

POLISH ACADEMY OF SCIENCES KRAKOW BRANCH
COMMISSION OF MEDICAL SCIENCE
JAGIELLONIAN UNIVERSITY MEDICAL COLLEGE

FOLIA MEDICA CRACOVIENSIA

Vol. LV Supplement 1
2015

KRAKOW

FOLIA MEDICA CRACOVIENSIA (*Folia Med Cracov*)

The Official Journal of the Commission of Medical Science
of the Polish Academy of Sciences Krakow Branch
and the Jagiellonian University Medical College

ESTABLISHED 1959

Indexed in PubMed

PUBLISHER

Polish Academy of Sciences & the Jagiellonian University Medical College

EDITOR-IN-CHIEF

Prof. Piotr J. Thor

VICE EDITOR-IN-CHIEF

Prof. Kalina Kawecka-Jaszcz

SECRETARY EDITOR

Dr Krzysztof Gil

EDITORIAL BOARD MEMBERS

Prof. Benjamin Chain (London, UK), Prof. Paul Enck (Tübingen, Germany),
Prof. Tomasz Grodzicki (Kraków, Poland), Prof. Maciej Małecki (Kraków, Poland),
Prof. Janusz Marcinkiewicz (Kraków, Poland), Prof. Franz H. Messerli (New York, USA),
Prof. Jacek Musiał (Kraków, Poland), Prof. Wiesław Pawlik (Kraków, Poland),
Prof. Jacek J. Pietrzyk (Kraków, Poland)

ADDRESS

ul. Czysza 18, 31-121 Kraków, Poland
e-mail: folmedcrac@pan.pl; <http://fmc.czasopisma.pan.pl>

© *Copyright by Authors, Polish Academy of Sciences
and the Jagiellonian University Medical College*

Set and printed by FALL, ul. Garczyńskiego 2, 31-524 Kraków

Projekt współfinansowany ze środków
Krajowego Naukowego Ośrodka Wiodącego
2012-2017

POLISH ACADEMY OF SCIENCES KRAKOW BRANCH
COMMISSION OF MEDICAL SCIENCE
JAGIELLONIAN UNIVERSITY MEDICAL COLLEGE

Vol. LV Supplement 1

2015

FOLIA MEDICA CRACOVIENSIA



**XX Sympozjum Sekcji Kardiologii Eksperymentalnej
Polskiego Towarzystwa Kardiologicznego
oraz
Komitetu Nauk Fizjologicznych i Farmakologicznych
Polskiej Akademii Nauk
przy udziale Instytutu Kardiologii Uniwersytetu Jagiellońskiego
Collegium Medicum w Krakowie
TOMASZOWICE k. Krakowa, 19-21.11.2015**

ABSTRACTS/STRESZCZENIA

XX SYMPOZJUM SEKCJI KARDIOLOGII EKSPERYMENTALNEJ

Miejsce obrad:
DWÓR W TOMASZOWICACH
Krakowskie Centrum Konferencyjne
tel: +48 12 614-08-29 szkolenia@dwor.pl www.dwor.pl

KOMITET NAUKOWY

XX Sympozjum Sekcji Kardiologii Eksperymentalnej

Prof. Maciej Kurpisz, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu — przewodniczący
Prof. Andrzej Beręsewicz, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa
Prof. Ewa Chabielska, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
Dr hab. Agnieszka Cudnoch-Jędrzejewska, Warszawski Uniwersytet Medyczny
Dr hab. Ewa Łucja Stępień, Uniwersytet Jagielloński
Dr hab. Tomasz Wierzba, Gdański Uniwersytet Medyczny
Prof. Krzysztof Żmudka, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum

KOMITET ORGANIZACYJNY

XX Sympozjum Sekcji Kardiologii Eksperymentalnej

Dr hab. Ewa Łucja Stępień, Uniwersytet Jagielloński — przewodnicząca
Dr hab. Roman Pfitzner, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum — wiceprzewodniczący
Dr hab. Agnieszka Cudnoch-Jędrzejewska, Warszawski Uniwersytet Medyczny
Dr hab. Tomasz Wierzba, Gdański Uniwersytet Medyczny

SPONSORZY

XX Sympozjum Sekcji Kardiologii Eksperymentalnej

Konsorcjum Naukowe Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum
i Instytutu Farmakologii PAN, ze środków KNOW



Komitet Nauk Fizjologicznych i Farmakologicznych
Polskiej Akademii Nauk
Bionicum Sp. z o.o.

CONTENTS/SPIS TREŚCI

PROGRAM SYMPOZJUM	9
ABSTRACTS/STRESZCZENIA	13
Efekty jonowe w genecie, propagacji i pomiarze EKG. TEODOR BUCHNER.....	13
Wpływ zawału serca oraz diety wysokotłuszczowej na ekspresję układu apelinergicznego i wazopre-synergicznego. KATARZYNA CZARZASTA, OLENA WOJNO, AGATA GONDEK, AGNIESZKA CUDNOCH-JĘDRZEJEWSKA	14
Wpływ simwastatyny oraz prawastatyny na regulację ciśnienia tętniczego zależną od angiotensyny II. ADRIAN DRAPAŁA, MARIUSZ SIKORA	16
Stres oksydacyjny i zmiany ekspresji homologów Nox1, Nox2 i Nox4 oksydazy NADPH w sercu szczura w cukrzycy. Wpływ treningu fizycznego i pokarmowych azotynów. ANNA GAJOS-DRAUS, ANDRZEJ BERĘSEWICZ.....	17
Rola płytek krwi i śródbłonna naczyniowego w mechanizmie prozakrzepowego działania aldosteronu. ANNA GROMOTOWICZ-POPŁAWSKA, KAROL KRAMKOWSKI, ANNA GRĄDZKA, WOJCIECH MILTYK, PATRYCJUSZ KOŁODZIEJCZYK, PAWEŁ DRĄGOWSKI, JANUSZ SZEMRAJ, EWA CHABIELSKA.....	19
Nowe mutacje w genie BAG3 i ich rola w patogenezie kardiomiopatii rozstrzeniowej. ŁUKASZ HUTNIK, FILIP GARBICZ, RAFAŁ PŁOSKI, PAWEŁ WŁODARSKI	21
NAD and NMN degradation on the endothelial surface of aortic valve. PAULINA JABŁOŃSKA, BARBARA KUTRYB-ZAJĄC, PAULINA ŻUKOWSKA, MARTA TOCZEK, ROMUALD LANGO, JAN ROGOWSKI, RYSZARD T. SMOLEŃSKI, EWA M. SŁOMIŃSKA	23
Przeciwnzakrzepowe i przeciwpłytkowe efekty działania wybranych donorów zredukowanej postaci tlenu azotu (HNO) — badania wstępne. URSZULA RYKACZEWSKA, DOMINIKA JARMOC, NATALIA MARCIŃCZYK, AGNIESZKA LESZCZYŃSKA, ANNA GROMOTOWICZ-POPŁAWSKA, MARCIN STRZYŻ, ADAM SIKORA, KAROL KRAMKOWSKI, EWA CHABIELSKA	24
Wpływ częstości rytmu serca na właściwości mechaniczne lewej komory. MARIA JĘDRZEJCZAK, URSZULA MACKIEWICZ, MICHAŁ MĄCZEWSKI, MONIKA PETELCZYC.....	25
Skuteczność i bezpieczeństwo kationowych kopolimerów blokowych w parenteralnej terapii przeciwnzakrzepowej. BARTŁOMIEJ KAŁASKA, KAMIL KAMIŃSKI, JOANNA MIKŁOSZ, SHIN-ICHI YUSA, AGNIESZKA BŁAŻEJCZYK, JOANNA WIETRZYK, ALICJA LEWANDOWSKA, IRENA KASACKA, KRZYSZTOF SZCZUBIAŁKA, DARIUSZ PAWLAK, MARIA NOWAKOWSKA, ANDRZEJ MOGIELNICKI.....	28
Effect of angiotensin converting enzyme inhibitors and statins on the expression of coagulation factors in the narrow aortic valves — associations with calcification, neovascularization and inflammation in aortic stenosis. PRZEMYSŁAW KAPUSTA, PIOTR MAZUR, JOANNA NATORSKA, EWA WYPASEK, JERZY SADOWSKI, ANETTA UNDA.....	30

Association of carotid plaque morphology and heart and brain-related miRNAs expression in patients with ischemic stroke related to internal carotid artery stenosis. IZABELA KARCH, ANNA KABŁAK-ZIEMBICKA, EWA STĘPIEŃ, RAFAŁ BADACZ, FRANCISCO J. ENGUITA, JACEK GACOŃ, KRZYSZTOF ŻMUDKA, PIOTR PODOLEC, TADEUSZ PRZEWŁOCKI	32
Czy receptory CB ₁ i CB ₂ wraz z ich endogennymi agonistami uczestniczą w modulacji skurczu wywołanego podaniem analogu tromboksanu A ₂ w izolowanych tętnicach płucnych człowieka? OLGA KARPIŃSKA, MARTA BARANOWSKA-KUCZKO, MONIKA KŁOZA, AGNIESZKA GĘGOTEK, PIOTR DZIĘGIELEWSKI, IRENA KASACKA, HANNA KOZŁOWSKA	34
Wpływ wieku na występowanie komorowych zaburzeń rytmu po zawale lewej komory w sercu szczura. MARTA KĘPSKA, JOANNA KOŁODZIEJCZYK, ALEKSANDRA PATEREK, URSZULA MACKIEWICZ, MICHAŁ MĄCZEWSKI	36
Does perivascular tissue of human radial artery — conduit used in coronary artery bypass grafting, possess anticontractile properties? KAROLINA KOCISZEWSKA, MAREK A. DEJA	38
Czy beta bloker III generacji, nebiwolol, skuteczniej niż metoprolol hamuje przebudowę mięśnia sercowego po zawale serca u szczura? Badanie na poziomie narządu i komórek. JOANNA KOŁODZIEJCZYK, MARTA KĘPSKA, ALEKSANDRA PATEREK, MICHAŁ MĄCZEWSKI, URSZULA MACKIEWICZ	39
Kardiomiopatia takotsubo w modelu indukowanym isoprenalina — analiza histopatologiczna serc szczurów płci żeńskiej. AGNIESZKA KOŁODZIŃSKA, BENEDYKT SZCZEPANKIEWICZ, KATARZYNA CZARZASTA, MONIKA BUDNIK, RENATA GŁÓWCZYŃSKA, ANNA FOJT, SONIA BORODZICZ, ŁUKASZ KOPERSKI, AGNIESZKA CUDNOCH-JĘDRZEJEWSKA, BARBARA GÓRNICKA, GRZEGORZ OPOLSKI	41
Kardiomiopatia takotsubo indukowana isoprenalina w modelu szczurzym — różnice zależne od płci. AGNIESZKA KOŁODZIŃSKA, KATARZYNA CZARZASTA, MONIKA BUDNIK, RENATA GŁÓWCZYŃSKA, ANNA FOJT, SONIA BORODZICZ, AGNIESZKA CUDNOCH-JĘDRZEJEWSKA, BARBARA GÓRNICKA, GRZEGORZ OPOLSKI	43
Polyhedrocytes in whole blood clots of patients with well-controlled type 2 diabetes: a role of plasma fibrin clot properties. BARBARA KOŚCIELNIAK, MICHAŁ ZĄBCZYK, JAKUB SIUDUT, MAŁGORZATA KONIECZYŃSKA, GRZEGORZ GAJOS, KRZYSZTOF PLENS, ANETTA UNDA	45
Wpływ stresu oksydacyjnego na bioenergetyczne funkcje komórek układu sercowo-naczyniowego — nowe techniki badawcze. PAWEŁ KOWALCZYK	47
Ochronne działanie układu opioidowego na czynność niedotlenionego ludzkiego mięśnia sercowego w warunkach in vitro. MAREK KUNECKI, TOMASZ ROLEDER, JOLANTA BIERNAT, WOJCIECH PŁAZAK, PIOTR PODOLEC, MAREK A. DEJA, KRZYSZTOF S. GOŁBA	48
Vascular ecto-adenosine deaminase (eADA) in the development of atherosclerosis and anti-atherosclerotic effects of eADA inhibitors. BARBARA KUTRYB-ZAJĄC, ŁUKASZ MATEUSZUK, PAULINA ŻUKOWSKA, ALICJA BULIŃSKA, MARTA TOCZEK, EWA M. SŁOMIŃSKA, STEFAN CHŁOPICKI, RYSZARD T. SMOLEŃSKI	50
Przebudowa funkcjonalna kardiomiocytów prawej komory w niewydolności serca spowodowanej rozległym zawałem lewej komory w sercu szczura. ALEKSANDRA PATEREK, JOANNA KOŁODZIEJCZYK, MARTA KĘPSKA, MICHAŁ MĄCZEWSKI, URSZULA MACKIEWICZ	52

Zastosowanie edycji genomu do korekcji fenotypu kardiomiocytów uzyskanych z komórek iPS od pacjentów z ataksją Friedrieicha. NATALIA ROZWADOWSKA, YANJIE LI, ANGELA BHALLA, JILL BUTLER, TOMASZ KOLANOWSKI, MAREK NAPIERALA	54
Wpływ ekspresji koneksyny 43 w ludzkich komórkach miogennych na poziom zjawisk arytmogennych w modelu szczura pozawałowego. ANNA RUGOWSKA, BARTOSZ WIERNICKI, TOMASZ KOLANOWSKI, AGNIESZKA ZIMNA, NATALIA ROZWADOWSKA, MICHAŁ MĄCZEWSKI, URSZULA MACKIEWICZ, WOJCIECH ŁABĘDŹ, TOMASZ TRZECIAK, JACEK KACZMARCZYK, MACIEJ KURPISZ	56
Siarkowodór potencjalizuje hipotensyjne działanie losartanu u szczurów z nadciśnieniem tętniczym. MARIUSZ SIKORA, ADRIAN DRAPAŁA, MARCIN UFNAŁ	58
Odnierwienie nerek zmniejsza efekt hipotensyjny amlodypiny oraz metoprololu. JANUSZ SKRZYPECKI, PIOTR KONOPELSKI, MARCIN UFNAŁ	59
Wzrost stężenia siarkowodoru w jelicie grubym obniża ciśnienie tętnicze u szczurów. LENKA TOMASOVA, KAROL ONDRIAS, KINGA PHAM, MARCIN UFNAŁ	60
Wpływ sodo-zależnego nadciśnienia tętniczego na regulację napięcia środkowej tętnicy mózgu i tętnicy zaopatrującej mięsień szkieletowy szczura. ANETA USZYŃSKA, KRZYSZTOF H. OLSZYŃSKI, EWA KOŹNIEWSKA	61
Wpływ antagonistów receptorów kannabinoidowych na dodatni efekt chronotropowy i inotropowy izoprenaliny w izolowanych przedsionkach serca szczura. JOLANTA WERESA, ANNA PĘDZIŃSKA-BETIUK, BARBARA MALINOWSKA.....	63
Exercise capacity and cardiac hemodynamic response in ApoE/LDLR ^{-/-} mice: a paradox of preserved V'O _{2max} and exercise capacity despite coronary atherosclerosis. MARTA WOJEWODA, URSZULA TYRANKIEWICZ, PAWEŁ GWÓDŹ, TOMASZ SKÓRKA, MAGDALENA JABŁOŃSKA, ANNA OŻYŁOWSKA, KRZYSZTOF JASIŃSKI, AGNIESZKA JASZTAŁ, KAMIL PRZYBOROWSKI, RENATA KOSTOGRYS, JERZY A. ŻOŁĄDŹ, STEFAN CHŁOPICKI.....	65
Wzrost aktywności układu oksytcynergicznego w przebiegu pozawałowej niewydolności serca. AGNIESZKA WSÓŁ, LIANA PUCHALSKA, MAREK KUCH, AGNIESZKA CUDNOCH-JĘDRZEJEWSKA.....	66
Analiza przebiegu naczyń tętniczych przez beleczkę przegrodowo-brzeźną w sercach ludzi dorosłych. MIŁOSZ ZAJĄCZKOWSKI, ADAM KOŚCIŃSKI, AGATA KACZYŃSKA, MAREK GRZYBIAK.....	68
Wpływ zahamowania oksydazy ksantynowej na zmienność rytmu serca (HRV) podczas pobudzenia lub odbarczenia odruchu z chemoreceptorów tętniczych. STANISŁAW ZAJĄCZKOWSKI, PIOTR BADTKE, TOMASZ H. WIERZBA	70
Ocena ekspresji genów proangiogennych w warunkach hipoksji. AGNIESZKA ZIMNA, BARTOSZ WIERNICKI, TOMASZ KOLANOWSKI, AGNIESZKA MALCHER, WOJCIECH ŁABĘDŹ, ŁUKASZ KUBASZEWSKI, JACEK KACZMARCZYK, MACIEJ KURPISZ	72
O rozwoju zmienności rytmu serca płodu w łonie matki — wnioski z analizy nieliniowej. JAN J. ŻEBROWSKI, DANIEL MARKIEWICZ, DIRK HOYER, UWE SCHNEIDER	74
The role of ecto-5'-nucleotidase in aortic valve pathologies. PAULINA ŻUKOWSKA, BARBARA KUTRYB-ZAJĄC, AGNIESZKA JASZTAŁ, MARTA TOCZEK, PAWEŁ ROMASZKO, RYSZARD T. SMOLEŃSKI, EWA M. SŁOMIŃSKA.....	76

PROGRAM SYMPOZJUM
19–21.11.2015

CZWARTEK, 19.11.2015

- 16.00–18.30 Rejestracja uczestników
18.30–19.10 Wykład PLENARNY
prof. dr hab. Andrzej Beręsewicz
*Chcesz być zdrowy? Jedz buraczki. Pokarmowe azotany jako zapasowe źródło
ustrojowego tlenu azotu*
19.30 Kolacja

PIĄTEK, 20.11.2015

- 8.45–9.00 Otwarcie sympozjum
prof. dr hab. Maciej Kurpisz
dr hab. Ewa Stępień

Sesja I — Niewydolność i choroba niedokrwienna serca
Przewodniczący sesji: prof. dr hab. Maciej Kurpisz
dr hab. Ewa Stępień

- 9.00–9.20 *Wzrost aktywności układu oksytocynergicznego w przebiegu pozawałowej niewydolności serca.* A. Wsół, L. Puchalska, M. Kuch, A. Cudnoch-Jędrzejewska
9.20–9.40 *Wpływ wieku na występowanie komorowych zaburzeń rytmu po zawale lewej komory w sercu szczura.* M. Kępska, J. Kołodziejczyk, A. Paterek, U. Mackiewicz, M. Mączewski
9.40–10.00 *Wpływ ekspresji koneksyny 43 w ludzkich komórkach miogennych na poziom zjawisk arytmogennych w modelu szczura pozawałowego.* A. Rugowska, B. Wiernicki, T. Kolanowski, A. Zimna, N. Rozwadowska, M. Mączewski, U. Mackiewicz, W. Łabędź, T. Trzeciak, J. Kaczmarczyk, M. Kurpisz
10.00–10.20 *Wpływ częstości rytmu serca na właściwości mechaniczne lewej komory.* M. Jędrzejczak, U. Mackiewicz, M. Mączewski, M. Petelczyc
10.20–10.40 *Czy beta bloker III generacji, nebiwolol, skuteczniej niż metoprolol hamuje przebudowę mięśnia sercowego po zawale serca u szczura? Badanie na poziomie narządu i komórek.* J. Kołodziejczyk, M. Kępska, A. Paterek, M. Mączewski, U. Mackiewicz
10.40–11.00 *Przebudowa funkcjonalna kardiomiocytów prawej komory w niewydolności serca spowodowanej rozległym zawałem lewej komory w sercu szczura.* A. Paterek, J. Kołodziejczyk, M. Kępska, M. Mączewski, U. Mackiewicz
11.00–11.20 *Wpływ zawału serca oraz diety wysokotłuszczowej na ekspresję układu apelinergicznego i wazopresynergicznego.* K. Czarzasta, O. Wojno, A. Gondek, A. Cudnoch-Jędrzejewska

- 11.20–11.40 *Vascular ecto-adenosine deaminase (eADA) in the development of atherosclerosis and anti-atherosclerotic effects of eADA inhibitors.* B. Kutryb-Zajęc, Ł. Mateuszuk, P. Żukowska, A. Bulińska, M. Toczek, E.M. Słomińska, S. Chłopicki, R.T. Smoleński
- 11.40–12.00 Przerwa kawowa

Sesja II — Śródbłonek, naczynia cz. I
Przewodniczący sesji: prof. dr hab. Ewa Chabielska,
prof. dr hab. Stefan Chłopicki

- 12.00–12.20 *Polyhedrocytes in whole blood clots of patients with well-controlled type 2 diabetes: a role of plasma fibrin clot properties.* B. Kościelniak, M. Ząbczyk, J. Siudut, M. Koniczyńska, G. Gajos, K. Plens, A. Undas
- 12.20–12.40 *Przeciwwązkowe i przeciw płytkowe efekty działania wybranych donorów zredukowanej postaci tlenu azotu (HNO) — badania wstępne.* U. Rykaczewska, D. Jarmoc, N. Marcińczyk, A. Leszczyńska, A. Gromotowicz-Popławska, M. Strzyż, A. Sikora, K. Kramkowski, E. Chabielska
- 12.40–13.00 *Effect of angiotensin converting enzyme inhibitors and statins on the expression of coagulation factors in the narrow aortic valves — associations with calcification, neovascularization and inflammation in aortic stenosis.* P. Kapusta, P. Mazur, J. Natorska, E. Wypasek, J. Sadowski, A. Undas
- 13.00–13.20 *Ocena ekspresji genów proangiogennych w warunkach hipoksji.* A. Zimna, B. Wiernicki, T. Kolanowski, A. Malcher, W. Łabędź, Ł. Kubaszewski, J. Kaczmarczyk, M. Kurpisz
- 13.20–13.40 *Does perivascular tissue of human radial artery — conduit used in coronary artery bypass grafting, possess anticontractile properties?* K. Kociszewska, M.A. Deja
- 14.00–15.00 Obiad
- 15.00–15.20 dr inż. Paweł Kowalczyk, Bionicum Sp. z o.o.
Wpływ stresu oksydacyjnego na bioenergetyczne funkcje komórek układu sercowo-naczyniowego — nowe techniki badawcze

Sesja III — Śródbłonek, naczynia cz. II
Przewodniczący sesji: dr hab. Agnieszka Cudnoch-Jędrzejewska,
dr hab. Urszula Mackiewicz

- 15.20–15.40 *Skuteczność i bezpieczeństwo kationowych kopolimerów blokowych w parenteralnej terapii przeciwwązkowej.* B. Kałaska, K. Kamiński, J. Mikłosz, S. Yusa, A. Błażejczyk, J. Wietrzyk, A. Lewandowska, I. Kasacka, K. Szczubiałka, D. Pawlak, M. Nowakowska, A. Mogielnicki
- 15.40–16.00 *Czy receptory CB_1 i CB_2 wraz z ich endogennymi agonistami uczestniczą w modulacji skurczu wywołanego podaniem analogu tromboksanu A_2 w izolowanych tętnicach płucnych człowieka?* O. Karpińska, M. Baranowska-Kuczko, M. Kloza, A. Gęgotek, P. Dzięgielewski, I. Kasacka, H. Kozłowska

- 16.00–16.20 *Association of carotid plaque morphology and heart and brain-related miRNAs expression in patients with ischemic stroke related to internal carotid artery stenosis.* I. Karch, A. Kablak-Ziembicka, E. Stępień, R. Badacz, F.J. Enguita, J. Gacoń, K. Żmudka, P. Podolec, T. Przewłocki
- 16.20–16.40 *Rola płytek krwi i śródbłonna naczyniowego w mechanizmie prozakrzepowego działania aldosteronu.* A. Gromotowicz-Popławska, K. Kramkowski, A. Grądzka, W. Milyk, P. Kołodziejczyk, P. Drągowski, J. Szemraj, E. Chabielska
- 16.40–17.00 *Exercise capacity and cardiac hemodynamic response in ApoE/LDLR^{-/-} mice: a paradox of preserved V'O_{2max} and exercise capacity despite coronary atherosclerosis.* M. Wojewoda, U. Tyrankiewicz, P. Gwóźdź, T. Skórka, M. Jabłońska, A. Ozyłowska, K. Jasiński, A. Jaształ, K. Przyborowski, R. Kostogrys, J.A. Żołądź, S. Chłopicki
- 17.00–17.20 *Stres oksydacyjny i zmiany ekspresji homologów Nox1, Nox2 i Nox4 oksydazy NADPH w sercu szczura w cukrzycy. Wpływ treningu fizycznego i pokarmowych azotynów.* A. Gajos-Draus, A. Beręsewicz
- 17.20–17.50 Przerwa kawowa

Sesja IV — Kardiomiopatie. Choroba niedokrwienna serca
Przewodniczący sesji: dr hab. Ryszard T. Smoleński

- 17.50–18.10 *Nowe mutacje w genie BAG3 i ich rola w patogenezie kardiomiopatii rozstrzeniowej.* Ł. Hutnik, F. Garbicz, R. Płoski, P. Włodarski
- 18.10–18.30 *Ochronne działanie układu opioidowego na czynność niedotlenionego ludzkiego mięśnia sercowego w warunkach in vitro.* M. Kunecki, T. Roleder, J. Biernat, W. Płazak, P. Podolec, M.A. Deja, K.S. Gołba
- 18.30–18.50 *Kardiomiopatia takotsubo w modelu indukowanym isoprenaliną — analiza histopatologiczna serc szczurów płci żeńskiej.* A. Kołodzińska, B. Szczepankiewicz, K. Czarzasta, M. Budnik, R. Głowczyńska, A. Fojt, S. Borodzicz, Ł. Koperski, A. Cudnoch-Jędrzejewska, B. Górnicka, G. Opolski
- 18.50–19.10 *Kardiomiopatia takotsubo indukowana isoprenaliną w modelu szczurzym – różnice zależne od płci.* A. Kołodzińska, K. Czarzasta, M. Budnik, R. Głowczyńska, A. Fojt, S. Borodzicz, A. Cudnoch-Jędrzejewska, B. Górnicka, G. Opolski
- 19.10–19.40 Spotkanie Zarządu Sekcji
- 20.00 Kolacja

SOBOTA, 21.11.2015

Sesja V — Nadciśnienie tętnicze. Regulacja odruchowa
Przewodniczący sesji: prof. dr hab. Andrzej Beręsewicz

- 9.00–9.20 *Wpływ sodo-zależnego nadciśnienia tętniczego na regulację napięcia śródkowej tętnicy mózgu i tętnicy zaopatrującej mięsień szkieletowy szczura.* A. Uszyńska, K.H. Olszyński, E. Koźniewska

- 9.20–9.40 *Wpływ simwastatyny oraz prawastatyny na regulację ciśnienia tętniczego zależną od angiotensyny II.* A. Drapała, M. Sikora
- 9.40–10.00 *Siarkowodor potencjalizuje hipotensyjne działanie losartanu u szczurów z nadciśnieniem tętniczym.* M. Sikora, A. Drapała, M. Ufnal
- 10.00–10.20 *Wzrost stężenia siarkowodoru w jelicie grubym obniża ciśnienie tętnicze u szczurów.* L. Tomasova, K. Ondrias, K. Pham, M. Ufnal
- 10.20–10.40 *Odnerwienie nerek zmniejsza efekt hipotensyjny amlodypiny oraz metoprololu.* J. Skrzypecki, P. Konopelski, M. Ufnal
- 10.40–11.00 *Wpływ zahamowania oksydazy ksantynowej na zmienność rytmu serca (HRV) podczas pobudzenia lub odbarczenia odruchu z chemoreceptorów tętniczych.* S. Zajączkowski, P. Badtke, T.H. Wierzba
- 11.00–11.30 Przerwa kawowa

Sesja VI — Varia

Przewodniczący sesji: dr hab. Tomasz Wierzba

- 11.30–11.50 *Analiza przebiegu naczyń tętniczych przez beleczkę przegrodowo-brzeżną w sercach ludzi dorosłych.* M. Zajączkowski, A. Kosiński, A. Kaczyńska, M. Grzybiak
- 11.50–12.10 *Zastosowanie edycji genomu do korekcji fenotypu kardiomiocytów uzyskanych z komórek iPS od pacjentów z ataksją Friedriecha.* N. Rozwadowska, Y. Li, A. Bhalla, J. Butler, T. Kolanowski, M. Napierała
- 12.10–12.30 *Efekty jonowe w genezie, propagacji i pomiarze EKG.* T. Buchner
- 12.30–12.50 *O rozwoju zmienności rytmu serca płodu w łonie matki — wnioski z analizy nieliniowej.* J.J. Żebrowski, D. Markiewicz, D. Hoyer, U. Schneider
- 12.50–13.10 *Wpływ antagonistów receptorów kannabinoidowych na dodatni efekt chronotropowy i inotropowy izoprenaliny w izolowanych przedsionkach serca szczura.* J. Weresa, A. Pędzińska-Betiuk, B. Malinowska
- 13.10–13.30 *The role of ecto-5'-nucleotidase in aortic valve pathologies.* P. Żukowska, B. Kutryb-Zajac, A. Jaształ, M. Toczek, P. Romaszko, R.T. Smoleński, E.M. Słomińska
- 13.30–13.50 *NAD and NMN degradation on the endothelial surface of aortic valve.* P. Jabłońska, B. Kutryb-Zajac, P. Żukowska, M. Toczek, R. Lango, J. Rogowski, R.T. Smoleński, E.M. Słomińska
- 13.50–14.50 Obiad
- 14.50 Zakończenie sympozjum

ABSTRACTS/STRESZCZENIA

EFEKTY JONOWE W GENEZIE,
PROPAGACJI I POMIARZE EKG

TEODOR BUCHNER

*Wydział Fizyki, Politechnika Warszawska
e-mail: buchner@if.pw.edu.pl*

W opisie teoretycznym powstawania, propagacji i pomiaru EKG obowiązującą powszechnie podstawą jest przybliżenie polowe, które zakłada, że wszelkie zmiany biopotencjałów powstające i rozchodzące się w organizmie mogą być opisane jako równoważne pole elektryczne, rozchodzące się z prędkością światła.

Niniejsze doniesienie ma na celu krytyczną analizę tego założenia, poczynając od paradygmatu potencjału czynnościowego, jakim jest prawo Nernsta.

Potencjał czynnościowy w prawie Nernsta nie jest rzeczywistym potencjałem elektrycznym komórki, tylko przedstawieniem nierównowagi stężeń za pośrednictwem równoważnej wielkości elektrycznej. Jedyne podobieństwo między nimi jest takie, że i różnica stężeń, i różnica potencjału może prowadzić do przepływu prądu jonowego. Stosunek stężeń pomiędzy komórką i przestrzenią zewnątrzkomórkową zależy zaś na przykład od objętości przestrzeni — jak wiadomo, neurony mielinowe, dla których objętość jest ograniczona — przewodzą szybciej niż komórki, w otoczeniu których nie ma struktur ograniczających objętość. Kardiomiocyt w obrębie włókna mięśniowego jest w równowadze termodynamicznej z praktycznie nieskończonym buforem elektrolitu, jakim jest osocze krwi i płyn zewnątrzkomórkowy. Całkowity wypływ jonów sodu podczas jednego cyklu pracy serca jest o 5 rzędów wielkości niższy niż całkowita ilość jonów sodu w płynach ustrojowych. Kolejnym interesującym obiektem badawczym jest szlak propagacji potencjału czynnościowego do powierzchni skóry. Tu najważniejsze pytanie dotyczy udziału mechanizmów polaryzacji tkanki w zjawisku propagacji. Innymi słowy, jest to pytanie, czy mechanizm propagacji jest jonoselektywny: czy wyrzut jednego jonu z serca powoduje zmianę równowagi populacji wszystkich elektrolitów czy tylko jonów danego pierwiastka. Dyskutowana jest również specyfika pomiaru EKG i związek szumu wywołanego ruchem elektrody z procesem pomiaru.

WPŁYW ZAWAŁU SERCA ORAZ DIETY WYSOKOTŁUSZCZOWEJ NA EKSPRESJĘ UKŁADU APELINERGICZNEGO I WAZOPRESYNERGICZNEGO

KATARZYNA CZARZASTA, OLENA WOJNO, AGATA GONDEK,
AGNIESZKA CUDNOCH-JĘDRZEJEWSKA

*Zakład Fizjologii Doświadczalnej i Klinicznej, Laboratorium Centrum Badań Przedklinicznych,
Warszawski Uniwersytet Medyczny
katarzyna.czarzasta@wum.edu.pl*

Wskaźnik zapadalności na zawał serca jest nadal bardzo wysoki, zwłaszcza u osób otyłych. Na podstawie dostępnego piśmiennictwa można przypuszczać, że w zawałach serca oraz otyłości dochodzi do istotnych zaburzeń ośrodkowej regulacji czynności układu krążenia, w których mogą uczestniczyć apelina (APLN) i wazopresyna (AVP). Wydaje się, że zmiany ekspresji receptorów APJ apelin (APJR) i/lub V1 wazopresyny (V1R) mogą znacząco wpływać na działanie powyższych peptydów oraz stanowić podłoże dla zaburzeń regulacji czynności układu sercowo-naczyniowego w pozawałowej niewydolności serca. Celem pracy było zbadanie, czy w zawałach serca u szczurów Sprague Dawley (SPRD), karmionych zgodnie z dietą standardową (NFD) lub wysokotłuszczową (HFD), dochodzi do zmian ekspresji mRNA receptorów APJ oraz receptorów V1a (V1aR) i V1b (V1bR) wazopresyny w mózgu, sercu oraz tkance tłuszczowej, a także zmian stężeń apeliny i kopeptyny w osoczu. Badania zostały przeprowadzone na normotensyjnych szczurach płci męskiej, szczepu SPRD, które od 4. tygodnia życia były poddawane przez okres 12 tygodni następującym procedurom: 1) karmienie zwierząt NFD lub HFD, 2) wywołanie zawału serca (ZS) lub operacja pozorowana (OP), 3) pobranie osocza, mózgu, serca i tkanki tłuszczowej, 4) badanie mRNA receptorów APJ oraz V1a i V1b (RT-PCR) w wybranych tkankach i narządach, 5) badanie stężenia apeliny, kopeptyny i NT-proBNP (ELISA) w osoczu. Wykazano istotny wzrost stężenia NT-proBNP w osoczu u zwierząt z zawałem serca. Nie stwierdzono istotnych różnic w osoczym stężeniu apeliny-36 między badanymi grupami szczurów. Stężenie kopeptyny w osoczu było istotnie wyższe u szczurów ZS, zarówno NFD, jak i HFD. Pozawałowa niewydolność serca spowodowała istotny spadek ekspresji mRNA receptorów APJR, V1aR i V1bR w mózgu szczurów na obu dietach. W prawej komorze serca zaobserwowano istotny wzrost ekspresji mRNA APJR, V1aR i V1b u zwierząt ZS HFD. W lewej komorze serca wykazano istotny wzrost ekspresji mRNA APJR u wszystkich szczurów na diecie

HFD. Natomiast ekspresja mRNA V1aR oraz V1b w lewej komorze serca była istotnie większa u szczurów ZS będących na obu dietach w porównaniu do odpowiednich grup kontrolnych. Ekspresja mRNA APJR w tkance tłuszczowej uległa istotnemu wzrostowi pod wpływem ZS oraz *HFD*. Na podstawie przedstawionych wyników można wnioskować, że zawał serca oraz dieta wysokotłuszczowa mają wpływ na zmianę ekspresji mRNA, zarówno receptorów APJ, jak i V1a i V1b w mózgu, sercu oraz tkance tłuszczowej, co świadczy o udziale obu badanych układów w patogenezie pozawałowej niewydolności serca oraz otyłości.

WPLYW SIMWASTATYNY ORAZ PRAWASTATYNY NA REGULACJĘ CIŚNIENIA TĘTNICZEGO ZALEŻNĄ OD ANGIOTENSYNY II

ADRIAN DRAPAŁA, MARIUSZ SIKORA

*Zakład Fizjologii Doświadczalnej i Klinicznej, Laboratorium Centrum Badań Przedklinicznych,
Warszawski Uniwersytet Medyczny
e-mail: adrapala@wum.edu.pl*

Wstęp: W ostatnich latach pojawiły się doniesienia, że korzystne działanie statyn może być częściowo związane z ich wpływem na regulację ciśnienia tętniczego. Jednym z proponowanych mechanizmów hipotensyjnego działania tej grupy leków jest ich wpływ na działanie angiotensyny II (Ang II) w układzie krążenia. Celem badania było porównanie wpływu simwastatyny i prawastatyny na odpowiedź hemodynamiczną na Ang II.

Metodyka: Badanie zostało wykonane na szczurach normotensyjnych szczepu Sprague Dawley, płci męskiej. Zwierzęta przez okres 4 tygodni były pojone samą wodą lub wodnym roztworem simwastatyny lub prawastatyny. Następnie zostały wykonane pomiary ciśnienia tętniczego oraz częstości skurczów serca w warunkach podstawowych oraz po dożylniej infuzji soli fizjologicznej lub Ang II u zwierząt z zablokowanymi zwojami autonomicznymi za pomocą heksametonium lub bez tej blokady.

Wyniki: Zwierzęta kontrolne oraz pojone simwastatyną lub prawastatyną odpowiedziały wzrostem średniego ciśnienia tętniczego na dożylne podanie Ang II. Zaobserwowana odpowiedź presyjna w grupie pojętej simwastatyną była znacząco mniejsza niż w grupie kontrolnej oraz otrzymującej prawastatynę. Po infuzji Ang II uwidocznił się spadek częstości skurczów serca w grupie kontrolnej i pojętej simwastatyną, natomiast w grupie z prawastatyną zarejestrowana odpowiedź była dwufazowa, tzn. na początku zauważono spadek a następnie wzrost częstości skurczów serca. Z drugiej strony, u szczurów z zablokowanymi zwojami autonomicznymi odpowiedź presyjna na Ang II była podobna w obu grupach pojonych statynami i jednocześnie znacząco mniejsza niż w grupie kontrolnej. Ponadto nie zaobserwowano znaczących różnic w częstości skurczów serca pomiędzy grupami po zablokowaniu zwojów autonomicznych i podaniu Ang II.

Wnioski: Badanie pokazuje, że simwastatyna oraz prawastatyna w sposób zróżnicowany wpływają na zależne od Ang II mechanizmy regulujące ciśnienie tętnicze.

STRES OKSYDACYJNY I ZMIANY EKSPRESJI HOMOLOGÓW NOX1,
NOX2 I NOX4 OKSYDAZY NADPH
W SERCU SZCZURA W CUKRZYCY.
WPŁYW TRENINGU FIZYCZNEGO I POKARMOWYCH AZOTYNÓW

ANNA GAJOS-DRAUS, ANDRZEJ BERĘSEWICZ

*Zakład Fizjologii Klinicznej, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego w Warszawie
e-mail: anna_gajos@wp.pl; andrzej.beresewicz@cmkpk.edu.pl*

Cel pracy: Wspólnym elementem patomechanizmu różnych postaci choroby sercowo-naczyniowej (CVD) jest zwiększona naczyniowa produkcja reaktywnych form tlenu (ROS) skutkująca inaktywacją śródbłonkowego tlenku azotu (NO) i dysfunkcją śródbłonkową, o której wiadomo, że jest czynnikiem ryzyka zgonów w CVD. Mechanizm naczyniowego stresu oksydacyjnego (NSO) jest słabo poznany, czego dowodzi fakt, że próby zapobiegania CVD przy pomocy anty-oksydantów zakończyły się niepowodzeniem. Głównym źródłem naczyniowych ROS jest enzym oksydaza NADPH (Nox) posiadający różne izoformy, których fizjologia pozostaje niewyjaśniona. NSO u ludzi i zwierząt towarzyszy wzrost enzymatycznej aktywności Nox oraz wzrost ekspresji izoform Nox1 i Nox2. Stąd przekonanie, że „up-regulacja” Nox1/2 jest główną przyczyną NSO. Wiadomo jednak, że Nox1/2 produkują anionorodnik ponadtlenkowy (O_2^-) a izoforma Nox4 produkuje H_2O_2 i że substancje te mają przeciwstawne działania sygnalizacyjne. Dlatego udział Nox1/Nox2 i Nox4 w mechanizmie NSO może być różny, zwłaszcza że pokazano, iż farmakologiczna indukcja ekspresji Nox4, paradoksalnie, ma protekcyjne działanie naczyniowe, a eliminacja genu Nox4 skutkuje niekorzystnymi efektami śródbłonkowymi. Celem ogólnym pracy jest zbadanie indywidualnej roli izoform Nox w mechanizmie NSO, w tym weryfikacja hipotezy, że przyczyną NSO jest obok „upregulacji” Nox1/2 także „down-regulacja” Nox4. Celem szczegółowym jest zbadanie wpływu treningu fizycznego i pokarmowej suplementacji azotynów (interwencje, o których wiadomo, że zapobiegają NSO i że, na drodze różnych mechanizmów, zwiększają produkcję NO) na sercową produkcję ROS oraz ekspresję Nox1/Nox2 i Nox4 w sercu szczura z eksperymentalną cukrzycą.

Metodyka: Badanie miało trzy etapy: (i) Eksperymenty *in vivo* na szczurach, w tym indukcja cukrzycy za pomocą streptozotocyny, 6-tygodniowy trening fizyczny na bieżni ruchomej i/lub 6-tygodniowe pojenie zwierząt wodą z azotynem sodu (50 mg/litr), pomiar azotynów we krwi jako miary ustrojowej produkcji NO; (ii) perfuzja *in vitro* serc zwierząt

z I etapu, pomiar w nich produkcji O_2^- metodą z cytochromem c, a następnie zamrożenie serc do badań biochemicznych; (iii) pomiar w homogenatach serc aktywności enzymatycznej Nox (met. spektrofotometryczna) i sercowej ekspresji Nox1, Nox2 i Nox4 (met. Western blot).

Wyniki i Wnioski: U szczurów z cukrzycą: (i) poziom glukozy był podwyższony; (ii) azotynów zmniejszony; (iii) trening i suplementacja azotynów nie wpływały na poziom glukozy, ale skutkowały wzrostem poziomu azotynów we krwi. Serca szczurów z cukrzycą miały zwiększoną o 100% produkcję O_2^- , o 30% aktywność Nox, natomiast ekspresja białka Nox1 i Nox2 była zwiększona, a Nox4 zmniejszona. Trening fizyczny oraz suplementacja azotynami wykazały działanie antyoksydacyjne poprzez obniżenie markerów naczyniowego stresu oksydacyjnego. W rezultacie istniała odwrotna liniowa zależność między ekspresją Nox2 i Nox4. Spekulujemy, że (i) przyczyną jest zarówno „up-regulacja” toksycznych Nox1/2, jak i „down-regulacja” protekcyjnej Nox4; (ii) Nox1/2 i Nox4 mogą nawzajem regulować swoje ekspresje; (iii) czynnikiem pośredniczącym we wzajemnej regulacji Nox1/2 i Nox4 może być NO, którego produkcję zwiększył zarówno trening fizyczny, jak i azotyny (czego dowodzi wzrost poziomu azotynów we krwi stwierdzany kilka dni po zaprzestaniu treningu i/lub suplementacji azotynów).

ROLA PŁYTEK KRWI I ŚRÓDBŁONKA NACZYNIOWEGO W MECHANIZMIE PROZAKRZEPOWEGO DZIAŁANIA ALDOSTERONU

ANNA GROMOTOWICZ-POPŁAWSKA¹, KAROL KRAMKOWSKI¹, ANNA GRĄDZKA¹,
WOJCIECH MILTYK², PATRYCJUSZ KOŁODZIEJCZYK², PAWEŁ DRĄGOWSKI²,
JANUSZ SZEMRAJ³, EWA CHABIELSKA¹

¹Samodzielna Pracownia Biofarmacji, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

²Samodzielna Pracownia Analizy Leków, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

³Zakład Biochemii Medycznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

e-mail: anna.gromotowicz@umb.edu.pl

Wykazaliśmy wcześniej prozakrzepowe działanie aldosteronu (ALDO) w modelu zakrzepicy żyłnej i tętniczej u szczura (*Thromb Haemost*, 2007; *JRAAS* 2011, 2014). Mechanizm działania hormonu był częściowo zależny od udziału receptorów mineralokortykoidowych (MR), angiotensynowych AT₁ i glikokortykoidowych. Nasileniu procesu zakrzepowego przez ALDO towarzyszyła aktywacja układu krzepnięcia i osłabienie fibrynolizy. Biorąc pod uwagę fakt, iż oddziaływanie płytek krwi i ściany naczynia jest kluczowym elementem w inicjacji procesu zakrzepowego, celem niniejszej pracy była ocena roli płytek krwi i śródbłonna naczyniowego w mechanizmie prozakrzepowego działania ALDO.

Badania wykonano na myszach wykazujących ekspresję Green Fluorescent Protein (GFP) na płytkach krwi i komórkach śródbłonna w modelu zakrzepicy stymulowanej laserem. ALDO (10, 30, 100, 200 µg/kg) lub vehiculum (0,4% etanol; 2 ml/kg) podawano do żyły udowej 10 min. przed indukcją zakrzepicy. Proces kumulacji płytek krwi w miejscu uszkodzenia naczynia obserwowano w czasie rzeczywistym za pomocą mikroskopu fluorescencyjnego z przystawką konfokalną. Zmierzono intensywność fluorescencji GFP płytek krwi ulegających kumulacji, która świadczy o rozmiarze zakrzepu. Zbadano również poziom białka MR na płytkach krwi szczura metodą Western blot. Ponadto oceniono wpływ ALDO na funkcję komórek śródbłonna ludzkiej żyły pępowinowej w hodowli komórkowej. Komórki śródbłonna inkubowano z ALDO (10⁻⁷M) przez 10 i 120 min. w celu zróżnicowania działania niegenomowego i genomowego hormonu, następnie oznaczono stężenie wybranych parametrów hemostazy (TE, t-PA, PAI-I, vWf), stresu oksydacyjnego (H₂O₂, MDA), a także stężenie metabolitów tlenku azotu (NO) i ekspresję syntazy NO (eNOS i iNOS).

Zaobserwowano, że ALDO powoduje wzrost intensywności fluorescencji GFP w miejscu tworzenia zakrzepu, co wskazuje na zwiększoną adhezję płytek krwi do uszkodzonego śródbłonka. Wykazano po raz pierwszy obecność białka MR na płytkach krwi szczura. Zaobserwowano ponadto, iż 10-minutowa inkubacja komórek śródbłonka z ALDO spowodowała wzrost stężenia parametrów krzepnięcia i stresu oksydacyjnego oraz spadek stężenia parametrów fibrynolizy i metabolitów NO. Zmiany te były nasilone nieznacznie w komórkach inkubowanych z ALDO przez 120 min.

Podsumowując, nasiloną przez ALDO kumulacja płytek krwi, obecność białka MR na płytkach, a także aktywowany przez ALDO antyhemostatyczny potencjał śródbłonka dowodzą istotnej roli płytek krwi i śródbłonka naczyniowego w mechanizmie prozakrzepowego działania ALDO. Ponadto mechanizm działania hormonu zachodzi szlakiem niegenomowym.

NOWE MUTACJE W GENIE BAG3 I ICH ROLA W PATOGENEZIE KARDIOMIOPATII ROZSTRZENIOWEJ

ŁUKASZ HUTNIK¹, FILIP GARBICZ¹, RAFAŁ PŁOSKI², PAWEŁ WŁODARSKI¹

¹Katedra i Zakład Histologii i Embriologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny

²Zakład Genetyki Medycznej, Warszawski Uniwersytet Medyczny

e-mail: hutniklukasz@gmail.com

Kardiomiopatia rozstrzeniowa (*dilated cardiomyopathy* — DCM) jest strukturalną chorobą mięśnia sercowego prowadzącą do jego dysfunkcji skurczowej. Jest trzecią najczęstszą przyczyną niewydolności serca i najczęstszym wskazaniem do jego transplantacji. Niektóre formy DCM występują rodzinnie i dziedziczone są w sposób autosomalny dominujący.

Wśród genów odpowiedzialnych za powstawanie DCM opisane zostały mutacje w genie BAG3, a ich molekularny mechanizm patogeny udowodniono zarówno na modelach komórkowych, jak i zwierzęcych.

BAG3 jest cochaperonowym białkiem o właściwościach antyapoptotycznych o lokalizacji cytoplazmatycznej. Jego ekspresja zachodzi głównie w komórkach mięśnia sercowego oraz mięśni szkieletowych. Współpracując z białkami rodziny Hsp (białka szoku termicznego — *Heat Shock Proteins*), reguluje wrażliwość komórek na stres mechaniczny i ich podatność na apoptozę. W strukturze białka znajduje się domena PXXP odpowiedzialna m.in. za adhezję międzykomórkową oraz domena funkcjonalna BAG będąca częścią odpowiedzialną za regulacyjną rolę BAG3 w procesie apoptozy.

W populacji polskiej wśród sześciu rodzin z rodzinnie występującą DCM znaleźliśmy cztery nowe, wcześniej nieopisane mutacje w genie BAG3: jedna mutacja typu missense prowadząca do substytucji pojedynczego aminokwasu w funkcjonalnej domenie BAG (1359C>A), dwie delecje pojedynczej zasady w obrębie domeny PXXP prowadzące do zmiany ramki odczytu i powstania nowej sekwencji aminokwasowej oraz przedwczesnej terminacji transkrypcji (1055delC, 1135delG) oraz jedną mutację typu nonsense w obrębie domeny BAG (1363G>A).

W celu zbadania roli nowo odkrytych mutacji w patogenzie DCM wykorzystano ekspresyjne konstrukty plazmidowe kodujące pełnej długości mRNA dla BAG3. Wykorzystując ukierunkowaną mutagenezę, wygenerowano cztery warianty plazmidu o sekwencjach zawierających mutacje wykryte u pacjentów z DCM. W komórkach linii HEK 293 transfekowanych tymi plazmidami zbadano ekspresję BAG3 metodą western blot. Przy użyciu mikroskopii konfokalnej

określono lokalizację subkomórkową zmutowanych form BAG3 oraz zbadano ich wpływ na organizację cytoszkieletu aktynowego

W wyniku przeprowadzonych eksperymentów wykazano, że zmutowane formy BAG3 ulegają ekspresji w transfekowanych komórkach linii HEK 293. Wykazano, że lokalizacja komórkowa, cytoplazmatyczna dla dzikiej formy białka zmienia się dla form zmutowanych na rozlaną cytoplazmatyczną i jądrową lub na głównie jądrową (1135delG). W komórkach transfekowanych zmutowanymi formami BAG3 zaobserwowano degenerację cytoszkieletu aktynowego oraz zmianę kształtu komórek w stosunku do komórek transferowanych dziką formą genu.

Przedstawione zmiany strukturalne komórek transfekowanych wariantami BAG3 wpływają na ich czynność, co może świadczyć o ich udziale w patogenezie DCM. Prowadzone obecnie eksperymenty z użyciem linii kardiomiocytarnych stanowiąc będą dowód na bezpośrednią rolę odnalezionych mutacji w patogenezie tej choroby.

NAD AND NMN DEGRADATION ON THE ENDOTHELIAL SURFACE OF AORTIC VALVE

PAULINA JABŁOŃSKA¹, BARBARA KUTRYB-ZAJĄC¹, PAULINA ŻUKOWSKA¹, MARTA TOCZEK¹,
ROMUALD LANGO², JAN ROGOWSKI³, RYSZARD T. SMOLEŃSKI¹, EWA M. SŁOMIŃSKA¹

¹*Department of Biochemistry, Medical University of Gdansk, Poland*

²*Department of Cardiac Anesthesiology, Medical University of Gdansk, Poland*

³*Chair and Clinic of Cardiac and Vascular Surgery, Medical University of Gdansk, Poland*
e-mail: patrycja.s@gumed.edu.pl

Background: NAD reduced and oxidized forma are crucial elements of cellular redox system. However, NAD is also substrate for a wide range of intracellular and extracellular signaling pathways. Previous studies demonstrated important role of ecto-enzymes in control of extracellular nucleotide concentrations. In particular, diminished activities of enzymes that degrade nucleotides may affect extracellular concentrations of regulatory molecules. Purpose of this work was to examine the pathway for degradation of NAD⁺ and NMN on the surface of endothelial cells in stenotic and non-stenotic aortic valves.

Methods: Aortic valves were collected during valve replacement operations and used immediately for experiments. Specific area of fibrosa of valves was exposed to medium that contained NAD or NMN and metabolic changes were tracked by high performance liquid chromatography.

Results: This study demonstrated active degradation pathway for both NAD and NMN on the surface of aortic valve. On the fibrosa of stenotic vs. non-stenotic valves NAD breakdown activities were 0.22 ± 0.13 vs. 0.93 ± 0.25 ($p < 0.05$) while NMN degradation rates were 0.96 ± 0.28 , 1.07 ± 0.21 nmol/min/cm², respectively.

Conclusions: These results demonstrated that the extracellular enzymes involved in the catabolism of NAD⁺ and NMN are present on the surface of endothelium of aortic valves. Aortic stenosis reduces this enzymes activity that is consistent with previously identified change in ecto-5'-nucleotidase activity.

PRZECIWKAZRZEPOWE I PRZECIWPŁYTKOWE EFEKTY DZIAŁANIA
WYBRANYCH DONORÓW ZREDUKOWANEJ POSTACI
TLENKU AZOTU (HNO) — BADANIA WSTĘPNEURSZULA RYKACZEWSKA¹, DOMINIKA JARMOC², NATALIA MARCIŃCZYK²,
AGNIESZKA LESZCZYŃSKA², ANNA GROMOTOWICZ-POPŁAWSKA², MARCIN STRYŻYŻ²,
ADAM SIKORA³, KAROL KRAMKOWSKI², EWA CHABIELSKA²¹*Department of Molecular Medicine and Surgery, Karolinska Institutet, Stockholm*²*Samodzielna Pracownia Biofarmacji, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej,
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku*³*Międzyresortowy Instytut Techniki Radiacyjnej, Wydział Chemiczny, Politechnika Łódzka
e-mail: dominika.jarmoc@gmail.com*

Dane literaturowe wskazują, że zredukowana postać tlenku azotu (HNO) i pochodne tej substancji wykazują działanie przeciwaagregacyjne na płytki krwi, wazodylatacyjne oraz zwiększają kurczliwość serca (Irvine JC *et al.*, Trends Pharmacol Sci, 2008). Działania te są zależne od tlenku azotu (NO) bądź od bezpośredniego działania receptorowego HNO (Favaloro JL *et al.*, Cardiovasc Res, 2006). Z kolei badania własne wskazują, że substancje o strukturze NO wykazują duży potencjał przeciwwazkrzepowy i przeciwpłytkowy (Kramkowski K *et al.*, ATVB, 2012). W związku z powyższym celem naszych badań była ocena wpływu donorów HNO na proces zakrzepowy w modelu przyżyciowej, analizowanej konfokalnie zakrzepicy stymulowanej laserem oraz zakrzepicy stymulowanej prądem u myszy. Wykonano również szereg oznaczeń koagulologicznych u szczurów po podaniu badanych związków.

W badaniach wykorzystano następujące donory HNO: trioksodiazotan sodu (sól Angelego, AS, $t_{1/2} = 3,7$ min., 37°C), pochodną kwasu Piloty'ego (PA): 2-bromo-*N*-hydroksybenzenosulfonamid (2-bromo-PA, $t_{1/2} = 3,8$ min., 37°C), a także metabolit tej pochodnej w postaci soli sodowej.

AS (60 mg/kg, *i.v.*) zmniejsza masę zakrzepu ($0,035 \pm 0,02$ mg vs VEH $0,09 \pm 0,02$ mg; $p < 0,05$) oraz zmniejsza kumulację płytek krwi w obszarze uszkodzenia śródbłonka. Metabolit 2-bromo-PA w dawce 100 mg/kg również zmniejszał kumulację płytek.

Otrzymane wyniki wskazują, że donory HNO są obiecującymi substancjami do dalszych badań nad układem krzepnięcia, a w konsekwencji nad profilaktyką i leczeniem chorób układu sercowo-naczyniowego związanych z nadmierną aktywnością płytek krwi i niewydolnością śródbłonka naczyniowego.

WPŁYW CZĘSTOŚCI RYTMU SERCA NA WŁAŚCIWOŚCI MECHANICZNE LEWEJ KOMORY

MARIA JĘDRZEJCZAK¹, URSZULA MACKIEWICZ², MICHAŁ MĄCZEWSKI², MONIKA PETELCZYC¹

¹Wydział Fizyki, Politechnika Warszawska

²Zakład Fizjologii Klinicznej, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa
e-mail: majjed@student.if.pw.edu.pl

WSTĘP

Współcześnie sprawność i pracę mechaniczną mięśnia sercowego analizuje się w bezpośrednim, jednoczasowym pomiarze ciśnienia i objętości lewej komory serca za pomocą cewnika wewnątrzsercowego. Na podstawie tych pomiarów wykreślane są pętle hemodynamiczne podlegające parametryzacji. Wyznaczana jest objętość i ciśnienie końcowo-rozkurczowe, końcowo-skurczowe, objętość wyrzutowa, praca zewnętrzna, podatność i kurczliwość lewej komory. *Parametry te są ściśle zależne od częstości rytmu serca.* W większości przypadków niemożliwa jest analiza wpływu rytmu na parametry hemodynamiczne, ponieważ wymagałoby to inwazyjnej procedury cewnikowania serca. Dlatego zaproponowano analizę wpływu częstości rytmu na poszczególne parametry hemodynamiczne w modelu zwierzęcym z indukowanym zawałem. Celem pracy jest zbadanie właściwości mięśnia sercowego poddawanego stymulacji farmakologicznej.

MODEL ZWIERZĘCY

W modelu szczurzym (szczury Wistar-Kyoto, masa ciała 300–400 g) zawał mięśnia sercowego wywoływano poprzez podwiązanie gałęzi przedniej zstępującej lewej tętnicy wieńcowej, wskutek czego dochodziło do niedokrwienia serca, a następnie obumarcia tej części mięśnia. Następnie zwierzętom podawano do picia beta adrenolityk (nebiwolol 2,5 mg/kg lub metoprolol 250 mg/kg, w dawkach zapewniających jednakowe zmniejszenie częstości rytmu serca, rozcieńczone w wodzie do picia, przez okres 1 miesiąca przed rejestracją pętli hemodynamicznych). Efektem stymulacji farmakologicznej było zwolnienie rytmu serca w zakresie fizjologicznych częstości rytmu.

METODOLOGIA BADAŃ

Przed przystąpieniem do tego badania szczur poddawany jest znieczuleniu (wodzianem chloralu z dawką odpowiednią do jego wagi), a następnie podłączany do respiratora. Następnie w lewej komorze, przez koniuszek serca montowano cewnik wewnątrzsercowy do jednoczesnej rejestracji objętości i ciśnienia w lewej komorze, tzw. pętli hemodynamicznych (ang. *pressure-volume loops*). Protokół badania obejmował etapy:

1. Rejestracja pętli hemodynamicznych w celu ustalenia stabilizacji pomiaru. Rejestracja była kontynuowana przez cały czas trwania badania, ponadto prowadzono ciągły zapis częstości rytmu.

2. Podanie przez żyłę udową roztworu soli fizjologicznej, w celu zwiększenia obciążenia wstępnego serca (ok. 4 ml na 350 g masy). Obserwacja regulacji w mechanizmie Franka-Starlinga w mięśniu pozawałowym serca.

3. Stabilizacja ciśnienia i objętości do stanu sprzed podania roztworu soli.

4. Uciśnięcie żyły głównej dolnej w celu zmniejszenia obciążenia wstępnego serca.

Analiza częstości rytmu objęła cztery etapy doświadczenia. Z każdego wyodrębniono od 20 do 50 pętli hemodynamicznych, dla których przygotowano parametryzację i analizę statystyczną. Badania są na wstępnym etapie, dlatego eksperyment objął do tej pory 5 szczurów.

WYNIKI

Po znieczuleniu zwierzęta wykazywały stały, zwolniony rytm serca, ale przekraczający 260/min. Podanie dożylnie roztworu soli skutkowało wzrostem średniej częstości rytmu w czterech na pięć przypadków. U wszystkich szczurów zaobserwowano zwolnienie średniej częstości rytmu przy powrocie ciśnienia i objętości do zakresów sprzed podania soli. Najmniejszy spadek wyniósł 2%, a największy blisko 48%:

Tab. 1. Częstość rytmu w 1 etapie badania i jego procentowe zmiany w kolejnych etapach doświadczenia

Nr	przed NaCl (etap 1)	% wzrost po NaCl (etap 2)	% spadek (etap 3)
NN80	324	0,9	-5,2
NN81	282	-3,8	-9,9
NN82	353	12,0	-13,8
NN83	268	22,8	-47,9
NN85	333	2,5	-2,0

U szczura NN81 zaobserwowano również zmniejszenie pracy serca po podaniu roztworu soli.

Tab. 2. Średnia praca serca w 1 etapie badania i jego procentowe zmiany w kolejnych etapach doświadczenia

Nr	przed NaCl (etap 1) [mmHg*muL]	% wzrost po NaCl (etap 2)	% spadek (etap 3)
NN80	2059	47	26
NN81	2121	-19	-8
NN82	1501	114	-8
NN83	1360	5	-27
NN85	2039	27	-12

WNIOSKI I DYSKUSJA

Równoczesna analiza częstości rytmu i hemodynamicznych właściwości lewej komory pozwala na opracowanie pełnego obrazu adaptacji pozawałowego mięśnia sercowego do pracy mechanicznej w warunkach różnego obciążenia wstępnego. Ponadto analiza częstości rytmu jest konieczna, gdy w badaniu uwzględnia się stymulację farmakologiczną lub elektryczną. Można w ten sposób oceniać jej skuteczność i odpowiednie dawkowanie w pozawałowej przebudowie serca w modelu zwierzęcym.

SKUTECZNOŚĆ I BEZPIECZEŃSTWO KATIONOWYCH KOPOLIMERÓW BLOKOWYCH W PARENTERALNEJ TERAPII PRZECIWKRZEPOWEJ

BARTŁOMIEJ KAŁASKA¹, KAMIL KAMIŃSKI², JOANNA MIKŁOSZ¹, SHIN-ICHI YUSA³,
AGNIESZKA BŁAŻEJCZYK⁴, JOANNA WIETRZYK⁴,
ALICJA LEWANDOWSKA⁵, IRENA KASACKA⁵, KRZYSZTOF SZCZUBIAŁKA², DARIUSZ PAWLAK¹,
MARIA NOWAKOWSKA², ANDRZEJ MOGIELNICKI¹

¹Zakład Farmakodynamiki, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

²Zakład Chemii Fizycznej i Elektrochemii, Uniwersytet Jagielloński

³Department of Materials Science and Chemistry, University of Hyogo, Japonia

⁴Zakład Onkologii Doświadczalnej PAN, Wrocław

⁵Zakład Histologii i Cytofizjologii, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

e-mail: joanmiklosz@gmail.com

Antykoagulacja parenteralna, stosowana w leczeniu chorób układu krążenia, zabiegach kardiologicznych oraz hemodializie, znacząco ogranicza ryzyko incydentów zakrzepowo-zatorowych (Eikelboom *et al.*, Lancet, 2000). Prowadzenie bezpiecznej terapii przeciwzakrzepowej, pozbawionej niekontrolowanych krwawień, wymaga ciągłej kontroli parametrów hemostazy oraz niejednokrotnie zastosowania skutecznej, szybko działającej odtrutki. Siarczan protaminy jest obecnie jedynym, dostępnym antidotum heparyny niefrakcjonowanej (UFH) i w pewnym stopniu jej drobnocząsteczkowych pochodnych (LMWH), niewykazującym aktywności wobec fondaparynuksu. Niestety, zastosowanie protaminy wiąże się często z zagrażającymi życiu działaniami niepożądanymi, szczególnie powikłaniami immunologicznymi związanymi z jej odzwierzęcym pochodzeniem (Kimmel *et al.*, Anesth. Analg., 2002). W związku z tym nieustannie poszukujemy następcy protaminy o korzystniejszym profilu bezpieczeństwa (Kamiński *et al.*, J. Med. Chem., 2011; Kałaska *et al.*, PLOS ONE, 2015). W wyniku syntezy i licznych modyfikacji chemicznych otrzymaliśmy szereg polimerów, z których na podstawie wstępnych badań wyselekcjonowaliśmy najskuteczniejszy — PEG41-PMAPTAC53. Celem pracy było opracowanie uniwersalnej odtrutki pozwalającej na neutralizację parenteralnych antykoagulantów oraz eliminację negatywnych skutków leczenia protaminą.

Procedury wymagające udziału zwierząt zostały zaakceptowane przez Lokalną Komisję Etyczną. Zdolność PEG41-PMAPTAC53 do tworzenia kompleksów z UFH potwierdzono metodą

kolorymetryczną z wykorzystaniem barwnika Azure A. Neutralizację UFH, enoksaparyny i fondaparynuksu w warunkach *in vitro* zbadano poprzez wpływ na czas kaolinowo-kefalinowy (aPTT) oraz aktywność anty-Xa. Skuteczność w warunkach *in vivo* została potwierdzona w trzech kolejnych procedurach z udziałem szczurów (stado Wistar/cmdb outbred). W pierwszej zwierzęta losowo przydzielono do 3 grup (PBS; UFH; UFH+PEG41-PMAPTAC53), w których zastosowano model elektrycznie indukowanej zakrzepicy tętniczej. Po usunięciu zakrzepu szczurom zmierzono czas krwawienia, morfologię, następnie czas aPTT (Coag-Chrom 3003, Bio-ksel, Poland) i aktywność anty-Xa w osoczu uzyskanym z krwi uprzednio pobranej z serca. W kolejnym etapie przed pomiarem czasu krwawienia wstrzykiwano zwierzętom enoksaparynę lub fondaparynuks samodzielnie lub po podaniu 5-minutowej infuzji PEG41-PMAPTAC53. Następnie pobrano z serca krew w celu pomiaru aktywności anty-Xa. W ostatnim etapie szczury podzielono na dwie grupy, z których jedną leczono wyłącznie enoksaparyną, a drugiej podano dodatkowo infuzję PEG41-PMAPTAC53. Po dożylnym wprowadzeniu związków zmierzono czas krzepnięcia po aktywacji (ACT) w próbkach krwi pobranych z ogona w określonych punktach czasowych. Ponadto oceniony został profil bezpieczeństwa na podstawie 60-minutowej obserwacji: ciśnienia krwi, częstości akcji serca (Plugsys, Transonics System, USA), temperatury ciała, saturacji, perfuzji, ilości wydychanego CO₂, częstości oddechów (PhysioSuite, USA) od momentu podania odtrutki. Dodatkowo dokonano oceny parametrów biochemicznych, histopatologii głównych organów, a także dystrybucji (In-vivo MS FX PRO system) po wstrzyknięciu PEG41-PMAPTAC53.

PEG41-PMAPTAC53 całkowicie zneutralizował aktywność UFH, enoksaparyny i fondaparynuksu w warunkach *in vitro*. W badaniach *in vivo* odwrócił wywołane przez UFH efekty: zmniejszenie masy zakrzepu, wydłużenie aPPT, czasu krwawienia oraz zwiększenie aktywności anti-Xa, nie zmieniając przy tym morfologii krwi. Infuzja PEG41-PMAPTAC53 przywróciła wartości kontrolne wszystkich zmienionych przez enoksaparynę i fondaparynuks wskaźników. Po podaniu skutecznej dawki neutralizującej nie zaobserwowano zmian parametrów krążeniowo-oddechowych oraz biochemicznych. Ponadto nie stwierdzono toksycznego wpływu na przebadane narządy, a intensywną fluorescencję oznakowanego PEG41-PMAPTAC53 zlokalizowano jedynie w pęcherzu moczowym.

PEG41-PMAPTAC53 okazał się skuteczną oraz dobrze tolerowaną odtrutką powszechnie stosowanych antykoagulantów. Wydaje się być doskonałym następcą protaminy w przypadku pacjentów narażonych na niekontrolowane krwawienia.

EFFECT OF ANGIOTENSIN CONVERTING ENZYME INHIBITORS
AND STATINS ON THE EXPRESSION OF COAGULATION FACTORS
IN THE NARROW AORTIC VALVES —
ASSOCIATIONS WITH CALCIFICATION, NEOVASCULARIZATION
AND INFLAMMATION IN AORTIC STENOSIS

PRZEMYSŁAW KAPUSTA^{1,2}, PIOTR MAZUR^{1,2}, JOANNA NATORSKA^{1,2}, EWA WYPASEK^{1,2},
JERZY SADOWSKI^{1,2}, ANETTA UNDAŚ^{1,2}

¹*Institute of Cardiology, Jagiellonian University Medical College, Cracow, Poland*

²*The John Paul II Hospital, Krakow, Poland*

e-mail: kapusta.p@gmail.com

It is believed that processes within stenotic aortic valve are similar to the early stages of atherosclerosis. Abundant fibrocalcification within aortic leaflets increases disease progression. Tendency for increased calcification within aortic valve is probably due to the presence of interstitial cells (VICs) which undergo osteoblastic transformation in chronic inflammation. The expression of tissue factor (TF) in macrophages and accumulation of fibrin within the aortic valve leaflets has been demonstrated.

The purpose of this study was to investigate the effect of statins, angiotensin converting enzyme inhibitors (ACEIs) and angiotensin II receptor blocker (ARB) on the expression of proteins associated with inflammation, calcification and coagulation cascade *in vitro* in VICs cultures.

Stenotic aortic leaflets were obtained from patients with AS after isolated aortic valve replacement. VICs culture was established from the obtained fragments of the calcified aortic valves to investigate the effect of TNF- α , PGN, LPS, angiotensin I and II (AngI and AngII) on cultured VICs. Inflammatory response in stimulated culture was determined by mRNA expression of IL-1 β and IL-6 genes. Calcification was measured by determining the concentration of the Alizarin red S connected with calcium ions and alkaline phosphatase activity in stimulated VICs. In addition, coagulation proteins (TF and FX) and PAR receptors (PAR1 and PAR2) expression was also measured on protein level, using immunofluorescence (qualitative) and Western blot (quantitative) techniques.

To determine the statin's effect on proinflammatory cytokine expression, calcification and coagulation proteins expression, stimulated VICs were preincubated with atorvastatin (final

concentration 0.1 μM , 1 μM and 10 μM), or rosuvastatin, (0.01 μM , 0.1 μM and 1 μM). To determine whether statins modulate the mevalonic acid pathway, VICs were treated with 10 μM mevalonic acid.

To explore the effect of ACEIs on the tested processes, VICs cultures treated with AngI were preincubated with enalapril and ramipril (0.1 μM , 1 μM and 10 μM). The impact of the angiotensin II receptor activation was determined by addition of 10 μM candesartan, angiotensin II receptor blocker (ARB).

The VICs cultured stimulated with TNF- α , PGN or LPS increased mRNA expression of the genes involved in proinflammatory response, calcification and coagulation. Preincubation of the stimulated VICs with atorvastatin and rosuvastatin (final concentrations 0.1 μM and 0.01 μM , respectively) did not affect the processes. Ten times higher concentrations of atorvastatin and rosuvastatin (1 μM and 0.1 μM , respectively) reduced proinflammatory expression of IL-1 β and IL-6 by 55%. High concentrations of statins (10 μM atorvastatin and 1 μM rosuvastatin) lowered IL-1 β and IL-6 expression by 75%, compared to non-stimulated VICs. Addition of 10 μM mevalonic acid suppressed the influence of statins in all concentrations.

Atorvastatin (1 μM) and rosuvastatin (0,1 μM) inhibited VICs calcification by 35%, whereas increasing statin concentration to 10 μM of atorvastatin and 1 μM of rosuvastatin reduced calcification by 80%. Addition of 10 μM mevalonic acid inhibited statin-mediated impairment of calcification. Atorvastatin and rosuvastatin (1 μM and 0,1 μM , respectively) reduced the expression of F3 mRNA by 30%. Ten times higher concentration of atorvastatin reduced F3 expression by 88%. Incubation with mevalonic acid (10 μM) restored F3 expression to the pretreatment level.

Western-blot analysis of TNF- α stimulated VICs showed that after proinflammatory stimulation TF expression increases. Addition of atorvastatin and rosuvastatin diminished that effect by 51.5% and 73.1%, for 1 μM and 10 μM of atorvastatin, respectively, and by 54.8% and 69.2% for 0,1 μM and 1 μM of rosuvastatin, respectively.

After stimulation with 1 μM of AngI and AngII, enhanced proinflammatory response was observed in AngII stimulated cultures. Enalapril and ramipril both at a concentration of 0.1 μM did not change IL-1 β and IL-6 expression, but these drugs at concentrations of 1 μM reduced expression of proinflammatory cytokines by 45%, and 10 μM by 65%.

Addition of ARB, candesartan, reduced mRNA expression of IL-1 β and IL-6 after stimulation with AngII. Stronger effect on calcification was observed in AngII than in VICs stimulated with AngI.

Enalapril and ramipril at 0.1 μM concentrations did not change VICs calcification. Higher concentrations of ACEIs, 1 μM and 10 μM , reduced measured VICs calcification by 30% and 50%, respectively. Candesartan at a concentration of 10 μM totally abolished VICs calcification.

Both AngI and AngII, as well as ACEI and ARB did not change the expression of TF, FX, PAR1, PAR2 and VEGF.

This *in vitro* study increases knowledge about the effect of statins, ACEIs and ARB on proinflammatory response, calcification and expression of coagulation protein in AS.

The clinical relevance of the presented data requires further investigation.

ASSOCIATION OF CAROTID PLAQUE MORPHOLOGY
AND HEART AND BRAIN-RELATED MIRNAS EXPRESSION
IN PATIENTS WITH ISCHEMIC STROKE RELATED
TO INTERNAL CAROTID ARTERY STENOSIS

IZABELA KARCH¹, ANNA KABŁAK-ZIEMBICKA¹, EWA STĘPIEŃ², RAFAŁ BADACZ¹,
FRANCISCO J. ENGUITA³, JACEK GACON⁴, KRZYSZTOF ŻMUDKA¹, PIOTR PODOLEC⁵,
TADEUSZ PRZEWŁOCKI^{1,5}

¹Jagiellonian University Medical College, Department of Interventional Cardiology,
The John Paul II Hospital, Krakow, Poland

²University Hospital of Krakow, Faculty of Physics, Astronomy and Applied Computer Science,
Jagiellonian University, Krakow, Poland

³Institute of Molecular Medicine, Faculty of Medicine of Lisbon, Portugal

⁴E. Szczekliki's Hospital, Department of Invasive Cardiology, Tarnow, Poland

⁵Department of Cardiac and Vascular Diseases, The John Paul II Hospital, Krakow, Poland
e-mail: r.badacz@szpitaljp2.krakow.pl

Background: The origin and concentration of circulating miRNAs may depend on both organ damage, as well as pathways driving athero-thrombotic event.

Aim of the study: The study was aimed to assess the potential relationship between carotid plaque morphology and the expression of heart and brain derived circulating miRNAs in subjects with recent cerebral ischemic event due to carotid artery stenosis (CAS).

Methods: Circulating small RNAs (miR-1, miR-133a, miR-133b, miR-208b, miR-499, miR-34a, miR-124, miR-134, miR-16), metalloproteinase-9 (MPP-9), and TGF beta were analyzed in 96 consecutive patients (58 M; mean age 69 ± 9.1 years) with significant CAS (mean 84 ± 15%), in the period between 1 and 12 weeks after ischemic stroke (IS) or TIA. Color Doppler ultrasonography was used to assess plaque morphology and its echogenicity.

Results: Carotid plaque morphology was assessed as soft in 35 (36.4%), thrombotic in 10 (10.4%), calcified in 29 (30%), fibrotic in 13 (13.5%), heterogenic in 9 (9.4%) patients. Furthermore plaque ulcerations were observed in 26 (27.1%) of plaques. In comparison to soft and thrombotic plaques, the fibrotic plaques showed a significant increase in the expression of miR-122 (p = 0.045), miR-1 (p = 0.056), miR-375 (p = 0.089) and MMP-9 (p = 0.065), while heterogenic showed higher levels of miR-122 (p = 0.082), endoglin (p = 0.083) and TGF

beta ($p = 0.039$). There were no difference between soft and calcified plaques and miRs expression. The ulcerated plaques were characterized with high expression of MMP-9 ($p = 0.033$), miR-1 ($p = 0.011$), miR-16 ($p = 0.043$) and miR-122 ($p = 0.017$). Furthermore, there was a significantly higher expression of miR-124 ($p = 0.014$), miR-133a ($p = 0.029$) and miR-133b ($p = 0.024$) in subjects with less than 4 week of ischemic brain injury as compared to more distant ischemia. A correlation between time since ischemia and miR-122 ($r = -0.232$, $p = 0.071$) and miR-375 ($r = -0.270$, $p = 0.035$) was observed. There was no correlations between degree of CAS on ultrasonography and miRs expression.

Conclusions: The up-regulation of both cardiac and brain circulating miRNAs in stroke and TIA patients differs with regard to plaque composition. The higher expression of some miRs is observed particularly in fibrotic and ulcerated plaques as compared to other. There is also the relationship between time passed since cerebral ischemia and expression of miR-122 and miR-375. We did not find the relationship between degree of CAS and miRs expression.

CZY RECEPTORY CB₁ I CB₂ WRAZ Z ICH ENDOGENNYMI
AGONISTAMI UCZESTNICZĄ W MODULACJI SKURCZU
WYWOŁANEGO PODANIEM ANALOGU TROMBOKSANU A₂
W IZOLOWANYCH TĘTNICACH PŁUCNYCH CZŁOWIEKA?OLGA KARPIŃSKA¹, MARTA BARANOWSKA-KUCZKO^{1,2}, MONIKA KŁOZA¹,
AGNIESZKA GĘGOTEK³, PIOTR DZIĘGIELEWSKI⁴, IRENA KASACKA⁵, HANNA KOZŁOWSKA¹¹Zakład Fizjologii i Patofizjologii Doświadczalnej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku²Zakład Farmacji Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku³Zakład Chemii Nieorganicznej i Analitycznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku⁴Klinika Chirurgii Klatki Piersiowej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku⁵Zakład Histologii i Cytofizjologii, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

e-mail: olga.karpinska@umb.edu.pl

Wstęp: Występujące naturalnie w organizmach żywych endokannabinoidy (eCBs): anandamid (AEA) i 2-arachidonyloglicerol (2-AG) biorą udział w regulacji układu krążenia, m.in. prowadząc do relaksacji naczyń krwionośnych za pośrednictwem receptorów CB₁ (CB₁R) (Stanley i O'Sullivan, Br J Pharmacol 2014; 171: 1341–1344). Występuje zależność między indukcją skurczu przez związki naczyniokurczące, w tym tromboksan A₂, a biosyntezą i późniejszym uwalnianiem eCBs. Zablokowanie CB₁R z jednoczesnym podawaniem substancji naczyniokurczących prowadzi do nasilenia odpowiedzi skurczowej izolowanych naczyń krwionośnych, w wyniku zniesienia efektów wazodylatacyjnych eCBs. Zastosowanie inhibitorów enzymów odpowiedzialnych za rozkład eCBs powoduje z kolei osłabienie reakcji skurczowej w wyniku podwyższenia poziomu krążących eCBs (Hillard *et al.*, Br J Pharmacol 2007; 152: 691–698; Rademacher *et al.*, Am J Physiol Heart Circ Physiol 2005; 288: H2694–701).

Celem badań była ocena potencjalnego udziału endokannabinoidów i receptorów kannabinoidowych CB₁R oraz CB₂R w skurczu wywołanym podaniem U46619 (analogu tromboksanu A₂, agonisty receptorów prostanoidowych TP) oraz wykazanie ekspresji tych receptorów w izolowanych tętnicach płucnych człowieka.

Materiał i metody: Tętnice płucne do badań pobierano z tkanki położonej dystalnie od guza w trakcie resekcji od chorych (19 mężczyzn, wiek 60,8 ± 3,0) operowanych z powodu niedrobnokomórkowego raka płuca. Badania prowadzono na fragmentach izolowanych naczyń krwionośnych z zachowanym lub zniszczonym mechanicznie śródbłonkiem naczyniowym

z zastosowaniem kąpieli tkankowej. Badano efekt skurczowy naczyń płucnych po zastosowaniu U46619 (0.0001–0.3 μM) w warunkach kontrolnych lub po 30 min inkubacji z antagonistą receptora CB_1R AM251 (1 μM), antagonistą CB_2R AM630 (1 μM), inhibitorem lipazy monoacyloglicerolowej (MAGL) uczestniczącej w rozkładzie 2-AG JZL184 (1 μM) lub inhibitorem hydrolazy amidowej kwasów tłuszczowych (FAAH) biorącej udział w rozkładzie AEA URB597 (1 μM). Wynik wyrażono jako % skurczu KCl (60 mM).

Wyniki: U46619 w zależności od stężenia powodował skurcz izolowanych tętnic płucnych ($\text{pEC}_{50} = 7,9 \pm 0,1$, $R_{\text{max}} = 98,8 \pm 1,3$, $n = 8$). AM251 istotnie nasilał reakcję skurczową tętnicy płucnej człowieka z zachowanym śródbłonkiem naczyniowym [$\text{pEC}_{50} = 8,3 \pm 0,1$ ($p < 0,001$), $R_{\text{max}} = 103,3 \pm 4,2$, $n = 8$], natomiast nie obserwowano takiego efektu po jego mechanicznym usunięciu w porównaniu do grupy kontrolnej (odpowiednio: $\text{pEC}_{50} = 8,4 \pm 0,1$; $R_{\text{max}} = 106,6 \pm 4,3$, $n = 5$; $\text{pEC}_{50} = 8,2 \pm 0,1$, $R_{\text{max}} = 107,7 \pm 3,3$, $n = 5$). JZL184 osłabiał efekt skurczowy tętnicy płucnej indukowany U46619 [$\text{pEC}_{50} = 7,8 \pm 0,1$ ($p < 0,05$); $R_{\text{max}} = 93,9 \pm 6,0$, $n = 6$] w porównaniu do kontroli ($\text{pEC}_{50} = 8,2 \pm 0,1$, $R_{\text{max}} = 104,5 \pm 3,8$, $n = 5$) i przesuwał krzywą stężenie-efekt w prawo. Zastosowanie AM630 nie wpłynęło na reakcję skurczową tętnic płucnych wywołaną podaniem U46619 w odniesieniu do kontroli. URB597 nie zmieniał skurczu naczyń płucnych w porównaniu do kontroli (odpowiednio: $\text{pEC}_{50} = 7,9 \pm 0,1$, $R_{\text{max}} = 104,5 \pm 3,7$, $n = 8$; $\text{pEC}_{50} = 7,9 \pm 0,1$, $R_{\text{max}} = 98,8 \pm 1,3$, $n = 8$). Oznaczenia Western blot wykazały obecność CB_1R i CB_2R w izolowanych tętnicach płucnych człowieka. Usunięcie śródbłonka naczyniowego nie wpłynęło na poziom ekspresji tych receptorów w odniesieniu do grup z zachowanym endothelium. Badania immunohistochemiczne wykazały główną lokalizację CB_1R w warstwie mięśniowej tętnic płucnych człowieka.

Wnioski: Uzyskane wyniki wskazują, że CB_1R są zaangażowane w modulacji skurczu wywołanego podaniem analogu tromboksanu A_2 w izolowanych tętnicach płucnych człowieka. Występuje interakcja pomiędzy aktywacją receptorów TP a aktywacją CB_1R , prawdopodobnie przez uwalniany przez śródbłonek tętnic płucnych, 2-AG. CB_2R wykazują ekspresję w tętnicach płucnych człowieka, jednakże nie odgrywają roli w wyżej opisanym mechanizmie. Zastosowanie agonistów receptorów kannabinoidowych i/lub inhibitorów rozkładu endokannabinoidów może okazać się użyteczne we wspomaganiu dotychczasowej terapii tętniczego nadciśnienia płucnego.

Badania sfinansowano w ramach projektu statutowego UMB nr: N/ST/MN/001/2213.

WPŁYW WIEKU NA WYSTĘPOWANIE KOMOROWYCH ZABURZEŃ RYTMU PO ZAWALE LEWEJ KOMORY W SERCU SZCZURA

MARTA KĘPSKA, JOANNA KOŁODZIEJCZYK, ALEKSANDRA PATEREK, URSZULA MACKIEWICZ,
MICHAŁ MĄCZEWSKI

*Zakład Fizjologii Klinicznej, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa
e-mail: marta.kepska@cmkp.edu.pl*

Wstęp: Za prawidłową czynność skurczowo-rozkurczową serca odpowiadają przede wszystkim komórki kurczliwe mięśnia — kardiomiocyty. Wraz ze starzeniem się organizmu liczba kardiomiocytów spada i zastępują je mniej elastyczne oraz pozbawione kurczliwości fibroblasty i produkowany przez nie kolagen. Proces, w którym dochodzi do wzrostu ilości kolagenu w stosunku do kardiomiocytów, nazywamy włóknieniem serca. Włóknienie może mieć niekorzystny wpływ na serce. Wiadomo, że zwiększa sztywność mięśnia sercowego, ale istnieją także sugestie, że może zwiększać podatność na występowanie zaburzeń rytmu. Z jednej strony, prowadzi do odseparowania od siebie komórek mięśniowych przez elementy tkanki łącznej powstałe w procesie włóknienia. Z drugiej — nieprawidłowa struktura mięśnia sercowego może być przyczyną występowania tzw. zjawiska „source-sink mismatch”, zwiększającego ryzyko wystąpienia pobudzenia dodatkowego i zawiązania obwodu pobudzenia krążącego, które może doprowadzić do zagrażającego życiu częstoskurczu komorowego. Niedokrwienie serca jest czynnikiem wysoce arytmogennym, prowadzi do zaburzeń obiegu wapnia w kardiomiocytach i dyspersji potencjałów czynnościowych pomiędzy strefą niedokrwienia i strefą odległą od zawału. Zwiększa to liczbę pobudzeń dodatkowych i prawdopodobieństwo wystąpienia bloku jednokierunkowego.

Cel pracy: Głównym celem prezentowanej pracy jest weryfikacja hipotezy, że różnice w częstotliwości występowania zaburzeń rytmu w świeżym zawałe serca mogą być związane z zależnym od wieku różnym stopniem zwłóknienia serca i odmiennym funkcjonowaniem kardiomiocytów.

Materiał i Metody: W celu weryfikacji powyższej hipotezy w trzech różniących się wiekowo grupach szczurów płci męskiej (2 miesiące, 18 miesięcy i 26–28 miesięcy) dokonano indukcji zawału przez podwiązanie gałęzi przedniej zstępującej lewej tętnicy wieńcowej lub wykonano operację pozorowaną. Przed zabiegiem szczurom wszczepiono nadajnik telemetryczny, co umożliwiło ciągły zapis krzywej EKG w czasie zabiegu i po nim. Zwierzęta monitorowano przez 6 godzin, a następnie serca pobierano w celu oceny włóknienia poprzez barwienie Trichromem Massona lub w celu izolacji kardiomiocytów i oceny ich funkcji skurczowo-rozkurczowej

Wyniki: Analiza preparatów histologicznych wykazała, że wraz z wiekiem znacząco wzrasta poziom włóknienia mięśnia sercowego. Procentowa zawartość kolagenu w tkance mięśniowej w przypadku grupy najmłodszych zwierząt utrzymywała się na średnim poziomie 0,74% natomiast w przypadku grupy najstarszych zwierząt była prawie 5-krotnie wyższa i wynosiła średnio 3,6%. Wraz z wiekiem zmieniła się także średnica kardiomiocytów. W najstarszej grupie zwierząt w porównaniu do grupy najmłodszych zwiększyła się ona o 43%. Analizy zapisu elektrokardiograficznego wykazały, że liczba nagłych zgonów sercowych z przyczyn arytmicznych w okresie 6 godzin po indukcji zawału w grupie najstarszych zwierząt utrzymywała się na poziomie 53%, w grupie szczurów 18-miesięcznych na poziomie 20%, natomiast w grupie najmłodszych zwierząt nie zaobserwowano takich zgonów. Dodatkowo przeanalizowano występowanie częstoskurczu komorowego. W przypadku szczurów 26–28-miesięcznych częstość występowania częstoskurczu wynosiła 100%, w 93% przypadków u zwierząt 18-miesięcznych doszło do takiego incydentu, natomiast u zwierząt najmłodszych w 53% przypadków indukcja zawału serca spowodowała wywołanie częstoskurczu komorowego.

Wnioski: Uzyskane wyniki potwierdzają wstępną hipotezę, że zależne od wieku nasilenie włóknienia jest czynnikiem zwiększającym ryzyko wystąpienia arytmii w świeżym zawałe serca. Dodatkowych informacji dostarczy analiza czynności skurczowej i obiegu wapnia w kardiomiocytach po zawałe serca w zależności od wieku zwierząt.

DOES PERIVASCULAR TISSUE OF HUMAN RADIAL ARTERY — CONDUIT USED IN CORONARY ARTERY BYPASS GRAFTING, POSSESS ANTICONTRACTILE PROPERTIES?

KAROLINA KOCISZEWSKA, MAREK A. DEJA

*Department of Cardiac Surgery, Medical University of Silesia, Katowice, Poland
e-mail: karolina_kociszewska@interia.pl*

Objectives: Perivascular tissue (PVT) surrounding both arteries and veins owns anticontractile properties and could inhibit constrictor influence of multiple vasoactive agents. Our previous study on human internal thoracic artery (ITA) confirmed such effects associated, in all likelihood, with adipose tissue or — adipocyte-derived relaxing factor (ADRF). Thus, we decided to check if another conduit used in coronary artery bypass grafting — radial artery (RA) — also owns such relaxant properties.

Methods: We studied isolated radial artery segments from patients subjected to coronary artery surgery. The vessels were skeletonized in-vitro. RA rings and PVT were incubated in separate isolated organ baths. Skeletonized RA segments were precontracted with $10^{-5.5M}$ phenylephrine/ 10^{-6M} serotonin. The 5ml PVT aliquots were next transferred to the RA tissue bath resulting in its relaxation.

Results: Based on our previous research on ITA and preliminary results on RA we expect similar anticontractile effects, indicating on beneficial influence of PVAT surrounding RA. What's relevant, the response of RA is much more stronger than ITA's activity. It is a conduit more prone to vasospasm and reveals excessive constrictive activity. Moreover, it's more difficult to reverse contractile effects evoked by serotonin or phenylephrine in organ bath with RA.

Conclusion: It seems, that perivascular tissue of human radial artery, similarly to internal thoracic artery, indeed possess anticontractile properties. However further studies regarding the exact mechanism of vasorelaxant response should be conducted.

CZY BETA BLOKER III GENERACJI, NEBIWOLOL, SKUTECZNIEJ NIŻ METOPROLOL HAMUJE PRZEBUDOWĘ MIĘŚNIA SERCOWEGO PO ZAWALE SERCA U SZCZURA? BADANIE NA POZIOMIE NARZĄDU I KOMÓREK

JOANNA KOŁODZIEJCZYK, MARTA KĘPSKA, ALEKSANDRA PATEREK, MICHAŁ MĄCZEWSKI,
URSZULA MACKIEWICZ

*Zakład Fizjologii Klinicznej, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa
e-mail: joanna.kolodziejczyk@cmkp.edu.pl*

Wstęp: Niewydolności serca towarzyszą zaburzenia czynności skurczowej i rozkurczowej mięśnia sercowego. Obecne schematy leczenia zostały opracowane głównie dla chorych z zaburzoną czynnością skurczową, podczas gdy u około połowy pacjentów z objawową niewydolnością serca funkcja skurczowa jest zachowana lub tylko nieznacznie zmniejszona, a zaburzenia rozkurczu występują u wszystkich pacjentów. Konieczne jest opracowanie metod leczenia, które będą skierowane na poprawę funkcji rozkurczowej niewydolnego serca. Pewne nadzieje wiązane są z beta-blokerem III generacji, nebiwolem, który obok selektywnej blokady receptorów beta₁-adrenergicznych zwiększa biodostępność tlenu azotu (NO) w naczyniach, a być może również w kardiomiocytach.

Cel pracy: Celem pracy jest zbadanie czy nebiwolol będzie skuteczniej poprawiał funkcję rozkurczową lewej komory w pozawałowej niewydolności serca u szczura, niż metoprolol, wybiórczy bloker receptorów beta₁-adrenergicznych, niewpływający na biodostępność NO. Dodatkowo chcieliśmy sprawdzić czy beta-blokery w dawkach niskich (nieprowadzących do zwolnienia rytmu) wpływają na przebudowę mięśnia sercowego po zawale.

Materiał i metody: U szczurów rasy Wistar płci męskiej indukowano rozległy zawał lewej komory przez podwiązanie gałęzi przedniej zstępującej lewej tętnicy wieńcowej lub wykonywano operację pozorowaną. Zwierzętom z zawałem i kontrolnym podawano w wodzie pitnej przez 8 tygodni metoprolol lub nebiwolol lub nie podawano leku. Dawki leków zostały tak dobrane, aby były to maksymalne dawki, przy których nie odnotowano zwolnienia rytmu serca. Po 8 tygodniach od operacji wykonano badanie echokardiograficzne w celu oceny częstości rytmu, wymiarów i funkcji lewej komory. Następnie pobierano serca w celu izolacji kardiomiocytów. Oceniano wymiary kardiomiocytów, funkcję skurczowo-rozkurczową kardiomiocytów metodą

detekcji krawędzi oraz wewnątrzkomórkowy obieg jonów Ca^{2+} przy użyciu sondy fluorescencyjnej Fura-2.

Wyniki: Osiem tygodni po indukcji zawału obserwowaliśmy: przerost mięśnia sercowego (wzrost współczynnika masy serca do masy ciała średnio o 70% w porównaniu do zwierząt kontrolnych), powiększenie lewej komory (średni wzrost wymiaru rozkurczowego i skurczowego odpowiednio o 115 i 268%), spadek frakcji wyrzucania średnio o 69%, przerost wzdłużny i poprzeczny kardiomiocytów odpowiednio o 55 i 38%, zwolnienie kinetyki narastania skurczu i spowodowane tym wydłużenie cyklu skurczowo-rozkurczowego kardiomiocytów o 17%. Odnotowaliśmy również spadek o 15% szybkości opadania sygnału Ca^{2+} spowodowany zwolnieniem transportu Ca^{2+} do siateczki sarkoplazmatycznej. Oba beta-blokery w dawkach niezwalniających rytmu nie miały wpływu na pozawałową przebudowę na poziomie organu. Na poziomie kardiomiocytów tylko metoprolol zmniejszył przerost wzdłużny o 11% i przerost poprzeczny o 9%, zwalniał szybkość narastania skurczu o 10% i zmniejszył o 9% zakres skracania kardiomiocytów w porównaniu do nieleczonych zwierząt z zawałem. Oba beta-blokery w dawkach niezwalniających rytmu nie miały wpływu na pozawałowe zmiany wewnątrzkomórkowego obiegu Ca^{2+} .

Wnioski: Metoprolol w niskich dawkach, niezwalniających rytmu serca, wydaje się wpływać na przebudowę komórkową mięśnia sercowego po zawałe. Na obecnym etapie badań wydaje się, że metoprolol zwalniając kinetykę skurczu i zmniejszając jego siłę może zmniejszać konsumpcję energii przez kardiomiocyty, co może być korzystne dla niewydolnego serca. Jednak wydłużenie cyklu skurczowo-rozkurczowego kardiomiocytów może przekładać się na zaburzenia rozkurczu mięśnia sercowego. Takiego działania nie zaobserwowaliśmy dla nebiwololu.

KARDIOMIOPATIA TAKOTSUBO W MODELU INDUKOWANYM ISOPRENALINĄ — ANALIZA HISTOPATOLOGICZNA SERC SZCZURÓW PŁCI ŻEŃSKIEJ

AGNIESZKA KOŁODZIŃSKA¹, BENEDYKT SZCZEPANKIEWICZ³, KATARZYNA CZARZASTA²,
MONIKA BUDNIK¹, RENATA GŁÓWCZYŃSKA¹, ANNA FOJT¹, SONIA BORODZICZ^{1,2},
ŁUKASZ KOPERSKI³, AGNIESZKA CUDNOCH-JĘDRZEJEWSKA², BARBARA GÓRNICKA³,
GRZEGORZ OPOLSKI¹

¹*Katedra i Klinika Kardiologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny*

²*Zakład Fizjologii Doświadczalnej i Klinicznej, Laboratorium Centrum Badań Przedklinicznych,
Warszawski Uniwersytet Medyczny*

³*Katedra i Zakład Anatomii Patologicznej, Warszawski Uniwersytet Medyczny
e-mail: aa.kolodzinska@wp.pl*

Niedawno zaprezentowano nowy model kardiomiopatii takotsubo (KTT) oparty na dootrzewnowym podaniu agonisty receptorów beta-adrenergicznych isoprenaliny (ISO). Analiza histopatologiczna obejmowała serca po 24 godzinach, 2, 3 i 8 dniach po podaniu ISO u osobników męskich. W sercu obserwowano cechy nekrozy, masywnego obrzęku, wakuolizacji oraz nacieki komórek zapalnych. W naciekach obserwowano komórki jednojądrzaste, monocyty, pojedyncze neutrofile, głównie w warstwie podsierdziowej, ale sięgające do nasierdza i obejmujące również prawą komorę. Zmiany dotyczyły głównie koniuszka, w mniejszym stopniu segmentów środkowych, rzadko natomiast obserwowane były w segmentach podstawnych.

Cel pracy: analiza serc szczurów płci żeńskiej z kardiomiopatią takotsubo indukowaną ISO w dawce 150 mg/kg m.c.

Metodologia: Zwierzętom SPRD płci żeńskiej podano dootrzewnowo 150 mg/kg m.c. ISO. U 70% wywołano KTT. ECHO serca w celu potwierdzenia KTT wykonano po 6 i 24 godzinach u wszystkich zwierząt oraz u wybranych po 48, 72 godzinach 7 i 10 dniach. Uśmiercono 7 zwierząt po 24 h (4/7 cechy KTT), 4 po 48 h (3/4 cechy KTT), 4 po 72 h (3/4 cechy KTT), a po 10 dniach 5 (u 2 szczurów wycofała się KTT, a 1 nie rozwinął cech KTT).

Wyniki: Po 24 godzinach od podania ISO obserwowano nacieki ogniskowe z komórek, głównie makrofagalnych, lokalizujące się wokół kardiomiocytów z cechami miocytolizy. Poza tym kardiomiocyty w ogniskach i poza ogniskami wykazywały cechy wakuolizacji. Stwierdzono obrzęk pozakomórkowy niewielkiego stopnia. Ogniska dominowały w warstwie środkowej koniuszka

(śr. 6,8 wpw) i wsierdziej segmentów środkowych (śr. 5 wpw). Po 48 godzinach od podania ISO stwierdzano większe nacieki z komórek głównie makrofagalnych, ale widoczne były również komórki jednojądrzaste, bez cech wakuolizacji kardiomiocytów, a także zmniejszenie obrzęku pozakomórkowego. Liczba ognisk była największa w warstwie środkowej koniuszka (śr. 8,25 wpw) i wsierdziej segmentów podstawnych (śr. 5,25 wpw). Po 72 godzinach liczba ognisk wzrastała w warstwie środkowej koniuszka (śr. 8,6 wpw) oraz warstwie wsierdziej segmentów środkowych (śr. 7,2 wpw) i pojawił się również obrzęk kardiomiocytów. Następnie w 10. dobie nasilenie procesu ulega zmniejszeniu, widoczne były pojedyncze ogniska: 2–3 wpw. W prawej komorze nasilenie procesu było równomierne we wszystkich segmentach i we wszystkich przedziałach czasowych (śr. 2–3,8 ognisk wpw). W warstwie nasierdziej koniuszka pojedyncze ogniska (śr. 0,25–0,4 wpw) były widoczne w 48 i 72 h obserwacji. W 10. dobie uwidocznilo także niewielkie depozyty kolagenu.

Wnioski: W przebiegu kardiomiopatii takotsubo dochodzi do powstania ogniskowych nacieków z komórek układu immunologicznego wokół kardiomiocytów, które ulegają miocytolizie. Proces nasila się do 3. doby, a następnie ustępuje w obrębie lewej komory. Zmiany ogniskowe w prawej komorze mają podobne nasilenie we wszystkich przedziałach czasowych, co wskazuje na najpóźniejsze wycofywanie się zmian w obrębie tej struktury. Warstwa nasierdziowa kardiomiocytów praktycznie nie jest objęta procesem chorobowym. Dalsze badania powinny wskazać liczbę ognisk niezbędną do wystąpienia charakterystycznych zaburzeń kurczliwości w ECHO.

KARDIOMIOPATIA TAKOTSUBO INDUKOWANA ISOPRENALINĄ W MODELU SZCZURZYM — RÓŻNICE ZALEŻNE OD PŁCI

AGNIESZKA KOŁODZIŃSKA¹, KATARZYNA CZARZASTA², MONIKA BUDNIK¹,
RENATA GŁÓWCZYŃSKA¹, ANNA FOJT¹, SONIA BORODZICZ^{1,2},
AGNIESZKA CUDNOCH-JĘDRZEJEWSKA², BARBARA GÓRNICKA³, GRZEGORZ OPOLSKI¹

¹*I Katedra i Klinika Kardiologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny*

²*Zakład Fizjologii Doświadczalnej i Klinicznej, Laboratorium Centrum Badań Przedklinicznych,
Warszawski Uniwersytet Medyczny*

³*Katedra i Zakład Anatomii Patologicznej, Warszawski Uniwersytet Medyczny
e-mail: aa.kolodzinska@wp.pl*

W literaturze zaprezentowano nowy model kardiomiopatii takotsubo (KTT) indukowanej dootrzewnowym podaniem agonisty receptorów beta-adrenergicznych — isoprenaliny (ISO) dla szczurów rodzaju męskiego. Najmniejszą skuteczną dawką ISO było 50 mg/kg m.c. Dawki 100–600 mg/kg m.c. nie zwiększały częstości występowania KTT, natomiast wywoływały cięższy przebieg choroby i większą śmiertelność. Śmiertelność siedmiodniowa zwierząt przy dawkach 50 mg/kg m.c. wynosiła 50%. Echokardiograficzne cechy KTT wycofywały się w ciągu 7 dni.

Metodologia: 39 dorosłym (>12. tygodnia życia) szczurom Sprague Dawley płci żeńskiej (m.c. min. 200 g) podano dootrzewnowo ISO w dawkach: 50 (8/39), 75 (6/39), 150 (20/39), 200 mg/kg m.c. (5/39 szczurów). Grupę kontrolną stanowiły 4 osobniki, którym podano 0,9% sól fizjologiczną. W celu potwierdzenia KTT wykonano ECHO po 6, 24, 48, 72 godzinach, jak również 7 i 10 dniach po indukcji KTT. Po 24 godzinach uśmiercono 7 zwierząt, po 48 godzinach kolejne 4, po 72 h 4, a po 10 dobie 5 szczurów. Serca następnie pobrano do przyszłych analiz histopatologicznych.

Wyniki: Echokardiograficzne cechy KTT stwierdzono po 24 godzinach u 1/6 zwierząt w grupie 50 mg/kg m.c., 2/6 w grupie 75 mg/kg m.c. oraz 0/5 w grupie 200 mg/kg m.c. Dawką optymalną okazała się dawka 150 mg/kg m.c. — w tej grupie po 24 godzinach od podania leku cechy KTT w ECHO widoczne były u 14/20 (70%). Echokardiograficzne cechy KT nie wystąpiły u żadnego z badanych szczurów po 6 godzinach od podania ISO. Śmiertelność zwierząt wynosiła 7,7% (2 po dawce 50 mg/kg m.c. i 1 po dawce 150 mg/kg m.c.). Ustąpienie echokardiograficznych cech KTT obserwowano u 2/4 w 10. dobie (cechy KTT były obecne jeszcze w 7. dobie).

Wnioski: Większe dawki ISO były potrzebne do wywołania KTT u szczurów płci żeńskiej niż podawane w literaturze dawki dla osobników męskich. Rozpoznanie echokardiograficzne KTT było możliwe dopiero po 24 godzinach od podania ISO. Ustępowanie echokardiograficznych cech KTT obserwowano natomiast po 7 dniach, później niż u osobników męskich. Śmiertelność szczurów płci żeńskiej była niższa niż płci męskiej podawana w literaturze.

POLYHEDROCYTES IN WHOLE BLOOD CLOTS OF PATIENTS WITH WELL-CONTROLLED TYPE 2 DIABETES: A ROLE OF PLASMA FIBRIN CLOT PROPERTIES

BARBARA KOŚCIELNIAK¹, MICHAŁ ZĄBCZYK^{1,2}, JAKUB SIUDUT²,
MAŁGORZATA KONIECZYŃSKA², GRZEGORZ GAJOS³, KRZYSZTOF PLENS⁴, ANETTA UNDAŚ^{1,2}

¹*Institute of Cardiology, Jagiellonian University Medical College, Krakow, Poland*

²*Krakow Centre for Medical Research and Technologies, The John Paul II Hospital, Krakow, Poland*

³*Department of Coronary Disease and Heart Failure, Institute of Cardiology,
Jagiellonian University Medical College, Krakow, Poland*

⁴*Data Analysis Center, Cardiovascular Research Institute, Krakow, Poland
e-mail: michalzabczyk@op.pl*

Background: Polyhedral erythrocytes (polyhedrocytes) have been observed in whole blood clots and in intracoronary thrombi.

Objectives: Since glycation of proteins, including those within cell membranes, affects thrombus structure, platelet function, and fibrin properties, we hypothesized that type 2 diabetes (DM) patients may form compact polyhedrocytes structures in blood clots possibly due to altered erythrocyte membranes and/or tighter fibrin networks.

Methods: We analyzed whole venous blood clots formed after 24 h at 22°C by adding 1 U/ml human thrombin and 5 mM calcium chloride to citrated blood samples obtained from 50 DM type 2 patients both genders (33 men, 66%), between 45–85 years of age (median: 67.5) and median glycohemoglobin (HbA1c) of 6.3%, range 5.8–7.1%. Clots were fixed in 2.5% glutaraldehyde and prepared for scanning electron microscopy. We calculated the area covered by various forms of erythrocytes and the contraction ratio defined as a difference between the area of native red blood cells (RBCs) and polyhedral erythrocytes within the clot.

Results: In DM patients polyhedrocytes were detected in 39 (78%) clots with a median surface covered by polyhedrocytes equaled 11.3% (1.3–30%). The contraction ratio was 25% (7.5–43%). More polyhedral RBCs were formed in lower layers of the clots, while the native erythrocytes occurred mainly in the top parts of the clots. The area of the clot covered by polyhedrocytes in DM patients was independently associated with higher fibrinogen concentrations (OR: 5.52, 95%CI: 1.52–27.41), higher serum glucose levels (OR: 4.99, 95%CI: 1.76–22.28), and with lower Red cell Distribution Width (RDW; OR: 0.43, 95%CI: 0.22–0.72), but not with

HbA1c. Diabetic patients with hypercholesterolemia were characterized by higher ability to form polyhedrocytes ($p = 0.025$). We found that diabetic patients with polyhedral RBCs had longer CLT when compared to those without polyhedrocytes in clots ($p < 0.05$). We also noted that CLT correlated with Ks ($r = -0.45$, $p = 0.001$) and lag time ($r = 0.33$, $p = 0.023$).

The area of the clot covered by polyhedral RBCs correlated with the contraction ratio ($r = 0.71$; $p = 0.0003$) and total cholesterol ($r = 0.45$; $p = 0.0080$), while the contraction ratio was inversely associated with RDW ($r = -0.46$, $p = 0.0005$) and positively associated with fibrinogen ($r = 0.40$, $p = 0.01$) and blood glucose ($r = 0.51$, $p = 0.01$) levels.

Conclusions: Increased concentrations of glucose and fibrinogen enhance polyhedrocytes formation in DM patients, which might be associated with increased clot stability and its resistance to lysis, and therefore with higher risk of thromboembolic complications.

WPŁYW STRESU OKSYDACYJNEGO NA BIOENERGETYCZNE FUNKCJE KOMÓREK UKŁADU SERCOWO-NACZYNIOWEGO — NOWE TECHNIKI BADAWCZE

PAWEŁ KOWALCZYK

Bionicum Sp. z o.o., Warszawa
e-mail: pawel.kowalczyk@bionicum.com.pl

Stres oksydacyjny, indukowany przez reaktywne formy tlenu (RFT), jako proces patofizjologiczny jest zaburzeniem właściwej homeostazy bioenergetycznych funkcji organizmu człowieka, w tym układu sercowo-naczyniowego. Proces ten powoduje nadmierne utlenianie i fragmentację wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, białek i kwasów nukleinowych. Prowadzi to do inaktywacji i uszkodzenia mitochondriów, rozpadu składników morfotycznych krwi oraz zmiany własności antygenowych komórek w śródbłonku naczyń krwionośnych. Skutkiem tego jest rozwój miażdżycy i związanych z nią chorób układu krwionośnego, takich jak zawał serca, udar mózgu czy choroba wieńcowa. Nasilenie procesów destrukcyjnych, wywołanych przez RFT, zaburza proliferację komórek indukując ich apoptozę, co może być przyczyną powstawania chorób neurodegeneracyjnych, przyspieszonego starzenia i śmierci organizmu.

W celu detekcji RFT stosuje się innowacyjne sondy komórkowe MitoXpress®-Xtra i MitoXpress®-Intra, opracowane przez firmę Luxcel, bazujące na bezpośrednim pomiarze fluorescencji lub absorbancji w czasie rzeczywistym. Umożliwiają one pomiar szybkości zużycia tlenu zewnątrzkomórkowego z całej populacji komórek zawieszonych, permeabilizowanych, izolowanych enzymów i specyficznych białek markerowych stresu oksydacyjnego COX i LOX wydzielanych przez składniki układu krwionośnego. Wskaźniki zużycia tlenu oblicza się na podstawie zmiany w sygnale fluorescencji w czasie rzeczywistym, który jest odwrotnie proporcjonalny do ilości pozakomórkowego O₂ w próbce. Sondy umożliwiają również jednoczesny pomiar glikolizy w czasie rzeczywistym i zmiany komórkowego ADP, co umożliwia analizę „fenotypu metabolicznego komórek” w stanach zapalnych. Istotnym aspektem badawczym jest poznanie wszystkich procesów zachodzących pomiędzy czynnikami wywołującymi stres oksydacyjny a ryzykiem wystąpienia chorób układu sercowo-naczyniowego.

OCHRONNE DZIAŁANIE UKŁADU OPIOIDOWEGO NA CZYNNOŚĆ NIEDOTLENIONEGO LUDZKIEGO MIĘŚNIA SERCOWEGO W WARUNKACH IN VITRO

MAREK KUNECKI¹, TOMASZ ROLEDER², JOLANTA BIERNAT³, WOJCIECH PŁAZAK¹,
PIOTR PODOLEC¹, MAREK A. DEJA⁴, KRZYSZTOF S. GOŁBA³

¹Oddział Chorób Serca i Naczyń z Poddziałem Intensywnego Nadzoru Kardiologicznego,
Krakowski Szpital Specjalistyczny im. Jana Pawła II, Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego

²II Oddział Kardiologii, Górnośląskie Centrum Medyczne w Katowicach

³Klinika Elektrokardiologii i Niewydolności Serca, Górnośląskie Centrum Medyczne,
Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

⁴Oddział Kardiochirurgii, Górnośląskie Centrum Medyczne, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
e-mail: mkunecki@op.pl

Wstęp: Choroba wieńcowa jest główną przyczyną zgonów w krajach rozwiniętych. Wczesne przywrócenie perfuzji mięśnia sercowego jest najistotniejszym sposobem ograniczenia rozległości zawału. Skuteczne leczenie reperfuzyjne poprzez ograniczenie martwicy mięśnia sercowego prowadzi do zmniejszenia śmiertelności w ostrej fazie zawału. Jednakże w okresie reperfuzyjnym dochodzi do postępu uszkodzenia miokardium związanego z tworzeniem wolnych rodników oraz nasileniem miejscowych procesów zapalnych. Zjawisko to zwane uszkodzeniem niedokrwienno-reperfuzyjnym (IRI — *ischemia-reperfusion injury*) odpowiedzialne jest nawet za około 50% ostatecznego obszaru zawału. Kardioprotekcyjny efekt przynoszą krótkotrwałe epizody niedotlenienia serca występujące przed niedokrwieniem oraz na początku okresu reperfuzyjnego, nazywane odpowiednio: hartowaniem przez niedokrwienie — *preconditioning* (IPC) i modyfikacją okresu reperfuzyjnego — *postconditioning* (POC). Zjawiska te wpływają na poprawę czynności serca poprzez mobilizację molekularnych i komórkowych mechanizmów ograniczających uszkodzenie reperfuzyjne. Wśród mediatorów biorących udział w fizjologicznych zjawiskach ochrony przed skutkami niedokrwienia mięśnia sercowego ważną rolę odgrywa układ opioidowy. Stymulacja receptorów opioidowych uruchamia podobne mechanizmy wpływające ochronnie na niedokrwiony mięsień sercowy jak w przypadku IPC i POC. Badania z wykorzystaniem modelu zwierzęcego wskazują na bezpośredni ochronny wpływ szlaku opioidowego na mięsień sercowy w warunkach niedokrwienia. Większość autorów na podstawie doświadczeń przeprowadzonych na zwierzęcym modelu niedotlenienia mięśnia sercowego, sugeruje

korzystny wpływ agonistów receptorów opioidowych δ . Natomiast w przypadku ludzkiej mięśniówki serca nie ustalono jednoznacznie, który z podgrupy receptorów opioidowych (OR) jest odpowiedzialny za efekt ochronny. Poznanie mechanizmów kardioprotekcyjnego efektu stymulacji receptorów opioidowych może pozwolić na opracowanie nowych strategii i wskazań leczniczych morfiny przebiegu leczenia ostrego zespołu wieńcowego.

Celem pracy była ocena efektów modyfikacji aktywności układu opioidowego na czynność niedotlenionej ludzkiej mięśniówki prawego przedsionka przy wykorzystaniu nieselektywnego agonisty OR: morfiny, selektywnego agonisty δ — OR: D-Ala² D-Leu⁵-enkefalin (DADLE), nieselektywnego antagonisty OR: naloksonu; porównanie siły działania ochronnego opioidów z efektem ochronnym IPC i/lub POC.

Metoda: Badanie prowadzono na fragmentach mięśniówki prawego przedsionka pobranych w czasie zabiegu pomostowania naczyń wieńcowych z zastosowaniem krążenia pozaustrojowego u pacjentów bez cech niewydolności serca lub istotnych wad zastawkowych. Uzyskany materiał inkubowano w kąpieli tkankowej oraz poddawano hipoksji, a następnie reoksygenacji. Przebieg reoksygenacji modyfikowano podaniem w poszczególnych grupach morfiny w stężeniu $10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}$ M, DADLE w stężeniu $10^{-8}, 10^{-7}, 10^{-6}$ M lub naloksonu 10^{-5} M. W kolejnych grupach beleczki poddawano protokołowi IPC lub POC. W okresie reoksygenacji rejestrowano parametry czynności skurczowej: amplituda (Amax), czas narastania skurczu (Slope L) oraz parametry czynności rozkurczowej: czas relaksacji (Slope T).

Wyniki: Wartość parametrów skurczowych i rozkurczowych po zastosowaniu morfiny w stężeniu 10^{-4} M była istotnie wyższa w porównaniu z grupą kontrolną. Obserwowano istotne zmniejszenie wartości Amax po zastosowaniu DADLE w stężeniu 10^{-6} M i 10^{-7} M. Zastosowanie morfiny w protokole IPC lub POC nie wpływało istotnie na parametry czynności skurczowej i rozkurczowej, natomiast DADLE znamienne osłabiało efekt IPC lub POC. Podobny wpływ odwracający korzystny efekt IPC i POC wywierał nalokson.

Wnioski: Stymulacja receptorów opioidowych μ przy użyciu nieselektywnego agonisty receptorów opioidowych – morfiny, wpływa ochronnie na czynność skurczową i rozkurczową niedokrwionego ludzkiego mięśnia sercowego w sposób zależny od dawki. Z kolei stymulacja receptorów opioidowych δ nasila wywołane niedotlenieniem uszkodzenie ludzkiej mięśniówki serca, odmiennie niż w przypadku badań przeprowadzonych z wykorzystaniem modelu zwierzęcego.

VASCULAR ECTO-ADENOSINE DEAMINASE (EADA)
IN THE DEVELOPMENT OF ATHEROSCLEROSIS
AND ANTI-ATHEROSCLEROTIC EFFECTS OF EADA INHIBITORS

BARBARA KUTRYB-ZAJĄC¹, ŁUKASZ MATEUSZUK², PAULINA ŻUKOWSKA¹, ALICJA BULIŃSKA¹,
MARTA TOCZEK¹, EWA M. SŁOMIŃSKA¹, STEFAN CHŁOPICKI², RYSZARD T. SMOLEŃSKI¹

¹*Department of Biochemistry, Medical University of Gdansk, Poland*

²*Jagiellonian Centre of Experimental Therapeutics, Krakow, Poland*

e-mail: b.kutryb-zajac@gumed.edu.pl

Extracellular nucleotides and adenosine that are formed or degraded by membrane-bound ecto-enzymes could affect atherosclerosis by their effects on inflammation and thrombosis. Recently, we found substantial changes in nucleotide and especially adenosine metabolism in atherosclerotic vessel. This work aimed to investigate ecto-enzymes sources and changes during development of atherosclerosis and therapeutic potential of adenosine deaminase inhibition.

Intact sections of aortic root, brachiocephalic artery, thoracic aorta, abdominal aorta and aortoiliac bifurcation of atherosclerosis-prone mice (ApoE^{-/-}LDLR^{-/-}) at 3 and 10 month of age were incubated with substrates for ecto-enzymes and their conversions were measured by HPLC. Plaque progression was quantified in aortic roots using Oil Red O (ORO) staining. Macrophages content (CD68) and cellular sources of ADA were analyzed using immunofluorescence. Effect of eADA inhibition on atherosclerosis progression was studied by 2-month treatment of ApoE^{-/-}LDLR^{-/-} with deoxycoformycin (dCF). Moreover, we investigated effects of commonly used drugs, such as acetylsalicylic acid (ASA), on vascular adenosine deaminase activity in ApoE^{-/-}LDLR^{-/-} mice.

We observed a massive increase of vascular eADA activity in ApoE^{-/-}LDLR^{-/-} mice that progressed with mice age and preceded the formation of atherosclerotic plaque, while activities of ecto-nucleotidases (CD39 and CD73) were decreased. Activity of adenosine deaminase in atherosclerosis originated from activated endothelial cells with some contribution from smooth muscle cells and macrophages. 2-month treatment with ADA inhibitor (deoxycoformycin) reduced lipid deposits (8.1 ± 0.8 vs. $5.6 \pm 0.6 \mu\text{m}^2 \times 10^5$) and macrophages area (2.8 ± 0.6 vs. $1.7 \pm 0.3 \mu\text{m}^2 \times 10^5$) in AR and improved indicators of endothelial function, inflammation and oxidative stress. Immunofluorescence data also revealed the decrease in ADA signal in aortic

roots after dCF treatment. Moreover, we demonstrated that acetylsalicylic acid inhibits *ex vivo* adenosine degradation in atherosclerotic mice vessel at concentrations comparable to those observed in blood of patients treated with low doses of ASA.

Our work highlights the importance of changes in vascular metabolism of extracellular nucleotides and especially adenosine in atherosclerosis. Increased ecto-adenosine deaminase activity might contribute to this pathology, mark its early stage and could be target for therapy.

This study was supported by National Science Centre of Poland (2014/13/N/NZ4/04471).

PRZEBUDOWA FUNKCJONALNA KARDIOMIOCYTÓW
PRAWIEJ KOMORY W NIEWYDOLNOŚCI SERCA SPOWODOWANEJ
ROZLEGŁYM ZAWAŁEM LEWEJ KOMORY W SERCU SZCZURAALEKSANDRA PATEREK, JOANNA KOŁODZIEJCZYK, MARTA KĘPSKA, MICHAŁ MĄCZEWSKI,
URSZULA MACKIEWICZ*Zakład Fizjologii Klinicznej, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa
e-mail: aleksandra.paterek@cmkp.edu.pl*

Wstęp: Główną przyczyną rozwoju niewydolności serca w krajach rozwiniętych jest choroba niedokrwienna serca, w tym zawał serca. Rozległy zawał lewej komory prowadzi do utraty znacznej liczby kardiomiocytów. Obciążenie przeżywających zawał kardiomiocytów znacznie rośnie, co prowadzi do uruchomienia procesów kompensacyjnych. Kardiomiocyty przeżywające zawał zwiększają wymiary, rośnie w nich amplituda sygnału Ca^{2+} w celu podtrzymania kurczliwości. Jednak przy dużym ubytku kardiomiocytów te procesy kompensacyjne mogą być niewystarczające i dochodzi do rozstrzeni lewej komory, wzrostu ciśnienia późnorozkurczowego, wzrostu ciśnienia w krążeniu płucnym i przebudowy prawej komory. Przebudowa komórkowa lewej komory została poddana dogłębnej analizie. Wiadomo, że w kardiomiocytach lewej komory dochodzi do zmian obiegu Ca^{2+} , a kluczową zmianą zwiastującą pogorszenie czynności kardiomiocytów jest spadek funkcji ATP-azy wapniowej siateczki sarkoplazmatycznej (SERCA), prowadzący ostatecznie do zmniejszenia siły i kinetyki skurczu. Pokazano również, że spadek funkcji prawej komory jest niezależnym, niekorzystnym czynnikiem rokowniczym w niewydolności serca spowodowanej zawałem lewej komory. Nie ma jednak prac, w których zbadano przebudowę funkcjonalną kardiomiocytów prawej komory w niewydolności serca, będącej następstwem zawału lewej komory. Stąd jako **cel pracy** obraliśmy zbadanie zmian wewnątrzkomórkowego obiegu Ca^{2+} i kurczliwości w kardiomiocytach izolowanych z prawej komory serca szczura w toku rozwoju pozawałowej niewydolności serca i porównanie tych zmian ze zmianami, które zachodzą w kardiomiocytach izolowanych z bezpośrednio uszkodzonej komory lewej.

Materiał i Metody: U szczurów rasy Wistar płci męskiej indukowano rozległy zawał lewej komory przez podwiązanie gałęzi przedniej zstępującej lewej tętnicy wieńcowej lub wykonywano operację pozorowaną. Echokardiograficznie oszacowano wielkość zawału, zmierzono frakcję wyrzucania i wymiary lewej komory. Za pomocą cewnika wewnątrzserowego dokonano

pomiaru ciśnień w lewej komorze. Następnie pobierano serca w celu izolacji kardiomiocytów. Kardiomiocyty izolowano oddzielnie z lewej i prawej komory serca. Oceniano funkcję skurczowo-rozkurczową kardiomiocytów metodą detekcji krawędzi oraz wewnątrzkomórkowy obieg jonów Ca^{2+} przy użyciu sondy fluorescencyjnej Fura-2.

Wyniki: Osiem tygodni po indukcji zawału stwierdziliśmy istotny spadek funkcji i rozstrzeń lewej komory. Frakcja wyrzutowa spadła średnio o 74%, a objętość późnorozkurczowa wzrosła o 80%. Średnie ciśnienie późnorozkurczowe w lewej komorze wynosiło 20 mmHg u zwierząt po zawale, a u zwierząt operowanych pozornie — 5 mmHg. W kardiomiocytach lewej komory zaobserwowaliśmy wzrost amplitudy sygnału Ca^{2+} średnio o 18% oraz zwolnienie opadania sygnału Ca^{2+} średnio o 9%, spowodowane spadkiem funkcji SERCA o 8%. W kardiomiocytach prawej komory amplituda sygnału Ca^{2+} była znacznie silniej zwiększona niż w kardiomiocytach komory lewej (średnio o 31%), prawdopodobnie z powodu spadku funkcji wymiennika $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (średnio o 27%). Szybkość opadania sygnału Ca^{2+} i funkcja SERCA były niezmiennione. Na tym etapie rozwoju niewydolności serca amplituda skurczu w kardiomiocytach lewej komory była niezmienniona, a zwolniona była kinetyka skurczu. W kardiomiocytach prawej komory amplituda skurczu była zwiększona średnio o 14%, a kinetyka skurczu była zwolniona, podobnie jak w kardiomiocytach lewej komory.

Wnioski: Kardiomiocyty prawej komory serca ulegają przebudowie czynnościowej po rozległym zawale lewej komory. Osiem tygodni po zawale zmiany te wydają się mieć charakter kompensacyjny i prowadzą do wzmocnienia funkcji kardiomiocytów prawej komory. Brak zmian funkcji SERCA wskazuje, że ewentualne pogorszenie funkcji kardiomiocytów prawej komory jest opóźnione w stosunku do kardiomiocytów lewej komory. Dalsza obserwacja wykáže, czy zmiana funkcji SERCA w prawej komorze pojawia się na dalszym etapie przebudowy i jest związana z dekompensacją hemodynamiczną w tym modelu.

ZASTOSOWANIE EDYCJI GENOMU DO KOREKCJI
FENOTYPU KARDIOMIOCYTÓW UZYSKANYCH Z KOMÓREK IPS
OD PACJENTÓW Z ATAKSJĄ FRIEDRIECHANATALIA ROZWADOWSKA^{1,2}, YANJIE LI², ANGELA BHALLA², JILL BUTLER²,
TOMASZ KOLANOWSKI¹, MAREK NAPIERALA²¹*Institut Genetyki Człowieka PAN, Poznań, Polska*²*Stem Cell Institute University of Alabama Birmingham, USA*
e-mail: nrozwad@man.poznan.pl

Ataksja Friedreicha (FRDA) jest chorobą neurodegeneracyjną, spowodowaną ekspansją powtórzeń trinukleotydomów GAA zlokalizowanych w intronie pierwszym genu frataksyny (FXN). Pomimo charakterystycznych objawów ze strony układu neurologicznego główną przyczyną prowadzącą do zgonów pacjentów z FRDA jest niewydolność mięśnia sercowego. Obniżona ekspresja frataksyny spowodowana przez epigenetyczne wyciszenie ekspresji genu FXN jest bezpośrednim powodem powstania kardiomiopatii przerostowej serca. Precyzyjne wycięcie z genomu powtórzeń GAA za pomocą specyficznych nukleaz (ZFN — *zinc finger nuclease*) otwiera nie tylko możliwość korekcji fenotypu, ale także stworzenie nowego modelu umożliwiającego poznanie patomechanizmu choroby czy też walidację nowych metod terapeutycznych.

Celem badań było uzyskanie z fibroblastów pobranych od pacjentów z FRDA, poddanie ich edycji genomowej za pomocą ZFN, a następnie uzyskanie linii komórek o indukowanej pluripotencji (iPS) i wykorzystanie ich do różnicowania w kierunku kardiomiocytów.

Tak uzyskane linie iPS (CNTR, FRDA, ZFN-EDT) zostały następnie zwalidowane na obecność markerów pluripotencji oraz potwierdzono ich zdolność do różnicowania w komórki pochodzące z trzech listków zarodkowych. Ukierunkowane różnicowanie w kierunku kardiomiocytów zostało wykonane przy użyciu związków niskocząsteczkowych — modulatorów klasycznej ścieżki sygnałowej czynnika Wnt-1. Zastosowanie tej metody umożliwiło uzyskanie populacji kardiomiocytów (iPS-CM) wykazującej ekspresję aktyniny (ACTC) oraz troponiny (TNNT2) kardialnej w ponad 95% komórek. Obserwację potwierdzono odpowiednimi barwieniami immunofluorescencyjnymi.

Ocena ekspresji genu FXN wykazała, iż efekt korekcji fenotypu — wzrost ekspresji frataksyny — utrzymuje się również w uzyskanych z linii iPS-ZNF kardiomiocytach.

Badania ultrastruktury iPS-CM za pomocą mikroskopii elektronowej wskazały, że główna różnica fenotypowa pomiędzy kardiomiocytami uzyskanymi z linii prawidłowych w odniesieniu do iPS-CM FRDA zawiera się w strukturze mitochondriów. Różnica ta nasilała się po suplementacji medium hodowlanego jonami żelaza Fe^{3+} .

Analiza ekspresji genów wiązanych z patologicznym przerostem mięśnia sercowego za pomocą TagMan Gene Expression Array (ThermoFisher) potwierdziła, że iPS-CM uzyskane z linii FRDA wykazują profil ekspresji typowy dla kardiomiocytów hipertroficznycych. Dodatkowo zauważono pozytywny wpływ usunięcia patologicznych powtórzeń GAA objawiający się obniżeniem ekspresji genów (np. z rodziny NFAT, CAMK).

Szczególnie interesującym zjawiskiem wydaje się obniżona ekspresja endoteliny-1 oraz natriuretycznego peptydu A w komórkach iPS-CM ZNF-EDT do poziomu porównywalnego z kardiomiocytami niewykazującymi cech hipertrofii.

Opierając się na badaniach prowadzonych na modelach zwierzęcych FRDA, wykazano, iż w komórkach mięśnia sercowego dochodzi do gromadzenia nadmiaru kropli lipidowych. Mechanizm tego procesu nie został poznany.

Wykorzystując zarówno barwienie histologiczne (OilRed), jak i fluorescencyjne (Bodipy), potwierdzono, że również iPS-CM FRDA wykazują tendencję do gromadzenia lipidów w cytoplazmie, a ten proces może być zahamowany w liniach ZNF-EDT. Analiza ekspresji genów związanych z metabolizmem kwasów tłuszczowych (ACACA, SREBP, CTP1b) potwierdziła zaburzoną gospodarkę lipidową w komórkach z niedoborem frataksyny, która również może zostać w pewnym stopniu skorygowana poprzez edycję genomową.

Edycja genomu jako strategia terapeutyczna w chorobach spowodowanych przez mutacje DNA wyznacza nowy trend, który dzięki postępom technologii zaczyna stanowić potencjalną opcję terapeutyczną chorób, w przypadku których leczenie przyczyny było do tej pory niemożliwe. Uzyskanie komórek pluripotencjalnych i stworzenie modelu choroby *in vitro*, opartego na typie komórek ulegających uszkodzeniu w danej chorobie, stanowi podstawę do poznania jej patomechanizmu i opracowania nowych, celowanych terapii.

WPŁYW EKSPRESJI KONEKSYNY 43 W LUDZKICH KOMÓRKACH MIOGENNYCH NA POZIOM ZJAWISK ARYTMOGENNYCH W MODELU SZCZURA POZAWAŁOWEGO

ANNA RUGOWSKA¹, BARTOSZ WIERNICKI¹, TOMASZ KOLANOWSKI¹, AGNIESZKA ZIMNA¹,
NATALIA ROZWADOWSKA¹, MICHAŁ MĄCZEWSKI², URSZULA MACKIEWICZ²,
WOJCIECH ŁABĘDŹ³, TOMASZ TRZECIAK³, JACEK KACZMARCZYK³, MACIEJ KURPISZ¹

¹*Instytut Genetyki Człowieka PAN, Poznań*

²*Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa*

³*Klinika Ortopedii i Traumatologii, Ortopedyczno-Rehabilitacyjny Szpital Kliniczny im. W. Dęgi,
Uniwersytet Medyczny w Poznaniu
e-mail: rugowska@man.poznan.pl*

Choroby układu sercowo-naczyniowego stanowią jedną z najczęstszych przyczyn śmierci w krajach wysoko rozwiniętych. Według najnowszych doniesień Światowej Organizacji Zdrowia (ang. WHO), w 2012 roku na choroby zmarło 17,5 miliona ludzi na całym świecie.

Jedną z postaci choroby układu sercowo-naczyniowego jest zawał mięśnia sercowego (ang. *myocardial infarction*), spowodowany przez niedokrwienie miokardium na skutek zamknięcia tętnicy wieńcowej doprowadzającej utlenowaną krew do danego obszaru/segmentu. W ciągu kilkunastu dni po zawale obumarłe kardiomiocyty zastępowane są przez komórki tkanki łącznej oraz tkankę włóknistą. Powstałe zmiany w macierzy pozakomórkowej są przyczyną zwiększonego włóknienia mięśnia sercowego, co powoduje usztywnienie ściany lewej komory i pogorszenie jej funkcji.

Od ponad dwóch dekad próbuje się przywrócić prawidłową hemodynamikę/frakcję serca po zawale używając do tego celu komórek macierzystych. Współcześnie wykorzystywane są ich różne rodzaje: komórki pochodzące ze szpiku kostnego (ang. *bone marrow-derived cells*, BMCs), komórki prekursorowe serca (ang. *cardiac stem cells*, CSCs), pochodzące z tkanki tłuszczowej (ang. *adipose-derived cells*), jak również indukowane pluripotentne komórki macierzyste (ang. *induced pluripotent stem cells*, IPS) czy embrionalne komórki macierzyste (ang. *embryonic stem cells*, ES). Innym typem komórek wykorzystywanych w medycynie regeneracyjnej są mioblasty, będące prekursorami komórek pochodzenia mio-gennego.

Pomimo wielu zalet, jakie posiadają te komórki, głównym problemem związanym z zastosowaniem mioblastów w regeneracji nieodwracalnie uszkodzonego miokardium jest ich niepełna synchronizacja zarówno elektrofizjologiczna, jak i strukturalna z kardiomiocytami biorczymi.

Celem projektu była ocena wpływu przeprowadzonej modyfikacji genetycznej mioblastów genem *GJA1* odpowiedzialnego za połączenia szczelinowe na arytmogenność mioblastów w kontekście ich roli regeneracyjnej wobec pozawałowego mięśnia sercowego. Badania zostały wykonane na modelu szczura Wistar. W celu weryfikacji eliminacji proarytmogennych właściwości ludzkich mioblastów u szczura został wywołany zawał mięśnia sercowego poprzez podwiązanie odgałęzienia lewej tętnicy wieńcowej (łac. *left coronary artery*, LCA). Po indukcji zawału zwierzęta wyosobniono w trzech grupach: (i) grupę kontrolną z podanymi natywnymi mioblastami, (ii) grupę kontrolną typu „sham” z podanym 0,9% roztworem NaCl, (iii) grupę po interwencji mioblastami z badanym genem. Podskórnie wszczone szczurom nadajniki telemetryczne pozwoliły na stałą obserwację pracy serca poprzez badanie EKG i tym samym na identyfikację dodatkowych pobudzeń wtórnych typu komorowego w mięśniu sercowym.

Jednym z zadań Projektu było uzyskanie zawiesiny mioblastów wykazujących nadekspresję sekwencji kodującej genu koneksyny 43 oraz weryfikacja tejże ekspresji na poziomie mRNA i białka. Poziom nadekspresji oceniano za pomocą reakcji PCR w czasie rzeczywistym, uzyskując około czterdziestokrotną nadekspresję na poziomie mRNA, która została również potwierdzona na poziomie białka metodą immunoblotowania typu Western.

Analiza wyników wykazała, że zastosowana modyfikacja genetyczna mioblastów — z nadekspresją białka koneksyny 43, pomniejszyła zjawisko występowania dodatkowych pobudzeń serca w porównaniu ze szczurami z grupy kontrolnej (po zawale).

SIARKOWODÓR POTENCJALIZUJE HIPOTENSYJNE DZIAŁANIE LOSARTANU U SZCZURÓW Z NADCIŚNIENIEM TĘTNICZYM

MARIUSZ SIKORA, ADRIAN DRAPAŁA, MARCIN UFNAŁ

*Zakład Fizjologii i Patofizjologii Eksperymentalnej, Laboratorium Centrum Badań Przedklinicznych,
Warszawski Uniwersytet Medyczny
e-mail: mariusz.sikora@wum.edu.pl*

Wstęp: Wyniki badań wskazują na istotny udział siarkowodoru (H_2S) w regulacji układu krążenia oraz patogenezie nadciśnienia tętniczego. Szczególną uwagę badaczy zwraca możliwość wykorzystania tego gazotransmitera w farmakoterapii chorób sercowo-naczyniowych. Dotychczas potwierdzono naczynioaktywne, kardioprotekcyjne oraz przeciwmiażdżycowe właściwości H_2S . Aktualnie trwają badania nad skutecznością i bezpieczeństwem związków powstałych przez połączenie dobrze znanych leków z grupami uwalniającymi H_2S .

Cel badania: Wyjaśnienie, czy H_2S może potencjalizować hipotensyjne działanie losartanu — antagonisty receptora AT1 dla angiotensyn.

Metodyka: Badania wykonano na szczurach szczepu SHR z samoistnym nadciśnieniem tętniczym i ich normotensyjnej kontroli szczurach Wistar Kyoto (WKY).

Zwierzęta zostały losowo przydzielone do grup otrzymujących losartan (w wodzie pitnej 100 mg/l), wodorosiarczek sodu (donor H_2S ; 56 $\mu\text{mol/kg/dobę}$ dootrzewnowo) lub obie substancje jednocześnie. Po 6 tygodniach oceniono wartości parametrów hemodynamicznych, wrażliwość odruchu z baroreceptorów na zmiany ciśnienia tętniczego wywołane nitroprusydem sodu i fenylefryną oraz wskaźnik przerostu serca.

Wyniki: W grupie otrzymującej losartan i grupie otrzymującej donor H_2S stwierdzono obniżenie ciśnienia tętniczego u hipertensyjnych szczurów. Terapia łączona (losartan + donor H_2S) charakteryzowała się silniejszym działaniem hipotensyjnym niż monoterapia każdym z tych związków. H_2S ponadto potencjalizował wpływ losartanu na wrażliwość odruchu z baroreceptorów i przerost serca.

Wnioski: Skojarzona terapia związkami modulującymi stężenie H_2S z antagonistami receptora AT1 stanowi obiecujący cel w farmakoterapii chorób układu sercowo-naczyniowego i może przyczynić się do poprawy efektywności leczenia.

ODNERWIENIE NEREK ZMNIEJSZA EFEKT HIPOTENSYJNY AMLODYPINY ORAZ METOPROLOLU

JANUSZ SKRZYPECKI, PIOTR KONOPELSKI, MARCIN UFNAL

*Zakład Fizjologii i Patofizjologii Eksperymentalnej, Laboratorium Centrum Badań Przedklinicznych,
Warszawski Uniwersytet Medyczny
e-mail: janusz.skrzypecki@gmail.com*

Cel: Wyniki badania Symplicity III zakwestionowały skuteczność odnerwienia nerek w leczeniu nadciśnienia tętniczego opornego na farmakoterapię. Niniejsze badanie miało na celu sprawdzenie, czy odnerwienie nerek wpływa na działanie wybranych leków hipotensyjnych.

Metody: Badanie zostało przeprowadzone na 70 szczurach z nadciśnieniem tętniczym (SHR) płci męskiej. Szczury zostały losowo podzielone na dwie grupy i przeszły zabieg odnerwienia nerek lub pozorowanego odnerwienia nerek (kontrola). Jednocześnie szczurom wszczepiono pompy osmotyczne uwalniające jedną z następujących substancji: metoprolol, amlodypinę, losartan, indapamid lub fizjologiczny roztwór soli. Po 10 dniach wykonano pomiary ciśnienia tętniczego oraz częstości skurczów serca u czuwających zwierząt.

Wyniki: Odnerwienie nerek spowodowało istotne obniżenie średniego ciśnienia tętniczego u zwierząt otrzymujących fizjologiczny roztwór soli. Szczury po odnerwieniu nerek otrzymujące metoprolol lub amlodypinę miały istotnie wyższe średnie ciśnienie tętnicze, niż zwierzęta kontrolne. Nie zaobserwowano natomiast istotnych różnic w średnim ciśnieniu tętniczym pomiędzy grupą z odnerwionymi nerkami a grupą kontrolną u zwierząt otrzymujących losartan lub indapamid. W żadnej z grup nie stwierdzono istotnego wpływu odnerwienia nerek na częstość skurczów serca.

Wnioski: Badanie potwierdziło efekt hipotensyjny odnerwienia nerek u szczurów z nadciśnieniem tętniczym. Jednocześnie wyniki badania wskazują, że odnerwienie nerek może osłabiać działanie wybranych leków hipotensyjnych.

WZROST STĘŻENIA SIARKOWODORU W JELICIE GRUBYM OBNIŻA CIŚNIENIE TĘTNICZE U SZCZURÓW

LENKA TOMASOVA¹, KAROL ONDRIAS¹, KINGA PHAM², MARCIN UFNAŁ²

¹*Farmaceutická fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava, Slovensko*

²*Zakład Fizjologii i Patofizjologii Eksperymentalnej, Laboratorium Centrum Badań Przedklinicznych,
Warszawski Uniwersytet Medyczny
e-mail: mufnal@wum.edu.pl*

Wstęp: Najnowsze badania wskazują, że nadciśnienie tętnicze może być związane z zaburzeniami w składzie flory jelitowej. Bytujące w jelitach bakterie metabolizują składniki pokarmowe, wytwarzając szereg związków chemicznych, takich jak siarkowodor (H₂S). Celem badania była ocena wpływu zwiększonego stężenia H₂S w jelicie grubym na ciśnienie tętnicze.

Metodyka: Badania przeprowadzono na szczurach normotensyjnych (WKY) oraz hipertensyjnych (SHR) płci męskiej. U zwierząt w znieczuleniu ogólnym uretanem rejestrowano zmiany parametrów hemodynamicznych oraz EKG po podaniu wodnego roztworu donora H₂S (Na₂S) do okrężnicy.

Wyniki: Podanie donora H₂S wywołało istotny, zależny od dawki efekt hipotensyjny zarówno u szczurów WKY, jak i SHR. Spadkowi ciśnienia tętniczego towarzyszył spadek częstości skurczów serca. Spadek średniego ciśnienia tętniczego był istotnie większy u szczurów SHR niż u WKY. Efekt hipotensyjny donora H₂S był częściowo hamowany przez glibenklamid. Nie obserwowano istotnych zmian w morfologii zapisu EKG oraz długości QT po podaniu donora H₂S.

Wnioski: Wyniki badania wskazują, że H₂S wytwarzany w jelicie grubym może brać udział w regulacji ciśnienia tętniczego oraz patogenezie nadciśnienia tętniczego.

WPLYW SODO-ZALEŻNEGO NADCIŚNIENIA TĘTNICZEGO NA REGULACJĘ NAPIĘCIA ŚRODKOWEJ TĘTNICY MÓZGU I TĘTNICY ZAOPATRUJĄCEJ MIĘSIEŃ SZKIELETOWY SZCZURA

ANETA USZYŃSKA, KRZYSZTOF H. OLSZYŃSKI, EWA KOŹNIEWSKA

*Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego PAN, Warszawa
e-mail: ekozniowska@imdik.pan.pl*

Nadmierne spożycie sodu jest czynnikiem ryzyka rozwoju chorób sercowo-naczyniowych, w tym nadciśnienia tętniczego. Ostatnie badania wskazują na to, że nawet w przypadku braku wzrostu ciśnienia tętniczego nadmiar sodu w diecie wpływa niekorzystnie na naczynia krwionośne i narządy. Wykazano również, że wysokie spożycie soli jest czynnikiem ryzyka udaru mózgu, niezależnie od nadciśnienia tętniczego. Celem podjętych przez nas badań jest porównanie wpływu sodo-zależnego nadciśnienia tętniczego i diety wysokosodowej na regulację napięcia tętnicy zaopatrującej mięsień smukły (GMA) i tętnicy środkowej mózgu (MCA) szczura. Oba naczynia mają charakter oporowy, przy czym GMA bierze udział w regulacji całkowitego oporu obwodowego, a MCA reguluje opór naczyniowy w krążeniu mózgowym. Zmiany drożności MCA są najczęstszą przyczyną udaru niedokrwienego u ludzi. Badania prowadzone były na szczurach szczepu Sprague Dawley (SD) w następujących grupach: 1. SD z pozorowaną nefrektomią na diecie standardowej zawierającej 0.25% Na (SHAMNS) 2. SD z jednostronną nefrektomią na diecie wysokosodowej zawierającej 4% Na (UNXHS), 3. SD na diecie wysokosodowej zawierającej 4% Na (HS). W okresie trwania diety (28 dni) co tydzień przeprowadzano nieinwazyjne pomiary ciśnienia tętniczego i oznaczano stężenie jonów sodu w próbkach osocza krwi. Po 28 dniach diety pobierano wymienione wyżej naczynia i w komórce arteriografu badano ich reaktywność na endotelinę (ET-1) oraz czynniki śródłonko-zależne: acetylocholinę (Ach) w przypadku GMA i adenozyno-5'-trifosforan (ATP) w przypadku MCA. Analizowano zależności odpowiedź-dawka.

Dieta wysokosodowa nie wywarła *per se* wpływu na ciśnienie tętnicze, które w grupie HS utrzymywało się na poziomie podobnym do ciśnienia u szczurów SHAMNS. Natomiast w grupie UNXHS ciśnienie tętnicze wzrastało począwszy od 7. dnia diety i osiągało wartość maksymalną po 21 dniach. Ciśnienie skurczowe było średnio o 30 mmHg wyższe, a ciśnienie średnie o 20 mmHg wyższe niż ciśnienie wyjściowe. Stężenie Na⁺ w osoczu szczurów przez cały czas trwania doświadczenia utrzymywało się w granicach prawidłowych wartości od 135 do 139 mM, przy czym u żadnego zwierzęcia nie było widać tendencji do wzrostu.

Badanie reaktywności naczyń na podanie ET-1 (10^{-10} , 5×10^{-10} , 10^{-9} , 5×10^{-9} , 10^{-8} M) wykazało, że tętnice GMA szczurów UNXHS kurczą się statystycznie istotnie bardziej ($p < 0.05$) niż GMA szczurów z kontrolnej grupy SHAMNS w zakresie wszystkich badanych stężeń. Natomiast GMA z grupy szczurów HS odpowiadały większym skurczem tylko na najwyższe stężenia ET-1, co sugeruje, że dieta wysoko-sodowa może *per se* nasilać odpowiedź małych tętnic oporowych na związki naczyniokurczące. W reaktywności MCA na ET-1 w zakresie tych samych stężeń nie zauważono statystycznie istotnych różnic odpowiedzi między grupami. Zaskakujących wyników dostarczyły badania reaktywności obu tętnic na podanie związków, które swoje działanie naczyniorozszerzające wywierają za pośrednictwem NO uwalnianego z komórek śródbłonna. W przypadku GMA odpowiedź na Ach (10^{-9} , 10^{-8} , 5×10^{-8} , 10^{-7} , 5×10^{-7} M) nie różniła się w sposób statystycznie istotny między grupami.

Natomiast odpowiedź MCA na ATP (10^{-8} , 5×10^{-8} , 10^{-7} , 5×10^{-7} , 10^{-6} M) u szczurów UNXHS była wyraźnie mniejsza ($p < 0.05$) niż w grupie kontrolnej SHAMNS dla całego zakresu badanych stężeń. Uzyskane wyniki wskazują, że: 1. Obwodowe naczynia oporowe w sodozależnym nadciśnieniu tętniczym wykazują zwiększoną wrażliwość na ET-1; 2. Dieta wysokosodowa sprzyja zwiększeniu oporu naczyniowego, 3. Śródbłonek MCA ulega dysfunkcji w sodozależnym nadciśnieniu tętniczym.

WPŁYW ANTAGONISTÓW RECEPTORÓW KANNABINOIDOWYCH NA DODATNI EFEKT CHRONOTROPOWY I INOTROPOWY IZOPRENALINY W IZOLOWANYCH PRZEDSIONKACH SERCA SZCZURA

JOLANTA WERESA, ANNA PĘDZIŃSKA-BETIUK, BARBARA MALINOWSKA

*Zakład Fizjologii i Patofizjologii Doświadczalnej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
e-mail: jolanta.weresa@umb.edu.pl*

Kannabinoidy wykazują zależny od receptorów kannabinoidowych CB₁ ujemny efekt inotropowy w izolowanych przedsionkach serca człowieka (Bonz *et al.*, J Cardiovasc Pharmacol. 2003; 41: 657) i szczura (Sterin-Borda *et al.*, Biochem Pharmacol. 2005; 69: 1705). Mogą także działać inotropowo dodatnio za pośrednictwem receptorów CB₂ (Sterin Borda *et al.* 2005). Ponadto wykazano, że endogenne kannabinoidy uwalniane w sercu szczurów z niewydolnością wątroby osłabiają odpowiedź skurczową izolowanych mięśni brodawkowatych pobudzanych przez nieselektywnego agonistę receptorów β-adrenergicznych izoprenalinę, a efekt ten był odwracalny przez antagonistę receptorów kannabinoidowych CB₁ AM251 (Gaskari *et al.*, Br J Pharmacol. 2005; 146: 315). Jednak jak do tej pory nikt nie zbadał interakcji pomiędzy receptorami kannabinoidowymi i β-adrenergicznymi w sercu. Dlatego celem naszych badań było zbadanie wpływu antagonistów receptorów kannabinoidowych na dodatnie działanie chronotropowe i inotropowe izoprenaliny.

Doświadczenia przeprowadzono na izolowanych przedsionkach serca szczura. Działanie chronotropowe oceniano na pracującym spontanicznie prawym przedsionku serca. Natomiast efekty inotropowe badano na stymulowanym elektrycznie lewym przedsionku serca szczura. Wzrastające stężenia izoprenaliny (0.001 nM — 10 μM) podawano po uprzedniej 30-minutowej inkubacji z antagonistami receptorów kannabinoidowych CB₁ AM251 (0,1, 1 oraz 3 μM), CB₂ AM630 (0,1, 1 oraz 3 μM), β₁-adrenergicznych CGP20712 (300 nM), β₂-adrenergicznych ICI118551 (50 nM) lub ich odpowiednich rozpuszczalników. Wartości bazalne wynosiły ok. 360 skurczów/min i ok. 2,3 mN.

Izoprenalina w sposób zależny od stężenia zwiększała częstość skurczów izolowanych prawych przedsionków serca szczura; maksymalnie o ok. 120 uderzeń/min, pEC₅₀ 8.4 ± 0,01, n = 19. AM251 w stężeniu 1 μM oraz AM630 w stężeniu 0,1 μM nie wpływały na efekt chronotropowy dodatni izoprenaliny. AM251 w stężeniach 0,1 i 3 μM oraz AM630 w stężeniu 3 μM zmniejszyły

indukowany izoprenaliną maksymalny wzrost częstości skurczów przedsionka odpowiednio o około 25, 35 i 60%. Efekt chronotropowy izoprenaliny był natomiast nasilony o około 30% przez AM630 1 μM . W kolejnych doświadczeniach wykazano, że pobudzenie receptorów β_1 -adrenergicznych przez izoprenalinę w obecności ICI118551 lub receptorów β_2 -adrenergicznych w obecności CGP20712 prowadziło do wzrostu częstości skurczów, który nie był zmieniany zarówno przez AM251, jak i przez AM630 (obydwa w stężeniu 1 μM).

Izoprenalina w sposób zależny od stężenia zwiększała siłę skurczów izolowanych lewych przedsionków serca szczura; maksymalnie o około 75% wartości bazalnej, pEC_{50} $7,7 \pm 0,05$, $n = 21$. AM251 w stężeniach 0,1 i 3 μM tylko nieznacznie nasilił efekt inotropowy izoprenaliny, z kolei w stężeniu 1 μM spowodował jego wyraźne osłabienie o około 55%. AM630 w stężeniu 1 μM nie wpływał na maksymalny wzrost kurczliwości stymulowany izoprenaliną, ale spowodował przesunięcie krzywej stężenie-efekt dla tego agonisty w lewo (pEC_{50} $9,6 \pm 0,2$, $n = 5$ vs. $7,7 \pm 0,05$, $n = 21$ w kontroli). Z kolei AM630 w stężeniach 0,1 i 3 μM nasilał maksymalny wzrost kurczliwości przedsionków po izoprenalinie odpowiednio o około 30 i 50%. Indukowany izoprenaliną wzrost siły skurczów w obecności antagonisty receptorów β_2 -adrenergicznych ICI118551 był wyraźnie osłabiony zarówno przez AM251 jak i AM630 (obydwa w stężeniu 1 μM). Żaden z antagonistów receptorów kannabinoidowych nie wpływał na efekt inotropowy izoprenaliny w obecności CGP20712.

Podsumowując, antagoniści receptorów kannabinoidowych CB_1 i CB_2 modyfikują w sposób zależny od stężenia dodatnie efekty chronotropowe i inotropowe izoprenaliny w izolowanych prawych i lewych przedsionkach serca szczura. Przy zastosowaniu terapeutycznym antagonistów receptorów kannabinoidowych należy wziąć pod uwagę ich potencjalny wpływ na serce.

EXERCISE CAPACITY AND CARDIAC HEMODYNAMIC RESPONSE
 IN APOE/LDLR^{-/-} MICE: A PARADOX OF PRESERVED $\dot{V}O_{2\text{MAX}}$
 AND EXERCISE CAPACITY DESPITE CORONARY ATHEROSCLEROSIS

MARTA WOJEWODA¹, URSZULA TYRANKIEWICZ², PAWEŁ GWÓZDŹ³, TOMASZ SKÓRKA²,
 MAGDALENA JABŁOŃSKA², ANNA OŻYŁOWSKA², KRZYSZTOF JASIŃSKI², AGNIESZKA JASZTAŁ¹,
 KAMIL PRZYBOROWSKI¹, RENATA KOSTOGRYS⁴, JERZY A. ŻOŁĄDŹ⁵, STEFAN CHŁOPICKI^{1,3}

¹Jagiellonian Centre for Experimental Therapeutics (JCET), Jagiellonian University, Krakow, Poland

²Institute of Nuclear Physics, Polish Academy of Sciences,

Department of Magnetic Resonance Imaging, Krakow, Poland

³Department of Experimental Pharmacology, Chair of Pharmacology,
 Jagiellonian University Medical College, Krakow, Poland

⁴Department of Human Nutrition, Faculty of Food Technology, Agricultural University of Krakow, Poland

⁵Department of Muscle Physiology, Faculty of Rehabilitation,
 University School of Physical Education, Krakow, Poland

e-mail: stefan.chlopicki@jcet.eu

We assessed exercise performance, cardiac reserve and vasodilator responses in coronary circulation of ApoE/LDLR^{-/-} mice with advanced coronary atherosclerosis compared with age-matched, wild-type C57BL6/J mice. Exercise capacity was assessed as maximal oxygen consumption ($\dot{V}O_{2\text{max}}$), maximum running velocity (v_{max}) and maximum distance (DIST_{max}) during treadmill exercise. Cardiac systolic and diastolic function in basal conditions and in response to dobutamine (mimicing exercise-induced cardiac stress) were assessed by Magnetic Resonance Imaging (MRI) *in vivo*. Function of coronary circulation was assessed in isolated perfused hearts.

In ApoE/LDLR^{-/-} mice $\dot{V}O_{2\text{max}}$ was preserved, while v_{max} and DIST_{ma} were higher than in C57BL6/J mice. Cardiac function at rest and systolic and diastolic cardiac reserve were preserved in ApoE/LDLR^{-/-} mice as evidenced by preserved fractional area change (FAC) and similar fall in systolic and end diastolic area (ESA and EDA) after dobutamine. Moreover, endothelium-dependent responses of coronary circulation induced by bradykinin (Bk) and acetylcholine (Ach) were also preserved, while endothelium-independent responses induced by NO-donors were augmented in ApoE/LDLR^{-/-} mice. Basal COX-2-dependent production of 6-keto-PGF1 α was increased. Concluding, we demonstrated for the first time that robust compensatory mechanisms in coronary circulation of mice with advanced coronary atherosclerosis may counterbalance impairment in $\dot{V}O_{2\text{max}}$ and exercise capacity resulting from the disease.

WZROST AKTYWNOŚCI UKŁADU OKSYTOCYNERGICZNEGO W PRZEBIEGU POZAWAŁOWEJ NIEWYDOLNOŚCI SERCA

AGNIESZKA WSÓŁ¹, LIANA PUCHALSKA¹, MAREK KUCH²,
AGNIESZKA CUDNOCH-JĘDRZEJEWSKA¹

¹Zakład Fizjologii Doświadczalnej i Klinicznej, Laboratorium Centrum Badań Przedklinicznych,
Warszawski Uniwersytet Medyczny

²Zakład Niewydolności Serca i Rehabilitacji Kardiologicznej, Warszawski Uniwersytet Medyczny
e-mail: awsol@wum.edu.pl

Wstęp: Liczne prace doświadczalne dostarczają dowodów na możliwe kardioprotekcyjne działanie oksytocyny (OT) we wczesnym okresie po zawale serca (model niedokrwienie-reperfuzja). Obwodowe podawanie OT u zwierząt przyspiesza proces rekonwalescencji, zmniejsza obszar blizny po zawale serca, ma działanie przeciwzapalne w uszkodzonym mięśniu, stymuluje proces angiogenezy oraz zmniejsza tempo pozawałowej przebudowy serca. Brak jest jednak prac oceniających aktywność sercowego układu oksytocynergicznego w odległym okresie po zawale oraz w przewlekłej niewydolności serca.

Metodyka: Celem pracy była ocena aktywności sercowego układu oksytocynergicznego w przewlekłej, pozawałowej niewydolności serca. Badania wykonano na szczurach Sprague-Dawley, które w 10. tygodniu życia poddano operacji podwiązania lewej tętnicy wieńcowej w celu wywołania zawału mięśnia sercowego lub operacji pozorowanej. Fragmenty serca (lewa komora, nieobejmująca obszaru blizny pozawałowej oraz prawa komora serca) zostały pobrane w 5. tygodniu po operacji do badań molekularnych (RT-PCR) lub biochemicznych (ELISA).

Wyniki: U szczurów z zawałem serca stwierdzono wzrost ekspresji mRNA BNP (AU $14,9 \pm 1,4$ zawał vs $4,4 \pm 0,9$ kontrola; $P < 0,0001$) ocenianych we fragmentach lewej komory serca. Wykazano również wyższe stężenie osoczonego NT-proBNP u szczurów z zawałem serca ($742 \pm 25,8$ zawał vs $495 \pm 19,8$ kontrola pg/ml; $P < 0,001$). W grupie z zawałem serca stwierdzono spadek ekspresji mRNA receptora oksytocyny (OTR) zarówno w lewej (AU $15,5 \pm 0,43$ zawał vs $17,66 \pm 0,7$ kontrola; $P < 0,05$), jak i w prawej komorze serca (AU $16,1 \pm 0,49$ zawał vs $18,1 \pm 0,39$ kontrola; $P < 0,05$) oraz spadek ekspresji mRNA OT w prawej komorze serca (AU $18,6 \pm 0,35$ vs $20,3 \pm 0,36$; $P < 0,05$). W grupie szczurów z zawałem serca obserwowano wyższy poziom białka OT (ng/ml) (w przeliczeniu na 1 mg/ml oznaczonego białka całkowitego w próbce) w badanych fragmentach lewej ($0,1 \pm 0,02$ zawał vs $0,04 \pm 0,01$ ng/mg kontrola;

P < 0,01) oraz prawej komory serca ($0,06 \pm 0,02$ zawiał vs $0,02 \pm 0,01$ ng/mg kontrola; P < 0,05). Jednocześnie stwierdzono wyższy poziom białka OTR (ng/ml) (w przeliczeniu na 1 mg/ml oznaczonego białka całkowitego w próbce) w badanych fragmentach lewej komory serca ($0,2 \pm 0,014$ vs $0,11 \pm 0,018$ ng/mg; P < 0,05).

Wnioski: Powyższe wyniki wskazują na wzrost aktywności sercowego układu oksytocynergicznego w przebiegu pozawałowej niewydolności serca. Wzrost produkcji białka OT i OTR w sercu w pozawałowej niewydolności serca może się wiązać z opisywaną w piśmiennictwie rolą OT w stymulowaniu syntezy peptydów natriuretycznych. Niniejsze obserwacje rzucają nowe światło na udział obwodowego układu oksytocynergicznego w patogenezie pozawałowej niewydolności serca.

ANALIZA PRZEBIEGU NACZYŃ TĘTNICZYCH PRZEZ BELECZKĘ
PRZEGRODOWO-BRZEŻNĄ W SERCACH LUDZI DOROSŁYCH

MIŁOSZ ZAJĄCZKOWSKI, ADAM KOŚIŃSKI, AGATA KACZYŃSKA, MAREK GRZYBIAK

*Zakład Anatomii Klinicznej, Gdański Uniwersytet Medyczny
e-mail: milosz@gumed.edu.pl*

W kardiologii aspekt przebiegu naczyń tętniczych przez beleczkę przegrodowo-brzeżną (BPB) jest szczególnie istotny. Zaopatrują one elementy aparatu zastawkowego komory prawej, niejednokrotnie mogą również tworzyć anastomozy z układem prawej tętnicy wieńcowej. Ponadto w BPB często spotyka się gałęzie prawej odnogi pęczka Hisa. W literaturze jedynie nieliczne prace ukazują aspekt morfologiczny belecзки, a dostępne analizy histologiczne obejmują przede wszystkim aspekt proporcji zawartości tkanki mięśniowej do tkanki łącznej oraz przebiegu włókien układu przewodzącego, rzadziej dotyczą jej ukrwienia. Tak więc, szczególnie analiza unaczynienia tętniczego BPB wydaje się mieć szczególne znaczenie kliniczne.

Dynamiczny rozwój kardiologii, inwazyjnych metod diagnostycznych i leczniczych, uwidacznia potrzebę dokładnej znajomości przebiegu naczyń w różnych strukturach wewnątrz jam serca. Pozwala to na wykonywanie zabiegów z maksymalnym zaoszczędzeniem i umożliwia zapobieganie ewentualnym powikłaniom.

Cel pracy stanowiła analiza architektury układu naczyniowego BPB, w aspekcie zmienności pola powierzchni przekroju poprzecznego — światła oraz mięśniówki jej tętnic.

Badania wykonano na materiale 50 serc ludzkich utrwalonych w roztworze formaliny i etanolu. Narządy pochodziły od osób dorosłych (w wieku od 18 do 76 lat), obojga płci, w których w czasie sekcji nie stwierdzono makroskopowo zmian chorobowych ani wad rozwojowych. Serca zostały podzielone na 4 typy morfologiczne wg klasyfikacji zaproponowanej przez Kosińskiego. Analizę wykonano w oparciu o obserwacje przekrojów poprzecznych BPB, podzielonej w tym celu na dziesięć równych odcinków (poziomów). Badania histologiczne przeprowadzono z zastosowaniem klasycznych metod barwienia: hematoksyliną i eozyną, van Giesona oraz Massona z modyfikacją Goldnera. Materiał badano przy użyciu mikroskopu stereoskopowego z kamerą Moticam 2000 z wykorzystaniem programu komputerowego Motic Images Plus 2.0. W opracowaniu statystycznym użyto test Wilcoxon.

Na pierwszym poziomie średnie pole przekroju poprzecznego tętnicy belecзки przegrodowo-brzeżnej wynosiło 0,26 mm², w środkowych poziomach rosło o 2,3%, natomiast na ostatnim

poziomie osiągało wartość o 6,6% mniejszą od początkowej. Łączne pole powierzchni przekroju wszystkich naczyń tętniczych w początkowych poziomach prezentowało się w sposób bardzo zbliżony do zmienności samej tętnicy belecзки, czyli rosło od wartości 0,31 mm² o 7,4%, a wartość końcowa była większa od początkowej tylko o 0,6%. Na pierwszym poziomie pole przekroju mięśniówki tętnicy belecзки wynosiło 0,16 mm², w środkowej części belecзки wzrastało o 5%, natomiast na końcu było o 1,3% mniejsze niż na początku belecзки. Średnia liczba tętnic penetrujących BPB wzrastała między początkiem a końcem belecзки o 70%.

W początkowych odcinkach pole przekroju tętnicy belecзки stawało się coraz większe, aż do połowy długości BPB, po czym zmniejszało się. Było to związane z pogrubieniem środkowej, mięśniowej warstwy tętnicy, która zajmowała stosunkowo coraz większy obszar powierzchni przekroju całej tętnicy belecзки. W taki sam sposób zmieniało się łączne pole przekroju wszystkich naczyń tętniczych na przebiegu przez beleczkę.

Prawdopodobnie przebieg BPB przez światło komory prawej naraża tętnicę belecзки na czynniki, które wpływają na biologiczną odpowiedź ze strony ścian tego naczynia. Może to powodować pogrubienie warstwy mięśniowej, a co za tym idzie całej tętnicy, w środkowych odcinkach. Zmniejszające się pole przekroju tętnicy belecзки rekompensuje zwiększanie się liczby mniejszych tętnic odchodzących na jej przebiegu przez beleczkę.

WPŁYW ZAHAMOWANIA OKSYDAZY KSANTYNOWEJ
NA ZMIENNOŚĆ RYTMU SERCA (HRV) PODCZAS POBUDZENIA
LUB ODBARCZENIA ODRUCHU
Z CHEMORECEPTORÓW TĘTNICZYCH

STANISŁAW ZAJĄCZKOWSKI, PIOTR BADTKE, TOMASZ H. WIERZBA

*Katedra i Zakład Fizjologii, Gdański Uniwersytet Medyczny, Polska
e-mail: s.zajaczkowski@gumed.edu.pl*

Liczne dane wskazują, że detekcja tlenu przez obwodowe chemoreceptory tętnicze zachodzi przy dominującym udziale reaktywnych postaci tlenu (ROS), takich jak: anionorodnik ponadtlenkowy i nadtlenek wodoru, a nie jak sądzono do niedawna jego klasycznej formy trypletowej. Zahamowanie wytwarzania ROS może zatem skutkować pobudzeniem chemoreceptorów. Wyznacznikiem składowej sercowej odruchu z chemoreceptorów tętniczych jest zmiana częstości akcji serca (HR) przy udziale komponenty autonomicznej. U człowieka typową odpowiedzią na hipoksję jest zwiększenie HR, natomiast u wielu gryzoni, w tym u szczurów, częściej opisywano reakcję odwrotną. Ocena zmienności rytmu serca (HRV) jest nieinwazyjnym narzędziem stosowanym do oceny równowagi współczulno-przywspółczulnej, a odpowiedź sercowa wywołana niedotlenieniem lub hiperoksją obejmuje mechanizmy kontrolne zaangażowane w HRV. Celem badań była ocena wpływu allopurinolu — inhibitora oksydazy ksantynowej (XO) na HRV przy pobudzeniu lub zahamowaniu odruchu z chemoreceptorów tętniczych.

Badania przeprowadzono na szczurach samcach szczepu Wistar (N=9) z pozostawioną swobodą ruchu w obrębie komory eksperymentalnej. Zwierzętom, dobrze zaadaptowanym do warunków doświadczalnych, zaimplementowano elektrody EKG. Szczury umieszczono w specjalnie przygotowanej komorze ciśnieniowej, gdzie w sposób ciągły rejestrowano EKG z rozdzielczością 4 kHz, przy użyciu systemu pomiarowego PowerLab z oprogramowaniem LabChart 7 Pro (AdInstruments, Australia). Rejestrację Ekg przeprowadzono dwukrotnie: przed i po podaniu allopurinolu (5 mg/kg), w czterech kolejnych cyklach 60-minutowych: kontrolnym (normoksja), hipoksji hipobarycznej (-400 mmHg), hiperoksji normobarycznej (90–100% O₂) i końcowej normoksji. Z każdego cyklu doświadczalnego wybrano możliwie niezakłócone fragmenty zapisu EKG, składające się z 1024 kolejnych odstępów RR, których użyto następnie do analizy HRV przy wykorzystaniu oprogramowania KubiosPro 2.0 (Finlandia). Wyznaczono parametry HRV w domenie czasowej: HR, odchylenie standardowe odstępów RR (SDNN) oraz pierwiastek

kwadratowy ze średniej sumy kwadratów różnic pomiędzy kolejnymi odstępami RR (rMSSD), a także wskaźniki geometryczne: indeks trójkątny (RRTri) i TINN (trójkątna interpolacja histogramu odstępów RR). Analizę HRV w domenie częstotliwościowej wykonano z wykorzystaniem szybkiej transformaty Fouriera — FFT, z podziałem na dwa zakresy spektralne: niskich częstotliwości (LF: 0,2–0,75 Hz) oraz wysokich częstotliwości (HF: 0,70–2,5 Hz).

Wykazano prawie 10-krotne zmniejszenie aktywności XO po podaniu allopurinolu. Podczas hipoksji i hiperoksji HR było zmniejszone (odpowiednio z 322 do 278 i 273/min). Hipoksja wywołała istotnie zwiększenie HRV (SDNN, rMSSD, TINN) oraz całkowitej mocy widma (TSP) i jego składowych LF i HF, ze zwiększeniem wskaźnika LF/HF, (z 1,22 do 1,52), który jest wyznacznikiem udziału komponenty współczulnej w regulacji rytmu serca. Podczas hiperoksji zaobserwowano zmniejszenie HRV i jego parametrów, a wskaźnik LF/HF uległ obniżeniu (0,99). Allopurinol nie wpłynął istotnie na HR podczas normoksji (315/min) i na wskaźniki HRV, poza tendencją do zwiększonego SDNN i TINN, natomiast podczas hipoksji dodatkowo zmniejszył HR (do 248/min) i spowodował istotne zwiększenie HRV i jego wskaźników, w tym niemal trzykrotny wzrost TSP, LF i HF, bez istotnego wpływu na wskaźnik LF/HF (1,62). Allopurinol nie wpłynął istotnie na HR podczas hiperoksji (266/min). Natomiast całkowicie odwrócił kierunek zmian wskaźników HRV, zamiast ich zmniejszenia (rMSSD, TSP, LF i HF) wykazały tendencję wzrostową, przy wskaźniku LF/HF 1,14, odpowiadającym kontrolnej normoksji.

Reasumując: w warunkach pobudzenia chemoreceptorów tętnicznych przez hipoksję hipobaryczną HRV u szczura wzrasta, ze zwiększeniem udziału komponenty współczulnej autonomicznej regulacji rytmu serca, zaś hiperoksja, odbarczająca chemoreceptory, wywiera działanie odwrotne. Zahamowanie OX i wtórnie generacji ROS nie wpływa znacząco na HR i HRV w warunkach standardowej normoksji, natomiast przyczynia się do zwiększenia HRV zarówno podczas hipoksji, jak i hiperoksji, co można interpretować jako zwiększenie zakresu autonomicznej kontroli rytmu serca w warunkach niestandardowej aktywności odruchu z chemoreceptorów tętnicznych. Biorąc pod uwagę, że mała HRV jest postrzegana jako niekorzystny czynnik rokowniczy, to obserwowany profil działania allopurinolu w warunkach ischemii lub ischemii/reperfuzji, należy interpretować jako korzystny.

OCENA EKSPRESJI GENÓW PROANGIOGENNYCH W WARUNKACH HIPOKSJI

AGNIESZKA ZIMNA¹, BARTOSZ WIERNICKI¹, TOMASZ KOLANOWSKI¹, AGNIESZKA MALCHER¹,
WOJCIECH ŁABĘDŹ², ŁUKASZ KUBASZEWSKI², JACEK KACZMARCZYK², MACIEJ KURPISZ¹

¹*Institut Genetyki Człowieka PAN, Poznań*

²*Klinika Ortopedii i Traumatologii, Ortopedyczno-Rehabilitacyjny*

Szpital Kliniczny im. W. Dęgi, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

e-mail: azimna@man.poznan.pl

Zawał serca powoduje jego niedokrwienie. Następstwem niedokrwienia jest powstanie stanu hipoksji, w którym stężenie tlenu znajduje się poniżej optymalnej wartości dla danej tkanki. Dla kardiomiocytów jest to 10% nasycenia tlenem, każde odchylenie poniżej tej wartości określane jest jako hipoksja. W stanie hipoksji komórki dokonują adaptacji do panujących warunków, co wymaga aktywacji genów odpowiedzialnych między innymi za angiogenezę, proliferację, metabolizm glukozy i żelaza. W komórkach eukariotycznych głównym modulatorem odpowiedzi na hipoksję jest czynnik indukowany hipoksją — *HIF-1* (hypoxia inducible factor-1) którego działanie uznawane jest za najważniejszy mechanizm utrzymujący homeostazę tlenu. Udowodnione, iż *HIF-1* reguluje transkrypcję około 2% genów komórek śródbłonna naczyń, w tym wielu genów proangiogennych, np. *VEGF*, *PlGF*, *PDGFB* oraz angiopoetyny, a także genów kodujących receptory dla tych ligandów.

Terapia regeneracyjna mięśnia sercowego z wykorzystaniem komórek macierzystych jest jedną z lepiej rokujących metod leczenia niedokrwienia miokardium. Dotychczas stosowano wiele rodzajów komórek, jednak wydaje się, stosunkowo największe podobieństwo do kardiomiocytów wykazują mioblasty. Komórki te izoluje się z mięśnia szkieletowego, dlatego też można przypuszczać, iż mają one zwiększoną odporność na warunki niedotlenienia. Przeszczepianie komórek macierzystych w rejon blizny pozawałowej przyczynia się do poprawienia kurczliwości serca, natomiast zastosowanie modyfikacji genetycznej z użyciem genów wywołujących wytworzenie naczyń (angiogenezę) dodatkowo może przyczynić się do poprawy mikrokrążenia (perfuzji) w obrębie serca.

Badania prowadzone Projektu obejmowały na pierwszym etapie ocenę wpływu warunków hipoksji na serce pozawałowe w modelu mysim. Oznaczony został poziom ekspresji markera *Hif-1α* i genów proangiogennych: *VEGF-A*, *B*, *C*, *D*, *PlGF* oraz receptorów *KDR* i *Flt-1*. Serca izolowano

z myszy immunokompromisowanych w 24 h, 7 dni i 28 dni po zawale, a następnie porównano je z grupą kontrolną, w której nie został wywołany zawał. Celem tego etapu badań było prześledzenie zmian ekspresji genów w pozawałowym miokardium w czasie oraz sprawdzenie korelacji pomiędzy genami, receptorami a poziomem ekspresji genu *Hif-1 α* .

W kolejnym etapie badań postanowiono stworzyć model hipoksji *in vitro* adekwatny do warunków panujących w sercu. Jako że obiektem badań są komórki macierzyste mięśnia szkieletowego, modelem badań były mioblasty. W tym celu u myszy immunokompromisowanych wywoływano zawał serca poprzez podwiązanie lewej tętnicy wieńcowej równolegle w rejon objęty zawałem podawano mioblasty. Następnie w 24 h, 7 dni i 28 dni po zawale/podaniu komórek hodowlanych zebrano materiał biologiczny w postaci serc z podanymi komórkami. Kolejnym etapem badawczym było oznaczenie ekspresji markera *Hif-1 α* w mioblastach ludzkich poddanych hipoksji panującej w sercu mysim. Równolegle prowadzone były badania kontrolne *in vitro* z mioblastami ludzkimi. Komórki hodowano przez 24 h oraz 7 dni w inkubatorze w następujących stężeniach tlenu: 1%, 2%, 3%, 5%, 10% oraz 15%. Z materiału izolowano RNA, uzyskiwano cDNA za pomocą odwrotnej transkrypcji oraz oznaczano ekspresję genu *Hif-1 α* . Wykonano w ten sposób krzywą ekspresji dla genu *Hif-1 α* w zależności od stężenia tlenu. Następnie porównywano wyniki uzyskane z badań *in vitro* i *in vivo*, co pozwoliło na oznaczenie stężenia tlenu, które odpowiada warunkom panującym w miokardium.

W ostatnim etapie badań planuje się ocenę mioblastów poddanych modyfikacji genetycznej genami kodującymi czynniki proangiogenne VEGF/FGF i PlGF wprowadzonymi do komórek drogą elektroporacji. Pozwoli to na prześledzenie wpływu niedoboru tlenowego na produkcję, sekrecję i funkcjonalność tych czynników w formowaniu nowych naczyń (kapilarny test funkcjonalny).

O ROZWOJU ZMIENNOŚCI RYTMU SERCA PŁODU
W ŁONIE MATKI — WNIOSKI Z ANALIZY NIELINIOWEJJAN J. ŻEBROWSKI¹, DANIEL MARKIEWICZ¹, DIRK HOYER², UWE SCHNEIDER³¹*Pracownia Fizyki Układu Krążenia, Zakład Fizyki Układów Złożonych, Wydział Fizyki,
Politechnika Warszawska*²*Jena University Hospital, Biomagnetic Center, Hans Berger Department of Neurology,
Friedrich Schiller University, Jena, Germany*³*Jena University Hospital, Department of Obstetrics, Friedrich Schiller University, Jena, Germany
e-mail: zebra@if.pw.edu.pl*

Podczas rozwoju płodu w łonie matki następuje rozwój autonomicznego układu nerwowego, co prowadzi do postępujących zmian właściwości zmienności rytmu serca płodu. W ostatnich latach opublikowaliśmy wyniki analiz metodami nieliniowymi [1–2], z których wynika, że jest możliwa jakościowa zmiana zależności rytmu serca płodu od wieku ok. 30. tygodnia ciąży. W tym komunikacie opisujemy nowe, wstępne wyniki rozwoju właściwości rytmu serca płodu z wiekiem płodu (GA), posługując się analizą rekurencji (diagramy rekurencyjne RP).

Grupa badana: Zbadaliśmy 2 grupy nagrań rytmu serca płodów (cięższe normalne) w warunkach bezstresowych. Wszystkie zapisy zostały dokonane za pomocą wektor-magnetografu (MCG, 30 min. z próbkowaniem 1024 Hz i automatyczną detekcją skurczu serca, w pozycji leżącej) w magnetycznie osłoniętym pomieszczeniu w Szpitalu Uniwersyteckim w Jenie. W grupie 1 analizowaliśmy nagrania, w których pojedyncze płody znajdowały się w stanie snu spokojnego (quiet, n = 25) albo w trakcie snu aktywnego (active, n = 29). Stan płodu określany był przez trzech doświadczonych pediatrów. W grupie 2 zapisów, z nagrań magnetokardiograficznych wyodrębniono 10-minutowe fragmenty, w których stan płodu był jednoznacznie określony. W ten sposób udało się uzyskać 92 zapisy w stanie snu spokojnego oraz 294 zapisy w stanie aktywnym.

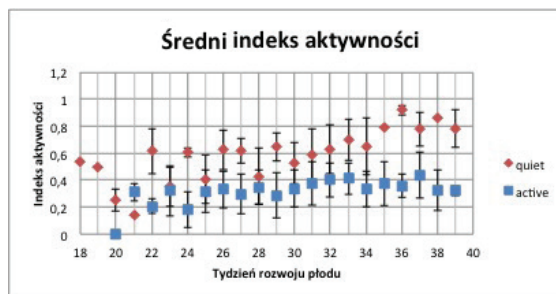
Metody analizy: Stan układu uważa się za rekurencyjny, jeżeli się powtarza (przynajmniej w przybliżeniu). Fakt taki sprawdza się w przestrzeni fazowej układu za pomocą tzw. diagramu rekurencyjnego (*recurrence plots*, RP). Jest to tablica (macierz) 0 i 1, gdzie 1 reprezentuje fakt, że i-ty i j-ty element danego szeregu czasowego znalazły się w przestrzeni fazowej blisko siebie (wg założonego kryterium). Istnieją twierdzenia matematyczne, które pozwalają odwzorować szereg czasowy pojedynczej zmiennej w trajektorię w wielowymiarowej przestrzeni fazowej. Jak

diagram rekurencyjny wygląda dla typowych przebiegów w czasie, można się przekonać pod adresem [//en.wikipedia.org/wiki/Recurrence_plot](http://en.wikipedia.org/wiki/Recurrence_plot).

Wszystkie nagrania zbadano standardową analizę ilościową rekurencji RQA [3], posługując się oknami o długości 300 interwałów RR (30 min. zapisu rytmu serca płodu to ok. 4000 interwałów) i uśredniając wynik dla każdego nagrania. Badano zależność poszczególnych parametrów RQA od wieku płodu GA (18–39. tygodnia ciąży).

Wyniki: Dla płodów w stanie quiet 1. grupy nagrań (30-minutowych) stwierdzono bardzo podobne zachowanie różnych parametrów RQA m.in. rr (*recurrence rate* — miara liczby wykrytych stanów rekurencyjnych), determinizmu (liczba stanów rekurencyjnych układających się wzdłuż przekątnej RP). Parametry te maleją do ok. 30. tygodnia ciąży, a potem się nie zmieniają. Entropia diagramu RP z kolei rośnie do ok. 30. tygodnia GA, a potem się ustala. Sen aktywny zaburza odczyt zależności właściwości rytmu serca od wieku płodu, ale również dla tej grupy obserwuje się małą zmianę z wiekiem powyżej 30. tygodnia ciąży. Wyniki zostały częściowo potwierdzone we wcześniejszej naszej analizie tej samej grupy metodami wieloskalowej analizy multifrakalnej [1].

Problem określenia stanu płodu na podstawie zmienności rytmu serca jest trudny i wymaga zaangażowania trzech doświadczonych pediatrów. Dlatego wprowadziliśmy oryginalny wskaźnik — indeks aktywności — określany na podstawie diagramów rekurencyjnych wyznaczanych w nieprzylegających oknach o długości 100 interwałów. Wynik tej analizy dla drugiej grupy nagrań rytmu serca płodów (po 10 min.) pokazany jest na rysunku poniżej jako średni indeks aktywności wraz z odchyleniem średnim. Widać, że indeks aktywności pozwala ocenić, w jakim stanie znajduje się płód.



Wnioski i podsumowanie: Diagramy rekurencyjne są narzędziem badawczym przeznaczonym przede wszystkim do analizy krótkich szeregów czasowych. Zostały użyte w wielu dziedzinach fizyki, ekonomii ale przede wszystkim w badaniach fizjologii [4, patrz Podsumowanie na str. 81]. Niniejsza praca pokazuje ich przydatność do analizy rytmu serca płodów. Przy czym zarysowuje się podział własności na rytmu serca w zależności od wieku płodu na trzy okresy: wczesny (od 18–ok. 24 tygodnia), środkowy (24–30. tydzień ciąży) oraz późny. Być może odpowiada to okresom kształtowania się autonomicznego układu nerwowego płodu.

[1] D. Hoyer *et al.* Front. Hum. Neurosci. 2014; 8, #948

[2] J. Gieraltowski *et al.* Auton. Neurosci. 2015; 190, 33–39

[3] <http://www.recurrence-plot.tk/rqa.php>

[4] www.nsf.gov/sbe/bcs/pac/nmbs/chap2.pdf

THE ROLE OF ECTO-5'-NUCLEOTIDASE IN AORTIC VALVE PATHOLOGIES

PAULINA ŻUKOWSKA¹, BARBARA KUTRYB-ZAJĄC¹, AGNIESZKA JASZTAŁ², MARTA TOCZEK¹,
PAWEŁ ROMASZKO¹, RYSZARD T. SMOLEŃSKI¹, EWA M. SŁOMIŃSKA¹

¹*Department of Biochemistry, Medical University of Gdansk*

²*Jagiellonian Center for Experimental Therapeutics, Jagiellonian University, Krakow, Poland*
e-mail: zukowska.paul@gmail.com

The inflammation promotes the development of aortic stenosis (AS) — one of the most common form of heart valve diseases. Changes in activity of ecto-5'-nucleotidase — one of the most important extracellular nucleotides catabolism enzymes — can lead to enhanced inflammatory response. The aim of the study was to investigate the effect of the CD73 knock-out on the function of mice aortic valve and its comparison of the effect of a high-fat diet.

Animals were divided into four groups: high-fat diet CD73^{-/-}, high-fat diet Wild Type (WT), low-fat diet CD73^{-/-} and low-fat diet WT for 15 weeks. Mice were anesthetized and underwent Doppler ultrasound analysis for determination of the peak aortic flow. Then, the aortic roots were collected and used for analysis eNTPD, e5'NT and eADA activities, as well as for spectrophotometric and histological analysis. Results are presented as mean ± SEM.

CD73^{-/-} knock out led to increase in peak aortic flow (4.36 ± 0.26 m/s) compared to WT (3.15 ± 0.22 m/s) indicating obstruction. High-fat diet caused similar increase in peak aortic flow. Highest values of peak aortic flow were observed in CD73^{-/-} mice on high-fat diet. Concentration of Ca²⁺, Mg²⁺ and PO₄³⁻ in aortic roots of CD73^{-/-} mice were significantly higher in comparison with WT. Histological analysis showed morphological changes in the CD73^{-/-} mice aortic valves include swelling and accumulation of dark deposits, which proved to be melanin. Activity of e5'NT in CD73^{-/-} mice was below 10% of WT. Activity of eADA on the aortic surface in the CD73^{-/-} mice was 40% lower compared to WT. High-fat diet caused increase in the eADA activity.

Our results indicate that knock out of CD73 leads to AS similar to that induced by high-fat diet. Increasing the CD73 activity could have therapeutic potential in the pathology of the aortic valve.

FOLIA MEDICA CRACOVIENSIA INSTRUCTION FOR AUTHORS

Manuscripts will be considered for publication in the form of Original Articles or Reviews. Submitted work must comply with ethical policy, which is based on the Committee on Publication Ethics (COPE) guidelines on good publication. (<http://publicationethics.org/>). Only manuscripts that are previously unpublished, and are not offered simultaneously elsewhere will be considered.

SUBMISSION

Folia Medica Cracoviensia only accepts electronic submission via e-mail at folmedcrac@pan.pl. Manuscripts will be assigned a unique manuscript number that must be quoted in correspondence. Papers and Reviews are refereed by experts in the field; the Editors reserve the right to reject an article without review. Please submit your covering letter as well as the names of two potential referees (including name, affiliation, and e-mail address). Currently, Authors have the only option to publish their articles in printed version. The online version will be available soon.

Original Articles

Original Articles describe the results of basic or clinical studies. The length of all Original Articles is limited to 6000 words, excluding references, tables, figures, table legends and figure legends. Please limit the number of figures and tables to a maximum of eight (e.g. four figures and four tables). Color figures can be included as necessary; however authors will be charged a fee (for details please contact editorial office).

Review Articles

Topical reviews of basic or clinical areas are invited by the Editor. Manuscript length is limited to 5000 words and 50 references. All Review articles are subject to review.

Language

The *Folia Medica Cracoviensia* uses American spelling. Authors for whom English is a second language may choose to have their manuscript professionally edited before submission to improve the English.

REVISIONS

To make it easier for re-review, authors should make the revisions in their manuscript using a colored font (blue or red) or a colored highlighter (yellow). They should also provide a point by point response to the Editor of the changes that were made in a letter that describes the requested change and the Authors' responses.

MANUSCRIPT PREPARATION

Text

Manuscript should be submitted as one text file in either Word document (.doc), or RTF (.rtf). Manuscripts should be typed in a standard font, 12 pt in size. Manuscripts should be double-spaced, with 2.5 cm (1 inch) margins on all sides and run in one single column. Place the page number in the lower right-hand corner of each page.

Review articles should be divided into the following sections and appear in the following order: (1) title page (with short running page heading, title, authors names and affiliations), (2) abstract and keywords, (3) body of the article, (4) acknowledgments, funding, and disclosures; (5) references, (6) tables, (7) figure legends, and (8) figures.

Original articles should be divided into the following sections and appear in the following order: (1) title page (with short running page heading, title, authors names and affiliations) (2) abstract and keywords, (3) introduction, (4) materials and methods, (5) results, (6) discussion, (7) acknowledgments, funding, and disclosures, (8) references, (9) appendices, (10) tables, (11) figure legends, and (12) figures.

Title Page

On the title page, provide the complete title and a running title (not to exceed 45 characters and spaces). List each contributor's name and institutional affiliation. Provide the name, postal and e-mail address, fax and telephone number of the contributor responsible for the manuscript and proofs (corresponding author).

Abstract and Keywords

The abstract must not exceed 250 words. It should summarize the aim of the study and describe the work undertaken, results and conclusions. In addition, you should list up to eight keywords.

Introduction

The Introduction should briefly discuss the objectives of the study and provide the background information to explain why the study was undertaken, and what hypotheses were tested.

Materials and Methods

Animal preparation and experimentation should cite the approving governing body. Equipment and apparatus should cite the make and model number and the company name and address (town, state/city, and country) at first mention. Give all measurements in metric units. Use generic names of drugs. Symbols, units and abbreviations should be expressed as *Système international d'unités* (SI).

Results

Tables and text should not duplicate each other.

Discussion

The Discussion should include a brief statement of the principal findings, a discussion of the validity of the observations, a discussion of the findings in light of other published work dealing with the same or closely related subjects, and a statement of the possible significance of the work.

Acknowledgments, Funding, and Disclosures

- Authors must acknowledge individuals who do not qualify as authors but who contributed to the research.
- Authors should disclose their contributions to the work described in the submitted manuscript at the end of the manuscript.
- All sources of funding must be disclosed in the Funding section of the paper.

— At the end of the manuscript please include a statement of potential conflicts of interests or the statement: “Conflict of interest — none declared”.

References

References must be numbered consecutively and cited in the text using Arabic numerals within parentheses. Work that has not been accepted for publication should not appear in the reference list. It may be cited in the text as unpublished data.

Journals: List all authors when six or fewer; when seven or more, list only the first three and add *et al.*

Herse F., Staff A.C., Hering L., Müller D.N., Luft F.C., Dechend R.: AT1-receptor autoantibodies and uteroplacental RAS in pregnancy and pre-eclampsia. *J Mol Med.* 2008; 86: 697–703.

Online Articles: The Journal encourages citation of online articles before they are published in final form when they become available in PubMed or from journal/publisher websites. The citation must take the following form:

Matyja A., Gil K., Pasternak A., Sztęfko K., Gajda M., Tomaszewski K.A., et al.: Telocytes: new insight into the pathogenesis of gallstone disease. *J Cell Mol Med.* 2013 Jun; 17 (6): 734–742. doi: 10.1111/jcmm.12057.

Books and Monographs:

Walocha J., Litwin J.A., Miodoński A.J.: Corrosion casting technique. in *Scanning Electron Microscopy for the Life Sciences* Ed. H. Schatten. Cambridge University Press 2012; 16–32.

Abbreviations

Please include in the manuscript a list of only new or special abbreviations.

Tables

Tables should be numbered consecutively within the text. Tables and text should not duplicate each other. Number and title for each table should be provided. Tables should not be submitted as graphics files.

Figures

Magnification (scale) bars should be given on electron and light micrographs. Details of the magnification bar should be noted in the figure legends. TIFF, PDF, PNG or JPEG are acceptable formats for electronic artwork. For color figures, the resolution should be 300 dpi, for black and white figures, the resolution should be 600 dpi.

Figure and Table Legends

All tables and figures should be cited in the text. Each figure must have a corresponding legend. Legends to tables and figures should contain sufficient information to be understood without reference to the text. All symbols, arrows, numbers, or letters used in the figure should be explained. For photomicrographs, information on the method of staining or preparation as well as information on scale and/or magnification should be included.

Proofs

Proofs will be available as PDF files. The detailed instructions will be sent via e-mail when the proof is ready for review. Adobe Acrobat Reader is required in order to read this file, which can be downloaded (free of charge) from <http://get.adobe.com/reader>. Proofs must be returned by e-mail to the Editorial Office within seven days.

