

Vranovská Ves, 17. - 19. 10. 2012

ČTYŘICET LET KOMISE EXPERIMENTÁLNÍ KARDIOLOGIE:

Odkud jsme vyšli a kam směřujeme

**40. pracovní konference
Komise experimentální kardiologie
při České a Slovenské fyziologické společnosti
ČLS JEP**



Fyziologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno

**ČTYŘICET LET KOMISE EXPERIMENTÁLNÍ KARDIOLOGIE:
Odkud jsme vyšli a kam směřujeme**

**Editor:
prof. MUDr. Marie Nováková, PhD.**

**Technický editor:
Tibor Stračina**

**Recenzent:
prof. MUDr. Pavel Bravený, CSc.**

**Fyziologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno
Portál MEFANET**

**Brno 2012
ISSN**

Komise experimentální kardiologie sdružuje od svého vzniku v roce 1972 odborníky zabývající se kardiovaskulární problematikou. V současnosti je jednou z pracovních skupin při České a Slovenské fyziologické společnosti ČLS JEP a na svých pravidelných zasedáních poskytuje možnost věnovat se srdečně-cévní soustavě od úrovně subcelulární až po úroveň klinickou. Představuje platformu sdružující odborníky z širokého spektra vědních disciplín – od morfologů po kardiochirurgy.

Ačkoliv Komise experimentální kardiologie vznikla před čtyřmi desetiletími jako určitá forma vědeckého disentu, přežila všechny peripetie politické, společenské i odborné, a v letošním roce tak oslavila již významné životní jubileum. Všechna uplynulá setkání této pracovní skupiny byla vždy zaměřená monotematicky. Z přehledu minulých konferencí jsme si uvědomili, že některá témata byla – obzvláště v některých obdobích – nosná, a proto se pravidelně opakovala.

Rozhodli jsme se tedy uspořádat 40. setkání pod názvem „**Čtyřicet let Komise experimentální kardiologie: Odkud jsme vyšli a kam směřujeme**“ v netypické podobě – jako přehled nejzávažnějších témat, která v minulosti na setkáních Komise experimentální kardiologie zazněla i toho, co je v současnosti aktuální. V každé ze čtyř sekcí byli zastoupeni na straně jedné zkušení renomovaní vědci, namnoze tradiční účastníci pracovních setkání Komise experimentální kardiologie s přehledovými referáty, na straně druhé mladí, nadějní kolegové, s kratšími sděleními. Konference byla rozdělena do čtyř sekcí: Od elektrofyzologie srdeční buňky k arytmiím, Mechanika srdeční čili Příběh vápníku již uzavřený?, Metabolismus srdce a ischemicko-reperfúzní poškození, a Regulace v kardiovaskulárním systému a jejich poruchy.

Setkání Komise experimentální kardiologie byla v minulosti hojně navštěvovaná, ovšem účast více než sedmdesáti, většinou aktivních, prezentujících na letošní konferenci předčila všechna naše očekávání a bezpochyby přispěla ke skvělé vědecké i společenské atmosféře 40. pracovního zasedání. Je také jasným důkazem, že i v době, kdy není problém zúčastnit se odborné akce v zahraničí, je možnost diskutovat své výsledky v neformální, plodné atmosféře stále atraktivní.

Organizátoři konference z Fyziologického ústavu Lékařské fakulty Masarykovy Univerzity v Brně věří, že 40. setkání splnilo očekávání všech zúčastněných a dovolují si popřát Komisi experimentální kardiologie ještě spoustu dalších, úspěšných pracovních setkání a mnoho příznivců.

Za organizační výbor 40. pracovní konference

Marie Nováková

Program konference:

Středa 17. října 2012

- 12:00 Registrace
- 14:30 Zahájení konference – P. Bravený, B. Ošťádal
- 15:00 – 17:00 **Sekce I. Metabolismus srdce a ischemicko-reperfúzní poškození**
Předsedají: T. Ravingerová, F. Kolář, A. Ziegelhöffer
- 15:00 – 15:20 B. Ošťádal: Protekce ischemického myokardu - historie, současnost a perspektivy
- 15:20 – 15:40 A. Ziegelhöffer: Bunková energetika myokardu v norme a patologii
- 15:40 – 16:00 T. Ravingerová: Regulácia génov zapojených do metabolismu ischemického myokardu: paradoxy experimentálnych štúdií
- 16:00 – 16:15 J. Styk: Patomechanizmus reperfúzneho poškodenia srdca
- 16:15 – 16:30 Přestávka
- 16:30 – 16:40 M. Ferko: Biofyzikálna remodelácia membrán - prostriedok na reguláciu funkcií mitochondrií srdca za rôznych patologických podmienok
- 16:40 – 16:50 S. Čarnická: Protektívne účinky kyseliny pirinixovej na ischemicko-reperfúzne poškodenie v srdci potkana: úloha dráhy PI3K/Akt a voľných kyslíkových radikálov
- 16:50 – 17:00 K. Slámová: Úloha AMP kinázy v ischemické toleranci stárnoucího srdce; vliv vysokotukové diety
- 17:00 – 19:00 **Posterová sekce**
Předsedající: M. Nováková
- 19:00 Večeře
- 20:00 Příprava 41. konference KEK - společné zasedání českého a slovenského výboru

Čtvrtek 18. října 2012

- 8:30 – 10:30 **Sekce II. Od elektrofyzologie srdeční buňky k arytmiím**
Předsedají: M. Štengl, P. Pučelík
- 8:30 – 8:50 P. Pučelík: Postnatální ontogeneze akčního napětí savců v historických souvislostech
- 8:50 – 9:10 I. Zahradník: Vázba excitácie s kontrakciou z hľadiska vápnikovej signalizácie
- 9:10 – 9:30 M. Bébarová: Genetický podklad Brugada syndromu: od různorodých dysfunkcí iontových kanálů k jednotnému klinickému obrazu
- 9:30 – 9:50 T. Novotný: Varianty genů pro iontové kanály myokardu ve vztahu k arytmiím jak u monogenních arytmiických syndromů, tak v běžné populaci
- 9:50 – 10:10 M. Novák: Srdeční elektrofyzologie a trvalá kardiostimulace v zrcadle času
- 10:10 – 10:30 L. Nalos: Ik1 a srdeční arytmie
- 10:30 – 11:00 Přestávka
- 11:00 – 13:00 **Sekce III. Mechanika srdeční čili Příběh vápníku již uzavřený?**
Předsedají: M. Adamcová, P. Bravený

- 11:00 – 11:20 P. Pučelík: Ontogenetické aspekty kontraktility myokardu na buněčné úrovni. Náš vklad a současně minireview
- 11:20 – 11:40 M. Pásek: Nové aspekty funkce srdečních t-tubulů
- 11:40 – 12:00 A. Zahradníková: Regulácia aktivity ryanodinového receptora
- 12:00 – 12:20 A. Adameová: Úloha CaMKII v regulácii činnosti srdca za fyziologických a patologických podmienok
- 12:20 – 12:40 M. Máťuš: TRPC kanály a hypertrofia myokardu
- 12:40 – 13:00 J. Vítovec: Pozitivně inotropní látky, fakta a mýty
- 13:00 Oběd
- 14:00 Odpolední program (alternativy: pěší turistika v okolí, výlet autem do Znojma, do Vranova nad Dyjí, jiný individuální program – v případě potřeby vám poradí a pomohou zaměstnanci hotelu)
- 15:00 Prohlídka hradu Bítov
- 19:00 Společenský večer s vínem

Pátek 19. října 2012

- 9:00 – 11:20 **Sekce IV. Regulace v kardiovaskulárním systému a jejich poruchy**
Předsedají: J. Styk, Z. Nováková
- 9:00 – 9:20 J. Novotný: Regulace srdeční funkce prostřednictvím receptorů spřažených s G-proteiny
- 9:20 – 9:40 Z. Nováková: Od první spektrální analýzy variability krevního tlaku po současnost - přínos Fyziologického ústavu LF MU v Brně
- 9:40 – 9:50 J. Vlkovičová: Pohlavné rozdiely v regulácii transportu sodíka z buniek v srdci SHR
- 9:50 – 10:00 V. Ledvényiová: Vplyv pohlavia a veku na účinnosť ischemického preconditioningu v srdci potkana: Rozdielna úloha P13K/AKT dráh
- 10:00 – 10:30 Přestávka
- 10:30 – 10:50 M. Kopeček: Fotoakustické zobrazovací platformy pro preklinický výzkum a In Vivo experimentální kardiologii
- 10:50 – 11:10 P. Kružliak: Nové perspektívy donorov NO v liečbe srdcovej zástavy a kardiopulmonálnej resuscitácii
- 11:10 – 11:20 K. Frimmel: Vplyv podávania omega-3 mastných kyselín na zmeny expresie CX40 v aorte potkana vyvolané lipopolysacharidom
- 11:20 - 11:45 Ukončení konference
- 12:00 Oběd

Posterová sekce

1. Chytilová A., Borchert G., Kolář F., Neckář J.: Úloha TNF alfa ve zvýšené ischemické toleranci srdcí chronicky hypoxických potkanů.
2. Janoušek O., Kolářová J., Ronzhina M., Nováková M., Provazník I.: Parametry optického akčního napětí během ischemie.
3. Jirkovský E., Popelová O., Hroch M., Vávrová A., Adamcová M., Mičuda S., Šimůnek T., Geršl V., Štěrba M.: Chronická antracyklinová kardiotoxicita a vliv schématu podávání dexrazoxanu na kardioprotektivní účinnost u králíka.
4. Kašparová D., Neckář J., Novotný J., Kolář F., Žurmanová J.: Protektivní režimy adaptace na chronickou hypoxii zvyšují expresi antioxidantů v myokardu potkana.
5. Kolářová J., Nováková M., Provazník I., Janoušek O., Ronzhina M., Veselý P., Olejníčková V.: Záznamy elektrogramů a akčních potenciálů v průběhu opakované ischemie - databáze signálů.
6. Lábrová R., Špinar J., Kaňovský J., Lokaj P.: Lze stanovením rizikových faktorů a dynamiky biomarkerů odhadnout úspěšnou léčbu pacientů s fibrilací síní?
7. Lacinová Ľ., Karmažínová M., Jurkovičová-Tarabová B., Duburs G. Cerebrocrast – perspektivní blokátor vápníkových kanálů?
8. Leinveber P., Halámek J., Cimbálník J., Veselý P., Jurák P.: Vliv frekvence dýchání na vyhodnocení baroreflexní sensitivity.
9. Lenčová-Popelová O., Jirkovský E., Mazurová Y., Adamcová M., Geršl V., Štěrba M.: Myokardiální remodelace u chronické antracyklinové kardiotoxicity a analýza vývoje při následném sledování změn po ukončené expozici.
10. Mandíková P., Chytilová A., Mičová P., Kožichová K., Dambrowská L., Mikšík I., Kolář F., Neckář J.: Vliv molsidominu a sildenafilu na ischemickou toleranci srdcí chronicky hypoxických potkanů.
11. Molčan E., A. Veselá, M. Zeman: Meranie kardiovaskulárnych parametrov potkana v dlhodobých fyziologických experimentoch za použitia radiotelemetrie.
12. Nemčeková M., Čarnická S., Matejíková J., Pancza D., Ravingerová T.: Vzťah medzi aktiváciou mitochondriálnych KATP kanálov a kyselinou pirinixinovou v izolovanom srdci potkana.
13. Němečková I., Kudláčková Z., Štěrba M., Lenčová-Popelová O., Nachtigal P.: Vliv sunitinibu na cévní endotel v aortě normotenzních a hypertenzních potkanů - pilotní studie.
14. Novák J., Závodná E., Nováková Z.: Vliv polymorfismu v genu pro aldosteronsyntázu na krátkodobou variabilitu srdeční frekvence a citlivost baroreflexu u mladých osob.
15. Ondrušová K., Nováková M., Nováková Z., Moudr J., Honzíková N.: Evaluation of orthostatic hypotension and autonomous dysbalance in patients after cervical spinal cord injury.

16. Ronzhina M., Janoušek O., Kolářová J., Nováková M., Provazník I.: Použití kumulantů vyšších řádů pro klasifikaci srdečních cyklů.
17. Stračina T., Nováková M., Masařík M.: Vliv dlouhodobé aplikace haloperidolu na elektrogram izolovaného srdce a expresi sigma 1 receptoru a IP3 receptorů u morčete.
18. Vávrová A., Roh J., Hrušková K., Tichotová L., Jansová H., Šimůnek T.: Otevřené analogy ADR-925 nejsou schopny ochránit izolované neonatální kardiomyocyty před poškozením navozeným antracyklinovými antibiotiky.
19. Zálešák M., Blažíček P., Pancza D., Ledvényiová V., Nemčková M., Čárnická S., Ziegelhöffer A., Ravingerová T.: Koncentrácia srdcového proteínu viažuceho mastné kyseliny (H-FABP) v perfuzáte z izolovaného srdca potkana jako ukazovateľ závažnosti ischemicko-reperfúzneho poškodenia myokardu.
20. Závodná E., Nováková Z., Honzíková N., Svačinová J., Budinskaya K., Šťastná J., Hrstková H.: Srdeční interval jako „matoucí“ proměnná ve stanovení vývoje kardiovaskulárních parametrů u dětí a dospívajících.

ABSTRAKTA

CAMKII V REGULÁCII ČINNOSTI SRDCA ZA FYZIOLOGICKÝCH A PATOLOGICKÝCH PODMIENOK

Adameová A¹, T. Rajtík¹, A. Szobi¹, S. Čarnická², I. Bernátová³, T. Ravingerová²

*¹ Katedra farmakológie a toxikológie FaFUK, ² Ústav pre výskum srdca SAV, ³ Ústav
normálnej a patologickej fyziológie SAV*

Ca²⁺/kalmodulín-dependentná proteínkináza II (CaMKIIδ) je v súčasnosti považovaná za kritický proteín podieľajúci sa na regulácii vápnikovej homeostázy a na bunkových procesoch závislých na koncentrácií intracelulárneho vápnika, vrátane excitačno-kontrakčného prepojenia, bunkového rastu a smrti. Popri všeobecne akceptovanej signálnej dráhe cez beta-adrenergne receptory, reaktívne formy kyslíka generované s NADPH oxidázou po stimulácii AT1 receptorov môžu taktiež signifikantne prispieť k aktivácii CaMKIIδ. Keďže mnohé kardiálne ochorenia, vrátane tých, ktoré sú sprevádzané s fenoménom ischemicko-reperfúzneho poškodenia, sú asociované s oxidačným stresom, nadmerná aktivácia CaMKIIδ a následných proteínov Ca²⁺ hospodárenia (LTCC, RyR) sa zdá byť jednou z kľúčových udalostí zodpovedných za fenotypy kardiálneho poškodenia. Na druhej strane bolo navrhnuté, že CaMKIIδ-sprostredkovaná fosforylácia fosfolambánu (PLN^{Thr17}) vedúca k poklesu intracelulárnej hladiny Ca²⁺ môže prispieť k oslabeniu post-ischemickej kontraktúry. Experimentálna evidencia tiež ukázala, že zvýšená transkripcia CaMKIIδ počas ischémie a reperfúzie je asociovaná nielen s poruchami kontraktility ale aj s genézou závažných ventrikulárnych dysrytmií. Na druhej strane, farmakologická inhibícia CaMKII viedla k zmierneniu fenotypov ischemicko-reperfúzneho poškodenia ako aj oxidačného stresu, naznačujúc jeho dôležitú úlohu pri aktivácii CaMKII δ a dejov na CaMKIIδ-závislých. Rovnako množstvo sodíkovo-vápnikového výmenníka (NCX1), ale nie L-typ vápnikových kanálov, sarkolemálnych Ca²⁺ proteínov, ktoré sa podieľajú na destabilizácii akčného potenciálu, bolo v dôsledku CaMKII inhibície normalizované. Uvedené výsledky naznačili priamy vzťah medzi oxidačným stresom a ischémou vyvolanými poruchami funkcie srdca, v ktorom CaMKIIδ sa zdá mať centrálnu úlohu.

Podporené s VEGA 1/0638/12 and 2/0054/11, APVV-0523-10, APVV- 0102-11.

GENETICKÝ PODKLAD BRUGADOVA SYNDROMU: OD RŮZNORODÝCH DYSFUNKCÍ IONTOVÝCH KANÁLŮ K JEDNOTNÉMU KLINICKÉMU OBRAZU

Markéta Bébarová

Fyziologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Kamenice 5, 625 00 Brno

Brugadův syndrom (BrS), poprvé popsáný v roce 1992, je druhým nejčastějším dědičným arytmogenním syndromem. Vyznačuje se elevací úseku ST na EKG záznamu z pravého prekordia pacientů bez makroskopicky patrného narušení struktury srdeční tkáně.

V roce 1998 byly u pacientů s BrS identifikovány první mutace, jmenovitě v genu *SCN5A* kódujícím strukturu α -podjednotky srdečního Na^+ kanálu. Funkčně se tyto mutace projevují snížením až nepřítomností Na^+ proudu I_{Na} . Mutace v genu *SCN5A* však lze nalézt pouze u zhruba jedné třetiny pacientů s BrS. Až v roce 2007 byly u pacientů s BrS detekovány první mutace v jiných genech, a to v genu *GPD1L* podílejícím se na regulaci funkce I_{Na} -kanálů a také v genech kódujících strukturu podjednotek Ca^{2+} kanálu typu L (*CACNA1C* a *CACNB2b*), které vedly ke snížení proudu tekoucího těmito kanály ($I_{\text{Ca-L}}$). V následujících letech počet genů asociovaných s BrS prudce narostl. Kromě mutací snižujících funkci kanálů vedoucích depolarizační proudy I_{Na} (*SCN1B*, *SCN3B* a *MOG1*) a $I_{\text{Ca-L}}$ (*CACNA2D1*) se objevily i první mutace navyšující funkci kanálů vedoucích depolarizační K^+ proudy, konkrétně přechodný proud z buňky I_{to} (*KCNE3*, *KCNE2*, *KCNE5* a *KCND3*), rychlou složku zpožděného proudu z buňky I_{Kr} (*KCNH2*) a proud citlivý na ATP $I_{\text{K(ATP)}}$ (*KCNJ8*).

Postupně byly formulovány tři hypotézy popisující mechanismus vzniku arytmogenního substrátu u BrS. Všechny pochází z doby, kdy jedinými uvažovanými mutacemi byly mutace v genu *SCN5A* a jsou tedy postaveny na primárním snížení I_{Na} . Repolarizační hypotéza vychází z transmurálního a subepikardiálního rozptylu repolarizace vzniklého v důsledku mutací navozeného poklesu depolarizačního I_{Na} a výsledné funkční převahy depolarizačního I_{to} v subepikardu. Depolarizační hypotéza naopak zdůrazňuje primární roli zpomalení vedení vzruchu a z toho plynoucí opožděné depolarizace výtokového traktu pravé komory. Třetí hypotéza pak považuje za klíčový moment blokádu vedení vzruchu na úrovni subepikardu (opět v důsledku převahy I_{to} nad I_{Na}). Zastánci jednotlivých hypotéz, zejména hypotézy repolarizační a depolarizační, vedou již řadu let diskusi o tom, která z nich je správná. Když vezmeme v úvahu různorodost dysfunkcí iontových kanálů v současné době spjatých s BrS, vyvstává otázka, zda vůbec lze ustanovit jednotnou hypotézu vzniku arytmogenního substrátu u BrS, a to navíc takovou, kde budou jednoznačnou primární roli hrát izolované změny depolarizace či naopak repolarizace.

PROTEKTÍVNE ÚČINKY KYSELINY PIRINIXOVEJ NA ISCHEMICKO- REPERFÚZNE POŠKODENIE V SRDCI POTKANA: ÚLOHA DRÁHY PI3K/AKT A VOĽNÝCH KYSLÍKOVÝCH RADIKÁLOV

S. Čarnická¹, M. Nemčeková¹, M. Ferko¹, A. Lazou², T. Ravingerová¹

*¹Ústav pre výskum srdca SAV, CE SAV NOREG, Bratislava; ²School of Biology, Aristotle
University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece.*

Receptory aktivované proliferátormi peroxizómov (PPAR) sú ligandom aktivované transkripčné faktory. Niektoré práce naznačujú, že účinky agonistov PPAR sú podobné preconditioningu a môžu súvisieť s aktiváciou signálnej dráhy fosfatidylinozitol 3-kinázy/Akt (PI3K/Akt). Cieľom práce bolo porovnať účinky selektívneho agonistu PPAR α receptorov kyseliny pirinixovej (WY 14643) a/alebo súčasnej inhibície dráhy PI3K/Akt počas ischémie a reperfúzie (IR) v izolovanom srdci potkana perfundovanom podľa Langendorffa. Normocholesterolemické potkany kmeňa Wistar boli rozdelené do štyroch skupín: skupina premedikovaná WY14643 (WYC), skupina premedikovaná WY 14643 a súčasne selektívnym inhibítorom PI3K/Akt Wortmanninom (WYW), kontrolná skupina ovplyvnená (CW) a neovplyvnená Wortmanninom (C). WY bol podávaný po dobu 5-tich dní (3mg/kg/day, p.o.). Wortmannin bol podávaný ako súčasť perfúzneho roztoku 15 min pred ischémiou (100 nM). Experimentálny protokol pozostával z 20-min stabilizácie, 30-min globálnej ischémie a 2-h reperfúzie. Sledovanými parametrami boli postischemické obnovenie kontraktilnej funkcie myokardu (tlaku vyvinutého ľavou komorou, LVDP - rozdiel systolického a diastolického tlaku) a veľkosť zóny infarktu (v % z plochy ľavej komory). Vzorky určené na meranie génovej expresie PPAR α (RT-PCR) a hladín konjugovaných diénov (CD) boli odoberané pred ischémiou a po 40-min reperfúzií. Obnovenie LVDP sa signifikantne zlepšilo v skupine WYC (LVDP 50 ± 10 % vs. 25 ± 4 % v skupine C, $P < 0.05$). Rozsah infarktovej zóny bol signifikantne zmenšený v skupine WYC (20 ± 3 % vs. 42 ± 1 % u C, $P < 0.05$). Podávanie W, ktoré neovplyvnilo sledované parametre u neliečených potkanov, znížilo obnovenie LVDP v skupine potkanov liečených WY 14643 na úroveň kontrol (LVDP 24 ± 4 % vs. 25 ± 4 % u C, $P > 0.05$) a zvýšilo rozsah letálnych zmien v myokarde (veľkosť infarktu 29 ± 5 %, $P < 0.05$ vs. WYC). Hladiny PPAR α mRNA boli v priebehu IR signifikantne zvýšené v skupine WYC na rozdiel od ich downregulácie v skupine C. Zvýšené hladiny CD v skupine WYC v myokarde ľavej komory pred ischémiou boli po IR signifikantne nižšie v porovnaní s C. Kardioprotektívne a antioxidačné účinky aktivácie PPAR α sú pravdepodobne z časti sprostredkované aktiváciou dráhy PI3K/Akt.

VEGA-SR 2/0054/11, 2/0101/12, APVV-LPP-0393-09, APVV-0102-11.

BIOFYZIKÁLNA REMODELÁCIA MEMBRÁN - PROSTRIEDOK NA REGULÁCIU FUNKCIÍ MITOCHONDRIÍ SRDCA ZA RÔZNYCH PATOLOGICKÝCH PODMIENOK

*Ferko M., Mujkošová J., Waczulíková I.², Muráriková M., Kancírová I., Jašová M.,
Ravingerová T., Ziegelhöffner A.*

*Ústav pre výskum srdca SAV, Centrum excelentnosti NOREG, Bratislava, ²Katedra jadrovej
fyziky a biofyziky, Fakulta matematiky, fyziky a informatiky, Univerzita Komenského,
Bratislava*

Úvod: Patologické impulzy vyvolávajú v myokarde početné zmeny, ktoré sa prvotne všetky javia ako odchýlky od normy, teda negatívne. Avšak, súčasne s patologickými procesmi spúšťajú samotné chorobné podnety, aj zmeny o ktorých sa neskôr ukázalo, že majú protektívny charakter čiže patria k mechanizmu endogénnej ochrany (EOM). Cieľom bolo zistiť, či sa diabetom vyvolaná adaptačná remodelácia membrán prejaví aj v zmene membránovej fluidity (MF) srdcových mitochondrií (MIT) a či sa očakávané zmeny MF odrazia aj v aktivite MIT Mg^{2+} -ATPázy a to aj v situácii, keď je srdce s akútnym diabetom (DM) podrobené ischemicko-reperfúznemu poškodeniu (IRP). Experiment: Potkany Wistar, samce, 10 – 12 týždňov, 280 ± 20 g, akútny 8-dňový DM vyvolaný jednorazovým i.p. podaním 65 mg.kg^{-1} streptozotocínu. Experimentálny protokol: 15 min stabilizovaná perfúzia (SP), 30 min globálna ischemia, 40 min postischemická reperfúzia.

Výsledky: Ischemia vyvolala pokles aktivity Mg^{2+} -ATPázy v oboch skupinách na približne rovnakú hodnotu. Reperfúzia u kontrolných srdc (KS) vyvolala ďalší pokles aktivity enzýmu, u diabetických (DS) sa naopak aktivita enzýmu zvýšila ($p < 0,05$), dokonca mierne nad úroveň východiskovej hodnoty po SP. Poukazuje to na väčšiu schopnosť zotavovania v DS. Východiskové hodnoty po SP ukázali, že mitochondriové membrány z DS boli fluidnejšie ako membrány z KS. Ischemia spôsobila štatisticky významné stúpnutie fluorescenčnej anizotropie ($p < 0,05$), čiže pokles MF v obidvoch skupinách na približne rovnakú číselnú hodnotu. Reperfúzia spôsobila ďalší pokles MF u KS, zatiaľ čo u DS sa hodnota MF už nezmenila. V DIA skupine sa funkčné parametre srdca, MF srdcových mitochondrií, ako aj aktivita MIT Mg^{2+} -ATPázy počas postischemickej reperfúzie významne zlepšovali ($p < 0,05$), zatiaľ čo v skupine kontrolných srdc postischemická reperfúzia skúmané parametre nezlepšovala. Naše nálezy potvrdili pozitívnu účasť biofyzikálnej/chemickej remodelácie membrán srdcových MIT na EOM, ktoré vyvolali v DS čiastkovú adaptáciu na ischemicko – reperfúzne poškodenie. *Granty: VEGA: 2/0101/12, 2/0054/11, APVV-0102-11*

VPLYV PODÁVANIA OMEGA-3 MASTNÝCH KYSELÍN NA ZMENY EXPRESIE CX40 V AORTE POTKANA VYVOLANÉ LIPOPOLYSACHARIDOM

K. Frimmel¹, R. Sotníková², J. Navarová², I. Bernátová³, P. Weissman⁴,
L. Okruhlicová¹.

¹ Ústav pre výskum srdca, ² Ústav experimentálnej farmakológie a toxikológie, ³ Ústav normálnej a patologickej fyziológie, SAV, ⁴ Lekárska fakulta, UK, Bratislava, SR.

Komunikačné spojenia tvorené konexínmi (Cx) majú dôležitú úlohu v udržiavaní bunkovej homeostázy. Ich úlohou je transport nízkomolekulových látok a vedenie elektrických vzruchov priamo medzi bunkami. V cievnej stene sú exprimované štyri typy Cx izoforiem Cx37, Cx40, Cx43 a Cx45. Viaceré štúdie poukazujú na zmeny expresie Cx v malých cievach a bunkových kultúrach endotelu počas bakteriami vyvolaného zápalu, jedného z rizikových faktorov kardiovaskulárnych ochorení. Preto sme sledovali vplyv lipopolysacharidu (LPS) na expresiu Cx40 v aorte potkana. Ω -3 mastné kyseliny (MK) sú známe svojimi protizápalovými a kardioprotektívnymi účinkami. Skúmali sme preto vplyv MK podávaných po aplikácii LPS, na expresiu Cx40. V 10-dňovom experimente sme použili potkanov kmeňa Wistar v štyroch skupinách: Kontroly, MK, LPS a LPS+MK. LPS bol aplikovaný jednorazovou dávkou 1 mg/kg. MK boli podávané v dávke 30mg/kg/deň. Stanovovali sme celkovú expresiu Cx40 v tkanive aorty metódou Western blot (WB). Priestorovú expresiu Cx40 sme sledovali imunofluorescenčnou (IF) metódou a morфометrickou analýzou obrazu. Sledovali sme i niektoré funkčné a biochemické parametre. Na 10. deň po aplikácii LPS vzrástli hladiny CRP (C-reaktívneho proteínu) markera zápalu, hladiny MDA (malondialdehydu) markera oxidačného stresu a zvýšenú aktivitu enzýmu NAGA (beta-N-acetylglukozamidáza) markera poškodenia buniek. V zápalovej skupine bola tiež zvýšená aktivita enzýmov NO-syntáz v aorte a zhoršená jej relaxačná odpoveď závislá od NO. LPS zvyšoval celkovú expresiu Cx40. Distribúcia Cx40 v aorte vykazovala vyšší nárast expresie Cx40 v endoteli aorty než v médii. LPS redukoval plochu pozorovaných plakov za súčasného zvýšenia celkovej plochy IF reakcie. MK počas zápalu normalizovali hladiny CRP, MDA a aktivitu NAGA. MK nevplývali na relaxačnú odpoveď aorty, ale zvyšovali aktivitu enzýmov NOS. Analýzami WB a IF sme pozorovali redukovanú expresiu Cx40 v porovnaní s LPS skupinou. Výsledky ukazujú, že už 10-dňové podávanie MK počas zápalu má čiastočný protizápalový účinok, ktorý ovplyvňuje expresiu Cx40 v endoteli aorty potkana. To naznačuje že Cx40 môže byť zahrnutý v protektívnych účinkoch MK. *Podporené VEGA 2/0108/10.*

PARAMETRY OPTICKY ZAZNAMENANÉHO AKČNÍHO NAPĚTÍ BĚHEM ISCHEMIE

Oto Janoušek^{1,2}, Marina Ronzhina^{1,2}, Jana Kolářová^{1,2}, Marie Nováková^{2,3}, Ivo Provazník^{1,2}

*¹Ústav biomedicínského inženýrství, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií,
Vysoké učení technické v Brně, Brno*

*²Centrum biomedicínského inženýrství, Mezinárodní centrum klinického výzkumu, Fakultní
nemocnice u sv. Anny v Brně, Brno*

³Fyziologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno

Úvod

Elektrická aktivita srdečních buněk vyjádřená akčním napětím může být zaznamenávána bezdotykově optickou metodou. Změny optického akčního napětí jsou sledovány v průběhu opakované ischemie i v průběhu opakovaných reperfuzí. Uvedené změny lze kvantifikovat pomocí parametrů a sledovat, zda jsou statisticky významné a zda je možné kvantifikované změny použít jako věrohodné ukazatele ischemie.

Metoda

Časový průběh akčního napětí byl zaznamenán optickou metodou s použitím napěťově citlivého barviva di-4-ANEPPS během opakované globální ischemie z povrchu izolovaného zvířecího srdce. Z více než 100 000 záznamů akčního napětí byly vyhodnoceny základní parametry akčního napětí: maximální rychlost depolarizační fáze, výška akčního napětí a doba trvání akčního napětí. Parametry akčního napětí z kontrolní, ischemické a reperfuzní fáze experimentu byly statisticky srovnány pomocí analýzy rozptylu a testu mnohonásobného porovnání.

Výsledky a závěr

Maximální rychlost depolarizační fáze akčního napětí vykazuje statisticky významný rozdíl hodnot mezi jednotlivými fázemi. Proto může maximální rychlost depolarizační fáze akčního napětí sloužit jako významný parametr pro detekci ischemie.

Tato práce vznikla za podpory grantů GACR 102/09/H083, GAP102/12/2034 a MUNI/A/0846/2011.

CHRONICKÁ ANTRACYKLINOVÁ KARDIOTOXICITA A VLIV SCHÉMATU PODÁVÁNÍ DEXRAZOXANU NA KARDIOPROTEKTIVNÍ ÚČINNOST U KRÁLÍKA

*Jirkovský Eduard¹, Popelová Olga¹, Hroch Miloš¹, Vávrová Anna², Adamcová Michaela²,
Mičuda Stanislav¹, Šimůnek Tomáš², Geršl Vladimír¹, Štěrba Martin¹*

*Ústav farmakologie¹ a Ústav fyziologie², Lékařská fakulta v Hradci Králové; Katedra
biochemických věd², Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova v Praze*

Chronická antracyklinová (ANT) kardiotoxicita významně komplikuje léčbu ANT antibiotiky a může mít i negativní vliv na dlouhodobé přežití pacientů. Dexrazoxan (DEX), který je jediným kardioprotektivem schváleným pro užití v klinické praxi, je schopen riziko ANT kardiotoxicity omezit, avšak jeho užití je v současnosti doporučeno až po překročení kumulativní dávky ANT 300 mg/m². Cílem této studie proto bylo porovnat kardioprotektivní účinnost DEX při podání od 1. dávky ANT a při podání od doporučené dávky ANT. Chronická ANT kardiotoxicita byla navozena u králíka daunorubicinem (DAU, 3 mg/kg týdně, *i.v.*, 1x po 10 týdnů). Kardioprotektivní účinek DEX (60 mg/kg, 30 min před DAU) byl studován při podávání od 1. dávky DAU (DD₁) nebo od 7. dávky (DAU ~300 mg/m², DD₇). Týden po poslední dávce DAU byla zvířata z každé skupiny randomizována a část ukončena, zatímco druhá část byla sledována dalších 11 týdnů („*follow up*“ – FU). Všechna zvířata dostávající DEX dožila konce plánované studie narozdíl od zvířat, kterým byl podáván pouze samotný DAU (zde se konce podávání ANT dožilo 80 % a konce FU pouze 20 % zvířat). Systolická srdeční funkce byla kompletně zachována u skupiny DD₁ na konci podání i při následném sledování zvířat, zatímco u skupiny DD₇ byl v obou obdobích zaznamenán signifikantní pokles. V porovnání s DD₁ byly také u skupiny DD₇ zvýšeny koncentrace troponinu T v plazmě, a to i v období FU. Podání DEX nemělo významný vliv na DAU-indukovaný nárůst lipoperoxidace v myokardu na konci podávání léčiv, nicméně významně nižší hodnoty markeru lipoperoxidace byly zjištěny v DD₁ skupině ve FU. Signifikantní rozdíl mezi oběma schémata podání DEX byl zjištěn i v protekci před DAU navozenými změnami exprese MnSOD, HO-1 a desminu v myokardu levé komory. Tyto výsledky naznačují, že podání DEX od doporučené kumulativní dávky DAU je schopno navodit významnou, avšak pouze parciální kardioprotekci v porovnání s podáním DEX od první dávky ANT. *Práce vznikla za podpory grantu GAČR 305/09/0416, IGA NT13457-4/2012a SVV 264901/2012.*

LZE STANOVENÍM RIZIKOVÝCH FAKTORŮ A DYNAMIKY BIOMARKERŮ ODHADNOUT ÚSPĚŠNOU LÉČBU PACIENTŮ S FIBRILACÍ SÍNÍ?

Lábrová R, Špinar J, Kaňovský J, Lokaj P.

Interní kardiologická klinika LF MU a FN Brno

Úvod: Fibrilace síní (FS) je nejčastější srdeční arytmií a její incidence stále roste. Je spojena se zvýšenou morbiditou a mortalitou, na které se podílí řada rizikových faktorů.

Metodika: Na čtyřech kardiologických pracovištích bylo od 2/2007 do 6/2008 hospitalizováno 845 pacientů s některou formou FS – první záchyt arytmie, paroxysmální, perzistentní a permanentní. FS byla řešena farmakologicky, invazivně-katétrovou ablací nebo byla ponechána jako základní rytmus.

Soubor pacientů a výsledky: Z 845 hospitalizovaných pacientů bylo téměř 2x více mužů než žen (541 mužů-64,1%), medián věku byl 68 roků (49-84). Ženy byly statisticky významně starší než muži, medián věku 71 vs 66 let ($p<0,001$). FS jako hlavní diagnóza byla u 52,2 % a FS jako vedlejší diagnóza u 47,3 %. Pacienti přijatí s FS jako hlavní diagnózou byli statisticky významně častěji bez organického postižení srdce 44,1 % vs 13,5 % u pacientů s FS jako vedlejší diagnózou ($p<0,001$). Procentuální zastoupení v rámci hlavní a vedlejší diagnózy: 3,2% vs 3,0% první záchyt FS, 49,4% vs 30,8% paroxysmální, 16,7% vs 18,2% perzistentní, 30,5% vs 47,8% permanentní ($p<0,001$). Pacienti s FS jako hlavní diagnózou měli méně přítomné komorbidity – ICHS (16,5% vs 53,2%), kardiomyopatie (9,5% vs 23,6%), hypertenze (21,4% vs 71,9%), diabetes mellitus (7,1% vs 33,3%), prodělané CMP a TIA (1,4% vs 10,6%). Z krevních odběrů byla u FS jako hlavní diagnózy ve srovnání s vedlejší diagnózou významně nižší urea 6,1 vs 9,3 mmol/l ($p<0,001$), kreatinin 89,4 vs 110,2 μ mol/l ($p<0,001$), NT-pro BNP 77,7 vs 175,5 pmol/l ($p=0,024$) i CRP 7,3 vs 9,2 mg/l ($p=0,285$); dle echo srdce byla vyšší EF levé komory 55,2 % vs 46,1 % ($p<0,001$), LK diastola 51,5 vs 54,1 mm ($p<0,001$), LK septum 10,9 vs 11,7 mm a menší příčný rozměr levé síně 45,1 mm vs 49,0 mm ($p<0,001$). U pacientů s neúspěšně léčenou FS v průběhu ročního sledování bylo statisticky významné zvýšení CRP i NT-proBNP. U zlepšené formy FS byl medián NT-pro BNP při vstupu-6. měsíc-12. měsíc: 622-305-156 pg/l, u zhoršené formy FS: 2337-1406-1808 pg/l). Roční mortalita byla 5 % u FS hlavní a 15 % u FS vedlejší ($p<0,001$).

Závěr: Pacienti s FS jako vedlejší diagnózou byli častěji se strukturálním postižením srdce a měli více komorbidit a vyšší roční mortalitu. U pacientů s FS je nutná důsledná léčba všech přidružených chorob jako je hypertenze, ICHS, diabetes mellitus, protože přidružené komorbidity se podílí na strukturální remodelaci myokardu, neúspěšné léčbě FS a horší prognóze. Vyšší hodnoty NT-proBNP a CRP jsou markerem horší prognózy u pacientů s FS.

CEREBROCRIST – PERSPEKTÍVNY BLOKÁTOR VÁPNIKOVÝCH KANÁLOV?

Eubica Lacinová¹, Mária Karmažínová¹, Bohumila Jurkovičová-Tarabová¹, Gunars Duburs²

¹Ústav molekulárnej fyziológie a genetiky SAV, Vlárská 5, 833 34 Bratislava, Slovensko

²Lotyšský ústav organickej syntézy, Aizkraukles 21, Riga, LV - 1006, Lotyšsko

Analóg dihydropyridínov cerebrocrast bol syntetizovaný na Lotyšskom ústave organickej syntézy v Rige. Je vysoko lipofilný a prechádza plazmatickou membránou buniek. Neblokuje vstup vápnika v neuronálnom tkanive. Znižuje hladinu glukózy v plazme zvierat, má protizápalové účinky, zvyšuje počet a aktivitu niektorých T-lymfocytov. Je možným novým liečivom pri hypertenzii a angine pectoris.

Zisťovali sme, ako cerebrocrast pôsobí na napäťovo závislé vápnikové kanály L-typu a T-typu. Experimentálnym objektom bola bunková línia HEK 293 stabilne transfekovaná α_1 -podjednotkou $\text{Ca}_v3.1$ (T-typu) vápnikového kanála alebo prechodne transfekovaná α_1 -podjednotkou $\text{Ca}_v1.2$ -b (L-typu) vápnikového kanála spoločne s β_{2a} a $\alpha_2\delta$ -1 podjednotkami. Dáta boli zaznamenávané pomocou HEKA Pulse 8.5 programu a analyzované pomocou programov HEKA Pulsefit 8.5 a Origin 7.5

Zistili sme, že cerebrocrast inhibuje prúd cez L-typ vápnikového kanála s IC_{50} 0.59 ± 0.09 $\mu\text{mol/L}$ a 0.18 ± 0.08 $\mu\text{mol/L}$ pri pokojových membránových potenciáloch -80 mV a -50 mV. Je teda účinnejší ako tradične používaný hydrofilný amlodipín, ale menej účinný ako tradičné hydrofóbne dihydropyridíny isradipín alebo nifedipín. Cerebrocrast inhibuje i prúd cez T-typ vápnikového kanála s IC_{50} okolo 50 $\mu\text{mol/L}$. Aj pri interakcii s týmto kanálom bol teda cerebrocrast účinnejší ako hydrofilné, ale menej účinný ako hydrofóbne dihydropyridíny.

Podporené projektom VEGA 2/0195/10.

VPLYV POHLAVIA A VEKU NA ÚČINNOSŤ ISCHEMICKÉHO PRECONDITIONINGU V SRDCI POTKANA: ROZDIELNA ÚLOHA PI3K/AKT DRÁHY

*Veronika Ledvényiová¹, Dezider Pancza¹, Jana Matejíková¹, Iveta Bernátová², Táňa
Ravingerová¹*

*¹Ústav pre Výskum Srdca, ²Ústav Normálnej a Patologickej Fyziológie, Slovenská Akadémia
Vied, Centrum Excelentnosti SAV NOREG, Bratislava, Slovenská Republika*

Pohlavie a vek predstavujú významné faktory určujúce rozdiely v kardiovaskulárnej chorobnosti a úmrtnosti v ľudskej populácii, kde muži sú vo všeobecnosti vystavení vyššiemu riziku v porovnaní so ženami podobnej vekovej skupiny pred menopauzou. Prezentovaná práca bola navrhnutá s cieľom zistiť vplyv rozdielneho veku na odpoveď srdca samcov a samíc voči ischemii/reperfúzii (I/R) a skúmať potenciálnu úlohu PI3K/Akt dráhy v kardioprotektívnom účinku ischemického preconditioningu (IPC) v srdci mladších a starších dospelých samcov a samíc. Izolované srdcia samcov a samíc potkana laboratórneho kmeňa Wistar vo veku 12 (12w, mladšie dospelé) a 18 (18w, staršie dospelé) týždňov, bez IPC (kontrola) a s IPC (1 cyklu 5 min ischemie a 5 min reperfúzie) boli vystavené 30 min regionálnej ischemii a 2 hod reperfúzie s/bez predchádzajúcej aplikácie PI3K inhibítora wortmanninu (W, 100nM). Ako markery I/R poškodenia boli hodnotené veľkosť infarktového ložiska (IS) a ischemické arytmie. Výsledky: Dozrievanie neovplyvnilo IS u oboch pohlaví. Na druhej strane došlo vplyvom zvýšeného veku k nárastu citlivosti myokardu voči komorovým arytmiám. IPC efektívne redukoval IS u samcov i samíc oboch vekových skupín, avšak iba v prípade samcov a 12w samíc sa prejavil antiarytmický účinok IPC. Wortmannin potlačil IS- limitujúci účinok IPC v srdciach 12w samíc a samcov oboch vekových skupín vystavených IPC. Na druhej strane, inhibícia PI3K/Akt kaskády neovplyvnila antiinfarktový efekt IPC u starších samíc. Záver: Dozrievanie čiastočne ovplyvňuje odpoveď srdca na I/R u oboch pohlaví. Aktivácia PI3K/Akt zohráva dôležitú úlohu v ochrane voči I/R poškodeniu navodenej IPC v prípade samcov bez ohľadu na vek, zatiaľ čo IS- redukujúci účinok IPC sa zdá byť PI3K/Akt nezávislý iba v srdci mladších samíc.

Granty VEGA-SR 2/0054/11, APVV-0523-10, APVV-0102-11.

VLIV FREKVENCE DÝCHÁNÍ NA VYHODNOCENÍ BAROREFLEXNÍ

SENSITIVITY

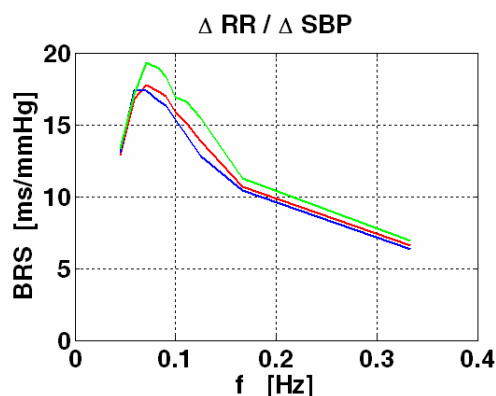
P. Leinveber^{1,2}, J. Halánek^{1,2}, J. Cimbálník¹, P. Veselý¹, P. Jurák^{1,2}

¹ *Mezinárodní centrum klinického výzkumu, FN u sv. Anny v Brně*

² *Ústav přístrojové techniky AV ČR, Brno*

Baroreflexní sensitivita (BRS) je obecně definována jako vazba změny tepové frekvence vyvolané změnou krevního tlaku. Je známo, že respirace přímo ovlivňuje variabilitu krevního tlaku. Zjišťovali jsme, jak se liší hodnota vazby mezi změnami krevního tlaku a tepových intervalů v závislosti na frekvenci a hloubce dýchání. Bylo změřeno 22 mladých zdravých dobrovolníků v pozici vsedě, snímáno bylo EKG, neinvazivní kontinuální krevní tlak a respirace pomocí spirometru. Měření s řízenou frekvencí dýchání bylo prováděno na 10ti frekvencích od 0,045Hz do 0,333Hz, délka měření pro jednotlivé frekvence respirace byla minimálně 3 minuty. Dechový objem si každý subjekt nastavoval optimálně pro danou frekvenci, s klesající frekvencí dýchání tedy rostl.

Každý subjekt byl změřen 2x v rozdílných dnech, vždy s opačně probíhajícími frekvencemi dýchání. Získané signály byly filtrovány pásmovou propustí $\pm 0,03\text{Hz}$ okolo dýchací frekvence a optimalizací byla získána vazba mezi posunutými tepovými intervaly a změnami krevního tlaku. Výsledné křivky jsou průměrem přes všechny



subjekty. Z frekvenční závislosti vazby mezi změnami krevního tlaku a tepovými intervaly na frekvenci dýchání (viz graf) je patrná nejvyšší hodnota vazby (BRS) v pásmu respirace mezi 0,07 – 0,1Hz. Průměrná tzv. rezonanční frekvence je nižší než 0,1Hz. Při měření BRS pomocí řízeného dýchání na 0,1Hz u mladých zdravých dobrovolníků je patrný pokles 1 - 2ms/mmHg oproti nejvyšší dosažitelné hodnotě BRS na nižší frekvenci respirace. Dechový objem se s klesající frekvencí respirace zvyšuje, přesto na nejnižších dýchacích frekvencích již přenos mezi dechovým objemem a změnami krevního tlaku klesá. Byla ověřena relativně dobrá reprodukcibilita měření. Rozdíl mezi testem a retestem není významný. Je zjevné, že různé posloupnosti respiračních frekvencí nemají vliv na frekvenční závislost BRS.

Tato práce byla podporována grantem MŠMT ČR KONTAKT No. ME09050 a Evropským regionálním rozvojovým fondem – projekt FNUSA-ICRC No. CZ.1.05/1.1.00/02.0123.

MYOKARDIÁLNÍ REMODELACE U CHRONICKÉ ANTRACYKLINOVÉ KARDIOTOXICITY A ANALÝZA VÝVOJE PŘI NÁSLEDNÉM SLEDOVÁNÍ ZMĚN PO UKONČENÉ EXPOZICI

O. Lenčová-Popelová¹, E. Jirkovský¹, Y. Mazurová², M. Adamcová³, V. Geršl¹, M. Štěrbá¹

¹Ústav farmakologie, ²Ústav histologie a embryologie, ³Ústav fyziologie, Lékařská fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova v Praze

Chronická antracyklinová kardiotoxicita představuje závažnou komplikaci protinádorové léčby, která může vyústit v kardiomyopatii spojenou s významnou myokardiální remodelací. Hlavní cíl práce byl zaměřen na studium molekulárních, funkčních a morfologických změn v myokardu levé komory po chronickém podávání antracyklinu a jejich další charakter při následném sledování po ukončené expozici. Chronická antracyklinová kardiotoxicita byla navozena u králíků opakovaným podáváním daunorubicinu (DAU, 3 mg/kg, týdně, po 10 týdnů). Týden po poslední dávce DAU byla část zvířat usmrcena, zatímco druhá část byla sledována po dalších 10 týdnů. Podávání DAU vedlo k indukci genové exprese desminu v myokardu LK, přičemž mnohem významnější změna byla sledována na jeho proteinové úrovni. Zatímco genová exprese srdečního α -aktinu, lehkého řetězce myosinu 2 a těžkého řetězce myosinu α nebyla na konci podávání DAU změněna, exprese lehkého řetězce myosinu 1 a těžkého řetězce myosinu β byla významně snížena na konci podávání DAU, tak i při následném sledování po ukončené expozici DAU. Statisticky významná aktivace ubikvitin-proteasomového systému byla prokázána v obou sledovaných obdobích. Dále byla zjištěna zvýšená exprese vimentinu a kolagenu I a IV na úrovni mRNA i proteinu, což poukázalo na významnou změnu v extracelulární matrix. Tyto výsledky byly následně potvrzeny pomocí Picro-SiriusRed barvení a biochemického stanovení kolagenních proteinů. Podobný trend byl následně nalezen i u faktorů kontrolující expresi kolagenů (CTGF atrombospondinu 1). Závěrem lze shrnout, že chronická antracyklinová kardiotoxicita je spojena s navozením významných změn v intracelulární architektuře kardiomyocytů i extracelulární matrix.

Práce vznikla za finanční podpory GA ČR 305/09/0416 a Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem ČR CZ.1.07/2.3.00/30.0022.

VZŤAH MEDZI AKTIVÁCIOU MITOCHONDRIÁLNYCH K_{ATP} KANÁLOV A ÚČINKOM KYSELINY PIRINIXINOVEJ V IZOLOVANOM SRDCI POTKANA

Martina Nemčeková, Slávka Čarnická, Dezider Pancza, Táňa Ravingerová

Ústav pre výskum srdca SAV, Dúbravská cesta 9, Bratislava

V súčasnosti sa za jeden z predpokladaných finálnych mechanizmov ischemického a farmakologického preconditioningu považuje aktivácia mitochondriálnych ATP dependentných draslíkových kanálov (mK_{ATP}). Depolarizácia vnútornej mitochondriálnej membrány spôsobená zvýšením vodivosti pre draslík redukuje absorpciu vápnika mitochondriou, otvorením mK_{ATP} kanálov sa mitochondria stáva rezistetnejšou voči vápnikovému influxu, čo vedie k aktivácii protektívneho efektu. Naopak blokátory mK_{ATP} kanálov môžu spôsobiť potlačenie mechanizmov endogénnej kardioprotekcie a zrušiť jej antiarytmický účinok [1]. Na druhej strane liečba hypolipidemikami (statíny a fibráty), predpokladá kardioprotekciu počas ischemicko-reperfúzneho poškodenia myokardu, ktorá môže napodobňovať účinok preconditioningu. Úloha aktivácie mK_{ATP} kanálov v mechanizme týchto pleiotropných (nelipidových) účinkov uvedených liečiv však doteraz nebola dostatočne prebádaná. Rozhodli sme sa preto preskúmať účinok kyseliny pirinixinovej (WY) v ochrane proti akútnej ischemii myokardu, konkrétne účinok na výskyt reperfúzných arytmií na izolovanom srdci normo-cholesterolemických potkanov a overiť potenciálnu možnosť účasti mK_{ATP} kanálov v antiarytmickom účinku tohto liečiva. Adultným potkanom kmeňa Wistar bolo 5 dní perorálnou sondou podávané hypolipidemikum WY (3mg/kg/deň). Na šiesty deň boli srdcia predliečených potkanov a neliečených kontrolných zvierat (Ko) izolované, perfundované podľa Langendorffa a vystavené 30 min. trvajúcej globálnej ischemii a 2 hod. reperfúzii. Selektívny inhibítor mK_{ATP} kanálov 5-hydroxydekanoát sodný (5-HD, 200 μ mol/L) bol v oboch skupinách podávaný v perfúznom roztoku 15 min. pred ischemiou. Sledovanými parametrami boli hlavné charakteristiky arytmogénzy: celkový počet komorových extrasystol (ES), dĺžka trvania komorovej tachykardie (VT), výskyt komorovej fibrilácie (VF) a základné funkčné parametre srdca (frekvencia akcie srdca, tlak v ľavej komore a koronárny prietok). Po 5-dňovej liečbe s WY, v srdciach premedikovaných zvierat celkový počet ES klesol na 376 ± 82 zo 700 ± 117 v neliečenej skupine ($P < 0,05$), ako aj dĺžka trvania epizód VT bola signifikantne kratšia [$23,5 \pm 12,0$ s (WY) vs. 109 ± 26 s (Ko), $P < 0,05$]. Výskyt VF sa významne znížil z 58% u kontrol na 27% v skupine s WY. Podávanie 5-HD nemalo vplyv na uvedené funkčné parametre v oboch skupinách pred ischemiou. Počas reperfúzie 5-HD neovplyvnil arytmogénzu v neliečenej skupine a nezrušil antiarytmický účinok v skupine s WY: ES 288 ± 53 , VT $17,1 \pm 12,1$ s, VF 25% ($P > 0,05$ vs. WY). Navyše 5-HD nepotlačil lepšie postischemické obnovenie funkcie srdca v skupine s WY. **Záver:** Naše výsledky ukázali, že podávanie hypolipidemika WY významne znížilo výskyt komorových arytmií počas reperfúzie izolovaného srdca potkana, zatiaľ čo vystavenie srdca účinku inhibítora mK_{ATP} kanálov 5-HD tento účinok neodstránilo. To naznačuje že na rozdiel od preconditioningu sa na antiarytmickom účinku WY môžu podieľať iné mechanizmy ako otvorenie mK_{ATP} kanálov. *Za podpory grantov VEGA SR 2/0054/11 a APVV-LPP-0393-09.*

[1] Matejčíková, *Physiol Res*, **2009**, 58, 9-19.

VLIV SUNITINIBU NA CÉVNÍ ENDOTEL V AORTĚ NORMOTENZNÍCH A HYPERTENZNÍCH POTKANŮ – PILOTNÍ STUDIE

Němečková I.¹, Kudláčková Z.¹, Štěrbá M.², Lenčová-Popelová O.², Nachtigal P.¹

*¹ Katedra biologických a lékařských věd, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Univerzita
Karlova v Praze, Česká republika*

*² Ústav farmakologie, Lékařská fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova v Praze, Česká
republika*

Sunitinib je biologická látka ze skupiny tzv. malých molekul, působící jako selektivní inhibitor tyrozinkinázových receptorů, které jsou spojeny s nádorovým růstem a angiogenezí. Navzdory prokázanému terapeutickému účinku a dobré tolerabilitě pacienty je podávání sunitinibu spojeno s řadou nežádoucích účinků, zejména hypertenzí a kardiovaskulární toxicitou. Jednou z hlavních charakteristik chronické hypertenze je tzv. endoteliální dysfunkce. Cílem naší práce bylo zjistit, jestli podávání sunitinibu vede k rozvoji vaskulární toxicity u normotenzních a hypertenzních potkanů pomocí imunohistochemické detekce exprese markerů charakteristických pro endoteliální dysfunkci v endotelových buňkách aorty. V experimentu byli použiti spontánně hypertenzní potkani a jejich normotenzní kontroly (n=32). Zvířata byla rozdělena do čtyř skupin. Sunitinib (10 mg/kg) byl podáván denně po dobu 8 týdnů, poté následovala 5-ti denní pauza a další interval 2 nebo 8 týdnů aplikace sunitinibu normotenzním i hypertenzním potkanům, kontrolním skupinám byla podávána voda paralelně s podáváním sunitinibu. Ze vzorků aorty byly nakrájeny kryorezy, na kterých byla provedena imunohistochemická a stereologická analýza protilátek anti-PECAM-1, anti-ICAM-1, anti-NOS2, anti-NOS3, anti-ET-1 a anti-HO-1.

Po podávání sunitinibu jsme zaznamenali signifikantní nárůst exprese PECAM-1, ICAM-1 a HO-1 v aortě normotenzních potkanů. Navíc, sunitinib indukuje signifikantní zvýšení exprese PECAM-1, ICAM-1, NOS2, NOS3, ET-1 a HO-1 v aortě hypertenzních potkanů.

V naší pilotní studii jsme zjistili, že endotelové buňky aorty exprimují markery zánětu, endoteliální dysfunkce a oxidačního stresu v reakci na podávání sunitinibu, což může představovat iniciální fázi funkčních změn v cévách, které mohou být podkladem pro vznik a rozvoj hypertenze.

Práce byla podpořena grantem GAČR 305/09/0416 a projektem UNCE 33/2012. Publikace je spolufinancovaná Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky. Registrační číslo projektu: CZ.1.07/2.3.00/30.0061.

**VLIV POLYMORFISMU V GENU PRO ALDOSTERONSYNTÁZU NA
KRÁTKODOBOU VARIABILITU SRDEČNÍ FREKVENCE A CITLIVOST
BAROREFLEXU U MLADÝCH OSOB**

Novák Jan, Závodná Eva, Nováková Zuzana

Fyziologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno

Mechanosenzitivní sodíkový kanál je přítomný v buněčné membráně sinus caroticus a sinus aorticus a zodpovídá za schopnost detekce změn krevního tlaku v těchto místech. Aldosteron vznikající pomocí enzymu aldosteronsyntázy (CYP11B2) ovlivňuje jeho množství v membráně. V promotoru genu pro CYP11B2 byl nalezen polymorfismus C-344T a záměna T za C způsobuje zvýšení hladin cirkulujícího aldosteronu na podkladě změněné vazby transkripčních faktorů. V rámci naší studie jsme zjišťovali, jaký vliv má výše popsaný polymorfismus na parametry krátkodobé regulace krevního tlaku. U 181 mladých zdravých osob (19-24 let, 122 žen, 59 mužů) jsme za využití Peňázovy metody získali pětiminutový záznam změn krevního tlaku v klidu, při řízeném dýchání (0,33Hz). Na jeho základě jsme stanovili hodnoty systolického krevního tlaku (STK) a srdečních intervalů (SI). Pomocí spektrální analýzy jsme stanovili parametry jejich celkové variability: STK_{SD} [mmHg], SI_{SD} [ms]; variability při frekvenci 0,1 Hz v normalizovaných jednotkách $nSTK$ [n.u.], nSI [n.u.] a variability při frekvenci 0,1 Hz v absolutních jednotkách $aSTK$ [mmHg²/Hz], aSI [ms²/Hz]. Užitím vzájemné spektrální analýzy kolísání STK a SI jsme určili citlivost baroreflexu (BRS [ms/mmHg]). Pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR), restričního štěpení (enzym HaeIII) a elektroforézy jsme stanovili genotypy sledovaných osob. Frekvence genotypů ve vyšetřovaném souboru byla 25% (TT, n=46), 53% (TC, n = 96) a 22% (CC, n = 39), nenalezli jsme odchylku od Hardy-Weinbergova ekvilibria ($X^2=0,0037$, $p=0,99$). V rámci celé skupiny jsme našli statisticky významný rozdíl mezi jednotlivými genotypy pouze pro TI_{SD} (Kruskal-Wallis: TT – 51 ± 19 ; TC – 46 ± 18 ; CC – 39 ± 14 ms; $p < 0,05$). Po rozdělení vyšetřovaného souboru na podskupiny dle pohlaví byly rozdíly v TI_{SD} mezi genotypy pozorovány pouze v podskupině mužů (K-W: TT – $56,6 \pm 19,4$; TC – $51,3 \pm 23,3$; CC – $37,4 \pm 18,5$ ms; $p < 0,05$), u kterých jsme navíc pozorovali i statisticky významné rozdíly v hodnotách BRS (K-W: TT – $11,8 \pm 4,9$; TC – $9,5 \pm 3,6$; CC – $8,6 \pm 4,3$ ms/mmHg; $p < 0,05$). Naše práce ukazuje, že C-344T polymorfismus v genu pro aldosteronsyntázu má vliv na celkovou variabilitu tepových intervalů a citlivost baroreflexu. Přítomnost varianty TT zvyšuje variabilitu srdeční frekvence a efektivitu baroreflexní regulace, a to zejména u mladých mužů. *Podpořeno projektem MUNI/A/0846/2011.*

OD PRVNÍ SPEKTRÁLNÍ ANALÝZY VARIABILITY KREVNIHO TLAKU NA SVĚTĚ PO SOUČASNOST – PŘÍNOS FYZIOLOGICKÉHO ÚSTAVU LF MU V BRNĚ

Nováková Zuzana, Honzíková Nataša

Fyziologický ústav, LF MU, Brno

Profesor Jan Peňáz, který celý svůj profesní život prožil na Fyziologickém ústavu Lékařské fakulty Masarykovy univerzity v Brně, položil svým patentem na kontinuální neinvazivní monitorování krevního tlaku z prstových arterií z roku 1969 základ brněnské školy pro regulaci krevního oběhu. Pomocí jeho fotopletysmografu získala vědecká pozorování o kolísání jednotlivých oběhových parametrů v čase svůj viditelný podklad.

Jeho blízcí spolupracovníci Nataša Honzíková a Bohumil Fišer využili svých zkušeností s problematikou kolísání krevního tlaku a navázali dalším důležitým krokem – jako první použili metodu spektrální analýzy, která byla známa již od doby Fouriera a byla dosud používána na periodické signály, jako metodu zpracování nepravidelně kolísajícího signálu (*Physiologia Bohemoslovaca*, 1978, 27:349-356). Klinicky aplikovatelné výzkumné metodiky vhodné pro hodnocení regulací krevního tlaku byly dovršeny zpracováním neinvazivní metody stanovení citlivosti baroreflexu (BRS) jako kolísání vzájemného výkonového spektra systolického krevního tlaku a tepových intervalů (*Physiol Res*, 1992, 41:31-37).

S využitím těchto metod ve spolupráci s klinickými pracovišti vznikala velká řada prací, v přehledu uvádíme jen část z nich: o predikci rizika náhlé srdeční smrti u pacientů po infarktu myokardu (*PACE* 2000, 23:1965-1967), korelace mezi nízkou hodnotou BRS a tloušťkou stěny arterie carotis u starších hypertoniků (*Physiol Res* 2005, 54:593-600); neinvazivita užívaných metod otevřela možnosti vyšetřování i dětských pacientů – studie o vývoji regulace krevního tlaku (*Can J Physiol Pharmacol*, 2006, 84:1-9), vztah BRS k esenciální hypertenzi a hypertenzi bílého pláště (*Klin Padiatr* 2006, 218:237-242). Vztah BRS, obezity a hypertenze byl nově diskutován na podkladě vypracování originální matematické metody stanovení jednoho sumačního rizikového indexu pro rozhodování o rizikovosti pacienta (*Analysis of Biomed Signals and Images, BIOSIGNAL*, 2002, 462-465). V současné době se rozvíjejí genetické studie (*Physiol Res*, 2010, 59:517-528) a studie o ovlivnění regulací různými dalšími chorobami (diabetes mellitus) či onkologickou léčbou kardiotoxickými antracykliny.

Poděkování patří všem klinickým spolupracovníkům, z Fyziologického ústavu Dr. Závodné, ing. J. Moudrovi a M. Řezníčkové. *Podpořeno projektem MUNI/A/0846/2011.*

REGULACE SRDEČNÍ FUNKCE PROSTŘEDNICTVÍM RECEPTORŮ SPŘAŽENÝCH S G-PROTEINY

Jiří Novotný

Katedra fyziologie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze, Viničná 7, Praha 2

Receptory spřažené s G-proteiny (GPCRs) a jejich signální dráhy hrají významnou roli v řízení srdeční činnosti. V buňkách srdce se vyskytuje aspoň dvě stě různých typů GPCRs, z nichž asi jednu třetinu představují tzv. sirotčí („orphan“) receptory, jejichž ligandy a vlastnosti nebyly dosud blíže charakterizovány. Mezi nevýznamnější klasické receptory myokardu patří zejména receptory adrenergní (α_1 , β_1 a β_2), angiotenzinové II (AT_1), endotelinové (ET_A) a acetylcholinové muskarinového typu (M_2). Funkce srdce a různé buněčné procesy v myocytech však mohou být ovlivněny mnoha dalšími endogenními působky, mezi které patří např. glukagon, adenosin, bradykinin, serotonin, histamin, melatonin, neuropeptid Y, opioidy, nukleotidy, aj. Všechny tyto látky působí přes příslušné typy GPCRs. GPCRs a jejich signální systémy hrají odlišnou roli při krátkodobé a dlouhodobé aktivaci. Obecně jsou tyto systémy zapojeny nejen přímo v akutní regulaci účinnosti srdeční činnosti, ale také v kontrolních mechanismech důležitých při tvorbě a spotřebě ATP, při regulaci intracelulárních hladin Ca^{2+} , reaktivních forem kyslíku a dusíku (ROS a NO) a pH. Výsledky nedávných výzkumů ukázaly, že GPCRs a mnohé další komponenty jejich signálních kaskád nejsou lokalizovány pouze v plazmatické membráně, ale vyskytují i v jaderné membráně, odkud mohou snadno ovlivňovat transkripční procesy. Buněčná signalizace regulovaná GPCRs představuje velmi komplexní síť – nejen že jednotlivé receptory se v závislosti na situaci mohou spřahovat s různými třídami G-proteinů, ale signální dráhy se mohou vzájemně ovlivňovat a interagovat i s drahami jiných typů receptorů. Je známo, že při dlouhodobé stimulaci agonisty dochází k desensitizaci, což je jev spojený s fosforylací a odpřažením receptoru od příslušného G-proteinu. Významnou roli v procesu desensitizace hraje tzv. β -arrestin. Dnes je zřejmé, že tato molekula, která je zapojena v internalizaci GPCRs, může interagovat s mnoha dalšími buněčnými proteiny, a má tedy i velký význam v signalizaci. Zejména to souvisí s možností aktivace některých MAP kinázových drah (ERK1/2 a JNK3), které mají antiapoptotické a kardioprotektivní účinky.

VARIANTY GENŮ PRO IONTOVÉ KANÁLY VE VZTAHU K ARYTMIIÍM U PACIENTŮ S HEREDITÁRNÍMI ARYTMICKÝMI SYNDROMY A U PACIENTŮ SE STRUKTURÁLNÍM ONEMOCNĚNÍM SRDCE

Novotný Tomáš¹, Kadlecová Jitka², Raudenská Martina³, Andršová Irena¹, Floriánová

Alena¹, Vašků Anna³, Gaillyová Renata², Špinar Jindřich¹

¹Interní kardiologická klinika FN a LF MU Brno, ²Oddělení lékařské genetiky FN a LF MU Brno, ³Ústav patologické fyziologie LF MU Brno

Úvod: Dědičný výskyt komorových arytmii a náhlé arytmiické smrti je charakteristický pro hereditární arytmiické syndromy, které jsou v řadě případů podmíněny mutacemi genů pro iontové kanály myokardu. Populační studie prokázaly familiární agregaci náhlé smrti i v běžné populaci. Podkladem zvýšeného rizika by v první řadě mohly být geneticky podmíněné odchylky patofyziologie iontových kanálů.

Metody: Vyšetřili jsme příslušníky celkem 67 rodin s klinickou diagnózou syndromu dlouhého QT intervalu (LQTS) a 7 rodin s katecholaminergní polymorfní komorovou tachykardií (CPVT). V těchto rodinách byla prováděna mutační analýza genů *KCNQ1*, *KCNH2*, *SCN5A*, *KCNE1*, *KCNE2* a *RyR2*. Tyto geny byly dále analyzovány ve skupině 45 pacientů – ischemiků úspěšně resuscitovaných pro fibrilaci komor a v kontrolní skupině 141 ischemiků bez maligních arytmii.

Výsledky: Ve 30 rodinách s LQTS byly nalezeny mutace genů *KCNQ1* nebo *KCNH2*. U pacientů-ischemiků po fibrilaci komor byly vzácné varianty výše uvedených genů nalezeny významně častěji než v kontrolní populaci (8/45 – 17,8% vs. 3/141, 2,2 %, P=0,001).

Závěry: Genetické faktory hrají významnou roli v rámci multifaktoriální patofyziologie arytmogeneze.

Výzkum je podporován grantem IGA MZ NT 13767-4 a projektem specifického výzkumu MUNI/A/0811/2011.

EVALUATION OF ORTHOSTATIC HYPOTENSION AND AUTONOMOUS DYSBALANCE IN PATIENTS AFTER CERVICAL SPINAL CORD INJURY

Katarína Ondrušová¹, Marie Nováková^{1,2}, Zuzana Nováková^{1,2}, Jiří Moudr¹, Nataša Honzíková¹

¹ *Department of Physiology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic;*

² *ICRC – Animal Center, St. Anne's University Hospital Brno, Brno, Czech Republic*

Good acute medical care during last two decades improved survival chances in patients after cervical spinal cord injury (SCI). Autonomic dysfunction (e.g. orthostatic hypotension, OH) increases their cardiovascular mortality risk. Passive verticalisation is one of cardiovascular Ewing tests used to investigate the regulation of autonomous nervous system (ANS). The sympathovagal balance is expressed as baroreflex sensitivity (BRS), evaluating baroreflex as a short-term regulator of blood circulation. Aim of this study was to evaluate OH by subjective and objective methods and to estimate BRS and the variability of BP in patients after cervical SCI. Eight patients (P) with complete SCI on the level C6-C7 and 15 healthy controls (C) were examined. Systolic and diastolic BP (SBP, DBP) and inter-beat intervals (IBI) were recorded beat-to-beat by Finometer in sitting position for 5 min, with controlled breathing (0.33 Hz). The following parameters were determined by spectral method: BRS (ms/mmHg), BRSf (mHz/mmHg), variability of BP- SBPrel, DBPrel (r.u.); SBPabs, DBPabs (mmHg²/Hz), and IBI- IBIsrel, IBIsabs (ms²/Hz). Continuous BP measurements were performed during a passive verticalisation (10 min) by Thera trainer in each subject for objective detection of OH. Subjective feeling was evaluated by the Borg scale. The diagnosis of OH was confirmed in all patients (decreased SBP: -34.4 ± 13.0 , DBP: -15.5 ± 8.7 mmHg); negative subjective feeling was reported in 4 patients. The intensity of these changes is individual and depends on the extent of SCI. Significantly lower SBP (P: 102.5 ± 21.7 ; C: 123.0 ± 13.7 mmHg; $p < 0.05$), DBP and IBI variability ($p < 0.05$) was found in P vs. C. No difference in BRS has been proven between P and C. The P group splits according to subjective perception of OH into two subgroups - P with and P without syncope. We conclude that non-invasive continuous measurement of BP completes the examination of patient with SCI and detects the symptoms of OH. The observed changes of BP variability prove impairment of ANS. However, increasing of number of examined patients together with dividing the P group into two parts (syncope-positive and syncope-negative) might lead to finding significant difference in BRS, too.

Supported by MUNI/A/0846/2011 and by the European Regional Development Fund - Project FNUSA-ICRC No.CZ.1.05/1.1.00/02.0123.

NOVÉ ASPEKTY FUNKCE SRDEČNÍCH T-TUBULŮ

Michal Pásek

Fyziologický ústav Lékařské fakulty Masarykovy university, Brno, Česká republika

Ústav termomechaniky Akademie věd, pobočka Brno, Česká republika

Srdeční komorové buňky obsahují hustou síť membránových invaginací zvaných transversální (t-) tubuly. Systém t-tubulů tvoří přibližně 50% celkové plochy buněčné membrány, avšak zaujímá pouze 2-4% buněčného objemu. Z nedávných experimentálních prací vyplynulo, že klíčové složky membránového transportního systému zodpovědné za iniciaci buněčné kontrakce a za udržení intracelulární iontové rovnováhy se nachází převážně v tubulární membráně, a že rychlost iontové výměny mezi t-tubuly a extracelulárním prostorem je značně omezena (Orchard et al. 2009). Vyšetření fyziologických důsledků těchto vlastností t-tubulů provedené na matematických modelech srdečních komorových buněk potkana a morčete vyústilo v následující poznatky:

Během elektrické aktivity komorových buněk dochází v omezeném prostoru t-tubulů k významným změnám iontových koncentrací (především pokles $[Ca^{2+}]$ a nárůst $[K^+]$), které ovlivňují velikost iontových toků (zejména toku Ca^{2+}) přes tubulární membránu.

Velikost a frekvenční závislost tubulárních iontově-koncentračních změn se u různých druhů zvířat liší v závislosti na geometrii a specifických vlastnostech iontového transportního systému t-tubulů.

Kumulativní účinek iontově-koncentračních změn v t-tubulech (především přechodného snižování tubulární koncentrace Ca^{2+}) může při ustálené stimulaci vést k významnému poklesu náplně Ca^{2+} v sarkoplazmatickém retikulu, ke snížení přechodných koncentračních změn Ca^{2+} v cytoplazmě, a tedy ke snížení inotropního stavu buněk (Orchard et al. 2009, Pásek et al. 2012).

Předběžné simulace na modelu lidské komorové buňky navíc ukázaly, že během aktivity dochází k významným změnám iontových koncentrací i v t-tubulech srdečních buněk člověka. Potenciální roli těchto koncentračních změn v modulaci buněčné elektromechanické aktivity lze však očekávat pouze za předpokladu, že tubulární frakce Ca^{2+} kanálů typu L je u lidských komorových buněk vysoká ($f_{CaL,t} > 60\%$) a tubulární frakce sarkolemální Ca^{2+} pumpy nízká ($f_{pCa,t} < 30\%$).

Orchard et al. *Exp Physiol*, 2009;94:509-519. Pásek et al. *Eur Biophys J*, 2012;41:491-503.

REGULATION OF GENES INVOLVED IN METABOLISM OF ISCHEMIC MYOCARDIUM: PARADOXES OF EXPERIMENTAL STUDIES

T. Ravingerová, S. Čarnická, V. Ledvényiová, M. Nemčeková, M. Ferko, F. Kolář¹, A. Lazou²

Institute for Heart Research, Slovak Academy of Sciences & Centre of Excellence SAS NOREG, Bratislava, Slovakia; ¹Institute of Physiology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague, Czech Republic; ²School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece

Fatty acids (FA) and glucose oxidation are the main cardiac ATP producing pathways. Under normal conditions, heart tissue uses FA oxidation (FAO) as the major energy source. Genes encoding enzymes involved in multiple stages of these metabolic pathways are regulated transcriptionally by members of the nuclear receptor superfamily, specifically by the ligand-activated peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs). The expression of genes involved in multiple energy transduction pathways is dynamically regulated in response to developmental, physiological, and pathophysiological changes. PPARs are involved in different aspects of lipid metabolism and inflammation, and all three isoforms of PPAR (α , β/δ and γ) detected so far modulate cardiac energy production. Activation of PPAR- α by its natural ligands, long-chain FA and eicosanoids, promotes mitochondrial FAO as the primary ATP-generating pathway in the normal adult myocardium, whereas PPAR- γ is thought to regulate lipid anabolism or storage and insulin sensitization. Until recently, the function of PPAR- β/δ was relatively less explored. Under physiological and pathological conditions associated with acute or chronic oxygen deprivation, PPAR- α modulates expression of genes that determine myocardial substrate selection (FA vs. glucose) aimed at the maintenance of energy production to preserve basic cardiac function. However, whether PPAR activation plays a beneficial or detrimental role in myocardial response to ischemia/reperfusion (I/R) is still a matter of debate. Although PPAR- α and PPAR- γ agonists, hypolipidemic and antidiabetic drugs, have been reported to protect the heart against I/R, the role of PPARs in cardioprotection, in particular, in pathological models, is not completely elucidated. Conflicting findings have documented both, negative and positive impact of PPAR- α and PPAR- γ up-regulation on myocardial functional recovery upon I/R, in particular, during early reperfusion. This contradiction is apparently related to the duration and/or stage of the pathological process and to the fact whether PPAR activation improves myocardial function via metabolic or other, metabolic-independent actions. *Supported by grants VEGA-SR 2/0054/11, 2/0101/12, APVV-LPP-0393-09, APVV-0102-11, APVV-SK-CZ-0199-11.*

POUŽITÍ KUMULANTŮ VYŠŠÍCH ŘÁDŮ PRO KLASIFIKACI SRDEČNÍCH CYKLŮ

Marina Ronzhina^{1,2}, Oto Janoušek^{1,2}, Jana Kolářová^{1,2}, Marie Nováková^{2,3}, Ivo Provazník^{1,2}

¹Ústav biomedicínského inženýrství, FEKT, VUT v Brně, Brno

²Centrum biomedicínského inženýrství, ICRC - FN USA v Brně, Brno

³Fyziologický ústav, LF, MU, Brno

Úvod: Kumulanty vyšších řádů mají vlastnosti, díky kterým nacházejí své uplatnění ve zpracování a analýze různých signálů, včetně biologických. Jednou z možností použití vyšších kumulantů je klasifikace signálů, při které je kladen důraz na variabilitu vzorů uvnitř jedné klasifikační třídy. Studie ukazují, že použitím vyšších kumulantů místo časových průběhů signálů lze dosáhnout menší variability uvnitř třídy, což zvyšuje úspěšnost klasifikace. Tato studie je zaměřená na použití kumulantů vyšších řádů pro klasifikaci srdečních cyklů. Jako klasifikační nástroj je vybrána vícevrstvá umělá neuronová síť, jejíž využití je v dané oblasti velmi rozšířeno.

Metoda: Pro klasifikaci byly použity elektrogramy (EG) (jeden ortogonální svod, vzorkovací frekvence = 2 kHz) naměřené z 8 izolovaných králičích srdcí v průběhu experimentu zaměřeného na studium myokardiální ischemie (kontrolní fáze 15 min. a ischemická fáze 15 min.). Po odstranění kolísání nulové izoliny (Lynnův filtr, mezní frekvence = 0.5 Hz) a detekci R vln byly vybrány srdeční cykly (QRS-T) s délkou 510 vzorků (59 vzorků před a 450 vzorků po maximu R vlny). Normalizované kumulanty vyšších řádů (druhé až čtvrté) byly vypočtené ze srdečních cyklů (celkový počet je 8000, tj. 500 cyklů pro každou fázi a zvíře) po jejich převzorkování na 102 vzorků. Navržená klasifikační metoda je založená na použití vícevrstvé umělé neuronové sítě (s topologií 30-10-1, s neurony se sigmoidální aktivační funkcí). Vstupem klasifikátoru bylo 30 hodnot kumulantů (po deseti hodnotách z každého). Výstupem je binární dělení na cykly z kontrolní a z ischemické fáze. Trénování sítě bylo provedeno na 80% cyklů, zbývajících 20% cyklů bylo použito pro testování.

Výsledky a závěr: Celková úspěšnost klasifikace vypočtená pro testovací množinu srdečních cyklů je 96% po provedení 330 epoch učení. Chybná klasifikace se vyskytovala u cyklů zaznamenaných na začátku ischemické fáze (1. až 2. minuta), kdy v morfologii EG nejsou zaznamenány významné změny způsobené ischemií. Dosažená klasifikační účinnost je srovnatelná s výsledky uvedenými v jiných studiích.

Poděkování: Tato práce vznikla za podpory projektů P102/12/2034, MUNI/A/0846/2011 a GAČR 102/09/H083.

VLIV DLOUHODOBÉ APLIKACE HALOPERIDOLU NA ELEKTROGRAM IZOLOVANÉHO SRDCE A EXPRESI SIGMA 1 A IP₃ RECEPTORŮ U MORČETE

Tibor Stračina¹, Marie Nováková¹, Michal Masařík²

¹ Fyziologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno

² Ústav patologické fyziologie, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno

Úvod: Práce byla zaměřena na vliv chronické aplikace psychofarmaka haloperidolu, ligandu sigma 1 receptoru, na elektrogram izolovaného srdce a expresi sigma 1 a IP₃ receptorů v srdci morčete.

Materiál a metody: Do studie bylo zahrnuto 30 samců morčete rozdělených do dvou skupin: skupině HAL (20 zvířat) byl podáván po dobu 21 dní haloperidol (i.p., dávka 2 mg/kg), skupině KON (10 zvířat) bylo souběžně aplikováno vehikulum (i.p.) v analogickém objemu. Den po poslední dávce bylo 10 zvířat ze skupiny HAL a 7 zvířat ze skupiny KON usmrceno a byly odebrány vzorky pro analýzu genové exprese. Byla izolována mRNA a kvantifikována pomocí real-time PCR s fluorescenčně značenými sondami. U zbývajících zvířat (10 HAL a 3 KON) byla z hrudníku vyjmuta srdce a perfundována dle Langendorffa Krebs-Henseleitovým roztokem (1,25 mM Ca²⁺) za konstantního tlaku a teploty. Experiment se skládal ze čtyř třicetiminutových fází: stabilizace preparátu (S), H1 (haloperidol, 10 nM), washout (WO), H2 (haloperidol, 10 nM). Během celého experimentu byl zaznamenáván kontinuální 3D elektrogram a vyhodnocován off-line (srdeční frekvence SF, délka QT intervalu, výskyt arytmií).

Výsledky: Průměrné hodnoty SF u skupiny HAL od 15. minuty H1 do 10. minuty H2 vykazovaly statisticky významný pokles ($p < 0,05$) oproti skupině KON. V 5. minutě H1 fáze bylo u skupiny HAL detekováno signifikantní prodloužení QT intervalu ($p < 0,05$, vzhledem k poslední minutě S fáze), které přetrvalo až do konce experimentu. Nejčastější arytmií byly supraventrikulární extrasystoly. U skupiny HAL byla ve vzorcích ze srdečních síní zvýšena exprese genu pro sigma 1 receptor (pravá síň 2,8-krát, levá síň 5,7-krát proti průměru ve skupině KON).

Závěr: Chronická aplikace haloperidolu u laboratorního morčete způsobila zvýšenou expresi sigma 1 receptorů v srdečních síních doprovázenou poklesem spontánní srdeční frekvence, prodloužením QT intervalu a výskytem supraventrikulárních extrasystol.

Poděkování: Práce byla podpořena Grantovým projektem specifického výzkumu MUNI/A/0846/2011.

PATOMECHANIZMUS REPERFÚZNEHO POŠKODENIA SRDCA

Styk J., Ravingerová T., Slezák J., Ziegelhöffner A., Ferko M., Barančík M.

Ústav pre výskum srdca SAV, Centrum excelencie NOREG, Bratislava, Slovenská republika

Nedostatočná perfúzia srdcového svalu počas ischemie vedie rýchlo k celému radu rôznych nehomogénnych, hemodynamických, elektrofyziologických, biochemických a morfológických zmien. A práve nehomogénnosť ischemického poškodenia poskytuje šancu pre záchranu myokardu na hranici reverzibility. Rozhodujúcim faktorom pre úspešnú reperfúziu je časový interval ischemie, po ktorom nastane reperfúzia, ale i stupeň redukcie koronárneho prietoku. Keď ischemia trvá krátko – reperfúzia môže bunky zachrániť. Pri prolongovanej ischemii – následná reperfúzia môže paradoxne vyvolať závažnejšie poškodenie srdca ako ischemia a môže vyvolať aj smrť kardiomyocytov. Vznikne ischemicko-reperfúzne poškodenie. Základné prejavy reperfúzneho poškodenia sú charakterizované ako poruchy kontraktility, zmeny koronárneho prietoku (zlepšenie, kolísanie), zmeny minútového vývrhového objemu a systémového krvného tlaku, zmeny veľkosti ischemického ložiska, poruchy rytmu (reperfúzne arytmie), zhoršovanie energetického metabolizmu, prehlbovanie porúch funkcie mitochondrií a využitia kyslíka, ďalšie uvoľňovanie intracelulárnych enzýmov (hlavne laktátdehydrogenázy a kreatín kinázy), poruchy transportu vápnika a zmeny jeho obsahu v myokarde, pokračovanie ultraštruktúrnych zmien s ďalším zhoršením permeability kapilár a s následným zväčšovaním myokardiálneho edému.

Hlavný mechanizmus, ktorým dochádza k paradoxnému poškodeniu srdca pri reperfúzii súvisí s javom kalciového paradoxu, ktorý vzniká vtedy, keď srdce po určitej dobe perfúzie roztokom bez kalcia následne perfundujeme roztokom s fyziologickou koncentráciou kalciových iónov a/nebo kyslíkového paradoxu, ktorý vzniká vtedy, ak po určitej dobe deplécie kyslíka je srdce vystavené reoxygenácii.

Hlavným dôsledkom oboch paradoxov - napriek odlišnému začiatočnému impulzu – je hromadenie a preťaženie srdcovej bunky kalcium. Pri kalciovom paradoxe sú zmeny pripisované poškodeniu sarkolemy bezkalciovým roztokom. Pri kyslíkovom paradoxe sú to kyslíkové radikály, ktoré poškodzujú sarkolemu s následným preťažením kalcium.

Ďalším mechanizmom, ktorý sa uplatňuje pri reperfúznom poškodení je tvorba voľných radikálov, ktoré poškodzujú fosfolipidy a transportné proteíny bunkových membrán a tým dochádza k poškodeniu sarkolemy a k nadmernému influxu kalciových iónov do bunky.

Pri patomechanizmoch reperfúzneho poškodenia dochádza i k zníženiu produkcie NO v dôsledku poškodenia endotelu koronárneho riečiska.

Napriek všetkým známym patomechanizmom reperfúzneho poškodenia kardiomyocytov sú výsledky reperfúzie v klinických podmienkach veľmi pozitívne. Napriek tomu ostáva pre experimentálnu kardiológiu stále veľa nedostatočne preskúmaných otázok v oblasti reperfúzneho poškodenia, jedného z najzávažnejších a najdiskutovanejších problémov modernej kardiológie.

Podpora : *Granty – APVV 0102- 11, APVV -SK-CZ- 0199-11, VEGA SK 2/0054/11*

VLIV CHRONICKÉHO PŮSOBNÍ MORFINU NA FUNKCI SIGNÁLNÍCH SYSTÉMŮ ŘÍZENÝCH TRIMERNÍMI G-PROTEINY V SRDCI POTKANA

Jitka Škrabalová¹, Lucie Hejnová¹, Jan Neckář¹, František Kolář², Jiří Novotný²

¹Katedra fyziologie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze

²Fyziologický ústav Akademie věd ČR

Morfin je klinicky velmi významná látka, která je pro své silné analgetické účinky využívána zejména pro tlumení velkých bolestí. Opioidní receptory (OR), které zprostředkují účinky morfinu, jsou mj. lokalizovány také v srdeční tkáni, a morfin tak může potenciálně ovlivňovat i činnost tohoto orgánu. V nedávné době bylo zjištěno, že morfin může významně omezovat poškození tkáně, ke kterému dochází v průběhu ischemie myokardu. Molekulární mechanismy, kterými morfin působí na srdce, jsou však doposud jen velmi málo objasněny. Cílem této práce bylo zkoumat vliv chronického 10denního a 27denního působení nízkých (1 mg/kg/den) a vysokých (10 mg/kg/den) dávek morfinu na expresi vybraných receptorů spřažených s G-proteiny a na expresi a aktivitu adenylylcyklázy (AC). Působení morfinu snížilo expresi κ -OR pouze při 27denním působení. Stanovení exprese β -adrenergických receptorů pomocí saturační vazebné studie ukázalo, že při 27denním podávání vysokých dávek morfinu dochází k patrnému nárůstu celkového počtu těchto receptorů. Podávání vysokých dávek morfinu významně zvýšilo expresi AC isoformy V/VI, přičemž množství AC se pak snižovalo úměrně s dobou od ukončení podávání morfinu. Nízké dávky morfinu indukovaly zvýšenou expresi AC jen při 27denním podávání. Chronické působení morfinu nemělo vliv na bazální enzymovou aktivitu AC, zvýšilo však stimulovanou aktivitu AC, a snížilo inhibiční vliv aktivovaných G_i podjednotek na aktivitu AC. Z těchto výsledků plyne, že chronické působení morfinu primárně neindukuje změnu množství OR v plazmatické membráně, ale zvyšuje expresi AC V/VI. Morfin může zřejmě také ovlivnit beta-adrenergní signální systém a indukovat upregulaci stimulačních a downregulaci inhibičních drah ovlivňujících aktivitu AC.

**OTEVŘENÉ ANALOGY ADR-925 NEJSOU SCHOPNY OCHRÁNIT IZOLOVANÉ
NEONÁTÁLNÍ POTKANÍ KARDIOMYOCYTY PŘED POŠKOZENÍM
NAVOZENÝM ANTRACYKLINOVÝMI ANTIBIOTIKY**

*Anna Vávrová¹, Jaroslav Roh², Kateřina Hrušková², Lucie Tichotová¹, Hana Jansová¹,
Tomáš Šimůnek¹*

*¹Katedra biochemických věd a ²Katedra anorganické a organické chemie, Univerzita Karlova
v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové*

Antracyklinová antibiotika patří mezi jedny z nejčastěji používaných látek v terapii solidních zhoubných nádorů i krevních malignit. Mezi nejzávažnější a dávku limitující nežádoucí účinky antracyklinů patří jejich kardiotoxicita, která se projeví často až po ukončení terapie jako dilatační kardiomyopatie progredující do chronického srdečního selhání. Dosud jediným registrovaným kardioprotektivem je dexrazoxan. Mechanismus jeho kardioprotektivního působení je stále nejasný, ale tradičně se předpokládá, že se jedná o proléčivo, které se v kardiomyocytech metabolizuje na ADR-925. Tato hydrofilní struktura vykazuje chelatační vlastnosti a soudí se, že vyvázáním volných iontů železa zabraňuje vzniku volných radikálů kyslíku, a tím předchází oxidačnímu poškození myokardu. Dexrazoxan je ale také schopen katalyticky inhibovat DNA topoisomerasu II, čímž může zabraňovat tvorbě dvojitých zlomů v DNA navozených antracykliny.

Cílem této studie bylo syntetizovat hydrofilnější analoga ADR-925 a porovnat jejich protektivní vlastnosti s účinkem dexrazoxanu a dvou dalších katalytických inhibitorů DNA topoisomerasy II. Pro porovnání protektivních vlastností uvedených látek byl použit model izolovaných neonatálních potkaních kardiomyocytů. Měřítkem toxicity bylo stanovení aktivity laktát dehydrogenasy uvolněné z kardiomyocytů při jejich poškození.

Bylo zjištěno, že nově syntetizovaná analoga ADR-925 KH-TA4 a JR-159 na rozdíl od dexrazoxanu a ostatních inhibitorů DNA topoisomerasy II sobuzoxanu a merbaronu nejsou schopny ochránit izolované neonatální kardiomyocyty před poškozením navozeným daunorubicinem v dávce 1,2 μ M. Naopak, KH-TA4 se ukázal být protektivní vůči poškození navozenému peroxidem vodíku v dávce 300 μ M, použitým jako model oxidačního poškození kardiomyocytů.

Tato studie byla podpořena grantem GAČR 305/09/0416.

POHLAVNÉ ROZDIELY V REGULÁCII TRANSPORTU SODÍKA Z BUNIEK V SRDCI SHR POTKANOV

Jana Vlkovičová¹, Veronika Jendruchová¹, Lucia Mézešová¹, Barbora Kaločayová¹, Oľga
Pecháňová², Norbert Vrbjar¹

¹Ústav pre výskum srdca, Slovenská akadémia vied, Bratislava, Slovensko; ²Ústav normálnej
a patologickej fyziológie SAV, Bratislava, Slovensko

Na^+, K^+ -ATPáza je enzým plazmatickej membrány, ktorý sa podieľa na udržiavaní optimálnej vnútrobunkovej koncentrácie iónov Na^+ a K^+ . Pri hypertenzii však dochádza k modulácii funkčných vlastností tohto enzýmu. Preto sme naše štúdium zamerali na otázky energetického zabezpečenia transportu iónov prostredníctvom hydrolýzy ATP a zároveň na afinitu Na^+ -vázbového miesta Na^+, K^+ -ATPázy u 16 týždňových spontánne hypertenzných potkanov (SHR). Zistili sme, že vplyvom hypertenzie dochádza k poklesu aktivity tohto enzýmu v celom nami sledovanom koncentračnom rozsahu ATP i Na^+ u oboch pohlaví SHR. Kinetické parametre odhalili preukazne nižšie hodnoty V_{\max} v porovnaní s kontrolnými potkanmi kmeňa Wistar, u samcov (o 30% po aktivácii s ATP, o 40% po aktivácii s Na^+) a podobne aj u samíc (o 24% po aktivácii s ATP, o 29% po aktivácii s Na^+). Hodnota K_m sa v dôsledku hypertenzie výrazne nemenila ani u samcov ani u samíc, ale hodnota K_{Na} bola u samcov vyššia o 38% a u samíc až o 70% v porovnaní s kontrolami. Priame porovnanie SHR potkanov oboch pohlaví ukázalo o 32% nižšiu hodnotu parametra K_m a zároveň o 65% vyššiu hodnotu K_{Na} u hypertenzných samíc v porovnaní so samcami. Na základe týchto údajov môžeme povedať, že funkčné vlastnosti Na^+, K^+ -ATPázy v srdci SHR sa zhoršujú v dôsledku hypertenzie, ako na to poukazuje, jednak zníženie počtu aktívnych molekúl enzýmu (pokles hodnôt V_{\max}), ako aj zníženie afinity sodíkového väzbového miesta Na^+, K^+ -ATPázy (zvýšenie hodnôt K_{Na}) u samíc i u samcov. Čo sa týka pohlavných rozdielov, srdcová Na^+, K^+ -ATPáza sa javí ako lepšie adaptovaná v odpovedi enzýmu na hypertenziu u samíc SHR než u samcov. Poukazuje na to lepšia afinita ATP-väzbového miesta a rovnako aj schopnosť enzýmu zvyšovať svoju aktivitu pri vysokých koncentráciách vnútrobunkového sodíka, pri ktorých je už enzým zo srdca samcov saturovaný s iónmi Na^+ , v dôsledku čoho dokáže lepšie prenášať prebytočný sodík von z buniek ako u samcov.

Podporené z grantu: VEGA 2/0141/13.

VÄZBA EXCITÁCIE S KONTRAKCIOU Z HĽADISKA VÁPNIKOVEJ SIGNALIZÁCIE

Ivan Zahradník, Alexandra Zahradníková

*Oddelenie pre výskum svalových buniek, Ústav molekulárnej fyziológie a genetiky SAV,
Bratislava*

Závislosť kontraktility myokardu na vápnikových iónoch je známa od 19. storočia. Vzťah medzi konfiguráciou akčného potenciálu, cytozolickou koncentráciou vápnikových iónov a kontraktilnou odpoveďou myocytov bol veľkou témou kardiologického výskumu 20. storočia. Zadefinoval centrálnu úlohu vápnikovej signalizácie vo väzbe excitácie s kontrakciou, ktorá sa stala učebnicovým poznatkom. Stále však nemôžeme povedať, že rozumieme jej mechanizmu, napriek tomu, že detailne poznáme vlastnosti celého systému od bunkovej až po molekulovú úroveň. Bránia tomu rozpory v detailoch. Zdá sa nemožné, aby napätím aktivované vápnikové kanály sarkolemy a vápnikom aktivované kanály sarkoplazmatického retikula (ryanodínové receptory) dokázali efektívne riadiť uvoľňovanie iónov vápnika do cytozolu pri tých vlastnostiach, ktoré o nich poznáme. Matematické modelovanie naznačuje isté riešenie. Predpovedá však, že životne dôležitá kontraktilná funkcia srdca, závislá na spoľahlivej väzbe excitácie s kontrakciou, je zverená malému počtu molekúl podliehajúcim stochastickým procesom.

Výskum bol podporený grantmi APVV-0720-10, VEGA 2/0116/12 a VEGA 2/0203/11.

REGULÁCIA AKTIVITY RYANODÍNOVÉHO RECEPTORA

Alexandra Zahradníková

Oddelenie pre výskum svalových buniek, ÚMFG SAV, Bratislava, Slovensko

Ryanodínový receptor (RyR), iónový kanál membrány cisterien sarkoplazmatického retikula (SR), zabezpečuje uvoľňovanie vápnika zo SR do cytoplazmy pre potreby kontrakcie srdcového myocytu. Pre správnu funkciu kardiomyocytov je potrebné, aby pravdepodobnosť otvorenia RyR počas diastoly bola veľmi nízka, zatiaľ čo počas systoly musí dôjsť k jej rýchlemu a prudkému zvýšeniu. Narušenie funkcie RyR pri srdcových ochoreniach, najmä pri zlyhaní srdca, znižuje množstvo vápnika uvoľňovaného počas systoly a zároveň zvyšuje množstvo vápnika uvoľňovaného počas diastoly. To vedie k zníženiu kontrakcie a k zvýšeniu pravdepodobnosti vzniku vápnikom indukovaných arytmií.

K uvoľňovaniu vápnika počas systoly dochádza v dôsledku rýchlej aktivácie RyR iónmi Ca^{2+} ktoré preniknú do cytoplazmy cez napäťovo závislé vápnikové kanály plazmatickej membrány. Dôležitými regulátormi aktivity RyR sú inhibične pôsobiace ióny Mg^{2+} a aktivačne pôsobiaci adenosíntrifosfát (ATP) z cytoplazmatickej strany a aktivačne pôsobiace ióny Ca^{2+} z lumenálnej strany RyR.

V príspevku zhrniem výsledky prác nášho tímu z rokov 1999 – 2012 (Zahradníková a spol. 1999, 2003, 2010, Zahradník a spol. 2005, Tencerová a spol. 2012), ktoré umožnili získať predstavu o spoločnej podstate účinku Ca^{2+} , Mg^{2+} a ATP na aktivitu RyR. Všetky tieto ligandy pri svojom naviazaní sa na jednotlivé monoméry RyR kanála alostericky ovplyvňujú prechod kanála medzi otvoreným a zatvoreným stavom. Účinok ATP je navyše silne ovplyvnený diastolickou koncentráciou Ca^{2+} z cytoplazmatickej aj lumenálnej strany RyR. Uvedený mechanizmus umožňuje pochopiť dôležitosť metabolických regulátorov Mg^{2+} a ATP pre správnu funkciu RyR.

Výskum bol podporený grantmi APVV-0720-10 a VEGA 2/0190/10.

LITERATÚRA

1. Tencerová B, Zahradníková A, Gaburjáková J, Gaburjáková M. *J GenPhysiol.* 140: 93-108, 2012
2. Zahradník I, Györke S, Zahradníková A. *J Gen Physiol.* 126: 515-27, 2005.
3. Zahradníková A, Dura M, Györke I, Escobar AL, Zahradník I, Györke S. *Am J Physiol Cell Physiol.* 285: C1059-70, 2003.
4. Zahradníková A, Valent I, Zahradník I. *J Gen Physiol.* 136: 101-16, 2010.
5. Zahradníková A, Zahradník I, Györke I, Györke S. *J Gen Physiol.* 114: 787-98, 1999.

**KONCENTRÁCIA SRDCOVÉHO PROTEÍNU VIAŽUCEHO MASTNÉ KYSELINY
(H-FABP) V PERFUZÁTE Z IZOLOVANÉHO SRDCA POTKANA AKO
UKAZOVATEĽ ZÁVAŽNOSTI ISCHEMICKO-REPERFÚZNEHO POŠKODENIA
MYOKARDU**

*Zálešák M., Blažíček P.¹, Pancza D., Ledvényiová V., Nemčeková M., Čárnická S.,
Ziegelhöffner A., Ravingerová T.*

*Ústav pre výskum srdca SAV, ¹Laboratórium klinickej biochémie a hematológie Alpha
Medical, Bratislava, SR*

Srdcový proteín viažuci mastné kyseliny (h-FABP) je nízkomolekulový tkanivovo špecifický proteín. Zabezpečuje transport hydrofóbných ligandov v hydrofilnom prostredí sarkoplazmy na miesto ich využitia. H-FABP sa považuje za najskorší, vysoko senzitívny a špecifický biomarker akútneho infarktu myokardu (AIM). Cieľom našich pokusov bolo zistiť rozdiely v kinetike h-FABP stanovovaného v perfúznom roztoku zo srdca adaptovaných na krátkodobú ischémiu - ischemický preconditioning (IP) a neadaptovaných kontrol, a korelácie nárastu koncentrácie h-FABP s veľkosťou infarktového ložiska a rozsahom bunkového edému v tkanive myokardu. Experimenty boli uskutočnené na srdciach potkanov kmeňa Wistar perfundovaných podľa Langendorfa, vystavených 30 minútovej regionálnej ischémiu a 120 minútovej reperfúziu. H-FABP sme stanovili z perfuzátu odoberaného počas celej ischémiu a reperfúzie. Odber počas reperfúzie bol rozdelený na sériu 20 minút trvajúcich odberov. Z lyofilizovaných dialyzátov vzoriek odberov sme stanovili koncentráciu h-FABP pomocou ELISA a zostavili kinetické krivky. Rozsah bunkového edému sme určili na základe podielu hmotnosti sušiny vzorky myokardu a jej východiskovej hmotnosti odobratej na konci reperfúzie. Veľkosti infarktových ložísk sme stanovili tetrazóliovou metódou. Na vyhodnotenie výsledkov sme použili štatistické metódy bežne používané v bioštatistike. Zistili sme signifikantne významné rozdiely vo veľkosti infarktových ložísk, rozsahu bunkového edému a nárastu koncentrácie h-FABP v perfuzáte zo srdca v 40 až 120 minúte reperfúzie. Najvyššiu hodnotu Pearsonovho korelačného koeficientu sme zistili medzi veľkosťou infarktového ložiska a koncentráciou h-FABP v perfuzáte zo srdca na konci reperfúzie. Výsledky experimentov môžu nájsť uplatnenie v klinickej praxi pri predpovedaní prognózy AIM u pacientov s atakmi nestabilnej angíny pectoris (NAP), klinickej aplikácii IP, a bez atakov NAP.

Granty VEGA SR 2/0054/11, APVV-LPP-0393-09, APVV-0102-11

SRDEČNÍ INTERVAL JAKO „MATOUČÍ“ PROMĚNNÁ VE STANOVENÍ VÝVOJE KARDIOVASKULÁRNÍCH PARAMETRŮ U DĚTÍ A DOSPÍVAJÍCÍCH

E. Závodná^{1,2}, N. Honzíková², Z. Nováková^{1,2}, J. Svačinová², K. Budinskaya¹, J. Šťastná³, H. Hrstková^{2,3}

¹Fyziologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno; ²Mezinárodní centrum klinického výzkumu, Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně; ³Pediatrická klinika FN Brno, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno

Jeden z nejznámějších parametrů, tzv. „matoucí“ parametr, který zkresluje interpretaci vztahů závislé a nezávislé proměnné, je věk. Nedávná naše studie však ukázala (Závodná, *CJPP* 2006; 84: 1275-1283), že další takovou proměnnou v kardiovaskulárních studiích může být i často používaný srdeční interval (SI), ze kterého se vypočítává většina běžně stanovovaných parametrů hodnotících srdeční variabilitu. Cílem studie bylo ukázat, do jaké míry jsou parametry krátkodobé variability srdeční frekvence závislé na SI, popřípadě na srdeční frekvenci (SF).

Vyšetřili jsme celkem 433 zdravých dětí a adolescentů ve věku 11-20 let pomocí kontinuálního záznamu krevního tlaku po dobu 5 min s regulovaným dýcháním na 20 dechů/min. Ze záznamu byla stanovena průměrná hodnota SI [ms], SF [Hz] a jejich směrodatné odchylky (SI_{SD}, SF_{SD}) jako parametry krátkodobé variability.

V naší skupině jsme našli statisticky významnou závislost mezi věkem a SI ($r=0,437$; $p<0,001$) nebo věkem a SF ($r=-0,444$; $p<0,001$). Vztah mezi SI_{SD} a SI byl také statisticky významný ($r=0,549$; $p<0,001$), stejně tak byl SF_{SD} závislý na SF ($r=0,279$; $p<0,001$). Jednoduchá Pearsonova korelační analýza ukázala nezávislost SI_{SD} na věku ($r=0,007$; $p=NS$), ale SF_{SD} s věkem významně klesal ($r=-0,430$; $p<0,001$). Oba parametry variability (SI_{SD} i SF_{SD}) zkoumané multiregresní analýzou významně klesají s věkem ($p<0,001$). Zatímco multiregresní analýza potvrdila velmi těsný vztah mezi SI_{SD} a SI ($p<0,001$), tak vztah mezi SF_{SD} a SF byl výrazně oslaben ($p<0,05$).

Závěrem můžeme shrnout, že celková variabilita srdeční frekvence stanovená jako směrodatná odchylka (SI_{SD} i SF_{SD}) ve věkovém rozmezí 11-20 let klesá. Tento fakt nebylo dříve možno klasickou korelační analýzou ukázat, protože variabilita srdeční frekvence běžně počítána jako směrodatná odchylka (SI_{SD}) ze srdečního intervalu je na průměrném SI významně závislá. Průměrná hodnota SI v této souvislosti sehrává úlohu „matoucí“ proměnné, která zastřela vývojové změny variability.

ÚČINEK PODÁVÁNÍ ATORVASTATINU NA EXPRESI ENDOGLINU PŘI ZÁNĚTU NAVOZENÉM TNF α U PRIMÁRNÍ KULTURY HUVEC

Zemánková L., Stráský Z., Nachtigal P.

*Katedra biologických a lékařských věd, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Univerzita
Karlova v Praze, Česká republika*

Endoglin (CD 105, TGF β RIII) je součástí TGF β receptorového komplexu a reguluje tak účinky TGF β signalizační kaskády. Je exprimován cévním endotelem, buňkami hladké svaloviny, fibroblasty, makrofágy a je studován v souvislosti s řadou patologických stavů, včetně aterogeneze. V předchozích studiích jsme pozorovali zvyšování exprese endoglinu v aortě a změny hladin jeho solubilní formy v krvi u hypercholesterolemických myší, v této studii jsme se zaměřili na ověření těchto výsledků na úrovni *in vitro* u primární kultury HUVEC.

Pro navození zánětu byl k buňkám přidáván TNF α (10ng/ml) a DMSO (0,1%) byl použit u kontrolní skupiny. Doba expozice byla 2, 4, 6 a 24 hodin. Atorvastatin byl podáván 24 hodin před indukci zánětu v koncentracích 1 μ M, 3 μ M a 5 μ M. Exprese endoglinu byla stanovena pomocí průtokové cytometrie. Koncentrace solubilního endoglinu byly změřeny metodou ELISA ve vzorcích média.

Podávání samotného TNF α po dobu 24 hodin vedlo ke statisticky významnému poklesu exprese endoglinu v buňkách ($p < 0,001$; $n=4$) a zároveň došlo k signifikantnímu zvýšení hladin solubilního endoglinu v médiu ($p < 0,01$; $n=4$). Naopak, po 2, 4 a 6 hodinách podávání samotného TNF α nebyl nalezen statisticky významný rozdíl v expresi endoglinu. Přidání atorvastatinu v koncentraci 3 μ M a 5 μ M v časovém intervalu 4 a 6 hodin expozice TNF α vedlo k signifikantnímu nárůstu exprese endoglinu v porovnání s buňkami ($p < 0,05$; $n=4$), které byly exponovány pouze vlivu TNF α .

Závěrem lze říci, že exprese endoglinu a hladiny solubilního endoglinu se mění vlivem zánětu u endoteliálních buněk HUVEC. Atorvastatin je schopen zabránit poklesu exprese endoglinu při zánětu navozeném TNF α , což je v souladu s našimi předchozími *in vivo* experimenty.

Práce byla finančně podpořena Grantovou agenturou UK, číslo grantu 300811/C, a také grantem SVV/2012/265003.

BUNKOVÁ ENERGETIKA MYOKARDU V NORME A V PATOLÓGII

Attila Ziegelhöffner, Miroslav Ferko, Jana Mujkošová, Ján Styk, Tanya Ravingerová

Ústav pre výskum srdca SAV, Centrum excelencie NOREG, Bratislava

Prvopočiatky bádania a rozhodujúce objavy v bunkovej energetike myokardu väčšinou siahajú do predhitlerovského Nemecka, kde v prvých rokoch minulého storočia pracovali na legendárnom Keiser Wilhelm's Institut v Berlíne Sir Hans Krebs, Hans-Ulrich Bergmeyer, Karl Lohmann, Fernandez Ochoa a ďalší, z ktorých sa neskôr viacerí stali nositeľmi Nobelovej ceny. Na tomto pracovisku boli definované základné metabolické dráhy produkcie a odbúravania ATP a kreatínfosfátu (CrP) v kardiomyocytoch. Tieto boli najmä po druhej svetovej vojne detailne spresnené v rôznych fyziologických a patologických podmienkach. Objasnila sa kľúčová úloha CrP v molekulovom mechanizme vnútrobunkového prenosu energie. Stanovenie časového priebehu syntézy aj odbúravania ATP odhalilo, že až po stupeň adenosínu prebiehajú tieto reakcie veľmi rýchlo. Vyžadujú iba sekundy, a preto funkčné preťaženie či patologické podmienky ovplyvňujú mieru deplécie energie v myokarde hlavne kapacitne. Ak sa však ATP odbúra pod stupeň AMP, stáva sa jeho resyntéza veľmi pomalá, môže trvať hodiny aj dni. Sledovanie dynamiky hladín ATP a CrP umožnilo pomerne presne stanoviť hypoxickú a ischemickú toleranciu (IT) myokardu, ktorá je závislá aj od teploty a vyjadruje sa ako dĺžka doby potrebnej na post-ischemickú resuscitáciu srdca. Tieto nálezy našli uplatnenie najmä v kardiochirurgii. Detailné, krok za krokom sledovanie reakcií energetického metabolizmu myokardu v súvislosti s funkciou glykolytického cyklu a funkciami mitochondrií odhalilo potenciálne miesta cielených zásahov za účelom bezpečného predĺženia IT najmä počas prenosu a transplantácie srdca. S týmto cieľom sa viac-menej úspešne podávali: exogénny adenosín, inozín, rôzne deriváty CrP, ATP, sukcinát, persantin, K-Mg, aspartát atď., s využitím hypotermie, hyperbarie a odnímania sodíka a vápnika. Súčasný technologický pokrok umožňuje sledovanie procesov energetického metabolizmu v myokarde nielen *in vitro*, v homogenátoch z tkaniva a izolovaných subcelulárnych časticiach, ale aj v celých zväzkoch svalových vlákien, či pomocou NMR aj priamo v bijúcom srdci. Viedlo to k zisteniu, že myokardu má schopnosť čiastočnej adaptácie na ischémiu, hypoxiu, diabetes aj hypertenziu a tento proces je spojený s pozorovateľným kompenzačným odľahčením energetickej nedostatočnosti.

Podpora: *Granty VEGA 2/0620/10, 2/ 7126/27, 2/0173/08, 1/0755/09, 1/0142/09, 2/0115/10, 2/0101/12, 1/0668/11 a APVV-0102-11.*