivita probandov počas spánku bola monitorovaná prístrojom actiwatch (CamNtech, UK).

Výsledky. Hladiny metabolitu hormónu melatonínu v prvom rannom moči zdravých probandov, ktorí boli počas spánku vystavení umelému osvetleniu veľmi nízkej intenzity neboli signifikantne významne zmenené. Index fragmentácie spánku – parameter, ktorý indikuje kvalitu nočného odpočinku, bol u sledovaných probandov štatisticky významne zvýšený počas svetelnej kontaminácie (t-test, $p < 0,05$).

Záver. Umelé osvetlenie veľmi nízkej intenzity (< 1 lux) počas spánku znižovalo kvalitu spánku, aj keď produkcia melatonínu nebola signifikantne zmenená.

Práca bola podporená grantom APVV 0150-10, APVV 0291-12.

KAUZÁLNÍ VZTAH MEZI TEPOVÝMI INTERVALY A SYSTOLICKÝM KREVNÍM TLAKEM: ZMĚNY S VĚKEM V PRŮBĚHU DOSPÍVÁNÍ

Svačinová, J.¹, Javorka, M.², Nováková, Z.¹, Závodná, E.¹, Czippelová, B.², Honzíkova, N.¹

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

² Ústav fyziologie, Jesseniova lekárska fakulta, UK, Martin, Slovensko

Úvod. Oscilace krevního tlaku se přenáší do srdeční frekvence baroreflexní cestou. Krevní tlak je zároveň určen srdeční frekvencí přímou nebaroreflexní cestou. Oba směry interakce tak tvoří uzavřenou smyčku. Bivariantní autoregresní model umožňuje vyhodnotit jak celkové zesílení ($\text{Gain}_{\text{STK, TI}}$) uzavřené smyčky mezi signály tepových intervalů (TI) a systolického tlaku (STK), tak kauzální zesílení otevřené smyčky pro nebaroreflexní ($\text{Gain}_{\text{TI} \rightarrow \text{STK}}$) a baroreflexní ($\text{Gain}_{\text{STK} \rightarrow \text{TI}}$) směr zvlášť. Provázanost mezi TI a STK pak lze vyhodnotit pomocí nekauzální koherence ($\text{Coh}_{\text{STK, TI}}$) i kauzálních koherencí v obou dílčích směrech ($\text{Coh}_{\text{TI} \rightarrow \text{STK}}$, $\text{Coh}_{\text{STK} \rightarrow \text{TI}}$). Metoda založená na podmíněné entropii dále vypočítává indexy velikosti spřáhnutí z jednoho signálu do druhého ($\text{C}_{\text{TI} \rightarrow \text{STK}}$ a $\text{C}_{\text{STK} \rightarrow \text{TI}}$). Cílem této práce bylo vyhodnocení vývoje interakce mezi STK a TI u zdravých dětí, dospívajících a mladých dospělých.

Metodika. Kontinuální krevní tlak (Finapres) byl snímán 335 mladým dobrovolníkům (11-23 let) za klidových podmínek (v sedě) a při řízeném dýchání na frekvenci 0,33 Hz. Z krevního tlaku byly vyhodnoceny TI a STK tep po tepu. Zesílení, koherence a indexy spřáhnutí byly počítány ze sekvencí TI a STK dlouhých 300 vzorků.

Výsledky. $\text{Gain}_{\text{STK, TI}}$ vykazoval signifikantní nárůst s věkem. Zatímco kausální $\text{Gain}_{\text{TI} \rightarrow \text{STK}}$ se s věkem signifikantně zvyšoval, $\text{Gain}_{\text{STK} \rightarrow \text{TI}}$ korelaci s věkem nevykazoval. Přestože se indexy spřáhnutí, $\text{Coh}_{\text{STK, TI}}$ i $\text{Coh}_{\text{TI} \rightarrow \text{STK}}$ s věkem neměnily, $\text{Coh}_{\text{STK} \rightarrow \text{TI}}$ s věkem korelovala negativně. Ve všech věkových skupinách bylo $\text{Coh}_{\text{TI} \rightarrow \text{STK}}$ významně vyšší než $\text{Coh}_{\text{STK} \rightarrow \text{TI}}$ a $\text{C}_{\text{TI} \rightarrow \text{STK}}$ bylo významně vyšší než $\text{C}_{\text{STK} \rightarrow \text{TI}}$.

Závěr. Dokázali jsme, že bez ohledu na věk v klidu vždy převažuje nebaroreflexní vliv z TI do STK. Vzrůst $\text{Gain}_{\text{STK, TI}}$ s věkem je dán nárůstem zesílení nebaroreflexní části smyčky. Pokles kauzální koherence v baroreflexním směru v průběhu dospívání je pravděpodobně dána zvyšováním složitosti vlivů působících na srdeční frekvenci.

Práce byla podpořena granty MUNI/A/0957/2013, APVV-0235-12, VEGA 1/0059/13.

EFFECT OF RED PALM OIL ON MYOCARDIAL ANTIOXIDANT ENZYMES AND NITRIC OXIDE PRODUCTION IN SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE RATS.

Szeiffová Bačová, B.¹, Viczenczová, C.¹, Beňová, T.¹, Tribulová, T.¹, Bernátová, I.², Rooyen, J.³, Katengua Thamahane, E.³.

¹ *Institute for Heart Research, Slovak Academy of Sciences, Bratislava, Slovak Republic*

² *Institute of Normal and Pathological Physiology, Slovak Academy of Sciences, Bratislava, Slovak Republic*

³ *Faculty of Health and Wellness Sciences, Cape Peninsula University of Technology, Bellville, South Africa.*

Background: Our previous studies showed that red palm oil (RPO) supplementation of spontaneously hypertensive rats (SHR) protects the heart against postischemic-reperfusion-induced arrhythmias and contractile dysfunction what was associated with improvement of myocardial connexin-43 mediated by cell-to-cell communication and activation of PKC signaling. Moreover, the implication of nitric oxide synthase and antioxidant enzymes (superoxide dismutase, glutathione peroxidase 1) has been shown in normotensive but not in hypertensive rats after RPO supplementation.

Aim: The purpose of this study was to investigate whether RPO diet affects nitric oxide synthase, superoxide dismutase (SOD1, SOD2) and glutathione peroxidase 1(GPX1) in SHR.

Methods: 3-months-old male SHR and Wistar-Kyoto rats (WKY) were fed standard rat chow plus or minus RPO (200ul/day, Carotino Sdn Bhd, Johor Bahru, Malaysia) for 5 weeks. Expression of SOD1, SOD2 and GPX1 was determined in left ventricular tissue while NOS activity was measured in both aorta and left ventricle.

Results: RPO increased SOD2 protein expression in hypertensive rats by 39% (SHR_{rpo} vs SHR_c (p<0.01). NOS activity was increased in the aorta but reduced in left ventricle of RPO-treated WKY and SHR compared to their respective controls.

Conclusion: These results indicate improved NO production in the aorta which may lead to the protection of endothelial function while increased SOD2 might reduce oxidative stress. Thus, NO-cGMP pathway and antioxidant defense systems may have acted synergistically to restore cardiovascular function in SHR.

This work was supported by VEGA 2/0046/12 and by the University Research Fund from Cape Peninsula University of Technology.

VPLYV METAMFETAMÍNU NA MATERSKÉ SPRÁVANIE A VÝVIN MLÁĎAT POTKANA LABORATÓRNEHO POČAS NEONATÁLNEHO OBDOBIA.

Ševčíková, M., Hřebíčková, I., Macúchová, E., Šlamberová, R.

Ústav normální, patologické a klinické fyziologie, 3. lékařská fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Česká republika

Úvod. Metamfetamín (MA) ako silná psychostimulačná droga môže vplývať na kvalitu materského správania. Počas obdobia laktácie prechádza do materského mlieka, a tak ovplyvňuje neonatálny vývin mláďat. Vývin nervového systému počas neonatálneho obdobia u potkana laboratórneho zodpovedá tretiemu trimestru gravidity u človeka. Cieľom tejto práce bolo porovnať účinky MA na matku a jej potomstvo v závislosti od spôsobu aplikácie drogy počas postnatálnych dní (PD) 1-11.

Metodika. Zvieratá boli rozdelené do 2 skupín – prvej skupine bol MA (5mg/kg) alebo fyziologický roztok subkutánne aplikovaný matkám, pričom mláďatá boli vystavené účinkom drogy prostredníctvom materského mlieka. Druhej skupine bol MA alebo fyziologický roztok o rovnakej dávke subkutánne aplikovaný priamo mláďatám. Materské správanie sme sledovali testom pozorovania a návratom mláďat do hniezda. Vývin mláďat sme sledovali sériou vývinových testov.

Výsledky. Pri sledovaní materského správania sa ukázalo, že matkám, ktorým bol podávaný MA, dlhšiu dobu im trvalo navrátenie mláďat do hniezda v porovnaní s kontrolnou skupinou. Váhový prírastok mláďat, ktoré dostávali drogu prostredníctvom materského mlieka bol nižší voči mláďatám, ktoré dostávali drogu priamo. MA voči fyziologickému roztoku urýchlil otváranie očí u mláďat, ktoré dostali drogu prostredníctvom materského mlieka. Mláďatá, ktoré dostávali drogu prostredníctvom materského mlieka, boli pomalšie vo vzpriamovaní na podložke počas prvých 3 PD a v teste negatívnej geotaxie v 9 PD. Na konci obdobia laktácie neboli samce, ktoré boli vystavené účinkom MA prostredníctvom materského mlieka, schopné udržať sa na hrazdičke taký čas ako samice tej istej skupiny.

Záver. Zdá sa teda, že podávanie MA prostredníctvom materského mlieka má výraznejší dopad na neonatálny vývin mláďat, ako jeho priama aplikácia.

Práce byla podpořena grantem No. PRVOUK P34, GAČR 14-03708S

NOVÁ METODA STANOVENÍ KAPACITY TRANSVERZÁLNÍHO TUBULÁRNÍHO SYSTÉMU U INTAKTNÍCH KARDIOMYOCYTŮ

Šimurda, J., Bébarová, M., Šimurdová, M.

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

Úvod. Rozložení transportních proteinů v povrchové membráně a v membráně transversálního tubulárního systému (TTS) se liší. Známa metoda sloužící ke stanovení ploch obou membránových systémů a jejich poměru spočívá v *detubulaci* (odpojení TTS) pomocí osmotického šoku a měření membránové kapacity. Cílem této práce bylo navrhnout alternativní metodu zachovávající buňku intaktní.

Metodika. Za normálních podmínek jsou oba membránové systémy natolik těsně vázány, že při měření membránové kapacity je nelze rozlišit. Nově navržená metoda vychází z elektrického náhradního schématu buňky se dvěma membránovými systémy oddělenými elektrickým odporem transversálních tubulů. Metoda spočívá ve výrazném zvýšení odporu TTS přechodným promýváním buňky izotonickým roztokem sacharózy (IRS). Oba systémy jsou tak elektricky odděleny a z analýzy proudových odezev membránového proudu na vnucené pravoúhlé impulzy membránového napětí lze určit membránové kapacity obou systémů, v této studii u enzymaticky izolovaných komorových srdečních buněk potkana.

Výsledky. Po aplikaci IRS probíhal přechodný jev zaznamenaný pomocí změn membránového proudu při konstantním vnuceném napětí. Postupně se měnily nejprve parametry povrchové membrány a se zpožděním i parametry TTS. Zviditelněl se tak proces difúze roztoku do nitra TTS. Navržený kvantitativní model tyto naměřené změny zobrazil. Kapacity tubulární a povrchové membrány ($C_{TTS} = 68,0 \pm 4,8$ pF a $C_P = 99,8 \pm 3,9$ pF) byly stanoveny v ustáleném stavu z aproximace odezev na pravoúhlé impulzy součtem dvou exponenciálních průběhů ($n = 16$). Poměr ploch stanovený za předpokladu stejných specifických kapacit byl $S_P/S_{TTS} = 0,40 \pm 0,02$.

Závěr. Navržená metoda ponechává buňku intaktní a umožňuje opakovaná měření. Dosavadní hodnocení vychází z modelu membrány se soustředěnými parametry. Dalšího zpřesnění metody může být dosaženo po zavedení popisu TTS jako systému s rozloženými parametry.

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

KVANTITATIVNÍ MODEL ÚČINKU ETHANOLU NA I_{KI} KANÁL U KOMOROVÝCH SRDEČNÍCH BUNĚK POTKANA

Šimurdová, M., Bébarová, M., Pásek, M., Matejovič, P., Šimurda, J.

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

Úvod. V naší nedávné experimentální studii jsme prokázali dvojí účinek ethanolu na draslíkový proud I_{KI} u komorových srdečních buněk potkana. Zatímco při nízkých koncentracích (do 2 mM) byl proud ethanolom snižován, při koncentracích nad 8 mM byl I_{KI} v průměru zvyšován, avšak na počátku aplikace látky docházelo pravidelně před dosažením ustáleného stavu k přechodnému poklesu proudu. V koncentracích 2 a 8 mM byl patrný různý účinek ethanolu u jednotlivých buněk. Velikost I_{KI} v kontrole byla signifikantně nižší u buněk, u nichž ethanol působil zvýšení proudu než u buněk, u nichž docházelo ke snížení I_{KI} .

Metodika. Základem této studie je biofyzikálně opodstatněný model interakce I_{KI} kanálu s ethanolom vyjádřený soustavou diferenciálních rovnic. Vychází z publikovaných dílčích nálezů o vlastnostech exprimovaných draslíkových Kir kanálů, z nichž některé jsou ethanolom inhibovány, jiné aktivovány. Pro numerická řešení byl použit *software* pro vědeckotechnické výpočty MATLAB v.7.2 (MathWorks, Inc.).

Výsledky. Náš model stojí na předpokladu, že měřený proud I_{KI} je zprostředkován nejméně dvěma frakcemi heterotetramerů tvořených podjednotkami Kir2.1, Kir2.2 a Kir2.3 s různou odezvou na ethanol. I_{KI} kanály odpovídající na ethanol aktivaci mají v modelu ve srovnání s kanály odpovídajícími inhibicí větší vodivost v kontrole a nižší hodnotu EC50. Kinetika přechodných změn po aplikaci ethanolu je dána interakcí kanálů s fosfolipidem fosfatidylinositol-4,5-bisfosfátem (PIP₂), o kterém je známo, že ovlivňuje pravděpodobnost výskytu kanálu v otevřeném stavu. V souhlase s našimi experimenty je odezva kanálů, které jsou ethanolom inhibovány, podstatně rychlejší (časová konstanta ~16 s) než odezva kanálů, které jsou ethanolom aktivovány (časová konstanta ~55 s).

Závěr. Navržený kvantitativní model nabízí výklad všech uvedených experimentálních výsledků na základě předpokládané existence minimálně dvou populací I_{KI} kanálů, které reagují odlišně v přítomnosti ethanolu.

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

THE EFFECT OF PRENATAL AND ACUTE METHAMPHETAMINE TREATMENT ON ANXIETY IN VARIOUS ANIMAL MODELS

Šlamberová R¹, Pometlová M¹, Macúchová E¹, Nohejlová K¹, Holubová A¹, Valeš K², Stuchlík A²

¹*Charles University in Prague, Third Faculty of Medicine, Department of Normal, Pathological and Clinical Physiology, Prague, Czech Republic*

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

Introduction. There are studies showing that psychostimulants increase anxiety in several rodent models of anxiety. Our previous studies demonstrated that prenatal methamphetamine (MA) exposure affects behavior of rats and sensitizes them to challenge dose of the same drug in adulthood. There are no studies available that examine the long-term effect of prenatal MA exposure and adult challenge on anxiety in rats. Therefore, the aim of the present study was to investigate the effect of prenatal MA exposure on anxiety evaluated in adulthood in three different models of anxiety: the Elevated plus-maze (EPM), Social interaction test (SIT) and Ultrasound vocalization (USV); and how these effects are influenced by acute challenge dose of the same drug.

Methods. Rat mothers were administered saline (SA) or MA (5 mg/kg) daily throughout the entire gestation period. Their male progeny were administered with challenge dose of SA or MA (1 mg/kg) prior to evaluation of anxiety. Animals were tested in adulthood in three different models of anxiety (EPM, SIT and USV) 45 minutes after application of challenge dose.

Results. The present results demonstrated that prenatal MA exposure increased the anxiogenic behavior in the test of USV and partially in the test of EPM (showing increased number of returns to closed arms and number of stretched attend posture). On the other hand, the number of head-dipping in the EPM and number of dropped boluses in the SIT was decreased suggesting rather anxiolytic behavior. In addition, acute MA challenge in adulthood decreases the time spent by social interaction suggesting anxiogenic behavior. Sensitization to MA challenge was apparent only in number of returns to closed arms and number of stretched attend posture measured in the EPM.

Conclusion. The present data demonstrate that prenatal MA exposure and adult challenge of the same drug affect anxiogenic/anxiolytic behavior dependently on the type of the anxiety model.

Supported by grant projects PRVOUK P34, GAČR 14-03708S.

INCREASED ANXIETY-LIKE BEHAVIOUR AND CHANGED GABAERGIC SYSTEM IN THE AMYGDALA OF VPA RAT - ANIMAL MODEL OF AUTISM.

Štefánik, P.¹, Olexová, L.¹, Kršková, L.¹

¹*Department of Animal Physiology and Ethology, Faculty of Natural Sciences, Comenius University in Bratislava, Slovak republic*

Introduction: Autism is a neurodevelopment syndrome defined as a deficit in social reciprocity and communication frequently accompanied by anxiety. Low levels of GABA, a neurotransmitter that reduces activity in the CNS, contribute to anxiety. Autism is accompanied by GABAergic system deregulation. In the neurological research of autism are animal models often used. One of them is represented by rats prenatally affected by valproic acid (VPA rat). The aim of our study was to investigate the relationship between anxiety-like behaviour and deregulation of amygdala GABAergic system in VPA rat.

Methods: On the day 12,5 of gestation females received single intraperitoneal injection of sodium valproate dissolved in saline in dose of 600 mg/kg. Control females received saline. All animals were tested during weaning, puberty and adulthood. At age 79-83 days animals were sacrificed. Anxiety level was analysed in the open field test. For *in situ* hybridisation we used cDNA probes binding to mRNA of GAD₆₅, GAD₆₇ and GAT1 in region of basolateral and basomedial amygdaloidal nuclei on coronal sections of brains.

Results: VPA rats exhibited increased activity in outer zone of testing chamber. These changes were observed only in adulthood. Adult VPA males exhibited decreased activity in the inner zone of testing chamber. We observed up to 30% increase of GAT1 mRNA in VPA rats amygdaloidal nuclei compared to controls. A decrease of mRNA for GAD₆₇ in the VPA group was close to 18% as compared to control group. In case of optical density of signal for GAD₆₇ mRNA, we observed a strong tendency to bond with male gender ($p = 0.05$). The GAD₆₅ gene expression was unchanged.

Conclusion: Our results confirm the relationship between anxiety-like behaviour and deregulation of amygdala GABAergic system in VPA rat.

This work was supported by grants VEGA 2/0107/12, 2/0138/13

PENTOBARBITAL ANAESTHESIA IN THE CARDIOVASCULAR CHRONOBIOLOGICAL STUDIES

Švorc, P.^{1,2}, Švorc, Jr, P.², Bačová, I.¹, Marossy, A.¹, Grešová, S.¹

¹*Department of Physiology, Medical Faculty, Safarik University, Kosice, Slovakia*

²*Department of Physiology, Medical Faculty, Ostrava University, Ostrava, Czech Republic*

Administration of anaesthesia may influence specific aspects of *in vivo* animal experiments and is an especially important consideration for experiments conducted during the daytime. Although chronobiological studies investigating interactions between general anaesthesia and circadian rhythms are sparse, all suggest that general anaesthetic agents have a significant effect on circadian rhythms. To assess the suitability of pentobarbital anaesthesia in chronobiological studies. The present study was performed using pentobarbital-anaesthetized (40 mg/kg, intraperitoneal) female Wistar rats after adaptation to a light-dark (LD) cycle (12 h:12 h). Heart rate, rectal temperature, electrocardiographic parameters, autonomic nervous system activity, acid-base balance, and plasma concentrations of Na⁺, K⁺, Ca²⁺ and Cl⁻ were evaluated for their dependence on the LD cycle. LD differences were found in heart rate and rectal temperature, measured before administration of the anaesthetic agent. Pentobarbital anaesthesia eliminated LD differences in all electrophysiological parameters, parameters of heart rate variability (except RR intervals), and parameters of acid-base balance and ion concentrations. LD differences with borderline statistical significance were found only for Na⁺ levels, with a higher level in the light period (ie, nonactive) of the rat regimen day. During pentobarbital anaesthesia, parasympathetic tone predominates and sympathetic activity is depressed. Spontaneously breathing rats under pentobarbital anaesthesia are in an asphyxic state independent of the LD cycle in in-vivo experiments. Results of the present study suggest that pentobarbital anaesthesia is not suitable for chronobiological studies. However, it is appropriate for cardiovascular research because it does not cause significant changes in heart activity.

EPIDEMIOLOGICKÁ DESKRIPTIVNÍ STUDIE STAVU KOSTNÍ DENZITY U ADOLESCENTŮ A MLADÝCH DOSPĚLÝCH PŘED DOSAŽENÍM VRCHOLOVÉ KOSTNÍ HMOTY

Švorc jr., P.¹, Bužga M.¹, Jarkuliš V.¹

¹ Lékařská fakulta, Ostravská univerzita v Ostravě

Úvod. Osteoporóza je systémové, progredující onemocnění kostí, které se projevuje snížením hustoty a poruchou struktury kostní tkáně a mikroarchitektury kostí. Toto onemocnění se stává epidemií třetího tisíciletí. Mezi hlavní faktory patří beze sporu nevhodná životospráva, nedostatek pohybu a také nevyhovující chemické složení stravy, především pak nedostatek vápníku, hořčíku, manganu, zinku, křemíku, mědi a dále poruchy metabolismu fosforu. Situace je alarmující zejména pro nastupující generaci. Drtivá většina mladých, v první řadě pak studentů, žije sedavým způsobem života, aktivita je omezena, nakolik jsou nuceni trávit čas nad knihami a u počítače. To vede k celkovému zanedbání životosprávy a prevence proti pomalu nastupujícímu úbytku kostní hmoty.

Metodika. Primárním cílem studie bylo vyhodnocení stavu kostní denzity za pomoci DEXA neboli dvousvazkové rentgenové absorpciometrie. Denzita byla měřena v oblasti krčku femuru, bederní páteře v oblasti L1-L4 a nakonec byl proveden celotělový scan. Získané výsledky byly srovnány s průměrnými hodnotami u mladých zdravých jedinců téhož pohlaví (T-score) a u jedinců stejného pohlaví a věkové kategorie (Z-score).

Výsledky a Závěr. S ohledem na velké množství naměřených dat v této studii, nebylo možné dodržet požadovaný formát abstraktu. Výsledky a závěr představují velkou skupinu číselných hodnot a tabulek. Chybějící odstavce abstraktu budou obsaženy v posteru.

COMPARISON OF BLOOD PARAMETERS OF PRZEWALSKI HORSES (*Equus przewalski*) KEPT IN DIFFERENT LOCATIONS

Tomenendálová, J.¹, Vodička, R.², Kuchařová, V.¹, Uhríková, I.¹, Doubek, J.¹

¹ Faculty of Veterinary Medicine, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic

² The Prague Zoological Garden, Prague, Czech Republic

Introduction. The influence of environmental factors on some biochemical parameters, especially vitamins, is described in horses kept in various locations. The Przewalski horses in Czech Republic live in two different environments. Prague zoological garden and Slatiňany represent typical conditions for animals held in captivity. The second location, Dolní Dobřejov, is situated in so-called Czech Siberia and horses are prepared here for their return to homeland, Mongolia. The aim of this study was to compare biochemical parameters including concentrations of minerals and vitamins of Przewalski horses (*Equus przewalski*) kept in Prague or Slatiňany with animals from Dolní Dobřejov.

Material and methods. Blood from 24 clinically healthy Przewalski horses was sampled for five years (1997 – 2002). Biochemical analysis was performed using Pliva Lachema (Czech Republic) tests, Bio Vendor (Czech Republic) tests, DiaLab (Czech Republic) tests. Concentrations of minerals were determined using an H 1550 analyser (Hilger, UK) and the F-AAS method, fluorescence spectrophotometry was used for measuring vitamin A and E concentrations. The results from horses kept in Prague or Slatiňany and animals from Dolní Dobřejov were compared.

Results. Przewalski horses held in conditions more alike to wild nature showed significantly higher concentrations of vitamin E ($p=0,003$), phosphorous ($p=0,002$) and copper ($p=0,048$). Other parameters did not differ significantly between the groups.

Conclusion. Przewalski horses in Dolní Dobřejov are kept on extensive pasture all year long whilst in Prague and Slatiňany the feed consists mainly of harvested or stored feeds. That is probably reason of the changes in mineral and vitamin concentrations.

MODULATION OF VASCULAR FUNCTION BY PERIVASCULAR ADIPOSE TISSUE IN NORMOTENSIVE AND HYPERTENSIVE RATS

Török, J., Zemančíková, A.

Institute of Normal and Pathological Physiology, Slovak Academy of Sciences, Bratislava, Slovakia

Introduction. Virtually all blood vessels are surrounded by variable amounts of adventitial fat. This perivascular adipose tissue (PVAT) was considered until recently only as a passive structural support for the blood vessels. PVAT is now considered as a highly active endocrine organ that releases a variety of adipokines, inflammatory cytokines, and other factors which influence vascular tone. The aim of this study was to assess the effect of perivascular fat on contractile responses of conduit arteries in normotensive and hypertensive rats.

Methods. Experiments were performed on adult male twenty-week-old normotensive Wistar-Kyoto rats (WKY; blood pressure 106 ± 1 mmHg) and spontaneously hypertensive rats (SHR; blood pressure 186 ± 4 mmHg). Arterial ring preparations, one with PVAT intact and the other with PVAT removed, were prepared from isolated rat mesenteric artery as well as from abdominal aorta, and were suspended in organ baths for the recording of isometric tension. Neurogenic contractions were elicited by electrical field stimulation (EFS) of perivascular adrenergic nerves.

Results. Both normotensive WKY and SHR rat vessels with PVAT displayed weaker contractions to noradrenaline compared to their counterparts without PVAT, however, this anticontractile effect of PVAT was reduced in SHR. There was no significant difference in the magnitude of KCl (100 mmol/l) contraction of intact mesenteric arteries and arteries lacking PVAT. Increase in tension induced in resting abdominal aorta by 1 mmol/l 4-aminopyridine (4-AP), a voltage-dependent potassium channel blocker, was greater in WKY than in SHR rats. The force generated by EFS was greater in absence compared with presence of 4-AP in WKY rats only, but not in SHR.

Conclusion. Our results confirm the existence of anticontractile factor released by PVAT of mesenteric artery and abdominal aorta. This factor operates, at least in part, by activation of voltage-dependent potassium channels and its action is less effective in SHR than in WKY rats.

The study was supported by grant VEGA No. 2/0188/14.

SUBCELLULAR CARDIOMYOCYTE ALTERATIONS DUE TO Ca^{2+} -OVERLOAD LINKED WITH OCCURRENCE OF MALIGNANT ARRHYTHMIAS OF PIG HEART.

Tribulova N¹, Kessler R², Thomas S², Podzuweit T²

¹*Institute for Heart Research, SAS, Bratislava, Slovakia,*

²*Max-Planck-Institute for Heart and Lung Research, Bad Nauheim, Germany*

Rationale. It has been established that intracellular Ca^{2+} oscillations and/or Ca^{2+} -overload as well as impairment of electrical cell-to-cell coupling - often induced by high $[\text{Ca}^{2+}]_i$ - are crucial factors involved in initiation and sustaining of malignant cardiac arrhythmias, such as ventricular tachycardia (VT) or fibrillation (VF). However, in situ evidence in respect to Ca^{2+} alterations and myocardial subcellular injury is missing.

Purpose. To characterize very early subcellular alterations of cardiomyocytes in pig hearts that underwent either electrically-induced VF or VT triggered by intramyocardial noradrenaline (NA) infusion.

Methods. Experiments were performed on open-chest landrace pigs using two different protocols: 1/ VF was induced in intact heart by 2 sec burst of 100 rectangular pps of 0.1 msec duration and 1.2 time of the threshold voltage. 2/ VT was induced in intact heart by local 60 sec lasting intra-myocardial infusion of 100 micromolar NA. Drill biopsies were taken either randomly from the left ventricle at 60 sec of VF or from the site of NA infusion at 60 sec. Samples were processed for electron microscopy examination.

Results. There was myocardial heterogeneity in the severity of VF-induced subcellular alterations of cardiomyocytes and their junctions. The prominent Ca^{2+} -overload-related changes consisted of abnormalities of sarcomere patterns of myofibrills, such as exhibiting dramatic shortening in the vicinity of relaxing sarcomeres. Impairment of electrical coupling between two neighboring cardiomyocytes was recognized when one was in contracted while another in relaxed state. Focal non-uniform alterations of sarcomere patterns indicating disorders in cytosolic Ca^{2+} and cell-to-cell coupling were observed upon NA infusion that triggered VT.

In conclusion, it appears that myocardial heterogeneity of high Ca^{2+} -related subcellular injury of cardiomyocytes is a common feature of both fibrillating myocardium and myocardium with triggered ectopic activity. Non-uniform sarcomere shortening most likely reflects cytosolic Ca^{2+} oscillations, disturbances in Ca^{2+} wave propagation.

Study was supported by VEGA 2/0046/15 grant.

VLIV FAKTORU SONIC HEDGEHOG NA FUNKČNÍ PROJEVY TRANSPLANTOVANÝCH KMENOVÝCH BUNĚK U MODELU CEREBELÁRNÍ DEGENERACE

Tůma, J.^{1,2}, Ostašov, P.^{2,3}, Pitule, P.^{2,3}, Houdek, Z.¹, Králíčková, M.^{2,3}, Vožeh, F.^{1,2}, Cendelín, J.^{1,2}

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

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

³ Ústav histologie a embryologie, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova, Plzeň, Česká republika

Úvod. Využití trofických a morfogenetických faktorů v kombinaci s transplantací kmenových buněk představuje naději na léčbu hereditárních spinocerebelárních ataxií. Cílem práce bylo testovat, zda transplantace neurálních kmenových buněk v kombinaci s faktorem sonic hedgehog (Shh) ovlivní funkční projevy olivocerebelární degenerace.

Metodika. Neurální kmenové buňky (NSCs) získané z myších embryí byly 7 dní kultivovány *in vitro* a následně transplantovány v kombinaci s Shh do mozečku myšího modelu cerebelární degenerace (*Lurcher*) a jejich zdravých kontrol. Po dvou měsících byly myši podrobeny sérii motorických testů (rotarod, parallel rod floor test). Poté byla histologicky vyšetřena přítomnost transplantátu. Součástí experimentu byla i *in vitro* analýza genové exprese 10 vybraných markerů a viability NSCs po aplikaci Shh.

Výsledky. Přežívání transplantovaných NSCs se nelišilo v závislosti na typu příjemce. Motorické testy neukázaly signifikantní zlepšení u myší léčených kombinací Shh a NSCs. Expozice Shh *in vitro* neměnila viabilitu NSCs. Po aplikaci Shh došlo ke zvýšené expresi markeru neuronální diferenciace.

Závěr. Přestože studie neukázala signifikantní zlepšení motorických funkcí u myší typu *Lurcher* po aplikaci NSCs v kombinaci s Shh. *In vitro* studie ukázala pozitivní efekt Shh na neuronální diferenciaci. Práce byla podpořena COST LD12057, PRVOUK (projekt P36), projektem CZ.1.05/2.1.00/03.0076 Evropského fondu pro regionální rozvoj.

CHRONIC ADMINISTRATION OF OUABAIN FAILED TO INDUCE ARTERIAL BLOOD PRESSURE SALT SENSITIVITY

Marian Turcani, Elham Ghadhanfar, Maie Al-Bader

Department of Physiology, Faculty of Medicine, Kuwait University, Kuwait

Introduction. Although epidemiological studies repeatedly confirmed association between the elevated salt intake and hypertension, molecular mechanisms of this link remain unclear. Potential pathogenic pathways include stimulation of endogenous ouabain secretion in response to high dietary salt. Chronic administration of ouabain elevates arterial pressure in rodents, however it is not settled whether brain, arterial, or renal functions are affected. We tested the hypothesis that exogenous ouabain induces arterial blood pressure salt sensitivity. If correct, it will support the concept that high salt intake is affecting arterial or renal function directly and not via the stimulation of ouabain release from the hypothalamus.

Methods. 3-months-old male Wistar rats were implanted with telemetric transmitters to monitor arterial pressure, ECG, and core body temperature. Ouabain (63 $\mu\text{g/kg/day}$) was administered for 4 weeks, and then the higher dose of ouabain (324 $\mu\text{g/kg/day}$) was applied for another 4 weeks.

Results. Arterial pressure did not change during ouabain treatment and also not in response to large (0.08% - 8%) short term variation in the chow salt content. In all tested animals, the increased salt intake was associated with decline in urine norepinephrine excretion by 600% ($p < 10^{-6}$), heart rate by 34 bpm ($p < 10^{-6}$) and abdominal temperature by 0.3°C ($p < 10^{-6}$). Sympathetic drive to arterioles, as reflected by the low frequency power of systolic pressure variability, was reduced by 12% ($p = 3.10^{-3}$) and the non-linear surrogate measure of vagal activity, the Lempel-Ziv entropy of RR-intervals, was augmented by 50% ($p = 4.10^{-6}$). Adaptation to high salt diet also included elevation of urine excretion of nitric oxide metabolites by 130% ($p = 10^{-6}$).

Conclusions. Chronic administration of low ouabain doses did not elevate arterial pressure and did not interfere with the adaptive responses to increased salt intake. These results question the postulated role of endogenous ouabain in the pathogenesis of salt sensitive hypertension.

Supported by Kuwait University Research Grant No. MY02/09

KARDIOVASKULÁRNA REGULÁCIA U DETÍ A ADOLESCENTOV S OBEZITOU: LINEÁRNE VS. NELINEÁRNE METÓDY

Turianiková, Z.¹, Czippelová, B.¹, Lazarová, Z.¹, Javorka, K.¹, Tonhajzerová, I.¹, Javorka, M.¹

¹Ústav fyziológie, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Slovensko

Úvod. Obezita je rastúci komplexný chronický zdravotný problém, ktorý v súčasnosti nadobudol charakter pandémie a vyskytuje sa čoraz častejšie už v detskom veku. Na vzniku a progresii viacerých kardiovaskulárnych komplikácií obezity sa významne podieľa zmenená rovnováha autonómneho nervového systému (ANS). Cieľom tejto práce bolo zistiť prítomnosť včasných zmien v regulácii kardiovaskulárneho systému pomocou metód odvodených z nelineárnej dynamiky a porovnať ich citlivosť s tradične používanými lineárnymi metódami.

Metodika. Vyšetřili sme 40 detí a adolescentov s obezitou (vek 14,2 [13,1 – 16,1](medián [interkvartilový rozsah])) a 40 zdravých mladých ľudí spárovaných podľa veku a pohlavia. Záznamy EKG (Cardiofax ECG-9620) a tlaku krvi pri každom údere srdca (FinometerPro, FMS, Netherlands) sme neinvazívne a kontinuálne snímali v ľahu počas 60 minút. Časové rady R-R intervalov a systolických a diastolických tlakov dlhé 2000 bodov boli analyzované použitím tradičných lineárnych parametrov v časovej a frekvenčnej oblasti a pomocou nelineárnej metódy – Rekurenčnej kvantifikačnej analýzy (RQA).

Výsledky. Medzi obéznymi deťmi a kontrolnou skupinou nebol zistený signifikantný rozdiel v lineárnych parametroch s výnimkou výkonu v HF pásme v časových radoch STK, ktorý bol signifikantne vyšší u obéznych detí. Obézne deti mali tiež signifikantne vyššie niektoré parametre RQA v časových radoch frekvencie srdca (trapping time (TT) a maximálna dĺžka vertikály (Vmax)).

Záver. Naše výsledky poukazujú na vysokú citlivosť RQA v detekovaní diskretných zmien v regulácii kardiovaskulárneho systému u obéznych detí a adolescentov. Nelineárne parametre sú nezávislé od tradične používaných lineárnych parametrov, opisujú iné charakteristiky oscilácií a preto môžu poskytnúť ďalšiu informáciu o zmenách regulácie kardiovaskulárneho systému pri rôznych fyziologických aj patologických stavoch.

Práca bola podporená grantom APVV – 0235-12, VEGA 1/0059/13 a VEGA 1/0223/12.

EFFECT OF LOW DOSE ASA MEDICATION ON COAGULATION PARAMETERS IN RABBITS WITH RIGHT-VENTRICLE PACING.

Uhríková, I.¹, Sepši, M.^{2,4}, Hložková, J.^{3,4}, Doubek, J.¹, Scheer, P.^{1,4}

¹ Faculty of veterinary medicine, UVPS Brno, Czech Republic, ² Department of Internal Cardiology Medicine, University Hospital Brno, Czech Republic, ³ Faculty of pharmacy, UVPS Brno, Czech Republic, ⁴ Integrated Center of Cellular Therapy (ICCT), St. Annes's University Hospital - International Clinical Research Center Brno, Czech Republic

Introduction. Antiaggregant therapy is standard in humans with permanent cardiac pacing due to presence of foreign material in right chamber and risk of thromboembolism. However, not all patients follow the instructions and not all patients tolerate ASA. The aim of this study was to evaluate safeness of pacing without ASA on animal model using rabbits.

Material and methods. Eight clinically healthy New Zealand rabbit of age 14 weeks were used for this study. After placing of right-ventricle pacer, rabbits were receiving marbofloxacinum (2 mg/kg) and tolfenamic acid (0.1 ml/kg) for 7 days. From eighth day they were medicated with metoprolol (50 mg/l of water) and half of them with ASA (12.5 mg/l of water). Blood was collected 5., 9. and 11. week after ASA medication into citrate and EDTA test tubes. Activated partial thromboplastin time (aPTT), prothrombin time (PT), thrombin time (TT) fibrinogen (FBG), D-dimers (D-D) and platelet count were estimated.

Results. Significant differences were found in platelet count in second and third sampling, where rabbits medicated with ASA had lower platelet count (median $180 \times 10^9/l$ and $241 \times 10^9/l$) than others ($308 \times 10^9/l$ and $347 \times 10^9/l$). In third sampling, there was tendency for longer PT in rabbits medicated with ASA (10.7 s vs. 9.8 s, $p=0.08$). Other results were not significantly different.

Conclusion. Rabbits with permanent right-ventricle pacing had significantly similar coagulation tests whether medicated with ASA or not.

Study was supported with European Regional Development Fund - Project FNUSA-ICRC (No. CZ.1.05/1.1.00/02.0123) and Internal Grant Agency of Ministry of healthy No. IGA MZ NT 14591-3/2013.

DIABETES IN RATS WITH HYPOXIC PULMONARY HYPERTENSION

Vajnerová, O., Kratzerová, T., Ďurišová, J., Miková, D., Hampl, V., Herget, J.

Dept. Physiology, Charles University, 2nd Medical Faculty, Prague, Czech Republic

Hypoxia-induced radical stress of lung tissue initiates the development of hypoxic pulmonary hypertension (1). We hypothesized that additional oxidant stress in rats with experimental diabetes may potentiate oxidant lung injury and thus pulmonary hypertension.

Thirty adult male rats were divided into three groups: H (hypoxia 3 weeks, $\text{FiO}_2 = 0.1$), DH (streptozotocine diabetes, 100 mg/kg s.c. in neonatal period and then 3 weeks hypoxia as adults), N (normoxia). Glycemia measured by glucose meter (FreeStyle Optium, Abbott) before placing the H and DH to hypoxic chamber was significantly higher in DH group ($\text{DH } 9.3 \pm 1.1(\text{SE})$; $\text{H } 7.1 \pm 0.3$; $\text{N } 6.5 \pm 0.3$). On the day of the experiment the animals were anesthetized (Thiopental 50 mg/kg i.p.) and blood samples were taken from jugular vein. Pulmonary artery pressure was measured by catheterization via jugular vein (with chest intact). Heart ventricles were weighted and concentration of nitrates and nitrites (NO_x ; chemiluminiscence), nitrotyrosine (ELISA) and level of oxidant stress expressed as reactive oxygen metabolites (ROMs; FRAS 4 Evolve) were determined in venous blood.

Hypoxia resulted in pulmonary hypertension which was, however, not further potentiated by diabetes. ROMs concentrations were not increased in hypoxia alone but they were significantly higher in the group HD. Concentration of nitrotyrosine and NO_x was significantly lower in the HD group than in H.

Mild form of diabetes does not deteriorate hypoxic pulmonary hypertension. Diabetes, however, significantly increased radical stress in hypoxic rats.

Supported by grant COST LD 14068 and IGA NT13358.

(1) Herget and al. *Physiol Res* 2000;49:493-501.

VPLYV JEDNODŇOVEJ PREMEDIKÁCIE VYBRANÝMI ANTIDEPRESÍVAMI NA FUNKCIU SRDCA POTKANOV

Vicen, M.¹, Gulač, P.¹, Kráľová, E.¹, Tomášová, L.¹, Knezl, V.², Stankovičová, T.¹

¹*Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta, UK, Bratislava*

²*Ústav experimentálnej farmakológie a toxikológie SAV, Bratislava*

Úvod. Spontánnu aktivitu izolovaného tepajúceho srdca možno sledovať v podmienkach perfúzie podľa Langendorffa. Zaujímalo nás, ako ovplyvní 24-hodinová premedikácia potkanov s vybranými antidepresívami hemodynamiku a elektrickú aktivitu izolovaného srdca potkanov.

Metodika. Na charakterizáciu činnosti kardiovaskulárneho systému u bdelého zvieraťa sme zvolili meranie tlaku krvi na chvoste potkanov pred a 24 hodín po aplikácii antidepresív (AD). Následne sme z izolovaného spontánne tepajúceho srdca v podmienkach ischemicko-reperfúzneho poškodenia (30 min ischemia + 45 min reperfúzia) zaznamenávali a analyzovali elektrickú aktivitu a jeho kontraktilné schopnosti (Seiva EKG Praktik Veterináry verzia 2.1 a LabChart 7 Pro verzia 7.3.7).

Výsledky. Pri meraní krvného tlaku po aplikácii antidepresív sa potkany zo všetkých skupín správali pokojne. U skupín premedikovaných s.c. amitriptylínom a citalopramom v dávke 30mg/kg hmotnosti sme na rozdiel od skupiny premedikovanej venlafaxínom 10mg/kg zistili zníženie hodnôt systolického, diastolického aj stredného arteriálneho tlaku. Frekvencia pulzovej vlny sa u amitriptylínu zvýšila, ale u citalopramu a venlafaxínu sa znížila.

Približne 85% srdc začínalo štádium reperfúzie ventrikulárnou tachykardiou až fibriláciou, ale v ďalšom priebehu reperfúzie sa vyskytli epizódy fibrilácie presahujúce trvanie 2 s iba u srdc zo zvierat premedikovaných venlafaxínom. Celkové zvýšenie počtu dysrytmií bolo najvýraznejšie po amitriptylíne. Na izolovanom srdci sme počas reperfúzie zaznamenali predĺženie QT aj QTc intervalu. Antidepresívum venlafaxín najvýraznejšie zmenšovalo koronárny prietok.

Záver. Každé z testovaných antidepresív - amitriptylín, citalopram a venlafaxín ovplyvňuje činnosť srdca v reperfúzii iným spôsobom. Antidepresívum amitriptylín má najvýraznejšie proarytmogénne účinky, zatiaľ čo v obraze účinku venlafaxínu dominoval koronarokonstrikčný účinok.

Práca bola finančne podporená grantom: VEGA, SR 1/1342/12

MELATONIN AND OMACOR MODULATE MMP ACTIVITY IN PLASMA, AORTA AND HEART OF ISOPROTERENOL INJURED NORMOTENSIVE AND HYPERTENSIVE RATS

Viczenczova, C.¹, Chaudagar, K.^{1,2}, Radosinska, J.^{1,3}, Benova, T.¹, Bacova, B.¹, Barancik, M.¹, Tribulova, N.¹

¹*Institute for Heart Research, SAS, Bratislava, Slovakia*

²*L. M. College of Pharmacy, Ahmedabad, India*

³*Institute of Physiology, Faculty of Medicine., Comenius University, Bratislava, Slovakia*

Rationale: Sustained beta-adrenoreceptor activation is deleterious to the heart due to promotion of myocardial remodeling and compromising of cardiomyocytes viability that increases the risk for sudden cardiac death. Our and other studies suggest that melatonin and omega-3 fatty acids are cardioprotective but underlying mechanisms are not fully elucidated. We hypothesize that both compounds may affect extracellular matrix remodeling by modulation of MMPase activity.

Purpose: We aimed to investigate MMP-2 activity in plasma, aorta and heart of beta-agonist isoproterenol (iso) injured normotensive (Wistar) and hypertensive rats (SHR) in respect to omega-3 fatty acids (Omacor) and melatonin treatments.

Methods: Wistar and SHR were divided into four groups: controls without treatment; iso-injured rats (118 mg/kg totally, s.c., for 7 days); iso-injured rats treated with melatonin (10 mg/kg, p.o., 2-months); iso-injured rats treated with Omacor (1.68 g/kg, p.o., 2-months). MMP-2 activity was estimated using gelatin zymography.

Key results: There was a higher plasma but lower heart tissue-related MMP-2 activity in non-treated SHR vs. Wistar rats and no difference in aorta. Melatonin and Omacor suppressed plasma MMP-2 activity in iso-treated Wistar as well as SHR and in aorta of Wistar but not SHR iso-treated rats. Both compounds decreased MMP-2 activity in atria, left ventricle and septum of iso-treated Wistar but not SHR. However, Omacor and melatonin decreased MMP-activity in right ventricle of iso-treated SHR.

In conclusion, data indicates that both melatonin and Omacor modulate circulating and cardiovascular tissue-related MMP-2 activity and there are strain- and tissue-related differences.

This work was supported by VEGA 2/0046/12, 1/0032/14, 2/0167/15, and APVV 0241/11, 0348/12 grants.

NEUROCHEMICKÉ KORELÁTY PERINATÁLNÍ FOKÁLNÍ ISCHEMIE U POTKANA

Vondráková, K.^{1,2}, Syslová, K.³, Mikoška, M.³, Kačer, P.³, Kubová, H.¹, Valeš, K.¹, Tsenov, G.¹

¹ Fyziologický ústav AVČR, v.v.i., Praha, Česká republika

² Přírodovědecká fakulta UK, Praha, Česká republika

³ Vysoká škola chemicko-technologická, Praha, Česká republika

Hypoxicko-ischemické poškození představuje nejčastější formu perinatálního poškození mozku, které ohrožuje novorozence na životě a ve většině případů vede k trvalým neurologickým následkům s negativním dopadem na kvalitu života. Klíčovou úlohu ve vzniku trvalého strukturálního a funkčního postižení hrají komplexní molekulární procesy spuštěné masivním uvolněním glutamátu. Přestože význam excitotoxických účinků glutamátu v ischemii je intenzivně studován, jeho mechanismy nejsou doposud plně objasněny a málo pozornosti bylo věnováno významu tohoto procesu v perinatálním období. Další klíčovou roli mohou hrát mechanismy oxidačního/nitrosativního stresu a inflamatorní reakce, které jsou asociované s ischemickou kaskádou.

Experimenty byly provedeny na 12ti denních (P12) samcích potkanů kmene Wistar. Zvířatům v celkové anestezii byly implantovány pomocí stereotaktického aparátu mikrodialyzační sonda a kanyla pro infuzi látky do pravého dorzálního hipokampu. Sonda byla promývána umělým cerebrospinálním mokem (1,5 µl/min) a vzorky odebírány po dobu 3 hodin po aplikaci. Během všech experimentů byla zvířata udržována při teplotě $34 \pm 0,5$ °C. Fokální cerebrální ischemie byla vyvolána podáním endotelinu-1 (ET-1) v koncentraci 40 pmol / 1 µl. Kontrolní skupině byl intrahipokampálně podán samotný PBS (fosfátový pufr) v odpovídajícím objemu. Vzorky byly vyhodnocovány pomocí MS/LS.

V prvních hodinách po vyvolání ischemie v hipokampu u mláďat potkana jsme zaznamenali pokles glutamátu ~50%, zatímco u dospělých zvířat dochází k jeho nárůstu. Dále dochází k poklesu aspartátu o 25%, GABA o 80% a pyruvátu o 50%. Na druhou stranu dochází k nárůstu dopaminu o 300% a laktátu o 700%. Mimo jiné v prvních hodinách po vyvolání ischemie dochází k ~250% nárůstu leukotrienu 4 (LTB4- marker inflamatorní reakce) a 50% nárůstu prostaglandinu E2.

Důležitou roli v postischemickém poškození v nezralém mozku hrají zejména inflamatorní reakce a oxidační/nitrosativní stres.

Práce byla podpořena grantem No. P304/11/P383 a P304/14/20613S Grantové agentury České Republiky.

MŮŽE ÚZKOST VE ZVÝŠENÉM KŘÍŽOVÉM BLUDIŠTI SOUUISET S NOCICEPČNÍ CITLIVOSTÍ POTKANŮ?

Yamamotová, A., Pometlová, M., Šlamberová R., Rokyta R.

Univerzita Karlova v Praze, 3. Lékařská fakulta, Ústav normální, patologické a klinické fyziologie, Česká republika

Úvod. Z experimentů prováděných na lidech a z klinické praxe je známo, že úzkost snižuje prahy bolesti a zesiluje pociťovanou bolest. V dřívější studii jsme ukázali, že poměr pobytu v otevřeném rameni k pobytu v uzavřeném rameni zvýšeného křížového bludiště (elevated plus maze EPM) negativně koreloval s latencí na tepelný bolestivý podnět u potkaních samců. Cílem práce bylo ověřit tento vztah u dospělých potkanů prenatalně exponovaných metamfetaminu (MA).

Metodika. Experiment probíhal ve třech dnech. První den polovině zvířat byl aplikován MA (1 mg/kg s.c.), polovině fyziologický roztok (FR) a 45 minut po aplikaci byla v EPM testována úzkost. Za 48 hodin byl proveden retest v EPM bez aplikace látek a po jeho skončení jsme měřili reakci na bolest v plantar testu. Data byla hodnocena Kruskal-Wallisovým testem a korelační analýzou.

Výsledky. Nocicepční citlivost se u obou skupin zvířat nelišila na žádné testované části těla. V parametrech EPM nebyl mezi skupinami žádný rozdíl ani v prvním testu po aplikaci MA nebo FR ani v retestu bez látek, kromě počtu vstupů do uzavřeného ramene u MA zvířat v prvním testu ($p = 0,039$). U obou skupin byl v prvním testu mnohem větší rozptyl než v opakovaném testu. Ukázalo se, že při sloučení skupin a při použití párového t-testu se v opakovaném testu významně prodloužil celkový pobyt v uzavřeném rameni ($p = 0,012$) a zároveň se snížil počet vstupů do uzavřených ramen bludiště ($p = 0,0002$). Protože někteří autoři považují počet vstupů do uzavřených ramen jako nejlepší indikátor pohybové aktivity, můžeme tento nálezn interpretovat jako projev habituace v EPM, která byla u obou skupin podobná. Žádný z parametrů hodnocených v EPM nekoreloval s ukazateli nocicepce v den, kdy nocicepční test následoval po EPM. Paradoxně, u skupiny s FR citlivost předních končetin negativně korelovala s počtem vstupů do uzavřeného ramene v prvním testu ($r = -0,75$, $p = 0,03$).

Závěr. Vzhledem k tomu, že u zvířat prenatalně ovlivněných MA mizí konzistence nocicepčního systému (citlivost na různých částech těla vzájemně nekoreluje), nejsou tato zvířata vhodným modelem pro testování vztahu mezi bolestí a úzkostí.

Práce byla podpořena projektem PRVOUK P34 a grantem GAČR 14-03708S.

RANÉ ŠTÁDIÁ NARUŠENIA VÁPNIKOVEJ SIGNALIZÁCIE V PREŤAŽENÝCH MYOCYTOCH

Zahradníková jr., A., Novotová, M., Macková, K., Zahradník I., Zahradníková A.

Ústav molekulárnej fyziológie a genetiky SAV, Bratislava, Slovensko

Úvod. Narušenie vápnikovej signalizácie vo väzbe excitácie s kontrakciou (EC väzbe) kardiomyocytu je v zlyhávajúcom srdci spájané so stratou t-tubulov a vznikom tzv. osirelých jednotiek uvoľňovania vápnika. Narušenie intermolekulárnej komunikácie vápnikových kanálov sarkolemy a sarkoplazmatického retikula bolo pozorované už aj v kompenzovaných štádiách srdcovej hypertrofie. Zamerali sme sa preto na vzťah medzi vápnikovou signalizáciou a ultraštruktúrou diadických spojení v skorej fáze preťaženia myocytov v poškodenom myokarde.

Metodika. Poškodenie srdca bolo vyvolané jednorazovou aplikáciou izoproterenolu (150 mg/kg, i.p.) dospelým samcom potkanov (Wistar, 180 g). Vápnikové hroty boli zaznamenávané na izolovaných ventrikulárnych myocytoch 15 dní po intervencii pomocou indikátora Oregon Green 488 BAPTA-5N v prítomnosti EGTA kombináciou metód konfokálnej mikroskopie a "patch-clamp". Ultraštruktúru diadických spojení sme hodnotili pomocou elektrónovej mikroskopie.

Výsledky. Ultraštruktúra tubulov diadických spojení myocytov pracujúcej časti myokardu poškodených srdiec (IMI) bola rovnaká ako v kontrolnej skupine (CTR). Naproti tomu latencia vápnikových hrotov bola v IMI skupine oneskorená a desynchronizovaná v porovnaní CTR skupinou. Distribúcia latencie vápnikových hrotov vykazovala dve zložky, podobne ako časový priebeh uvoľňovania vápnika hodnotený na úrovni celej bunky. Podiel pomalej zložky uvoľňovania vápnika bol v IMI skupine blízky podielu diád s poškodeným kontaktom medzi membránami t-tubulov a cisternami sarkoplazmatického retikula.

Záver. Preťaženie myocytov pracujúcej časti poškodeného myokardu vedie k narušeniu tubulo-retikulárnych spojení diadických mikrodomén, ktoré je sprevádzané zhoršením lokálnej vápnikovej signalizácie. Redukcia tubulárneho systému a disrupcia EC väzby pozorovaná v zlyhávajúcom myokarde sa vyvíja sekundárne k narušeniu vápnikovej signalizácie.

Práca bola podporená grantami APVV-0721-10, VEGA 2/047/14 a VEGA 2/0095/15

ZMĚNY V KRÁTKODOBÉ REGULACI KREVŇÍHO TLAKU U ADOLESCENTŮ S DIABETES MELLITUS I. TYPU V POROVNÁNÍ S ADOLESCENTY S ESENCIÁLNÍ HYPERTENZÍ

Závodná, E.^{1,2}, Nováková, Z.^{1,2}, Rohanová, M.³, Šťastná, J.³, Honzíková, N.¹, Brázdová, L.⁴, Hrstková, H.^{2,3}

¹ Fyziologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno, Česká republika; ² ICRC, Fakultní nemocnice u sv. Anny, Brno, Česká republika; ³ Pediatrická klinika, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Česká republika; ⁴ Nemocnice Milosrdných bratří, Brno, Česká republika

Úvod. Cílem studie bylo stanovit vztah mezi variabilitou systolického krevního tlaku (varSTK) a variabilitou tepových intervalů (varTI) s ohledem na baroreflexní (BRS) regulaci u adolescentů s diabetes mellitus I. typu (DM-I) a esenciální hypertenzí (EH).

Metodika. Vyšetřili jsme 130 zdravých kontrol (Co), 25 adolescentů s DM-I a 16 s EH (16-20 let). U všech osob byl proveden vsedě klidový kontinuální neinvazivní záznam krevního tlaku (Finometer, regulované dýchání 0,33Hz). Byla stanovena výkonová spektra v okolí 0,1 Hz kolísání STK [mmHg^2/Hz] a TI [ms^2/Hz] a pomocí vzájemné spektrální analýzy byla vypočítána BRS [ms/mmHg]. Dále byly stanoveny limity hodnot výkonových spekter v percentilech (33,3% a 66,6%) ve skupině Co: vysoká - $\text{vSTK} \geq 103 \text{ mmHg}^2/\text{Hz}$, $\text{vTI} \geq 10600 \text{ ms}^2/\text{Hz}$, střední $103 > \text{sSTK} \geq 50$, $10600 > \text{sTI} \geq 6200$, nízká - $\text{nSTK} < 50$, $\text{nTI} < 6200$. Následně byly analyzovány vztahy mezi sledovanými skupinami osob v jednotlivých podskupinách: A(vSTK,vTI), B(sSTK,vTI), C(nSTK,vTI), D(vSTK,sTI), E(sSTK,sTI), F(nSTK,sTI), G(vSTK,nTI), H(sSTK,nTI) a I(nSTK,nTI).

Výsledky. DM-I měli v porovnání s Co významně vyšší variabilitu varSTK a varTI, ale nelišila se významně BRS. DM-I měli v porovnání s EH signifikantně vyšší varTI a BRS, ale nelišili se ve variabilitě STK. Při analýze rozložení jsme našli v porovnání s Co významně vyšší zastoupení DM-I v oblastech s vysokou varSTK a varTI, zatímco osoby s EH se koncentrovali pouze do oblastí s vysokou variabilitou STK. U DM-I a EH jsme našli významně vyšší zastoupení v podskupině A ($p < 0,05$), ve skupině G ($p < 0,01$) je významný nárůst počtu pouze osob s EH.

Závěr. V porovnání s EH adolescenty, jejichž výsledky ukazují na zvýšení sympatické aktivity, výsledky spektrální analýzy u adolescentů s DM ukazují na zvýšení jak sympatické tak parasympatické aktivity.

Práce byla podpořena grantem No. CZ.1.05/1.1.00/2.0/123

ALTERED CONTRACTILE PROPERTIES OF CONDUIT ARTERIES IN RATS WITH FRUCTOSE-INDUCED METABOLIC SYNDROME

Zemančíková, A., Török, J.

Institute of Normal and Pathological Physiology, Slovak Academy of Sciences, Bratislava, Slovakia

Introduction. High fructose intake is considered as an important factor contributing to increased incidence of metabolic syndrome and associated cardiovascular disorders in humans. At the level of vascular system it was shown that fructose feeding in experimental animals may induce increase in arterial resistance due to their impaired relaxant capacity. The aim of this study was to assess the changes in contractile properties of isolated conduit arteries from rats administered high doses of fructose.

Methods. High doses of fructose (as 10% solution replacing drinking water) were administered to 12-week-old rats (normotensive Wistar rats, Wistar rats receiving 40 mg/kg/day of N^G-nitro-L-arginine methyl ester to evoke NO deficiency, SHR - spontaneously hypertensive rats) for 8 weeks. Systolic blood pressure was measured weekly using tail-cuff plethysmography. At 20th week of age, animals of all groups were sacrificed and blood samples were taken for determination of plasma total cholesterol, glucose and triglyceride levels. Rings of isolated thoracic aorta and mesenteric artery were suspended in organ baths for the recording of isometric tension.

Results. Fructose administration induced increase in plasma lipids and glucose, elevation of blood pressure and impairment of arterial endothelium-dependent relaxation in normotensive Wistar rats and in SHR but not in hypertensive NO deficient rats, when compared to their control groups drinking just tap water. Treatment with fructose led to reduction of arterial contractile force in response to noradrenergic stimulation in SHR and also in hypertensive NO deficient rats but not in normotensive Wistar rats.

Conclusion. Our results show that deficiency of NO in rats abolished most of the abnormalities observed during fructose administration including fructose-induced impairment of endothelium-dependent relaxation in arteries. However, decrease in noradrenergic contractions in fructose-fed hypertensive rats seems to be evoked by some unknown NO-independent mechanisms.

The study was supported by grant VEGA No. 2/0188/14.

VPLYV MELATONÍNU NA MIKROCIRKULÁCIU V MOZGU KONTROLNÝCH A SPONTÁNNE HYPERTENZNÝCH POTKANOV

Židlíková, K.¹, Kuľhová, Z.¹, Tribuľová, N.², Beňová, M.², Ellinger, I.³, Zeman, M.¹

¹ Katedra živočíšnej fyziológie a etológie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava

² Ústav pre výskum srdca, SAV, Bratislava

³ Department of Pathophysiology and Allergy Research, Medical University, Vienna, Austria

Úvod. Hypertenzia je hlavným rizikovým faktorom pre cerebrovaskulárne ochorenia. Okrem prestavby steny ciev dochádza pri hypertenzii k úbytku kapilár, čo môže viesť k zvýšenej cievnej rezistencii v mozgu a poklesu jeho zásobovania kyslíkom a glukózou. Melatonín je látka s pleiotrofnými účinkami, pričom známe sú účinky predovšetkým na redukciu krvného tlaku a výrazné antioxidačné účinky. V našej práci sme sa rozhodli sledovať vplyv melatonínu na denzitu kapilár vo vybraných oblastiach mozgu u normotenzných Wistar potkanov (WKY) a spontánne hypertenzných potkanov (SHR).

Metodika. Potkany sme rozdelili do štyroch skupín: kontrolné WKY a SHR potkany a potkany ovplyvnené melatonínom (10mg/kg počas 28 dní). Sagitálne parafrínové rezy mozgov (4µm) sme farbili fluorescenčne značeným lektínom (*Fluorescein-lycopersicon esculentum lectin*), ktorý sa viaže na endotel ciev. Fluorescenčným mikroskopom Zeiss Axio Scope.A1 sme pozorovali denzitu ciev v troch oblastiach mozgu (preoptická oblasť, hippokampus a mozoček).

Výsledky. Zistili sme pokles v denzite kapilár v preoptickej oblasti po podaní melatonínu u WKY ($p=0,025$) potkanov a trend k zníženiu denzity kapilár u SHR potkanov ($p=0,13$). Podávanie melatonínu nespôsobilo signifikantné zmeny v mozočku ani v hippokampe. Rozdiely v denzite kapilár medzi WKY a SHR potkanmi sme nepozorovali.

Záver. Nezistili sme rozdiely medzi WKY a SHR potkanmi, avšak podávanie melatonínu spôsobilo pokles denzity kapilár v preoptickej oblasti u oboch analyzovaných kmeňov potkanov.

Práca bola podporená grantom APVV-0291-12.

VARIABILITA FREKVENCIE SRDCA POČAS EXPERIMENTÁLNEJ HORÚČKY INDUKOVANEJ LIPOPOLYSACHARIDOM

Žila, I., Javorka, M., Mokrá, D., Kopincová, J., Kolomazník, M., Čalkovská A.

Ústav fyziológie JLF UK, Martin, Slovensko

Úvod. Analýza variability frekvencie srdca (VFS) je senzitívny nástroj hodnotenia dynamickej rovnováhy sympatikovej a parasympatikovej nervovej aktivity. Parametre VFS sú markerom regulácie srdcovej činnosti sprostredkovanej autonómnym nervovým systémom (ANS). Akútna reakcia na endotoxémiu predstavuje nielen aktiváciu imunitných mechanizmov, ale vedie aj k zmenám aktivity ANS. Cieľom práce bolo pomocou analýzy VFS posúdiť zmeny aktivity ANS ovplyvňujúceho nielen činnosť srdca, ale aj regulačné mechanizmy akútnej protizápalovej reakcie.

Metodika. Dospelým potkanom (n=28, Wistar) v celkovej anestéze bol intraperitoneálne podaný lipopolysacharid (LPS) a v kontrolnej skupine ekvivalentný objem fyziologického roztoku. EKG bolo registrované systémom VarCorPF pred a 60, 120, 180, 240 a 300 minút po aplikácii LPS/fyziologického roztoku. Pre hodnotenie VFS bola použitá časová a frekvenčná analýza. V krvnej plazme resp. tkanivovom homogenáte boli hodnotené parametre oxidačného stresu (TBARS) a interleukín 6 (IL-6).

Výsledky. Aplikácia LPS v dávke 100 µg/kg viedla k monofázickej febrilnej reakcii. Oxidačný stres sa zvýšil u potkanov s indukovanou horúčkou - TBARS: $13,21 \pm 2,0$ vs. $6,44 \pm 2,0$ nmol/mg ($P < 0,05$) u kontrolnej skupiny. IL-6 sa zvýšil v homogenáte srdcového tkaniva u zvierat s horúčkou: $26,43 \pm 4,82$ vs. $8,04 \pm 0,64$ pg/ml ($P < 0,05$). Parametre časovej analýzy VFS (SDRR, RMSSD) sa u potkanov s LPS signifikantne nezmenili, frekvenčná analýza VFS ukázala významne znížený spektrálny výkon v pásme vysokých frekvencií (HF) u zvierat s horúčkou - logHFpower: $1,2 \pm 0,5$ vs. $1,9 \pm 0,6$ ms², $P < 0,01$) v čase 300 minút od aplikácie LPS.

Záver. Zníženie spektrálneho výkonu v HF pásme u zvierat s horúčkou svedčí pre pokles parasympatikového vplyvu na srdce. Zvýšené hladiny IL-6 v srdci poukazujú na potenciálne vyradenie inhibičného vplyvu *n.vagus* na produkciu cytokínov v akútnej fáze protizápalovej odpovede.

Podporené projektom APVV-0435-11.



Editoři neodpovídají za obsahovou a jazykovou správnost uveřejněných příspěvků.



91. Fyziologické dny podpořili:

ANIMA LAB
animal facility and laboratory equipment • animal research models

www.BioTech-Europe.eu

cardion

eppendorf

 **KRD®**

have a genius for...
GeneTiCA

 **MGP**

SIGMA-ALDRICH®

 **Velaz**